

UFRRJ

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

DISSERTAÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E
HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS DE *Nectomys squamipes* BRANTS
1827 (RODENTIA: SIGMODONTINAE) ENCONTRADOS
NATURALMENTE INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni*
SAMBON 1907 (TREMATODA: SCHISTOSOMATIDAE) EM
ÁREA ENDÊMICA NO MUNICÍPIO DE SUMIDOURO, RJ**

SOCRATES FRAGA DA COSTA NETO

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E
HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS DE *Nectomys squamipes* BRANTS 1827
(RODENTIA: SIGMODONTINAE) ENCONTRADOS NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni* SAMBON 1907 (TREMATODA:
SCHISTOSOMATIDAE) EM ÁREA ENDÊMICA NO MUNICÍPIO DE
SUMIDOURO, RJ**

SOCRATES FRAGA DA COSTA NETO

Sob a Orientação do Professor
Dr. Jairo Pinheiro da Silva
Co-orientação
Dra. Rosana Gentile

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Veterinárias**, no curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro, 2012

614.438

C837c

T

Costa Neto, Socrates Fraga da, 1980-

Caracterização das alterações bioquímicas e histológicas hepáticas de *Nectomys squamipes* Brants 1827 (Rodentia: Sigmodontinae) encontrados naturalmente infectados por *Schistosoma mansoni* Sambon 1907 (Trematoda: Schistosomatidae) em área endêmica no município de Sumidouro, RJ / Socrates Fraga da Costa Neto - 2012.

88 f.: il.

Orientador: Jairo Pinheiro da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 74-88.

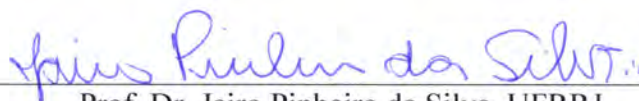
1. Roedor - Sumidouro (RJ) - Teses. 2. *Nectomys* - Sumidouro (RJ) - Teses. 3. *Schistosoma mansoni* - Sumidouro (RJ) - Teses. 4. Esquistossomose - Sumidouro (RJ) - Teses. 5. Relação hospedeiro-parasito - Teses. 6. Rato como transmissor de doença - Teses. I. Silva, Jairo Pinheiro da, 1969-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

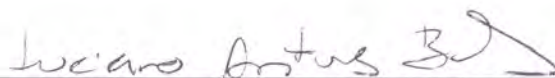
SOCRATES FRAGA DA COSTA NETO

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia VETERINÁRIA, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, em Ciências Veterinárias.

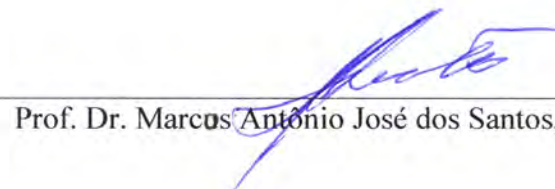
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2012.



Prof. Dr. Jairo Pinheiro da Silva, UFRRJ
(Orientador)



Prof. Dr. Luciano Antunes Barros, UFF



Prof. Dr. Marcus Antônio José dos Santos, UFRRJ

Dedico este trabalho aos meus pais José Wandique Fraga da Costa e Maria Lúcia Grangeiro da Costa, irmãos Tamara Fraga e Renato Fraga, sobrinhos Robson Fraga e Gilson Baptista e minha noiva Danielle Seice e minha avó Rosa Rodrigues em memória, que juntos deram-me apoio e força para concretizar mais este objetivo.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Jairo Pinheiro da Área de Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), por ter aceitado me orientar, por estar sempre pronto a tirar minhas dúvidas, dando conselhos e sendo amigo. Obrigado por ter me ensinado e compartilhado um pouco do seu vasto conhecimento científico. Sinto muito orgulho de telo como amigo.

-A Dra. Rosana Gentile, Pesquisadora do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, pela valiosa orientação dada para realização desta dissertação, seriedade, dedicação, compreensão, exemplo de profissionalismo, estímulos, crédito, além dos conselhos e sua maravilhosa amizade.

-Ao Dr. Arnaldo Maldonado Júnior, Pesquisador Chefe do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, orientação, apoio, conselhos, amizade.

- Ao Dr. Paulo Sérgio D'Andrea, Pesquisador do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, pela motivação, pelos ensinamentos, conversas, dicas, pelo suporte e apoio que colaborou para concretização desse mestrado e pela grande amizade.

- Ao Msc. Juberlan Silva Garcia, Pesquisador do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, pelo ensinamento, atenção e grandiosa amizade construída.

- Ao André Campos Santana, Técnico do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, pela realização dos exames coprológicos, necropsia dos roedores, dicas, ensinamentos e grandiosa amizade construída.

- A Msc. Raquel Simões, aluna de doutorado do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela amizade, pelas caronas, apoio e incentivo nos momentos difíceis.

- Ao meus irmãos escolhidos e amigos, os Médicos Veterinários Victor e Vinicius Menezes Tunholi Alves, alunos de mestrado do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela moradia, pelas orientações, pelos ensinamentos, dicas, conclusões inteligentes sobre os dados, pelo trabalho na hora da confecção dos artigos, todos os momentos difíceis ou felizes que passamos juntos e toda essa cumplicidade para construir uma grandiosa e valorosa amizade.

- Ao Msc. Fernando Adnet, aluno de doutorado do Curso de Pós-Graduação da Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), pela identificação dos helmintos e pela amizade.

- As Msc Joyce Gonçalves e Michele Maria do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, pela ajuda, por tirar dúvidas e pela amizade.

- Ao Msc. e amigo Bernardo Rodrigues Teixeira do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, por esta sempre pronto para ajudar nas horas difíceis e pela amizade.

- Ao amigo e Fotografo Rodrigo Méxas do Laboratório de Produção e Tratamento de Imagem do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, RJ), pelo tratamento e melhora na qualidade das imagens, montagem das pranchas, por fornecimento de algumas imagens e por estar sempre pronto a ajudar nos momentos difíceis.

- Ao amigo o Médico Veterinário Danilo Lustrino da Universidade de São Paulo (USP), por estar sempre pronto a ajudar nos momentos difíceis, pelos ensinamentos e grande amizade.

- As Professoras Dras. Vivian de Assunção Nogueira e Marilene de Farias Brito do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pelas análises histopatológicas e pela amizade.

- Ao Prof. Dr. Marcos Antônio José dos Santos da Área de Histologia e Embriologia do Departamento Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pelas análises histopatológicas e pela amizade.

- Aos estudantes e técnicos do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ, RJ, que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento e concretização desta dissertação.

- Aos estudantes e técnicos da Área de Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento e concretização desta dissertação.

- Aos estudantes e técnicos da Área de Histologia e Embriologia do Departamento Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento e concretização desta dissertação.

- A todos os integrantes do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ, pois também de alguma forma me ajudaram, tornando menos árduas as horas difíceis, obrigado.

- Ao funcionário da DIRAC do Setor de Transporte da Fundação Oswaldo Cruz, o motorista, meu pai José Wandique Fraga da Costa, pela disponibilidade, atenção, dedicação, solidariedade, companheirismo, pela mais valiosa amizade e compromisso com o trabalho realizado desde o início.

- Ao amigo e Médico Veterinário o Secretário Municipal de Agricultura e Meio Ambiente de Sumidouro, RJ, Silmar Santos Serafim, por fornecer suporte operacional e logístico, uma base do campo, esclarecimento, eliminar dúvidas, pela credibilidade e valiosa amizade.

- A Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, RJ), através do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), pela estrutura e condições para o desenvolvimento do trabalho, além do apoio com financiamentos.
- Ao CAPES (Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo financiamento da minha bolsa de estudo na contruição da minha formação.
- A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pela contribuição na minha formação na Pós-graduação, ao seu corpo docente, à confiança, ao apoio e financiamento em parte da minha Pós-graduação.
- Agradeço a todos os meus parentes, meus amigos, meus familiares escolhidos, meus vizinhos que de alguma forma torcem e orgulham-se de mim, por tudo aquilo que represento e procuro fazer por eles.
- Agradeço aos alunos do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do ano de 2010/2012, por todo companherismo, ajuda, convivência, troca de experiência e grande e valiosas amizades construídas.
- Agradeço a todos que me ajudaram de alguma forma a elaborar este trabalho de Dissertação.
- Agradeço a Equipe de Futsal do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), aos amigos Fabio Edir Amaral Albuquerque, Hermes Ribeiro Luz, Gabriel Alves Landulfo, Marcus Sandes Pires, Vinicius Menezes Tunholi Alves, Matheus Dias Cordeiro, Gideão da Silva Galvão, Júlio, Cássio do Nascimento Florêncio, Wendell Marcelo de Souza Perinotto, Caio Márcio de Oliveira Monteiro, pelos títulos conquistados e as grandes e valiosas amizades construídas.

RESUMO

COSTA-NETO, Socrates Fraga da. **Caracterização das alterações bioquímicas e histológicas hepáticas de *Nectomys squamipes* Brants 1827 (Rodentia: Sigmodontinae) encontrados naturalmente infectados por *Schistosoma mansoni* em área endêmica no município de Sumidouro, RJ.** 2010. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2012.

O roedor silvestre *Nectomys squamipes* é considerado um dos principais mamíferos potenciais reservatórios silvestres de *Schistosoma mansoni* no Brasil, sendo encontrados infectados naturalmente em áreas endêmicas da esquistossomose. Diversos estudos de campo e experimentais foram realizados mostrando ser este um bom modelo alternativo para o estudo da interação *S. mansoni*-*N. squamipes*. Espécimes de *N. squamipes* foram capturados no município de Sumidouro, RJ. Os roedores (N=16) foram divididos em dois grupos: infectados naturalmente (N=8) e não infectados de campo por *S. mansoni* (N=8). Foram utilizados animais nascidos em cativeiro como controle de laboratório (N=14). Os roedores foram eutanasiados e o sangue coletado através de punção cardíaca para análise das alterações plasmáticas: glicose (mg/dl), aminotransferases ALT e AST URF/ml, e bilirrubina direta e total (mg/ml). Fragmentos de fígado foram utilizados para determinar o conteúdo de glicogênio hepático (mg de glicose/g de tecido, peso fresco). As amostras foram analisadas em procedimentos de rotina através de exames histopatológicos corados com hematoxilina, eosina e Masson. Os exames de histopatologia evidenciaram lesões no fígado em diferentes fases de desenvolvimento localizadas predominantemente na região periportal dos roedores infectados naturalmente, com numerosos parasitos ocluindo o lúmen vascular. As lesões na fase inicial caracterizavam-se por um infiltrado inflamatório ao redor dos ovos recém-depositados, morfológicamente intactos, com clara visualização da estrutura, incluindo o miracídio, fragmentos de helmintos e fibrose. Esse estudo das populações de *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*, evidenciou a ocorrência de alterações nas reservas de glicogênio hepático caracterizado por um decréscimo de 82.74% no conteúdo de glicogênio nos animais infectados naturalmente e 81.68% nos animais não infectados de campo em relação ao grupo controle de laboratório. Alterações nos níveis plasmáticos de glicose foram observadas entre os grupos. Uma redução significativa no conteúdo de glicose sérica foi observada nos roedores infectados naturalmente e não infectados de campo em relação à média do grupo controle de laboratório, com uma queda de 61.13% no conteúdo de glicose plasmática. O nível sérico da AST dos animais infectados naturalmente exibiu a mesma variação metabólica do grupo não infectado de campo. Um aumento de 75,66% da ALT plasmática foi observado nos roedores capturados infectados naturalmente em relação ao controle de laboratório. A infecção não proporcionou alterações nos conteúdos das frações direta e total de bilirrubina entre os grupos não infectados de campo e infectados naturalmente. O grupo controle de laboratório foi o que apresentou maior conteúdo das frações direta e total de bilirrubina. A mesma ordem de variação foi observada para a fração indireta da bilirrubina, sendo o grupo controle o que apresentou a maior média. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos estudados entre o grupo infectado naturalmente e não infectado de campo. Tal fato pode estar relacionado ao processo de formação de uma memória imunológica em *N. squamipes* adquirida durante infecções prévias ao longo de sua vida, possibilitando responder de maneira mais rápida e eficiente às sucessivas infecções por *S. mansoni*. Como consequência, um processo de adaptação fisiológica é estabelecido, minimizando aqui os efeitos deletérios causados por *S. mansoni* em *N. squamipes* naturalmente infectados.

Palavras chaves: Alterações bioquímicas, reservatórios silvestres, função hepática

ABSTRACT

COSTA-NETO, Socrates Fraga da. **Characterization of the biochemistry and hepatic alterations in *Nectomys squamipes* Brants 1827 (Rodentia: Sigmodontinae) found naturally infected by *Schistosoma mansoni* in an endemic area in Sumidouro Municipality, RJ.** 2010. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2012.

The wild rodent *Nectomys squamipes* is considered one of the principal wild mammal reservoirs of *Schistosoma mansoni* in Brazil, often being found infected in endemic areas of schistosomiasis. Several field and experimental studies have been carried and showed that this rodent is a great alternative model for *S. mansoni*-*N. squamipes* interaction studies. *Nectomys squamipes* specimens were captured in the municipality of Sumidouro, Rio de Janeiro state. The rodents (N=16) were divided into two groups: infected (N=8) and uninfected (N=8) by *S. mansoni*. Animals bred in captivity were used as control (N=14). The rodents were euthanized and the blood was collected by cardiac puncture for analysis of changes in the serum: glucose level (mg/dl), aminotransferases ALT and AST (URF/ml) level, and direct and total bilirubin (mg/ml). Liver fragments were used to determine the hepatic glycogen content (mg de glucose/g tissue, fresh weight). Samples were processed according to the routine using histopathology exams stained with hematoxylin, eosin and Masson. The histological examination showed lesions in the liver tissue of different phases of development located mainly in the periportal region in the naturally infected rodents, with many parasites occlusion of the vascular lumen. The early phase lesions were characterized by the presence of inflammatory infiltrate around the morphologically intact recently deposited eggs with clear visualization of the structure, including the miracidium, helminth fragments and fibrosis. This study of *N. squamipes* populations naturally infected by *S. mansoni* showed the occurrence of changes in the hepatic glycogen reserves, with 82.74% decrease of glycogen in the naturally infected animals and an 81.68% decrease in the uninfected wild specimens compared to the laboratory control group. Changes in the serum glucose levels were also observed between groups. There was a significant reduction in the average serum glucose level in the naturally infected rodent group and in the uninfected wild rodent group in relation to the laboratory control group, with a decline of 61.13% in the serum glucose concentration. The AST serum level of the naturally infected animals exhibited the same metabolic variation of the -uninfected field group. An average increase of 75,66% on the plasmatic ALT was observed in the naturally infected rodents in relation to the laboratory control rodents. The infection did not promoted alterations in the total and direct bilirubin fractions between naturally infected and uninfected animals. The laboratory control group showed the largest fractions of direct and total bilirubin. The same variation was observed for the indirect fraction of bilirubin, with the control group presenting the largest average. There were no significant differences noted in the parameters biochemistry studied between the infected and uninfected wild specimens. This fact can be related to the process of immunological memory formation in *N. squamipes* acquired during previous infections over their lifetimes, allowing them to respond more quickly and efficiently to successive infections by *S. mansoni*. Consequently, there is a physiological adaptation process, minimizing the deleterious effects caused by *S. mansoni* in naturally infected *N. squamipes* rats.

Keywords: Biochemical alterations, wild reservoirs, hepatic function

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição global das cinco espécies do gênero <i>Schistosoma</i> responsáveis pelas esquistossomoses humanas. Fonte: WHO, 1993.....	2
Figura 2. Casal de <i>Schistosoma mansoni</i> . M= Macho, F= Fêmea, VO= Ventosa Oral, A= Acetábulo, CG= Canal Ginecóforo. Fonte: REY, 2008.....	5
Figura 3. Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil. Fonte: REY, 2008.....	9
Figura 4. Distribuição das espécies de moluscos hospedeiros intermediários de <i>Schistosoma mansoni</i> nos estados brasileiros. <i>B. glabrata</i> = <i>Biomphalaria glabrata</i> ; <i>B. tenagophila</i> = <i>Biomphalaria tenagophila</i> ; <i>B. straminea</i> = <i>Biomphalaria straminea</i> . Fonte: PARAENSE, 1986.....	11
Figura 5. Ciclo biológico de <i>Schistosoma mansoni</i> . A – Helmintos adultos acasalados no hospedeiro definitivo, B – eliminação dos ovos nas fezes, C – eclosão do miracídio que penetra depois no molusco hospedeiro intermediário, D – no molusco ocorre o desenvolvimento dos esporocístos primário e secundário, E – cercárias em busca do hospedeiro definitivo. Fonte: REY, 2008.....	13
Figura 6. Localização do município de Sumidouro no mapa do estado do Rio de Janeiro. Fonte: IBGE, 2010.....	18
Figura 7. Espécimes de <i>Nectomys squamipes</i> , hospedeiro natural de <i>Schistosoma mansoni</i> . Fonte: Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR), IOC, FIOCRUZ, RJ.....	19
Figura 8. Espécime de <i>Nectomys squamipes</i> dentro de uma armadilha do tipo Tomahawk®. Fonte: LABPMR, IOC, FIOCRUZ, RJ.....	20
Figura 9. Distribuição geográfica dos roedores silvestres <i>Nectomys rattus</i> e <i>Nectomys squamipes</i> no Brasil. Fonte: BONVICINO et al., 2008.....	20
Figura 10. Ciclo biológico de <i>Schistosoma mansoni</i> considerando-se a participação do rato d'água, <i>Nectomys squamipes</i> como hospedeiro definitivo de <i>S. mansoni</i> . A – Helmintos adultos acasalados no hospedeiro definitivo, B – Rato d'água eliminando ovos nas fezes, C – eclosão do miracídio que penetra depois no molusco hospedeiro intermediário, D – no molusco ocorre o desenvolvimento dos esporocístos primário e secundário, E – cercárias em busca do hospedeiro definitivo. Fonte: LABPMR, IOC, FIOCRUZ, RJ.....	21

Capítulo I

- Figura 1. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Lesões multifocais (círculos pretos) em diferentes fases evolutivas na região periportal. (corados com hematoxilina e eosina)..... 38
- Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) em fase exsudativo-produtiva, com presença de fragmentos do helminto (fh), infiltrado inflamatório (ii) com numerosos eosinófilos, fibroblastos, plasmócitos, neutrófilos, linfócitos, ao redor dos ovos recém depositados com miracídeos e macrófagos com pigmentação marrom-amarelado. (corados com hematoxilina e eosina)..... 39
- Figura 3. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Um casal de *Schistosoma mansoni* (sm) no interior do espaço porta hepático obliterando a luz do ramo da veia porta. (corados com hematoxilina e eosina)..... 40
- Figura 4. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) na fase involutiva, com vestígios do parasito (p) mineralizado no interior do espaço porta com presença de infiltrado inflamatório mononuclear (im). (corados com hematoxilina e eosina)..... 41
- Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*. Não foram encontrados granulomas parasitário de *Schistosoma mansoni* no grupo controle de biotério. (corados com hematoxilina e eosina)..... 42
- Figura 6. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipe*. Ausência de granuloma parasitário no grupo não infectado de campo. (corados com hematoxilina e eosina)..... 43

Capítulo II

- Figura 1. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Lesões multifocais (círculos pretos) em diferentes fases evolutivas na região periportal. 59
- Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Numerosos exemplares do parasito ocluindo os vasos dos espaços porta (sm), com infiltrado inflamatório (ii). (coradas com tricrômico de Masson)..... 60
- Figura 3. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) com presença de infiltrado inflamatório e fragmentos do helminto (fh). (corados com hematoxilina e eosina)..... 61
- Figura 4. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Áreas de fibrose (af) evidente nas lesões granulomatosas mais crônica (corada em azul). (coradas com tricrômico de Masson)..... 62
- Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma em fase exsudativo-produtiva (gp), com numerosos eosinófilos, fibroblastos, plasmócitos, neutrófilos, linfócitos, ao redor dos ovos recém depositados com miracídeos (om) e macrófagos com pigmentação marrom-amarelado. (corados com hematoxilina e eosina)..... 63
- Figura 6. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*. Ausência de granuloma parasitário de *Schistosoma mansoni* no grupo não infectado de campo. (corados com hematoxilina e eosina)..... 64

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Concentração de glicogênio hepático, expresso em mg de glicose/g de tecido, peso fresco, e glicose plasmática, expresso em mg/dl, em *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. CB=Controle de Biotério, IN=Infectado Naturalmente e NI=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si..... 36

Capítulo II

Tabela 1. Relação entre a atividade plasmática das enzimas L-alanina: 2 oxoglutarato aminotransferase (ALT) e L-aspartato: 2 oxoglutarato aminotransferase (AST), expresso em URF/ml, de soro de *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. CB=Controle de Biotério, IN=Infectado Naturalmente e NI=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si..... 57

Tabela 2. Relação entre a concentração plasmática de bilirrubina: conteúdos das frações direta e total expresso em mg/ml, de soro de *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. CB=Controle de Biotério, IN=Infectado Naturalmente e NI=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si..... 57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Classificação Taxonômica.....	4
2.2 Características Morfológicas.....	4
2.2.1 Macho de <i>Schistosoma mansoni</i>	6
2.2.2 Fêmea de <i>Schistosoma mansoni</i>	6
2.3 Esquistossomose mansônica no Brasil.....	7
2.4 Características patológicas.....	11
2.5 O ciclo biológico de <i>Schistosoma mansoni</i>	12
2.6 Suscetibilidade experimental e natural de animais silvestres e sinantrópicos ao <i>Schistosoma mansoni</i>	13
2.7 Animais vertebrados: silvestres, domésticos de companhia, domésticos de produção, sinantrópicos encontrados naturalmente infectados por <i>Schistosoma spp</i>	16
2.8 O roedor <i>Nectomys squamipes</i>	18
2.9 Distribuição geográfica dos roedores silvestres <i>Nectomys rattus</i> e <i>Nectomys squamipes</i> no Brasil.....	18
2.10 <i>Nectomys squamipes</i> como hospedeiro de <i>Schistosoma mansoni</i>	21
2.11 Histórico da ocorrência da esquistossomose mansônica no Município de Sumidouro, RJ.....	23
2.11.1 A participação do roedor <i>Nectomys squamipes</i> na dinâmica da transmissão da esquistossomose mansônica no Município de Sumidouro, RJ.....	25
2.12 Alterações histopatológicas em roedores infectados com <i>Schistosoma mansoni</i>	26
2.13 Alterações bioquímicas em roedores infectados com <i>Schistosoma mansoni</i>	27
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo Geral	29
3.2 Objetivos Específicos.....	29

4 CAPÍTULO I Caracterização das alterações histológicas hepáticas e do padrão glicídico de <i>Nectomys squamipes</i> (Rodentia) encontrados naturalmente infectados por <i>Schistosoma mansoni</i> (Trematoda).....	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
1 INTRODUÇÃO.....	33
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1 Área de estudo.....	34
2.2 Coleta das amostras.....	34
2.3 Análises bioquímicas do plasma sanguíneo.....	35
2.4 Análises bioquímicas do glicogênio hepático.....	35
2.5 Análises histopatológicas do fígado.....	35
2.6 Animais de laboratório para controle.....	35
2.7 Análise estatística.....	35
3 RESULTADOS.....	36
3.1 Resultados bioquímicos.....	36
3.2 Resultados histopatológicos.....	37
4 DISCUSSÃO.....	44
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
5 CAPÍTULO II Alterações na bioquímica sérica hepática em <i>Nectomys squamipes</i> (Rodentia, Sigmondontinae) naturalmente infectados por <i>Schistosoma mansoni</i> (Trematoda, Digenea).....	51
RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	53
1 INTRODUÇÃO.....	54
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1 Coleta dos roedores.....	55
2.2 Coleta das amostras.....	55
2.3 Análises bioquímicas do plasma sanguíneo.....	55
2.4 Análises histopatológicas do fígado.....	56

2.5 Animais de biotério para controle.....	56
2.6 Análise estatística.....	56
3 RESULTADOS.....	56
3.1 Análises bioquímicas.....	56
3.2 Resultados histopatológicos.....	57
4 DISCUSSÃO.....	65
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
6 CONCLUSÕES.....	73
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose tem sido relacionada à no mínimo 14 espécies de trematódeos, desde 1984, mais dois países notificaram a existência de esquistossomose e, atualmente, está distribuída em 76 países dos continentes Americano, Africano e Asiático (WHO, 1998; 2010) (Figura 1). Esta doença é endêmica em 52 países e territórios da América do Sul, Caribe, África e região oriental do Mediterrâneo (COURA, 2005). Além das condições favoráveis do meio biótico e abiótico nas áreas endêmicas, a ocorrência também se dá em focos isolados e está associada a determinadas práticas, relacionadas ao contexto sócio-econômico, cultural e degradação ambiental das áreas rurais e peri-urbanas. Ainda a existência de hospedeiros não-humanos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Trematoda: Digenea, Schistosomatidae) tem grande interesse epidemiológico, pois estes podem participar da transmissão deste parasito e contribuir para a manutenção do ciclo epidemiológico da doença (D'ANDREA et al., 2000).

No Brasil, a esquistossomose possui extensa distribuição geográfica e afeta cerca de seis milhões de pessoas (SVS, 2011). *Schistosoma mansoni* tem sido encontrado em muitas áreas endêmicas do Brasil parasitando naturalmente animais silvestres (AMORIM, 1953; MALDONADO JR. et al., 2006), animais domésticos de companhia (cão) (KAROUM; AMIN, 1985), animais de produção (bovinos) (BARBOSA, 1962; MODENA et al., 2008) e sinantrópicos (THÉRON, 1985; THERON; POINTIER, 1995), além do homem (REY, 1993), o que caracteriza sua importância em saúde pública e médico-veterinária. A infecção esquistossomótica atinge vários hospedeiros vertebrados, como roedores silvestres e outros pequenos mamíferos. No Brasil, Amorim (1953) fez a primeira descrição de infecção natural por *S. mansoni* em roedores silvestres, encontrando o roedor *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontinae) (rato d'água ou rato lava-pés) naturalmente infectado, o que ressalta a importância de animais de hábitos semi-aquáticos na manutenção do ciclo desta parasitose.

Posteriormente, diversos trabalhos comprovaram ser *N. squamipes* um hospedeiro natural de *S. mansoni* e sem dúvida ser o principal hospedeiro definitivo não-humano no Brasil (ANTUNES et al., 1971), sendo um potencial reservatório deste trematódeo, não apenas por hospedar parasitos adultos, mas também por eliminar ovos maduros, viáveis e infectantes em suas fezes (RODRIGUES-SILVA et al., 1992; REY, 1993; MALDONADO JR. et al., 1994). A distribuição geográfica dos roedores do gênero *Nectomys* no Brasil é muito mais ampla que a distribuição da esquistossomose mansônica, porém, em muitas regiões são coincidentes. No entanto, os estudos realizados até hoje sobre estes roedores em relação a esta endemia citam apenas *N. squamipes* encontrados infectados naturalmente, com exceção de Bastos et al (1982, 1984), que mencionam *N. squamipes amazonicus* (atualmente *Nectomys rattus* Pelzen (1883)). A ocorrência de animais silvestres, particularmente pequenos mamíferos, naturalmente infectados em áreas endêmicas, apresenta-se como um fator complicador no controle das zoonoses (SOUZA et al., 1992; MALDONADO JR. et al., 1994; D'ANDREA et al., 1999; 2000; COSTA-NETO, 2006; GENTILE et al., 2006). Em certas regiões endêmicas, a prevalência da infecção esquistossomótica é maior em *N. squamipes* que em humanos (SILVA; ANDRADE, 1989; REY, 1993).

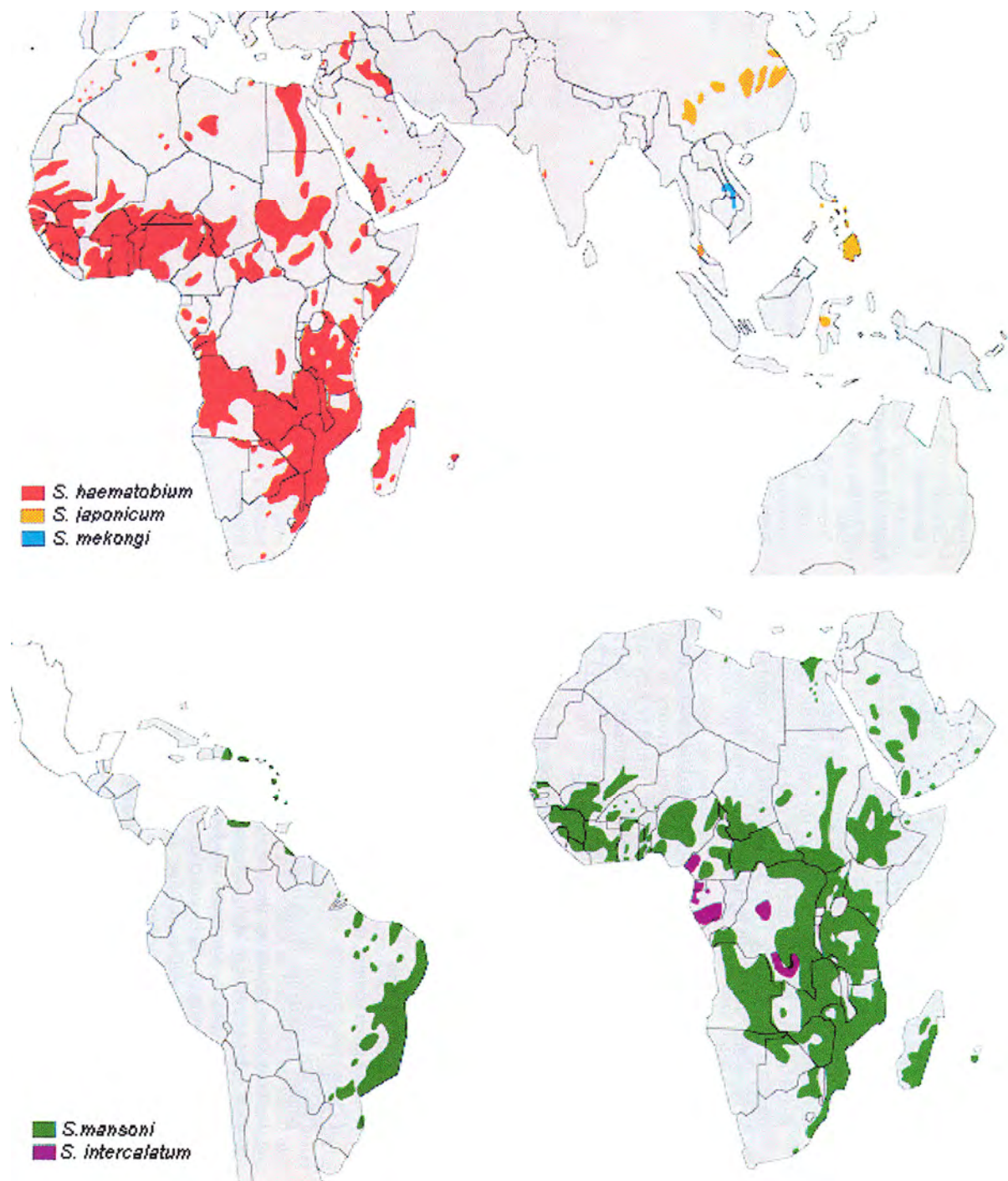


Figura 1. Distribuição global das cinco espécies do gênero *Schistosoma* responsáveis pelas esquistossomoses humanas. Fonte: WHO, 1993.

Apesar da ampla ocorrência de *S. mansoni* em animais silvestres, como *N. squamipes*, há uma grande carência de informações sobre as alterações que são desencadeadas nestes animais em função da infecção com o trematódeo em condições naturais. O uso de *S. mansoni* como modelo observacional pode facilitar o entendimento e o aprofundamento dos estudos para se descobrir respostas sobre as alterações fisiológicas e bioquímicas surgidas no hospedeiro vertebrado em decorrência da infecção com helmintos parasitos vascular.

O conhecimento de dados sobre o perfil bioquímico e sobre as alterações histopatológicas em *N. squamipes* infectado por *S. mansoni* pode fornecer informações relevantes acerca dos mecanismos fisiopatológicos desencadeados pelo parasito e, deste modo, auxiliar no desenvolvimento de ferramentas para o diagnóstico e controle deste trematódeo. Concomitantemente, estará agregando informações importantes que subsidiarão trabalhos futuros relacionados ao desenvolvimento de protocolos terapêuticos visando uma melhor qualidade de vida dos hospedeiros. O parasito apresenta um grande potencial zoonótico no Brasil, apesar da esquistossomose não ser classificada como uma zoonose. Ainda não existem informações sobre as alterações metabólicas decorrentes da infecção natural com *S. mansoni* no roedor silvestre *N. squamipes* para entender a dinâmica da relação parasito-hospedeiro.

