

Producción de hemocitos de caracoles de la especie *Biomphalaria glabrata* luego de la exposición a diferentes protocolos de infección por *Schistosoma mansoni*

Hemocyte production in *Biomphalaria glabrata* snails after exposure to different *Schistosoma mansoni* infection protocols

Produção de hemócitos de caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata* após a exposição a diferentes protocolos de infecção por *Schistosoma mansoni*

Daniel Valle Vasconcelos Santos

Laboratório de Biofísica Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Izabel Raimunda de Carvalho Rodrigues

Laboratório de Parasitoses Intestinais e Malacologia, Seção de Parasitologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Marco Antonio Vasconcelos Santos

Laboratório de Parasitoses Intestinais e Malacologia, Seção de Parasitologia, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

RESUMEN

El objetivo de este artículo fue el de determinar el perfil del sistema de defensa celular durante la infección mansónica. Específicamente, este estudio evaluó el número de hemocitos producidos y liberados en la hemolinfa como respuesta a la infección por el parásito. La cuantificación de los hemocitos de *Biomphalaria glabrata* se realizó en grupos de caracoles previamente infectados con 5, 10, 15 o 30 miracidios de *Schistosoma mansoni* en los días 1, 5, 10, 15, 20 y 30 pos infección. Los resultados revelaron que *B. glabrata* posee un mecanismo de defensa celular caracterizado por la liberación de hemocitos en la hemolinfa. El mayor registro de producción celular ocurrió 24 h luego de la infección y hubo una reducción significativa en la concentración de hemocitos durante los 10 días siguientes. Sin embargo, al 15° día pos infección, hubo un segundo aumento en la producción de hemocitos, aunque no tan acentuado como el primer pico. Al 30° día pos infección, se verificó otro aumento moderado de la producción de hemocitos. Con base en este perfil de respuesta celular, el sistema de defensa del caracol aparenta ser eficiente en los momentos inmediatamente posteriores a la infección, pero esa respuesta no asegura la destrucción de todos los parásitos en el curso de la infección.

Palabras clave: *Biomphalaria*; *Schistosoma mansoni*; hemocitos.

INTRODUCCIÓN

La resistencia de caracoles del género *Biomphalaria* a la infección por el parásito *Schistosoma mansoni* está directamente relacionada a la capacidad de los hemocitos del vector para realizar la fagocitosis y destruir parásitos recién introducidos^{1,2,3,4}. Los hemocitos son la principal línea de defensa de los moluscos contra parásitos y bacterias⁵. Se cree que esas células se originen en el órgano productor de amebocitos⁶, aunque algunos

autores han sugerido que esas células especializadas pueden tener un origen multicéntrico^{7,8}.

El encapsulado de los miracidios sucede inmediatamente después de la penetración del parásito y es determinante para la supervivencia o muerte del parásito en su huésped^{9,10}. Basch¹¹ demostró que este proceso puede alterarse por diversos factores, como el estatus nutricional del vector, la virulencia de la cepa del parásito, la cantidad de hemocitos en la hemolinfa, algunos aspectos ambientales directos e indirectos y el número de miracidios que consiguen penetrar en el huésped.

El objetivo de este estudio fue el de evaluar el perfil de producción de hemocitos de especímenes de caracoles de la especie *Biomphalaria glabrata* mantenidos en cautiverio luego de la infección experimental por diferentes cantidades de miracidios de *S. mansoni*. La caracterización de la variabilidad de la producción de hemocitos es fundamental para la comprensión de los mecanismos de resistencia de diferentes especies de *Biomphalaria* a la infección por *S. mansoni*.

Correspondencia / Correspondência / Correspondence:

Daniel Valle Vasconcelos Santos
Rua Arciprestes Manoel Teodoro, nº 265 Bairro: Batista Campos
CEP: 66023700 Belém – Pará – Brasil
Tel.: 55 (91) 81299664
E-mail: danielsantos@ufpa.br

Traducido por / Traduzido por / Translated by:

Lota Moncada

MATERIAL Y MÉTODOS

Cepas brasileñas albinas (no pigmentadas) y pigmentadas (salvajes) de *B. glabrata* difieren en su susceptibilidad a la infección por *S. mansoni*¹². Los especímenes de *B. glabrata* utilizados en este estudio eran descendientes de caracoles capturados en la Región Bragantina del Estado de Pará, Brasil. Esta colonia de caracoles fue mantenida en cautiverio en tanques especiales en el Laboratorio de Parasitosis Intestinales y Malacología del Instituto Evandro Chagas, Estado de Pará. La cepa de *S. mansoni* utilizada se extrajo de ratones infectados en el propio laboratorio, previamente aisladas de caracoles capturados en reservorios de agua dulce en la Ciudad de Belém, Estado de Pará.

