

OBSERVAÇÕES SÔBRE PROVAS IMUNO-SOROLÓGICAS PARA ESQUISTOSOMOSE MANSONI REALIZADAS EM HABITANTES DAS PROVÍNCIAS DE CORRIENTES E MISIONES, ARGENTINA

J. PELLEGRINO⁽¹⁾, Carlos Edgardo BORDA⁽²⁾,
José Alberto VALETTI⁽³⁾ e José DIBETTO⁽³⁾

RESUMO

A reação intradérmica, com antígeno de esquistossomos adultos (*Schistosoma mansoni*), foi praticada em 589 habitantes de diferentes localidades das províncias de Corrientes e Misiones, Argentina, com os seguintes resultados: 528 negativos (89,7%), 35 duvidosos (5,9%) e 26 positivos (4,4%). Num grupo de 23 indivíduos, em que o teste cutâneo havia sido positivo ou duvidoso, foram feitas as reações de fixação do complemento, floculação e imunofluorescência. Estas provas resultaram positivas em 2, 3 e 3 casos, respectivamente. Entretanto, não houve concordância nos resultados fornecidos por estas provas sorológicas. O exame de fezes, para a pesquisa de ovos de *S. mansoni*, foi negativo em 120 indivíduos, incluindo aquêles com provas imuno-sorológicas positivas para esquistossomose.

Foram encontrados, na região estudada, moluscos potencialmente vectores da esquistossomose mansoni (*Biomphalaria tenagophila*) (ORBIGNY, 1835) e *Biomphalaria peregrina* (ORBIGNY, 1835). Entretanto, provas de suscetibilidade à infecção, realizadas com *B. tenagophila* de Hormiguero (Corrientes), foram negativas para seis diferentes amostras de *S. mansoni*.

O encontro de provas imuno-sorológicas positivas para esquistossomose, embora com pequena freqüência, em habitantes das províncias de Corrientes e Misiones, foi interpretado como sendo devido ou a reações cruzadas (sensibilização por cercárias que não se desenvolvem no homem) ou à própria margem de inespecificidade inerente a estes mesmos testes de diagnóstico. Entretanto, a presença de moluscos potencialmente vectores e a existência de correntes migratórias, levando indivíduos infetados, constituem importantes fatores que poderão permitir, no futuro, que a endemia esquistosomótica venha a se implantar e expandir na região estudada.

INTRODUÇÃO

Em 1965, o Dr. Júlio Cesar Blaksley, Diretor da Seção de Doenças Transmissíveis do Ministério da Saúde, Argentina, organizou uma equipe de médicos para estudar a

existência da esquistossomose mansoni nas províncias de Corrientes e Misiones, no norte da Argentina, fronteira com o Brasil. O encontro de indivíduos com reação intradér-

(1) Instituto Nacional de Endemias Rurais, Centro de Pesquisas René Rachou, e Instituto de Biologia, Faculdade de Filosofia, Caixa Postal 1404, Belo Horizonte, Brasil

(2) Bioquímico em Santo Tomé, Argentina

(3) Seção de Doenças Transmissíveis, Ministério da Saúde, Argentina

mica positiva sugeriu que tais estudos fôssem intensificados.

Em abril de 1967, sob o patrocínio da Organização Panamericana da Saúde, tivemos a oportunidade de executar um plano de trabalho visando: a) ampliar o levantamento inicial, através do teste cutâneo, em diferentes localidades das províncias de Corrientes e Misiones; b) praticar outros testes sorológicos para esquistossomose e exames de fezes nos indivíduos com reação intradérmica positiva ou duvidosa e c) realizar a busca de possíveis moluscos vectores. Os resultados destas investigações, posteriormente completadas em Belo Horizonte, serão aqui apresentados.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupos de indivíduos — O presente levantamento foi feito em 409 indivíduos moradores na província de Corrientes (São Tomé, Hormiguero, São Mateus) e em 180 na de Misiones (São Xavier, Banhados, Itacaruaré e Sérro Monje). Em Corrientes, a distribuição por grupos etários foi a seguinte: até 10 anos, 80 (19,5%); de 11 a 20 anos, 71 (17,3%); de 21 a 30 anos, 186 (45,6%); de 31 a 40 anos, 23 (5,6%) e, com mais de 41 anos de idade, 49 (12,0%). Além de habitantes locais, em São Tomé foram incluídos 150 militares do Regimento de Cavalaria Blindada, ali sediados. Dos 409 moradores da província de Corrientes, 272 eram do sexo masculino (66,5%) e 137 (33,5%) do sexo feminino. Dos 180 indivíduos da província de Misiones, 102 (56,7%) tinham 15 anos ou menos, enquanto que 78 (43,3%) eram maiores de 15 anos; 91 (50,6%) eram do sexo masculino e 89 (49,4%) do sexo feminino.