Assim, nessa dissertação pretendemos investigar, pela primeira vez, as alterações hepáticas (histológicas e bioquímicas) no roedor silvestre *N. squamipes*, encontrado naturalmente infectado com *S. mansoni* em uma área endêmica no município de Sumidouro, no estado do Rio de Janeiro, comparando nossos resultados com aqueles de animais não-infectados de campo e criados em biotério.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Classificação Taxonômica Segundo Gibson (2002):

Reino: Animalia
Subreino: Metazoa
Filo: Platyhelminthes
Classe: Trematoda Rudolphi, 1808
Subclasse: Digenea, Carus, 1863
Ordem: Schistosomatida
Família: Schistosomatidae Poche, 1907
Gênero: *Schistosoma* Weinland, 1858
Espécie: *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907

2.2 Características Morfológicas

Schistosoma mansoni Sambon, 1907 (Trematoda: Digenea, Schistosomatidae) são trematódeos (do grego *trematódes*, furado) digenéticos (do grego *dis*, duplo; *genos*, raça), os helmintos adultos no gênero *Schistosoma* são (dióicos do grego *di*, dois; *oykos*, casa), ou seja, possuem sexos separados, acentuado dimorfismo sexual (Figura 2), sendo endoparasitos obrigatórios inteiramente adaptados ao parasitismo, e com ciclo biológico complexo, com morfologia e hospedeiros diferentes em cada fase do ciclo. Tanto o macho quanto a fêmea são cilíndricos, afinando-se nas extremidades. Ambos são de cor leitosa, sendo a fêmea geralmente mais escura por apresentar maior quantidade de pigmento sanguíneo, a hemozoína, no interior do sistema digestivo. O termo trematódeo refere-se a estruturas notáveis da superfície do corpo as ventosas. Uma delas, afunilada na extremidade anterior, dispõe-se em torno da boca é a ventosa oral, e a uma pequena distância desta uma segunda ventosa, situada ventralmente, pedunculada é particularmente bem desenvolvida e delimitada do parênquima por uma cápsula distinta, sendo atualmente denominado acetábulo, cuja função é a de fixar o parasito à parede capilar. Sob o acetábulo estes parasitos apresentam a abertura do orifício genital para o exterior. Possuem revestimento externo com sete camadas (equivalente a uma dupla membrana unitária), rica em carboidratos. Não há abertura anal nem canal de Laurer. No seu desenvolvimenmt o ontogenético há uma larva (miracídio) com células epidérmicas ciliadas organizadas em fileiras transversais regulares, com núcleos intra-epiteliais (neoderme), muitas vezes, os núcleos da epiderme estão posicionados distante, mas em espécies com lâmina basal fraca ou com pouca matriz intracelular, ocasionalmente, encontra-se mais próximo e abaixo da musculatura do corpo, substituição da epiderme larvar por uma neoderme com pericários abaixo da superfície (tegumento sincicial), ausência de radículas ciliares verticais dos cílios epidérmicos, presença de colares elétron-densos de receptores sensoriais “neodermato-símile” característicos, axonemas dos espermatozóides incorporados no corpo celular por fusão próximo-distal e incorporação de hospedeiro vertebrado no ciclo de vida. (MORRIS et al., 1985). O hospedeiro invertebrado é preponderantemente um molusco, enquanto que o hospedeiro vertebrado podem ser mamíferos suscetíveis (humanos e outros primatas, carnívoros, marsupiais, edentados, arctiodáctilos e insetívoros). Por sua vez, o termo digenético refere-se aos dois tipos de geração no ciclo de vida: (1) os esporocistos, que parasitam o hospedeiro intermediário e reproduzem-se assexuadamente, gerando a outra forma larval, chamada cercária; e (2) o adulto, que é primariamente endoparasito de vertebrados e reproduz-se sexuadamente. A fêmea possui um corpo pouco musculoso, com

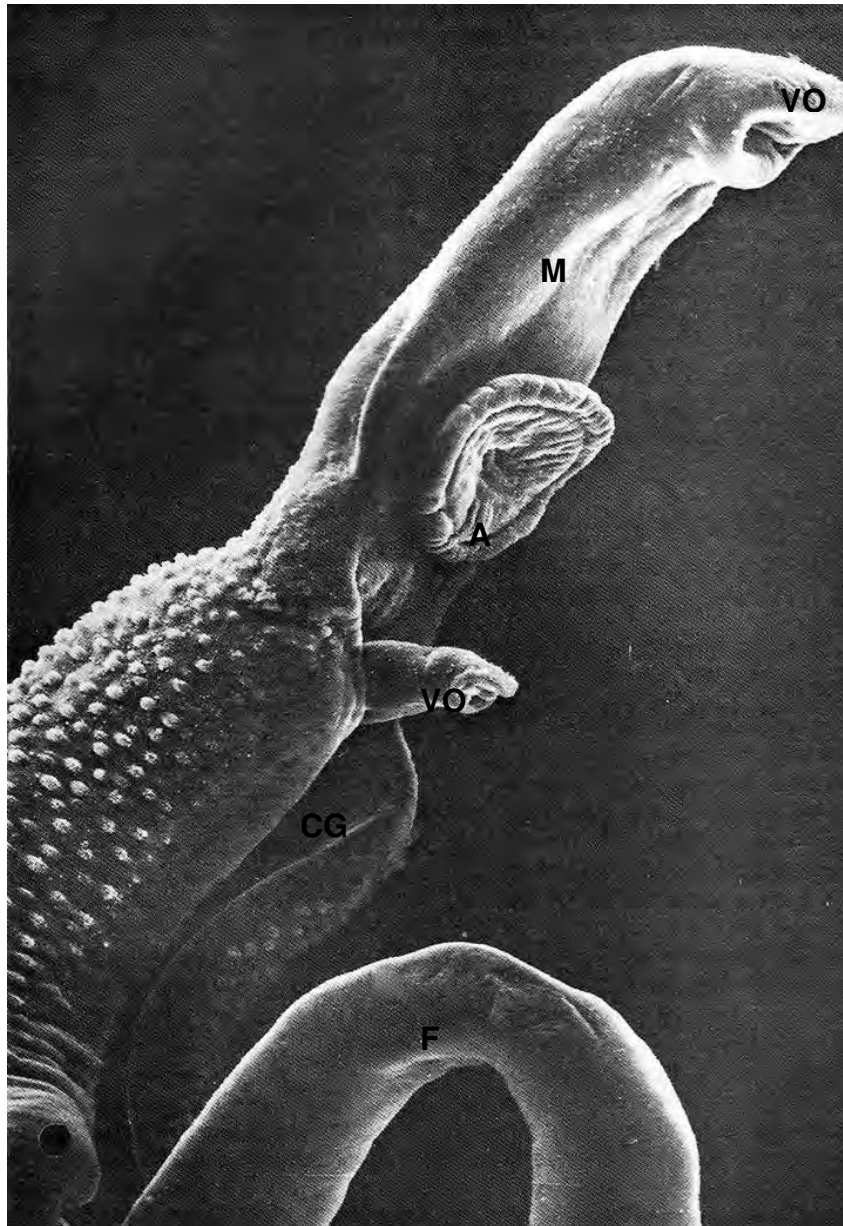


Figura 2. Casal de *Schistosoma mansoni*. M= Macho, F= Fêmea, VO= Ventosa Oral, A= Acetábulo, CG= Canal Ginecóforo. Fonte: REY, 2008.

menos parênquima e faringe reduzida; isso dificulta a sua migração intravascular e a sua digestão. O macho é o oposto, ele abriga a fêmea no seu canal ginecóforo, diminuindo o contato dela com sistema imunológico do hospedeiro, além de transportá-la pela vasculatura hepático-intestinal; os machos aproveitam para inseminar constantemente as fêmeas. Além disso, a musculatura desenvolvida do macho auxilia no processo digestório da fêmea, através de inúmeras contrações. Com uma menor quantidade de tecidos, as reservas energéticas das fêmeas ficam direcionadas para a produção de ovos e o tamanho mais delgado permite que elas atinjam vasos de menor calibre, para ovipor. A oviposição em vasos pequenos, aumentam as chances dos ovos abandonarem o território vascular e atingirem a luz intestinal (CUNHA,

1970; REY, 2008). Os helmintos contam com a ajuda dos hospedeiros, através das células endoteliais que revestem as vênulas usando-as ativamente para mover os ovos dos helmintos para a luz intestinal. Damian (1985) e Doenhoff (1987) relataram que o helminto usa a resposta imune do hospedeiro para o transporte do seu ovo para o lúmen intestinal. O ovo extravasado estimula a formação de um granuloma em torno dele, constituído de células móveis (como eosinófilos, células plasmáticas e macrófagos). Então o granuloma move-se para o lúmen intestinal, levando o ovo com ele. Os granulomas dispersam os ovos que são excretados com as fezes. Cerca de dois terços dos ovos não fazem isso e ocorre um grande acúmulo de ovos na parede do intestino, particularmente em casos crônicos. Em outros casos os ovos nunca são expulsos das vênulas, mas são varridos pelo sangue, acabando por ser lavados aos capilares hepáticos. Sendo assim, por vezes, os ovos atingem o exterior por meio das fezes, e estão completamente embrionados e eclodem quando expostos à menor osmolaridade de água doce.

2.2.1 Macho de *Schistosoma mansoni*

O macho mede cerca de 10 mm de comprimento (6 a 14 mm) por 1,1 mm de largura, na região testicular a largura do corpo é variável, geralmente entre 2,1 a 5,5 mm, apresenta acentuada curvatura ventral. A parte anterior do corpo é curta e aproximadamente cilíndrica, encontrando-se nela as duas ventosas. A ventosa oral varia de 1,6 a 2,4 mm de comprimento por 1,6 a 2,8 mm de largura e o acetábulo 2,1mm a 3,1 mm de comprimento por 1,7 a 3,0 mm de largura. A distância entre a extremidade anterior da ventosa oral e anterior acetabular varia de 3,4 a 5,7 mm. Um segmento posterior ao acetábulo, anterior as duas ventosas é cilíndrico e mais fino que a porção posterior, este por sua vez, é mais longo, largo e achatado dorsoventralmente, porém enrolado de maneira a formar uma calha ou tubo longitudinal formando com as suas margens justapostas e curvadas ventralmente, o canal ginecóforo, pois é nele onde fica alojado a fêmea. Por não possuir órgão copulador (cirro) ou qualquer outro sistema intromissor, o esperma do macho é derramado no canal ginecóforo, penetrando no orifício vaginal da fêmea que se encontra ali alojada. O aparelho genital masculino é de cor branca com menos de 10 (6 a 8) massas ou lobos testiculares pequenos ramificados, situados dorsalmente ao nível do canal ginecóforo, abaixo do acetábulo; variando de 0,40 a 1,10 mm de comprimento e 0,48 a 1,32 mm de largura. Os lobos são intercomunicados e os espermatozoides dirigem-se para a vesícula seminal através de um canal deferente único antes de atingirem o exterior pelo orifício genital (KASTNER et al., 1975; KOHN et al., 1979; PARAENSE; CORREA, 1981; HIRSCH, 1986; MACHADO-SILVA et al., 1994; 1995; 1998; CONCEIÇÃO et al., 2000; MARTINEZ et al., 2003; OLIVEIRA, et al., 2003).

2.2.2 Fêmea de *Schistosoma mansoni*

A fêmea tem o corpo cilíndrico, mais longo (comprido) e mais fino (filiforme) que o macho (6 a 17 mm de comprimento por 0,16 mm de diâmetro), sendo mais escura e acinzentada, com largura ao nível de ovário variável, geralmente entre 0,56 a 2,2 mm. As duas ventosas são pequenas, variando de 0,67 a 1,08 mm de comprimento e 0,56 a 0,90 mm de largura a ventosa oral. A ventosa ventral mede de 0,48 a 0,70 mm de comprimento por 0,36 a 0,66 de largura. A distância entre as ventosas varia de 1,4 a 3,0 mm de comprimento.

O aparelho genital feminino possui um ovário oblongo, ligeiramente lobado, e fica na metade anterior do corpo. O ovário mede em seu comprimento de 0,33 a 0,58 mm e na sua largura de 0,07 a 0,14 mm. Os poros excretores localizam-se posteriormente, o poro genital feminino, por onde saem os ovos, abre-se ventralmente, pouco atrás do acetábulo, e serve também para a cópula, esse oviduto é curto e conduz ao oótipo, que se continua com o tubo uterino. Neste encontram-se 1 ou 2 ovos, raramente 3 ou 4, o comprimento do ovo uterino varia de 0,094 a 0,179 mm e com largura oscilando entre 0,04 a 0,076 mm. O espinho ou

espículo do ovo possui a variação de 0,023 a 0,034 mm de comprimento. Os dois terços posteriores do corpo estão ocupados pelas glândulas vitelogênicas e seu canal sinuoso, que se une ao oviduto pouco antes de alcançar o oótipo (KASTNER et al., 1975; KOHN et al., 1979; PARAENSE; CORREA, 1981; HIRSCH, 1986; MACHADO-SILVA et al., 1994; 1995; 1998; CONCEIÇÃO et al., 2000; MARTINEZ et al., 2003; OLIVEIRA, et al., 2003).

2.3 Esquistossomose mansônica no Brasil

A introdução de *S. mansoni*, agente causador da esquistossomose mansônica, (intestinal ou bilharziose em homenagem a Theodor Bilharz, que identificou pela primeira vez os parasitos no Egito em 1851). No Brasil e no continente Americano, ocorreu, provavelmente, nos séculos XVI, XVII e XVIII, durante o período de colonização, através principalmente do intenso movimento migratório de escravos proveniente da África, para trabalhar no cultivo da cana de açúcar, fumo, café e nas minas de ouro (REY, 1993; SNYDER; LOKER, 2000). Esses escravos procediam das mais diversas regiões do Continente Africano (MAGALHÃES, 1970), estima-se em 15 milhões de escravos migraram até meados do século XIX. O novo parasito estabeleceu-se, inicialmente nos portos de entrada do comércio escravagista e nas áreas agrícolas vizinhas, principalmente nas plantações, na Costa do Brasil, desde São Luiz do Maranhão até São Vicente (São Paulo). Daí distribui-se para o interior do país com a exploração das minas de ouro e novas áreas de agricultura (REY, 1993; KATZ, 1997). Estudos filogenéticos, com base em biologia molecular (FLETCHER et al., 1981; DIAS-NETO, 1994; MORGAN et al., 2003; 2005), reforçam esta hipótese de origem no continente Africano e da introdução recente desta parasitose na América do Sul. O parasitismo humano por *S. mansoni* parece ser decorrente de uma linhagem de parasitos que evoluiu anteriormente em roedores (COMBES, 1990). Admite-se que esta espécie tenha surgido na Ásia e migrado para a África (SNYDER; LOKER, 2000). Desde então, o seu controle tornou-se um dos principais desafios para os serviços públicos de saúde (COURA, 1995). Apesar do êxito dos programas de controle da esquistossomose, não houve mudança quanto à estimativa global, pois se trata de uma parasitose crônica que afeta 200 milhões de pessoas no mundo (10% destes severamente infectados), das quais 88 milhões são crianças com menos de 15 anos de idade (WHO, 2010), 120 milhões de pacientes sintomáticos (CHITSULO et al., 2000), ainda existem outras 652 milhões sob o risco de contrair esta infecção (CHITSULO et al., 2000). Estando entre um dos mais importantes problemas de saúde pública, esta endemia encontra-se ainda em expansão em muitas regiões do mundo (WHO, 2010). Uma das razões para isto estar ocorrendo é o crescimento contínuo da população nos países em desenvolvimento, onde a doença é endêmica. Contribuem ainda para este quadro a degradação ambiental (SABROZA; LEAL, 1992) através de fatores como: sistemas de irrigação associados ao desenvolvimento de reservas de água doce adequado à vida dos moluscos; ausência de água potável domiciliar e água encanada domiciliar; presença de hospedeiros intermediários; movimentos migratórios das populações de área de risco em busca de melhores condições de vida, alimentada com o sonho de melhores salários, aumentando a densidade populacional na periferia das grandes cidades; falta de saneamento básico; programas de controle e prevenção; educação sanitária deficiente; desenvolvimento ambiental e sócio-econômico sem planejamento ou infra-estrutura, atividades de agricultura e lazer relacionadas ao foco de transmissão em áreas de baixa renda, analfabetismo e residência em área endêmica por mais de cinco anos, contribuem para o crescimento e disseminação da doença (COURA-FILHO et al., 1994). Uma reavaliação recente do impacto da doença indica que a esquistossomose é a segunda doença parasitária em causa de mortes prematuras, perdendo apenas para a malária (CHITSULO et al., 2004). A gravidade que assume a doença em muitos casos e o déficit orgânico que produz, fazem da esquistossomose um dos mais sérios problemas de saúde pública, em escala mundial, e pesado fardo para as populações das áreas endêmicas.

No Brasil, a esquistossomose mansônica ou intestinal conhecida popularmente por xistossomose, xistosa ou doença dos caramujos, assim como por “barriga d’água”, representa um grave problema sanitário para os serviços de saúde pública, sendo que no ano de 1990, cerca de 30 milhões de indivíduos corriam o risco de contrair a infecção por *S. mansoni* (OMS, 1993).

Atualmente, a área de transmissão da infecção esquistossomótica no território brasileiro compreende 19 das 27 unidades federais, concentrando-se as maiores prevalências em Municípios dos estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe, seguidos por Bahia e Paraíba. Em Minas Gerais encontram-se áreas de altas e médias endemicidade para esquistossomose. As áreas endêmicas limitadas e focos isolados da doença são encontrados tanto nos estados citados acima como no Pará, Goiás, Distrito Federal, Piauí, Rio Grande do Norte, Maranhão, Ceará, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (REY, 2008) e Rio Grande do Sul (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 1999). As áreas endêmicas estão distribuídas em áreas complexas e com peculiaridades, desde áreas de alta, média e baixa prevalência e em focos isolados, apesar das recorrentes medidas de controle da doença executadas até hoje. Estima-se que esta parasitose atinja de 6 a 8 milhões de pessoas em todo território nacional (AMARAL; PORTO, 1994; SVS, 2011) (Figura 3), já Coura e Amaral (2004) estimam um número populacional bem maior cerca de 15 milhões, as taxas de mortalidade oscilam em torno de 500 óbitos por ano (SVS, 2008).



Figura 3. Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil. Fonte: REY, 2008.

A Organização Mundial de Saúde em 1993 notificou a expansão da esquistossomose mansônica nas regiões Nordeste, Sul e Sudeste do Brasil. No entanto, apesar da esquistossomose por *S. mansoni* ser classificada como uma "endemia rural" existem frequentes relatos da doença em áreas urbanizadas, em diferentes localidades do país. Mott et al. (1990) relataram o surgimento de novas áreas de transmissão em zonas rurais e urbanas. Este fato foi evidenciado por Guimarães et al. (1993) que confirmaram a existência dos focos urbanos da parasitose em Belo Horizonte, Minas Gerais. No Rio de Janeiro, Soares et al. (1995), trabalhando no município de Paracambi, observaram que a urbanização inadequada estaria tanto facilitando a transmissão, e fomentando a intensidade da infecção pelo *S. mansoni*. O aparecimento de planorbídeos em áreas totalmente urbanizadas nos chamados "Criadouros do Asfalto" (GUIMARÃES et al., 1990) são fatores que muito contribuem para o processo de urbanização da esquistossomose como, por exemplo, os pequenos lagos artificiais

cimentados de parques e jardins, dentre outros somados à migração da população rural, para os grandes centros urbanos em busca de melhores condições de vida, muitas vezes já infectados pelo parasito (RIBEIRO, 1998). Trabalhando em Porto Alegre, RS, Graeff-Teixeira et al. (1999) encontraram um foco de urbano de esquistossomose.

Para que a sequência da cadeia epidemiológica da esquistossomose ocorra, é necessário, além de condições favoráveis do meio biótico e abiótico, que o homem contribua para isto através de seu comportamento e do contexto sócio-econômico em que está inserido. As deficiências no abastecimento de água e no saneamento básico no Brasil contribuem para a facilitação da ocorrência desta parasitose no ambiente (RIBEIRO, 1998).

Schistosoma mansoni infecta os seres humanos e outras espécies de mamíferos, por isso apresentam interesse em saúde pública e médico-veterinária. Estes animais, em geral roedores silvestres e, raramente, marsupiais, que entram em contato com coleções de água doce onde existe a presença de moluscos que servem como hospedeiros intermediários estão mais propícios a se infectar. Ao longo desse processo evolutivo, foram selecionadas subpopulações devido ao desenvolvimento do helminto em diversas ordens de vertebrados e espécies de moluscos (FRANDSEN, 1979; PITCHFORD, 1979). Estes moluscos do gênero *Biomphalaria*, família Planorbidae foram encontrados naturalmente infectados no Brasil. As espécies mais importantes são: *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (distribuída por todo país), *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848 (hospedeiro mais importante do Nordeste) e *Biomphalaria tenagophila* D'Orbigny, 1835 (ocorre no Rio de Janeiro e São Paulo) (WHO, 1993, REY, 2008). A distribuição dessas espécies de moluscos atinge a maioria dos estados brasileiros (PARAENSE, 1986) (Figura 4).



Figura 4. Distribuição das espécies de moluscos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* nos estados brasileiros. *B. glabrata*=*Biomphalaria glabrata*; *B. tenagophila*=*Biomphalaria tenagophila*; *B. straminea*=*Biomphalaria straminea*. Fonte: PARAENSE, 1986.

2.4 Características patológicas

Os helmintos normalmente determinam uma infecção assintomática ou oligossintomática, a depender principalmente da carga parasitária e de características do hospedeiro; o quadro inicial é geralmente discreto, com exantema (erupções cutâneas), prurido (coceira) e outras manifestações alérgicas locais, devido à penetração das cercárias. Com o tempo (cerca de oito dias após a infecção), os helmintos começam a atingir o sistema porta hepático e amadurecem. Febre (aumento da temperatura corporal), eosinofilia (aumento da taxa de eosinófilos no sangue), linfadenopatia (inflamação dos linfonodos), esplenomegalia (aumento do volume do baço) e urticária (lesão cutânea, causada por edema localizado) podem se manifestar. O fígado pode aumentar também de tamanho (hepatite difusa).

Ulcerações necróticas hemorrágicas da mucosa disseminam-se por todo o intestino. Com a produção continuada de ovos, lesões nodulares (granulomas) levam a extensa fibrose do fígado e outros órgãos, como o baço. Casos graves exibem fibrose peri-portal, hipertensão porta e hepatoesplenomegalia, com acentuado comprometimento do funcionamento dos órgãos. Lesões cardiopulmonares, renais e neurológicas também podem ocorrer devido à embolização de ovos para tais regiões. O rompimento de varizes esofagianas pode causar o óbito do paciente (REY, 2008).

2.5 O ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*

O trematódeo *S. mansoni*, possui um ciclo de vida composto de uma fase larval desenvolvida num hospedeiro intermediário (molusco planorbídeo) e uma fase adulta que se desenvolve no hospedeiro definitivo, o homem (Figura 5) e, eventualmente, em outros mamíferos como roedores silvestres.

Os helmintos desenvolvem sua fase adulta como parasito da luz dos vasos sanguíneos do homem e de outros mamíferos, onde se reproduzem sexuadamente, habitando preferencialmente as vênulas do plexo hemorroidal superior e os ramos mais finos das veias mesentéricas, onde põem seus ovos. Os ovos do parasito, que são colocados pelas fêmeas nos vasos sanguíneos da parede do intestino, atravessam a mucosa intestinal do hospedeiro definitivo sendo eliminados juntamente com as fezes, e quando chegam em tempo útil a uma coleção de água doce superficial os miracídios eclodem (embriões ciliados). Estes, por sua vez nadam ativamente até o encontro e penetração em um molusco (Planorbídeo). No hospedeiro intermediário, passam por transformações morfológicas e um processo de multiplicação assexuada, onde ocorrem pelo menos três estágios de vida, com a penetração do miracídeo, formação de esporocistos primários e esporocistos secundários que culminam na produção das cercárias (formas infectantes). Estas são eliminadas na água, deixando o molusco, nadam até o encontro e penetração no hospedeiro definitivo por ação lítica e mecânica. Ao penetrarem, através da pele, as cercárias perdem a cauda dando origem aos esquistossômulos e atingem os vasos linfáticos ou venosos, alcançando o coração e fazendo um ciclo pulmonar antes de voltar à circulação geral e chegar ao sistema porta, os esquistossômulos se desenvolvem em helmintos adultos machos e fêmeas, e copulam no canal ginecóforo do helminto macho, onde acontece por razões fisiológicas, após se acasalarem a fêmea libera os ovos na corrente sanguínea, que são carregados passivamente até ficarem retidos e migrarem do sistema porta para as vênulas da mucosa, submucosa intestinal e o plexo hemorroidal, onde a maioria permanece e vão desovar. Os ovos podem ser detectados nas fezes 40 dias após a infecção (REY, 2008).

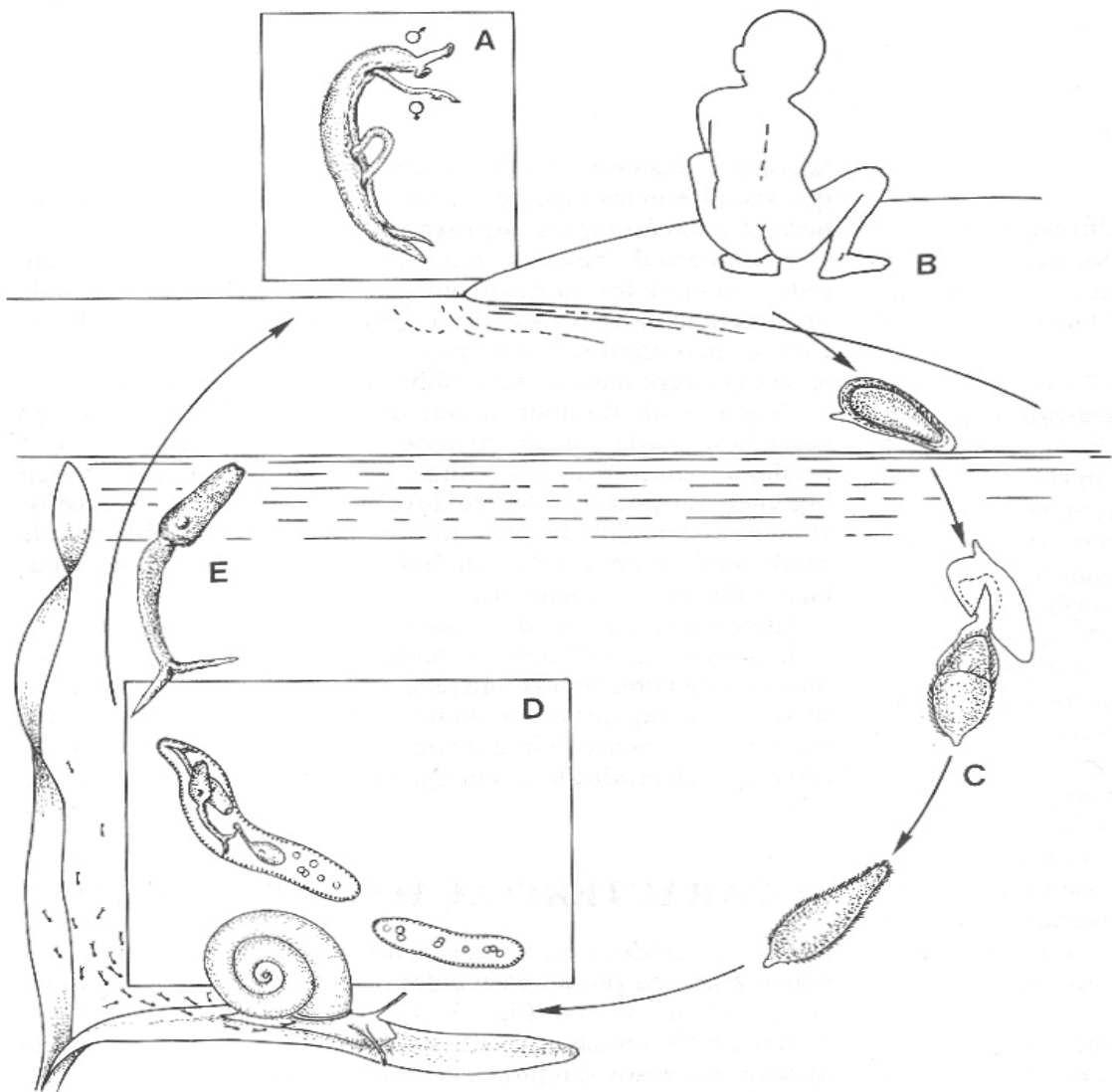


Figura 5. Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*. A – Helmintos adultos acasalados no hospedeiro definitivo, B – eliminação dos ovos nas fezes, C – eclosão do miracídio que penetra depois no molusco hospedeiro intermediário, D – no molusco ocorre o desenvolvimento dos esporocístos primário e secundário, E – cercárias em busca do hospedeiro definitivo. Fonte: REY, 2008.

2.6 Suscetibilidade experimental e natural de animais silvestres e sinantrópicos ao *Schistosoma mansoni*

Além do homem, há vários outros animais vertebrados existentes nas áreas endêmicas, contraindo também a infecção esquistossomótica, que esta parasitando diversas espécies de mamíferos, tendo em vista as altas taxas de prevalência e a constante poluição das águas de superfície. Os mamíferos silvestres, devido ao seu comportamento e hábitos alimentares, podem ser reservatórios potenciais de graves zoonoses (GOMES et al., 1992). A importância de reservatórios não-humanos de zoonoses começou a ser valorizada no século XVIII, quando foi estabelecida a inter-relação entre a vida animal e o ambiente (SILVA; PERREIRA, 1967).

Entretanto, é a partir da década de cinquenta que se tornaram mais frequentes as identificações de espécies de animais hospedeiros parasitados, tanto na África como nas Américas, alguns estudos demonstraram a eliminação de ovos viáveis nas fezes, especialmente de roedores, confirmando que este helminto não ocorria exclusivamente na espécie humana.

No Brasil, existe uma extensa lista de espécies de roedores e marsupiais em que se constatou a infecção natural (*Oxymycterus* sp.; *Bolomys* sp.; *Akodon* sp.; *Oryzomys* sp.; *Calomys* sp.; *Proechimys* sp.; *Rattus rattus*; *Rattus norvegicus*; *Didelphis* sp. e *Lutreolina crassicaudata*), cujas taxas de infecção apresentam larga variação, estando na maior parte dos casos abaixo dos 15% de infecção. Outros dois roedores, *Nectomys* sp. e *Holochilus* sp., destacam-se por apresentarem altos percentuais de infecção, acima de 30% (em 76% dos casos registrados para *Nectomys* sp. e em 67% dos casos para *Holochilus* sp) (REY, 1993). Os percentuais de infecção registrados para o preá (*Cavia aperea*) são também bastante elevados, porém esta espécie apresenta a particularidade de não eliminar ovos viáveis nas fezes, não apresentando, portanto, interesse epidemiológico (BARRETO et al., 1964; DIAS et al., 1978).

Desde o início dos anos 50, foi demonstrado que a infecção esquistossomótica não era exclusiva da espécie humana, já que o *S. mansoni* era também encontrado, em roedores silvestres ou peri-domiciliares, que estivessem em maior ou menor sinantropia com a população humana (AMORIM, 1953; BARBOSA et al., 1953). Tais achados foram o ponto de partida para a avaliação do papel destes pequenos mamíferos silvestres ou peri-domiciliares, na ecologia da transmissão da esquistossomose (AMORIM et al., 1954). Os levantamentos eco-epidemiológicos apresentados nas décadas seguintes, demonstraram uma ampla distribuição da parasitose nos roedores, entretanto, indicavam que esses animais, tinham importância secundária na epidemiologia desta parasitose (MELLO, 1991).

Na África, Kuntz (1952) no Egito e Schwetz (1952; 1953; 1954) no Congo, realizando estudos semelhantes quase que ao mesmo tempo, estavam descrevendo espécies de roedores silvestres que poderiam ser hospedeiros naturais do *S. mansoni*. A partir destes primeiros relatos, simultâneos, de infecção esquistossomótica natural de roedores na África e no Brasil, vários outros autores propuseram-se a avaliar a importância da participação de animais silvestres naturalmente infectados no ciclo da esquistossomose mansônica na natureza (AMORIM, 1953; 1962a; 1962b; AMORIM et al. 1954; BARBOSA et al., 1958; DIAS et al., 1978; CARVALHO, 1982; BASTOS et al., 1982; 1984; RODRIGUES-SILVA, 1988; RODRIGUES-SILVA et al., 1992; SOUZA et al., 1992, D'ANDREA et al. 1999; 2000; GENTILE et al., 2006).

Alguns animais, como *C. aperea* (MARTINS et al., 1955; BARRETO et al., 1964; SANTOS, 1972) e *R. norvegicus* (MARTINS et al., 1955; BARRETO, 1959), apesar de terem sido encontrados parasitados com índices de infecção bastante elevados, não apresentam importância epidemiológica, pois não são capazes de eliminar ovos viáveis nas fezes (BARRETO, 1959).

Barbosa et al. (1958) estudaram a infecção natural e experimental de alguns mamíferos, roedores hospedeiros com infecção natural demonstraram que alguns, dentro das diversas ordens dos dentados, também podem ser excelentes hospedeiros.

Pitchford e Visser (1960) encontraram duas espécies de mamíferos (*Saccostomus campestris* e *Steatomys pratensis*) naturalmente infectados na África do Sul com *Schistosoma mansoni* var. *rodentorium*. Já em 1962 ambos relataram três espécies de roedores infectados com *Schistosoma* não sendo capazes de manter o ciclo, sem que houvesse participação humana.

Piva e Barros (1966) encontraram no estado de Sergipe, animais domésticos e *N. squamipes* naturalmente infectado por *S. mansoni* com prevalência de 26,1%.

Borda (1972) avaliou a suscetibilidade experimental de *N. squamipes*, *Oryzomys subflavus*, *Zygodontomys lasiurus* e *R. norvegicus*, observando que o roedor *N. squamipes* é

que constitui o melhor hospedeiro para o *S. mansoni* com possível influência na epidemiologia da transmissão da esquistossomose.

