

ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL NO CAMUNDONGO: HISTOGÊNESE DO GRANULOMA ESQUISTOSSOMÓTICO

Leônidas Braga DIAS (1), Domingos DE PAOLA (1) e J. Rodrigues da SILVA (2)

RESUMO

Os resultados da presente pesquisa, baseada no estudo histológico de 23 camundongos infectados pelo *S. mansoni*, sacrificados a partir de 42 até 329 dias depois da exposição infectante, permitem concluir que as reações em torno do ôvo, no fígado, variam na dependência da integridade ou não do miracídio, e são fundamentalmente endovasculares.

Os elementos celulares mais precocemente mobilizados são os histiócitos que, partindo das porções adventíciais do vaso para a luz, envolvem o ôvo, obstruem o vaso e constituem o granuloma histiocitário. Quando ocorre a desintegração do miracídio, uma infiltração secundária de natureza eosinofílica e neutrofílica se sobrepõe ao granuloma histiocitário pré-formado. Esta seqüência de eventos depende, provavelmente, de substâncias produzidas pelo miracídio ou liberadas durante sua desintegração. Paralelamente, um processo de fibrilogênese se esboça precocemente nas porções periféricas do granuloma, em torno do ôvo ainda íntegro, mas não essencialmente vivo. O resultado final é a formação de um nódulo cicatricial que regride gradualmente em suas dimensões, desaparecendo completamente após 300 dias da exposição infectante.

Em face ao "ancoramento" do ôvo previamente morto, degenerado, inviável ou de seus restos, a reação mononuclear é escassa, havendo, no entanto, a formação de gigantócitos.

INTRODUÇÃO

Se bem que os quadros morfológicos condicionados pela ação parasitária do *Schistosoma mansoni*, em animais de laboratório e no homem, sejam descritos de modo concorde pela maioria dos pesquisadores, a gênese do granuloma esquistossomótico, assim como a sua patocronia, têm sido diferentemente interpretadas. Essas divergências, naturalmente, restringem-se a uma maior ou menor relevância do papel atribuível ao ôvo do parasito na gênese do referido granuloma e de outros processos lesionais da esquistossomose mansoni — embora seja ponto pa-

cífico que não constitui o ôvo o único elemento patogênico no curso da doença causada pelo parasitismo em estudo.

Algumas idéias sobre a matéria têm sido aceitas e propagadas sem maiores restrições. Em nosso meio, ainda que avultando os trabalhos de pesquisa anátomo-clínica, particularmente nas áreas geográficas assoladas pela helmintíase, a reprodução experimental da doença, tendo por finalidade o estabelecimento de uma seqüência lesional, tem sido pouco explorada. Por isto é difícil dizer-se, no momento, qual o real papel dos vários

Trabalho da Seção de Patologia Experimental da Cadeira de Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas da Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil.

(1) Assistentes.

(2) Professor Catedrático.

fatôres que intervêm na patomorfologia da esquistossomose. Entre as poucas exceções, citam-se os trabalhos da escola pernambucana, de onde praticamente provém a maioria dos conhecimentos atuais sôbre o problema, em nosso meio.

O presente trabalho visa focalizar ainda uma vez êsse problema, que é sempre atual, dentro de recursos interpretativos que estão sempre em renovação. Embora se tenha escolhido para a experiência o camundongo, por se tratar de animal dotado de muitas condições favoráveis ao estudo experimental da esquistossomose, deve ser pôsto em relevo que as lesões nêle observadas podem não corresponder integralmente às que ocorrem em outros hospedeiros, principalmente quando de muito maior porte, como é o caso do homem.

MATERIAL E METODOS

Vinte e três camundongos albinos adultos, de portes semelhantes, infectados com cerca de 150 cercárias, foram sacrificados em intervalos de tempo diferentes, que variaram entre 42 e 329 dias após a exposição infectante. Durante êsse período, os animais foram mantidos em dieta considerada adequada do ponto de vista nutricional. Fragmentos de quase todos os órgãos foram fixados em formol a 10% e submetidos, rotineiramente, às colorações pela hematoxilina-eosina, pelo tricrômico de Gomori e pelos métodos de Weigert para fibras elásticas, de Gomori para fibras reticulares e de Hotchkiss-Mac Manus para polissacarídeos. O órgão escolhido para o estudo do granuloma esquistossomótico foi o fígado, pelas vantagens técnicas que oferece nesse sentido.

RESULTADOS

Nos animais sacrificados entre 42 e 50 dias, as lesões são discretas, predominando a presença, cronologicamente crescente, de ovos imaturos em vários estádios e depois de imaturos ao lado de maduros, na luz dos vasos portais e perilobulares. Os hepatócitos, em áreas subcapsulares, exibem alterações degenerativas necrobióticas, acompanhadas de infiltração leucocitária. Raras são as estruturas do tipo granulomatoso, predomi-

nando uma reação mononuclear em tórno dos ovos imaturos (Fig. 1a).