Reação intradérmica — O antígeno utilizado foi preparado com esquistossomos adultos (*S. mansoni*) recolhidos por perfuração dos vasos mesentéricos e intra-hepáticos de camundongos experimentalmente infetados. Duzentos mg de esquistossomos liofilizados foram colocados em 50 ml de solução de Coca (NaCl 0,5%, NaHCO₃ 0,275%), contendo mertiolato a 1:5.000. O material foi colocado em banho de gelo e homogenizado em aparelho "Virtis 45", durante 10

minutos, a cerca de 20.000 rpm. O volume da suspensão foi em seguida completado para 150 ml com solução de Coca mertiolatada e a extração feita na geladeira, a 4°C, durante 2 dias. A suspensão foi então centrifugada (10.000 g) a 4°C por 30 minutos e o sobrenadante transferido para um beaker. O nitrogênio foi determinado pelo método de KOCH-McKEEKN¹⁴ e o antígeno foi ajustado, de modo a conter 40 microgramas N/ml, pela adição de volume adequado de solução de Coca mertiolatada. O antígeno foi distribuído em frascos de 10 ml, com rôlha de borracha perfurável, e conservado na geladeira quando não em uso.

O teste cutâneo foi praticado em todos os indivíduos incluídos no presente inquérito, tendo sido injetados no dorso (seringa de 0,25 ml munida de agulha n.º 27 com bisel curto) 0,05 ml do antígeno. O contorno da pápula foi delineado com caneta esferográfica, 15 minutos depois de injetado o antígeno, e em seguida transferido para uma folha de papel absorvente, ligeiramente molhada com álcool. A área das pápulas foi determinada de acordo com o método descrito por PELLEGRINO & MACEDO²³. Foram consideradas positivas as reações com áreas de 1,2 cm² ou mais e negativas aquelas com áreas até 0,9 cm², inclusive. Resultados intermediários (áreas de 1,0 e 1,1 cm²) foram interpretados como duvidosos.

Reações sorológicas para esquistossomose — Em 23 indivíduos, nos quais o teste cutâneo havia sido positivo (13 casos) ou duvidoso (10 casos), foram colhidas amostras de sangue e, com o respectivo sôro, foram praticadas as seguintes reações sorológicas:

a) *reação de fixação do complemento* — Foi utilizado antígeno de esquistossomos adultos (CHAFFEE & col.⁵) e a reação feita de acordo com técnica e critério de interpretação descritos por PELLEGRINO & FREITAS²². Os resultados com título igual ou superior a 2 foram considerados como positivos.

b) *reação de flocação* — A extração do material antigênico de cercárias (*S. mansoni*) liofilizadas e o preparo da emulsão para a prova de flocação foram feitos de acordo com a técnica descrita por ANDERSON¹.

A reação foi praticada em lâminas de Boerner, sendo que em cada escavação foi colocado 0,05 ml de sôro inativado. Uma gôta da emulsão lecitina-colesterol-antígeno (cerca de 1/80 ml) foi deixada cair em cada sôro. As lâminas foram então colocadas em rotador a 180 rpm, durante 2 minutos (PELLEGRINO²¹). A leitura foi feita logo depois, em microscópio de dissecção, e os resultados anotados como negativo (N), duvidoso (\pm) e positivo (1^+ , 2^+ , 3^+).

c) reação de imunofluorescência — A reação de imunofluorescência foi feita pelo Dr. Mário E. Camargo, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, usando a técnica por ele descrita (CAMARGO & col.⁴). O antígeno é preparado com esquistossomos adultos dessecados. Os vermes são triturados com etanol a baixa temperatura e o sedimento extraído com éter etílico anidro. Após centrifugação e secagem, as partículas são suspensas em salina tamponada e colocadas em lâminas de microscopia, onde funcionam como antígeno. O teste é feito segundo a técnica usual de imunofluorescência indireta, usando anticorpo humano conjugada com isotiocianato de fluoresceína (CAMARGO²). De acordo com a intensidade da fluorescência, os resultados positivos são anotados de 1^+ a 4^+ . Segundo CAMARGO³, as reações fracamente positivas (1^+) não têm significado diagnóstico.

