



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VICTOR HUGO BARBOSA DOS SANTOS

**EFEITOS DO PROBIÓTICO *Bacillus cereus* GM NA ESQUISTOSSOMOSE
MANSONI EXPERIMENTAL**

RECIFE
2024

VICTOR HUGO BARBOSA DOS SANTOS

**EFEITOS DO PROBIÓTICO *Bacillus cereus* GM NA ESQUISTOSSOMOSE
MANSONI EXPERIMENTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientadora: Prof^a. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes

RECIFE

2024

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Kyria Macedo, CRB4:1693

S237e	Santos, Victor Hugo Barbosa dos Efeitos do probiótico <i>Bacillus cereus</i> GM na esquistossomose mansonii experimental / Victor Hugo Barbosa dos Santos. – 2024. 89 f. : il., tab. Orientadora: Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2024. Inclui referências, apêndice e anexo. 1. Probióticos. 2. <i>Bacillus cereus</i>. 3. Esquistossomose mansonii. 4. <i>Schistosoma mansonii</i>. 5. Imunomodulação. I. Albuquerque, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo (orientadora). II. Título. 617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2024 - 104)
-------	--

VICTOR HUGO BARBOSA DOS SANTOS

**EFEITOS DO PROBIÓTICO *Bacillus cereus* GM NA ESQUISTOSSOMOSE
MANSONI EXPERIMENTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito parcial para
obtenção do título de doutor em Ciências
Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e
Medicamentos

Aprovada em: 28/02/2024

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Mônica Pessoa de Azevedo Albuquerque (Orientadora-Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva (Membro interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof Dra. Maria Bernadete Sousa Maia (Membro interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo (Membro externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Mario Ribeiro de Melo-Junior (Membro externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois Ele tem sido, e continua sendo, a fonte de toda força, resiliência e fé durante essa trajetória. Ter o meu projeto paralisado durante o período da Pandemia da Covid-19 não foi uma etapa fácil.

Do início ao fim do doutorado tive a contribuição de inúmeras pessoas, as quais serei eternamente grato e citá-las aqui é o mínimo que posso fazer.

Ao meu grupo de pesquisa do Laboratório de Imunologia e Esquistossomose Experimental do Instituto Keizo Asami (iLIKA): Renan Fernandes, Hallysson Douglas, prof. Dr. André Aires, Lucas Nascimento, Lucas Andrade, Wilza França, Paulo Valença, Clênio Cruz, João Ritinto, Raul Penaforte e Maria Conceição.

Ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos: Marina Rocha, Wilma Vieira e a minha coorientadora profa. Dra. Eulália Ximenes.

À profa. Dra. Vláudia Costa do departamento de Medicina Tropical-UFPE e a profa. Dra. Virgínia Lorena pesquisadora em Saúde Pública no Instituto Aggeu Magalhães (IAM/Fiocruz).

À minha amiga Dra. Leydianne Patriota do departamento de Bioquímica da UFPE que cedeu parte do seu tempo para me auxiliar na reta final.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-PPGCF/UFPE.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pelo suporte financeiro.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição nos ajustes deste trabalho.

À minha família.

Por fim, e não menos importante, a pessoa responsável por toda a minha trajetória acadêmica (iniciação científica, PET-Parasitologia (Programa de Educação Tutorial), projetos de extensão, mestrado e doutorado), a minha orientadora profa. Dra. Mônica Albuquerque. Foram 10 anos de parceria e tenha a minha eterna gratidão por acreditar na minha capacidade de crescer na execução dos trabalhos propostos.

RESUMO

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a esquistossomose é uma doença parasitária e endêmica registrada em 78 países tropicais e subtropicais. Além disso, a quimioterapia preventiva é recomendada em 54 países com registros de transmissão moderada e alta. O Praziquantel (PZQ), um derivado pirazinoisoquinolona, é o único fármaco disponível para o tratamento da esquistossomose. O PZQ apresenta limitações como eficácia apenas frente a fase adulta do verme e não prevenir a reinfecção. Os probióticos são indicados para ajudar a regular a microbiota intestinal contribuindo para a integridade da mucosa e prevenindo a disbiose causada por patógenos oportunistas, como protozoários e helmintos intestinais. Além disso, vários estudos demonstraram que os probióticos podem atuar fora do sítio intestinal através de seus metabólitos ou modulação de receptores de células de defesa. *Bacillus cereus* GM (Geyer Medicamentos) obtido da Biovicerin® foi cultivado para obtenção de esporos com objetivo de avaliar, *in vivo*, o seu efeito esquistossomicida, histopatológico, imunomodulador e hepatoprotetor sobre esquistossomose experimental. O ensaio foi realizado durante um período de 90 dias. Camundongos fêmeas Swiss Webster foram infectados com 50 cercárias de *Schistosoma mansoni* (BH) no 15º dia do ensaio experimental. Foram formados três grupos experimentais (n=10 animais cada): G1- solução salina do 1º ao 90º dia; G2- *B. cereus* GM (10^5 esporos em 300 µL) do 1º ao 90º dia; G3- solução salina do 1º ao 49º dia e *B. cereus* GM do 50º ao 90º dia (período de oviposição). Nos resultados, o G2 apresentou redução significativa de 43,36% do total de vermes; 48,82% de vermes fêmeas e 42,5% dos ovos no tecido hepático. No G3, a redução foi de 25,18%, 29,13% e 44% do número total de vermes, vermes fêmeas e ovos no tecido hepático, respectivamente. Não houve diferença significativa no padrão de oviposição analisado pelo oograma. Os marcadores hepáticos ALT (Alanina Aminotransferase), AST (Aspartato Aminotransferase), FAL (Fosfatase Alcalina) e Gama-GT (Gama-Glutamiltransferase) aumentaram significativamente nos grupos infectados quando comparados ao grupo não infectado. Comparados ao grupo infectado e não tratado G1, G2 e G3 apresentaram redução de 25% ($p < 0,001$) e 22% ($p < 0,001$) nos níveis da AST, respectivamente, mas os níveis da ALT não mudaram. Os níveis da FAL foram reduzidos em 23% ($p < 0,001$) no grupo G2, mas não no G3. Os níveis de Gama-GT foram reduzidos nos grupos G2 e G3, mas não significativamente. O volume médio dos granulomas foi reduzido em ($p < 0,0001$) 65,2% e 46,26% no tecido hepático e 82,98% e 53,2% no intestino, respectivamente, nos grupos G2 e G3. As citocinas de perfil Th1 (IFN- γ , TNF- α , IL-6) e IL-17 aumentaram significativamente ($p < 0,001$) no sobrenadante de células esplênicas estimuladas com *B. cereus* GM, nos grupos G2 e G3. A IL-4 apresentou valores significativos quando o estímulo foi mediado pela ConA (Concanavalina A) e os esporos de *B. cereus* GM. Ao modular a resposta imune, *Bacillus cereus* GM reduziu a carga de vermes, melhorou a função hepática e reduziu a reação inflamatória granulomatosa em camundongos infectados com *S. mansoni*, especialmente quando administrado antes da infecção.

Palavras-chave: probiótico; *Bacillus cereus*; esquistossomose; *Schistosoma mansoni*; imunomodulação.

ABSTRACT

In accordance to the World Health Organization, schistosomiasis is a parasitic and endemic disease registered in 78 tropical and subtropical countries. Furthermore, preventive chemotherapy is recommended in 54 countries with records of moderate and high transmission. Praziquantel (PZQ), a pyrazinoisoquinolone derivative, is the only drug available for the treatment of schistosomiasis. PZQ has limitations such as its effectiveness only against the adult stage of the worm and it does not prevent reinfection. Probiotics are indicated to help regulate the intestinal microbiota contributing to the integrity of the mucosa and preventing dysbiosis caused by opportunistic pathogens, such as intestinal protozoa and intestinal helminths. Moreover, several studies have demonstrated that probiotics can act outside the intestinal site through their metabolites or modulation of defense cell receptors. *Bacillus cereus* GM (Geyer Medicamentos) obtained from Biovicerin® was cultivated to obtain spores for *in vivo* evaluation of its schistosomicidal, histopathological, immunomodulatory and hepatoprotective effect on experimental schistosomiasis. This study was carried out over a period of 90 days. Female Swiss Webster mice were infected with 50 *Schistosoma mansoni* (BH) cercariae on the 15th day of the experimental ensay. Three experimental groups were formed: G1- saline solution from the 1st to the 90th day; G2-*B. cereus* GM (10^5 spores in 300 μ L) from the 1st to the 90th day; G3- saline solution from the 1st to the 49th day and *B. cereus* GM from the 50th to the 90th day (oviposition period). In the results, G2 showed a significant reduction of 43.36% of the total number of worms; 48.82% of female worms and 42.5% of eggs in liver tissue. In G3, the reduction was 25.18%, 29.13% and 44% of the total number of worms, female worms and eggs in liver tissue, respectively. There was no significant difference in the oviposition pattern analyzed by oograma. The liver markers ALT (Alanine Aminotransferase), AST (Aspartate Aminotransferase), FAL (Alkaline Phosphatase) and Gamma-GT (Gamma-Glutamyltransferease) increased significantly in the infected groups when compared to the uninfected group. Compared to the infected and untreated group G1, G2 and G3 showed a 25% ($p<0.001$) and 22% ($p<0.001$) reduction in AST levels, respectively, but ALT levels did not change. FAL levels were reduced by 23% ($p<0.001$) in the G2 group, but not in G3. Gamma-GT levels were reduced in groups G2 and G3, but not significantly. The average volume of granulomas was reduced by ($p<0.0001$) 65.2% and 46.26% in the liver tissue and 82.98% and 53.2% in the intestine, respectively, in groups G2 and G3. Th1 profile cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-6) and IL-17 increased significantly ($p<0.001$) in the supernatant of splenic cells stimulated with *B. cereus* GM, in groups G2 and G3. IL-4 showed significant values when the stimulus was mediated by ConA and *B. cereus* GM spores. By modulating the immune response, *Bacillus cereus* GM reduced worm burden, improved the liver function and reduced the granulomatous inflammatory reaction in mice infected with *S. mansoni*, especially when administered before infection.

Keywords: probiotic; *Bacillus cereus*; schistosomiasis; *Schistosoma mansoni*; immunomodulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição mundial da Esquistossomose	17
Figura 2 -	Distribuição da esquistossomose na área endêmica, por faixa de positividade, Brasil 2009-2020.....	19
Figura 3 -	Distribuição dos municípios prioritários em Pernambuco para a esquistossomose por Região de Saúde	20
Figura 4 -	Mapa da distribuição dos caramujos <i>Biomphalaria glabrata</i>	21
Figura 5 -	Mapa da distribuição dos caramujos <i>Biomphalaria straminea</i> ...	22
Figura 6 -	Mapa da distribuição dos caramujos <i>Biomphalaria tenagophila</i> .	22
Figura 7 -	Microscopia do ovo de <i>Schistosoma mansoni</i>	24
Figura 8 -	Estrutura esquemática do miracídio de <i>Schistosoma mansoni</i> .	24
Figura 9 -	Microscopia do miracídio de <i>Schistosoma mansoni</i>	25
Figura 10 -	Corte histológico do tecido B. glabrata com a presença de esporocistos de <i>Schistosoma mansoni</i>	25
Figura 11 -	Microscopia da cercária de <i>Schistosoma mansoni</i>	26
Figura 12 -	Esquistossômulos de 3 horas de <i>Schistosoma mansoni</i>	27
Figura 13 -	Verme adulto macho de <i>Schistosoma mansoni</i>	27
Figura 14 -	Verme adulto fêmea de <i>Schistosoma mansoni</i>	28
Figura 15 -	Ciclo biológico de <i>Schistosoma mansoni</i>	29
Figura 16 -	Componentes presentes na composição do ovo de <i>Schistosoma mansoni</i>	32
Figura 17 -	Composição celular do granuloma hepático e intestinal na fase aguda e crônica	33
Figura 18 -	Estrutura química do PZQ	36
Figura 19 -	Diferentes vias estimuladas pela ação de bactérias comensais..	39
Figura 20 -	Apresentação de antígenos na mucosa intestinal e indução da produção de IgA	42
Figura 21 -	Forma vegetativa de <i>Bacillus cereus</i> cepa GM corada pelo método de Gram.....	48
Figura 22 -	Colônias de <i>Bacillus cereus</i> cepa GM em meio seletivo	49
Figura 23 -	Colônias de <i>Bacillus cereus</i> cepa GM em meio Ágar Mueller-Hinton.....	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características das espécies de Schistosoma e sua distribuição geográfica.....	18
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação terapêutica de probióticos frente às infecções por parasitas intestinais.....	43
Tabela 2 - Exemplos de <i>Bacillus</i> spp. e respectivas cepas identificadas como probióticos	45
Tabela 3 - Relação de probióticos comercializado para consumo humano ...	46