A partir do 50.º dia, a proporção dos ovos maduros aumenta, havendo paralelamente maior número de granulomas em formação. Entre o 60.º e o 80.º dia após a infecção, o quadro lesional hepático aparece com aspecto bastante uniforme; as células hepáticas apresentam-se preservadas, exceto em limitadas áreas que circundam alguns granulomas, onde elas se mostram com citoplasma muito acidófilo ou vacuolado, com cariólise, freqüentemente envolvidas por intensa infiltração leucocitária poli e mononuclear. As células de Küpffer mostram-se intensamente proliferadas, contendo no citoplasma pigmento pardo-enegrecido, sob a forma de conglomerados na luz sinusoidal, em pequenas massas. O elemento lesional que mais chama a atenção é, no entanto, o granuloma esquistossomótico, que se localiza mais freqüentemente nos espaços-porta ou nas porções perilobulares; apenas ocasionalmente podem ser encontrados em plena porção intralobular. A estrutura granulomatosa, nesse período da infecção, é centralizada pelo ovo do parasito, no qual se distingue com muita freqüência o miracídio aparentemente íntegro. Alguns desses ovos obstruem simplesmente o vaso, havendo na intimidade da parede vascular infiltração macrofágica de densidade variável que, em algumas ocasiões, chega a dissociar a camada subendotelial do mesmo. Outras vezes, o ovo com miracídio aparentemente íntegro é de tal maneira envolvido pelo infiltrado mononuclear, que o arcabouço vascular desaparece, restando apenas o vestígio da estrutura elástica do vaso, que, pela sua configuração, faz supor a posição intravascular do granuloma incipiente (Fig. 1b). Os granulomas constituídos nas porções intralobulares estão, de um modo geral, circundados por uma orla de hepatócitos em necrobiose, tal como anteriormente se descreveu (Fig. 1c). Menos freqüentemente o ovo que centraliza o granuloma mostra evidentes sinais de degeneração e, nesta eventualidade, é possível identificar no seio da massa granulomatosa, uma infiltração sobreajuntada de polimorfonucleares eosinófilos e neutrófilos, que dissocia os elementos mononucleares do granuloma (Fig. 1d). Tal infiltração, ora se adensa na porção central, em tórno do ovo, ora compromete todo o granuloma (Fig.