No Egito, segundo Mansour (1973) o roedor do gênero *Arvicanthis* (Rato do Nilo) foi encontrado naturalmente infectado com *S. mansoni*, eliminando ovos viáveis nas fezes, participando como reservatório naquela região.

Antunes et al. (1973) e Carvalho et al. (1976) conseguiram completar em condições semi-naturais, o ciclo do *S. mansoni* em *N. squamipes* e *Holochilus brasiliensis* na ausência de contaminação com fezes humanas.

Em Guadalupe, Combes et al. (1975a; 1975b) sugeriram que os roedores sinantrópicos *R. rattus* e *R. norvegicus*, poderiam influenciar na dinâmica de transmissão da esquistossomose, com possibilidade de contaminação humana.

O roedor *H. brasiliensis* em condições semi-naturais foi capaz de eliminar ovos viáveis de *S. mansoni*, entretanto, não foi capaz de completar o ciclo de transmissão quando o hospedeiro intermediário era *B. tenagophila*, mas pode apresentar importante papel de disseminador de ovos onde o hospedeiro intermediário era *B. glabrata*, mesmo na ausência de humanos parasitados (KAWAZOE; PINTO, 1983).

Um estudo pioneiro feito em Guadalupe nos anos 80 foi o primeiro a demonstrar que num foco silvestre apenas o roedor *R. rattus*, era responsável pela manutenção do ciclo da esquistossomose; e que num foco semi-urbano, ambos, roedores e humanos, eram igualmente responsáveis pela manutenção do ciclo parasitário (THÉRON, 1984; 1985 THÉRON; PONTIER 1985; 1995).

Em 1985, em outra área endêmica no Sudão, Karoum e Amin avaliaram a infecção natural de bovinos, caprinos, e canídeos, onde só dois animais (bovinos) apresentaram fêmeas adultas de *S. mansoni* com ovos.

Em condições semi-naturais, *N. squamipes* mostrou ser capaz de completar o ciclo de transmissão do *S. mansoni* e eliminar ovos viáveis com grande capacidade de infectividade (PICOT, 1992).

Maldonado Jr et al. (1994) avaliou a resistência na infecção por *S. mansoni* em *N. squamipes* através da re-infecção destes hospedeiros naturais, comparando o número total de helmintos adultos recuperados destes com um grupo controle, concluindo que não houve redução na infectividade, confirmando o papel deste roedor como modelo experimental para esta parasitose.

Lenzi et al. (1995) observaram que *Calomys callosus* eram menos suscetíveis ao *S. mansoni* que ratos albinos expostos ao mesmo tempo de infecção.

Existem diversos estudos experimentais utilizando-se roedores dos gêneros *Nectomys* e *Holochilus* que mostraram serem estes bons modelos alternativos para o estudo da infecção por *S. mansoni*, por apresentarem alta suscetibilidade a infecções e serem de fácil adaptação e manuseio em condições de laboratório (D'ANDREA et al., 1996).

Ribeiro (1998) avaliou a suscetibilidade dos roedores *N. squamipes* e *Nectomys rattus* Pelzen (1883) à infecção esquistossomótica experimental. Com base em aspectos parasitológicos, concluiu que estes roedores apresentam alta suscetibilidade ao *S. mansoni*. O roedor silvestre *N. squamipes* apresentou elevadas taxas de infecção, com positividade de 80%. Já o roedor silvestre *N. rattus* foi capaz de completar o ciclo do parasito em condições experimentais, apresentando alta taxa de positividade de 71% (RIBEIRO et al., 1998).

Costa-Silva (2000), estudando *N. squamipes* observou que o roedor apresenta-se como hospedeiro suscetível a diferentes cepas, confirmando seu potencial como possível reservatório natural em algumas áreas endêmicas. Podendo ser utilizado como modelo experimental no estudo morfológico com objetivo de caracterizar cepas de *S. mansoni*.

Martinez et al. (2008) compararam características biológicas de quatro cepas de *S. mansoni* utilizando o roedor *N. squamipes* como modelo experimental. Uma vez que não

foram observadas diferenças entre as cepas nos parâmetros biológicos da infecção no rato, concluiu-se que o *N. squamipes* é suscetível à infecção por várias cepas de *S. mansoni*.

2.7 Animais vertebrados: silvestres, domésticos de companhia, domésticos de produção, sinantrópicos encontrados naturalmente infectados por *Schistosoma* spp

Um fator complicador na cadeia epidemiológica da esquistossomose para os programas de controle é a presença de populações de animais silvestres, domésticos de companhia, domésticos de produção e sinantrópicos naturalmente infectados em muitas áreas endêmicas (NELSON, 1960; BARBOSA, 1962; KAROUM; AMIN, 1985; PICOT, 1992; REY, 1993; ALARCÓN DE NOYA et al., 1997; MORAND et al., 1999; DUPLANTIER; SENE, 2000; MODENA et al., 2008). *Schistosoma mansoni* infecta os seres humanos e outras espécies de mamíferos, em geral roedores silvestres e, raramente, marsupiais, que entram em contato com coleções de água doce onde existem moluscos que servem como hospedeiros intermediários. Estes moluscos do gênero *Biomphalaria*, família Planorbidae foram encontrados naturalmente infectados no Brasil.

Os esquistossomas de vertebrados constituem um grupo de trematódeos digenéticos que parasitam diversas taxas de mamíferos. Sua distribuição geográfica estende-se até a Ásia, América do Sul e algumas ilhas do Caribe. É na África, porém, onde os esquistossomas manifestam sua maior diversidade, compondo diferentes situações epidemiológicas. O grau de especificidade em relação ao hospedeiro é geralmente fraco, podendo ser relacionado, de maneira geral, a roedores (*Schistosoma rodhaini*, *S. mansoni* var. *rodentorum*) (SCHWETZ, 1952); a ungulados (*Schistosoma curassoni*, *Schistosoma bovis* e *Schistosoma leipiri*) e outros como *S. mansoni*, *Schistosoma hematobium*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma mekongi*, considerados como esquistossomas do homem (REY, 2008). Porém, dependendo das condições epidemiológicas e epizooticas, os esquistossomas podem infectar outros mamíferos além de seus hospedeiros naturais.

Em 1914 (TAKEGAWI) encontrou suínos, canídeos e bubalinos naturalmente infectados pelo *S. japonicum*, afirmando a importância dos hospedeiros não-humanos na participação desta parasitose. Já Cameron (1928), encontrou hospedeiro não-humanos com *S. mansoni*, no qual constatou um mamífero silvestre naturalmente infectado, o *Cercopithecus sabaus*, um macaco africano introduzido na ilha de Santa Kitts, nas Antilhas, numa área endêmica da esquistossomose humana. Este autor, baseando-se em dados experimentais, sugeriu a participação de roedores na transmissão, prevendo complicações nas medidas de controle da esquistossomose.

Animais vertebrados naturalmente infectados das ordens Primata, Carnivora, Marsupialia, Artiodactyla e Rodentia já foram encontrados no Brasil (AMORIM, 1953, 1954, 1962a, b; BARBOSA, 1962; PIVA; BARROS, 1966; COELHO et al., 1982; RODRIGUES-SILVA et al., 1992; D'ANDREA et al., 1999, 2000, 2002; GENTILE et al., 2000, 2006).

Na África do Sul duas espécies de mamíferos (*S. campestris* e *S. pratensis*) foram encontradas naturalmente infectadas com *S. mansoni* var. *rodentorium* (PITCHFORD; VISSER, 1960). Ambos em 1962 relataram que três espécies de roedores infectados com *Schistosoma* não seriam capazes de manter o ciclo, sem que houvesse a participação humana.

Piva e Barros (1966) no nordeste brasileiro encontraram infecção natural em animais silvestres e domésticos pelo *S. mansoni*.

Em 1972, Borda testou a suscetibilidade experimental de *N. squamipes*, *O. subflavus*, *Z. lasiurus* e *R. norvergicus*, apurando que o roedor *N. squamipes* é o melhor hospedeiro silvestre para o *S. mansoni* com possível influência na epidemiologia da transmissão da esquistossomose.

Na África, segundo Mansur (1973) o roedor do gênero *Arvicanthis* (Rato do Nilo) capturado naturalmente infectado com *S. mansoni*, eliminando ovos viáveis nas fezes, participando ativamente como reservatório silvestre naquela região.

Antunes et al. (1973), mesmo na ausência de contaminação com fezes humanas, conseguiram completar em condições semi-naturais, o ciclo do *S. mansoni* em *N. squamipes* e *H. brasiliensis*.

Combes et al. (1975a, 1975b) em Guadalupe sugeriram que os roedores sinantropicos *R. rattus* e *R. norvegicus*, poderiam interferir participando na dinâmica de transmissão da esquistossomose, com possibilidade de contaminação humana.

Neste estudo foi mostrada a capacidade potencial de *Holochilus* sp. como reservatório de *S. mansoni*, não apenas por hospedar parasitas adultos, mas também por eliminar ovos maduros em suas fezes (Dias et al. 1978). Carvalho et al. (1976) conseguiram fechar o ciclo do *S. mansoni* sem direta participação humana em condições semi-naturais, utilizando indivíduos de *H. brasiliensis* e *Biomphalaria glabrata* infectadas com uma cepa humana.

Coelho et al. (1982) enfatizaram que espécies bovinas poderiam participar permanentemente da transmissão do *S. mansoni* em uma das áreas de estudo em Minas Gerais, Brasil, eliminando ovos viáveis nas fezes.

Um estudo epidemiológico do *S. japonicum* em cães e suínos de dois municípios de Leyte, Filipinas, mostrou que cães têm um papel importante em manter a transmissão do parasito, devido a um potencial alto e estreito pelo contato habitual desses animais com humanos (FERNANDEZ et al., 1982).

Animais domésticos e silvestres foram examinados para infecção natural com *S. mansoni* em Geriza do Norte, Sudão, não desempenharam papel importante na transmissão do *S. mansoni* nesta área (KAROUM; AMIN, 1985).

Yang et al. (2000), que investigou o papel dos roedores na transmissão da esquistossomose em áreas endêmicas, na província de Yunnan, encontraram roedores, humanos, bovinos, equinos e suínos infectados com *S. japonicum*.

Em 2005 Wang et al., realizaram um estudo transversal para determinar a prevalência e intensidade de *S. japonicum* em humanos, bovinos, bubalinos, equinos, suínos, caprinos, cães e felinos em duas aldeias na província de Anhui, na China.

Wang et al. (2006) em cinco aldeias em torno do rio Yangtzeina província de Anhui, China, caracterizaram o genótipo de miracídios coletados de humanos, bubalinos, bovinos, caprinos, suínos, cães e felinos, que apresentaram a primeira evidência de hospedeiros definitivos baseado na variação genética em *S. japonicum*.

Gentile et al. (2006) estudaram a dinâmica populacional do roedor *N. squamipes* em Sumidouro, RJ (Figura 6) observaram que os índices de infecção esquistossomótica das populações do rato d'água e suas variações ao longo do tempo, e também foi feita uma comparação dos métodos de diagnóstico de *S. mansoni* coprológico e sorológico. A infecção esquistossomótica não afetou a dinâmica da população do *N. squamipes* e, portanto, parece não exercer papel regulador da abundância deste roedor (COSTA-NETO, 2006).

Riley et al. (2008) caracterizaram a dinâmica de transmissão do *S. japonicum* em um extenso estudo de campo em cinquenta aldeias na província de Samar, nas Filipinas, onde hospedeiros humanos e não-humanos (cães, felinos, suínos, bubalinos e roedores).

Modena et al. (2008) levantaram a possibilidade de que, em áreas rurais, os animais domésticos e principalmente o gado, poderiam se tornar importantes reservatórios do *S. mansoni* e contribuir para a disseminação da doença, entretanto, há necessidade de mais estudos que permitam compreender melhor o papel destes animais na cadeia epidemiológica do parasito.

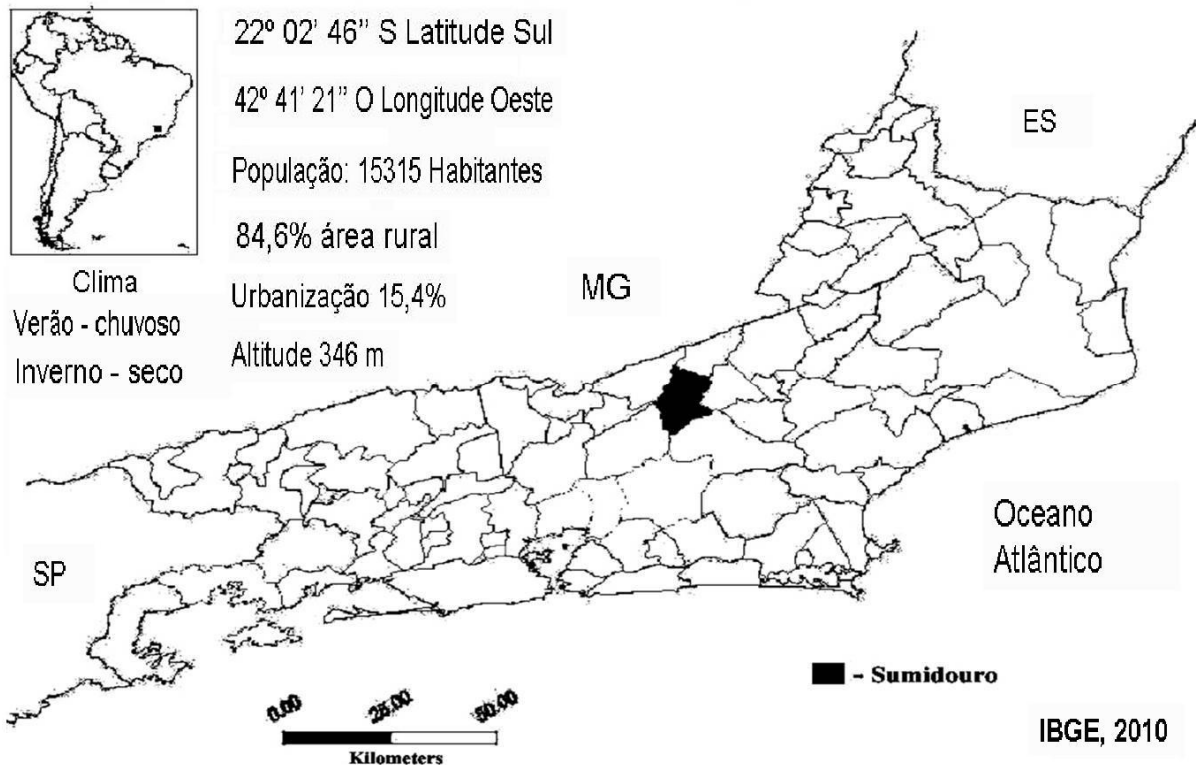


Figura 6. Localização do município de Sumidouro no mapa do estado do Rio de Janeiro. Fonte: IBGE, 2010.

2.8 O roedor *Nectomys squamipes*

Nectomys squamipes é uma espécie de roedor pertencente à ordem Rodentia, subfamília Sigmodontinae. Esta espécie de roedor mede, quando adulta, cerca de 25 cm de comprimento (cabeça e corpo), e pesa entre 140 e 400g (D'ANDREA et al., 2000). É um roedor de atividade noturna de hábitos crepusculares e semi-aquáticos, é solitário, vive próximo a rios, riachos, corpos d'água, reservatórios de água ou áreas brejosas, margens úmidas e encharcadas (EMMONS; FEERS, 1997), onde constroem seus ninhos em troncos de árvores e vegetações próximas da água (ERNEST; MARES, 1986; D'ANDREA; LAGAMBA, 1987). Como adaptação ao nado, possui membranas interdigitais desenvolvidas nas patas traseiras, além de uma espécie de "quilha" na porção ventral da cauda, formadas por pelos (ERNEST, 1986). Esta espécie é onívora, alimentando-se de frutos, sementes, artrópodes, fungos, caramujos, larvas, insetos e pequenos vertebrados (ERNEST; MARES, 1986). Devido a seus hábitos, torna-se altamente exposta à infecção.

Alguns estudos sobre a ecologia de populações desta espécie (CRESPO, 1982; ERNEST; MARES, 1986; BERGALLO; 1994; MARES; ERNEST, 1995; VERA Y CONDE, 1995; BERGALLO; MAGNUSSON, 1999; D'ANDREA et al., 1999; GENTILE et al., 2000) já foram feitos, e pequenas variações interpopulacionais foram observadas na dinâmica de população.

2.9 Distribuição geográfica dos roedores silvestres *Nectomys rattus* e *Nectomys squamipes* no Brasil

Nectomys squamipes (Figuras 7 e 8) está presente na Mata Atlântica, nas bacias dos Rios São Francisco e Paraná, e nas pequenas bacias independentes do Leste do Brasil, ao Sul de São Lourenço da Mata (PE), o que abrange os estados do Sul, Sudeste e parte do Nordeste (da Bahia até Pernambuco), enquanto *Nectomys rattus* ocupa a bacia Paraná-Paraguai, a bacia

Amazônica, e pequenas bacias da Costa Leste do Brasil, acima de São Lourenço da Mata (PE) até o Rio Amazonas (BONVICINO, 1994; BONVICINO et al., 2008), abrangendo os estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Pará e os estados do Nordeste desde do Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e parte de Pernambuco (Figura 9). É possível observar que a distribuição geográfica do gênero *Nectomys* no Brasil é muito mais ampla que a distribuição da esquistossomose mansônica, porém, muitas localidades são coincidentes. No entanto, os estudos realizados até hoje sobre estes roedores em relação a esta endemia, citam apenas *N. squamipes*, com exceção de BASTOS et al. (1982 e 1984), que mencionam *Nectomys squamipes amazonicus* (atualmente classificado como *N. rattus*), infectado naturalmente, porém, sem nenhuma avaliação mais detalhada. Segundo Duplatier (1991), é importante conhecer o “status” específico do roedor silvestre hospedeiro natural, visto que duas espécies congênicas podem ser totalmente diferentes para transmissão da esquistossomose.



Figura 7. Espécimes de *Nectomys squamipes*, hospedeiro natural de *Schistosoma mansoni*. Fonte: Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR), IOC, FIOCRUZ, RJ.



Figura 8. Espécime de *Nectomys squamipes* dentro de uma armadilha do tipo Tomahawk[®].
Fonte: LABPMR, IOC, FIOCRUZ, RJ.

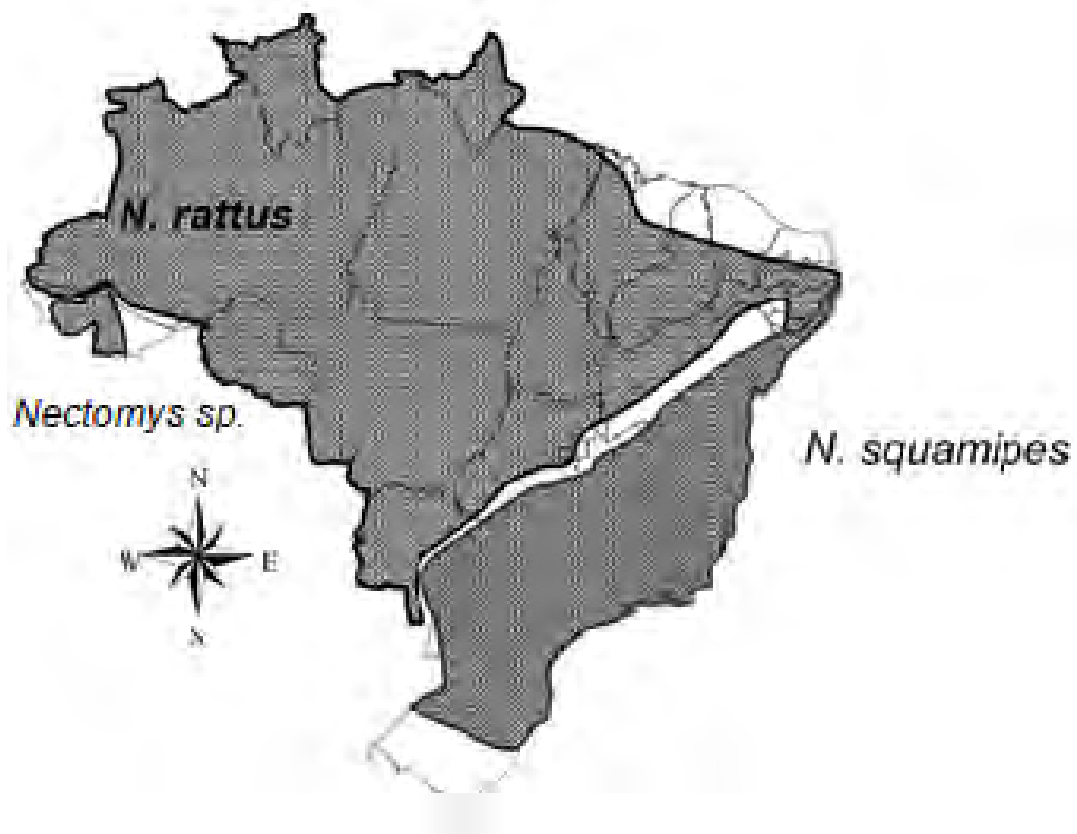


Figura 9: Distribuição geográfica dos roedores silvestres *Nectomys rattus* e *Nectomys squamipes* no Brasil. Fonte: BONVICINO et al., 2008.

2.10 *Nectomys squamipes* como hospedeiro de *Schistosoma mansoni*

Este ciclo equivale-se ao ciclo que tem como hospedeiro definitivo o homem (REY, 2008), pois ocorrem os mesmos processos desde a infecção no hospedeiro intermediário molusco (Planorbídeo) e hospedeiro definitivo, agora com o roedor silvestre *N. squamipes* eliminando ovos nas fezes (Figura 10).

Além do homem, a infecção esquistossomótica, atinge vários hospedeiros vertebrados. A existência de hospedeiros não-humanos de *S. mansoni* tem grande interesse epidemiológico, pois estes podem participar da transmissão deste parasito e contribuir para a manutenção da doença (D'ANDREA et al., 2000).

Segundo Barbosa et al. (1953), alguns roedores que vivem em zonas de peri-domicílio, têm hábitos semi-aquáticos, são hospedeiros permissivos e eliminam ovos viáveis nas fezes.

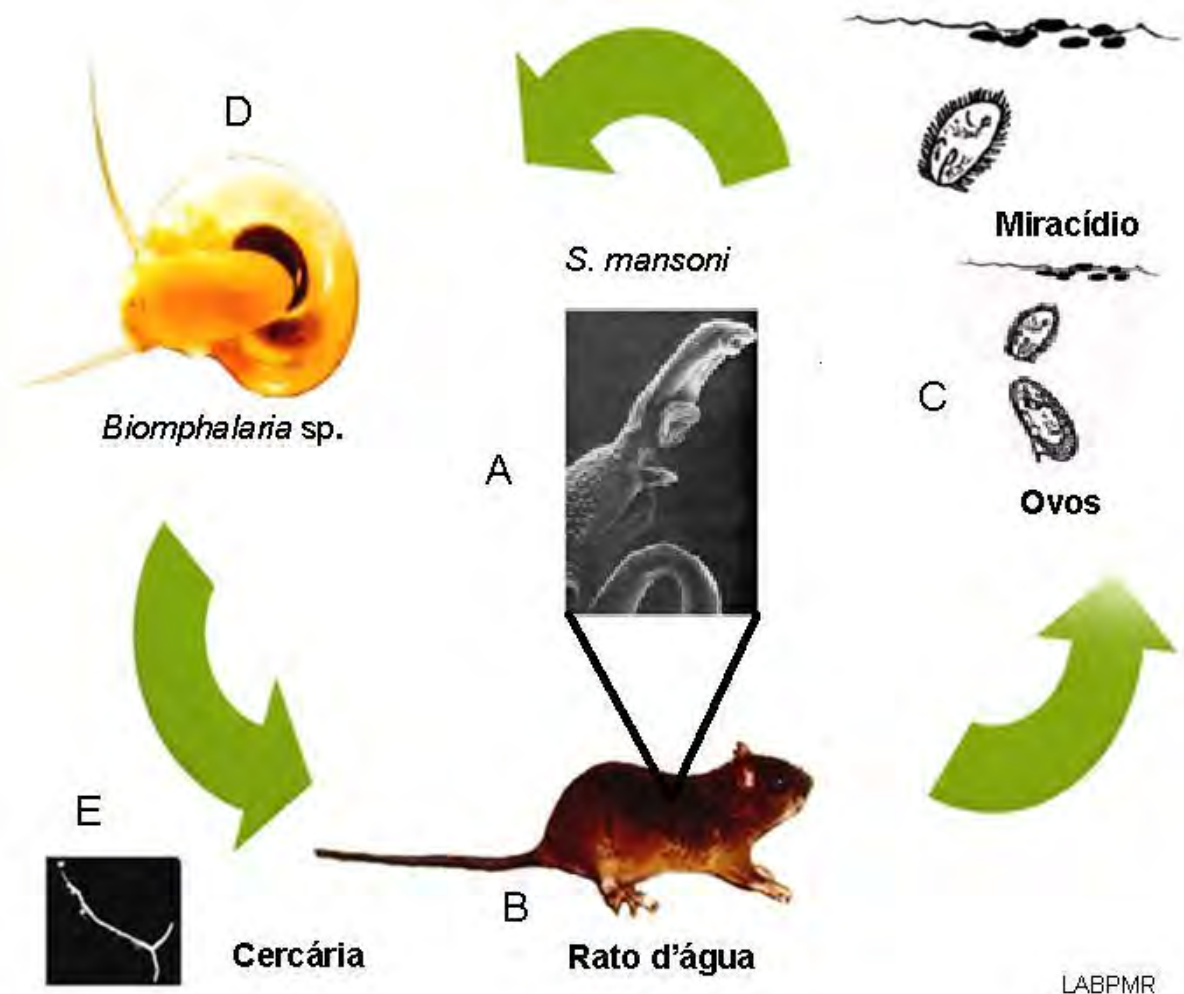


Figura 10. Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni* considerando-se a participação do rato d'água, *Nectomys squamipes* como hospedeiro definitivo de *S. mansoni*. A – Helmintos adultos acasalados no hospedeiro definitivo, B – Rato d'água eliminando ovos nas fezes, C – eclosão do miracídio que penetra depois no molusco hospedeiro intermediário, D – no molusco ocorre o desenvolvimento dos esporocístos primário e secundário, E – cercárias em busca do hospedeiro definitivo. Fonte: LABPMR, IOC, FIOCRUZ, RJ.

Os primeiros registros de roedores silvestres naturalmente infectados datam da década de 50. No Brasil em 1953, Amorim fez a primeira descrição de infecção natural por *S. mansoni* em roedores silvestres, encontrando o roedor *N. squamipes* (rato lava-pés) naturalmente infectado, ressaltando a importância de animais de hábitos aquáticos na manutenção do ciclo desta parasitose. Desde então, vários autores colocaram-se para avaliar qual a importância dos animais silvestres no ciclo da esquistossomose mansônica na natureza.

Martins et al. (1955) avaliaram a infecção esquistossomótica em Belo Horizonte e Jubaticatuba (MG), encontraram o roedor silvestre *N. squamipes* naturalmente infectado com 57,5% de prevalência.

Piva e Barros (1966) encontraram no estado de Sergipe, *N. squamipes* naturalmente infectado por *S. mansoni* com prevalência de 26,1%.

Rodrigues e Ferreira (1969) capturaram roedores *N. squamipes* naturalmente infectados no estado de São Paulo, onde encontravam focos endêmicos da parasitose em humanos.

Em 1982, Carvalho, estudou a importância epidemiológica do roedor silvestre *N. squamipes* no Município de Sumidouro, RJ, avaliando sua suscetibilidade ao *S. mansoni*, o estudo revelou que a taxa de infecção dos roedores permanecia alta (48%), mesmo após o tratamento da população humana.

Basto et al. (1984) capturaram no estado do Maranhão roedores *N. squamipes* naturalmente infectados, relatando um percentual de 70,6% de animais parasitados.

Silva e Andrade (1989) observaram que na zona rural do município baiano de Planalto, *N. squamipes* tinha um papel importante na manutenção da esquistossomose, pois a prevalência de humanos infectados foi de 3,26% enquanto que do roedor foi de 47%.

Em 1992, Picot confirmou que o roedor *N. squamipes* participava da manutenção do ciclo da parasitose em determinadas áreas, onde a prevalência de infecção esquistossomótica nos roedores foi maior que de casos em humanos.

Rodrigues-Silva et al. (1992) relataram o encontro de *N. squamipes* infectados pelo *S. mansoni* em Sumidouro, RJ, com uma taxa de infecção de 56,5%.

Rey em 1993 sugeriu que *N. squamipes* era um dos hospedeiros silvestres de *S. mansoni* mais importante no Brasil.

D'Andrea et al. (2000), acompanhando a prevalência de infecção de roedores no Vale do Pamparrão, Sumidouro, RJ, constatou o roedor *N. squamipes* como hospedeiro natural de *S. mansoni*.

Devido a seu hábito semi-aquático, *N. squamipes* é um reservatório natural de *S. mansoni* (ERNEST; MARES, 1986), possuindo altas taxas de prevalência em algumas áreas endêmicas (REY, 1993; D'ANDREA et al., 1996). Apresenta vasta distribuição geográfica (BONVICINO, 1994; BONVICINO et al., 2008) coincidente com a distribuição espacial da esquistossomose mansônica no território brasileiro, tem capacidade comprovada para manter o ciclo desta parasitose em condições naturais e semi-naturais (ANTUNES et al., 1971; 1973; CARVALHO, 1974; CARVALHO et al., 1975; 1976), e de manter populações permanentes e de tamanhos consideráveis (GENTILE et al., 2000; BONECKER et al., 2009), é capaz de eliminar vários ovos (BORDA, 1972; RODRIGUES-SILVA et al., 1992; MALDONADO JR. et al., 1994; RIBEIRO et al., 1998) viáveis por longos períodos (RODRIGUES-SILVA et al., 1992; REY, 1993). Em certas regiões endêmicas a prevalência da infecção esquistossomótica é maior em *N. squamipes* que em humanos (SILVA; ANDRADE, 1989; REY, 1993), não apresentam hipertensão porta, comprovando assim haver grande compatibilidade com o parasito (RODRIGUES-SILVA, 1988; SILVA; ANDRADE, 1989) se reinfecta com facilidade (MALDONADO JR. et al., 1994), consegue ser altamente suscetível (RODRIGUES-SILVA, 1988; SOUZA et al., 1992; MALDONADO JR. et al., 1994; RIBEIRO et al., 1998) e a diferentes cepas do parasito (MARTINEZ, 1998; COSTA-SILVA, 2000), apresenta um tipo de imunidade concomitante, o que garante um mecanismo eficiente de regulação da carga

parasitária (MALDONADO JR. et al., 1994), essa imunidade assegura a eliminação de ovos viáveis durante toda a vida do animal (COSTA-SILVA, 2000), mesmo quando infectado com um baixo número de cercárias apresenta uma boa taxa de recuperação de helmintos, que também sugere uma boa compatibilidade *N. squamipes-S. mansoni* (SOUZA et al., 1992; RIBEIRO et al., 1998), o roedor consegue tolerar a presença humana, frequentemente habitando o peri-domicílio (D'ANDREA et al., 1999; D'ANDREA et al., 2000), apresenta alta suscetibilidade à infecção por *S. mansoni* (SOUZA et al., 1992; MALDONADO JR. et al., 1994; D'ANDREA et al., 2000), tornando ainda maior seu potencial de transmissão e infecção da esquistossomose. Apresenta uma relação equilibrada com o parasito, uma vez que infecções ao longo da vida não comprometem a sua vida (RODRIGUES-SILVA et al., 1992) ou sua capacidade reprodutiva ou nas distâncias percorridas (D'ANDREA et al., 2000), a longevidade da infecção e eliminação de ovos do parasito viáveis, férteis e infectantes para os moluscos, reafirma a importância do roedor como mantenedor do ciclo parasitário sendo um hospedeiro compatível ou permissivo (RODRIGUES-SILVA, 1988; RODRIGUES-SILVA et al., 1992; MACHADO-SILVA et al., 1997). Essas características fazem deste roedor um excelente reservatório silvestre do *S. mansoni*.

2.11 Histórico da ocorrência da esquistossomose mansônica no Município de Sumidouro, RJ

O primeiro relato da esquistossomose no Município de Sumidouro constituem-se de investigações realizadas em 1959, mas sua autoctonia só foi ratificada em 1962, por intermédio do primeiro levantamento malacológico executado. Na oportunidade, os focos, tendo em si moluscos *B. glabrata* infectados, encontravam-se em córregos das localidades do Pamparrão, Porteira Verde e Boa Ventura (CAMARGO, 1965). Na década de 80, a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e o Instituto Nacional de Endemias Rurais (INERu) executaram no município, seguidas campanhas fundamentadas no controle de molusco e tratamento quimioterápico de indivíduos positivos que originalmente, compreendiam propostas de educação e saneamento básico. A partir de então, a SUCAM (posteriormente Fundação Nacional de Saúde (FNS), deu prosseguimento às ações de controle, baseando-se em investigações parasitológicas anuais e quimioterapia, contando com o apoio da Fundação Oswaldo Cruz em algumas áreas.

O primeiro trabalho de longo prazo relativo à epidemiologia da esquistossomose no Município teve começo em 1977 (CARVALHO, 1982) e foi executado na comunidade rural da região da Porteira Verde. Neste estudo, o autor sugeriu a potencialidade do roedor silvestre *N. squamipes* como reservatório natural da doença local, uma vez que suas taxas de infecção pelo *S. mansoni* se mantiveram constantes, mesmo após ação de intervenção quimioterápica na população humana. As prevalências deparadas para população humana variavam entre 11,2% até 17,4% antes do tratamento, a prevalência mais alta encontrada na população humana foi de 6,9% e nos roedores silvestres naturalmente infectados foi de 48,2%.