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ALT- Ácido Lipotecoico
ALT- Alanina Aminotransferase
APC- Células Apresentadora de Antígeno
AST- Aspartato Aminotransferase
BAL - Bactérias Ácido Lático
Ca⁺⁺ - Íon Cálcio
CCL- CC chemokine ligand
GALT- Tecido Linfoide Associado ao Intestino
GM® -Geyer Medicamentos
HSP 25 e 75- Proteínas de Choque Térmico
IFN-γ- Interferon Gama
IGA- Imunoglobulina A
IL- Interleucina
LPS- Lipopolissacarideos
MIP-1α – Proteína Inflamatória de Macrófago – 1 alfa
MUC 2 e 3 – Mucina
NF-kβ – Fator Nuclear Kappa-β
NK- Natural Killer
NO- Óxido Nítrico
OMS- Organização Mundial da Saúde
PAMP- Padrões Moleculares Associados ao Patógeno
PI3K/Akt- Phosphoinositide-3-kinase–protein kinase/Akt
PPR- Receptores de Reconhecimento de Padrões
PZQ- Praziquantel
RDC- Resolução da Diretoria Colegiada
SEA- Antígeno Solúvel do Ovo
Sm16- Proteína imunomoduladora de *Schistosoma mansoni*
Smkk7- Proteína imunomoduladora de *Schistosoma mansoni*
TCD4+- Célula T CD4+
TGF-β - Transforming growth factor beta
TH1- Célula T helper1
TH17- Célula T helper 17

TH2- Célula T helper 2

TLR- Toll-Like Receptor

TNF- Fator de Necrose Tumoral

Treg- Célula T Regulatória

UFC- Unidade Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE.....	16
2.2	ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL.....	18
2.3	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE <i>Schistosoma mansoni</i>	21
2.4	<i>Schistosoma mansoni</i>	23
2.4.1	Aspectos morfológicos das diferentes fases evolutivas.....	23
2.4.2	Ciclo biológico.....	28
2.4.3	Imunopatologia.....	30
2.4.4	Tratamento.....	35
2.5	PROBIÓTICOS.....	36
2.5.1	Definição e histórico.....	36
2.5.2	Regulação e aplicação de probiótico.....	37
2.5.3	Mecanismo de ação.....	38
2.5.4	Probióticos versus parasitos intestinais.....	43
2.5.5	O gênero <i>Bacillus</i> aplicado como probiótico.....	44
2.5.6	<i>Bacillus cereus</i>	48
3	OBJETIVOS.....	51
3.1	OBJETIVO GERAL.....	51
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	51
4	METODOLOGIA.....	52
4.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	52
4.2	OBTENÇÃO DE <i>Bacillus cereus</i> (GM).....	52
4.3	AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA.....	53
4.4	DOSAGEM BIOQUÍMICA DOS MARCADORES DE FUNÇÃO HEPÁTICA...54	
4.5	DOSAGEM DE CITOCINAS EM CULTURA DE CÉLULAS ESPLÊNICAS...54	
4.6	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS E INTESTINAL.....	55
5	RESULTADOS.....	56

6	CONCLUSÃO.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	APÊNDICE A- EFFECTS OF THE PROBIOTIC <i>BACILLUS CEREUS</i> GM ON EXPERIMENTAL SCHISTOSOMIASIS MANSONI.....	76
	ANEXO A- APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL.....	89

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária e endêmica de países subtropicais e tropicais com repercussão aguda e crônica causada pelo trematódeo do gênero *Schistosoma*. Segundo a Organização Mundial de Saúde, 78 países possuem registros para doença e estima-se que 251,4 milhões de pessoas necessitaram de quimioterapia preventiva em 2021 (WHO, 2023). As espécies prevalentes de interesse médico são classificadas em cinco: *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma intercalatum* e *Schistosoma japonicum*, sendo *Schistosoma mansoni* o mais prevalente nos continentes da África e nas Américas Central e do Sul (DEJON-AGOBÉ et al., 2022).

Na América do Sul e Central, há apenas a prevalência de *Schistosoma mansoni*, onde o Brasil é o país com o maior número de casos. Dos 26 estados federativos, 19 são considerados endêmicos, em especial os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe e Minas Gerais (MARTINS-MELO et al., 2016). Em 2015, Pernambuco foi o estado com o maior número de internações e óbitos segundo dados do Ministério da Saúde. Com destaque para as regiões do litoral, Zona da Mata e parte do Agreste (BRASIL, 2021).

As espécies de *Schistosoma* spp. parasitam os vasos sanguíneos, em específico, os vasos que compõem o sistema porta-hepático, com exceção da espécie *Schistosoma haematobium*, que habita nos vasos do sistema urinário. Quando acasalados, os vermes, em sua maioria, migram para os vasos mesentéricos inferiores, onde iniciam a oviposição (WILSON, 2009). Além da infecção clássica (Hepatointestinal), formas ectópicas da infecção podem ocorrer, como a localização dos vermes adultos nos testículos e ovários (HASSAN et al., 2011; ELIAS et al., 2023), e sistema nervoso central (DOMINGUES et al., 2020).

Os ovos retidos são os responsáveis pelo grau da morbidade, pois são altamente antigênicos, tanto em sua constituição, como na secreção de metabólitos, pela fase larval em seu interior, denominado SEA, sigla em inglês (Antígeno Solúvel do Ovo). Os antígenos, quando reconhecidos pelas células do sistema imunológico, iniciam uma resposta granulomatosa com o recrutamento das células para destruir a fonte antigênica, o qual resulta num envoltório celular conhecido como granuloma. O gatilho para destruir o ovo conduz a uma lesão tecidual, o qual é restaurado por

colágeno e consequente fibrose comprometendo a fisiologia tecidual (EVERTS et al., 2009).

O tratamento para esquistossomose é por meio do quimioterápico Praziquantel (PZQ), um derivado pirazinoisoquinolona disponível desde da década de 80, para uso em humano. Apesar da sua eficácia, o PZQ apresenta limitações como: ação esquistossomicida apenas nas fases adultas, o que não impede a reação granulomatosa; não reduz a formação da fibrose; e não previne quadros de reinfecção. Além do mais, o seu uso repetido em massa tem provocado o surgimento de cepas resistentes em áreas altamente endêmicas. Diante desses fatores, a Organização Mundial da Saúde tem incentivado a comunidade científica na busca por novas medidas terapêuticas (SILVA et al., 2017).

Os probióticos são definidos como “Microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício ao hospedeiro” (HILL et al., 2014). As bactérias ácido láctico (*Lactobacillus* e *Bifidobacterium*) são majoritárias na composição da classe probiótica, sendo inseridas no dia a dia por meio da suplementação de alimentos lácteos (MARKOWIAKI e SLIZEWSKA, 2017).

O gênero *Bacillus*, como fonte probiótica, tem chamado atenção das indústrias alimentares, devido as suas características intrínsecas: formação de esporos, resistência térmica, resistência ao pH estomacal e colonização aceitável (LIAO et al., 2024). Na literatura, já dispõe de várias cepas de *Bacillus cereus* isoladas e identificadas como seguras e eficaz para o uso como probióticos (BREVES et al., 2001, MIETKE et al., 2010, LIAO et al., 2024). As cepas de *B. cereus* já são comercializadas na forma de cápsulas, suspensão, liofilizadas e encapsuladas como fonte de suplementação alimentar (SOARES et al., 2017).

Nesse sentido, associando as propriedades terapêuticas atribuídas aos probióticos, propô-se avaliar, pela primeira vez, a administração do probiótico *Bacillus cereus* GM comercializado no Brasil, como Biovicerin®, no quadro agudo da esquistossomose mansoni.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose é uma doença parasitária negligenciada em países de clima tropical e subtropical dos continentes da África, América Latina e da Ásia (Figura 1). Segundo a Organização Mundial da Saúde, é relatada em 78 países, entretanto, a quimioterapia preventiva é recomendada em 51 países com registros de transmissão moderada e alta (WHO, 2023). Estima-se que, aproximadamente, cerca de 240 milhões de pessoas estejam infectadas e mais de 700 milhões habitam em áreas de alto risco. Deste total, mais de 90% residem na África Subsaariana requerendo uma intervenção emergencial para o controle da morbidade e mortalidade da esquistossomose (MISHRA et al., 2019; SACOLO-GWEBU et al., 2019).

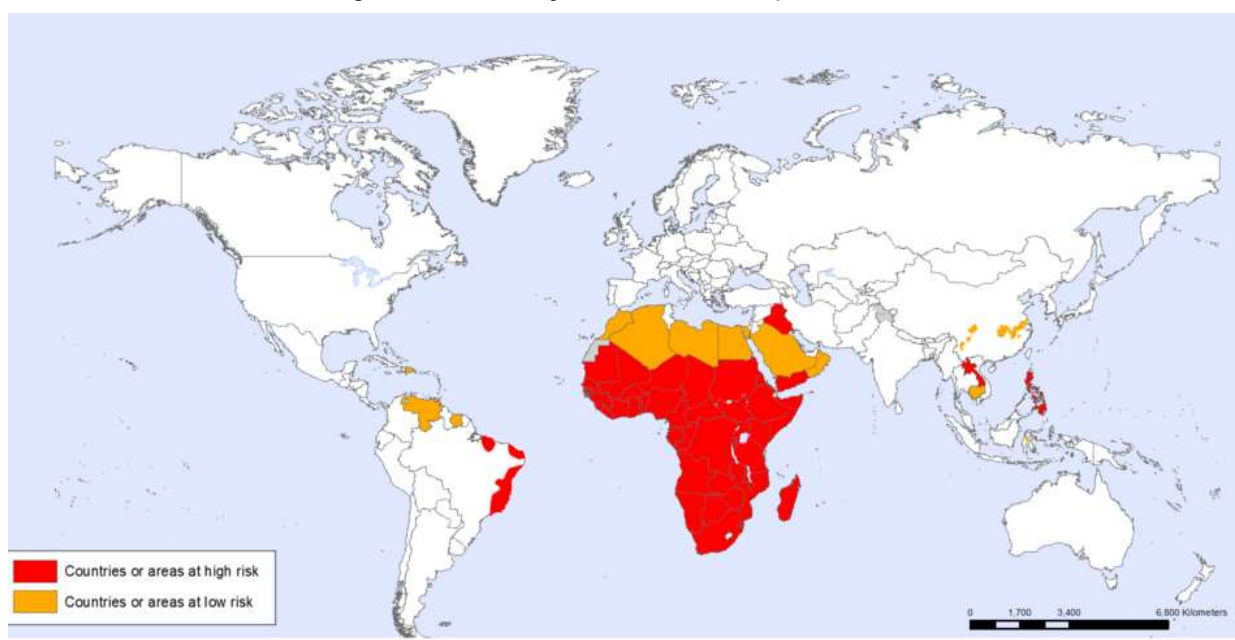
O trematódeo do gênero *Schistosoma* é o agente causador da esquistossomose, o qual é classificado em cinco espécies de importância em saúde pública: *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma intercalatum* e *Schistosoma mekongi* responsáveis pela forma intestinal e *Schistosoma haematobium* pela forma urogenital (COLLEY et al., 2014). A prevalência da esquistossomose está interligada às condições socioeconômicas de cada comunidade. A falta de saneamento básico, acesso à água potável, educação, o trabalho informal, hospedeiro intermediário e a deficiência do monitoramento epidemiológico são alguns dos fatores que contribuem para a persistência da doença (TCHUENTÉ et al., 2017).

Grande parte dos países da África Subsaariana representam um grande desafio para o controle da esquistossomose, pois apresentam altos índices de infecção para as espécies de *Schistosoma mansoni* e *Schistosoma haematobium* (WHO, 2023). Em 2018, 95,3 milhões de pessoas receberam tratamento preventivo, dos quais 76,2 milhões eram crianças em idade escolar (WHO, 2019).

O continente asiático é endêmico para as espécies de *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma mekongi*, onde os países mais afetados são a China, Indonésia, Filipinas e Malásia (SOE et al., 2017). O Japão é o único país livre da transmissão, em que as medidas preventivas executadas em conjunto (Sociedade-Governo) obtiveram sucesso (ROLLINSON et al., 2013). Um dos grandes problemas para o

controle da esquistossomose nos países asiáticos são a susceptibilidade de outros mamíferos, como búfalos e cachorros, à infecção pelo *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma mekongi*. Tornando-se grandes reservatórios para o contínuo ciclo do parasito (GORDON et al., 2019). A China, tem sido o único país em adotar medidas quimioterápicas aos animais e substituí-los por recursos mecânicos na agricultura. Os últimos resultados avaliados em 2009, de uma região rural da China, mostraram uma redução de 7% para 3% na prevalência da esquistossomose em humanos, enquanto que os hospedeiros intermediários estavam livres da infecção (ZHOU et al., 2011).