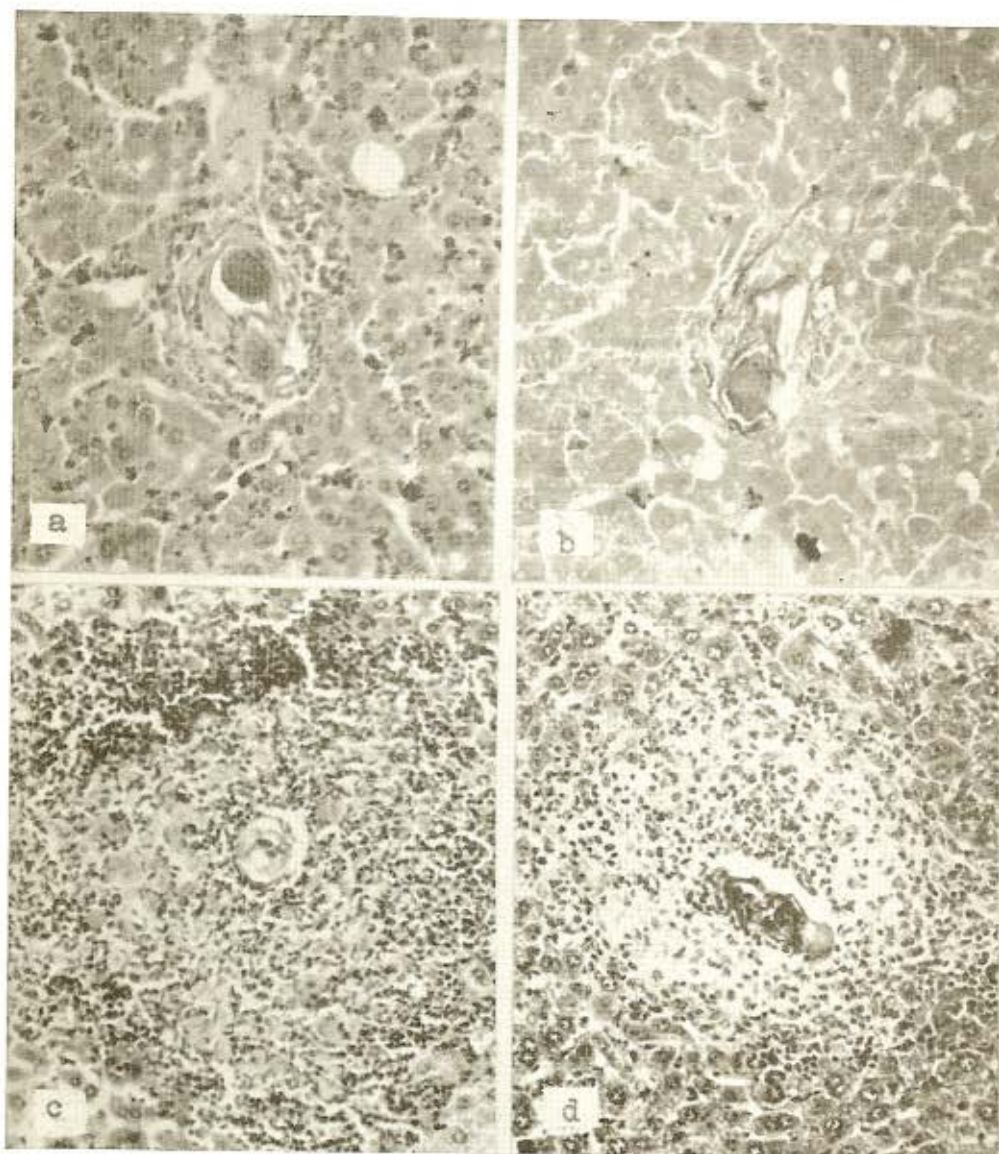


Fig. 1 — *a*) Granuloma incipiente constituído por células mononucleares, envolvendo dois ovos de localização endovascular. Notar hiperplasia das células de Küpffer, frequentemente albergando pigmento esquistossomótico. (HE: 200 \times). *b*) Mesmo aspecto da figura anterior, observando-se a posição intravascular do granuloma e destruição parcial da lâmina elástica. (Weigert: 200 \times). *c*) Granuloma intralobular com halo de células hepáticas em necrobiose e infiltração polimorfonuclear. (HE: 160 \times). *d*) Granuloma histiocitário com infiltrado polimorfonuclear secundário, notando-se degeneração recente do miracídio. (HE: 200 \times).

2a), mascarando-o muitas vezes, o que justifica a denominação de pseudo-abscesso.

Nos animais sacrificados entre 80 e 120 dias, embora os aspectos já mencionados sejam freqüentes, predomina a presença de estruturas granulomatosas com diferentes graus

de proliferação fibrosa, centralizadas ou não por ovos ou restos de ovos do parasito (Fig. 2b). O emprêgo de técnicas seletivas permite então identificar uma fibrilogênese que se inicia indiscutivelmente nas porções periféricas do granuloma (Fig. 2c), mesmo nos

de reconhecida posição intravascular. Esse processo é precoce e ocorre paralelamente com os fenômenos de degeneração do ovo. Em fases mais adiantadas, pode-se identificar a formação de fibras colágenas em toda a espessura do granuloma, sendo que nas porções mais periféricas, já ocorre hialinização e formação de pequenos prolongamentos fibrosos entre as traves de células hepáticas

das proximidades (Fig. 2d). Nessa eventualidade, os métodos para evidenciação de fibras elásticas falham na demonstração de qualquer vestígio da estrutura vascular. O estágio final do processo granulomatoso, a esta altura da evolução do parasitismo, é representado pela presença de nódulos hialinizados, muitas vezes sem qualquer vestígio de estrutura do ovo.