El hígado de los caracoles infectados fue macerado, filtrado con gasa y sometido a sedimentación espontánea. El sedimento fue expuesto a la luz por 45 min y los miracidios fueron colectados con el uso de micropipetas y un estereomicroscopio (Zeiss, Stemi SV 11).

Un total de 752 caracoles de aproximadamente ocho meses de edad y 1,5 cm. de diámetro de concha fueron infectados individualmente en frascos de vidrio con 2 mL de agua potable sin cloro con 5, 10, 15 o 30 miracidios. La infección fue considerada exitosa en los casos en que ningún miracidio fue visualizado en el recipiente luego de 90 min de exposición a la luz. Después de este procedimiento, los moluscos fueron transferidos para acuarios especiales debidamente etiquetados con su protocolo de infección. El grupo

control estaba compuesto por 52 caracoles no infectados de la misma colonia inicial.

Las muestras de hemolinfa (20 µL) fueron recolectadas por medio de punción directa en cada caracol en los días 1°, 5°, 10°, 15°, 20° y 30° post-infección para evaluar la cantidad de hemocitos circulantes. Las muestras fueron diluidas en solución de Turk (0,1% violeta cristal en 1% de ácido acético glacial) a una proporción de 1:1; se colocaron 5 µL de la solución resultante en cada una de las laterales de una cámara de Neubauer. Por fin, cada muestra de hemolinfa fue analizada en duplicado utilizando un microscopio óptico (Leitz, Dialux 20 EB) 100X y 400X.

Los resultados se presentan como valores medios y desvíos estándar. Las diferencias entre los valores de cada grupo fueron evaluadas por un análisis de la varianza (ANOVA) y prueba t de Student ($\alpha = 0,05$). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa BioEstat® 5.0 (IDSM/MCT/CNPq).

RESULTADOS

De los 752 caracoles infectados, 8% murió en el curso de la infección y no hubo cualquier correlación entre la tasa de mortalidad y el número de miracidios utilizados. Por lo tanto, fueron utilizados 710 caracoles en la cuantificación de los hemocitos circulantes. Esos caracoles fueron divididos en 24 grupos de aproximadamente 30 individuos; el grupo control estaba compuesto por 52 especímenes. Un resumen de estos resultados puede ser observado en la Tabla 1.

Table 1– Conteo de hemocitos por grupo

Tiempo de infección	5 miracidios	10 miracidios	15 miracidios	30 miracidios
24 horas	222,81 ± 99,8 (24)	442,33 ± 332,06 (29)	426,39 ± 218,59 (27)	393,57 ± 70,59 (14)
5 días	175,43 ± 89,91 (29)	248,25 ± 153,47 (20)	275,63 ± 138,89 (24)	250,26 ± 95,08 (29)
10 días	146,18 ± 58,44 (34)	172,18 ± 93,86 (39)	163,97 ± 84,12 (34)	208,36 ± 99,66 (32)
15 días	234,88 ± 178,18 (20)	343,79 ± 235,07 (29)	270,3 ± 140,89 (25)	276,72 ± 135,58 (29)
20 días	176,41 ± 79,84 (32)	170,17 ± 68,56 (29)	258,67 ± 107,45 (30)	369,38 ± 281,94 (24)
30 días	312,6 ± 181,04 (25)	267,59 ± 166,2 (28)	239,79 ± 137,73 (24)	236,96 ± 138,43 (28)
Promedio	211 ± 59,49	274,05 ± 104,94	272,46 ± 85,72	289,21 ± 75,18

Promedio ± desvío estándar (n); Grupo control = 192,26 ± 153,71 (52).