Figura 1 - Distribuição mundial da Esquistossomose



Fonte: WHO (2015).

Na América Latina e Caribe, a única espécie prevalente é *Schistosoma mansoni* devido à presença única do seu hospedeiro intermediário. Nessas regiões, dez países e territórios são considerados endêmicos para a esquistossomose, dos quais o Brasil e a Venezuela apresentam os maiores índices de infecção e tratamento preventivo (ZONI et al., 2016). Nas ilhas caribenhas Santa Lúcia e Suriname ainda são relatadas por apresentarem focos de transmissão, enquanto as demais áreas como Porto Rico, República Dominicana, Antígua, Montserrat e Martinica já são consideradas livres da esquistossomose (HEWITT e WILLINGHAM, 2019). No entanto, mais estudos baseados nas normas e recomendações da OMS necessitam ser avaliados para oficializar os países e territórios do Caribe como livres da

esquistossomose (PAHO/WHO, 2014). As informações resumidas da distribuição mundial das espécies de *Schistosoma* spp. e seus hospedeiros intermediários encontram-se no quadro 1.

Quadro 1 - Características das espécies de *Schistosoma* e sua distribuição geográfica

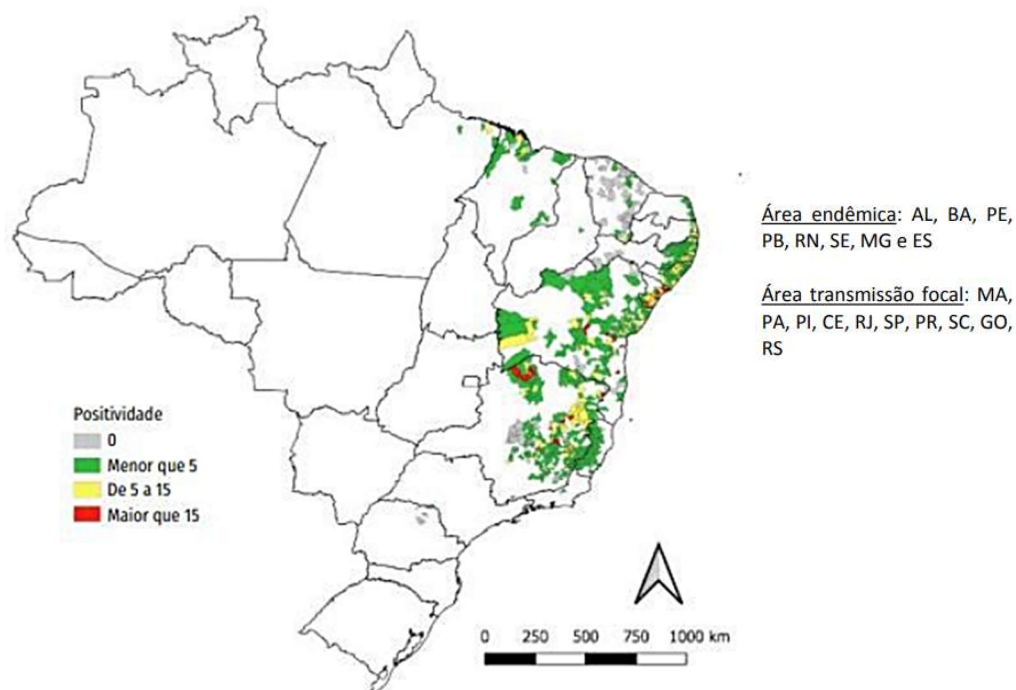
Espécie	Morfologia do ovo	Habitat do verme adulto	Hospedeiro intermediário	Distribuição geográfica
<i>Schistosoma mansoni</i>	Ovo com espículo lateral	Intestinal	<i>Biomphalaria glabrata</i> , <i>B. straminea</i> e <i>B. tenagophila</i>	África, Oriente Médio, Caribe, Brasil, Venezuela e Suriname
<i>Schistosoma japonicum</i>	Ovoide com espículo lateral	Intestinal	<i>Oncomelania</i> spp.	China, Indonésia, Filipinas
<i>Schistosoma mekongi</i>	Ovoide com rudimento de espículo lateral	Intestinal	<i>Neotricula aperta</i>	Diversos distritos do Camboja e da República Democrática popular do Laos
<i>Schistosoma intercalatum</i>	Ovo elipsoide com esporão terminal	Intestinal	<i>Bulinus</i> spp.	Florestas Tropicais da África Central
<i>Schistosoma haematobium</i>	Ovo elipsoide com espículo terminal	Urogenital	<i>Bulinus</i> spp.	África, Oriente Médio, Córsega (França).

Fonte: Santos (2018).

2.2 ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL

O Brasil é o país com o maior número de casos para esquistossomose na América Latina (HOTEZ e FUJIWARA, 2014; MARTINS-MELO et al., 2016). Dos 26 estados federativos, 19 são considerados potenciais na transmissão da doença, com destaque para os estados do nordeste (Alagoas, Bahia, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Sergipe) e sudeste (Minas Gerais e Espírito Santos) considerados endêmicos (Figura 2) (SOUZA et al., 2023).

Figura 2 - Distribuição da esquistossomose na área endêmica, por faixa de positividade, Brasil 2009-2020



Fonte: Souza et al. (2023).

Os altos índices de casos prevalentes nas regiões nordeste e sudeste do Brasil está estritamente ligada aos fatos históricos do desenvolvimento econômico, ainda do período colonial da cana de açúcar. Os escravos importados da África, por meio da prática do tráfico negreiro, para serem explorados nos grandes canaviais chegavam infectados pelo *Schistosoma mansoni* (NOYA et al., 2015). No entanto, as condições de moradias eram precárias e propícias para o ciclo biológico do parasito. E com o advento do ciclo do ouro em Minas Gerais, o processo migratório da região nordeste para o sudeste favoreceu a disseminação de *Schistosoma mansoni*, prevalecendo até os dias atuais (KLOOS et al., 2008).

Um estudo epidemiológico abordando os anos de vida ajustados por incapacidade, ocasionado por doenças tropicais negligenciadas no Brasil de 1990 a 2016 por Martins-Melo e colaboradores (2018) mostrou que esquistossomose ocupa a segunda colocação no ranking das doenças responsáveis pela redução da qualidade de vida, perdendo apenas para a Doenças de Chagas. As taxas de mortalidade registradas dentro do período de 2000 a 2011 revelaram que a esquistossomose era a segunda doença tropical responsável pelos óbitos (6.319 mortes) (MARTINS-MELO et al., 2016). Segundo dados do Ministério da Saúde, de

2012 a 2017 a esquistossomose continua ocupando a segunda colocação das doenças responsáveis por óbitos (2.949 mortes) registrado no país (BRASIL, 2021).

Desde a implementação do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) em 1975 é notável que houve um controle da doença. Em 2021, a região nordeste apresentou uma taxa de positividade para *Schistosoma mansoni* em 3,22% levemente superior ao nacional de 3,15% (BRASIL, 2021).

Em 2011, Pernambuco era o segundo estado da região nordeste com os maiores índices de positividade para *Schistosoma mansoni* (7,34%) e primeiro lugar em números de óbitos entre os estados endêmicos (174 óbitos notificados) (BRASIL, 2021; BARBOSA et al., 2016). Nesse mesmo período, foi implementado no estado o Programa SANAR com o intuito de reduzir e/ou eliminar as doenças negligenciadas, incluindo a esquistossomose (Pernambuco, 2015). Dos 185 municípios 103 são endêmicos, situados no Litoral, Zona da Mata e parte do Agreste. No entanto, por meio de um inquérito realizado no quadriênio 2015-2018, foram definidos como municípios prioritários aqueles que apresentaram índice de positividade igual ou superior a 10%, reduzindo para 21 municípios (Figura 3) (PERNAMBUCO, 2019).

Figura 3 - Distribuição dos municípios prioritários em Pernambuco para a esquistossomose por Região de Saúde

Geres	Município
I	Araçoiaba, Vitória de Santo Antão
II	João Alfredo, Machados, Vicência
III	Água Preta, Barreiros, Escada, Gameleira, Jaqueira, Maraial, Palmares, Primavera, Rio Formoso, São Benedito do Sul, Xexéu
XII	Aliança, Goiana, Itaquitinga, Macaparana, Timbaúba

Fonte: PERNAMBUCO (2019).

2.3 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE *Schistosoma mansoni*

A ampla distribuição dos caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria* no Brasil contribuem para a prevalência de *Schistosoma mansoni*, uma vez que, os hospedeiros intermediários são essenciais para a continuidade do seu ciclo biológico. O gênero *Biomphalaria* é classificado em dez espécies e uma subespécie, porém apenas três são conhecidos por serem encontradas infectados na natureza e potenciais na transmissão, o *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria straminea* e *Biomphalaria tenagophila* (CARVALHO et al., 2008).

As espécies estão distribuídas, principalmente, nas regiões com os maiores índices de casos registrados para a esquistossomose, em especial nas regiões do litoral dos estados federativos (Figura 4-6) (CARVALHO et al., 2018).

Figura 4 - Mapa da distribuição dos caramujos *Biomphalaria glabrata*



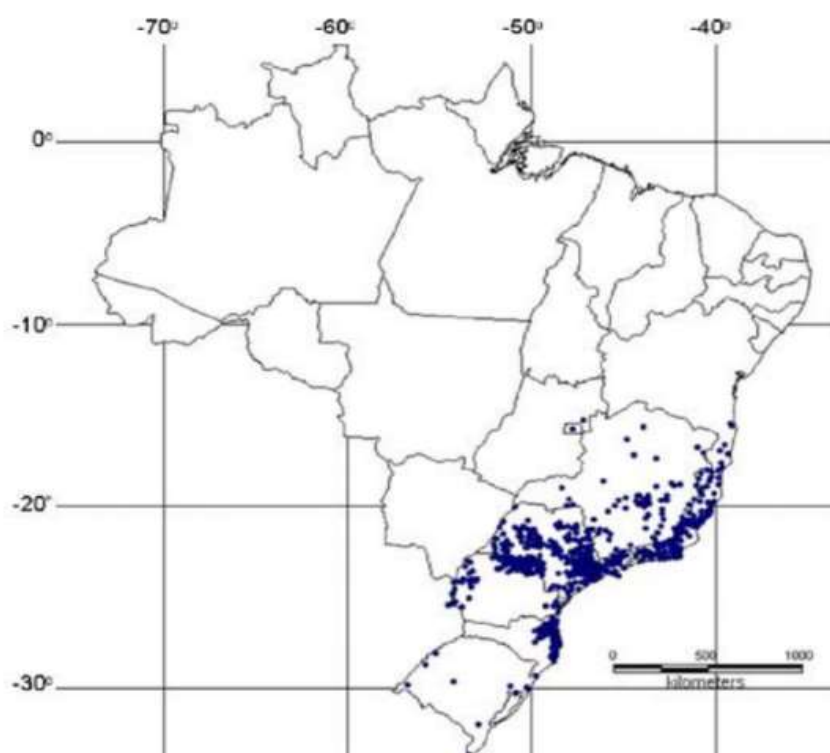
Fonte: Carvalho et al. (2008).

Figura 5 - Mapa da distribuição dos caramujos *Biomphalaria straminea*



Fonte: Carvalho et al. (2008).

Figura 6 - Mapa da distribuição dos caramujos *Biomphalaria tenagophila*



Fonte: Carvalho et al. (2008).

Ao analisar o mapa, percebe-se que o *Biomphalaria straminea* é o mais predominante ao longo das regiões avaliadas, sendo a espécie mais adaptada as variações ambientais do clima brasileiro. No entanto, a sua susceptibilidade à infecção por *Schistosoma mansoni* é inferior quando comparada ao *Biomphalaria glabrata* (CARVALHO et al., 2018).

Antes considerada uma doença rural, a esquistossomose passou também a ser uma doença urbana. A partir de 1980, a migração populacional para as grandes cidades do litoral contribuiu para a expansão de *Schistosoma mansoni* (SILVA e BARBOSA, 2006). O deslocamento não planejado em busca de emprego e oportunidades nos grandes polos urbanos fizeram com que muitas pessoas passassem a viver em periferias. E, em meio as condições precárias de saneamento, as pessoas positivas para *Schistosoma mansoni* acabaram contribuindo na infecção de coleções hídricas habitadas por moluscos *Biomphalaria* (KLOOS et al., 2010).