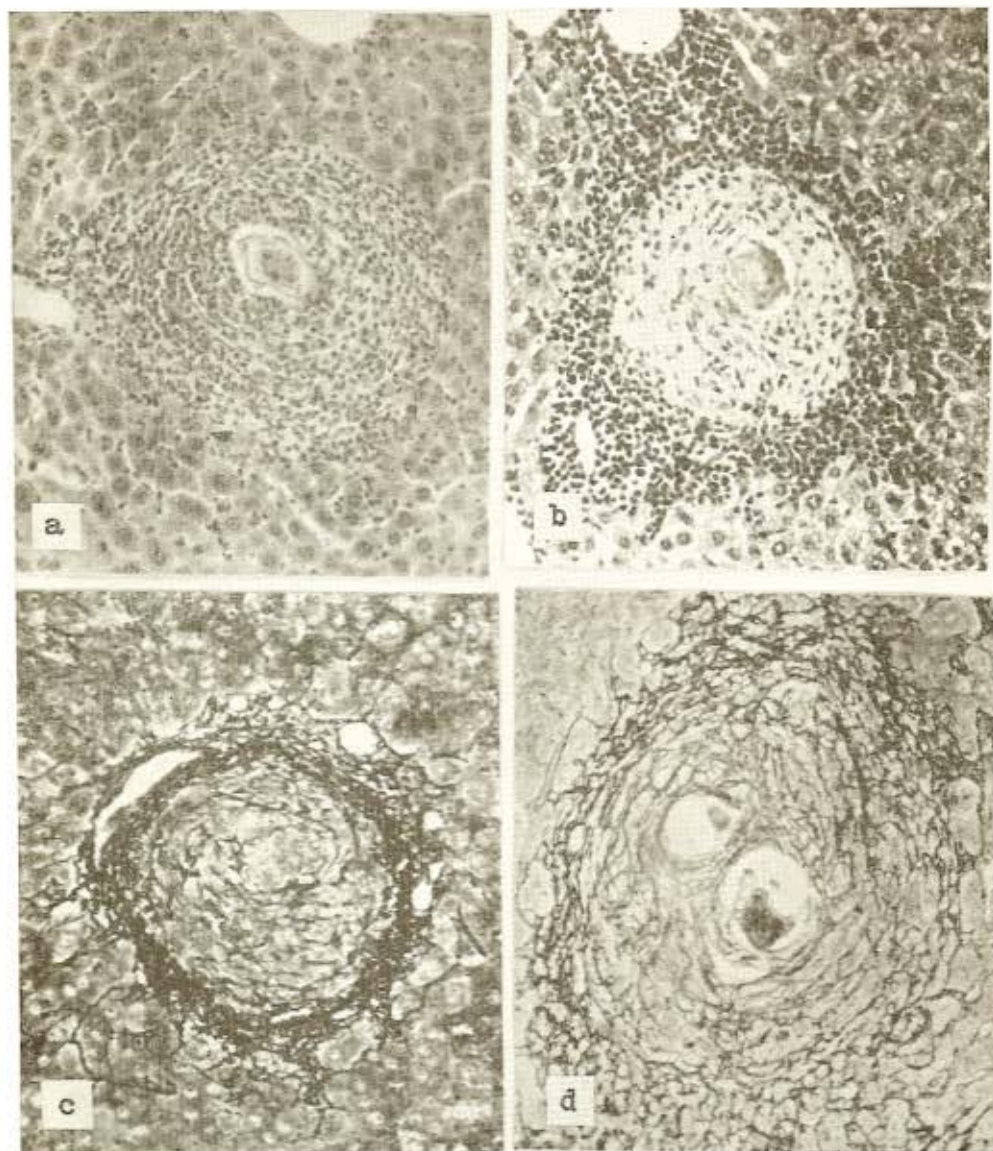


Fig. 2 — a) Granuloma densamente infiltrado por polimorfonucleares. (HE: 200×). b) Granuloma com intensa proliferação fibrosa e denso infiltrado mononuclear portal. (Tricrômico de Gomori: 200×). c e d) Arcabouço reticular do granuloma esquistossomótico. (Fibras reticulares Gomori: 200×).

As descrições feitas até aqui se referem a processos que se desenvolveram em torno de ovos aparentemente viáveis de início, embora lógica e fatalmente evoluindo para a fase de morte espontânea, consoante os estudos de VOGEL & MINNING¹⁶, na esquistossomose japônica, de RODRIGUES DA SILVA¹³ e de PRATA¹², na esquistossomose mansoni.

Nas obstruções vasculares que se presume depender do "ancoramento" de ovos com mi-

racídio degenerado anteriormente ou de ovos inviáveis, ou mesmo de cascas apenas, a reação mononuclear periovular é muito mais discreta e acompanhada da formação de gigantócitos. Estes são vistos, quer nas porções portais, quer nas perilobulares, ao redor de cascas de ovo ou de ovos calcificados, ou de ovos aparentemente inviáveis, acompanhados ou não de infiltração celular ou de proliferação conjuntiva (Fig. 3a).