Hubo un pequeño aumento (9,7%) en el conteo de hemocitos circulantes en el grupo infectado por cinco miracidios, pero estos valores no fueron considerados significativos cuando comparados con el grupo control. Sin embargo, hubo un fuerte aumento en la producción de hemocitos 24 h luego de la infección en los grupos infectados con los números más altos de miracidios. La producción de hemocitos aumentó en un 130,07%, 121,78% y 104,71% en los grupos que recibieron 10, 15 y 30 miracidios, respectivamente. Después de cinco días de infección, hubo una significativa reducción en el número de hemocitos en cada uno de los grupos de caracoles, a pesar de que el grupo que había sido infectado con cinco miracidios había presentado una producción menor que los otros grupos experimentales ($p < 0.05$).

En todos los grupos, la menor cantidad de hemocitos circulantes se observó al décimo día post-infección y el grupo que había sido infectado con 30 miracidios experimentó la menor reducción.

Al 15° día post-infección, el conteo de hemocitos circulantes aumentó proporcionalmente a la carga inicial de parásitos y esta tendencia permaneció hasta el 20° día post-infección. Al 30° día post-infección, la producción celular se estabilizó y no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales. Estos resultados pueden ser vistos en la figura 1.

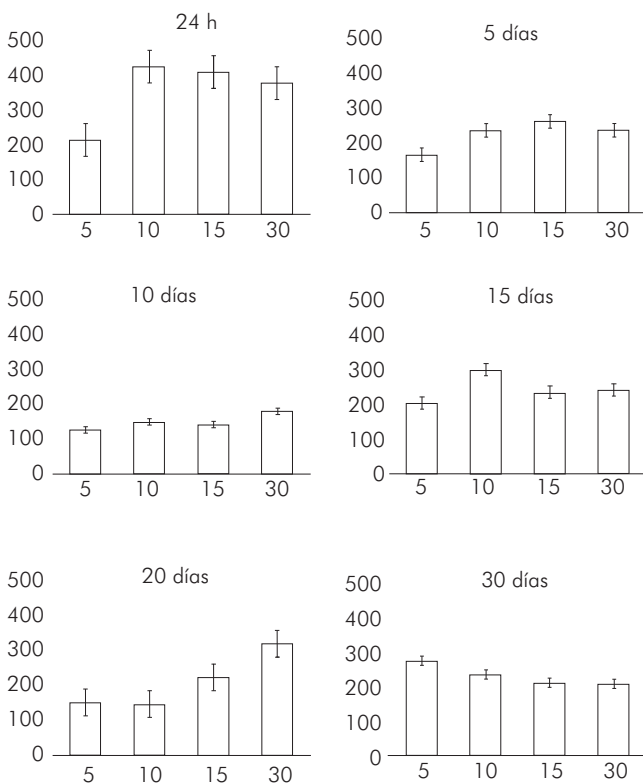


Figura 1– Cantidades de hemocitos luego de diferentes protocolos de infección

Luego de 24 h de la infección, hubo una fuerte correlación inversa entre el conteo de hemocitos circulantes y el número de miracidios utilizados para causar la infección ($r = 0.99$; $p < 0.01$). Esta relación se invirtió al 10° día post-infección ($r = 0.91$; $p < 0.05$) y se mantuvo hasta la última fase de la infección ($r = 0.97$; $p < 0.05$) (Figura 2).