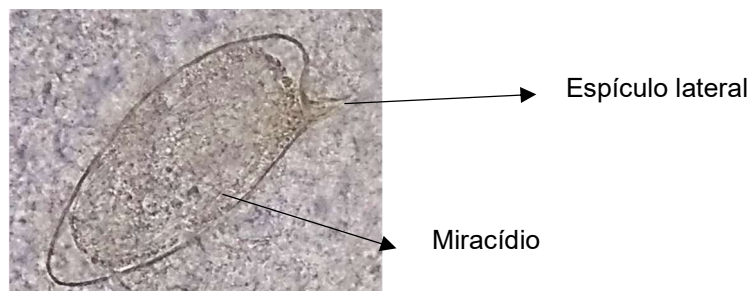
Diante da disseminação e expansão dos criadouros dos hospedeiros intermediários, em Pernambuco diversos estudos malacológicos têm sido realizados ((BARBOSA et al., 2014). Nessas áreas, os criadouros em sua maioria são peridomiciliares, onde nos períodos chuvosos ocorre o deslocamento dos caramujos infectados para as ruas favorecendo a infecção da população (BARBOSA et al., 2014; BARBOSA et al., 2017).

2.4 *Schistosoma mansoni*

2.4.1 Aspectos morfológicos das diferentes fases evolutivas

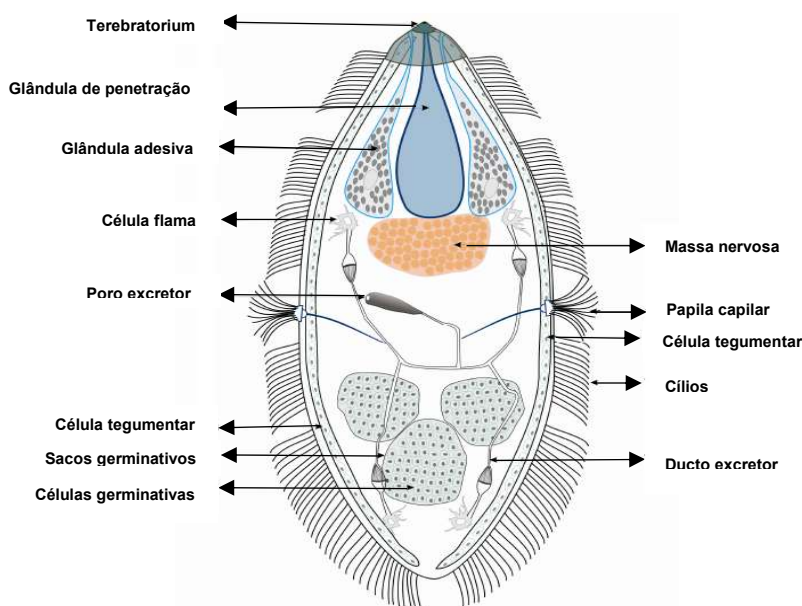
O trematódeo *Schistosoma mansoni* é caracterizado por ser um parasito complexo, o qual apresenta diferentes fases evolutivas: ovo, miracídio, esporocistos, cercária, esquistossômulo e verme adulto macho e fêmea (AUGUSTO et al., 2017).

O ovo de *Schistosoma mansoni* (Figura 7) apresenta um espículo lateral, considerado patognomônico para espécie, e forma oval. O seu tamanho varia de 150-117 µm x 70-40 µm e possui uma casca transparente, em que no seu interior é possível visualizar a forma larval de meio aquático, o miracídio (SOUZA et al., 2019).

Figura 7 - Microscopia do ovo de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Do autor (2024).

No meio aquático ocorre a eclosão do miracídio de nado livre, o qual vai em busca do seu hospedeiro intermediário. O miracídio (Figura 8 e 9) é caracterizado morfológicamente por sua membrana ciliada, a qual auxilia no nado. Além disso, possui o *terabratorium* localizado na porção anterior estando associado a percepção sensorial. Nesta mesma região encontra-se as glândulas de adesão e penetração, as quais contribuem no processo de invasão tecidual dos moluscos (COELHO et al., 2008; BAHIA, et al., 2022). O seu sistema excretor é composto por solenócitos ou células flama, as quais se conectam aos tubos coletores e se exteriorizam nas paredes laterais da membrana ciliada. Na porção posterior, localizam-se as células germinativas que darão origem aos esporocistos (TAFT e YOSHINO, 2011; FOGARTY et al., 2022).

Figura 8 - Estrutura esquemática do miracídio de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Coelho et al. (adaptado, 2008).

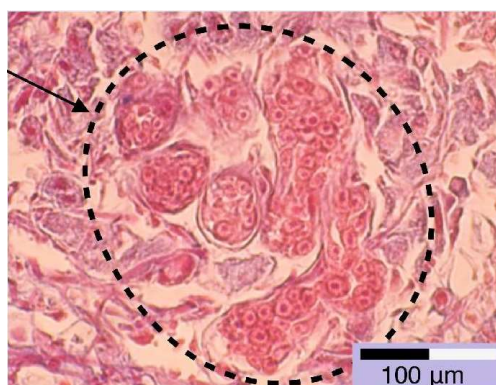
Figura 9 - Microscopia do miracídio de *Schistosoma mansoni*



Fonte: Bahia et al. (2022).

O esporocisto (Figura 10) compreende uma fase de intensa proliferação das células germinativas. Os miracídios quando infectam os hospedeiros intermediário perdem seus anexos, resultando numa estrutura sacular contendo as células germinativas ou esporocistos primários. Por poliembrionia (proliferação celular), os esporocistos primários dão origem aos esporocistos secundários e estes se diferenciam em cercárias (PETERSON et al., 2009; PINAUD et al., 2016).

Figura 10 - Corte histológico do tecido B. glabrata com a presença de esporocistos de *Schistosoma mansoni*

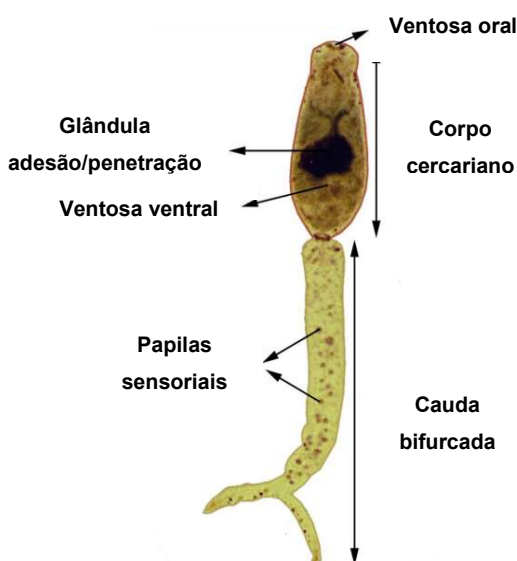


Fonte: Pinaud et al. (2016).

A cercária (Figura 11), fase larval de meio aquático, pode chegar a atingir até 500 µm de comprimento. É dividida em duas porções: uma anterior composta pelo corpo cercariano e outra posterior composta pela cauda bifurcada. O corpo cercariano é provido de órgãos que auxiliam na infecção. Como as glândulas de adesão e

penetração e as ventosas oral e ventral (BOISSIER et al., 2019). Além do mais, possui todos os órgãos, ainda no estágio primitivo, que estarão presentes no verme adulto. A cauda bifurcada é responsável pelo nado e também proporciona a infecção do corpo cercariano na pele do hospedeiro definitivo por meio da sua força vibratória. Assim, ao romper-se do corpo cercariano, as cercárias passam a ser denominada de esquistossômulo (CARVALHO et al., 2008).

Figura 11 - Microscopia da cercária de *Schistosoma mansoni*



Fonte: Boissier et al. (adaptado, 2019).

O esquistossômulo (Figura 12) passa por inúmeras modificações estruturais como parte do processo de adaptação e escape do sistema imunológico do novo hospedeiro (MILLIGAN e JOLLY, 2011). A medida que migra pelo hospedeiro, até atingir seu habitat convencional - vasos intra-hepáticos - os esquistossômulos passam por processos de maturação, onde no sistema porta-hepático se diferenciam em vermes adultos macho e fêmea (YEH, et al., 2024).

Figura 12 - Esquistossômulos de 3 horas de *Schistosoma mansoni*



Fonte: Santos (2018).

O verme adulto macho (Figura 13) possui um tegumento de aspecto esbranquiçado ou leitoso e tem cerca de 10 mm de comprimento. Na porção anterior, encontra-se as ventosas oral e ventral (ou acetábulo). A porção posterior é achatada que se dobra a nível ventral formando o canal ginecóforo, onde a fêmea é envolvida e fecundada (COLLINS et al., 2011; ROCHA et al., 2022). O seu tegumento ainda apresenta tubérculos, que são projeções com diversos espinhos junto as fibras musculares. Os tubérculos são distribuídos a partir do acetábulo e continuam até a porção final do corpo (COLLINS et al., 2011).

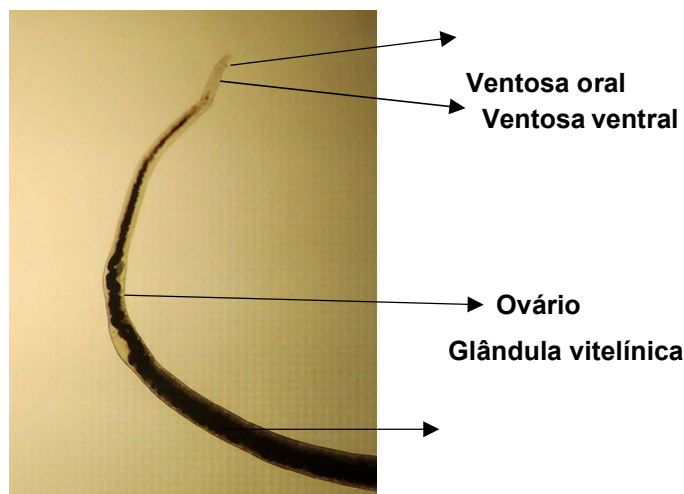
Figura 13 - Verme adulto macho de *Schistosoma mansoni*



Fonte: Do autor (2024).

A fêmea adulta (Figura 14) é filiforme e possui um comprimento de 14mm. O seu tegumento é de aspecto liso, no que diz respeito aos tubérculos observados no macho (JOÃO, 2011). Além disso, o tegumento é translúcido sendo possível visualizar os órgãos internos. Na porção anterior apresentam uma ventosa oral e uma ventosa ventral (acetábulo) de tamanhos inferiores ao macho (WINKELMANN et al., 2022).

Figura 14 - Verme adulto fêmea de *Schistosoma mansoni*

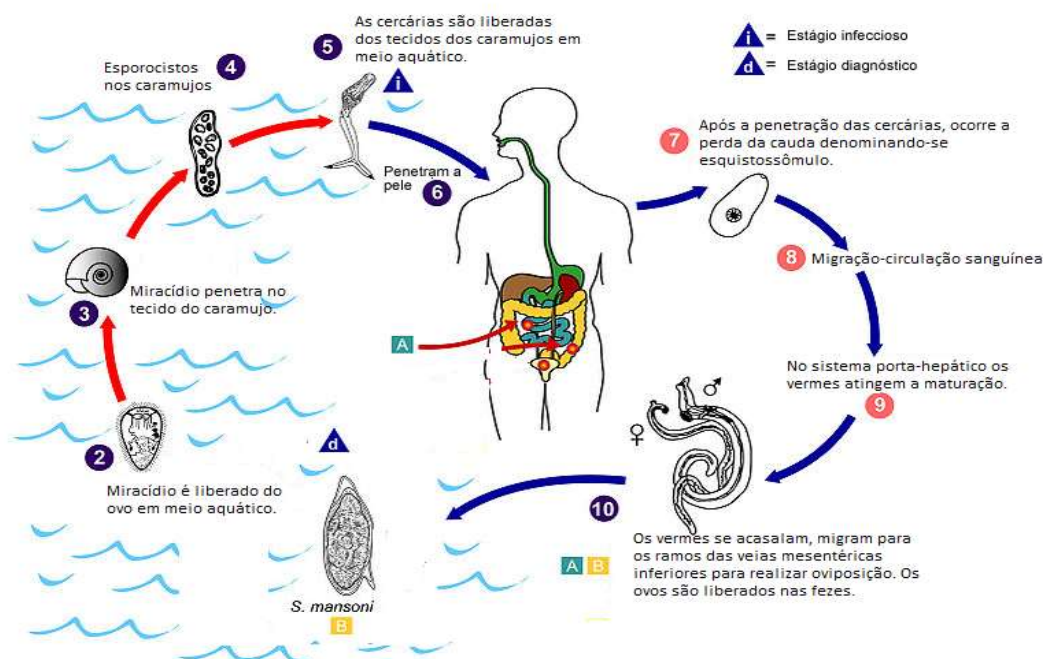


Fonte: Santos (2018).