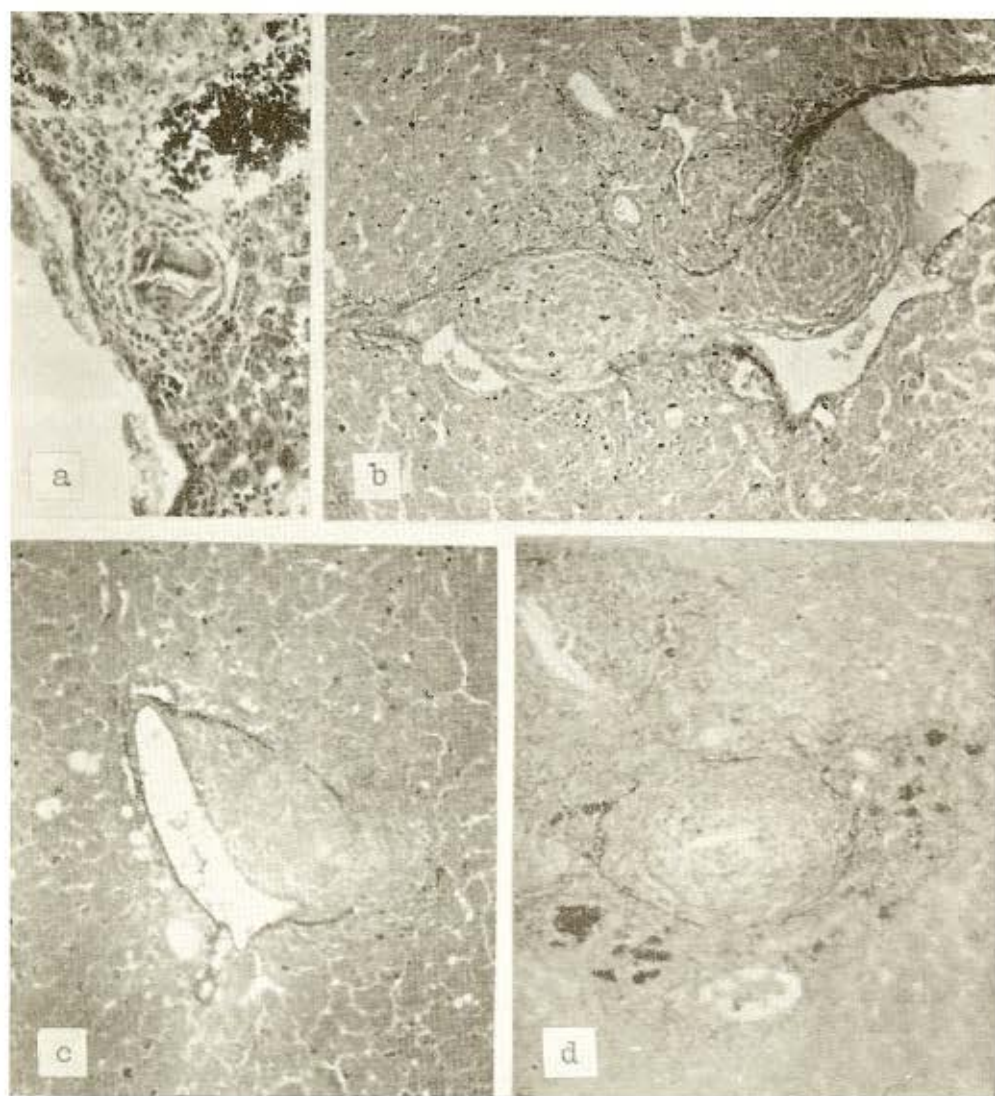


Fig. 3 — a) Granuloma centralizado por casca de ovo e constituído por alguns mononucleares e gigantócitos. (Tricrômico de Gomori: 200×). b, c e d) Vários aspectos de granulomas intravasculares obstruindo total ou parcialmente a luz vascular. (Weigert.: 120, 160 e 200×).

Afora as estruturas granulomatosas, com as variações de aspecto descritos, é de assinalar-se a presença de proliferação histiocitária difusa na luz sinusoidal, assim como infiltração mononuclear nas paredes vasculares. Este achado representa uma reação de ordem geral, mais do que o resultado da presença do parasito.

Nos animais sacrificados em tórno de 120 dias após a exposição infectante, a presença de granulomas de formação recente constitui eventualidade de menor freqüência, dominando, entretanto, o achado de numerosos nódulos fibrosos hialinizados, raramente com vestígios de ovos. Já nos animais sacrificados entre 240 e 260 dias, observa-se uma diminuição nítida do número de granulomas, que se apresentam reduzidos em seu diâmetro, constituídos fundamentalmente por pequeno nódulo fibroso centralizado ou não por restos de cascas de ovos envolvidos por gigantes. Observa-se ainda como feição característica um depósito exuberante de pigmento esquistossomótico, confluyente principalmente nos espaços porta, no interior de macrófagos, atingindo, com freqüência, a própria estrutura granulomatosa. Convém ressaltar, entretanto, o fato de que as lesões descritas nos diferentes camundongos sacrificados neste período de tempo não exibem a mesma intensidade lesional; nestas circunstâncias não se pode afastar a existência de um fator individual, de difícil avaliação, dependente ou não do grau de infecção.

Em um camundongo morto espontaneamente aos 273 dias após a infecção, o quadro histológico estava representado por escassíssimos nódulos hialinizados, de diâmetro reduzido, além da presença de pouco pigmento esquistossomótico, acompanhado de infiltrados mononucleares portais, proliferação kúfferiana e de depósito de substância amilóide entre as traves de Remack. Não foi possível identificar nenhum vestígio do parasito.