Exame de fezes — O exame coprológico para a pesquisa de ovos de *Schistosoma mansoni* foi feito pelo método de HOFFMAN, PONS & JANER⁹ em 120 amostras fecais, incluindo 86 militares da Cavalaria Blindada, sediados em São Tomé, e 34 moradores desta cidade, e da localidade de Hormiguero. Na seleção dos indivíduos para o exame de fezes foi dada prioridade aos casos com reação intradérmica positiva ou duvidosa. Assim, o exame coprológico foi feito em todos os 23 indivíduos submetidos a provas sorológicas adicionais (fixação do complemento, flocação e imunofluorescência) para o diagnóstico da esquistossomose.

Pesquisa de caramujos potencialmente vectores — A busca de moluscos vectores da esquistossomose mansoni foi concentrada na localidade de Hormiguero, perto de

São Tomé, onde maior percentagem de reações intradérmicas positivas ou duvidosas havia sido encontrada, e também na região compreendida entre Empedrado e Goya (Corrientes), de onde provinham 14 dos 21 militares da Cavalaria Blindada com teste cutâneo igualmente positivo ou duvidoso. Foram feitas, também, pesquisas em Alvear, Paso de los Libres, São Xavier e em lagôas e coleções d'água próximas ao Rio Paraná, num trecho de 100 km de estrada entre Posadas e Ituazinho.

Em Hormiguero foram coletados cerca de 3.000 exemplares de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835), dos quais 340 foram examinados, por esmagamento, para a pesquisa de cercárias.

Provas de suscetibilidade de B. tenagophila à infecção pelo S. mansoni — Com exemplares de *B. tenagophila* provenientes de Hormiguero foi feita, em Belo Horizonte, uma pequena criação em laboratório. Caramujos desta criação, medindo cerca de 1 cm de diâmetro, foram expostos, individualmente, a 10 e a 50 miracídios de *S. mansoni* (5 diferentes amostras isoladas em Belo Horizonte, e uma amostra isolada em São José dos Campos, São Paulo). Ambas as amostras são mantidas em laboratório, por passagens sucessivas caramujo-camundongo, sendo as 5 primeiras em *Biomphalaria glabra* e, a última, em *B. tenagophila* de São José dos Campos.

RESULTADOS

Os resultados da reação intradérmica, com antígeno de *S. mansoni*, praticada em 589 indivíduos, moradores em diferentes localidades das províncias de Corrientes e Misiones, acham-se resumidos no Quadro I. Chamam atenção as percentagens relativamente elevadas de reações duvidosas e positivas (17,5 e 9,5%, respectivamente) obtidas em moradores de Hormiguero e os 3 casos positivos observados em Sérro Monje, onde apenas 33 reações intradérmicas foram praticadas. Em conjunto, isto é, nos 589 indivíduos do presente inquérito, as percentagens de resultados negativos, duvidosos e positivos, foram, respectivamente, 89,7%, 5,9% e 4,4%. O Quadro II mostra a distribuição

QUADRO I

Resultados de reações intradérmicas com antígeno de *Schistosoma mansoni* praticadas em habitantes de algumas localidades das províncias de Corrientes e Misiones

Províncias	Localidades	Total	Resultados		
			Negativo	Duvidoso	Positivo
Corrientes	São Tomé	256	229 (89,4%)	13 (5,1%)	14 (5,5%)
	Hormiguero	63	46 (73,0%)	11 (17,5%)	6 (9,5%)
	São Mateus	90	84 (93,3%)	5 (5,6%)	1 (1,1%)
Total	Corrientes	409	359 (87,8%)	29 (7,1%)	21 (5,1%)
Misiones	São Xavier	68	61 (89,7%)	5 (7,4%)	2 (2,9%)
	Banhados	53	52 (98,1%)	1 (1,9%)	0 (0,0%)
	Itacaruaré	26	26 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	Sérro Monje	33	30 (90,9%)	0 (0,0%)	3 (9,1%)
Total	Misiones	180	169 (93,9%)	6 (3,3%)	5 (2,8%)
Total geral	Corrientes e Misiones	589	528 (89,7%)	35 (5,9%)	26 (4,4%)