2.4.2 Ciclo biológico

O ciclo biológico é classificado como do tipo heteroxênico, ou seja, apresenta mais de um hospedeiro. Os moluscos *Biomphalaria* (*B. glabrata*; *B. straminea*; *B. tenagophila*) são caracterizados por serem os hospedeiros intermediários, nos quais ocorre a reprodução assexuada do parasito (KNIGHT et al., 2016). O homem e outros mamíferos são considerados os hospedeiros definitivos, onde os vermes completam sua maturidade e realizam a reprodução sexuada (Figura 15) (KNIGHT et al., 2016; FORMENTI et al., 2023).

Um indivíduo infectado libera por meio de suas fezes os ovos maduros contendo no seu interior a fase larval de meio aquático denominada miracídio. Os ovos quando atingem as coleções hídricas recebe os estímulos do meio como luminosidade, temperatura, pH e oxigênio proporcionando a eclosão do miracídio (WANG et al., 2018). As larvas no ambiente aquático nadam livremente com auxílio dos cílios que compõe sua estrutura em busca do hospedeiro intermediário. Por meio do órgão sensorial (*Terebratorium*) os miracídios captam os metabólitos liberados pelos caramujos no meio facilitando assim o seu reconhecimento e infecção (TAFT et al., 2009).

Figura 15 - Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Centro de Controle de Doenças-CDC (adaptado, 2019).

Por meio de suas glândulas anexas (Adesão e penetração) se fixam nos tecidos moles do caramujo e iniciam o processo de invasão facilitado pela rotação e lise tecidual através da secreção de enzimas líticas (CLEC'H et al., 2023). Após penetrar nos tecidos, os miracídios perdem suas estruturas resultando apenas numa estrutura sacular contendo células germinativas, sendo denominados de esporocistos I ou primário (ROQUIS et al., 2018). Essas células iniciam o processo intenso de multiplicação (Poliembrionia) resultando numa estrutura com tamanho dobrado, passando a ser denominado de esporocistos II ou secundários (CLEC'H et al., 2023). Cessando o processo mitótico, os esporocistos secundários iniciam o processo de diferenciação, os quais darão origem as fases larvais de meio aquático, as cercárias (BAYNE, 2009).

Os estímulos para liberação das cercárias se assemelham aos dos miracídios, em que nos períodos de pico solar e elevação da temperatura ocorre o rompimento da estrutura sacular e evasão das cercárias para o meio aquático. As cercárias nadam livremente com auxílio da sua cauda bifurcada até encontrar o hospedeiro definitivo (DVORAK et al., 2016). A infecção no homem tem início quando ocorre o contato com as águas contendo as cercárias, as quais se aderem e invadem a pele por meio de

duas glândulas: glândulas de adesão e penetração (HAAS et al., 2002). Além de sua cauda bifurcada, a qual auxilia no processo de rotação e invasão do corpo cercariano que posteriormente rompe-se do corpo larval (HAAS et al., 2002; BEAR et al., 2018).

Ainda na pele, o corpo cercariano passa a ser denominado esquistossômulo de pele permanecendo por um período de 3 a 7 dias pós infecção para adaptação fisiológica no novo hospedeiro (WILSON, 2009). Após esse intervalo, o esquistossômulo cai na corrente sanguínea em direção ao pulmão fixando-se do sétimo dia de infecção ao décimo quarto dia, sendo denominado esquistossômulo pulmonar (BISCHOFBERGER et al., 2023). Em seguida, o esquistossômulo migra do pulmão para o coração esquerdo e seguindo o fluxo sanguíneo cai na grande circulação até chegar ao sistema porta intra-hepática (EL-ANSARY e AL-DAIHAN, 2006). Nos vasos hepáticos, os vermes completam sua maturidade sexual e acasalam-se. Posteriormente, os vermes acasalados migram contra o fluxo sanguíneo para os vasos mesentéricos inferiores para se fixarem o mais próximo da parede intestinal (BOAG et al., 2001; HAN et al., 2009; WILSON, 2009).

Por volta do trigésimo quinto dia de infecção, as fêmeas iniciam a oviposição. Os ovos são liberados ainda imaturos nos vasos mesentéricos que migram em direção a parede intestinal (CAI et al., 2016). No quadragésimo segundo dia de infecção, os ovos maduros de *Schistosoma mansoni* já podem ser encontrados nas fazes, assim os ovos viáveis quando em contato com o meio aquático reinicia o ciclo biológico (COLLINS et al., 2011).

2.4.3 Imunopatologia

A intensidade das manifestações clínicas na esquistossomose é dependente dos fatores que envolvem a relação parasito-hospedeiro como a carga parasitária, cepa, idade e, principalmente, o estado imunológico (KING et al., 2005). As reações granulomatosas formadas nos tecidos, em especial o hepático e intestinal, são responsáveis pelas alterações fisiológicas (PEARCE et al., 2008). A resposta imunológica é orquestrada conforme a fase da infecção, a qual no período de maturação dos vermes observa-se uma resposta do tipo Th1 sendo polarizada para Th2 no período da oviposição (WILSON et al., 2007).

A quebra da barreira epitelial da pele ocasionado pela penetração das cercárias promove uma resposta imediata via células da imunidade inata. As quimiocinas

(CCL3/MIP-1 α) liberadas pela lise celular, sinalizam para os macrófagos e células NK (*Natural Killer*) o local de invasão pelas cercárias (PALOMINO e MARTI, 2015). Os produtos gerados pela infecção inicial são reconhecidos, fagocitados e apresentados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs) às células T auxiliares, e o reconhecimento pode se dar por meio do complexo de histocompatibilidade tipo II ou receptores Toll-Like (VYDIA et al., 2018). Os receptores Toll-Like (TLR), por definição, são uma família de Receptores de Reconhecimento de Padrões (PPRs, sigla em inglês) classificados em 10 subtipos nas células de humanos, os quais são capazes de reconhecer os Padrões Moleculares Associados ao Patógeno (PAMPs, sigla em inglês) e contribuir para a promoção da resposta Th1/Th2/Th17/Treg (EL-AZAYAT et al., 2019).

No intervalo entre 1 a 5 semanas de infecção, há um predomínio da resposta imune do tipo Th1, possivelmente via TLR4, caracterizado pelo aumento das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-12, IFN- γ e TNF em resposta aos antígenos dos vermes (SOUZA et al, 2011; EGESA et al, 2018). Apesar das células desencadearem toda essa cascata para impedir o progresso dos esquistossômulos a vermes adultos, a resposta aguda não chega a ser efetiva (EL-FAHAM et al., 2017). Isso ocorre devido aos mecanismos de escape desenvolvido pelos vermes de *Schistosoma mansoni* em que destaca-se o tegumento, que além de fixar antígenos dos hospedeiros, é rico em proteínas antioxidantes protegendo-os dos danos oxidativos provenientes das células fagocíticas (WILSON e COULSON, 2009). Além do mais, a secreção de proteínas como Sm16 e SmKK7 são capazes de interferir na ativação de leucócitos modulando as células do sistema imunológico e favorecendo a sua sobrevivência (CURWEN et al., 2006; BRANNSTROM et al., 2009).

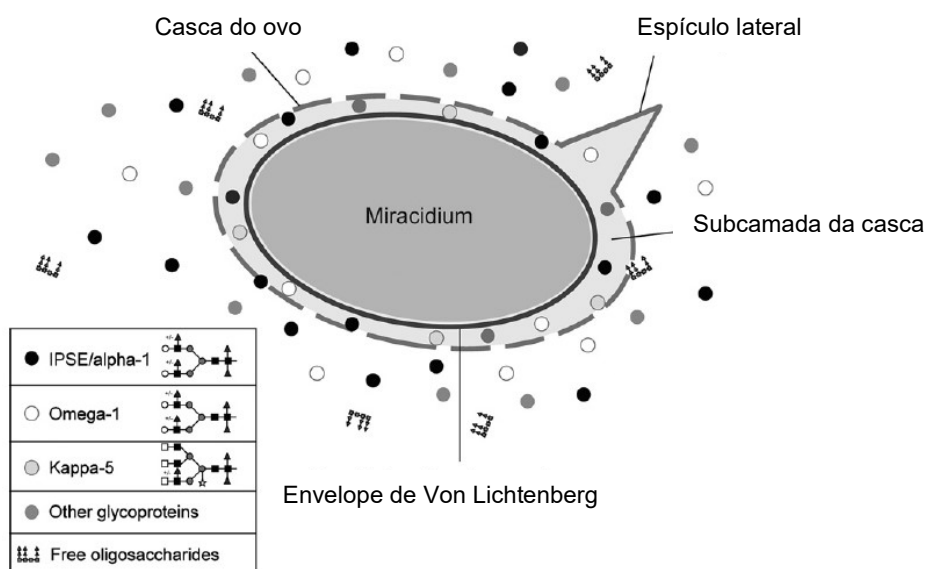
Nessa fase, os sintomas clínicos não chegam a ser específicos para o diagnóstico diferencial da esquistossomose. As principais manifestações observadas são dores de cabeça, febre, mialgia e em alguns casos desconforto abdominal (BOTTIEAU et al., 2006). Além disso, devido a penetração das cercárias ocorre uma irritação cutânea caracterizada pela dermatite cercariana (LOVERD, 2019).

Após 6-7 semanas de infecção, os vermes acasalados iniciam o processo de oviposição nos vasos mesentéricos, em que parte dos ovos chegam ao lúmen intestinal e são eliminados nas fezes, e outra parte fica retido no tecido intestinal e/ou retornam pelos vasos fixando-se em outros órgãos, como o fígado (LICA et al., 2023). Após a liberação dos ovos, os quais são ricos em proteínas altamente antigênica, as

células apresentadoras de antígenos (APCs, sigla em inglês) fagocitam e apresentam os antígenos para as células TCD4⁺ polarizando uma resposta Th2 (EVERTS et al., 2009). Estudos proteômicos têm identificado centenas de proteínas que compõe a casca do ovo e também as secretadas conhecidas como Antígeno Solúvel do Ovo (SEA, sigla em inglês), porém duas glicoproteínas foram caracterizadas: ômega-1 e alpha-1 (Figura 16) (MEEVISSSEN et al., 2012).

Nesse período, a resposta imunológica, antes do tipo Th1, passa a ser polarizada para o tipo Th2, marcada pelas citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL13, os quais são responsáveis pela organização da reação granulomatosa periovular nos tecidos hepático e intestinal (HAMS et al., 2013).

Figura 16 - Componentes presentes na composição do ovo de *Schistosoma mansoni*



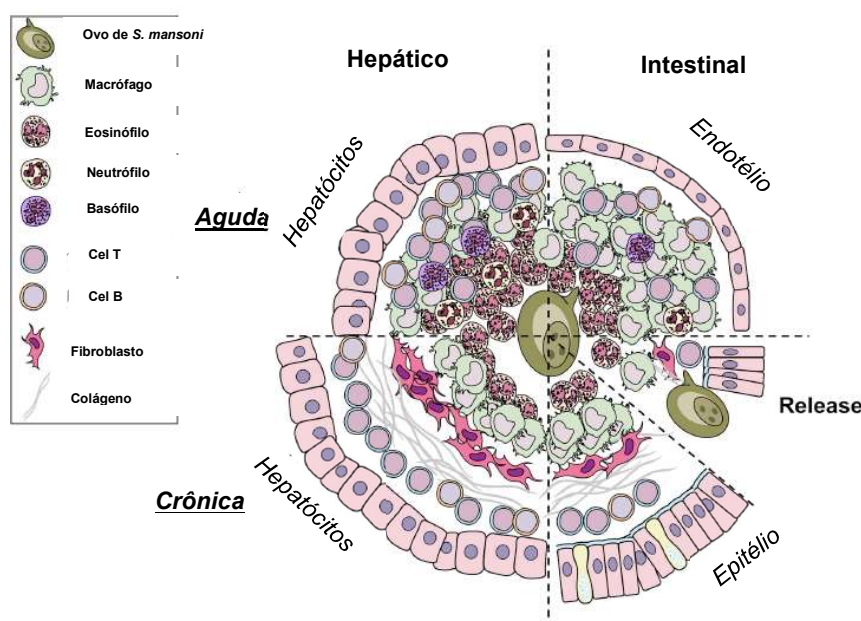
Fonte: MEEVISSSEN et al. (adaptado, 2012).

A formação do granuloma torna-se uma ação necessária, uma vez que “sequestra” a fonte antigênica, ovo de *S. mansoni*, reduzindo a indução inflamatória sistêmica e, consequentemente, a sobrevivência do hospedeiro (TAKAKI et al, 2021).

Uma outra característica atribuída ao granuloma é a sua composição celular e tamanho, o qual é formado predominantemente por macrófagos em que o número populacional pode ser diferenciado no tecido intestinal e hepático (Figura 17) (SCHWARTZ e FALLON, 2018). A razão pela qual os macrófagos se direcionam para integrar-se ao granuloma intestinal está sendo investigado, mas postula-se que a

expressão de diferentes ligantes nas células dendríticas na mucosa intestinal e microbiota estejam relacionados ao recrutamento dessas células (MAYER et al., 2017).