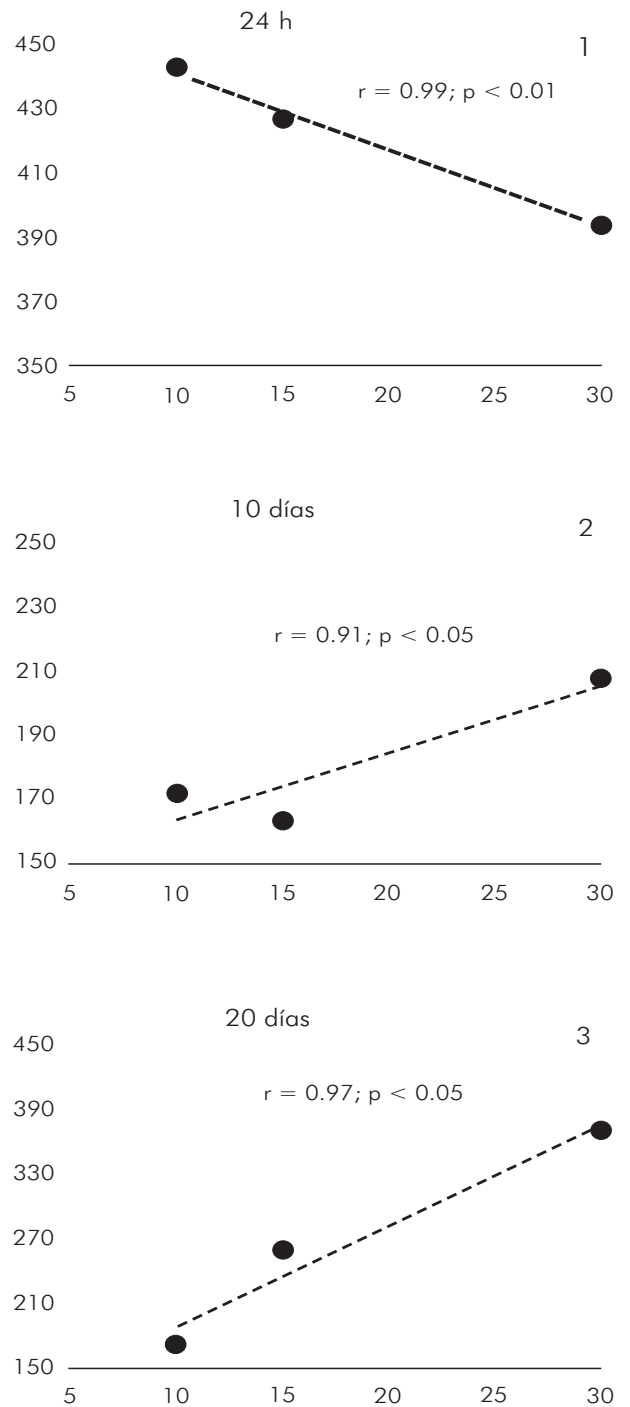


Figura 2– El grupo infectado con cinco miracidios fue retirado de este análisis porque sus valores no difirieron de los presentados por el grupo control. La línea de puntos representa una regresión lineal

DISCUSIÓN

Los hemocitos, que son células ameboides móviles, son importantes constitutivos del sistema de defensa de los caracoles del género *Biomphalaria* contra la infección por miracidios de *S. mansoni*^{3,13}. Estas células forman la barrera primaria contra parásitos y bacterias invasoras^{13,14}; la motilidad de su citoesqueleto y las adaptaciones de sus membranas plasmáticas encapsulan organismos externos¹⁵ y esas células también colaboran con diversos factores humorales de defensa. Muchos estudios han buscado elucidar la interacción compleja entre parásito y huésped existente en este modelo^{16,17,18,19}.

En este artículo, fueron evaluadas las variaciones en los conteos de hemocitos circulantes de caracoles de la especie *B. glabrata* luego de exposición a diferentes cantidades de miracidios de *S. mansoni*. El principal hallazgo de este estudio fue el aumento significativo en la producción de hemocitos solamente cuando más de cinco miracidios penetraron en el caracol. Este agregado fue seguido de una disminución considerable en el conteo de hemocitos 24 h luego de la infección, aumento este que persistió durante los primeros 10 días post-infección. Al 15° día post-infección, se inició una retomada en la producción de hemocitos en las células y el nivel de hemocitos se tornó estable al 30° día post-infección. Además, este comportamiento se mostró independiente de la carga parasitaria inicial. Hubo una fuerte correlación negativa entre el conteo de hemocitos y el número de miracidios utilizados para la infección luego de 24 h, aunque esta correlación fue invertida en los días 10° y 20° post-infección.