QUADRO II

Distribuição percentual das áreas das pápulas correspondentes a reações intradérmicas praticadas em Florianópolis, Brasil (713 indivíduos) e no presente inquérito feito na Argentina (589 indivíduos)

Área das pápulas (cm ²)	Corrientes e Misiones (Argentina)	Florianópolis * (Brasil)
0,1	1,0	4,1
0,2-0,3	21,4	21,3
0,4-0,5	21,9	37,3
0,6-0,7	28,5	28,6
0,8-0,9	16,8	4,9
1,0-1,1	5,9	3,0
1,2-1,3	2,4	0,3
1,4-1,5	1,0	0,3
1,6-1,7	0,2	0,1
2,0-2,1	0,2	
2,2-2,3	0,2	
2,4-2,5	0,3	
2,8-2,9		0,1
3,0-3,1	0,2	

percentual das áreas das pápulas obtidas e inclui, como termo de comparação, os resultados observados por PELLEGRINO & MEMÓRIA²⁵ em 713 moradores de Florianópolis (Estado de Santa Catarina, Brasil), onde a esquistossomose mansoni não é endêmica. Como se pode ver, a frequência de casos com áreas de 1,0 cm² ou mais foi nitidamente mais elevada nos moradores de Corrientes e Misiones.

O Quadro III resume os resultados das provas de fixação do complemento, flocação e imunofluorescência praticadas em 23 indivíduos cuja reação intradérmica havia sido positiva (13 casos) ou duvidosa (10 casos). Neste grupo selecionado, as reações de fixação do complemento e de flocação foram positivas em 2 e 3 casos, respectivamente. Quanto à prova de imunofluorescência, resultados francamente positivos (2⁺) foram obtidos em 3 casos, embora em 6 outros a reação tenha sido considerada como 1⁺. É interessante observar que não houve concordância nos resultados das diversas provas sorológicas para o diagnóstico da esquistossomose em relação aos casos tomados individualmente.

* Adaptado de PELLEGRINO & MEMÓRIA, 1963

Q U A D R O III

Reações sorológicas para esquistossomose praticadas em 23 indivíduos com teste cutâneo positivo ou duvidoso. O exame de fezes foi negativo para ovos de *S. mansoni* em todos os casos

Caso N. ^o	Procedência	Reação intradér-mica. Área da pápula (cm ²)	Reação de fixação do complemento	Reação de flo-culação	Reação de imuno-fluorescência
1	ST	2,4	N	N	N
2	H	2,4	N	N	N
3	ST	2,3	N	N	2 +
4	ST	1,5	N	N	N
5	ST	1,4	N	N	N
6	ST	1,4	N	1 +	2 +
7	ST	1,3	N	N	N
8	ST	1,3	N	N	1 +
9	ST	1,2	4,2*	N	1 +
10	H	1,2	N	N	N
11	ST	1,2	N	N	N
12	ST	1,2	5,1*	N	1 +
13	H	1,2	N	N	2 +
14	ST	1,1	N	N	N
15	ST	1,1	N	N	N
16	ST	1,1	N	N	N
17	ST	1,1	N	N	1 +
18	H	1,1	N	2 +	1 +
19	ST	1,1	N	N	1 +
20	H	1,0	N	2 +	N
21	ST	1,0	N	N	N
22	H	1,0	N	N	N
23	ST	1,0	N	N	N

ST — São Tomé

H — Hormiguero

N — Negativo

* Título (reações positivas)

O exame de fezes foi negativo para ovos de *S. mansoni* nos 120 casos em que o mesmo foi praticado, inclusive naqueles incluídos no Quadro III.