Figura 17 - Composição celular do granuloma hepático e intestinal na fase aguda e crônica



Fonte: SCHWARTZ e FALLON (adaptado, 2018).

No intestino após a “expulsão” do ovo, o granuloma tem sua formação disseminada, porém no fígado esse fenômeno não é possível. Assim, os granulomas hepáticos tendem a se tornar fibróticos ao longo da infecção (SCHWARTZ e FALLON, 2018).

A medida que as respostas granulomatosas primárias são formadas, a persistência da infecção encaminha a doença para um quadro crônico (STADECKER et al., 2004). Após 10 semanas de infecção, a intensidade da formação granulomatosa é controlada pela expansão das células Tregs (CD4+CD25+) estimulada principalmente pela TGF- β e IL-10 (BARBI et al, 2014). As células reguladoras se mostram essenciais na sobrevivência do hospedeiro devido à redução no tamanho do granuloma e consequentemente reduzindo o sítio da fibrose (TURNER et al., 2011).

A morbidade na esquistossomose está relacionada ao grau dos granulomas formados nos tecidos que repercute no comprometimento funcional. As alterações clássicas observadas na clínica é a hepatoesplenica/intestinal (FREER et al., 2017).

O aumento do fígado e do baço é resultado da congestão da circulação sanguínea prejudicada pela formação de fibrose nos vasos intra-hepáticos e portais instalando a hipertensão portal (VEIGA et al., 2023). O comprometimento da circulação hepática faz com que vasos colaterais sejam formados e o rompimento desses novos vasos pode ser fatal (COLLEY et al., 2014). Em casos mais avançados e descompensados pode ocorrer a formação da ascite, uma condição caracterizada pelo acúmulo de líquido peritoneal dando um aspecto de “Barriga d’água” (COLLEY et al., 2014; LACET et al., 2016)

Além dessa congestão, o recrutamento das células imunológicas que participam da reação granulomatosa contribuem para o crescimento dos órgãos (MASI et al., 2020). No entanto, na fase crônica com a regulação da resposta Th2, os granulomas tendem a ser menores, o que contribui para uma diminuição dos tecidos acometidos, em especial o fígado (HAMS et al., 2013).

No início da oviposição é comum quadros diarreicos mucossanguinolentos provocados pela irritação tecidual do intestino na passagem dos ovos (SANTOS et al., 2024). Em casos de uma infecção intensa os pontos fibróticos no intestino comprometem a absorção devido a destruição das vilosidades e na motilidade (LOVERD, 2019; POTTERS et al., 2019).

O perfil Th17 é caracterizado por induzir uma condição pró-inflamatória agravando os quadros da psoríase (ARICAN et al., 2005), doenças inflamatórias intestinais (FANIZZA et al., 2023) e reumatológicas (HIROTA et al., 2007) e asma alérgica (HASHIMOTO et al., 2005). As células Th17 no quadro experimental da esquistossomose tem sido associado recentemente ao painel inflamatório da doença. A IL-17 ou IL17A faz parte de uma família composta por seis citocinas, IL-17A a IL-17F (TESMER et al., 2008). As células Th17 expressam majoritariamente a IL17A e IL17F, as quais compartilham 55% de similaridade dos aminoácidos, embora possam ser produzidas na forma de heterodímeros (KUESTNER et al., 2007; WRIGHT et al., 2007).

A ativação das células Th17, em modelos murinos e humanos, pode se dar por meio das citocinas IL-6, IL-1 β , TNF e TGF- β (BETELLI et al., 2006; MANGAN et al., 2006; SUTTON et al., 2006). Além disso, as células Th17 após ativação passam a expressar um receptor da IL-23 (IL-23R), o qual é responsável por promover a sobrevivência e expansão das células (AGGARWAL et al., 2003). A regulação positiva do perfil Th17 tem sido associada ao fator de transcrição ROR γ t, o qual é induzido

pelas citocinas de ativação, além da IL-21 e IL-23 (IVANOV et al., 2006). Já, a regulação negativa das células Th17 tem sido observada diante das citocinas IL-4, IL-12 e IFN- γ (TESMER et al., 2008; RODRIGUEZ et al., 2007).

Na esquistossomose, o perfil Th17 tem sido considerado pró-inflamatório diante da reação granulomatosa grave no fígado sendo ainda intensificada na ausência de IFN- γ (RUTITZKY et al., 2005). Meng e colaboradores (2012) têm mostrado a capacidade da IL-17 em exacerbar a resposta das células de Kupffer e células estreladas do fígado na formação de fibrosa. A neutralização da IL-17 em infecções por *Schistosoma japonicum* minimizou a reação granulomatosa e deposição de colágeno no fígado (Zhang et al., 2012). Curiosamente, Santana e colaboradores (2021) consideraram a IL-17 como uma citocina protetora na fibrinogênese baseado em imagens obtidas de ultrassonografias das veias portas de pacientes infectados com *Schistosoma mansoni* atribuindo ao fato da IL-17 ser expressa por outras células.

Diante disso, o quadro patológico da esquistossomose é guiado pela intensidade das reações granulomatosas teciduais onde os ovos ficam retidos. O entendimento da cascata imunológica é essencial para uma montagem terapêutica que possa modular a resposta exacerbada frente aos antígenos do ovo (COSTAIN et al., 2019).

2.4.4 Tratamento

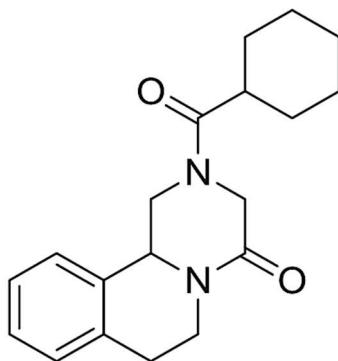
O método quimioterápico é a única ferramenta disponível para o tratamento da esquistossomose. O praziquantel (PZQ), até o momento, é o único fármaco disponível e indicado pelo Organização Mundial de Saúde (OMS) para erradicar a infecção devido a sua ampla eficácia frente à todas as espécies de importância médica (BOURKE et al., 2013).

O PZQ foi caracterizado na década de 1970 e utilizado inicialmente para o tratamento veterinário contra cestódeos. Por apresentar uma toxicidade aceitável, eficácia e tolerabilidade, na década de 80 passou a ter o seu uso ampliado em humanos. Para o tratamento de cestódeos e também na esquistossomose (SILVA et al., 2017).

O praziquantel é um derivado pirazinoisoquinolona (Figura 18), um composto quiral e insolúvel em água. Embora tenha eficácia frente as principais espécies que causam morbidade mortalidade em humanos, a sua ação é limitada (SILVA et al.,

2017). O PZQ possui atividade esquistossomícida apenas contra as fases adultas de *Schistosoma* spp. além disso, não previne os quadros de reinfecção e não atua na minimização das reações granulomatosas (CIOLI et al., 2014).

Figura 18 - Estrutura química do PZQ



Fonte: SILVA et al. (2017).

O mecanismo absoluto pelo qual a molécula do PZQ atua sobre os vermes adultos não é totalmente elucidado. No entanto, alguns estudos têm ilustrado a sua ligação nos canais de cálcio dependentes de voltagem favorecendo o influxo de Ca^{2+} resultando em eventos celulares, destacando a intensa contração da musculatura (VALE et al., 2017).

O fato do PZQ ser o único fármaco disponível para o tratamento da esquistossomose, há uma preocupação no surgimento de resistência (WANG et al., 2012). Visto que, desde a década de 90 relatos isolados em comunidades com baixa taxa curativa, chegando apenas a 18%, tem sido reportado (MELMAN et al., 2009). Adicionalmente, a indução de resistência laboratorial tem sido investigada em camundongos submetido a sucessivos tratamentos com o PZQ apresentando até 93% de resistência (VALE et al., 2017). Diante disso, ferramentas alternativas para controle e tratamento da esquistossomose torna-se emergencial.

2.5 PROBIÓTICOS

2.5.1 Definição e histórico

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, sigla em inglês) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) o termo probiótico

é definido como “Microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício ao hospedeiro”. Essa definição, lançada em 2001, foi aceita pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP, sigla em inglês) na última reunião realizada em 2013 (HILL et al., 2014).

Embora a definição seja recente, o uso de microrganismos como probiótico datam até 10.000 A.C por meio da ingestão de vinhos, cervejas e leites fermentados (OZEN e DINLEYICI, 2015). Na história antiga, o uso diário desses alimentos era visto como sagrado, pois proporcionava melhora em desconfortos intestinais e impedia infecções em períodos de surtos (RAD et al., 2012). Em 1856, Louis Pasteur descobriu dois tipos de fermentação: a alcóolica (Leveduras) e ácido láctico (Bactérias). Mais tarde, em 1878 conseguiu isolar bactérias fermentadoras do leite. Somente em 1905, Elie Metchnikov e Stamen Grigorov identificaram um *Lactobacillus* a partir de um iogurte búlgaro, nomeando a espécie *Lactobacillus bulgaricum* (OZEN e DINLEYICI, 2015; GASBARRINI et al., 2016).

2.5.2 Regulação e aplicação de probiótico

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), agência reguladora no Brasil, considera como probiótico uma série de espécies de bactérias: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhammosus*, *Lactobacillus casei variedade defensius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterim bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*, em concentrações que podem varia de 10^6 - 10^9 UFC (Unidade Formadora de Colônia) (RIAZ e MASUD, 2013; SOARES et al., 2017). Além do mais, os microrganismos probióticos são divididos em: 1) Bactérias produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus* e *Bifidobacterium*); 2) Bactérias esporuladas (*Bacillus* e *Clostridium*); 3) Leveduras (*Saccharomyces*) (RAD et al., 2012).

Ao considerar que os efeitos benéficos são determinados pela espécie e cepa específica, a FAO/OMS em 2002 criou um manual com as principais medidas para caracterizar um potencial probiótico. Nesse mesmo pensamento, a ANVISA também tem disponibilizado por meio da RDC Nº 241 de 2018 os requisitos para a aprovação de probióticos para consumo humano (ANVISA, 2018). Os requisitos vão da identificação da espécie por métodos genotípicos e fenotípicos à sua inclusão em coleção de cultura reconhecida internacionalmente. Adicionalmente, são necessários

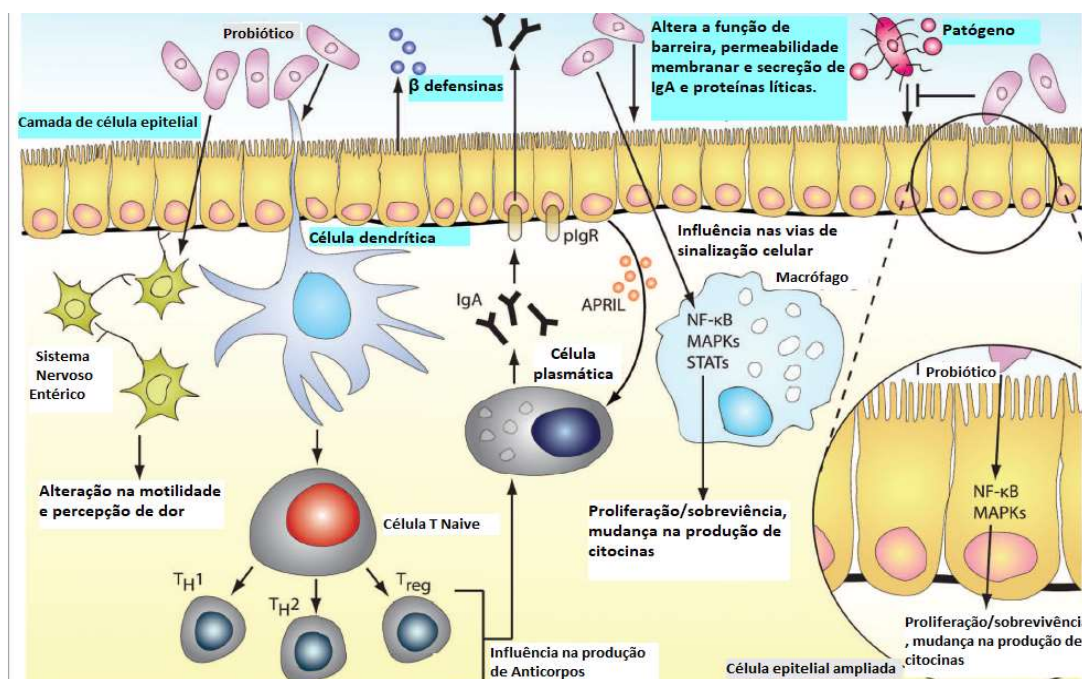
realizar testes *in vitro* e *in vivo*, verificar a ausência da produção de toxinas, toxicidade aguda e crônica, genotoxicidade e mutagenicidade, toxicidade reprodutiva e susceptibilidade a dois antibióticos, no mínimo. (VANDENPLAS et al., 2015; ANVISA, 2018).