Luego de 24 h de la infección, el aumento medio en el número de hemocitos circulantes fue de 93,11%. Stumpf y Gilbertson¹⁹ relataron una duplicación en el conteo de hemocitos de *B. glabrata* 2 h luego de la exposición a los miracidios. Resultados semejantes fueron obtenidos por Joky et al²⁰ and Jeong et al¹³; hubo un aumento en el número de hemocitos de *B. glabrata* seguido inmediatamente a la exposición a un número menor de miracidios, reducción que fue seguida de un pico en la producción celular en los 3° y 4° días y una disminución acentuada en el número de hemocitos en los 6° y 7° días. Martins-Souza et al²¹ caracterizaron los hemocitos vivos presentes luego de la infección por esquistosoma por medio de análisis citométrico e identificaron el pico en la producción de hemocitos 24 h post-infección.

Esos datos dan base a los resultados en lo referente al aumento en el conteo de hemocitos durante las primeras horas luego de la penetración de miracidios y a la posterior disminución en los números de hemocitos circulantes^{22,23,24}.

Este estudio también demostró que, luego de la exposición al *S. mansoni*, el nivel de hemocitos en la hemolinfa se mantuvo más alto que en el grupo control y por más tiempo que el relatado en investigaciones anteriores²⁵. Este hallazgo corrobora la potencial existencia de un efecto duradero sobre los hemocitos, que probablemente consiste en factores humorales, luego de la reacción del caracol a los organismos invasores.

Este estudio también demostró que el número de miracidios infecciosos es un factor determinante para la magnitud de la respuesta celular a la infección por esquistosoma. Por ejemplo, el número de hemocitos producidos en las primeras 24 h post-infección fue bastante mayor en moluscos infectados con 10, 15 o 30 miracidios que en los infectados con 5 de esas larvas.

En relación a la dinámica de la respuesta celular hemocítica de los moluscos a los miracidios invasores, estudios anteriores^{9,10} registraron la interacción o

adhesión de los hemocitos a la superficie del parásito 3 h después de la penetración de las larvas. Siete horas y media después de este contacto, los hemocitos fagocitaron las microvellosidades en la superficie del parásito. Veinticuatro horas después, se observó una gran actividad hemocítica, procesos de encapsulación y la formación de grandes fagosomas. Cuarenta y ocho horas más tarde, fueron encontradas cápsulas con muchos hemocitos conteniendo un gran número de fagosomas. Al cuarto día, sin embargo, esas cápsulas aparecían en número bastante menor.

Los resultados obtenidos por Cheng y Garrabrant¹² luego del estudio de dos diferentes cepas de *B. glabrata* (PR-albino y 10-R2) infectadas por *S. mansoni* demostraron que los niveles de fosfatasa ácida en la hemolinfa aumentaron ocho veces después de 24 h de infección por la cepa 10-R2, en comparación con el grupo control no infectado. Sin embargo, hubo apenas un aumento discreto de esos niveles durante el mismo período para el grupo infectado por la cepa PR-albino. En relación al número de hemocitos, los resultados fueron completamente inversos. La cepa PR-albino indujo un pico en la producción de hemocitos durante las primeras 12 h de infección, lo que fue seguido de una acentuada reducción en la cantidad de hemocitos circulantes, mientras que la cepa 10-R2 no alteró de forma significativa el conteo de hemocitos durante el proceso infeccioso, lo que indicó que la fosfatasa ácida puede tener un papel importante en la regulación de la producción de hemocitos luego de la exposición al parásito.

CONCLUSIÓN

La dinámica del proceso de fagocitosis, que fue observada hasta el cuarto día post-infección, sugiere que la movilización de esas células defensivas solamente es eficiente durante la primera fase del proceso infeccioso después que un gran número de parásitos hubiera penetrado en el caracol. Además, esa movilización no garantiza la eliminación de las larvas en el curso de la infección. La reacción de defensa del molusco contra las larvas del parásito podría ser más eficaz si no fuera regulada apenas por un proceso celular, sino también por mecanismos bioquímicos que estimularían directamente a los órganos hematopoiéticos a producir más hemocitos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Rosângela Barros do Nascimento, Carlos da Silva Faria y Bruno Silva de Lima, por el apoyo técnico durante toda la investigación, y a Kauê Machado Costa, por la revisión crítica y sus valiosas sugerencias.

APOYO FINANCIERO

Instituto Evandro Chagas / Fundação Nacional de Saúde.