Grande parte das informações sobre epidemiologia e controle da esquistossomose em Sumidouro, RJ, no período que vai de 1982 até 1989 foram perdidas devido ao desabamento do prédio da Secretaria Municipal de Saúde. Em função disso, o maior volume de dados que se têm disponíveis atualmente foi coletado a partir de 1989, por duas equipes da Fundação Oswaldo Cruz do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), uma do antigo Laboratório de Biologia e Controle da Esquistossomose (LBCE) do antigo Departamento de Medicina Tropical, agora Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR) e outra equipe do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental (LAPSA) do antigo Departamento de Biologia, orientadas pelo Dr. Luis Rey. Estes dois grupos passaram a realizar estudos epidemiológicos no município de Sumidouro, concentrando o trabalho, inicialmente, na localidade rural do Pamparrão a partir de 1991, expandindo o trabalho para mais três localidades vizinhas (Porteira Verde, Santa Cecília e Pedreira). Empregando

abordagens epidemiológicas e ecológicas, estes grupos investigaram o papel do roedor *N. squamipes* na transmissão local da esquistossomose mansônica (D'ANDREA et al., 2000).

Considerando esta problemática de grande interesse epidemiológico e a necessidade de desenvolver estudos de longo prazo para compreender a participação do *N. squamipes*, na transmissão local da esquistossomose, foi desenvolvido neste município, desde 1991 até 2006, um projeto multidisciplinar envolvendo um estudo empírico eco-epidemiológico de longo prazo. Este projeto envolveu aspectos ecológicos do roedor, aspectos parasitológicos, levantamento dos focos do hospedeiro intermediário *B. glabrata* e estudo populacional, monitoramento seguido de tratamento das infecções na população humana local e atividades de educação em saúde. Este estudo empírico é o único realizado no Brasil sobre a esquistossomose com estas características e foi dividido em quatro etapas e um experimento de campo.

A primeira fase do projeto constituiu-se de um monitoramento de cinco anos, que compreendeu viagens bimestrais à área de estudo de 1990 a 1996. Este estudo foi realizado na localidade do Pamparrão, sendo esta uma área de baixa endemicidade. Nesta etapa foram realizados diagnósticos coprológicos e sorológicos na população humana e na de roedores, tratamento quimioterápico nos casos humanos, levantamento da distribuição e abundância dos moluscos hospedeiros intermediários, e um monitoramento da população do *N. squamipes* através de captura-marcação-recaptura dos animais. Com este delineamento, obtivemos resultados que nos permitiram mapear os focos de transmissão (GIOVANELLI et al., 2001), identificar comportamentos e grupos de risco de infecção na população humana (GONÇALVES, 1999), compreender o padrão da dinâmica da população do rato d'água (D'ANDREA et al., 1999, GENTILE et al., 2000, D'ANDREA et al., 2007) e do uso do habitat (GENTILE; FERNANDEZ, 1999), compreender aspectos da relação do parasitismo entre *S. mansoni* e *N. squamipes* (D'ANDREA et al., 2000) e adequar procedimentos e técnicas às particularidades locais.

Numa segunda fase de 1997 a 1999, foi feito um trabalho na localidade da Porteira Verde e Pamparrão, de captura e necrópsia dos roedores silvestres para estudar aspectos parasitológicos da interação *S. mansoni*-*N. squamipes*. Neste estudo, os animais coletados foram examinados para busca de *S. mansoni* e outras espécies de helmintos. Foram determinadas a abundância e intensidade de infecção por *S. mansoni* na população de *N. squamipes*, bem como o grau de agregação e interação com outros helmintos.

A distribuição do *S. mansoni* na população de *N. squamipes* mostrou-se altamente agregada, sendo que 50% dos helmintos estavam concentrados em 4,2% dos hospedeiros, caracterizando uma distribuição supra-dispersa. Considerando-se apenas os roedores infectados, 11, 4% dos hospedeiros continham metade da população de parasitos (D'ANDREA et al., 2000). A heterogeneidade espacial e baixas taxas de infecção nos moluscos explicam a distribuição agregada, o que restringe os focos de transmissão a apenas algumas áreas.

A prevalência média de *S. mansoni* no rato d'água foi de 34,5%, a intensidade foi de 48,3 indivíduos e a abundância de 16,7. *Schistosoma mansoni* foi considerada uma espécie dominante e bem estabelecida na comunidade de helmintos, considerando-se a população de *N. squammipes*. Não foi observada interação antagônica nem sinérgica entre *S. mansoni* e as outras espécies de helmintos (MALDONADO Jr. et al., 2006).

Num momento posterior entre os anos de 2001 e 2006, foi estudada outra área no Município de Sumidouro, a localidade do Encanto, onde a esquistossomose apresentava-se com média endemicidade, para se avaliar os efeitos do tratamento quimioterápico da população humana nas taxas de infecção dos roedores. Nesta fase do estudo, também foi estudada a dinâmica populacional do roedor *N. squamipes*, os índices de infecção esquistossomótica das populações do rato d'água e suas variações ao longo do tempo, os índices de infecção esquistossomótica em humanos e moluscos, e também foi feita uma

comparação dos métodos de diagnóstico de *S. mansoni* coprológico e sorológico (GENTILE et al., 2006, BONECKER et al., 2008).

Paralelamente ao estudo no Encanto, foram feitos estudos transversais em outras localidades do Município de Sumidouro, no mesmo período. Nas localidades de Pamparrão (baixa endemicidade) e Soledade (alta endemicidade) os animais foram capturados e necropsiados em coletas não regulares. Na localidade de Bairro da Volta (sem casos humanos de esquistossomose) foi feito um estudo de marcação e recaptura no mesmo período do estudo no Encanto (média endemicidade). Nestas áreas, também foram feitos levantamentos da população de moluscos e exames de diagnóstico de helmintos e tratamento na população humana (GENTILE et al., 2006). Foram comparados os métodos sorológico, coprológico de diagnóstico de *S. mansoni* e realizaram necrópsia para busca de helmintos adultos nos roedores, e ainda foi desenvolvido o aprimoramento de técnicas diagnósticas mais apropriadas para áreas de baixa endemicidade.

Nesta etapa do estudo foram observados diferentes padrões quanto à participação do rato d'água na dinâmica da transmissão do *S. mansoni* em cada localidade. No Bairro da Volta os roedores foram capazes de manter a infecção de *S. mansoni* mesmo sem a presença de pessoas infectadas, durante o período de estudo. No pamparrão, os baixos tamanhos populacionais do roedor e a ausência de roedores infectados não eliminaram a transmissão da infecção, uma vez que a prevalência na população humana foi de 13,4%. Na localidade de Soledade, que era uma área de alta endemicidade (40% da população humana estava infectada), foram observados roedores infectados longe de habitações humanas e os ciclos de transmissão dos humanos e do roedor pareceram não afetar um ao outro (GENTILE et al., 2006).

Em relação à comparação dos métodos diagnósticos, a similaridade no perfil de reatividade sorológica entre indivíduos diagnosticados negativos na coprologia/necropsia e os positivos, mostrou que a sorologia detecta infecção recente, incluindo os falso-negativos da coprologia, uma vez que os anticorpos podem ser encontrados após cinco dias da infecção em experimentos de laboratório com *N. squamipes* (PERALTA et al., 2009). Os baixos títulos de anticorpos observados na maioria das amostras corroboraram esta hipótese.

D'Andrea et al. (2002) realizaram dois experimentos de campo na localidade do Pamparrão com os seguintes objetivos: 1) determinar o padrão de horário de atividade do *N. squamipes* e de uso do ambiente aquático; 2) comprovar a ocorrência de transmissão tardia do *S. mansoni* ao *N. squamipes* em condições naturais, utilizando-se animais sentinela. Estes experimentos mostraram a ocorrência de infecção de *N. squamipes* por cercárias em condições naturais no horário crepuscular. A constatação de dois picos de emissão de cercárias levantou a hipótese de haver um processo de adaptação do *S. mansoni* a diferentes hospedeiros definitivos. O pico de emissão diurno estaria mais relacionado à infecção humana, uma vez que este é o horário de maior atividade das pessoas e de maior contato com os corpos d'água contaminados (SOARES, comunicação pessoal); e o pico crepuscular, poderia estar relacionado à infecção nos roedores, pois estes têm horário de atividade crepuscular/noturno (D'ANDREA et al., 2002).

2.11.1 A participação do roedor *Nectomys squamipes* na dinâmica da transmissão da esquistossomose mansônica no Município de Sumidouro, RJ

O roedor silvestre *N. squamipes* desempenha papel importante na epidemiologia, no ciclo natural desta parasitose (nas comunidades rurais do Município de Sumidouro), e atua como principal roedor na cadeia de transmissão da esquistossomose mansônica. Carvalho (1982) e Rodrigues-Silva (1988) realizaram estudos de abordagem integrada, acompanhando a transmissão tanto em humanos quanto em roedores e observaram a relação entre os ciclos parasitários em ambos hospedeiros definitivos.

Indivíduos de *N. squamipes* infectados e não-infectados foram observados e não demonstraram diferenças significativas na locomoção e entre as distâncias percorridas (CARVALHO, 1982).

Segundo Rey (1993) a situação epidemiológica da esquistossomose pode variar de um lugar para outro, de acordo com as condições ecológicas e as espécies de hospedeiros vertebrados ou invertebrados envolvidos. Para ilustrar essa afirmação, é possível citar Carvalho (1982), que encontrou roedores silvestres da espécie *N. squamipes* naturalmente infectados no Município de Sumidouro, RJ, cujos níveis de infecção não se alteravam apesar do tratamento quimioterápico específico ter sido aplicado na população humana local, reduzindo drasticamente sua importância como fonte de ovos do *S. mansoni*. Este fato levou a autora a sugerir que, naquele momento, o roedor silvestre *N. squamipes* seria capaz de manter sozinho o ciclo de *S. mansoni*, o que não foi assinalado em outros locais do país.

D'Andrea et al. (2000) realizou um estudo de longa duração, acompanhando a dinâmica populacional do roedor e do parasito simultaneamente, demonstrando que os parâmetros populacionais do roedor como reprodução e sobrevivência não são afetados pelo parasitismo. Com isso, o roedor silvestre pode aumentar a transmissão, e disseminar o parasito para áreas aonde ainda não exista esta parasitose.

Foi encontrada correlação positiva significativa entre as prevalências estimadas usando-se os dois métodos de diagnóstico (coprológico e sorológico). O método coprológico subestimou as taxas de infecção por *S. mansoni* dos roedores em relação ao diagnóstico feito pelo método sorológico em aproximadamente 35%, principalmente nos meses com baixas prevalências, e ambos apresentaram as mesmas tendências ao longo do tempo. Desta forma, o diagnóstico pelo método sorológico mostrou-se mais adequado para a avaliação das taxas de infecção por *S. mansoni* nos roedores *N. squamipes* (GENTILE et al., 2006).

A prevalência estimada para *S. mansoni* foi correlacionada negativamente com as chuvas com quatro meses de defasagem. Os tamanhos das populações dos *N. squamipes* foram correlacionados negativamente com as prevalências, indicando que as prevalências do *S. mansoni* aumentavam quando o tamanho da população de roedores estava mais baixo, o que se dava no começo da maioria das estações chuvosas. As incidências não estavam correlacionadas com as prevalências, nem com o tamanho da população dos roedores. Conversão sorológica para infecção por *S. mansoni* foi observada em cinco indivíduos monitorados ao longo do tempo. Não houve diferença quanto ao sexo dos animais infectados e não infectados. A infecção esquistossomótica não afetou a dinâmica da população do *N. squamipes* e, portanto, parece não exercer papel regulador da abundância deste roedor (GENTILE et al., 2006; COSTA-NETO, 2006).

2.12 Alterações histopatológicas em roedores infectados com *Schistosoma mansoni*

Em 1982 em Sumidouro, RJ, Carvalho estudando *N. squamipes* observou que a maioria dos animais necropsiados não apresentavam uma patologia grave e as lesões decorrentes da infecção no roedor eram discretas, o que sugere uma boa compatibilidade parasito-hospedeiro, e não observou diferença entre os tempos de permanência e as distâncias percorridas por *N. squamipes* infectados e não infectados.

Rodrigues-Silva (1988); Rodrigues-Silva et al. (1991; 1992); Silva; Andrade (1989), Souza et al. (1992) e Martinez (1998) avaliando o papel de roedores como hospedeiros naturais e modelos experimentais para a esquistossomose, observaram que tanto os animais silvestres naturalmente e os animais experimentalmente infectados, apresentavam lesões teciduais em vários órgãos, semelhantes às encontradas e descritas em camundongos. Com base nestes achados, os autores concluíram que o roedor *N. squamipes* é um hospedeiro natural do *S. mansoni* e que possivelmente participa da transmissão da esquistossomose mansônica. Sugeriram que este roedor poderia ser um modelo experimental alternativo, para o estudo da esquistossomose.

Realizando um estudo em espécies de *N. squamipes* capturados com infecção natural, Silva; Andrade (1989) observaram lesões teciduais brandas, e que apesar de o roedor *N. squamipes* exibir uma imunopatologia de alta resistência, os parasitos parecem sofrer pouca interferência sobre sua ovoposição e sobre o número de ovos eliminados nas fezes.

Lenzi et al. (1995) realizaram um estudo experimental com os roedores silvestres *C. callosus*, observaram que os granulomas hepáticos encontrados eram 27% menores do que os encontrados em ratos albinos com o mesmo tempo de infecção.

Cheever et al. (1998) constataram a formação de granulomas hepáticos em camundongos infectados por *S. mansoni*. Similarmente, Costa-Silva et al. (2002), em estudo comparativo da infecção natural e experimental de *S. mansoni* em *N. squamipes*, verificaram a presença de lesões hepáticas peri-ovulares em fases pré-granulomatosas em condições naturais, enquanto que os roedores experimentalmente infectados com 52 dias mostraram um padrão limitado de granulomas e uma forte reação inflamatória inicial ou peri-ovular. Apesar do avanço do conhecimento na área da patologia produzida pela infecção experimental (LENZI et al., 1995) e natural (SOUZA et al., 1992), pouco é conhecido sobre as alterações bioquímicas resultantes da infecção esquistossomótica natural.

2.13 Alterações bioquímicas em roedores infectados com *Schistosoma mansoni*

Bueding (1950) através de estudos enzimáticos verificou que a sobrevivência e a reprodução dos esquistossômulos dependem diretamente da absorção e utilização de carboidratos do hospedeiro vertebrado pelos trematódeos como fonte de energia, utilizando por hora uma quantidade de glicose equivalente a 1/5 do seu peso. Desta maneira, uma diminuição plasmática de glicose é esperada, induzindo uma compensação fisiológica por parte do hospedeiro. A metabolização da glicose é feita pelo parasito, predominantemente em anaerobiose, pela via de Embden-Meyerhoff (MANSOUR; BUEDING, 1953; 1954; BUEDING; MACKINNON, 1955).

Rodrigues et al. (1968) demonstraram que o mecanismo bioquímico em camundongos expostos às cercárias de *S. mansoni* diferia estatisticamente dos controles, em decorrência do estímulo da biossíntese protéica e do aumento do consumo de oxigênio por mitocôndrias isoladas.

Ahmed e Gad (1995) utilizaram camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni* observaram um aumento notável da atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos, principalmente da piruvato quinase e fosfofrutoquinase, iniciados a partir da quarta semana pós-infecção. Como consequência direta, aceleraria a formação de piruvato a partir da glicose, repercutindo assim numa maior concentração deste substrato no plasma.

Estudos sobre a determinação de glicose plasmática evidenciaram alterações significativas do padrão glicêmico dos animais esquistossomóticos. Wu et al. (2010) verificaram acentuados desarranjos metabólicos em hamster co-infectados por *S. japonicum* e *Necator americanus* sob condições experimentais. Neste estudo, os autores relataram acentuados decréscimos nos conteúdos de glicose, succinato, citrato e aminoácidos plasmáticos em animais co-infectados quando comparados ao grupo controle.

Na esquistossomose mansônica, as alterações hepáticas são as manifestações mais importantes em seus hospedeiros definitivos (AMARAL et al., 2002) e estão relacionadas ao estágio de fibrose (TAO et al., 2003). Estudos tem mostrado que os testes de função hepática se modificam apenas nas formas mais graves da doença, com organomegalias e ascite ou ainda, na associação com hepatite ou cirrose descompensada (FAHIM et al., 2000; EL-SHAZLY et al., 2001).

As hepatopatias, em sua grande maioria, são causadas por agentes microbiológicos como os vírus das hepatites, protozoários da malária e helmintos como *S. mansoni*. No Brasil, alcoolismo, drogas de uso terapêutico, distúrbios nutricionais: seguido de má absorção

calórica-protéica, deficiência de vitaminas e minerais, também podem causar lesão ou morte celular. Nas análises clínicas laboratoriais em humanos existem algumas enzimas de referência na avaliação das hepatopatias: são as aminotransferases, aspartato aminotransferase (AST E.C.2.6.1.1), alanina aminotransferase (ALT E.C.2.6.1.2), e a gama-glutamil transferase (GGT E.C.2.3.2.2.). De um modo geral, as aminotransferases são encontradas com seus níveis elevados no soro, quando encontramos um processo que afeta a integridade da célula hepática, a GGT apresentam-se sobre colestase ou indução enzimática (ANDRIOLO; BORGES, 1989), e a bilirrubina aumenta seus níveis séricos no soro, quando ocorre lesões hepáticas (agudas ou crônicas), obstrução do trato biliar, quando a velocidade de destruição dos glóbulos vermelhos está acelerada e nas reações tóxicas a várias drogas (BLACK; BILLING, 1969). Elevações da atividade da ALT são raramente observadas em condições que não haja doença hepática parenquimatosa, tanto a ALT como a AST são hepato-específicas por serem encontradas principalmente no citoplasma do hepatócito. No entanto, 80% da AST são encontradas nas mitocôndrias, esta diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas (BURTIS; ASHWOOD, 1998), pouco é conhecido sobre as alterações bioquímicas resultantes da infecção esquistossomótica natural.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Nesta dissertação, devido à escassez de informações, pretendeu-se investigar alterações histopatológicas e bioquímicas no roedor silvestre *N. squamipes*, encontrado naturalmente infectado com *S. mansoni* em uma área endêmica no município de Sumidouro, no estado do Rio de Janeiro, comparando-o com animais não infectados de campo e criados em biotério.

3.2 Objetivos Específicos:

Avaliar os conteúdos de glicose, bilirrubina (direta e total) e atividade das aminotransferases (ALT e AST) em soro de *N. squamipes* capturados naturalmente infectados por *S. mansoni* e não infectados de campo, no Município de Sumidouro, RJ.

Avaliar a alteração na concentração de glicogênio hepático em *N. squamipes* capturados naturalmente infectados por *S. mansoni* e não infectados de campo, no Município de Sumidouro, RJ.

Avaliar as alterações histológicas do fígado em *N. squamipes* capturados no campo, no Município de Sumidouro, RJ, naturalmente infectados por *S. mansoni* e não infectados de campo.

Comparar os padrões de resposta histopatológica e bioquímica de *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*, com não infectados de campo e com animais não infectados mantidos em biotério.

4. CAPÍTULO I

Caracterização das alterações histológicas hepáticas e do padrão glicídico de *Nectomys squamipes* (Rodentia) encontrados naturalmente infectados por *Schistosoma mansoni* (Trematoda).

Caracterização das alterações histológicas hepáticas e do padrão glicídico de *Nectomys squamipes* (Rodentia) encontrados naturalmente infectados por *Schistosoma mansoni* (Trematoda).

RESUMO

O roedor silvestre *Nectomys squamipes* é considerado um dos principais mamíferos potenciais reservatórios silvestres de *Schistosoma mansoni* no Brasil, sendo frequentemente encontrados infectados na natureza em áreas endêmicas da esquistossomose. Diversos estudos de campo e em biotério já foram realizados mostrando ser este roedor um bom modelo alternativo para o estudo da infecção experimental por *S. mansoni*. Espécimes de *N. squamipes* foram capturados no município de Sumidouro, RJ. Os roedores (N=16) foram divididos em dois grupos: infectados naturalmente (N=8) por *S. mansoni* e não infectados (N=8) de campo, também foram utilizados (N=14) animais nascidos em biotério como controle. Os roedores foram eutanasiados e o sangue coletado através de punção cardíaca, para análise das alterações plasmáticas de glicose (mg/dl) e fragmentos de fígado foram utilizados para determinar a concentração de glicogênio hepático (mg de glicose/g de tecido). O exame histopatológico evidenciou no fígado dos roedores infectados naturalmente por *S. mansoni* lesões em diferentes fases de desenvolvimento, localizadas predominantemente na região periportal, por vezes com oclusão total ou parcial do lúmen vascular. As lesões na fase inicial caracterizavam-se por infiltrado inflamatório ao redor dos ovos recém-depositados, morfológicamente intactos, com clara visualização da estrutura, incluindo o miracídio. Esse estudo das populações de *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*, pela primeira vez, evidenciou a ocorrência de alterações nas reservas de glicogênio hepático caracterizado por um decréscimo de 82,74% na concentração de glicogênio nos animais infectados naturalmente. Do mesmo modo, os animais não infectados de campo apresentaram uma queda de 81,68% na concentração deste polissacarídeo em relação ao grupo controle de biotério. Foram observadas alterações no conteúdo de glicose plasmática entre os grupos. Uma redução significativa no conteúdo de glicose sérica foi observada nos roedores infectados naturalmente em relação à média do grupo controle de laboratório. Os roedores do grupo não infectado de campo apresentaram o mesmo perfil de variação dos infectados naturalmente, com uma queda de 61,13% no conteúdo de glicose plasmática. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros estudados entre o grupo infectado naturalmente e não infectado de campo. Tal fato pode estar relacionado ao processo de formação de uma memória imunológica em *N. squamipes* adquirida durante infecções prévias ao longo de sua vida, possibilitando responder de maneira mais rápida e eficiente as sucessivas infecções por *S. mansoni*. Como consequência, um processo de adaptação fisiológica é estabelecido, minimizando aqui os efeitos deletérios causados por *S. mansoni* em *N. squamipes* naturalmente infectados.

Palavras chaves: Alterações bioquímicas, roedores, reservatórios silvestres, modelo alternativo.

ABSTRACT

The water rat *Nectomys squamipes* is considered one of the main wild mammal reservoirs of *Schistosoma mansoni* in Brazil, often being found infected in areas that are endemic for schistosomiasis. Various field and laboratory studies have shown this rodent is a good alternative model for studying experimental infection by *S. mansoni*. In the present study, *N. squamipes* specimens were captured in the municipality of Sumidouro, Rio de Janeiro state. The wild rodents (N=16) were divided into two groups: infected (N=8) and uninfected (N=8) by *S. mansoni*. Animals bred in captivity (N=14) were used as control. The rodents were euthanized and the blood was collected by cardiac puncture for analysis of changes in the serum glucose level (mg/dl) and liver fragments were used to determine the hepatic glycogen content (mg de glucose/g tissue). The histological examination showed lesions in different phases of development in the liver tissue of the rodents naturally infected with *S. mansoni*, located mainly in the periportal region, at times with total or partial occlusion of the vascular lumen. The early lesions were characterized by the presence of inflammatory infiltrate around the morphologically intact recently deposited eggs, with clear visualization of the structure, including the miracidium. This study of *N. squamipes* populations naturally infected by *S. mansoni* for the first time shows the occurrence of changes in the hepatic glycogen reserves, with an 82.74% decrease in the glycogen content in the naturally infected animals and an 81.68% decline in the uninfected wild specimens, in both cases in relation to the laboratory control group. Changes in the serum glucose levels were also noted between the wild and laboratory-bred groups. There was a significant reduction in the average serum glucose level in the naturally infected group in relation to the control group, while the animals in the uninfected wild group showed a decline of 61.13% in the serum glucose concentration. There were no significant differences noted in the parameters studied between the infected and uninfected wild specimens. This fact can be related to the process of immunological memory formation in *N. squamipes* acquired during previous infections over their lifetimes, allowing them to respond more quickly and efficiently to successive infections by *S. mansoni*. This indicates a process of physiological adaptation, minimizing the deleterious effects caused by *S. mansoni* in naturally infected *N. squamipes* rats.

Keywords: Biochemical alterations, rodents, wild reservoirs, alternative model.

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma parasitose crônica em expansão que atinge hoje 200 milhões de pessoas em todo mundo (WHO, 2010). No Brasil, a esquistossomose infecta cerca de seis milhões de pessoas (SVS, 2011). *Schistosoma mansoni* tem sido encontrado em muitas áreas endêmicas do Brasil parasitando naturalmente animais silvestres (AMORIM, 1953; MALDONADO Jr et al., 2006), animais domésticos de companhia (cão) (KAROUM; AMIN, 1985), animais de produção (bovinos) (BARBOSA, 1962; MODENA et al., 2008) e sinantrópicos (THÉRON, 1985; THERON; POINTIER, 1995), além do homem (REY, 1993), o que caracteriza sua importância em saúde pública e médico-veterinária.

Os roedores do gênero *Nectomys* são amplamente distribuídos na América do Sul (BONVICINO et al., 2008). *Nectomys squamipes* é sem dúvida o principal hospedeiro definitivo não-humano de *S. mansoni* no Brasil por apresentar hábitos semi-aquáticos, vasta distribuição geográfica (BONVICINO et al., 2008), e por eliminar ovos maduros, viáveis e infectantes em suas fezes (MALDONADO Jr. et al., 1994; RODRIGUES-SILVA et al., 1992; REY, 1993). Consequentemente, a ocorrência de roedores semi-aquáticos em áreas endêmicas apresenta-se como um fator complicador no controle desta zoonose (SOUZA et al., 1992; D'ANDREA et al., 2000; COSTA-NETO, 2006; GENTILE et al., 2006).

Cheever et al. (1998) constataram a formação de granulomas hepáticos em camundongos infectados por *S. mansoni*. Similarmente, Costa-Silva et al. (2002), em estudo comparativo da infecção natural e experimental de *S. mansoni* em *N. squamipes*, verificaram a presença de lesões hepáticas peri-ovulares em fases pré-granulomatosas em condições naturais, enquanto que os roedores experimentalmente infectados com 52 dias mostraram um padrão limitado de granulomas e uma forte reação inflamatória inicial ou peri-ovular. Apesar do avanço do conhecimento na área da patologia produzida pela infecção experimental (SOUZA et al., 1992) e natural RODRIGUES-SILVA et al., 1992, pouco é conhecido sobre as alterações bioquímicas resultantes da infecção esquistossomótica natural.

Bueding (1950) através de estudos enzimáticos verificou que a sobrevivência e a reprodução dos esquistossômulos dependem diretamente da absorção e utilização de carboidratos do hospedeiro vertebrado pelos trematódeos como fonte de energia, utilizando por hora uma quantidade de glicose equivalente a 1/5 do seu peso. Desta maneira, uma diminuição plasmática de glicose é esperada, induzindo uma compensação fisiológica por parte do hospedeiro. A metabolização da glicose é feita pelo parasito, predominantemente em anaerobiose, pela via de Embden-Meyerhoff (MANSOUR; BUEDING, 1953, 1954; BUEDING; MACKINNON, 1955). Rodrigues et al. (1968) demonstraram que o mecanismo bioquímico em camundongos expostos às cercárias de *S. mansoni* diferia estatisticamente dos controles, em decorrência do estímulo da biossíntese protéica e do aumento do consumo de oxigênio por mitocôndrias isoladas.

Ahmed e Gad (1995) utilizaram camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni* observaram um aumento notável da atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos, principalmente da piruvato quinase e fosfofrutoquinase, iniciados a partir da quarta semana pós-infecção. Como consequência direta, aceleraria a formação de piruvato a partir da glicose, repercutindo assim numa maior concentração deste substrato no plasma.

Estudos sobre a determinação de glicose plasmática evidenciaram alterações significativas do padrão glicêmico dos animais esquistossomóticos. Wu et al. (2010) verificaram acentuados desarranjos metabólicos em hamster co-infectados por *Schistosoma*

japonicum e *Necator americanus* sob condições experimentais. Neste estudo, os autores relataram acentuados decréscimos nos conteúdos de glicose, succinato, citrato e aminoácidos plasmáticos em animais co-infectados quando comparados ao grupo controle.

Na esquistossomose mansônica, as alterações hepáticas são as manifestações mais importantes em seus hospedeiros definitivos (AMARAL et al., 2002) e estão relacionadas ao estágio de fibrose (TAO et al., 2003). Estudos tem mostrado que os testes de função hepática se modificam apenas nas formas mais graves da doença, com organomegalias e ascite ou ainda, na associação com hepatite ou cirrose descompensada (FAHIM et al., 2000; EL-SHAZLY et al., 2001). Desta forma, os objetivos deste estudo foram avaliar pela primeira vez o perfil glicídico e as alterações histológicas hepáticas decorrentes da infecção natural de *S. mansoni* em *N. squamipes*, em comparação com roedores capturados infectados naturalmente, em condições naturais no campo, não infectados de campo e aqueles criados sob condições de biotério.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

Os roedores da espécie *N. squamipes* foram capturados em três localidades do município de Sumidouro (22° 02 "S - 42° 41 "O), área endêmica da esquistossomose mansônica, na região serrana do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: Encanto (20° 1'07 "S - 43° 8'01 "O), Pamparrão (20° 2 "S - 43° 8 "O) e Soledade 3 (22° 03 "S - 42° 35 "O). Foram estabelecidos cinco transectos de captura ao longo dos córregos, que é o habitat natural de *N. squamipes* (ERNEST; MARES, 1986; GENTILE; FERNANDEZ, 1999). Cada período de coleta foi constituído por três noites de captura, num total de duas coletas, nas quais os roedores foram capturados vivos com armadilha do tipo Tomahawk[®]. Todos os procedimentos foram realizados mediante licença da Comissão de Ética em Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA nº L-049-08). Os animais foram capturados sob a autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (nº da licença 13373-1).

2.2 Coleta das amostras

Todos os animais capturados no campo foram submetidos à eutanásia em câmara enriquecida com CO₂. Amostras de aproximadamente 5ml de sangue foram coletadas dos animais através de punção cardíaca, e colocadas em um tubo plástico estéril. Após meia hora, o sangue foi centrifugado a 2700xg (Centrifuga Minispinn, marca Eppendorf[®]), por 10 minutos para separar o soro do conteúdo plasmático e o soro foi armazenado a -20°C até a realização da análise sorológica.

Posteriormente, foi feita perfusão do sistema porta-hepático de acordo com Smithers e Terry (1965) para pesquisa de helmintos adultos nas veias mesentéricas, sendo a confirmação dos animais positivos feita pela presença de helmintos, e também pela presença de ovos em exames de fezes (HOFFMAN et al., 1934). Os helmintos encontrados foram fixados em AFA (93 partes de etanol 70%, 5 partes de formol e 2 partes de ácido acético) (Amato et al., 1991). O fígado foi retirado do roedor, pesado e, em seguida, extraído um pedaço de 1g do lobo maior, para ser armazenado em um tubo plástico estéril e congelado a -

20° C para determinação da concentração de glicogênio hepático. As amostras de fígado para análise histopatológica foram coletadas sempre do mesmo lobo, e medidas em partes iguais (1cm³) e os segmentos foram fixados em formalina a 4%. Os tecidos fixados foram colocados em frascos plástico onde permaneceram por 24 horas e, decorrido este tempo, foram transferidos para frascos contendo etanol 70% até o momento do processamento.

Os animais coletados no campo (N=16) foram divididos em dois grupos: infectados naturalmente (N=8) por *S. mansoni* e não infectados de campo (N=8). Nas análises bioquímicas foram utilizados seis animais, e nos exames histológicos oito animais infectados por *S. mansoni* e oito não infectados de campo. Nos roedores de campo (infectados naturalmente e não infectados) foi confirmada a presença de co-infecção por helmintos intestinais (*Trichostrongylidae* e *Echinostoma* sp).

2.3 Análises bioquímicas do plasma sanguíneo

A concentração de glicose plasmática de *N. squamipes*, infectado naturalmente por *S. mansoni*, não-infectado de campo, foi determinada pela adição de 10 µl de soro ao meio contendo solução tampão fosfato de sódio 0.05M, pH 7.45, aminoantipirina 0,03mM, 15mM de p-hidroxibenzoato de sódio e um mínimo de 12KU de glicose oxidase e 0,8 KU de peroxidase por litro.e as absorbâncias foram lidas em 510 nm contra branco de reação e utilizando padrão de D-glicose 100 mg/dL (Doles Reagentes[®]). Leituras espectrofotométricas foram realizadas com três repetições e os resultados expressos em mg/dL.

2.4 Análises bioquímicas do glicogênio hepático

A extração de glicogênio do fígado foi feita em meio ácido a frio, seguindo a técnica descrita por Pinheiro e Gomes (1994) e a sua determinação foi realizada pela reação do 3,5 dinitro salicilato (3,5DNS) (Sumner, 1924) e expressa em mg de glicose/g de tecido, peso fresco.

2.5 Análises histopatológicas do fígado

As amostras de fígado foram processadas segundo técnica histológica de rotina e incluídas em blocos de parafina para realização de cortes seriados (5µm de espessura) e coloração com hematoxilina e eosina (HUMASON, 1979).