Finalmente, em animal sacrificado com 329 dias de infecção, o quadro observado foi o de um infiltrado mononuclear portal, com discretíssimo pigmento esquistossomótico em macrófagos. Em outros espaços-porta, assinalou-se a presença de moderada proliferação conjuntivo-vascular residual. Nesse animal constituía nota flagrante a ausência ab-

soluta de elementos parasitários, granuloma ou nódulos fibrosos.

DISCUSSÃO

Em suas linhas gerais, os presentes resultados se harmonizam com os de BARROS COELHO² e BARROS COELHO & col.³. O granuloma esquistossomótico é fundamentalmente uma formação endovascular (Fig. 1b, 3b, 3c e 3d), contrariamente ao que asseguram KOHLSCHULTER & KOPPISCH⁸, os quais admitem a ruptura do vaso pelo ovo, que assim retido no tecido perivascular, estimularia a reação inflamatória extravascular. O emprêgo de técnicas seletivas, sobretudo para fibras elásticas, que permite melhor visualizar o arcabouço vascular, demonstra que o acúmulo macrófágico em tórno do ovo se faz na própria luz do vaso, aí permanecendo, mesmo quando se inicia a fibrilogênese. Não há, pois, necessidade, conforme sugerem os últimos autores⁸, da extrusão do ovo para o desencadeamento da reação inflamatória granulomatosa. A extrusão do ovo, quando ocorre, e isto em órgãos outros que não o fígado, representa, na opinião de BARROS COELHO & col.³, simplesmente uma consequência de variações da dinâmica circulatória da víscera onde "âncora" o ovo, como o intestino e o pulmão. Ademais, o processo de extrusão, mormente ao nível dos intestinos, representa uma fase importante da diretriz biológica do parasito, no sentido de sua eliminação, visando a perpetuação da espécie.

No que tange à natureza do estímulo produtor da reação granulomatosa, os diferentes fatores postos em jôgo têm sido desigualmente valorizados. FAUST & col.⁴ consideram fundamental a produção de substâncias flogísticas pelo miracídio; GIRGES⁶ admite que a infiltração leucocitária é estimulada em parte por uma ação mecânica do ovo e em parte pela secreção de "toxinas" por parte do miracídio. SOROUR¹⁴, em engenhosa experiência, verificou que a injeção de ovos íntegros na veia de coelhos despertava a formação de granulomas, o mesmo não ocorrendo quando os ovos eram previamente aquecidos; daí ter concluído pela existência de uma substância produzida pelo miracídio, condicionadora do granuloma. HOEPLI⁷

acredita na secreção de “produtos tóxicos” pelo miracídio, na base do achado de uma substância levemente acidófila em tórno do ovo e em estreita correspondência com um halo de necrose texturina. Entre os fatos por nós observados, apontam para a possibilidade de produção de “substâncias tóxicas” pelo miracídio, a comprovação de áreas de necrose em tórno do ovo, em zonas menos protegidas pelo tecido conjuntivo, como o perilóbulo (Fig. 1c). Tal possibilidade está sendo motivo de investigações, ainda não completamente elucidadas, visando, inclusive, excluir a ação de mecanismos isquêmicos.

Ao lado da reação granulomatosa em tórno do ovo, vale ressaltar a existência de uma proliferação geral dos elementos do SRE. Este estímulo é, em parte, devido à presença de pigmento esquistossomótico. Não se pode, contudo, afastar igualmente um estímulo flogístico por “substância tóxica” produzida pelo verme, pois BRENER¹ observou, já mesmo antes do início da postura, infiltração periportal mono e polimorfonuclear, não diferindo seus achados daqueles descritos por MELENEY & col.^{10 e 11}. O achado, em nosso material, de extensas áreas de necrobiose na ausência de granulomas, particularmente nas primeiras fases da doença, sugere fortemente o papel de “toxinas” produzidas pelo verme adulto ou em evolução. Seguindo esta mesma linha de idéias, convém salientar que FAUST & MELENEY⁵ observaram no *Schistosoma japonicum*, substâncias contidas no útero das fêmeas, capazes de originar granulomas.

A reação mais precocemente observada por nós em tórno de ovos de postura recente, está representada por um acúmulo de mononucleares, predominando os histiócitos que, ao envolverem o ovo, determinam a obstrução vascular (Fig. 1a). Menos freqüentemente, encontramos nessa fase a participação de polimorfonucleares, contrariamente às observações de BRENER¹ e de BARROS COELHO & col.^{2 e 3}. Nossas observações, neste particular, coincidem com as de PRATA¹², que afirma serem os fagócitos carregados de pigmento os primeiros elementos mobilizados em redor do ovo.