Produção de hemócitos de caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata* após a exposição a diferentes protocolos de infecção por *Schistosoma mansoni*

RESUMO

O objetivo deste artigo foi determinar o perfil do sistema de defesa celular durante a infecção mansônica. Especificamente, este estudo avaliou o número de hemócitos produzidos e liberados na hemolinfa em resposta à infecção pelo parasita. A quantificação dos hemócitos de *Biomphalaria glabrata* foi realizada em grupos de caramujos previamente infectados com 5, 10, 15 ou 30 miracídeos de *Schistosoma mansoni* nos dias 1, 5, 10, 15, 20 e 30 pós-infecção. Os resultados revelaram que *B. glabrata* possui um mecanismo de defesa celular caracterizado pela liberação de hemócitos na hemolinfa. O maior registro de produção celular ocorreu 24 h após a infecção e houve uma redução significativa na concentração de hemócitos durante os 10 dias seguintes. No entanto, no dia 15 pós-infecção, houve um segundo aumento na produção de hemócitos, porém não tão acentuado como o primeiro pico. No dia 30 pós-infecção, foi observado outro aumento moderado da produção de hemócitos nas células. Com base neste perfil de resposta celular, o sistema de defesa do caramujo aparenta ser eficiente nos momentos imediatamente posteriores à infecção, mas essa resposta não assegura a destruição de todos os parasitas no curso da infecção.

Palavras-chave: *Biomphalaria*; *Schistosoma mansoni*; hemócitos.

Hemocyte production in *Biomphalaria glabrata* snails after exposure to different *Schistosoma mansoni* infection protocols

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the profile of the cellular defense system during mansonic infection. Specifically, this study assessed the number of hemocytes that were produced and released into the hemolymph in response to the parasitic infection. The quantification of the *Biomphalaria glabrata* hemocytes was performed on groups of snails at 1, 5, 10, 15, 20 and 30 days post-infection that had been individually infected with 5, 10, 15 or 30 *Schistosoma mansoni* miracidia. The results revealed that *B. glabrata* possesses a cellular defense mechanism that is characterized by the release of hemocytes into the hemolymph. The maximum peak of cellular production occurred 24 hours after infection, and there was a significant reduction in the hemocyte concentration over the following 10 days. However, at 15 days post-infection, there was a second increase in the cellular hemocyte production, although this was not as strong as the primary peak. At 30 days post-infection, there was another moderate rise in the cellular hemocyte production. Based on this cellular response profile, the defense system of the snail appears to be effective immediately following infection, but the response does not ensure the destruction of all parasites during the course of the infection.

Keywords: *Biomphalaria*; *Schistosoma mansoni*; hemocytes.



REFERENCIAS

- 1 Newton W. The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol.* 1952 Aug;38(4 Sec. A. 1):362-6.
- 2 Barbosa F, Coelho M, Dobbin J. Qualidade de vetor dos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no Nordeste do Brasil. II. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *Australorbis glabratus*. *Publ Av Inst Aggeu Magalhães.* 1954;7:79-92.
- 3 Lie J, Heyneman D, Jeong K. Studies on resistance in snails. 4. Induction of ventricular capsules and changes in the amebocyte-producing organ during sensitization of *Biomphalaria glabrata* snails. *J Parasitol.* 1976 Apr;62(2):286-91.
- 4 Negrão-Corrêa D, Pereira C, Rosa F, Martins R, Martins-Souza RL, Andrade ZA, et al. Molluscan response to parasite: *Biomphalaria* and *Schistosoma mansoni* interaction. *ISJ.* 2007;4:101-11.
- 5 Granath Jr WO, Yoshino TP. Lysosomal enzyme activities in susceptible and refractory strains of *Biomphalaria glabrata* during the course of infection with *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol.* 1983 Dec;69(6):1018-26.
- 6 Cheng TC, Auld KR. Hemocytes of the pulmonate gastropod *Biomphalaria glabrata*. *J Invertebr Pathol.* 1977 Jul;30(1):119-22.
- 7 Connors VA, Buron I, Granath Jr WO. *Schistosoma mansoni*: interleukin-1 increases phagocytosis and superoxide production by hemocytes and decreases output of cercariae in schistosome-susceptible *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol.* 1995 Feb;80:139-48.
- 8 Souza S, Andrade Z. On the origin of the *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006 Sep;101 Suppl 1:S213-8.
- 9 Loker ES, Bayne CJ, Buckley PM, Kruse KT. Ultrastructure of encapsulation of *Schistosoma mansoni* mother sporocysts by hemocytes of juveniles of the 10-R2 strain of *Biomphalaria glabrata*. *J Parasitol.* 1982 Feb;68(1):84-94.
- 10 Van der Knaap WP, Loker E. Immune mechanisms in trematod-snail interactions. *Parasitol Today.* 1990 Jun;6(6):175-82.
- 11 Basch PF. Intermediate host specificity in *Schistosoma mansoni*. *Exp Parasitol.* 1976 Feb;39(1):150-69.