2.6 Animais de biotério para controle

Para se determinar os padrões bioquímicos e histológicos de referência do roedor, foram reproduzidos em cativeiro roedores da espécie *N. squamipes* no Biotério de Animais Silvestres do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Os procedimentos de criação no biotério foram feitos de acordo com D'Andrea, et al. (1996). Estes animais foram utilizados como animais controle de biotério, e foram submetidos às mesmas análises descritas acima para os animais de campo. Nas análises bioquímicas foram utilizados quatorze animais e nos exames histológicos quatorze animais. Todos os procedimentos foram realizados mediante licença da Comissão de Ética em Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA nº L-030-07). Os animais no biotério foram reproduzidos sob a autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (nº da licença 02022.002062/01-04).

2.7 Análise estatística

Foram feitas comparações estatísticas entre os parâmetros bioquímicos dos três grupos de animais: animais de campo infectados naturalmente com *S. mansoni*, animais de campo não infectados e animais criados em biotério como controle. Os resultados obtidos nas determinações bioquímicas foram expressos através de média±desvio-padrão e submetidos ao

teste de Kolmogorov-Smirnoff para verificar a normalidade dos dados e teste de análise de variância (ANOVA *one-way*), e aos testes de Tukey-Kramer para comparação das médias ($\alpha=5\%$).

3 RESULTADOS

3.1 Resultados bioquímicos

A concentração de glicogênio hepático em *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni* foi significativamente menor quando comparados com os animais do grupo controle de biotério, havendo um decréscimo de 82,74% na concentração de glicogênio nos animais infectados naturalmente ($4,47\pm 5,68$) quando comparado ao grupo controle de biotério ($25,93\pm 7,24$) (Tabela 1). Os animais não infectados de campo apresentaram um valor 81.68% menor na concentração de tal polissacarídeo ($4,47\pm 3,76$), não diferindo estatisticamente dos infectados naturalmente ($Z=0,2672$; $P<0,10$; $F=122,27$; $Q=3,388$).

Alterações nos conteúdos plasmáticos de glicose foram observadas entre os grupos. Um conteúdo significativamente menor de glicose sérica foi observado nos roedores infectados naturalmente ($136,5\pm 90,44$) em relação à média do grupo controle de biotério ($264,11\pm 97,61$) (Tabela 1). Os roedores do grupo não infectados de campo apresentaram o mesmo perfil de variação dos infectados naturalmente ($Q=1,921$; $P>0,05$), com um conteúdo de glicose plasmática ($102,00\pm 31,39$) de 61,13% menor quando comparado ao grupo controle de biotério, com diferença estatística significativa ($Z=0,2787$; $P>0,10$; $F=35,216$; $Q=3,380$).

Tabela 1. Concentração de glicogênio hepático, expresso em mg de glicose/g de tecido, peso fresco, e glicose plasmática, expresso em mg/dl, em *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. **CB**=Controle de Biotério, **IN**=Infectado Naturalmente e **NI**=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si.

Grupos	Glicogênio	Glicose
	(mg de glicose/g de tecido)	(mg/dl)
	$X \pm SD$	$X \pm SD$
CB	$25,93\pm 7,24^a$	$264,11\pm 97,61^a$
IN	$4,47\pm 5,68^b$	$136,5\pm 90,44^b$
NI	$4,47\pm 3,76^b$	$102,00\pm 31,39^b$

3.2 Resultados histopatológicos

O exame histológico evidenciou no fígado dos roedores (*N. squamipes*) infectados naturalmente por *S. mansoni* lesões em diferentes fases de desenvolvimento, localizadas predominantemente na região periportal, por vezes com oclusão total ou parcial do lúmen vascular (Figura 1). As lesões na fase inicial caracterizavam-se por infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, plasmócitos, neutrófilos e eosinófilos ao redor dos ovos recém-depositados, morfologicamente intactos, com clara visualização da estrutura, incluindo o miracídio (Figura 2). Em algumas áreas observaram-se micro abscessos neutrofilicos, típicos da fase exsudativa (Figura 2) não evidenciadas nos grupos de animais não infectados de campo e controle de laboratório.

O estágio exsudativo-produtivo caracterizou-se pela presença de leve a moderada quantidade de macrófagos e células gigantes (Figura 3). Em alguns granulomas havia degeneração até completa desintegração dos ovos; a proliferação de fibroblastos e a deposição de colágeno tornavam-se mais proeminentes nos espaços porta (Figura 3). Adicionalmente havia pigmento marrom-amarelado em macrófagos e células de Kupffer (Figura 2). Foram observados ainda granulomas na fase involutiva, com centro mineralizado, graus variados de fibrose e menor quantidade de células inflamatórias (Figura 4). Não foram encontradas lesões de qualquer natureza nos animais controle de biotério (Figura 5) e não infectados de campo (Figura 6).

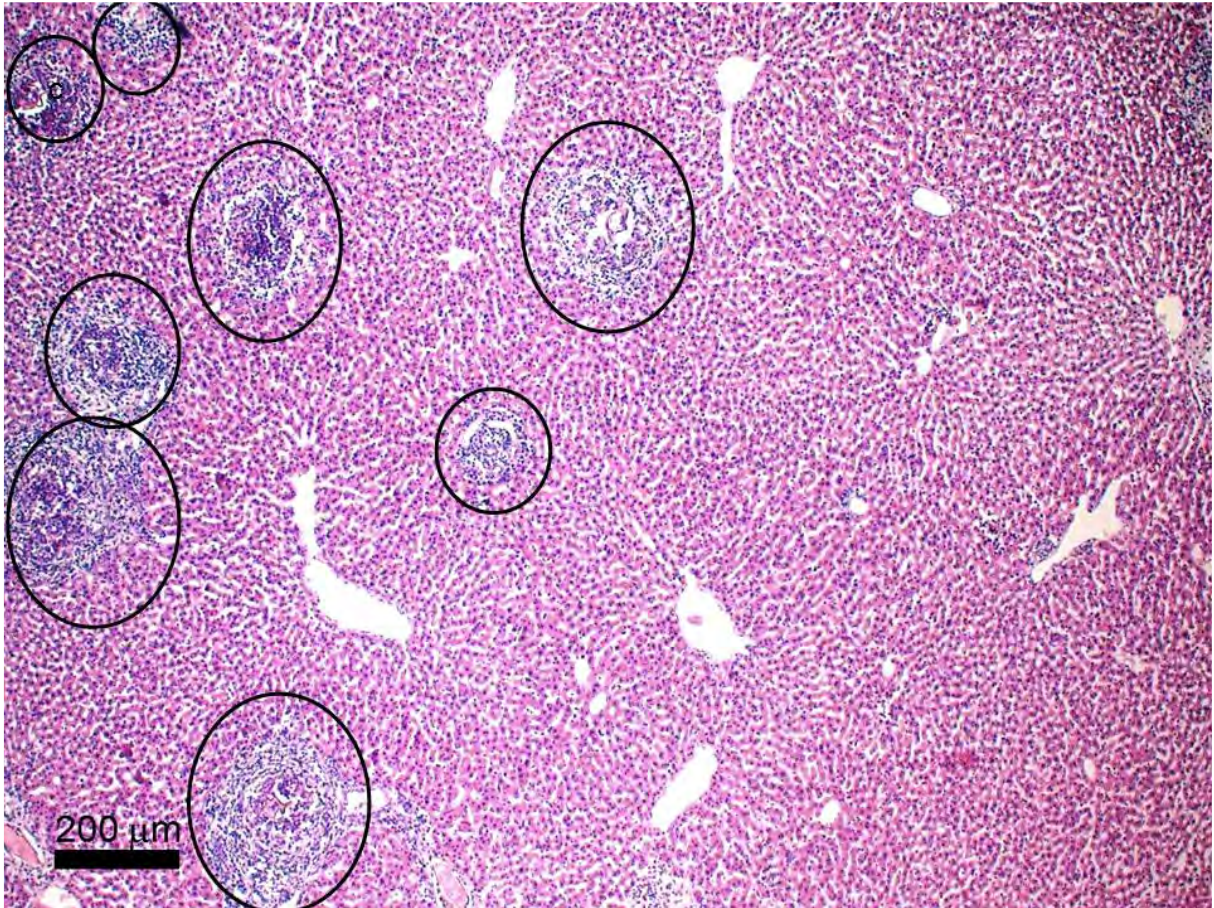


Figura 1. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Lesões multifocais (círculos pretos) em diferentes fases evolutivas na região periportal. (corados com hematoxilina e eosina)

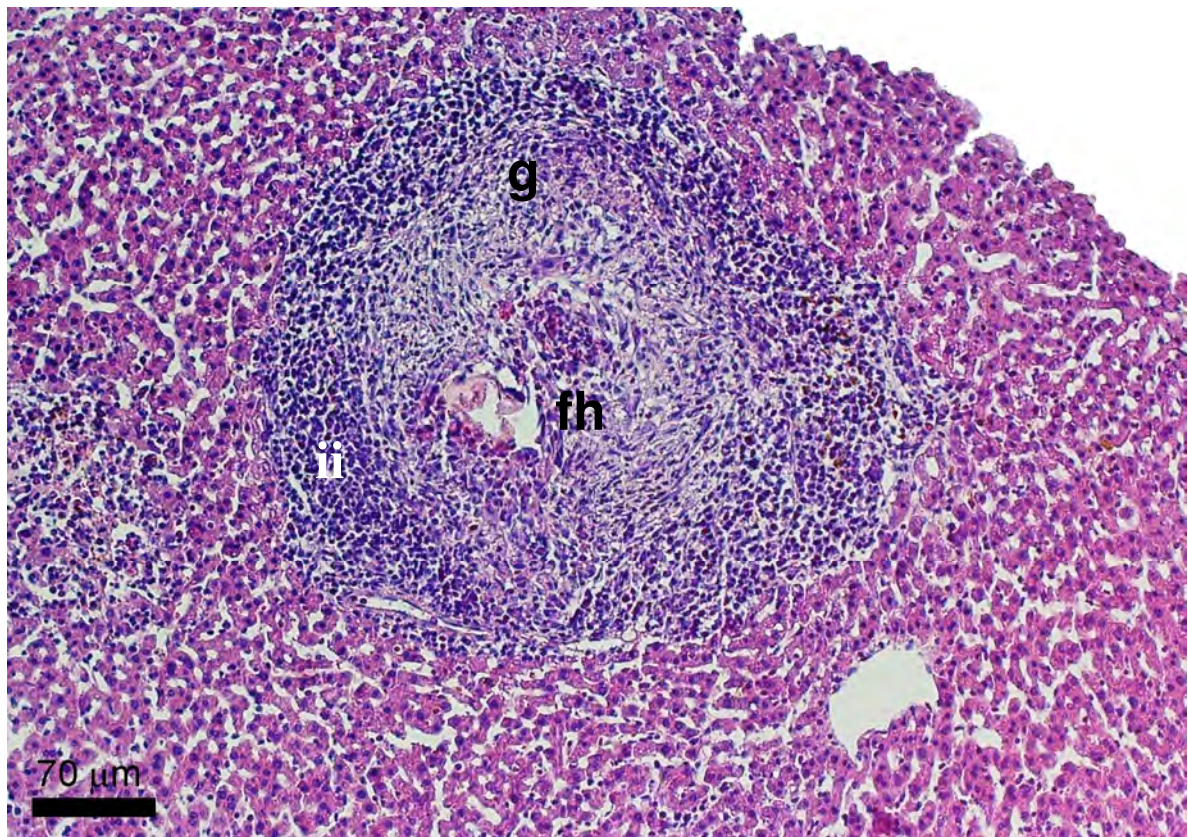


Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) em fase exsudativo-produtiva, com presença de fragmentos do helminto (fh), infiltrado inflamatório (ii) com numerosos eosinófilos, fibroblastos, plasmócitos, neutrófilos, linfócitos, ao redor dos ovos recém depositados com miracídeos e macrófagos com pigmentação marrom-amarelado. (corados com hematoxilina e eosina)



Figura 3. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Um casal de *Schistosoma mansoni* (sm) no interior do espaço porta hepático obliterando a luz do ramo da veia porta. (corados com hematoxilina e eosina)



Figura 4. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) na fase involutiva, com vestígios do parasito (p) mineralizado no interior do espaço porta com presença de infiltrado inflamatório mononuclear (im). (corados com hematoxilina e eosina)



Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*. Não foram encontrados granulomas parasitário de *Schistosoma mansoni* no grupo controle de biotério. (corados com hematoxilina e eosina)

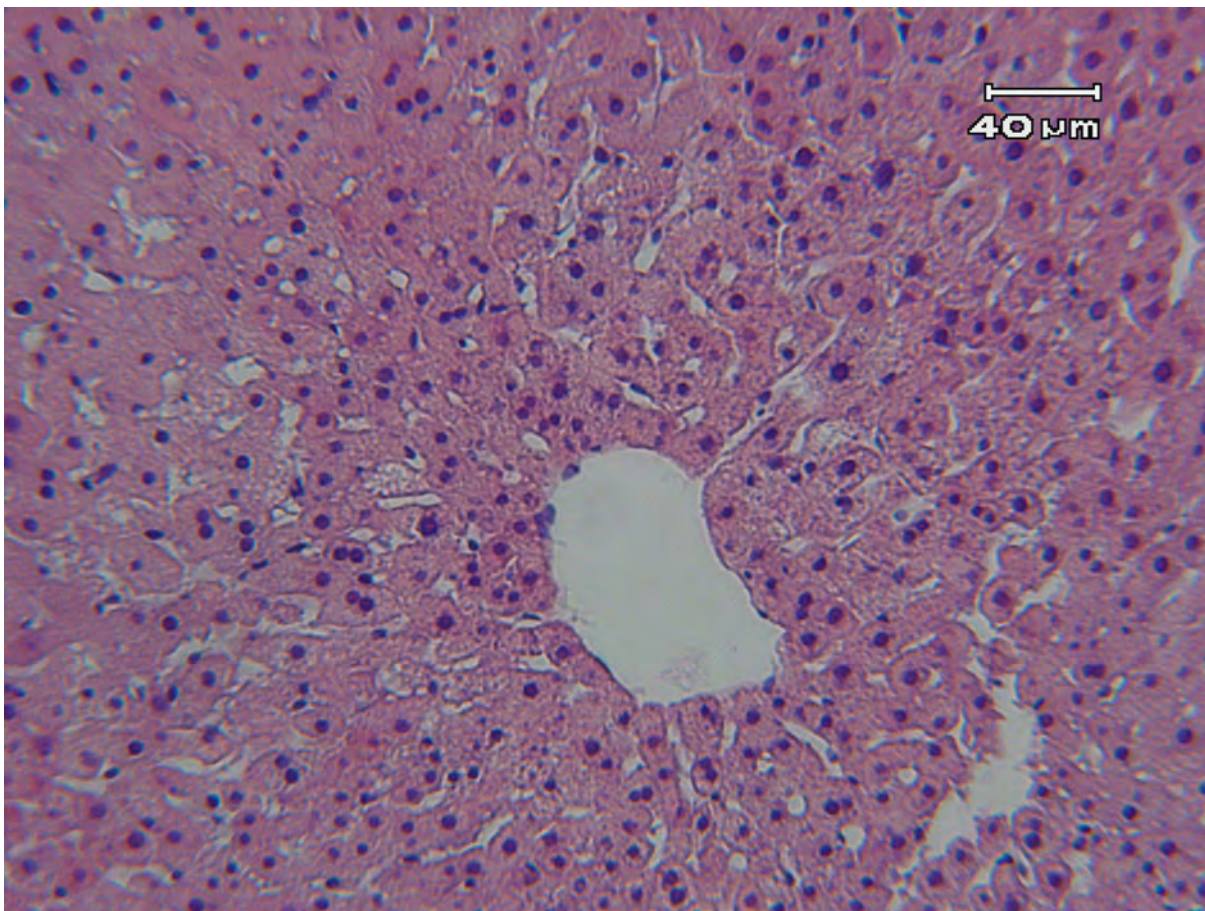


Figura 6. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipe*. Ausência de granuloma parasitário no grupo não infectado de campo. (corados com hematoxilina e eosina)

4 DISCUSSÃO

Um dos aspectos mais importantes do presente estudo foi avaliar pela primeira vez a influência da infecção de *S. mansoni* em *N. squamipes* infectados naturalmente, sob o ponto de vista bioquímico. Além disso, atualmente, a esquistossomose mansônica pode ocorrer na natureza em ciclos biológicos independentes da presença do homem, sendo o roedor *N. squamipes* um dos principais hospedeiros não-humano para este parasito, permitindo a sua manutenção na natureza, com um ciclo silvestre.

Fatores relacionados à mudança do estado glicêmico dos animais do grupo controle de biotério em relação aqueles não infectados de campo por *S. mansoni*, provavelmente estão relacionados à pequena reserva de glicogênio hepático nestes últimos, decorrente da escassez ou indisponibilidade de uma fonte alimentar adequada, bem como de fatores adicionais que resultam no consumo de glicose em resposta a situação de estresse, condições opostas àquelas em que são mantidos os animais do grupo controle de biotério. O mesmo desequilíbrio energético foi observado por Couto et al. (2008) ao estudarem sob condições experimentais alterações metabólicas em camundongos desnutridos e infectados por *S. mansoni*. Trabalhando com *Holochilus braziliensis nanus*, hospedeiro natural de *S. mansoni*, infectado na pré-Amazônia, Bastos et al. (1985) demonstraram que animais infectados aos 30 dias de idade tiveram níveis glicêmicos diminuídos à proporção em que a infecção evoluía, enquanto que os de 40 dias tiveram seus níveis de glicose plasmática, durante as oito semanas de infecção, sem diferença significativa em relação aos animais não-infectados por *S. mansoni*. No presente estudo também não foram verificadas variações significativas no padrão glicêmico entre os roedores infectados naturalmente por *S. mansoni* e os animais não infectados de campo.

O fato de disporem de alimento em quantidade acima do consumo, devido à oferta da ração *ad libitum*, associada ao confinamento dos roedores quando mantidos em condições de biotério, pode explicar os conteúdos significativamente mais altos do glicogênio hepático e de glicose plasmática nos animais controle mantidos sob condições de biotério.

Estudos têm demonstrado que, em condições experimentais, alterações metabólicas observadas em animais co-infectados eram similares àqueles infectados por uma única espécie de parasito. Desde modo, considera-se que as mesmas variações observadas no estado glicêmico dos grupos infectado naturalmente por *S. mansoni* e não infectado, provavelmente sejam o reflexo de infecções por outros helmintos intestinais presentes em ambos os grupos, que acabam competindo com os mesmos substratos necessários ao seu desenvolvimento. Esta possibilidade tem sido validada por Wu et al. (2010), que estudando alterações metabólicas em hamster co-infectados com *S. japonicum* e *N. americanus*, verificaram padrão de variação similar para conteúdos de glicose plasmática a aquele obtido por Wang et al. (2009) trabalhando com hamster infectados apenas por *N. americanus*.

Fenton et al. (2008) verificaram a presença de interações imunológicas entre parasitos e hospedeiros co-infectados, resultando em reações sinérgicas ou antagônicas como consequência destas associações. Por exemplo, camundongos co-infectados por *Litomosoides sigmodontis* e *Leishmania major* demonstraram um retardo no desenvolvimento de lesões leishmanióticas, sugerindo a existência de efeitos benéficos resultantes da co-infecção (LAMB et al., 2005). Desta maneira, a co-infecção estabelecida por Trichostrongylidae sp e *Echinostoma* sp em *N. squamipes* infectados por *S. mansoni*, poderia induzir a produção de anticorpos reativos capazes de reconhecer antígenos poli-parasitários, o que minimizaria os efeitos deletérios da infecção esquistossomótica e explicaria em parte a ausência de uma variação significativa entre o grupo não infectado de campo e aquele infectado naturalmente

por *S. mansoni*. Este efeito antagônico desencadeado pela co-infecção para determinadas espécies de helmintos tem sido registrada em roedores poli-parasitados por *S. mansoni* e *Trichuris muris* (CURRY et al., 1995) bem como, durante o estabelecimento da infecção concomitante entre *S. mansoni* e *Strongyloides venezuelensis* (YOSHIDA et al., 1999).

Não foram observadas diferenças significativas entre os parâmetros analisados para o grupo infectado naturalmente e não infectado de campo. Tal fato pode também estar relacionado ao processo de formação de uma memória imunológica em *N. squamipes*, adquirida durante infecções prévias ao longo de sua vida, possibilitando responder de maneira mais rápida e eficiente às sucessivas infecções por *S. mansoni*. Como consequência, um possível processo de adaptação fisiológica sérica estabelecido, minimizaria aqui os efeitos deletérios causados por *S. mansoni* em *N. squamipes* infectados naturalmente.

Carvalho (1982) e Silva e Andrade (1989) estudaram as alterações histopatológicas de *N. squamipes* naturalmente infectados por *S. mansoni* e não ressaltaram o estabelecimento de uma patologia grave; estes autores comentam que as lesões hepáticas decorrentes da infecção no roedor eram discretas, e sugeriram uma boa compatibilidade na relação parasito-hospedeiro. No presente estudo, observou-se que os animais naturalmente infectados apresentaram uma resposta imunológica caracterizada pela presença maciça de macrófagos na formação de diferentes estágios de desenvolvimento dos granulomas. O mesmo foi demonstrado por Costa-Silva et al. (2002), que trabalharam com *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*. Segundo os autores, as alterações histopatológicas tanto qualitativas quanto quantitativas, foram menores nos animais infectados naturalmente quando comparados aos seus grupos experimentais, que sugere que a intensidade de resposta da infecção depende da espécie de animal utilizada, da cepa de *S. mansoni*, bem como a quantidade de cercárias. Adicionalmente, o estado nutricional e a forma de manejo dos hospedeiros vertebrados utilizados como modelo de estudo, influenciam sobremaneira a resposta à infecção por *S. mansoni*. Os resultados aqui apresentados levam a uma reflexão acerca dos reais efeitos da infecção por *S. mansoni* sobre a fisiologia de seu hospedeiro vertebrado, evidenciando padrões de respostas completamente diferentes entre animais mantidos em condições de biotério e aqueles mantidos sob condições naturais.

Em conclusão, mesmo com as alterações histológicas observadas, estas não foram suficientes para induzir mudanças significativas no perfil glicêmico dos animais infectados naturalmente por *S. mansoni*, exibiram a mesma variação metabólica quando comparados com o grupo não infectado de campo. Os resultados aqui observados permitem sugerir o desenvolvimento de uma adaptação fisiológica na natureza entre o roedor silvestre *N. squamipes* e o parasito *S. mansoni*, e enfatiza sua importância como reservatório de *S. mansoni* potencializando sua transmissão, bem como a utilização destes hospedeiros como indicadores biológicos da infecção nos programas de controle eco-epidemiológico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: José Wandique Fraga da Costa, Assistente em Ciência e Tecnologia da Fundação Oswaldo Cruz, RJ, na ajuda da logística e no trabalho de campo, ao Secretário Municipal de Agricultura e Meio Ambiente do Município de Sumidouro, RJ, Silmar S. Serafim, por providenciar logística e laboratório de campo, ao Técnico de Laboratório, André Campos Santana do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz) por ter feito os exames de fezes dos roedores e ajudado no trabalho de campo, ao fotografo Rodrigo Mexas do Laboratório de Tratamento de Imagens, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), pelo tratamento das imagens e montagem da prancha, ao pesquisador Paulo Sérgio D'Andrea do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), responsável pelo biotério de animais silvestres do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, ao Técnico Divino Lopes pela ajuda na criação e manutenção das colônias de *Nectomys squamipes*. Este estudo foi apoiado

por: Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Ministério da Saúde, MS e Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, S. A.; GAD, M. Z. Effect of schistosomal infection and its treatment on some key enzymes of glucose metabolism in mice livers. **Arzneimittelforschung**, v. 45, p. 1324-1328, 1995.
- AMARAL, A. C. C.; AGUIAR, L. A. K.; SOUZA, M. R. A.; TOLEDO, C. F.; BORGES, D. R. Elevação da Gama-glutamyltransferase sérica na hepatopatia esquistossomótica não se correlaciona com a carga parasitária e precede alterações ultrasonográficas. **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 39, n. 1, p. 27-31, 2002.
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W. A. P.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório – Coleta e processamento de parasitos do pescado**. Seropédica, RJ. Brazil. Imprensa Universitária, UFRRJ. 1991. 81p.
- AMORIM, J. P. Infestação experimental e natural de murídeos pelo *Schistosoma mansoni* (nota prévia). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 5, n. 3, p. 219-222, 1953.
- BARBOSA, F. S.; BARBOSA, I.; ARRUDA, F. *Schistosoma mansoni*: natural infection of cattle in Brazil. **Science**, v. 138, n. 3542, p. 831, 1962.
- BASTOS, O. C.; LEAL, G. M. J. P.; SALGADO, B. J. L. Observações sobre os níveis glicêmicos de *Holochilus brasiliensis* nanus Thomas, 1897, hospedeiro natural do *Schistosoma mansoni* na Pré-Amazônia. **Revista de Saúde pública**, v. 19, p. 521-530, 1985.
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Série de Manuais Técnicos, 11. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, 2008. 120 p.
- BUEDING, E. Carbohydrate metabolism of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of General Physiology**, v. 33, p. 475-495, 1950.
- BUEDING, E.; MACKINNON, J. A. Hexokinase of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 215, p. 495-506, 1955.
- CARVALHO, D. M. **Sobre a importância de *Nectomys squamipes* na epidemiologia da esquistossomose mansônica no município de Sumidouro, Rio de Janeiro**. 1982. 87f. Dissertação mestrado (Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1982.
- CHEEVER, A. W.; JANKOVIC, D.; YAP, G. S.; KULLBERG, M. C.; SHER, A.; WYNN, T. A. Role of cytokines in the formation and downregulation of hepatic circumoval granulomas and hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infected mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 7, p.25-32, 1998.

COSTA-NETO, S. F. **O rato d'água, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontidae), como reservatório da esquistossomose mansônica em áreas endêmicas do município de Sumidouro, RJ.** 87f. 2006. Monografia de Bacharelado de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas). (Graduação em Ciências Biológicas – Curso de Ciências Biológicas) - Universidade Castelo Branco (UCB), Rio de Janeiro, 2006.

COSTA-SILVA, M.; RODRIGUES-SILVA, R.; HULSTIJN, M.; NEVES, R. H.; PANASCO, M. S.; LENZI, H. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Natural *Schistosoma mansoni* Infection in *Nectomys squamipes*: Histopathological and Morphometric Analysis in Comparison to Experimentally Infected *N. squamipes* and C3H/He mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 9, p. 129-142, 2002.

COUTO, J. L. A.; VIEIRA, R. C. S.; BARBOSA, J. M.; MACHADO, S. S.; FERREIRA, H. S. Alterações da função hepática de camundongos desnutridos e infectados pelo *Schistosoma mansoni*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 390-393, 2008.

CURRY, A. J.; ELSE, K. J.; JONES, F.; BANCROFT, A.; GRENCIS, R. K.; DUNNE, D. W. Evidence that cytokine-mediated immune interactions induced by *Schistosoma mansoni* alter disease outcome in mice concurrently infected with *Trichuris muris*. **Journal of Experimental Medicine**, v. 181, p. 769–774, 1995.

D'ANDREA, P. S.; HORTA, C.; CERQUEIRA, R.; REY, L. Breeding of the water rat (*Nectomys squamipes*) in the laboratory. **Laboratory Animals**, v. 30, p. 369-376, 1996.

D'ANDREA, P. S.; MAROJA, L. S.; GENTILE, R.; CERQUEIRA, R.; MALDONADO JR., A., REY, L. The parasitism of *Schistosoma mansoni* (Digenea-Trematoda) in a naturally infected population of water rats, *Nectomys squamipes* (Rodentia-Sigmodontinae) in Brazil. **Parasitology**, v. 120, n. 6, p. 573-582, 2000.

EL-SHAZLY, A. M.; SOLIMAN, M.; EL-KALLA, M. R.; RESK, H.; EL-NEMR, H. E.; HANDOUSA, A. E.; HELMY, M. M. Studies on patients with schistosomiasis mansoni, HCV and/or typhoid fever. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 31, p. 583-592, 2001.

ERNEST, K. A.; MARES, M. A. Ecology of *Nectomys squamipes*, the Neotropical Water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behaviour. **Journal of Zoology**, v. 210, n. 4, p. 599-612, 1986.

FAHIM, F. A.; ESMAT, A. Y.; HASSAN, G. K; ABDEL-BARY, A. Biochemical changes in patients with combined chronic schistosomiasis and viral hepatitis C infections. **Disease Markers**, v. 16, p. 111-118, 2000.

FENTON, A.; LAMB, T.; GRAHAM, A. L. Optimality analysis of Th1/Th2 immune responses during microparasite–macroparasite co-infection, with epidemiological feedbacks. **Parasitology**, v. 135, n. 7, p. 841–853, 2008.

- GENTILE, R.; COSTA-NETO, S. F.; GONÇALVES, M. M. L.; BONECKER, S. T.; FERNANDES, F. A.; GARCIA, J. S.; BARRETO, M. G. M.; SOARES, M. S.; D'ANDREA, P. S.; PERALTA, J. M.; REY, L. An ecological field study of the water rat *Nectomys squamipes* as a wild reservoir indicator of *Schistosoma mansoni* transmission in an endemic area. **Memórias do Instituto Oswaldo**, v. 101, n. 1, p. 111-117, 2006.
- GENTILE, R.; FERNANDEZ, F. A. S. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. **Mammalia**, v. 63, n. 1, p. 29-40, 1999.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-289, 1934.
- HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques**, 4. ed. San Francisco, CA, USA: W.H. Freeman and Company, 1979. 661p.
- KAROUM, K. O., AMIN, M. A. Domestic and wild animals naturally infected with *Schistosoma mansoni* in the Gezira irrigate scheme. Sudan. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, p. 83-90, 1985.
- LAMB, T. J.; GRAHAM, A. L.; LE-GOFF, L.; ALLEN, J. E. Co-infected C57BL/6 mice mount appropriately polarized and compartmentalized cytokine responses to *Litomosoides sigmodontis* and *Leishmania major* but disease progression is altered. **Parasite Immunology**, v. 27, n. 9, p. 317-324, 2005.
- MALDONADO JR, A., GENTILE, R., FERNANDES, C. M., D'ANDREA, P. S., LANFREDI, R. M., REY, L. Helminth communities of *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 80, n. 4, p. 369-375, 2006.
- MALDONADO JR, A.; MACHADO-SILVA, J. R.; RODRIGUES-SILVA, R.; LENZI, H. L.; REY, L. Evaluation of the resistance to *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes* (Rodentia: Cricetidae), a natural host of infection in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 3, p. 193-198, 1994.
- MANSOUR, T. E.; BUEDING, E. Kinetics of lactic dehydrogenases of *Schistosoma mansoni* and of rabbit muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 8, p. 431-434, 1953.
- MANSOUR, T. E.; BUEDING, E. The actions of antimonial on glycolytic enzymes of *Schistosoma mansoni*. **British Journal of Pharmacology**, v. 9, p. 459-462, 1954.
- MODENA, C. M.; LIMA, W. S.; COELHO, P. M. Z. Wild and domesticated animals as reservoirs of *Schistosomiasis mansoni* in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2, p. 242-244, 2008.
- PINHEIRO, J; GOMES, E. M. A method for glycogen determination in molluscs. **A Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 37, p. 569-576. 1994.
- REY, L. Non-human vertebrate hosts of *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis transmission in Brazil. **Research and Review in Parasitology**, v. 53, p. 13-25, 1993.

RODRIGUES, L. E. A.; OLIVEIRA, U. R.; GAUDENZI, T. F. Estudo bioquímico da esquistossomose mansônia hepática. 1 – relação hospedeiro-parasita na infecção experimental de camundongos. **Gazeta de Medicina da Bahia**, v. 68, n. 2, p. 61-69, 1968.

RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO E SILVA, J. R.; FAERSTEIN, N. F.; LENZI, H. L.; REY, L. Natural infection of wild rodents by *Schistosoma mansoni*. Parasitological aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 271-276, 1992.

SILVA, T. M.; ANDRADE, Z. A. Infecção natural de roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 227-235, 1989.

SMITHERS, S. R.; TERRY, P. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of adult worms. **Parasitology**, v. 55, p. 701-710, 1965.

SOUZA, V. A. M.; SILVA, R. R.; MALDONADO JR, A.; MACHADO E SILVA, J. R.; REY, L. *Nectomys squamipes* (Rodentia - Cricetidae) as an experimental model for schistosomiasis mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 277-280, 1992.

SECRETÁRIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE-BRASIL (SVS/MS), 2011. Disponível em: <http://www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apresent_esquistossomose_mansoni_30_05_2011.pdf> Acesso em: 01 jun 2011.

SUMNER, J. B. The estimation of sugar in diabetic urine using dinitrosalicylic acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 62, p. 287-290, 1924.

TAO, J.; PENG, H. K.; CAI, W. M.; DONG, F. K.; WENG, H. L.; LIU, R. H. Influence factors of serum fibrosis markers in liver fibrosis. **World journal of Gastroenterology**, v. 9, p. 2497-2500, 2003.

THÉRON, A. Polymorphisme du rythme d'émission des cercaries de *Schistosoma mansoni* et ses relations avec l'écologie de la transmission du parasite. **Vie Milleu**, v. 35, p. 23-31, 1985.

THÉRON, A., POINTIER, J. P. Ecology, dynamics, genetics and divergence of trematode populations in heterogeneous environments: The model of *Schistosoma mansoni* in the insular focus of Guadeloupe. **Research and Reviews in Parasitology**, v. 55, n. 1, p. 49-64, 1995.