A pesquisa de caramujos potencialmente vectores da esquistossomose mansoni demonstrou diversos criadouros de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny 1835) em Hormiguero, pequena localidade situada nas vizinhanças de Santo Tomé, na margem direita (Argentina) do Rio Uruguai. A Fig. 1 mostra o aspecto de um destes criadouros. O exame de 340 exemplares de *B. tenagophila*, para

a pesquisa de cercárias, revelou os seguintes resultados: 317 caramujos não parasitados, 22 com cercárias de cauda simples e apenas 1 com cercárias de cauda bifurcada. Pelo aspecto morfológico, as furcocercárias não eram, seguramente, cercárias de *S. mansoni*. Exemplares de *B. tenagophila* foram encontrados, também, em Paso de los Libres e São Xavier. Criadouros de *Biomphalaria peregrina* (Orbigny, 1835) foram localizados em Goya, Alvear e Paso de los Libres.

As provas de suscetibilidade de *B. tenagophila* de Hormiguero à infecção por mira-



Fig. 1 — Criadouro natural de *Biomphalaria tenagophila* em Hormiguero (Corrientes, Argentina). No fundo, à esquerda, notar o Rio Uruguai. Na margem oposta fica a cidade brasileira de São Borja

cídios de *S. mansoni* foram negativas, tanto para as 5 amostras isoladas em Belo Horizonte e mantidas em *B. glabrata*, como para a amostra isolada em São José dos Campos, São Paulo, e mantida em *B. tenagophila*. Nestas provas foram utilizados mais de 200 caramujos. Cercárias não foram eliminadas pelos caramujos expostos mesmo a 50 miracídios, num período de observação de 70 dias, nem foram encontradas formas evolutivas nos moluscos, examinados por esmagamento.

DISCUSSÃO

A reação intradérmica com antígenos preparados com esquistossomos adultos tem sido amplamente utilizada em levantamentos epidemiológicos (PELLEGRINO²⁰; KAGAN & PELLEGRINO¹¹; KAGAN & col.¹⁰). A sua sensibilidade é muito elevada (cerca de 90% de resultados positivos em indivíduos seguramente infetados), especialmente quando

praticada no dorso. A reação é menos intensa em crianças e mulheres e os indivíduos de cor preta tendem a reagir mais intensamente à injeção intradérmica do antígeno específico (PELLEGRINO & MEMÓRIA²⁴; KAGAN & col.¹²). Devido à sua fácil execução em condições de campo, o teste cutâneo foi escolhido como elemento básico na realização das investigações feitas na Argentina. Tratando-se de área presumivelmente não endêmica, na interpretação dos resultados foi adotado o critério inicialmente proposto por PELLEGRINO & MACEDO²⁵, segundo o qual sólamente respostas cutâneas com áreas de 1.2 cm² ou mais são consideradas como positivas.

Com exclusão dos dados obtidos em Hormiguero (Corrientes) e Serró Monje (Misiones), os resultados da reação intradérmica se enquadram nos limites esperados para zonas não endêmicas de esquistossomose (PELLEGRINO & MEMÓRIA²⁶). Cumpre notar que em Hormiguero foram encontra-

dos *B. tenagophila* parasitados por diferentes cercárias, inclusive com furcocercárias, embora estas não fossem de *S. mansoni*. É portanto possível que a percentagem relativamente alta de reações intradérmicas positivas e duvidosas em habitantes de Hormiguero tenha sido devida à sensibilização dérmica produzida pela exposição a cercárias que não se desenvolvem no homem. Fato semelhante foi constatado por SADUN & BIOCCHA²⁹ em indivíduos expostos à cercárias de *Schistosoma bovis*, na Sardenha. Em Sérro Monje, localidade que fica a 10 km de São Xavier, os 3 indivíduos com reação intradérmica positiva eram brasileiros.

Em Iguacú foram feitas 65 reações intradérmicas, resultando 59 negativas (90,7%), 4 duvidosas (6,2%) e 2 positivas (3,1%). Estes resultados não foram incluídos no presente inquérito pois planejamos realizar um estudo mais aprofundado nesta região, ponto comum entre Brasil, Argentina e Paraguai. Em Foz de Iguacú ROMAÑA & col.²⁸ assinalaram 11% de reações intradérmicas positivas (antígeno de esquistossomos adultos) em militares brasileiros ali sediados.