- 12 Cheng T, Garrabrant T. Acid phosphatase in granulocytic capsules formed in strains of *Biomphalaria glabrata* totally and partially resistant to *Schistosoma mansoni*. Int J Parasitol. 1977 Dec;7(6):467-72.
- 13 Jeong KH, Lie KJ, Heyneman D. Leucocytosis in *Biomphalaria glabrata* sensitized and resensitized to *Echinostoma lindoense*. J Invertebr Pathol. 1980 Jan;35(1):9-13.
- 14 Matricón-Gondran M, Letocart M. Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata* II. Defense cells have different phagocytic responses to various injected foreign materials. J Invertebr Pathol. 1999 Nov;74(3):235-47.
- 15 Loker ES, Bayne CJ, Yui MA. *Echinostoma paraensei*: hemocytes of *Biomphalaria glabrata* as targets of echinostome mediated interference with host snail resistance to *Schistosoma mansoni*. Exp Parasitol. 1986 Aug;62(1):149-54.
- 16 Barracco MA, Steil AA, Gargioni R. Morphological characterization of the hemocytes of the pulmonate snail *Biomphalaria tenagophila*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1993 Jan-Mar;88(1):73-83.
- 17 Bayne CJ, Buckley PM, DeWan PC. *Schistosoma mansoni*: cytotoxicity of hemocytes from susceptible snail hosts for sporocysts in plasma from resistant *Biomphalaria glabrata*. Exp Parasitol. 1980 Dec;50(3):409-16.
- 18 Bayne CJ, Loker ES, Yui MA, Stephens J. Immune-recognition of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts may require specific receptors on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. Parasite Immunol. 1984 Dec;6(6):519-28.
- 19 Stumpf JL, Gilbertson DE. Hemocytes of *Biomphalaria glabrata*: factors affecting variability. J Invertebr Pathol. 1978 Sep;32(2):177-81.
- 20 Joky A, Matricón-Gondran M, Benex J. Response to the amoebocyte-producing organ of sensitized *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Echinostoma caproni* miracidia. J Invertebr Pathol. 1985 Jan;45(1):28-33.
- 21 Martins-Souza RL, Pereira CA, Coelho PM, Martins-Filho O, Negrão-Corrêa D. Flow cytometry analysis of the circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* following *Schistosoma mansoni* infection. Parasitology. 2009 Jan;136(1):67-76.
- 22 Matricón-Gondran M. The site of ultrafiltration in the kidney sac of the pulmonate gastropod *Biomphalaria glabrata*. Tissue & cell. 1990;22:911-23.
- 23 Bayne CJ, Hahn UK, Bender RC. Mechanisms of molluscan host resistance and of parasite strategies for survival. Parasitology. 2001;123 Suppl:S159-67.
- 24 Martins-Souza RL, Pereira CA, Coelho PM, Negrão-Corrêa D. Silica treatment increases the susceptibility of the Cabo Frio strain of *Biomphalaria tenagophila* to *Schistosoma mansoni* infection but does not alter the natural resistance of the Taim strain. Parasitol Res. 2003 Dec;91(6):500-7.
- 25 Oliveira AL, Silva D, Manzano BC, Abdel-Hamid AZ, Marcelino MY, Zanotti-Magalhães EM, et al. Genetic differences between strains of *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae) that are susceptible and unsusceptible to schistosomiasis. Genet Mol Res. 2010 Jul;9(3):1450-9.

Recibido en / Recebido em / Received: 27/5/2011
Aceito en / Aceito em / Accepted: 1/9/2011