WANG, Y. L.; XIAO, S. H.; XUE, J.; SINGER, B. H.; UTZINGER, J.; HOLMES, E. Systems metabolic effects of a *Necator americanus* infection in Syrian hamster. **Journal Proteome Research**, v. 8, n. 12, p. 5442–5450, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2010. **Programs and Projects: Schistosomiasis** – A major public health. Suíça, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/schistosomiasis/en/>> Acesso em: 25 fev 2010.

WU, J. F.; HOLMES, E.; XUE, J.; XIAO, S. H.; SINGER, B. H.; TANG, H. R.; UTZINGER, J.; WANG, Y. L. Metabolic alterations in the hamster co-infected with *Schistosoma japonicum* and *Necator americanus*. **International Journal for Parasitology**, 40, n. 6, p. 695–703, 2010.

YOSHIDA, A.; MARUYAMA, H.; YABU, Y.; AMANO, T.; KOBAYAKAWA, T.; OHTA, N. Immune response against protozoal and nematodal infection in mice with underlying *Schistosoma mansoni* infection. **Parasitology International**, v. 48, n. 1, p. 73–79, 1999.

5 CAPÍTULO II

Alterações na bioquímica sérica hepática em *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmodontinae) naturalmente infectado por *Schistosoma mansoni* (Trematoda, Digenea)

Alterações na bioquímica sérica hepática em *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmondontinae) naturalmente infectado por *Schistosoma mansoni* (Trematoda, Digenea)

RESUMO

Um dos principais mamíferos reservatórios silvestres de *Schistosoma mansoni* no Brasil é o roedor silvestre *Nectomys squamipes*, sendo frequentemente encontrado infectado naturalmente em áreas endêmicas da esquistossomose. Vários estudos de campo e infecções experimentais já foram realizados mostrando ser este roedor um bom modelo alternativo para o estudo da relação *S. mansoni*-*N. squamipes*. Espécimes de *N. squamipes* foram capturados no município de Sumidouro, RJ. Os roedores (N=16) foram divididos em dois grupos: infectados naturalmente por *S. mansoni* (N=8) e não infectados (controle de campo) (N=8). Foram utilizados quatorze (N=14) animais como controle de biotério. O exame histopatológico evidenciou no fígado dos roedores infectados naturalmente por *S. mansoni*, lesões em diferentes fases de desenvolvimento como hepatite granulomatosa multifocal grave, com numerosos exemplares do parasito ocluindo os vasos dos espaços porta, caracterizados por infiltrados inflamatórios e fibrose. O nível sérico de aspartato aminotransferase (AST) dos animais infectados naturalmente por *S. mansoni*, exibiram a mesma variação metabólica quando comparados com o grupo não infectado de campo, mesmo com as alterações histopatológicas observadas, estas não foram suficientes para induzir mudanças significativas na atividade da AST nos animais infectados naturalmente por *S. mansoni*. Um aumento da alanina aminotransferase (ALT) plasmática 75,66% foi observado entre os roedores capturados infectados naturalmente em relação ao controle de biotério. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros estudados entre o grupo infectado naturalmente e não infectado de campo. Tal fato pode estar relacionado à infecções prévias e ou re-infecções ao longo de sua vida, possibilitando responder de maneira mais rápida e eficiente as sucessivas infecções por *S. mansoni*. Como consequência, um processo de adaptação fisiológica é estabelecido, minimizando assim os efeitos deletérios causados por *S. mansoni* em *N. squamipes* naturalmente infectados.

Palavras chave: Transaminases; função hepática; sorologia bioquímica.

ABSTRACT

The rodent *Nectomys squamipes* is a natural and principal reservoir of *Schistosoma mansoni* adult worm in Brazil, being commonly found infected in schistosomiasis endemic areas. Several field and experimental infection studies have demonstrated that this rodent is a great alternative model on *S. mansoni*-*N. squamipes* relationship studies. *Nectomys squamipes* specimens were captured in the municipality of Sumidouro, Rio de Janeiro. The rodents (N=16) were divided into two groups: the naturally *S. mansoni* infected rodents (N=8) and the non-infected rodents (field controls) (N=8). Some rodents were used as laboratory controls (N=14). On the histological analysis, the naturally *S. mansoni* infected rodents presented lesions on the liver tissues with different developmental stages, as severe multifocal granulomatous hepatitis with many parasites obstructing the vascular lumen of the periportal region, characterized by inflammatory infiltrates and fibrosis. The aminotransferase aspartate (AST) serum level of the *S. mansoni* naturally infected animals, was observed to exhibit the same metabolic variation when compared to the non-infected field group. Even with the alterations observed, these were not enough to induce significant changes on the (AST) activity in *S. mansoni* naturally infected rodents. An average increase of 75.66% on the plasmatic aminotransferase alanin (ALT) was observed among the naturally infected rodents captured comparing to the laboratory control rodents. No significant differences were observed on the parameters studied on the naturally infected group and the non-infected field group. This fact may be related to previous infections and or reinfections during the rodent life, allowing it to react faster and efficiently to the successive *S. mansoni* infections. As a consequence, a fisiological adaptation process is established, minimizing the injurious effects caused by *S. mansoni* in *N. squamipes* naturally infected.

Key words: Transaminases; hepatical function; serum biochemistry.

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose humana tem sido relacionada à no mínimo 14 espécies de trematódeos, distribuídos em 76 países dos continentes americano, africano e asiático (Coura, 2005). Esta doença é endêmica em 52 países e territórios da América do Sul, Caribe, África e região oriental do Mediterrâneo, atingindo hoje 200 milhões de pessoas em todo mundo (WHO, 2010). No Brasil, esta parasitose afeta cerca de seis milhões de pessoas (SVS, 2011) adquirindo, portanto, grande importância em saúde pública. Além disso, autores têm demonstrado o envolvimento de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 parasitando naturalmente animais silvestres (AMORIM, 1953), animais domésticos de companhia (cão) (KAROUM; AMIN, 1985), animais de produção (bovinos) (MODENA et al., 2008) e sinantrópicos (THERON; POINTIER, 1995), o que caracteriza também sua importância médico-veterinária.

Estudos epidemiológicos têm destacado a participação do roedor silvestre, *Nectomys squamipes* Brants 1827 (Rodentia: Sigmondontinae), como o principal hospedeiro definitivo não-humano de *S. mansoni* no Brasil. Tal fato, está relacionado com os hábitos semi-aquáticos desse roedor, sua vasta distribuição geográfica e sua capacidade de eliminar ovos maduros em suas fezes (MALDONADO Jr. et al., 1994), desempenhando papel importante na transmissão desta helmintose (D'ANDREA et al., 2000). Rodrigues-Silva et al. (1992), em estudo sobre a infecção natural de *S. mansoni* em roedores silvestres, observaram que as sucessivas infecções não comprometiam a vida dos hospedeiros, nem a capacidade reprodutiva e dinâmica de população (D'ANDREA et al., 2000), caracterizando dessa forma uma relação menos prejudicial, provavelmente estabelecida por um processo co-evolutivo entre ambos os organismos, assim essa confirmação pode ser conferida com estudos relevantes sobre modificações bioquímicas no perfil hepático na infecção natural de *N. squamipes*, pois ainda são incompletos e não permitem generalizações dos fenômenos envolvidos nesta relação, sendo obrigado fazer mais estudos para investigar a ocorrência de possíveis doenças hepáticas.

As hepatopatias, em sua grande maioria, são causadas por processos infecciosos desencadeados por agentes microbiológicos como os vírus das hepatites, protozoários e helmintos, como *S. mansoni*. Nesses casos, alterações no perfil hepático são observadas, estando relacionadas ao processo de fibrose resultante da reação inflamatória (COSTA-SILVA et al., 2002). Couto et al. (2008) verificaram alterações hepáticas em camundongos infectados por *S. mansoni*, que apresentaram um aumento significativo na atividade das aminotransferases em decorrência ao processo inflamatório local. O mesmo tem sido observado por França et al. (1993), que atribuem como consequência do dano celular o aumento da atividade das aminotransferases, ratificando a participação dessas enzimas, especialmente da alanina aminotransferase (ALT), como importantes biomarcadores de injúrias hepáticas.

A determinação plasmática da concentração de bilirrubina e suas frações tem sido utilizadas para investigar patologias hepáticas tanto em estudos clínicos quanto experimentais (BLACK; BILLING, 1969). Elsheikha et al. (2008) observaram um aumento significativo nos níveis séricos de bilirrubina em camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni*. Segundo os autores, este aumento foi acompanhado por alterações anátomo-patológicas hepáticas mostrando-se mais pronunciadas em animais com elevada parasitemia.

Apesar desses estudos e do avanço do conhecimento na área da patologia produzida pela infecção experimental (SOUZA et al., 1992; COSTA-SILVA et al., 2002), pouco é conhecido sobre as modificações bioquímicas resultantes da infecção natural em roedores silvestres. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar pela primeira vez o perfil

hepático em *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*, utilizando como parâmetros bioquímicos a determinação plasmática do nível sérico de bilirrubinas total, direta e indireta, bem como, as atividades da E.C.2.6.1.2 L-alanina: 2 oxoglutarato aminotransferase (ALT) e E.C.2.6.1.1 L-aspartato: 2 oxoglutarato aminotransferase (AST).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos roedores

Os roedores silvestres *N. squamipes* foram capturados em três localidades do município de Sumidouro (22° 02 “S - 42° 41 “O), área endêmica da esquistossomose mansônica, na região serrana do Estado do Rio de Janeiro, RJ: Encanto (20° 1’07 “S – 43° 8 01 “O), Pamparrão (20° 2 “S – 43° 8 “O) e Soledade 3 (22° 03 “S - 42° 35 “O). Foram estabelecidos cinco transectos de captura ao longo do habitat natural de *N. squamipes* (ERNEST; MARES, 1986; GENTILE; FERNANDEZ, 1999). Os roedores foram capturados vivos com armadilha do tipo Tomahawk[®]. Todos os procedimentos foram realizados mediante licença da Comissão de Ética em Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA nº L-049-08). Os animais foram capturados sob a autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (nº da licença 13373-1).

2.2 Coleta das amostras

Os roedores capturados no campo foram submetidos à eutanásia em câmara enriquecida com CO₂. Amostras de aproximadamente 5ml de sangue foram coletadas dos animais através de punção cardíaca e colocadas em um tubo plástico estéril. Após meia hora, o sangue foi centrifugado a 2700xg (Centrifuga Minispin, marca Eppendorf[®]) por 10 minutos para separar o soro do conteúdo plasmático e o soro foi armazenado a -20°C até a realização da análise sorológica.

Logo após, foi feita perfusão do sistema porta-hepático de acordo com Smithers e Terry (1965) para pesquisa de helmintos adultos nas veias mesentéricas, sendo a confirmação dos animais positivos feita pela presença de helmintos, e pela presença de ovos em exames de fezes (HOFFMAN et al., 1934). Os helmintos encontrados foram fixados em AFA (93 partes de etanol 70%, 5 partes de formol e 2 partes de ácido acético) (AMATO et al., 1991). As amostras de fígado para análise histopatológica foram coletadas sempre do mesmo lobo, e medidas em partes iguais (1cm³) e os segmentos foram fixados em formalina a 4%. Os tecidos fixados foram colocados em frascos plástico onde permaneceram por 24 horas e, decorrido este tempo, foram transferidos para frascos contendo etanol 70% até o momento do processamento.

Os roedores coletados no campo (N=16) foram divididos em dois grupos: não infectados de campo (N=8) e infectados naturalmente por *S. mansoni* (N=8). Nas análises bioquímicas do soro foram utilizados oito animais não infectados de campo e seis animais infectados por *S. mansoni*. Nos animais de campo (infectados naturalmente e não infectados) foi confirmada a presença de co-infecção por helmintos intestinais (Trichostrongylidae e *Echinostoma* sp).

2.3 Análises bioquímicas do plasma sanguíneo

As determinações bioquímicas séricas do soro foram realizadas, através do kit para diagnóstico Doles[®] para determinação da atividade das enzimas AST e ALT.

2.4 Análises histopatológicas do fígado

As amostras de fígado foram processadas segundo técnica histológica de rotina e incluídas em blocos de parafina para realização de cortes seriados (5µm de espessura) e coradas com hematoxilina e eosina e Masson (HUMASON, 1979).

2.5 Animais de biotério para controle

Tendo em vista a obtenção de valores comparáveis àqueles presentes na literatura, foram reproduzidos em cativeiro roedores da espécie *N. squamipes* no Biotério de Animais Silvestres do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Os procedimentos de criação no biotério foram feitos de acordo com D'Andrea, et al. (1996). Estes roedores (N=14) foram utilizados como animais controle de biotério e foram submetidos às mesmas análises descritas acima para os animais de campo. Nas análises bioquímicas foram utilizados quatorze animais. Todos os procedimentos foram realizados mediante licença da Comissão de Ética em Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA nº L-030-07). Os animais foram reproduzidos sob a autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (nº da licença 02022.002062/01-04).

2.6 Análise estatística

Foram feitas comparações estatísticas entre os parâmetros bioquímicos dos três grupos de animais: animais não infectados de campo, animais de campo infectados naturalmente com *S. mansoni* e animais não infectados criados em biotério como controle. Os resultados obtidos nas determinações bioquímicas foram expressos através de média \pm desvio-padrão e submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnoff para verificar a normalidade dos dados e teste de análise de variância (ANOVA *one-way*), e aos testes de Tukey-Kramer para comparação das médias ($\alpha=5\%$).

3 RESULTADOS

3.1 Análises bioquímicas

A atividade da AST não variou de forma significativa entre os diferentes grupos analisados ($Z=0,1625$; $P>0,10$; $F=0,3265$; $Q=3,382$) ($P>0,05$), porém, o grupo em que a AST apresentou maior atividade, em média, foi aquele dos roedores não infectados de campo ($30,182\pm 2,488$) (Tabela 1). Um aumento significativo da atividade da ALT ($Z=0,2719$; $P>0,10$; $F=6,609$; $Q=3,385$) plasmática foi observado nos roedores capturados infectados naturalmente com *S. mansoni* ($37,167\pm 5,706$) (Tabela 1), apresentando um aumento de aproximadamente 75,66% quando comparado com o controle (não infectado) de biotério ($17,029\pm 2,039$) ($q=5,132$; $P<0,01$).

A infecção de *N. squamipes* com *S. mansoni* não proporcionou alterações significativas nos conteúdos das frações direta ($Z=0,2686$; $P>0,10$; $F=28,337$; $Q=3,384$) e total ($Z=0,2021$; $P>0,10$; $F=124,06$; $Q=3,389$) de bilirrubina entre os grupos não infectados de campo ($0,2734\pm 0,1060$ e $0,4058\pm 0,1255$) e infectados naturalmente ($0,2685\pm 0,0604$ e $0,2849\pm 0,088$) (Tabela 2), respectivamente ($P>0,05$). O grupo controle de biotério foi o que apresentou maior média nos conteúdos das frações direta e total de bilirrubina, diferindo estatisticamente dos grupos anteriores ($0,7303\pm 0,3737$ e $1,258\pm 0,3319$) ($P<0,01$) (Tabela 2). A mesma ordem de variação foi observada para a fração indireta da bilirrubina, sendo o grupo controle criado em biotério, igualmente apresentando a maior média ($0,5277\pm 0,3528$) ($P<0,01$).

Tabela 1. Relação entre a atividade plasmática das enzimas L-alanina: 2 oxoglutarato aminotransferase (ALT) e L-aspartato: 2 oxoglutarato aminotransferase (AST), expresso em URF/ml, de soro de *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. **CB**=Controle de Biotério, **IN**=Infectado Naturalmente e **NI**=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si.

Grupos	AST (URF/ml) X \pm SD	ALT (URF/ml) X \pm SD
CB	27,000 \pm 2,817 ^a	17,029 \pm 2,039 ^a
IN	29,864 \pm 4,293 ^b	37,167 \pm 5,706 ^b
NI	30,182 \pm 2,488 ^b	24,083 \pm 4,692 ^b

Tabela 2. Relação entre a concentração plasmática de bilirrubina: conteúdos das frações direta e total expresso em mg/ml, de soro de *Nectomys squamipes* infectado com *Schistosoma mansoni*. **CB**=Controle de Biotério, **IN**=Infectado Naturalmente e **NI**=Não Infectado. $X \pm SD$ =média \pm desvio-padrão. ^{a, b} = Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si.

Grupos	Fração direta (mg/ml) X \pm SD	Fração total (mg/ml) X \pm SD
CB	0,7303 \pm 0,3737 ^a	1,258 \pm 0,3319 ^a
IN	0,2685 \pm 0,0604 ^b	0,2849 \pm 0,088 ^b
NI	0,2734 \pm 0,1060 ^b	0,4058 \pm 0,1255 ^b

3.2 Resultados histopatológicos

O exame histopatológico evidenciou no fígado dos roedores (*N. squamipes*) infectados naturalmente por *S. mansoni*, lesões em diferentes fases de desenvolvimento, como hepatite granulomatosa multifocal grave (Figura 1), onde se observaram numerosos exemplares do parasito (Figura 2) (infecção alta) ocluindo os vasos dos espaços porta (flebite portal), na maioria das vezes formando “pseudotubérculos”, caracterizados por infiltrados leucocitários (Figura 3), ricos em eosinófilos e células mononucleares, tais como linfócitos, macrófagos (muitas vezes carregados de pigmento amarelo ouro), plasmócitos (Figura 5) e fibrose. As lesões, na sua grande maioria são formadas por granulomas, que variam em aspecto, em função das diferentes fases evolutivas da migração nas quais se observa desde microabscessos até piogranulomas e granulomas mais crônicos, onde a fibrose é mais conspícua. Também são observados pequenos e raros focos de infiltrado inflamatório mononuclear, predominantemente linfocitário, com poucos eosinófilos e raros macrófagos às vezes contendo pigmento amarelo ouro, distribuídos aleatoriamente e discretos focos de infiltrado inflamatório linfocitário e raros polimorfonucleares.

Foram observadas poucas áreas de fibrose evidente nas lesões granulomatosas mais crônica no exame histológico coradas com tricrômico de Masson, sendo encontrados numerosos exemplares do parasito ocluindo os vasos dos espaços porta (Figura 2), com infiltrado inflamatório constituído por eosinófilos, linfócitos, macrófagos (muitas vezes contendo pigmento amarelo ouro), plasmócitos e fibrose (corada em azul) (Figura 4). Não foram encontradas lesões de qualquer natureza nos animais controle de biotério e não infectados de campo (Figura 6).

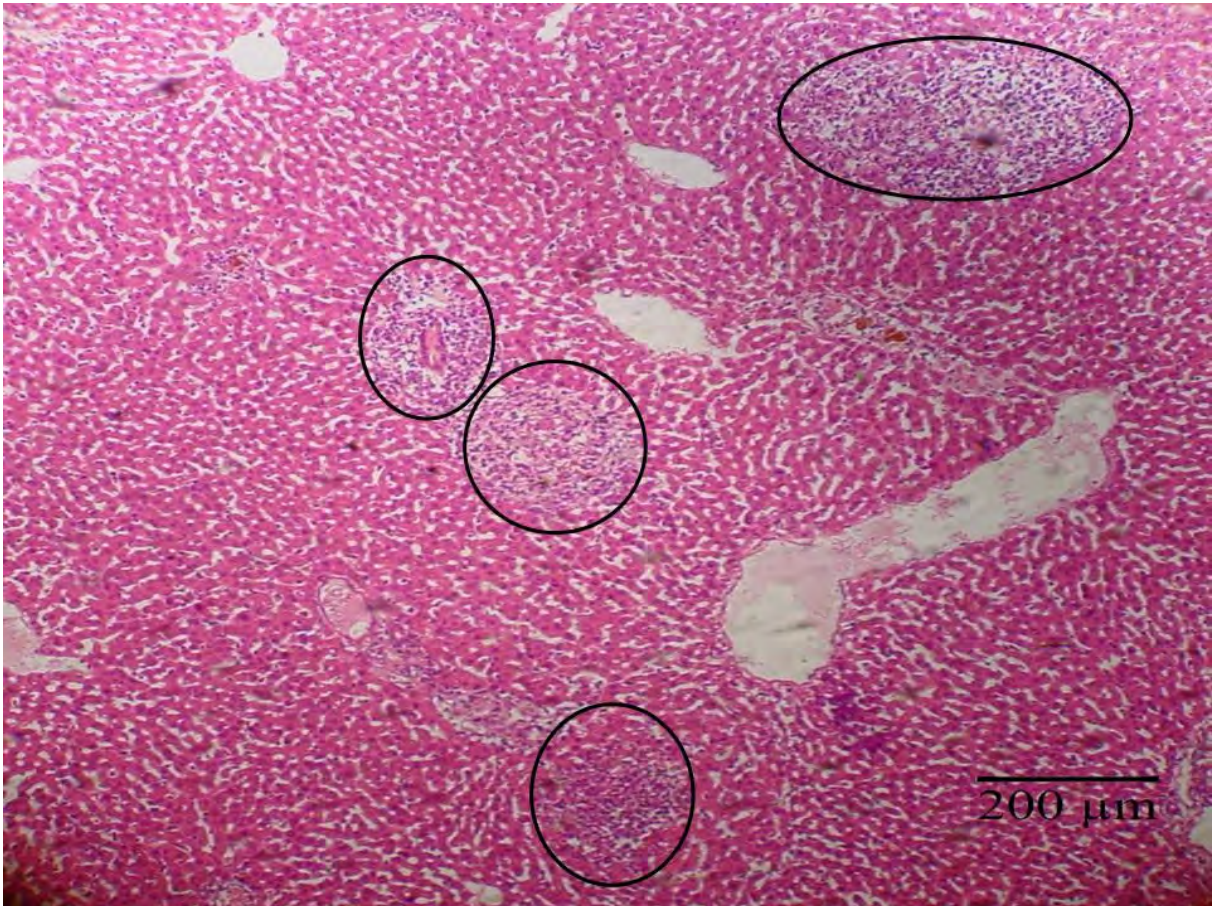


Figura 1. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Lesões multifocais (círculos pretos) em diferentes fases evolutivas na região periportal.

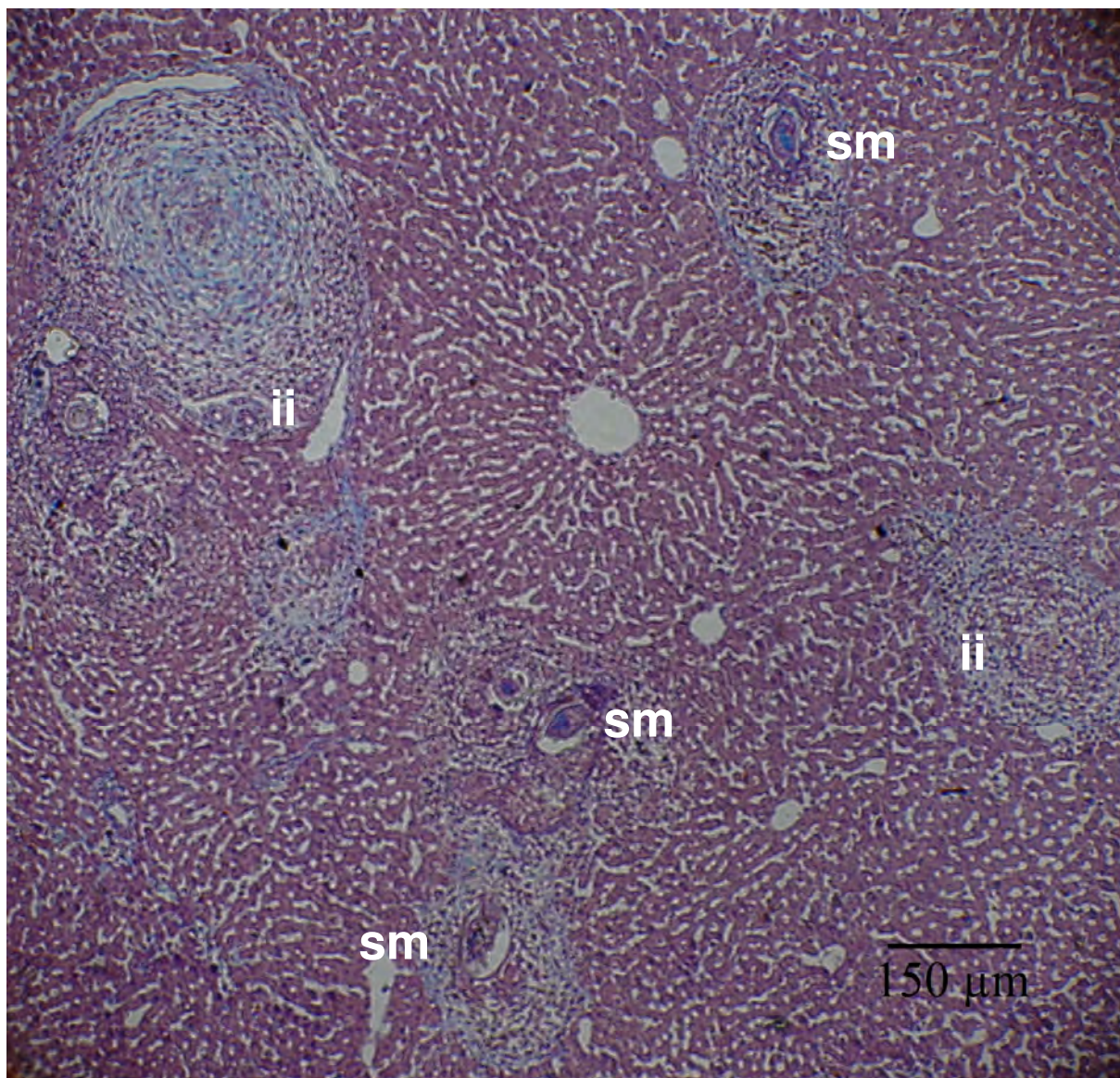


Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Numerosos exemplares do parasito ocluindo os vasos dos espaços porta (sm), com infiltrado inflamatório (ii). (coradas com tricrômico de Masson)

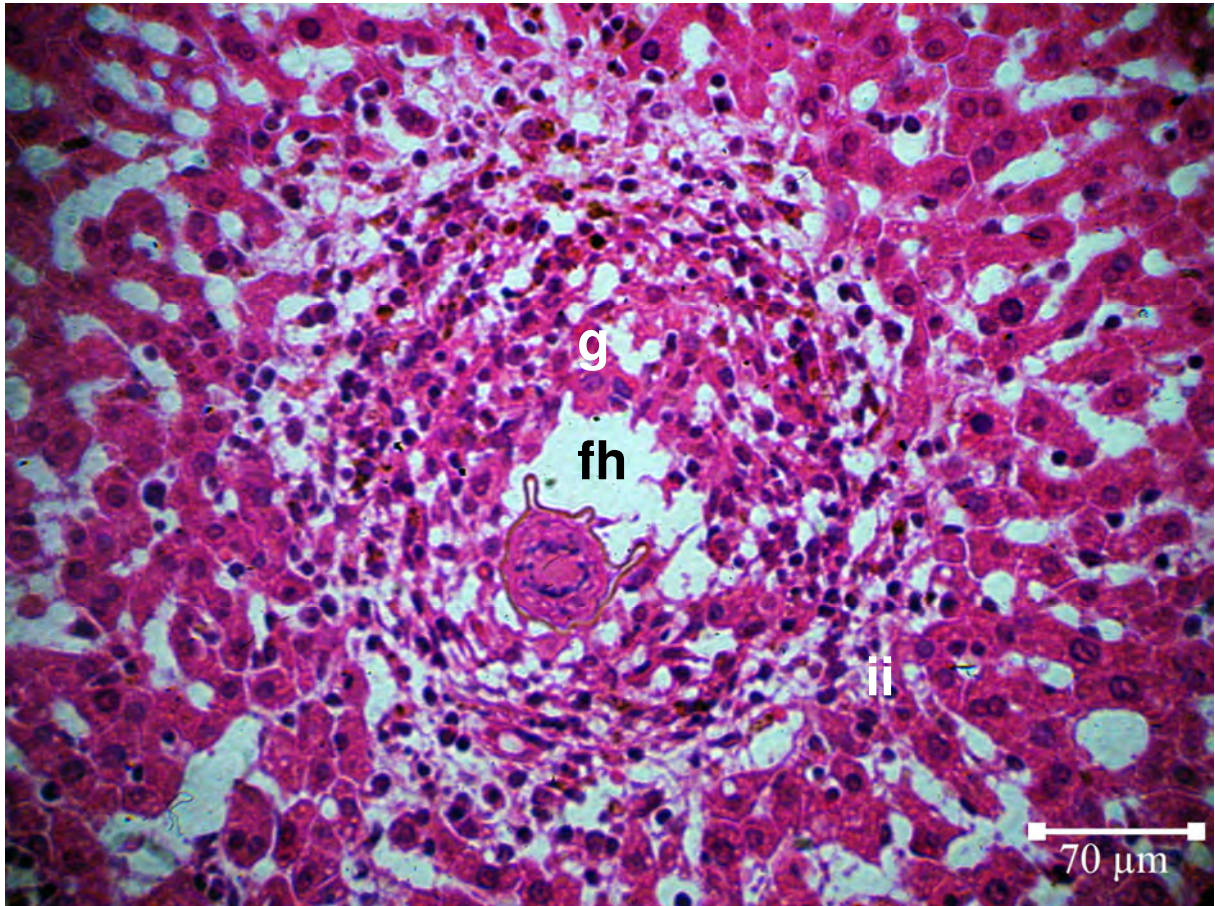


Figura 3. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma (g) com presença de infiltrado inflamatório e fragmentos do helminto (fh). (corados com hematoxilina e eosina)

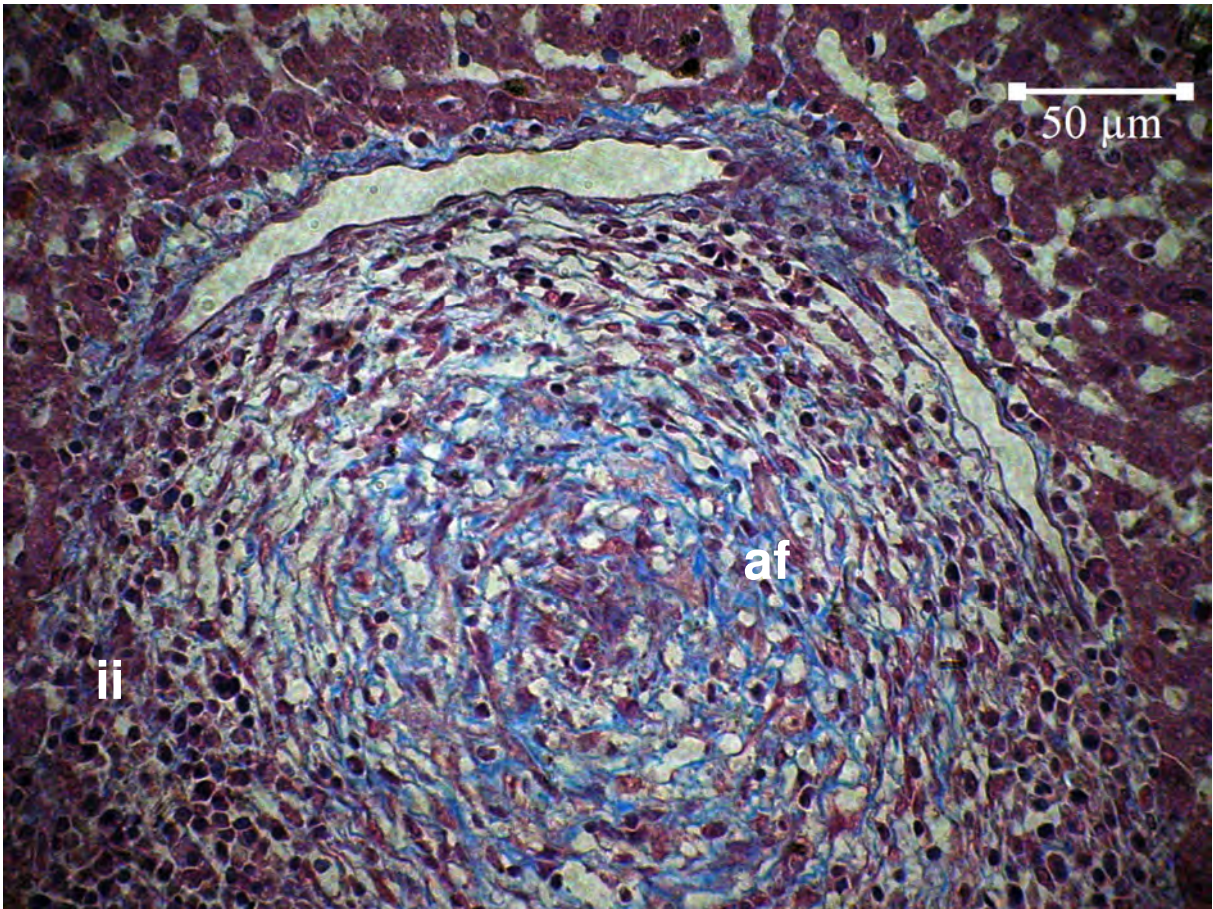


Figura 4. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Áreas de fibrose (af) evidente nas lesões granulomatosas mais crônica (corada em azul). (coradas com tricrômico de Masson)