É interessante notar que, no grupo de 23 indivíduos com reação intradérmica positiva ou duvidosa, foram encontrados soros reagentes nas provas de fixação do complemento (2 casos), flocação (3 casos) e imunofluorescência (3 casos com 2+; 6 casos com 1+). Levando-se em conta a natureza do grupo selecionado, êstes resultados podem ser interpretados como sendo devidos ou à sensibilização cruzada — fato demonstrado por SADUN & BIOCCHA²⁹ — ou à própria natureza dos testes imuno-sorológicos empregados, que sempre apresentam uma zona, embora estreita, de falso-positivos (KAGAN & PELLEGRINO¹¹). KAGAN & col.¹³ chamaram recentemente a atenção para a pequena especificidade da reação de imunofluorescência quando aplicada em levantamentos epidemiológicos da esquistossomose. Os resultados dos exames de fezes, negativos para ovos de *S. mansoni*, inclusive nos casos com testes imuno-sorológicos positivos, mostram que na região estudada a esquistossomose não é endêmica. Além disso, caso o fosse, certamente esta helmintose não teria escapado à observação dos parasitologistas argentinos.

O encontro de criadouros naturais com colônias de *B. tenagophila* e *B. peregrina*, na região de Corrientes e Misiones, já era esperado, pois, a existência destas espécies nas referidas províncias é conhecida desde as observações de ORBIGNY¹⁵, em 1835. ROMAÑA & col.²⁸ assinalaram a presença de *B. straminea* em Iguacú.

O fato das provas de suscetibilidade de *B. tenagophila* procedentes de Hormiguero (Corrientes) terem sido negativas, mesmo utilizando 6 amostras diferentes de *S. mansoni*, não implica, necessariamente, a conclusão de que esta espécie, na população estudada, seja refratária à infecção. São bem conhecidas as variações de suscetibilidade ao *S. mansoni* demonstrada para diferentes populações de *Biomphalaria glabrata* (FILES⁸; PARAENSE & CORRÊA¹⁷; SAoud³⁰). Além disso, a *B. tenagophila* (Cf. PARAENSE & CORRÊA¹⁸), tida como hospedeiro de importância secundária para o *S. mansoni*, é a espécie vectora responsável pela disseminação da endemia esquistossomótica no vale do Paraíba, São Paulo (PIZA & col.²⁶; RAMOS & col.²⁷; CORRÊA & col.⁷). É oportunamente lembrar, também, que PARAENSE & col.¹⁹ encontraram, no Perú, onde a esquistossomose não é endêmica, uma população de *B. tenagophila* altamente suscetível a determinada amostra de *S. mansoni* que infeta outras populações de *B. tenagophila*, mas não de *B. glabrata*. A *B. straminea* é a principal vectora da esquistossomose em amplas regiões do Nordeste do Brasil e PARAENSE¹⁶ conseguiu infetar com *S. mansoni*, no laboratório, exemplares de uma população de *B. peregrina*. Estas considerações mostram a importância de serem conduzidos estudos sistematizados sobre a suscetibilidade de diferentes populações de planorbídeos encontrados nas províncias de Corrientes e Misiones a diferentes amostras de *S. mansoni*.

Aspecto de grande significado para a disseminação da esquistossomose é a migração humana, de zonas endêmicas, para áreas ainda virgens desta helmintose mas onde existem moluscos potencialmente vectores. Como bem focalizaram CODA & col.⁶, "o Oeste Paulista, o Norte do Paraná e o Sul Matogrossense, sob o impacto das correntes migratórias internas, pela maneira caótica e primitiva que se processa, estão sendo povoados, por igual, com o homem e a doença".

A esquistosomose continua sua marcha inexorável e sem peias para o Sul do Brasil. Que os complexos problemas ligados à expansão desta endemia, enfocados e analisados no presente trabalho, sirvam de alerta às autoridades sanitárias daquele país vizinho: que se preparem à tempo, evitando o evitável, para que não tenham que enfrentar, no futuro, em luta desigual, as mesmas fôrças que abalaram o poderio da civilização egípcia, destruiram os soldados de Napoleão e aniquilaram batalhões norte-americanos nas Filipinas.