A concepção de que as células endoteliais proliferariam e isolariam o ovo da corrente

sanguínea, defendida por KOHLSCHULTER & KOPPISCH⁸, viria apenas fortalecer a idéia errônea de uma extrusão do ovo e a formação extravascular do granuloma. Se fôsse a proliferação endotelial a reação mais precoce e fundamental, então, nos estádios iniciais, a lâmina elástica do vaso mostrar-se-ia íntegra, porque a proliferação celular ocorreria para dentro da lâmina elástica. O que se observa, em realidade, é uma dissociação precoce destas estruturas, demonstrando que os elementos que envolvem o ovo procedem das porções adventíciais do vaso.

Ainda em presença do ovo com miracídio aparentemente íntegro, pode-se observar na periferia do granuloma histiocitário a formação de fibras conjuntivas, demonstráveis pelos métodos de impregnação argêntica ou pelo Hotchkiss-Mac Manus. A fibrilogênese parece ser, pois, um fenômeno precoce, porque ocorre em granulomas de inequívoca posição intravascular. Convém salientar, entretanto, que a integridade estrutural do miracídio não implica em sua viabilidade, no que estamos de acôrdo com BARROS COELHO & col.³. É fato conhecido a dificuldade de se determinar em cortes histológicos corados pelos métodos atuais, o estado da viabilidade do miracídio, com o objetivo de estabelecer relações desta situação com os fenômenos reacionais periovulares. A reação fibrosa ocorreu de modo marcante em nossas observações, entre o 80.º e 120.º dias após a exposição infectante, o que vale dizer, no período em que os miracídios estão, em sua maioria, mortos, segundo as observações de VOGEL¹⁵, BRENER¹ e PRATA¹². Nossas observações, portanto, estão de acôrdo com as de BARROS COELHO & col.³ e se contrapõem às de MELENEY & col.^{10 e 11}; segundo os autores pernambucanos, “quando os fenômenos reacionais tomam feição produtiva, o miracídio “já está morto”.

O aparecimento de sinais de desintegração necrobiótica do miracídio coincide com uma infiltração polimorfonuclear eosinofílica e neutrofílica no granuloma histiocitário pré-formado (Figs. 1d e 2a). Esta impressão decorre, de um lado, da escassez de polimorfonucleares envolvendo ovos com miracídio aparentemente íntegro, e de outro lado, de que a reação mais precocemente por nós observada em tórno dos ovos é de natureza

mononuclear. É possível, portanto, que a qualidade do infiltrado celular dependa estritamente da natureza química das substâncias liberadas pelo miracídio ou formado pela sua desintegração. A infiltração polimorfonuclear sobreajuntada ao granuloma histiocitário desaparece com a desintegração total ou parcial do ovo, sem impedir a marcha da fibrilogênese que, partindo das porções periféricas (Fig. 2c), atinge tôda a espessura do granuloma (Fig. 2d). Os elementos histiocitários tornam-se fibrocitóides e em breve todo o granuloma se torna uma massa nodular fibrosa, total ou parcialmente hialinizada, diminuindo gradativamente de diâmetro. Nos camundongos examinados 264 dias após a infecção, se bem que observássemos uma considerável redução no diâmetro dos nódulos, não se pode concluir pela sua integral reabsorção. Entretanto, no camundongo sacrificado aos 329 dias da exposição infectante, nenhum vestígio de estrutura granulomatosa, nódulo fibroso ou resto do parasito pôde ser encontrado. BARROS COELHO & col.³ também verificaram a regressão total das lesões provocadas pelos ovos, em cobaios infectados e tratados, sacrificados com 200 a 300 dias após a infecção.

Os aspectos evolutivos do granuloma esquistossomótico podem variar ainda, tendo em vista o estado inicial do ovo que centraliza o processo. Além do aspecto já descrito, que corresponde ao granuloma provocado pelo ovo viável, antes da degeneração do miracídio, há a considerar-se o granuloma ou as reações que se formam em tôrno do "ancoramento" do ovo já degenerado, ou inviável ou de cascas de ovos. Nesse caso, observamos que a reação mononuclear é muito discreta, ocorrendo, entretanto, a formação de gigantócitos em tôrno dos mesmos. Estes fatos só encontram oposição nas observações de LETULLE & NATAN-LARRIER⁹, que admitem estar o ovo vivo freqüentemente cercado de células gigantes. A reação gigantocitária ocorre primária e isoladamente, envolvendo ovos degenerados ou cascas de ovos, ou associada ao granuloma histiocitário, após a desintegração do miracídio.

SUMMARY

Experimental schistosomiasis in the mouse: histogenesis of the schistosomotic granuloma.