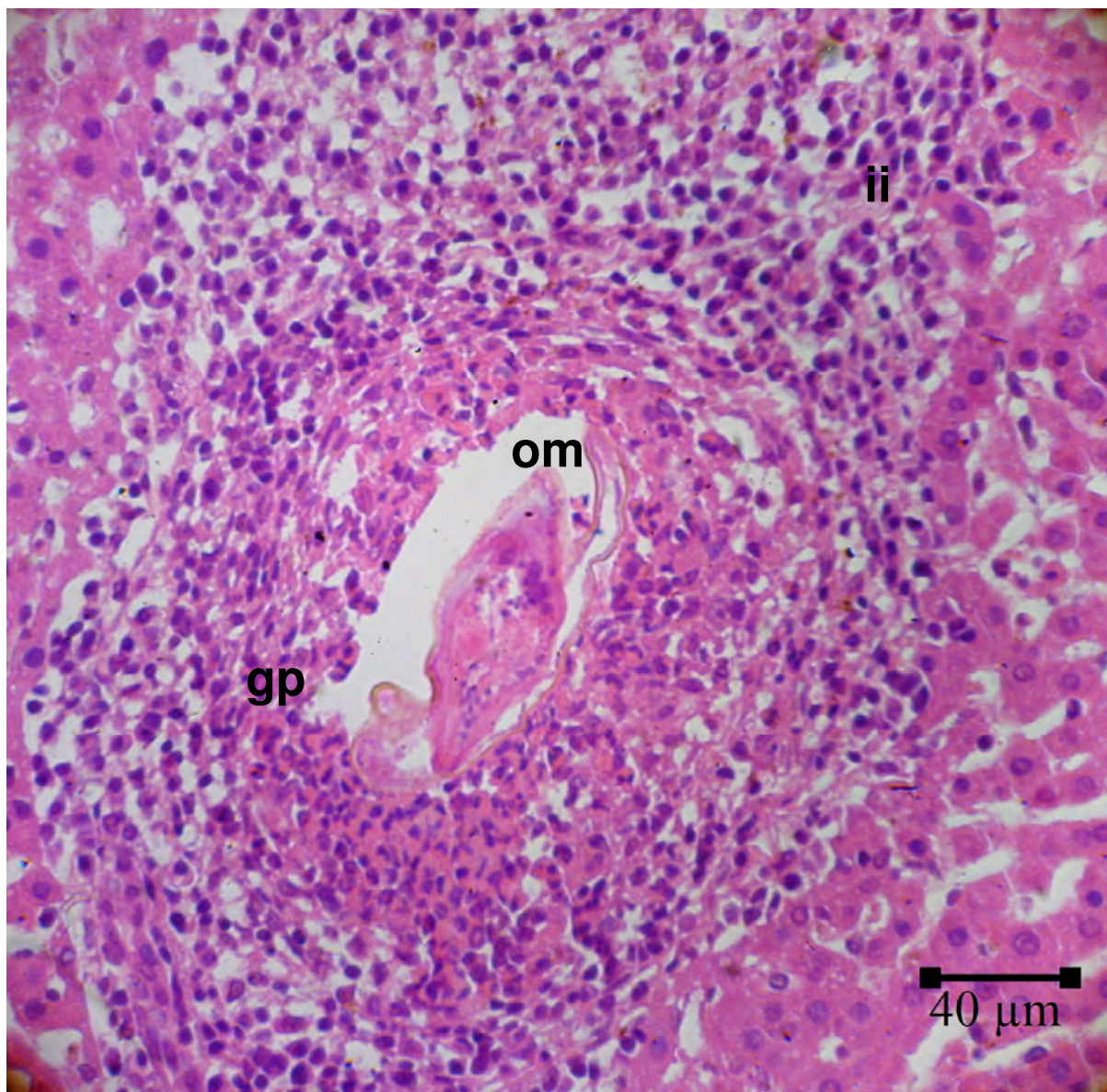


Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*, naturalmente infectado com *Schistosoma mansoni*. Granuloma em fase exsudativo-produtiva (gp), com numerosos eosinófilos, fibroblastos, plasmócitos, neutrófilos, linfócitos, ao redor dos ovos recém depositados com miracídeos (om) e macrófagos com pigmentação marrom-amarelado. (corados com hematoxilina e eosina)

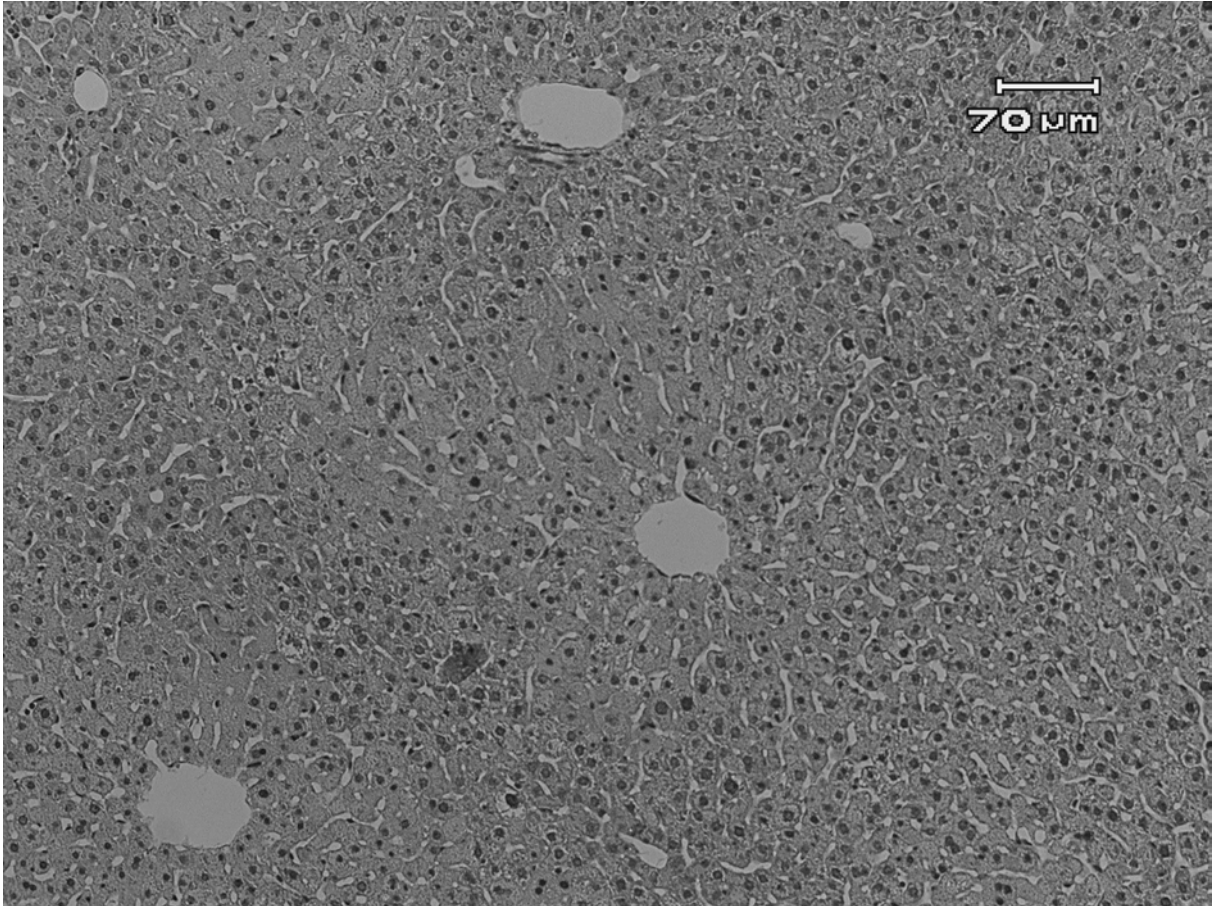


Figura 6. Fotomicrografia de corte transversal histológico de fragmento hepático de *Nectomys squamipes*. Ausência de granuloma parasitário de *Schistosoma mansoni* no grupo não infectado de campo. (corados com hematoxilina e eosina)

4 DISCUSSÃO

Este trabalho incidiu sobre os aspectos morfológicos das alterações hepáticas causadas por *S. mansoni* em *N. squamipes* naturalmente infectados, que evidenciam sinais de infecção ativa expressa por reações pré-granulomatosas, e reações granulomatosas em fase exsudativo-produtiva que não foram suficientes para causar alterações metabólicas no perfil hepático neste reservatório silvestre. Estudos experimentais têm revelado alterações nos padrões metabólicos de roedores durante o curso da infecção por *S. mansoni* (COUTO et al., 2008). Nestes, alterações hepáticas são demonstradas, caracterizadas principalmente por formações granulomatosas, além de fibrose do tecido hepático como consequência da deposição de ovos pelo helminto (EL-AASAR et al., 1989; EL-BANHAWEY et al., 2007). Tais fatos são acompanhados por desordens bioquímicas, que passam a sinalizar diferentes níveis de agressões dos hepatócitos, sendo por esta razão, amplamente utilizadas para avaliar o estado de saúde do hospedeiro (BORSA et al., 2006). Mesmo fato não foi observado, surpreendentemente, não houve diferenças significativas entre as aminotransferases AST e ALT entre os grupos analisados infectados naturalmente e não infectados de campo, que ocupavam o mesmo nicho e sofrendo as mesmas pressões do ambiente. Apesar desses estudos, nenhum perfil foi ainda estabelecido em roedores naturalmente infectados, impossibilitando assim, generalizações sobre a relação entre este helminto e seu hospedeiro vertebrado, quando o mesmo se encontra inserido no seu ecótopo natural.

As aminotransferases constituem um importante grupo enzimático que catalisa a interconversão de aminoácidos para α -cetoácidos mediante a transferência do grupamento amino (BURTIS; ASHWOOD, 1998). Por esta razão, desempenham um importante papel na associação entre o metabolismo de aminoácidos e carboidratos, possibilitando desaminação dos aminoácidos e a utilização do esqueleto carbônico como substratos não glicídicos para a síntese de glicose. O aumento significativo da ALT observado em *N. squamipes* infectados naturalmente por *S. mansoni*, quando comparado com o grupo controle, permite supor que a infecção tenha induzido alterações no metabolismo energético desses animais. Tal idéia é ratificada por alguns autores que relacionam os aumentos crescentes nas atividades de ambas as aminotransferases à maior atividade da gliconeogênese; com o maior consumo de estruturas de carbono dos aminoácidos, redução dos conteúdos de proteínas totais, e acumulação de produtos nitrogenados de excreção, estado fisiológico caracterizado pelo aumento da demanda energética no organismo hospedeiro (TUNHOLI et al., 2011; MASOLA et al., 2008).

A ausência de variação nos níveis plasmáticos da ALT entre os grupos de campo (naturalmente infectados por *S. mansoni* e não infectados) provavelmente resultam de infecções por outros helmintos intestinais presentes em ambos os grupos, que acabam competindo com os mesmos substratos necessários ao seu desenvolvimento, induzindo, portanto, um estado energético similar. Esta possibilidade tem sido validada por Wu et al. (2010), que estudando alterações metabólicas em hamsters co-infectados com *S. japonicum* e *Necator americanus*, verificaram padrão de variação para conteúdos de glicose plasmática similar àquele obtido por Wang et al. (2009) trabalhando com hamsters infectados apenas por *N. americanus*.

Estudos têm validado ainda a utilização dessa enzima como importante indicador de lesões hepáticas (GARCIA et al., 2011; KANECO, 1989). Na infecção experimental de camundongos por *S. mansoni*, El-Sisi et al. (2011) observaram um aumento significativo nos níveis plasmáticos da ALT. Segundo os autores, esse aumento foi acompanhado pela ruptura de hepatócitos, resultando em necrose ou aumento da permeabilidade da membrana celular.

Assim, eventos similares estão acontecendo na natureza na interface *N. squamipes*-*S. mansoni*, confirmando a maior sensibilidade dessa enzima no diagnóstico laboratorial de patologias hepáticas (VASHIST et al., 2011). Neste trabalho, *N. squamipes* infectado naturalmente por *S. mansoni* apresentou lesões em diferentes fases de desenvolvimento, como hepatite granulomatosa multifocal grave, onde se observaram numerosos exemplares do parasito.

Para alguns autores, o aumento sérico da atividade da AST seria apenas observado durante a fase aguda da infecção (LUMEIJ e WESTERHOF, 1987). Fudge (2000) ainda relata que, casos de doenças hepáticas crônicas, caracterizadas por lise de hepatócitos, não alterariam com os níveis da AST. Adicionalmente, Elsheikha et al. (2008) concluem que, esta desordem fisiológica seria proporcional a parasitemia no hospedeiro. Desse modo, por se tratar de um estudo observacional, onde nem o tempo de infecção nem a carga parasitária foram experimentalmente manipulados, a ausência de variação significativa na atividade da AST entre os grupos de animais estudados pode ser, em parte, explicada como consequência da cronicidade da infecção, bem como, em decorrência do estabelecimento de uma resposta imunológica em *N. squamipes*, que acaba garantindo um mecanismo eficiente de regulação da carga parasitária minimizando assim os efeitos deletérios causados por *S. mansoni*. Ainda, a ausência de variação significativa na atividade dessa enzima entre o grupo infectado naturalmente por *S. mansoni*, não infectado de campo e controle de biotério, pode ser devido a sua natureza não específica como indicador de injúrias hepáticas (ADRIOLO e BORGES, 1989), pois 80% da AST são encontradas nas mitocôndrias, esta diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas (BURTIS; ASHWOOD, 1998). As aminotransferases ALT e AST normalmente estão presentes no soro em baixa concentração (KAPLAN, 1987), e embora sejam enzimas sugestivas de hepatopatias não são produzidas unicamente no tecido hepático apresentando distribuição em diferentes órgãos (ADRIOLO; BORGES, 1989). O aumento das aminotransferases pode ser ocasionado por diversos fatores, devido à grande sensibilidade destas enzimas a uma ampla gama de fatores que possam promover alteração hepática ou extra-hepática. O aumento das aminotransferases pode também decorrer da liberação de produtos de excreção-secreção que levariam ao aumento da permeabilidade da membrana dos hepatócitos causando o extravasamento destas enzimas na circulação sanguínea (BERGMEYER et al., 1983).

Carvalho (1982) e Silva e Andrade (1989), apresentaram um estudo interessante no modelo animal (*N. squamipes*), que participava da manutenção do ciclo silvestre de *S. mansoni* em uma área endêmica. Os mesmos estudaram as alterações histopatológicas em roedores naturalmente infectados por *S. mansoni* e não relatam a formação de uma patologia grave; estes autores comentaram que as lesões hepáticas decorrentes da infecção no roedor silvestres eram discretas, e sugeriram uma boa compatibilidade na relação *Schistosoma-Nectomys*. No presente estudo, os resultados mostraram que *N. squamipes* naturalmente infectados apresentaram uma efetiva resposta imunológica as alterações histopatológicas provocadas por *S. mansoni* com pequenas variações, caracterizada pela presença maciça de infiltrados leucocitários e células mononucleares macrófagos (muitas vezes carregados de pigmento amarelo ouro), na formação de diferentes estágios de desenvolvimento dos granulomas hepáticos.

Costa-Silva et al. (2002) trabalharam com *N. squamipes* infectados naturalmente e experimentalmente por *S. mansoni*. Segundo os autores, os granulomas hepáticos, com pequenas variações, mostravam uma tendência genética à criação de forte resposta de macrófagos a pequenos granulomas. No presente estudo, as alterações histopatológicas tanto qualitativas quanto quantitativas foram menores nos animais infectados naturalmente quando comparados aos seus grupos experimentais. Isto sugere que a intensidade de resposta da infecção depende da espécie de animal utilizada, da cepa de *S. mansoni*, bem como a quantidade de cercárias, pois a variabilidade dos inóculos interfere mais com a quantidade do

que com a qualidade das alterações patológicas. Adicionalmente, o estado nutricional e a forma de manejo dos hospedeiros vertebrados utilizados como modelo de estudo influenciam sobremaneira a resposta à infecção por *S. mansoni*. Os resultados aqui apresentados nos levam a uma reflexão acerca dos reais efeitos da infecção por *S. mansoni* sobre a fisiologia de seu hospedeiro vertebrado no ambiente natural, evidenciando padrões de respostas completamente diferentes entre animais mantidos em condições de laboratório e aqueles mantidos em condições naturais.

Em conclusão, mesmo com as alterações histológicas observadas, estas não foram suficientes para induzir mudanças significativas na atividade da aminotransferase AST dos animais infectados naturalmente por *S. mansoni*, os quais exibiram a mesma variação metabólica quando comparados com o grupo não infectado de campo. Um aumento na atividade da ALT plasmática foi observado entre os roedores infectados naturalmente em relação ao controle de laboratório. Os resultados aqui observados, permitem a sugerir o desenvolvimento de uma adaptação fisiológica na natureza na relação parasito-hospedeiro entre o roedor silvestre *N. squamipes* e o parasito *S. mansoni*. Um dos aspectos mais importantes do presente estudo foi avaliar pela primeira vez a influência da infecção de *S. mansoni* em *N. squamipes* infectados naturalmente, sob o ponto de vista bioquímico em nível hepático. Além disso, atualmente, a esquistossomose mansônica pode ocorrer na natureza em ciclos biológicos independentes da presença do homem, sendo o roedor *N. squamipes* um dos principais hospedeiros não-humano para este parasito, permitindo a sua manutenção na natureza, com um ciclo silvestre e enfatiza sua importância como reservatório de *S. mansoni* potencializando sua transmissão, constituindo um ponto de entrave nos programas de controle, uma vez que os roedores podem se tornar fonte de infecção para hospedeiros humanos, após o tratamento destes pacientes, levando a sua reinfecção, o que torna importante a utilização destes hospedeiros como indicadores biológicos da infecção nos programas de controle eco-epidemiológico.

AGRADECIMENTOS

A José Wandique Fraga da Costa, Assistente em Ciência e Tecnologia da Fundação Oswaldo Cruz, RJ, na ajuda da logística e no trabalho de campo, ao Secretário Municipal de Agricultura e Meio Ambiente do Município de Sumidouro, RJ Silmar S. Serafim, por providenciar logística e laboratório de campo, ao Técnico de Laboratório do Andre Campos Santana, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ, por ter feito os exames de fezes dos roedores e ajudado no trabalho de campo, ao pesquisador Paulo Sérgio D'Andrea do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ, responsável pelo biotério de animais silvestres do Instituto Oswaldo Cruz, ao Técnico Divino Lopes pela ajuda na criação e manutenção das colônias de *Nectomys squamipes*. Este estudo foi apoiado por: Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Ministério da Saúde, MS e Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALARCÓN de NOYA, B.; POINTIER, J. P.; COLMENARES, C.; THÉRON, A.; BALZAN, C.; CESARI, I. M.; GONZÁLEZ, S.; NOYA, O. Natural *Schistosoma mansoni* infection in wild rats from Guadeloupe: parasitological and immunological aspects. **Acta Tropica**, v. 68, n. 1, p. 11-21, 1997.
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W. A. P.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório – Coleta e processamento de parasitos do pescado**. Seropédica, RJ. Brazil. Imprensa Universitária, UFRRJ. 1991. 81p.
- AMORIM, J. P. Infestação experimental e natural de murídeos pelo *Schistosoma mansoni* (nota prévia). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 5, n. 3, p. 219-222, 1953.
- ANDRIOLO, A.; BORGES, D. R. Enzimologia clínica em doenças do fígado. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 25, p. 95-98, 1989.
- BERGMAYER, H. U., BERGMAYER, J., GRASSL, M. **Methods of Enzymatic Analysis**. 3. ed. Vol. 3. Verlag Chemie, Germany: Weinheim, 1983. 1257p.
- BLACK, M.; BILLING, B. H. Hepatic bilirubin UDP-glucuronyl transferase activity in liver disease and Gilbert's syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 280, n. 23, p. 1266-1271, 1969.
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Série de Manuais Técnicos, 11. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, 2008. 120 p.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L. P. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p.675-677, 2006.
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Fundamentos de Química Clínica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 836 p. 1998.
- CARVALHO, D. M. **Sobre a importância de *Nectomys squamipes* na epidemiologia da esquistossomose mansônica no município de Sumidouro, Rio de Janeiro**. 1982. 87f. Dissertação mestrado (Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1982.
- COSTA-NETO, S. F. **O rato d'água, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontidae), como reservatório da esquistossomose mansônica em áreas endêmicas do município de Sumidouro, RJ**. Rio de Janeiro, 2006. 87f. Monografia de Bacharelado de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas – Curso de Ciências Biológicas), Universidade Castelo Branco, 2006.

COSTA-SILVA, M.; RODRIGUES-SILVA, R.; HULSTIJN, M.; NEVES, R. H.; PANASCO, M. S.; LENZI, H. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Natural *Schistosoma mansoni* Infection in *Nectomys squamipes*: Histopathological and Morphometric Analysis in Comparison to Experimentally Infected *N. squamipes* and C3H/He mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 9, p. 129-142, 2002.

COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1132p.

COUTO, J. L. A.; VIEIRA, R. C. S.; BARBOSA, J. M.; MACHADO, S. S.; FERREIRA, H. S. Alterações da função hepática de camundongos desnutridos e infectados pelo *Schistosoma mansoni*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 390-393, 2008.

D'ANDREA, P. S.; HORTA, C.; CERQUEIRA, R.; REY, L. Breeding of the water rat (*Nectomys squamipes*) in the laboratory. **Laboratory Animals**, v. 30, p. 369-376, 1996.

D'ANDREA, P. S.; MAROJA, L. S.; GENTILE, R.; CERQUEIRA, R.; MALDONADO JR., A., REY, L. The parasitism of *Schistosoma mansoni* (Digenea-Trematoda) in a naturally infected population of water rats, *Nectomys squamipes* (Rodentia-Sigmodontinae) in Brazil. **Parasitology**, v. 120, n. 6, p. 573-582, 2000.

DUPLANTIER, J. M.; SENÈ, M. Rodents as reservoir hosts in the transmission of *Schistosoma mansoni* in Richard-Toll, Senegal, West Africa. **Journal of Helminthology**, v. 74, n. 2, p. 129-135, 2000.

EL-AASAR, A. A.; EL-MERZABANI, M. M.; ZAKHARY, N. I.; FARAG, H. I.; ABDEEN, A. M.; ABD EL-SALAM, I.; MOKHTAR, N. M. Biochemical and biophysical studies on schistosomal liver of mice. **Egypt Journal Bilharz**. v.11, p. 19-33, 1989.

EL-BANHAWEY, M. A.; ASHRY, M. A.; EL-ANSARY, A.; K.; ALY, S. A. Effect of Curcuma longa or praziquantel on *Schistosoma mansoni* infected mice liver - histological and histochemical study. **Indian journal of experimental biology**. v. 45, p. 877-889, 2007.

ELSHEIKHA, H. M.; HUSSEIN, H. S.; RAHBAR, M. H. Clinico-pathological effects of *Schistosoma mansoni* infection associated with simultaneous exposure to malathion in Swiss outbred albino mice. **Acta Tropica**. v. 108, n. 1, p. 11-19, 2008.

EL-SISI, A.; AWARA, W.; EL-MASRY, T.; EL-KOWRANY, S.; EL-GHARBAWY, R. Effects and mechanism of action of immunomodulating agents against schistosomiasis-induced hepatic inflammation and fibrosis in mice. **Research in Pharmaceutical Biotechnology**. v. 3, n. 4, p. 32-45, 2011.

ERNEST, K. A.; MARES, M. A. Ecology of *Nectomys squamipes*, the Neotropical Water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behaviour. **Journal of Zoology**, v. 210, n. 4, p. 599-612, 1986.

GARCIA, J. S.; HOOPER, C.; SIMÕES, R.; SANTOS, M. A. J.; MALDONADO JR., A.; PINHEIRO, J. Biochemical and histological responses of *Rattus norvegicus* (WISTAR) infected by *Echinostoma paraense* (Trematoda: echinostomatidae). **Veterinary Parasitology**. v. 178, n. 1-2, p. 86-92, 2011.

- GENTILE, R.; COSTA-NETO, S. F.; GONÇALVES, M. M. L.; BONECKER, S. T.; FERNANDES, F. A.; GARCIA, J. S.; BARRETO, M. G. M.; SOARES, M. S.; D'ANDREA, P. S.; PERALTA, J. M.; REY, L. An ecological field study of the water rat *Nectomys squamipes* as a wild reservoir indicator of *Schistosoma mansoni* transmission in an endemic area. **Memórias do Instituto Oswaldo**, v. 101, n. 1, p. 111-117, 2006.
- GENTILE, R.; FERNANDEZ, F. A. S. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. **Mammalia**. v. 63, n. 1, p. 29-40, 1999.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-289, 1934.
- HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques**, 4. ed. San Francisco, CA, USA: W.H. Freeman and Company, 1979. 661p.
- KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic, 1989. 932p.
- KAROUM, K. O., AMIN, M. A. Domestic and wild animals naturally infected with *Schistosoma mansoni* in the Gezira irrigate scheme. Sudan. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 88, p. 83-90, 1985.
- LUMEIJ, J. T.; WESTERHOF, Blood chemistry for the diagnosis of hepatobiliary disease in birds. **A review Veterinary Quarterly**. v. 9, n.3, p. 255-61, 1987.
- MACHADO-SILVA, J. R.; LANFREDI, R. M.; GOMES, D. C. Morphological study of adult male worms of *Schistosoma mansoni* by scanning electron microscopy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, p. 647-653, 1997.
- MALDONADO JR, A., GENTILE, R., FERNANDES, C. M., D'ANDREA, P. S., LANFREDI, R. M., REY, L. Helminth communities of *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontine) naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 80, n. 4, p. 369-375, 2006.
- MALDONADO JR, A.; MACHADO-SILVA, J. R.; RODRIGUES-SILVA, R.; LENZI, H. L.; REY, L. Evaluation of the resistance to *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes* (Rodentia: Cricetidae), a natural host of infection in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 3, p. 193-198, 1994.
- MODENA, C. M.; LIMA, W. S.; COELHO, P. M. Z. Wild and domesticated animals as reservoirs of *Schistosomiasis mansoni* in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2, p. 242-244, 2008.
- MORAND, S.; POINTIER, J. P.; THÉRON, A. Population biology of *Schistosoma mansoni* in the black rat: host regulation and basic transmission rate. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 5, p. 673-684, 1999.

RIBEIRO, A. C.; MALDONADO JR, A.; D'ANDREA, P. S.; VIEIRA, G. O.; REY, L. Susceptibility of *Nectomys rattus* (Pelsen, 1883) to experimental infection with *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907): a potencial reservoir in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 1, p. 295-299, 1998.

RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; FAERSTEIN, N. F.; LENZI, H. L.; REY, L. Natural infection of wild rodents by *Schistosoma mansoni*. Parasitological aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 5, p. 271-276, 1992.

SECRETÁRIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE-BRASIL (SVS/MS), 2011. Available in: http://www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apresent_esquistossomose_mansoni_30_05_2011.pdf.

SILVA, T. M. C.; ANDRADE, Z. A. Infecção natural de roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 2, p. 227-235, 1989.

SMITHERS, S. R.; TERRY, P. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of adult worms. **Parasitology**, v. 55, p. 701-710, 1965.

SOUZA, V. A. M.; SILVA, R. R.; MALDONADO JR, A.; MACHADO E SILVA, J. R.; REY, L. *Nectomys squamipes* (Rodentia - Cricetidae) as an experimental model for schistosomiasis mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 277-280, 1992.

THÉRON, A., POINTIER, J. P. Ecology, dynamics, genetics and divergence of trematode populations in heterogeneous environments: The model of *Schistosoma mansoni* in the insular focus of Guadeloupe. **Research and Reviews in Parasitology**, v. 55, n. 1, p. 49-64, 1995.

THÉRON, A.; POINTER, J. P.; MORAND, S.; IMBERT-ESTABILET, D.; BOREL, G. Long-term dynamics of natural populations of *Schistosoma mansoni* among *Rattus rattus* in patchy environment. **Parasitology**, v. 104, p. 291-298, 1992.

TUNHOLI, V. M.; LUSTRINO, D.; TUNHOLI-ALVES, V. M.; MELLO-SILVA, C. C.; RODRIGUES, M. L. A.; MALDONADO JR., A.; PINHEIRO, J. Biochemical profile of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) after infection by *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Echinostomatidae). **Parasitology Research**. v. 109, n. 3, p. 885-891, 2011.

VASHIST, U.; FALQUETO, A.; LUSTRINO, D.; TUNHOLI, V. M.; TUNHOLI-ALVES, V. M.; D' AGOSTO, M. ; SANTOS, M. A; MASSARD, C. L.; PINHEIRO, J. Hepatic profile of *Gallus gallus* Linnaeus, 1758 experimentally infected by *Plasmodium juxtannucleare* Versiani e Gomes, 1941. **Veterinary Parasitology**. v. 175, n. 3-4, p. 207-211, 2011.

WANG, Y. L.; XIAO, S. H.; XUE, J.; SINGER, B. H.; UTZINGER, J.; HOLMES, E. Systems metabolic effects of a *Necator americanus* infection in Syrian hamster. **Journal Proteome Research**, v. 8, n. 12, p. 5442-5450, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2010. **Programs and Projects: Schistosomiasis** – A major public health. Suíça, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/schistosomiasis/en/>> Acesso em: 25 fev 2010.

WU, J. F.; HOLMES, E.; XUE, J.; XIAO, S. H.; SINGER, B. H.; TANG, H. R.; UTZINGER, J.; WANG, Y. L. Metabolic alterations in the hamster co-infected with *Schistosoma japonicum* and *Necator americanus*. **International Journal for Parasitology**, 40, n. 6, p. 695–703, 2010.

6 CONCLUSÕES

Considerando os principais resultados obtidos, foi possível concluir que:

A infecção natural de *S. mansoni* em *N. squamipes* induziu alterações histopatológicas caracterizadas por reações granulomatosas em diferentes fases de desenvolvimento com poucas áreas de fibrose evidente nas lesões granulomatosas mais crônicas.

Mesmo com as alterações causadas por *S. mansoni* no parênquima hepático de *N. squamipes*, estas não foram suficientes para induzir mudanças significativas no perfil glicêmico (glicogênio hepático e glicose plasmáticos), na atividade das aminotransferases (AST e ALT) e nos conteúdos de bilirrubina (frações direta e total) dos animais infectados naturalmente por *S. mansoni*, que exibiram variações metabólicas semelhantes quando comparados com o grupo não infectado de campo.

Os resultados aqui observados sugerem que no município de Sumidouro ocorreu um desenvolvimento de uma adaptação fisiológica na natureza na relação parasito-hospedeiro entre o roedor silvestre *N. squamipes* e o parasito *S. mansoni*.

RECOMENDAÇÃO DE PESQUISA

Schistosoma mansoni pode ocorrer na natureza em ciclos biológicos silvestres independentes da presença do homem. Sendo o roedor *N. squamipes* um dos principais hospedeiros não-humanos para este parasito, e por isso utilizado como modelo alternativo em estudos de esquistossomose, enfatizando a importância ecológica do roedor silvestre *N. squamipes* como reservatório de *S. mansoni* potencializando sua transmissão e, dessa forma, constituindo um ponto de entrave nos programas de controle, uma vez que os roedores podem se tornar fonte de infecção para hospedeiros humanos, após o tratamento destes pacientes, levando a sua reinfecção. Comprovando a importância destes hospedeiros como indicadores biológicos da infecção em programas de controle eco-epidemiológico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, S. A.; GAD, M. Z. Effect of schistosomal infection and its treatment on some key enzymes of glucose metabolism in mice livers. **Arzneimittelforschung**. v. 45, p. 1324-1328, 1995.
- ALARCÓN de NOYA, B.; POINTIER, J. P.; COLMENARES, C.; THÉRON, A.; BALZAN, C.; CESARI, I. M.; GONZÁLEZ, S.; NOYA, O. Natural *Schistosoma mansoni* infection in wild rats from Guadeloupe: parasitological and immunological aspects. **Acta Tropica**, v. 68, n. 1, p. 11-21, 1997.
- AMARAL, A. C. C.; AGUIAR, L. A. K.; SOUZA, M. R. A.; TOLEDO, C. F.; BORGES, D. R. Elevação da Gama-glutamyltransferase sérica na hepatopatia esquistossomótica não se correlaciona com a carga parasitária e precede alterações ultrasonográficas. **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 39, n. 1, p. 27-31, 2002.
- AMARAL, R. S.; PORTO, M. A. S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 27, n. 3, p. 73 – 90, 1994.
- AMORIM, J. P. Infestação experimental e natural de murídeos pelo *Schistosoma mansoni* (nota prévia). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 5, n. 3, p. 219-222, 1953.
- AMORIM, J. P.; ROSA, D.; LUCENA, D. T. Ratos silvestres reservatórios de *Schistosoma mansoni* no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira Malariologia e Doenças Tropicais**. v. 6, n. 1, p. 13-33, 1954.
- AMORIM, J. P. Roedores selvagens como disseminadores de ovos de *Schistosoma mansoni*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**. v. 4, n. 6, p. 397-402, 1962 a.
- AMORIM, J. P. Infestação do homem e roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni* em localidades do Município de Viçosa. **Arquivos de Higiene e Saúde Pública**. v. 27, n. 94, p. 335 – 339, 1962 b.
- ANDRIOLO, A.; BORGES, D. R. Enzimologia clínica em doenças do fígado. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 25, p. 95-98, 1989.
- ANTUNES, C. M. F.; MILWARD-DE-ANDRADE, R.; KATZ, N.; COELHO, P. M. Z. Contribuição para o conhecimento do “rato lava-pés”, *Nectomys squamipes squamipes*, na epidemiologia da esquistossomose mansônica (Rodentia: Cricetidae). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 23, n. 1-4, p. 203–204, 1971.