S U M M A R Y

Observations on immunoserological tests for Schistosomiasis mansoni in Argentina

Intradermal tests with adult worm (*S. mansoni*) antigen were performed in 589 people living in seven villages of Corrientes and Misiones, Argentina, near the Brazilian border. The results provided by the skin test were as follows: 528 negative (89.7%), 35 doubtful (5.9%) and 26 positive (4.4%).

In a group of 23 individuals with positive or doubtful skin tests, the following serological tests for Schistosomiasis were performed: complement fixation, cercarial slide flocculation, and immunofluorescence. Positive results were observed in 2, 3, and 3 cases, respectively.

Stool examinations were negative for *S. mansoni* eggs in 120 cases, including those with positive immunoserological tests for Schistosomiasis.

In the region where the present study has been conducted, natural breeding places of *Biomphalaria tenagophila* and *B. peregrina* were found. Attempts to infect *B. tenagophila* from Argentina with six different strains of *S. mansoni* were unsuccessful.

The finding of a relatively small percentage of individuals with positive tests for Schistosomiasis was tentatively interpreted as resulting from dermal sensitization after exposure to non-human cercariae as well as from the narrow margin of false positive results provided by the serological tests.

However, it was pointed out that the existence of potential snail vectors and the introduction of infected people by human migration from endemic areas of Brasil constitute important factors for a possible spreading of Schistosomiasis in Northern Argentina.

A G R A D E C I M E N T O S

A realização do presente trabalho foi fruto de entendimentos havidos entre as autoridades sanitárias da Argentina e da Repartição Sanitária Panamericana. Assim, expressamos nossos agradecimentos aos Drs. Louis Olivier, Henrique Maia Penido e Mário Galdós (PAHO) e ao Dr. Júlio Cesar Blaksley (Seção de Doenças Transmissíveis, Ministério da Saúde, Argentina). Os nossos agradecimentos são também extensivos ao Dr. Mário E. Camargo, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, que realizou as reações de imunofluorescência; ao Dr. W. Lobato Paraense e à sua assistente Lygia Corrêa, do Centro Internacional de Identificação de Caramujos, Belo Horizonte, pela classificação dos moluscos coletados na Argentina e pela realização das provas de suscetibilidade de *B. tenagophila* à amostra de *S. mansoni* isolada em S. José dos Campos; aos oficiais e elementos da Prefeitura Marítima de São Tomé, Argentina, pela colaboração e alojamento que nos foram proporcionados; ao Dr. Humberto Coelho de Carvalho, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, pelas provas de suscetibilidade de *B. tenagophila* às amostras de *S. mansoni* isoladas em Belo Horizonte; aos Professores Flávio Niño e Pedro Garaguso, pelo decisivo apoio dado nas investigações feitas na Argentina.

REFERÉNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R. I. — Serologic diagnosis of *Schistosoma mansoni* infections. I — Development of a cercarial antigen slide flocculation test. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 9: 229-303, 1960.
- CAMARGO, M. E. — Preparation of microscopical slides to simplify immunofluorescence serological titrations. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:39-40, 1965.
- CAMARGO, M. E. — Comunicação pessoal.

PELLEGRINO, J.; BORDA, C. E.; VALETTI, J. A. & DIBETTO, J. — Observações sobre provas imuno-sorológicas para esquistosomose mansoni realizadas em habitantes das províncias de Corrientes e Misiones, Argentina. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:277-286, 1968.