2.5.3 Mecanismo de ação

Os probióticos podem exercer seus efeitos benéficos por diversas vias quando colonizado no intestino (Figura 19). O microbioma, em especial na região do cólon, é composta por bactérias do filo Firmicutes (*Roseburia inulinivorans* *Roseburia intestinalis*) e Bacteroidetes (*Bacteroides uniformis*) que destacam-se pela sua atividade fermentativa a partir de carboidratos não digeríveis resultando na produção ácidos orgânicos e ácidos graxos de cadeias curtas, assim como os alimentos suplementados com bactérias ácido láctico (Formato, acetato, lactato, butirato e propionato) (MACFARLANE e MACFARLANE, 2003; LOUIS e FLINT, 2017).

A absorção desses substratos é caracterizada por desencadear uma série de regulações metabólicas no hospedeiro que pode estar associado a sua ligação nos receptores de ácidos graxos livres (FFAR tipo 2 e 3, sigla em inglês) presentes nas células intestinais e imunológicas (LE POUL et al., 2003). O butirato, por exemplo, foi investigado quanto à sua contribuição na integridade intestinal. O butirato foi capaz de promover o aumento na expressão de proteínas que compõe o sistema de junção celular (Claudina, ocludina e caderinas), reduzindo a permeabilidade intestinal, e consequentemente impedindo a invasão de patógenos e o desencadeamento da inflamação local (WANG et al., 2012; BHAT et al., 2019).

Figura 19 - Diferentes vias estimuladas pela ação de bactérias comensais



Fonte: THOMAS e VERSALOVIC (adaptado, 2010).

Além do mais, o butirato foi relacionado como fator anti-inflamatório inibindo a translocação do LPS (Lipopolissacarídeo) e a ativação do fator nuclear kappa- β (NF- κ B) impedindo a degradação do seu inibidor (LIU et al., 2014). A regulação de lipídeos, glicose e do apetite também são relatadas em serem moduladas pela ação dos ácidos graxos de cadeia curta (MORRISON e PRESTON, 2016). A integridade da junção celular intestinal também está associada à produção de proteínas do choque térmico citoprotetoras, as quais são aumentadas em situações de estresse para evitar a lise não programada (LIU et al., 2003). Estudos com o *Lactobacillus rhamnosus* GG cepa ATCC 53103 levou ao aumento das proteínas hsp 25 e hsp 72 por meio da ativação das MAPSKs (Proteínas Quinase Ativadas por Mitogênio), via de sinalização celular. (TAO et al., 2006).

Uma outra via pelo qual os probióticos atuam é na competição por sítios comuns nas células intestinais inibindo a colonização por bactérias hostis (TSAI et al., 2008). É amplamente descrito que as bactérias produtoras de ácido láctico inibem espécies de *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* (TODORIKI et al., 2001; TSAI et al., 2008; NAKAMURA et al., 2012). Além da competição por receptores

comuns, as BAL (Bactérias Ácido Lático) podem tornar o microambiente desfavorável para a reprodução de patógenos (BRITO et al., 2012).

A adesão de bactérias probióticas nos enterócitos também desencadeiam a produção de proteínas líticas e melhora a produção de mucina para impedir a colonização de microrganismos patogênicos (BRITO et al., 2012). As bactérias ácido láctico são descritas por estimularem a produção de defensinas pelas células de Paneth (Células presentes na porção basal das criptas intestinais) como as β -defensinas, catelecidinas, ribonucleases e fosfalipase A₂, interferindo na integridade da célula bacteriana (SATO e IWASAKI, 2005). Além de estimularem as células do hospedeiro, as próprias bactérias também secretam proteases (bacteriocinas) que inibem a reprodução de microrganismos. Como exemplos, a espécie de *Lactobacillus acidophilus* secreta a lactacina B, já o *Lactobacillus plantarum* a plantaricina (NIELSEN et al., 2010; BRITO et al., 2012)

O aumento da produção na camada do muco intestinal impede a adesão de outros microrganismos responsáveis por enterites (CANDELA et al., 2007). A mucina é rica em glicoproteínas, imunoglobulinas e outras proteínas livres que impedem a colonização de bactérias enteropatogênicas. Espécies de *Lactobacillus reuteri*, *L. plantarum* e *Bifidobacterium longum*, por exemplo, medeiam a produção de muco (MUC2 e MUC3) e impedindo a inflamação nos enterócitos (CANDELA et al., 2007; BRITO et al., 2012).

Além da sua interação com as células intestinais, os probióticos podem interagir com os componentes imunológicos por meio das células dendríticas locais. O reconhecimento dos componentes microbianos ocorre por meio dos Receptores de Reconhecimento Padrão (PPR, sigla em inglês), em que os Receptores *Toll-like* (TLRs, sigla em inglês) são os mais estudados (VINDEROLA et al., 2005). A estimulação induzida nas células dendríticas e macrófagos influenciam a diferenciação das diferentes populações de células T (Th1, Th2, Th17 e Treg) (LEBEER et al., 2010).

Os receptores TLR2 e TLR4 são responsáveis pelo reconhecimento de constituintes das bactérias, como os lipopolissacarídeos (LPS) e o ácido lipoteicoico (ALT), os quais estimulam a via de sinalização por NF- κ B, MAPKs e STATs (Transdutores de Sinais e Ativadores de Transcrição) com aumento de secreções de citocinas de caráter pró-inflamatória (VINDEROLA et al., 2005; THOMAS e VERSALOVIC, 2010). No entanto, metabólitos de cepas probióticas são capazes de

modular o sistema imune. A espécie de *Saccharomyces boulardii* (Laboratório Biocodex, Montrouge, França), por exemplo, foi capaz de inibir a ativação da via NF- κ B (SOUGIOULTZIS et al., 2006). Outras espécies como a *Bifidobacterium breve* cepa BbC50 e *Streptococcus thermophilus* cepa ST065, também foram caracterizadas por modularem a resposta do LPS em macrófagos reduzindo a sua ligação ao receptor TLR4 e consequente inibição da cascata inflamatória mediada por citocinas IL-1 β e TNF- α (MENARD et al., 2004).

Os efeitos do ácido lipotecoico (ALT), um componente do peptidoglicano, se apresentam de forma paradoxal. Enquanto o ALT isolado de *Lactobacillus plantarum* cepa K8 inibe a cascata NF- κ B e MAPK bem como a expressão do receptor TLR4, o ALT de *Lactobacillus casei* cepa YIT9029 apresenta efeito estimulador nas vias de sinalização de células monocíticas (MATSUGUCHI et al., 2003; KIM et al., 2008). Esses resultados ressaltam a importância da aplicação da espécie e cepa específica para a finalidade desejada.

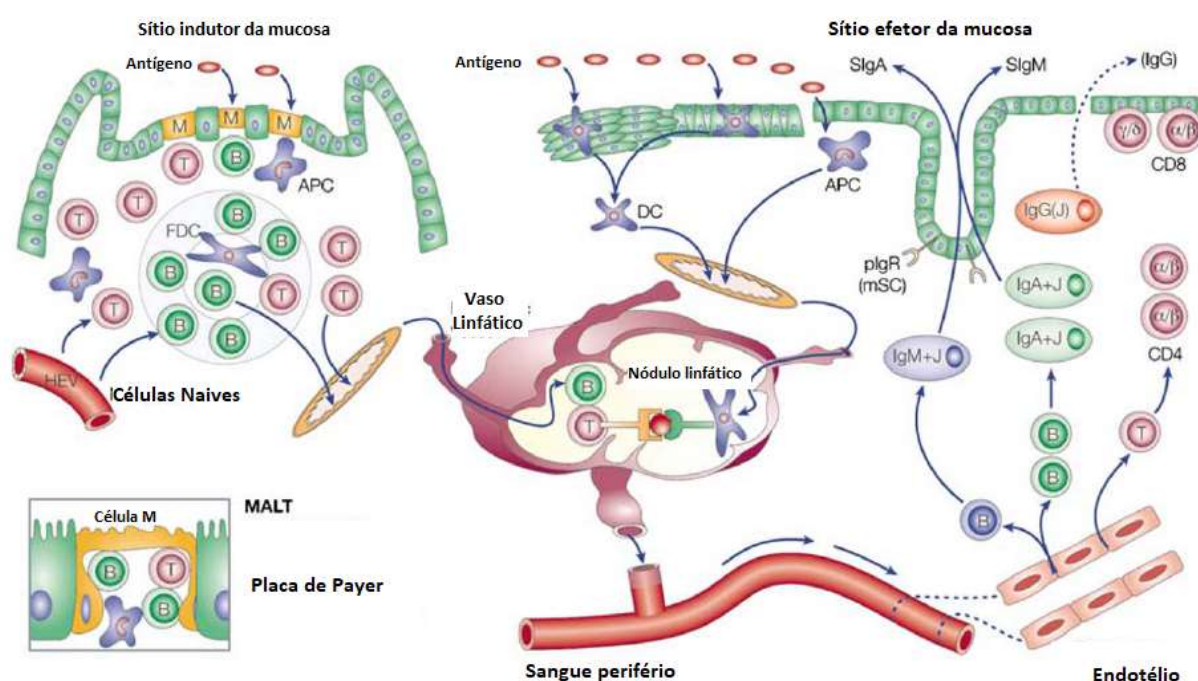
As células dendríticas (CDs) desempenham funções essenciais para a manutenção da homeostase intestinal, controlando os estímulos próprios e não próprios do hospedeiro e orquestrando a proliferação e diferenciação das subpopulações das células T (THOMAS e VERSALOVIC, 2010). A sobrevivência das células dendríticas pode ser prolongada por meio dos metabólitos da fermentação de bactérias ácido láctico. O BbC50sn resultante da fermentação de *Bifidobacterium breve* cepa C50 induz a fosforilação da via PI3K/Akt aumentando a sobrevivência celular, a produção de proteínas anti-apoptóticas (Bclx) e a maturação das células (HOARAU et al., 2006; HOARAU et al., 2008).

A incubação de células dendríticas com o VSL#3 (Uma mistura de espécies de *Lactobacillus* spp. *Bifidobacterium* spp, *Streptococcus thermophilus*) resultou numa redução na secreção de IFN- γ de células T efetoras induzidas pelas CDs, bem como uma redução na diferenciação de células Th1 (HART et al., 2004). As células Treg também são estimuladas por CDs tratadas com outras cepas probióticas como *Bifidobacterium lactis* W51 (ROOCK et al., 2010), *L. casei* DN-114 001, *Streptococcus thermophilus* DN-001 (BABA et al., 2008). Esses efeitos têm sido benéficos em modelos murinos com quadros de colite crônica e em amostras da região ílaca de paciente portador da doença de Crohn (GIACINTO et al., 2005; CAROL et al., 2006).

O tecido intestinal possui dois compartimentos para o desencadeamento da resposta imunológica, uma região indutora e outra efetora (Figura 20). Essas regiões

são formadas pelos Tecido Linfoide Associado ao Intestino (GALT, sigla em inglês) o qual apresenta células da imunidade inata e adaptativa (HE et al., 2007). O GALT é ainda constituído pela união de inúmeros folículos (também conhecido como “Peyer’s Patches” ou Linfonodos Mensetéricos) contendo células B e envolvido por células T, os quais também são encontrados associados ao epitélio intestinal, em especial às células M, as quais são especializadas em fagocitar e apresentar os antígenos as DCs (BRANDTZAEG et al., 2008; KANAYA e OHNO, 2014).

Figura 20 - Apresentação de antígenos na mucosa intestinal e indução da produção de IgA



Fonte: BRANDTZAEG et al. (2008).

Algumas cepas probióticas já foram investigadas em induzir a produção de IgA. A espécie de *Bifidobacterium bifidum* Bb-11 foi capaz de aumentar o número de células plasmáticas na lâmina própria do tecido intestinal com o consequente aumento de IgA, no entanto, ainda postula-se qual o impacto da produção de IgA na manutenção do microbioma e sua influência nas colites (THOMAS e VERSALOVIC, 2010).

Acredita-se que a produção de IgA seja a razão da inibição inflamatório, visto que animais deficientes na produção de IgA tiveram uma estimulação exacerbada da resposta imune inata associada a produção de NO (Óxido Nítrico) (PETERSON et al., 2007). Por fim, supõe-se que a produção local dessas imunoglobulinas podem

funcionar com uma chave de “bloqueio” controlando a passagem de bactérias e manutenção da microbiota comensal. (PETERSON et al., 2007; BUNKER e BENDELAC, 2018).