- ANTUNES, C. M. F.; MILWARD-DE-ANDRADE, R.; KATZ, N.; COELHO, P. M. Z.; PELEGRINO, J. Role of *Nectomys squamipes* in the epidemiology of *Schistosoma mansoni* infections. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. v. 67, p. 67-73, 1973.
- BARBOSA, F. S.; BARBOSA, I.; ARRUDA, F. *Schistosoma mansoni*: natural infection of cattle in Brazil. **Science**, v. 138, n. 3542, p. 831, 1962.
- BARBOSA, F. S.; COELHO, M. V.; COUTINHO-ABATH, E. Infecção natural e experimental de alguns mamíferos de Pernambuco por *Schistosoma mansoni* **Revista Brasileira Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 10, n. 3, p. 137-144, 1958.
- BARBOSA, F. S.; DOBBIN, J. E. JR.; COELHO, M. V. Infestação natural de *Rattus rattus frugivorus* por *Schistosoma mansoni* em Pernambuco. **Publicação Avulso do Instituto Aggeu Magalhães**, v. 2, n. 4, p. 42-43, 1953.
- BARRETO, A. C. Infestação do rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) por *Schistosoma mansoni*, na cidade de Salvador, Bahia. **Boletim da Fundação Gonçalo Muniz**. v.14, p. 1-12, 1959.
- BARRETO, A. C.; SANTOS, I.; OLIVEIRA, V. S. Epidemiologia da esquistossomose mansônica e infecção natural de *Cavia aperea aerea*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v.6, n. 5, p. 233-236, 1964.
- BASTOS, O. C.; SADIGURKY, M.; NASCIMENTO, M. D. S. B.; BRAZIL, R. P.; HOLANDA, J. C. *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897: Sugestão de modelo experimental para filariose, leishimaniose e esquistossomose. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 26, n. 6, p. 307-315, 1984.
- BASTOS, O. C.; SILVA, A. M. A.; SOUZA, E. P.; LEMOS-NETO, R. C.; PIEDRABUENA, A. E. Ocorrências de linhagens humana e silvestre de *Schistosoma mansoni*, na pré-amazônia. 1º - Estudo em molusco. **Revista de Saúde Pública**, v. 16, n. 5, p. 292-298, 1982.
- BERGALLO, H. G. Ecology of a small mammal community in an Atlantic Forest area of Southeastern Brazil. **Study Neotropical Fauna and Environment**, v. 29, p. 197-217, 1994.
- BERGALLO, H. G.; MAGNUSSON, W. E. Effects of climate and food availability on four rodent species in southeastern Brazil. **Journal of Mammalia**, v. 80, n. 2, p. 472-486, 1999.
- BLACK, M.; BILLING, B. H. Hepatic bilirubin UDP-glucuronyl transferase activity in liver disease and Gilbert's syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 280, n. 23, p. 1266-1271, 1969.
- BONECKER, S. T.; PORTUGAL, L. G.; COSTA-NETO, S. F.; GENTILE, R. A long term study of small mammal populations in a Brazilian agricultural landscape. **Mammalian Biology**, v. 74, n. 6, p. 467-477, 2009.

BONVICINO, C. R. **Especiação do rato d'água *Nectomys squamipes* (Rodentia, Cricetidae): Abordagem cariológica, morfológica e geográfica.** 1994. 265f. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.** Série de Manuais Técnicos, 11. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, 2008. 120 p.

BORDA, C. E. **Infecção natural e experimental de alguns roedores pelo *Schistosoma mansoni*.** 1972. 99f. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 1972.

BUEDING, E. Carbohydrate metabolism of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of General Physiology**, v. 33, p. 475-495, 1950.

BUEDING, E.; MACKINNON, J. A. Hexokinase of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 215, p. 495-506, 1955.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Fundamentos de Química Clínica.** 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 836 p. 1998.

CAMARGO, S. Documento não publicado. **Casa de Oswaldo Cruz-FIOCRUZ**, 1965.

CARVALHO, D. M. **Sobre a importância de *Nectomys squamipes* na epidemiologia da esquistossomose mansônica no município de Sumidouro, Rio de Janeiro.** 1982. 87f. Dissertação mestrado (Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1982.

CARVALHO, O. S. **Roedores silvestres na epidemiologia da esquistossomose mansoni no Lago da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais (Brasil), com especial referência ao *Holochilus brasiliensis* (Rodentia: Cricetidae).** 1974. 78f. Dissertação de mestrado, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1974.

CARVALHO, O. S.; ANDRADE, R. M.; CORTÊS, M. I. N. Roedores silvestres na epidemiologia da esquistossomose mansônica no Lago da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais (Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 9, n. 1, p. 27-35, 1975.

CARVALHO, O. S.; ANDRADE, R. M.; CORTÊS, M. I. N. Ciclo vital de *Schistosoma mansoni* através do *Holochilus brasiliensis* (Desmarest, 1818), em ambiente semi-natural (Trematoda: Schistosomatidae; Rodentia: Cricetidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 10, n. 5, p. 235-247, 1976.

CHEEVER, A. W.; JANKOVIC, D.; YAP, G. S.; KULLBERG, M. C.; SHER, A.; WYNN, T. A. Role of cytokines in the formation and downregulation of hepatic circumoval granulomas and hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infected mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 7, p.25-32, 1998.

CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta tropica**, v. 77, n. 1, p. 41-51, 2000.

CHITSULO, L.; LOVERDE, P.; ENGELS, D. Schistosomiasis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 12-13, 2004.

COELHO, P. M. Z.; NOGUEIRA, R. H. G.; LIMA, W. S.; CUNHA, M. C. *Schistosoma mansoni*: experimental bovine schistosomiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 24, n. 6, p. 374-377, 1982.

COMBES, C.; Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 5, n. 10, p. 334-337, 1990.

COMBES, C.; LÉGER, N.; GOLVAN, Y. J. Le role Du rat dans La dynamique de l'endémie schistosomienne em Guadalupe. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 281, p. 1059-1061, 1975a.

COMBES, C.; LÉGER, N.; GOLVAN, Y. J. Rats et Bilharrziose em Guadalupe. **Acta Tropica**, v. 32, p. 304-308, 1975b.

CONCEIÇÃO, M. J.; ARGENTO, C. A.; CORRÊA, A. Study of *Schistosoma mansoni* isolates from patients with failure of treatment with oxamniquine. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, n.3, p.375-380, 2000.

COSTA-NETO, S. F. **O rato d'água, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontidae), como reservatório da esquistossomose mansônica em áreas endêmicas do município de Sumidouro, RJ.** Rio de Janeiro, 2006. 87f. Monografia de Bacharelado de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas – Curso de Ciências Biológicas), Universidade Castelo Branco, 2006.

COSTA-SILVA, M. **Suscetibilidade experimental de *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) a cepas de *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae): Estudo morfológico de vermes adultos machos e fêmeas por microscopia de luz.** Rio de Janeiro, 2000. 56f. Monografia de Bacharelado de conclusão de curso, Centro Biomédico, Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2000.

COSTA-SILVA, M.; RODRIGUES-SILVA, R.; HULSTIJN, M.; NEVES, R. H.; PANASCO, M. S.; LENZI, H. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Natural *Schistosoma mansoni* Infection in *Nectomys squamipes*: Histopathological and Morphometric Analysis in Comparison to Experimentally Infected *N. squamipes* and C3H/He mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 9, p. 129-142, 2002.

COURA, J. R. Control of schistosomiasis in Brazil: Perspectives and Proposals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 257-260, 1995.

COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1132p.

COURA-FILHO, P.; ROCHA, R. S.; FARAH, M. W.; SILVA, G. C.; KATZ, N. Identification of factors and groups at risk of infection with *Schistosoma mansoni*: a strategy for the implementation of control measures. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 3, p. 245–253, 1994.

COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic áreas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 13-19, 2004.

CRESPO, J. A. Ecología de la comunidad de mamíferos del Parque Nacional Iguazu, Misiones. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia**, v. 3, p. 45–162, 1982.

CUNHA, A. S. **Esquistossomose mansoni**. São Paulo: Sarvier, 1970. 435p.

DAMIAN, R. T. Presidential address – The exploitation of host immune responses by parasites. *The Journal of Parasitology*, v. 73, n. 1, p. 1-13, 1987.

D'ANDREA, P. S.; FERNANDES, F. A.; CERQUEIRA, R.; REY, L. Experimental evidence and ecological perspectives for the adaptation of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Digenea: Schistosomatidae) to a wild host, the water-rat, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontinae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 9, p. 11-14, 2002.

D'ANDREA, P. S.; GENTILE, R.; CERQUEIRA, R.; GRELLE, C. E. V.; HORTA, C.; REY, L. Ecology of small mammals in a Brazilian rural area. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 3, p. 611-620, 1999.

D'ANDREA, P. S.; GENTILE, R.; MAROJA, L. S.; FERNANDEZ, F. A.; COURA, R. S.; CERQUEIRA, R. Small mammal populations of an agroecosystem in the Atlantic Forest domain, southeastern of Brazil. **Brazil Journal of Biology**, v. 67, n. 1, p. 179-186, 2007.

D'ANDREA, P. S.; HORTA, C.; CERQUEIRA, R.; REY, L. Breeding of the water rat (*Nectomys squamipes*) in the laboratory. **Laboratory Animals**, v. 30, p. 369-376, 1996.

D'ANDREA, P. S.; LAGAMBA, R. **Estudos Preliminares sobre a Ecologia de Populações de Pequenos Mamíferos em um Trato Florestal isolado na Fazenda Santa Carlota, Município de Cajuru, São Paulo**. 1987. 87f. Monografia de bacharelado, Faculdade Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1987.

D'ANDREA, P. S.; MAROJA, L. S.; GENTILE, R.; CERQUEIRA, R.; MALDONADO JR., A., REY, L. The parasitism of *Schistosoma mansoni* (Digenea-Trematoda) in a naturally infected population of water rats, *Nectomys squamipes* (Rodentia-Sigmodontinae) in Brazil. **Parasitology**, v. 120, n. 6, p. 573-582, 2000.

DIAS-NETO, E. **Aplicação e desenvolvimento de técnicas baseadas em PCR análise genotípica de esquistossomas**. 1994. 139 f. Dissertação de mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1994.

DIAS, L. C. S.; PIRES, F. A.; PINTO, A. C. W. Parasitological and ecological aspects of schistosomiasis mansoni in the valley of Paraíba do Sul river (São Paulo, Brazil). 1. Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine Hygiene**, v. 72, p. 496-500, 1978.

DOENHOFF, M. J.; HASSOUNAH, O. A.; LUCAS, S. B. Does the immunopathology induced by schistosome eggs potentiate parasite survival? **Immunology Today**, v. 6, n. 7, p. 203-206, 1985.

DUPLANTIER, J. M. The role of rodents in the transmission of schistosomiasis due to *S. mansoni*. Technical Report of Expert Committee on the Control of Schistosomiasis. **WHO, Geneva, Switzerland**. 1991.

DUPLANTIER, J. M.; SENÈ, M. Rodents as reservoir hosts in the transmission of *Schistosoma mansoni* in Richard-Toll, Senegal, West Africa. **Journal of Helminthology**, v. 74, n. 2, p. 129-135, 2000.

EL-SHAZLY, A. M.; SOLIMAN, M.; EL-KALLA, M. R.; RESK, H.; EL-NEMR, H. E.; HANDOUSA, A. E.; HELMY, M. M. Studies on patients with schistosomiasis mansoni, HCV and/or typhoid fever. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 31, p. 583-592, 2001.

EMMONS, L. H.; FEER, F. **Neotropical Rainforest Mammals: A field Guide**. University of Chicago Press, 1997. Chicago. 307p.

ERNEST, K. A. *Nectomys squamipes*. **Mammalian species**. v. 265, p. 1-5, 1986.

ERNEST, K. A.; MARES, M. A. Ecology of *Nectomys squamipes*, the Neotropical Water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behaviour. **Journal of Zoology**, v. 210, n. 4, p. 599-612, 1986.

FAHIM, F. A.; ESMAT, A. Y.; HASSAN, G. K.; ABDEL-BARY, A. Biochemical changes in patients with combined chronic schistosomiasis and viral hepatitis C infections. **Disease Markers**, v. 16, p. 111-118, 2000.

FERNANDEZ, T. J. Jr.; PETILLA, T.; BANEZ, B. An epidemiological study on *Schistosoma japonicum* in domestic animals in Leyte, Philippines. **Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v. 13, n. 4, p. 575-579, 1982

FLETCHER, M.; LOVERDE, P. T.; WOODRUFF, D. S. Genetic variation in *Schistosoma mansoni* enzyme polymorphisms in populations from Africa, Southwest Asia, South America and West Indies. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 30, n. 2, p. 406-421, 1981.

FRANSEN, F. Discussion of the relationship between *Schistosoma* and their intermediate hosts, assessment of the degree of host-parasite compatibility and evaluation of schistosome taxonomy. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 58, p. 275-96, 1979.

GENTILE, R.; COSTA-NETO, S. F.; GONÇALVES, M. M. L.; BONECKER, S. T.; FERNANDES, F. A.; GARCIA, J. S.; BARRETO, M. G. M.; SOARES, M. S.; D'ANDREA, P. S.; PERALTA, J. M.; REY, L. An ecological field study of the water rat *Nectomys squamipes* as a wild reservoir indicator of *Schistosoma mansoni* transmission in an endemic area. **Memórias do Instituto Oswaldo**, v. 101, n. 1, p. 111-117, 2006.

GENTILE, R.; D'ANDREA, P. S.; CERQUEIRA, R.; MAROJA, L. S. Population dynamics and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural area: a five-year study. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 35, n.1, p. 1-9, 2000.

GENTILE, R.; FERNANDEZ, F. A. S. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. **Mammalia**, v. 63, n. 1, p. 29-40, 1999.

GIBSON, D. I. **Keys to Trematoda**, v. 1. ed. London, UK: The Natural History Museum, 2002. 544 p.

GIOVANELLI, A.; SOARES, M. S.; D'ANDREA, P. S.; GONÇALVES, M. M. L.; REY, L. Abundância e infecção do molusco *Biomphalaria glabrata* pelo *Schistosoma mansoni* no Estado do Rio de Janeiro, **Brasil. Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 6, p. 523-530, 2001.

GOMES, D. C.; LANFREDI, R. M.; PINTO, R. M.; SOUZA, W. Description of *Thichuris travassoi* n. sp. (Nematoda: Trichurinae) from a Brazilian rodent, by light and scanning electron microscopy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 5. 1-10, 1992.

GONÇALVES, M. M. L. **Estudo de uma área de baixa endemicidade da esquistossomíase mansônica (Sumidouro, RJ, Brasil): Avaliação de procedimentos de diagnóstico**. 1999. 68f. Dissertação de mestrado, Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

GRAEFF-TEIXEIRA, C.; ANJOS, C. B.; OLIVEIRA, V. C.; VELLOSO, C. F. P.; FONSECA, M. B. S.; VALAR, C.; MORAES, C.; GARRIDO, C. T.; AMARAL, R. S. Identification of a Transmission Focus of *Schistosoma mansoni* in the Southernmost Brazilian State, Rio Grande do Sul. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 1. 9-10, 1999.

GUIMARÃES, C. T.; SOUZA, C. P.; SOARES, D. M.; ARAÚJO, N.; SCHUSTER, L. M. R. Occurrence of molluscs in aquaria of ornamental fishes in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 1, p. 127–129, 1990.

GUIMARÃES, T. C.; SOUZA, C. P.; CARVALHO, O. S.; KATZ, N. Sobre um foco urbano de esquistossomose em área metropolitana da região sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 3, p. 210–213, 1993.

HIRSCH, S. R. **Alterações ultra-estruturais dos vermes adultos do *Schistosoma mansoni* obtidos de camundongos infectados e tratados com oxamniquine, praziquantel, oltipraz e suas associações.** 1986. 283 f. Tese de doutorado, (Doutorado em Medicina Tropical), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986.

KAROUM, K. O., AMIN, M. A. Domestic and wild animals naturally infected with *Schistosoma mansoni* in the Gezira irrigate scheme. Sudan. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 88, p. 83–90, 1985.

KASTNER, M. R. Q.; KOHN, A.; TEIXEIRA, E. D.; PITANGA, L. C. Estudo morfológico do *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) encontrado na espécie humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.9, n.5, p.247-261, 1975.

KATZ, N. **Vacina polivalente anti-helmintos?** Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, v. 1, n. 2, p. 34-35, 1997.

KAWAZOE, U.; PINTO, A. C. M. Importância epidemiológica de alguns animais silvestres na esquistossomose mansônica. **Revista de Saúde Pública**, v.17, n.5, p.345-366, 1983.

KOHN, A.; SERAPIÃO, C. J.; KATZ, N.; DIAS, E. P. Ação da oxamniquine sobre o *Schistosoma mansoni* em camundongos experimentalmente infectados. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.21, n.5, p.217-227, 1979.

KUNTZ, R. E. Natural infection of an Egyptian gerbil with *Schistosoma mansoni*. **Proceedings of the Helminthological Society**, v.19, p. 123-124, 1952.

LENZI, J. A.; MOTA, E. M.; MACHADO, M. P.; PAIVA, R. A. N.; LENZI, H. L. *Calomys callosus* sp: an alternative model to study fibrosis in schistosomiasis mansoni: the pathology of the acute phase. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 311-318, 1995.

MACHADO-SILVA, J. R.; GALVÃO, C.; OLIVEIRA, R. M. F.; PRESGRAVE, O. A. F.; GOMES, D. C. *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907): comparative morphological studies of some Brazilian strains. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.37, n.5, p.441-447, 1995.

MACHADO-SILVA, J. R.; GALVÃO, C.; PRESGRAVE, O. A.; REY, L.; GOMES, D. C. Hostinduced morphological changes of *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) male worms. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.89, n. 3, p.411-416, 1994.

MACHADO-SILVA, J. R.; LANFREDI, R. M.; GOMES, D. C. Morphological study of adult male worms of *Schistosoma mansoni* by scanning electron microscopy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, p. 647-653, 1997.

MACHADO-SILVA, J. R.; MACHADO, M. P.; LENZI, H. L.; GOMES, D. C. Morphological study of adult male worms of *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) by confocal laser scanning microscopy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, n. 7, p.303-307, 1998.

MAGALHÃES, L. A. Estudo do comportamento de cepa de *Schistosoma mansoni* de Brasília. **O Hospital**. v. 77, n. 2, p. 669-678, 1970.

MALDONADO JR, A., GENTILE, R., FERNANDES, C. M., D'ANDREA, P. S., LANFREDI, R. M., REY, L. Helminth communities of *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontine) naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 80, n. 4, p. 369-375, 2006.

MALDONADO JR, A.; MACHADO-SILVA, J. R.; RODRIGUES-SILVA, R.; LENZI, H. L.; REY, L. Evaluation of the resistance to *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes* (Rodentia: Cricetidae), a natural host of infection in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 3, p. 193-198, 1994.

MANSOUR, N. S. *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* found as a natural Double infection in the Nile rat, *Arvicanthis n. niloticus*, from a human endemic area in Egypt. **The Journal of Parasitology**, v. 59, n. 3, p. 424, 1973.

MANSOUR, T. E.; BUEDING, E. Kinetics of lactic dehydrogenases of *Schistosoma mansoni* and of rabbit muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 8, p. 431-434, 1953.

MANSOUR, T. E.; BUEDING, E. The actions of antimonial on glycolytic enzymes of *Schistosoma mansoni*. **British Journal of Pharmacology**, v. 9, p. 459-462, 1954.

MARES, M. A.; ERNEST, K. A. Population and community ecology of small mammals in a gallery forest of central Brazil. **Journal of Mammalian**, v. 76, n. 3, p. 750-786, 1995.

MARTINEZ, E. M. **Suscetibilidade experimental de *Nectomys squamipes* (Brants, 1827), possível reservatório silvestre de esquistossomíase, a cepas de *Schistosoma mansoni* (Sambom, 1907): Avaliação parasitológica.** 1998. 67f. Dissertação de mestrado, Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1998.

MARTINEZ, E. M.; COSTA-SILVA, M.; NEVES, R. H.; OLIVEIRA, R. M. F.; MACHADO-SILVA, J. R. Biological implications of the phenotypic plasticity in the *Schistosoma mansoni*-*Nectomys squamipes* model. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 50, n. 4, p. 229-232, 2008.

MARTINEZ, E. M.; NEVES, R. H.; OLIVEIRA, R. M. F.; SILVA, J. R. M.; REY, L. Características biológicas e morfológicas de cepas brasileiras de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.5, p.557-564, out. 2003.

MARTINS, A. V.; MARTINS, G.; BRITO, R. S. Reservatórios silvestres do *Schistosoma mansoni* no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 7, n. 2, p. 259-265, 1955.

MELLO, D. A. Parasitic diseases in Brazil and the role of wild mammals: an analysis based on leishmaniasis, Chagas' disease and schistosomiasis mansoni. **Ciência e Cultura**, v.43, p.274-278, 1991.

MODENA, C. M.; LIMA, W. S.; COELHO, P. M. Z. Wild and domesticated animals as reservoirs of *Schistosomiasis mansoni* in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2, p. 242-244, 2008.

MORAND, S.; POINTIER, J. P.; THÉRON, A. Population biology of *Schistosoma mansoni* in the black rat: host regulation and basic transmission rate. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 5, p. 673-684, 1999.

MORGAN, J. A. T.; DEJONG, R. J.; KAZIBWE, F.; MKOJI, G. M.; LOCKER, E. S. A newly – identified lineage of *Schistosoma*. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 9, p. 977-985, 2003.

MORGAN, J. A. T.; DEJONG, R. J.; ADOYE, G. O.; ANSA, E. D. O.; BARBOSA, C. S.; BRÉMOND, P.; CESARI, I. M.; CHARBONNEL, N.; CORRÊA, L. R.; COULIBALY, G.; D'ANDREA, P. S.; SOUZA, C. P.; DOENHOFF, M. J.; FILE, S.; IDRIS, M. A.; INCANI, N.; JARNE, F.; KARANJA, D. M. S.; KAZIBWE, F.; KPIKPI, J.; LWAMBO, N. J. S.; MABAYE, A.; MAGALHÃES, L. A.; MAKUNDI, A.; MONÉ, H.; MOUAHID, G.; MUCHEMI, G. M.; MUNGAI, B. N.; SÉNE, M.; SOUTHGATE, V.; TCHUENTÉ, L. A. T.; THÉRON, A.; YOUSIF, F.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MKOJI, G. M.; LOKER, E. S. Origin and diversification of the human parasite *Schistosoma mansoni*. **Molecular Ecology**, v.14, n. 12, p. 3889-3902, 2005.

MORRIS, C. S.; GEORGE, J. D.; GIBSON, R.; PLATT, H. M. **The Origins and relationships of lower invertebrates**, Oxford, USA: Systematics Association by Clarendon Press, 1985. 397 p.

MOTT, K. E.; DESJEUX, P.; MONCAYO, A.; RANQUE, P.; De RAADT, P. Parasitic diseases and urban development. **Bull WHO**, v.68, n. 6, p. 691-698, 1990.

NELSON, G. S. *Schistosoma* infections as zoonoses in Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, p. 301-316, 1960.

OLIVEIRA, S. A.; BARBOSA JR, A. A.; GOMES, D. C.; SILVA, J. R. M.; BARROS, A. F.; NEVES, R. H.; COUTINHO, E. M. Morphometric study of *Schistosoma mansoni* adult worms recovered from undernourished infected mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.5, p.623-627, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. O controle da esquistossomose: Segundo relatório do Comitê de Especialistas da OMS/ **Organização Mundial de Saúde, FIOCRUZ**, Rio de Janeiro. 1993.110 pp.

PARAENSE, W. L. Distribuição dos caramujos no Brasil. In: **Modernos Conhecimentos Sobre a Esquistossomose mansônica**. Belo Horizonte. Biblioteca da Academia Mineira de Medicina, 1986. p.117-126.

PARAENSE, W. L.; CORREA, L. R. Observations on two biological races of *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.76, n.3, p.287-291, 1981.

PERALTA, R. H. S.; MELO, D. G. S.; GONÇALVES, M. M. L.; D'ANDREA, P. S.; REY, L.; MACHADO-SILVA, J. R.; PERALTA, J. M. Serological Studies in *Nectomys Squamipes* demonstrate the low sensitivity of coprological exams for the diagnosis of schistosomiasis. **The Journal of Parasitology**, v. 95, n. 3, p. 764-766, 2009.

PICOT, H. *Holochilus brasiliensis* and *Nectomys squamipes* (Rodentia, Cricetidae), natural hosts of *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 4, p. 255-260, 1992.

PITCHFODR, R. J.; VISSER, P. S. Some observations on *Schistosoma mansoni* in rodents in the Transvaal. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 54, n. 2, p. 247-249, 1960.

PITCHFODR, R. J.; VISSER, P. S. The role of naturally infected wild rodents in the epidemiology of Schistosomiasis in the Eastern Transvaal. **The Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 56, n. 2, p. 126-135, 1962.

PITCHFORD, R. J. A check list of definitive hosts exhibiting evidence of the genus *Schistosoma* Weinland, 1858 acquired naturally in Africa and Middle East. **Journal of Helminthology**, v. 51, p. 229-252, 1979.

PIVA, N.; BARROS, P. R. C. Infecção natural de animais silvestres e domésticos pelo *Schistosoma mansoni* em Sergipe. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 18, n. 2, p. 221-233, 1966.

RAVINDRAN, R.; LAKSHMANAN, B.; RAVISHANKAR, C.; SUBRAMANIAN, H. Visceral schistosomiasis among domestic ruminants slaughtered in Wayanad, South India. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 38, n. 6, p. 1008-1010, 2007.

REY, L. Non-human vertebrate hosts of *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis transmission in Brazil. **Research and Review in Parasitology**, v. 53, n. 1, p. 13-25, 1993.

REY, L. **Parasitologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 883 p.

RIBEIRO, A. C. **Avaliação da suscetibilidade dos roedores silvestres *Nectomys squamipes* (Brants, 1827) e *Nectomys rattus* (Pelsen, 1883) à infecção experimental por *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907)**. 1998. 55f. Dissertação de mestrado, Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1998.

RIBEIRO, A. C.; MALDONADO JR, A.; D'ANDREA, P. S.; VIEIRA, G. O.; REY, L. Susceptibility of *Nectomys rattus* (Pelsen, 1883) to experimental infection with *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907): a potencial reservoir in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 1, p. 295-299, 1998.

RILEY, S.; CARABIN, H.; BÉLISLE, P.; JOSEPH, L.; TALLO, V.; BALOLONG, E.; WILLINGHAM, A. L.; FERNANDEZ, T. J.; GONZALES, R. O.; OLVEDA, R.; MCGARVEY, S. T. Multi-host transmission dynamics of *Schistosoma japonicum* in Samar Province, ter Philippines. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 1, p. 18, 2008.

RODRIGUES-SILVA, R. ***Nectomys squamipes* e *Akodon arviculoides* (Rodentia: Cricetae) como hospedeiros naturais do *Schistosoma mansoni* em Sumidouro (RJ – Brasil). Emprego do *Nectomys* como modelo alternativo no estudo da esquistossomose mansoni**. 1988. 147f. Dissertação de mestrado, (Mestrado em Ciências e Biologia Parasitária), Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1988.

RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; FAERSTEIN, N. F.; LENZI, H. L.; REY, L. Natural infection of wild rodents by *Schistosoma mansoni*. Parasitological aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 5, p. 271-276, 1992.

RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; OLIVEIRA, R. M. F.; MALDONADO JR, A.; REY, L. Roedores silvestres como modelos experimentais da esquistossomose mansônica: *Akodon arviculoides* (Rodentia: Cricetidae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, n. 4, p. 257-261, 1991.

SABROZA, P. C.; LEAL, M. C. Saúde, ambiente e desenvolvimento: alguns conceitos fundamentais. In: LEAL, M. C.; SABROZA, P. C.; RODRIGUEZ, R. H.; BUSS, P. M. **Saúde, ambiente e desenvolvimento: uma análise inter-disciplinar**, v. 1. Cap. 2, 1992. p. 45-93.

SANTOS, L. Importância do rato selvagem na disseminação da esquistossomose humana no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. **Ciência e Cultura**, v. 24, p. 352, 1972.

SCHWETZ, J. Sur un nouveau foyer de schistosomose des rongeurs due a *Schistosoma rodhaini*. Découverte d'un nouvel hôte intermédiaire, *Planorbis tanganyikanus* Bourguignant. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee**, v. 27, p. 578-587, 1952.

SCHWETZ, J. On a new schistosomose of wild rodents found in the Balgian Congo, *Schistosoma* var. rodentorum var. nor. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. v. 47, p. 183–186, 1953.

SCHWETZ, J. On two schistosomes of wild rodents of the Belgian Congo: *Schistosoma rodhaini* Brumpt, 1931; an *Schistosoma mansoni* var. *rodentorum* SCHEWETZ, 1953; and treir relationship to *Schistosoma mansoni* of mam. **Transactions. of the Royal. Society of . Tropical.Medicine and. Hygiene**. v. 48, p. 89–100, 1954.

SECRETÁRIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE-BRASIL (SVS/MS), 2008. Óbitos por Esquistossomose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2007. <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_por_esquitossomose.pdf>. (Acesso em: 25/02/2010).

SECRETÁRIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE-BRASIL (SVS/MS), 2011. Available in: http://www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apresent_esquistossomose_mansoni_30_05_2011.pdf.

SILVA, J. R.; PEREIRA, N. G. Reservatórios vertebrados extra humanos nas regiões tropicais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 84, n. 5, p. 197-205, 1967.

SILVA, T. M. C.; ANDRADE, Z. A. Infecção natural de roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 2, p. 227-235, 1989.

SNYDER, S. D.; LOKER, E. Evolutionary relationship among the schistosomatidae (Platyhelminths: Digenea) and an Asian origin for *Schistosoma*. **The Journal of Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 283-288, 2000.

SOARES, S. M.; BARRETO, M. G. M.; SILVA, C. L. P. A. C.; PEREIRA, J. B.; MOZA, P.; REY, L.; CALÇADO, M. S.; LUSTOZA, A.; MASPERO, R. Schistosomiasis in a low prevalence area: Incomplete urbanization increasing risk of infection in Paracambi, RJ, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 4, 451-458, 1995.

SOUZA, V. A. M.; RODRIGUES-SILVA, R.; MALDONADO JR, A.; MACHADO-SILVA, J. R.; REY, L. *Nectomys squamipes* (Rodentia - Cricetidae) as an experimental model for schistosomiasis mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 5, p. 277-280, 1992.

TAO, J.; PENG, H. K.; CAI, W. M.; DONG, F. K.; WENG, H. L.; LIU, R. H. Influence factors of serum fibrosis markers in liver fibrosis. **World journal of Gastroenterology**, v. 9, p. 2497-2500, 2003.

TAKEGAWI, K. On the Schistosomatidae in Formosa (Preliminary report). **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 137, p. 183, 1914.

THÉRON, A. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercarie: ecological significance in transmission to human and murine hosts. **The Journal of Parasitology**, v. 70, p. 652-655, 1984.

THÉRON, A. Polymorphisme du rythme d'émission des cercaries de *Schistosoma mansoni* et ses relations avec l'écologie de la transmission du parasite. **Vie Milleu**, v. 35, p. 23-31, 1985.

THÉRON, A.; POINTIER, J. P. Recherche des facteurs susceptibles d'empêcher la réalisation du cycle de *Schistosoma mansoni* dans les mares de la Grand Terre de Guadeloupe. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 60, p. 155-164, 1985.

THÉRON, A., POINTIER, J. P. Ecology, dynamics, genetics and divergence of trematode populations in heterogeneous environments: The model of *Schistosoma mansoni* in the insular focus of Guadeloupe. **Research and Reviews in Parasitology**, v. 55, n. 1, p. 49-64, 1995.

VERA Y CONDE, C. F. **Uso do microhabitat por *Nectomys squamipes* (Rodentia) no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, São Paulo**. Rio de Janeiro, 1995. 95f. Monografia de bacharelado, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 1995.

WANG, T. P.; SHRIVASTAVA, J.; JOHANSEN, M. V.; ZHANG, S. Q.; WANG, F. F.; WEBSTER, J. P. Does multiple host mean multiple parasites? Population genetic structure of *Schistosoma japonicum* between definitive host species. **International Journal of Parasitology**, v. 36, n. 12, p. 1317-1325, 2006.

WANG, T. P.; JOHANSEN, M. V.; ZHANG, S. Q.; WANG, F. F.; WU, W. D.; ZHANG, G. H.; PAN, X. P.; JU, Y.; ORNBJERG, N. Transmission of *Schistosoma japonicum* by humans and domestic animals in the Yangtze River Valley, Anhui Province, China. **Acta Tropica**, v. 96, n. 2-3, p. 198-204, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The control of schistosomiasis. Second report of the WHO expert committee. **Technical Report Series 830**. 97p. Geneva. OMS/WHO. Switzerland. 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world health report**. 241p. Geneva. OMS/WHO. 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/diseases/schisto/direction.htm>> Acesso em: 25 fev 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2010. **Programs and Projects: Schistosomiasis** – A major public health. Suíça, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/schistosomiasis/en/>> Acesso em: 25 fev 2010.

WU, J. F.; HOLMES, E.; XUE, J.; XIAO, S. H.; SINGER, B. H.; TANG, H. R.; UTZINGER, J.; WANG, Y. L. Metabolic alterations in the hamster co-infected with *Schistosoma japonicum* and *Necator americanus*. **Internatinal Journal for Parasitology**, v. 40, n. 6, p. 695–703, 2010.

YANG, G. R.; WU, X.; XIONG, M. T.; FAN, C.; WU, H.; TAO, K. Investigation on *Schistosoma japonicum* infection in rodents in Yunnan Province. **Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi**, v. 18, n. 4, p. 232-235, 2000.