4. CAMARGO, M. E.; HOSHINO, S. & SILVA, L. C. — A slide fluorescent antibody technique with adult worm antigen for the serological diagnosis of schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:327-331, 1965.
5. CHAFFEE, E. F.; BAUMAN, P. M. & SHAPIRO, J. J. — Diagnosis of schistosomiasis by complement fixation. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 3:905-913, 1954.
6. CODA, D.; FALCI, N. & MENDES, F. A. T. — Contribuição para o estudo e a profilaxia da esquistosomose mansônica no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 19: 25-68, 1959.
7. CORRÉA, R. R.; PIZA, J. T.; RAMOS, A. S. & CAMARGO, L. S. U. — Planorbideos do Estado de São Paulo. Sua relação com a esquistosomose (*Pulmonata, Planorbidae*). *Arq. Hig. Saúde Públ.* 27:139-159, 1962.
8. FILES, V. S. — A study of the vector-parasite relationships in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 41:264-269, 1951.
9. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. — The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. Publ. Health & Trop. Med.* 9:283-291, 1934.
10. KAGAN, I. G.; NEGRON, H., ARNOLD, J. C. & FERGUSON, F. F. — A skin test survey for the prevalence of schistosomiasis in Puerto Rico. *Public Health Publ. n.º 1525*. Washington, 1966, 91 pp.
11. KAGAN, I. G. & PELLEGRINO, J. — A critical review of immunological methods for the diagnosis of bilharziasis. *Bull. W. H. O.* 25:611-674, 1961.
12. KAGAN, I. G.; PELLEGRINO, J. & MEMÓRIA, J. M. P. — Studies on the standardization of the intradermal test for the diagnosis of bilharziasis. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 10:199-207, 1961.
13. KAGAN, I. G.; SULZER, A. J. & CARVER, K. — An evaluation of the fluorescent antibody test for the diagnosis of schistosomiasis. *Amer. J. Epidemiol.* 81:63-70, 1965.
14. KOCH, F. C. & HANKE, M. E. — *Practical Methods in Biochemistry*. 5.ª edição. Baltimore, William Wood, 1948.
15. ORBIGNY, A. — Synopsis terrestrium et fluviatilium molluscorum, in suo per American Meridionalem itinere collectorum. *Mag. Zool.* 62:26-28, 1835.
16. PARAENSE, W. L. — Comunicação pessoal.
17. PARAENSE, W. L. & CORRÉA, L. R. — Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:15-22, 1963.
18. PARAENSE, W. L. & CORRÉA, L. R. — Susceptibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:23-29, 1963.
19. PARAENSE, W. L.; IBÁÑEZ, N. H. & MIRANDA, H. C. — *Australorbis tenagophilus* in Peru, and its susceptibility to *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 13: 534-540, 1964.
20. PELLEGRINO, J. — The intradermal test in the diagnosis of bilharziasis. *Bull. W. H. O.* 18:945-961, 1958.
21. PELLEGRINO, J. — Diagnóstico sorológico da esquistosomose mansônica. IV — Valor da reação de flocação em levantamentos epidemiológicos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:111-113, 1964.
22. PELLEGRINO, J. & FREITAS, J. L. P. — Quantitative complement fixation test in schistosomiasis mansoni. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 10:537-540, 1961.
23. PELLEGRINO, J. & MACEDO, D. G. — Novo critério de leitura da reação intradérmica na esquistosomose. *Rev. Brasil. Malar. & Doenças Trop.* 8:499-509, 1956.
24. PELLEGRINO, J. & MEMÓRIA, J. M. P. — A reação intradérmica na esquistosomose mansônica. III — Influência da idade, sexo, côr e local da reação. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 2:218-223, 1960.
25. PELLEGRINO, J. & MEMÓRIA, J. M. P. — A reação intradérmica na esquistosomose mansônica. VIII — Resultados obtidos em área não endêmica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:140-146, 1963.
26. PIZA, J. T.; RAMOS, A. S.; BRANDÃO, C. S. H. & FIGUEIREDO, C. G. — A esquistosomose no vale do Paraíba. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 19:97-143, 1959.
27. RAMOS, A. S.; PIZA, J. T. & CAMARGO, L. S. V. — Observações sobre *Australorbis tenagophilus*, transmissor da esquistosomose mansônica. *Arq. Hig. Saúde Públ.* 26:121-124, 1961.
28. ROMAÑA, C.; SILVA, O. A. & ROMAÑA, M. S. — Acerca de una investigación sobre es-

- quistosomiasis realizada en la frontera Argentino-Brasileira de Misiones. *An. Inst. Med. Reg.* 4:265-269, 1957.
29. SADUN, E. H. & BIOCCHI, E. — Intradermal and fluorescent antibody tests on humans exposed to *Schistosoma bovis* cercariae from Sardinia. *Bull. W. H. O.* 27:810-814, 1962.
30. SAOUD, M. F. A. — Susceptibilities of various snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* to different strains of the parasite. *J. Helminth.* 39:363-376, 1965.

Recebido para publicação em 22/4/1968.