Twenty three mice infected with *Schistosoma mansoni* (average of 150 cercariae per mouse) were killed at regular intervals from the 24th on to the 329th day after exposure.

The liver was chosen for the studies that intend to show the nature and the mechanism of development of the host tissue reactions to the infection.

The histiocytes are the earliest mobilized cell elements, which starting from the adventicia of the vessel to its lumen, surround the egg, occlude the vessel and form an histiocytic granuloma.

As the disintegration of the miracidium occurs, a secondary infiltration of eosinophil and neutrophil cells is added to the granuloma already formed.

It is supposed that this sequence of events depends on the substances produced by the miracidium or liberated during its disintegration.

At the same time fibrilogenesis develops in the periphery of the granuloma around the egg, still intact, but not essentially alive.

The final result is the formation of a scar nodule which regresses in size gradually, and disappears completely within 300 days after exposure.

Concerning the lesion produced by the "anchorage" of a previously dead, degenerated, unviable egg or its remnants inside the vessel, mononuclear reaction is scarce, nevertheless there is formation of giant cells.

Finally it may be concluded that the granuloma is an endovascular process and takes place around eggs.

Different peculiarity of aspects will depend upon the type of eggs that initiate the inflammatory response and the age of the process.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro de Pesquisas de Belo Horizonte, do Instituto Nacional de Endemias Rurais, do DNERu., nas pessoas dos Drs. Olympio da Silva Pinto, Marcelo Coelho de Vasconcelos e Zigman

Brener, pelo fornecimento dos animais infectados.

REFERÊNCIAS

1. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. Trabalho apresentado ao XII Congresso Brasil. Higiene, Fortaleza, 1956.
2. COELHO, R. B. — Patologia da esquistossomose mansônica. I. Comportamento patogênico do ovo do *Schistosoma mansoni*. Publicações avulsas do Instituto Aggeu Magalhães 4:61-71, 1955.
3. COELHO, R. B.; MENEZES, H.; MAGALHÃES Filho, A.; ABATH, E. G. & PESSOA, V. — Aspectos da patologia da esquistossomose mansônica. Anais Fac. Med. Univ. Recife 16:113-168, 1956.
4. FAUST, E. C.; JONES, C. A. & HOFFMAN, W. A. — Studies on Schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological studies. 2. The mammalian phase of the life cycle. Puerto Rico J. publ. Health & trop. Med. 10:133-189, 1934.
5. FAUST, E. C. & MELENEY, H. E. — Studies on Schistosomiasis japonica. Amer. J. Hyg. Monographic series nº III, pg. 1-339, 1924.
6. GIRGES, R. — Schistosomiasis mansoni. Lancet 1:816-819, 1929.
7. HOEPLI, R. — Histological observations in experimental schistosomiasis japonica. Clin. Med. J. 46:1179-1186, 1932.
8. KOHLSCHULTER, E. & KOPPISCH, E. — On the mode of extrusion of Schistosome ova from blood vessels into the tissues. Schweiz. Ztschr. Pathol. & Bakteriologie. 4:357-369, 1941.
9. LETULLE, M. & NATTAN-LARRIER — Lésions du foie dans les schistosomiasis humaines. Bull. Soc. Path. éxot. 2:538-544, 1909.
10. MELENEY, H. E.; MOORE, D. V. & CARNEY, B. H. — The histopathology of experimental schistosomiasis. Amer. J. trop. Med. & Hyg. 1:263-285, 1952.
11. MELENEY, H. E.; SANDGROUND, J. H.; MOORE, D. V.; MORT, H. & CARNEY, B. H. — The histopathology of experimental schistosomiasis. II. Bisexual infections with *S. mansoni*, *S. japonicum* and *S. haematobium*. Amer. J. trop. Med. & Hyg. 2:883-913, 1953.
12. PRATA, A. — Biopsia retal na esquistossomose mansoni. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. Bahia, 1957. Tese.
13. SILVA, J. R. da — Contribuição ao estudo das formas evolutivas da esquistossomose mansoni. Rev. Brasil. Med. 5:794-802, 1948.
14. SOROUR, F. — Contribution à l'étude des tumeurs irritatives bénignes et malignes produites par les bilharzies. Ann. Parasitol. 7:381-398, 1929.
15. VOGEL, H. — Ueber Entwicklung, Lebensdauer und Tod der Eier von *Bilharzia japonica* im Wirtsgewebe. Deut. Trop. Ztschr. 46:57-69; 81-91, 1942.
16. VOGEL, H. & MINNING, W. — Ueber die Einwirkung von Brechweinstein, Fuadin und Emetin auf *Bilharzia japonica* und deren Eier im Kaninchenversuch. Acta tropica 4:21-56; 97-116, 1947.

Recebido para publicação em 23 janeiro 1962.