2.5.4 Probióticos versus parasitos intestinais

Visto o antagonismo direto (por competição na colonização intestinal) e indireto (mecanismos imunomoduladores), uma série de bactérias ácido láctico foram avaliadas em infecções intestinais causadas por protozoários e helmintos. A tabela 1 ilustra o efeito dos probióticos nas infecções parasitárias.

Tabela 1 - Avaliação terapêutica de probióticos frente às infecções por parasitas intestinais

Parasito	Cepa probiótica	Resultados	Referência
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1	Atividade <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> contra trofozoítos;	HUMEM et al. 2005.
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Atividade <i>in vivo</i> contra trofozoítos; Aumento de IgA; Aumento da expressão de células TCD4+; Diminuição de TNF- α e IFN- γ ; Aumento de IL-6 e IL-10.	GOYAL et al. 2011. GOYAL et al. 2013.
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Lactobacillus casei</i> (NCDC299) <i>Enterococcus faecium</i> (NCDC124)	Redução do número de trofozoítos em até 80%; Alteração morfológica dos trofozoítos; Ação potencializada pela associação dos probióticos	SARJAPURAM et al. 2017

Parasito	Cepa probiótica	Resultados	Referência
<i>Toxocara spp</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 7469	Redução das larvas recuperadas	WALCHER et al. 2017
<i>Strongyloides spp.</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i> 04450B	Redução da carga parasitária -Ausência de alterações das criptas frente ao tratamento -Vilosidades preservadas	OLIVEIRA-SEQUEIRA et al. 2014
<i>Schistosoma mansonii</i>	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> e <i>L. reutrie</i>	Diminuição nas lesões hepáticas, consequente da diminuição da carga parasitária e da contagem de ovos dos camundongos infectados. -Restauração dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e gama glutamil transferase (GGT).	GHANEM et al. 2005.

Fonte: Do autor (2024).

2.5.5 O gênero *Bacillus* aplicado como probiótico

O número de estudos envolvendo as espécies de *Bacillus* spp. são relativamente tímidas quando comparada as bactérias ácido láctico. No entanto, numerosas cepas já foram identificadas como biosseguras para aplicação probiótica em humanos e animais (Tabela 2) (JEZEWSKA-FRACKOWIAK et al., 2018).

Pertencente à Família Bacillaceae, o gênero *Bacillus* é caracterizado por ser Gram-positivo, possuir forma de bastão, aeróbios ou anaeróbios facultativos, móveis

e formadores de esporos. São amplamente distribuídos na natureza, presentes no solo e vegetação (CONTESINI et al., 2018). As espécies de *Bacillus* spp. chamam atenção por serem bactérias capazes de formar esporos, ao contrário dos *Lactobacillus* spp. A forma esporulada representa um estado de resistência e consequente sobrevivência em condições adversas, um fator atrativo para indústria alimentar (LEE et al., 2019). Nesse sentido, os esporos de *Bacillus* spp. são capazes de sobreviver ao trato gastrointestinal (em específico, o suco gástrico), podem resistir aos processos térmicos aplicados no setor alimentício e manter um tempo de vida útil prolongado nas prateleiras comerciais (JEZEWSKA-FRACKOWIAK et al., 2018; LEE et al., 2019).

Tabela 2 - Exemplos de *Bacillus* spp. e respectivas cepas identificadas como probióticos

Nome das espécies	Cepas
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	DSM 7, ATCC 23350
<i>Bacillus attropheus</i>	DSM 7264, ATCC49337, NRRL-NRS 2123, NBRC 15539
<i>Bacillus cereus</i>	DSM 31, ATCC14579, CCM 2010, LMG6923, NCIB 9373, NCTC 2599
<i>Bacillus coagulans</i>	DSM1, ATCC 7050, NCIB 9365, NCTC 10334
<i>Bacillus pumilus</i>	DSM 27, ATCC7061, NCIB 9369, NCTC 10337, CCM 2144
<i>Bacillus safensis</i>	DSM 19292, ATCC BAA-1126, LMG 26769, NBRC 100820
<i>Bacillus subtilis</i>	DSM 10, ATCC 6051, CCM 2216, IAM 12118

Nome das espécies	Cepas
<i>Bacillus toyonensis</i>	BCT-7112T, CECT 876T, NCIMB 14858T
<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM 11031, NRRL B-14890, BCRC17183

Fonte: JEZEWSKA-FRACKOWIAK et al. (2018).

O uso dos esporos de *Bacillus* spp. teve início em 1958 na Itália e tem chamado atenção nas últimas décadas. Dentre as espécies mais exploradas pode-se destacar: *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus licheniformis* (CUTTING, 2011). Muitas dessas espécies já são comercializadas para o consumo humano como suplementos alimentares em formas de cápsulas, suspensões líquidas ou sólidas e comprimidos (Tabela 3).

Tabela 3 - Relação de probióticos comercializado para consumo humano

Produto	Fabricante	Observações
Bactisubtil ®	Produzido por Marion Merrell (Levallois-Perret, França), mas também pela Hoechst e depois pela Aventis Pharma após aquisições de fusões. Também citado como sendo produzido por Casella-Med, Colônia, Alemanha	Cápsula 1 x 10 ⁹ esporos de <i>Bacillus cereus</i> cepa IP5832 ^b (ATCC 14893).
Bio-Kult ®	Protexin Health Care http://www.bio-kult.com	<i>Bacillus subtilis</i> é um componente de 14 cepas transportadas neste suplemento probiótico do Reino Unido.
Biosporin ®	Biofarm, Dniepropetrovsk, Ucrânia; Garars, Rússia	É uma mistura de duas linhagens de bactérias antagonistas vivas <i>B. subtilis</i> 2335 (às vezes chamado de <i>B. subtilis</i> 3) e <i>B. licheniformis</i> 2336 (a proporção é de 3: 1)

Produto	Fabricante	Observações
Biovicerin[®]	Geyer Medicamentos SA Porto Alegre, RS, Brasil http://www.geyermed.com	Cepa GM de <i>B. cereus</i> . Suspensão de 10^6 esporos ml ⁻¹
Bispan[®]	Binex Co. Ltd., Busan, Coréia do Sul www.bi-nex.com	Esporos de transporte ($1,7 \times 10^7$) de <i>B. polyfermenticus</i> cepa SCD
Domuvar	BioProgress SpA, Anagni, Itália http://www.giofil.it	Frasco contendo 1×10^9 esporos de <i>Bacillus clausii</i> em suspensão, rotulado como contendo <i>B. subtilis</i> não é mais comercializado.
Enterogermina[®]	Sanofi Winthrop SpA, Milão, Itália www.automedicazione.it	O frasco (5 ml) transportando um $\times 10^6$ esporos de <i>B. clausii</i> na suspensão. Pelo menos quatro cepas diferentes de <i>B. clausii</i> estão presentes
Flora-Balance	Flora-Balance, Montana, EUA www.flora-balance.com	Cápsulas rotuladas como portadoras de <i>Bacillus laterosporus</i> BOD [®] mas contendo <i>Brevobacillus laterosporus</i> BOD.
Sustenex[®]	Ganeden Biotech Inc., Ohio, EUA www.sustenex.com	<i>B. coagulans</i> GanedenBC ³⁰
Lactipan Plus	Istituto Biochimico Italiano SpA, Milão, Itália	Cápsula contendo esporos de <i>B. subtilis</i> rotulados como contendo 2×10^9 esporos de <i>Lactobacillus sporogenes</i> .
Lactospore	Sabinsa Corp., Piscataway, NJ, EUA www.sabinsa.com	Rotulado como <i>Lactobacillus sporogenes</i> [®] mas contém <i>B. coagulans</i> $6-15 \times 10^9$ g ⁻¹

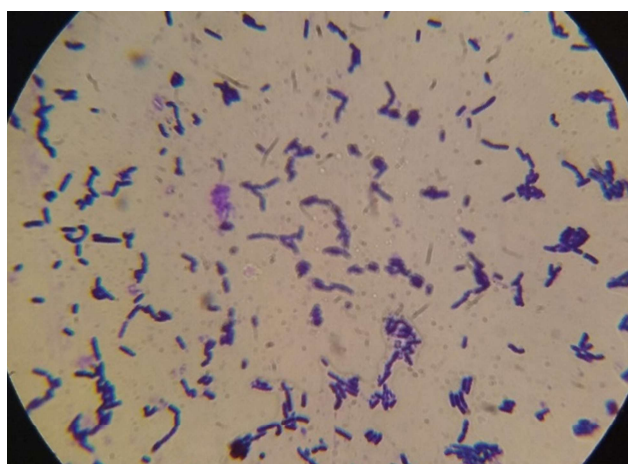
Produto	Fabricante	Observações
Medilac-Vita	Hanmi Pharmaceutical Co. Ltd., Pequim, China http://www.hanmi.co.kr	<i>B. subtilis</i> estirpe RO179 (a 10^8 g^{-1}) em combinação Com <i>Enterococcus faecium</i> .

Fonte: CUTTING (adaptado, 2011).

2.5.6 *Bacillus cereus*

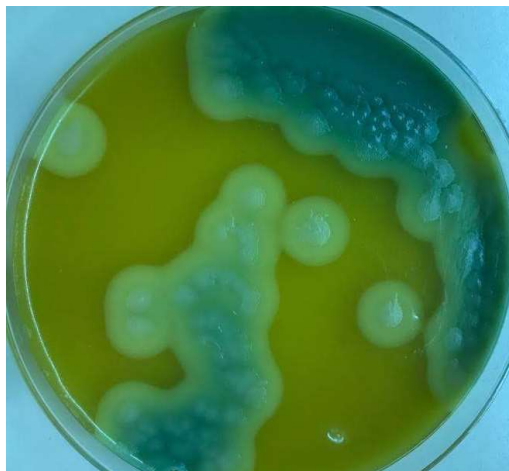
A espécie *Bacillus cereus* é uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos. Na sua forma vegetativa assemelha-se a um bastão reto e/ou levemente encurvados (Figura 21), variando conforme o ambiente que forem coletados. Quando semeados em meio sólido, apresentam colônias grandes, opacas e apresentam bordas variadas, alternando de regulares (Meio *B. cereus* Gema de ovo, Figura 22) ou irregulares (Mueller-Hinton, Figura 23). Crescem em altas concentrações de NaCl (7-10%) e suportam até 100 °C (BOTTONNE, 2010).

Figura 21 - Forma vegetativa de *Bacillus cereus* cepa GM corada pelo método de Gram



Fonte: Do autor (2024).

Figura 22 - Colônias de *Bacillus cereus* cepa GM em meio seletivo



Fonte: Do autor (2024).

Figura 23 - Colônias de *Bacillus cereus* cepa GM em meio Ágar Mueller-Hinton



Fonte: Do autor (2024).

A bactéria *Bacillus cereus* é conhecido por ser causador de intoxicação alimentar e responsável pela produção de enterotoxinas causando quadros eméticos e diarreicos (SANKARARAMAN e VELAYUTHAN, 2013). No entanto, sabe-se que determinadas espécies do grupo *cereus* não carregam o gene (*PanC III*) envolvido na produção da cereulidase (toxinas). Baseando-se nesses achados, cepas de *Bacillus cereus* com atribuições probióticas já foram descritas e são comercializadas para consumo humano (EHLING-SCHULZ et al., 2005; GUINEBRETIÈRE et al., 2010; HEINI et al., 2018).

Na aquicultura (Produção de animais aquáticos) a aplicação de potenciais probióticos de *Bacillus cereus* tem sido investigado e se mostrado benéfico para a

população de pepinos marinhos (KUEBUTORNYE et al., 2019). Yang e colaboradores (2015) isolaram do intestino de pepino do mar duas cepas de *Bacillus cereus* (cepas G19 e BC-01), os quais foram implementadas na dieta numa concentração de 10^9 UFC/kg por 60 dias. Os resultados mostraram uma melhora no desenvolvimento e resistência à infecção oportunista associadas a uma maior expressão dos genes (Aj-rel e Aj-p50) de coelomócitos (células do sistema imunológicas). Adicionalmente, Zhao e colaboradores (2016) também investigaram o potencial probiótico de uma cepa isolada (*B. cereus* EN-25) que foi capaz de inibir o crescimento de *Vibrio splendidus*, nocivo para o pepino do mar.

No Brasil, a espécie de *Bacillus cereus* (cepa Geyer Medicamentos-GM) é comercializada como Biovicerin® produzida pela indústria Geyer Medicamento desde de 1953. O produto é disponibilizado em flaconetes contendo 5 mL da suspensão oral (5×10^6 UFC) para uso pediátrico e adulto e recomendado para desconfortos intestinais (GEYER MEDICAMENTOS, 2020). Conforme a bula do medicamento, aprovado pela ANVISA, *Bacillus cereus* apresenta propriedades terapêuticas frente a enterocolites provocada por *Escherichia coli*, *Shigella* e *Salmonella* observada nos ensaios clínicos (GEYER MEDICAMENTOS, 2020).

Um estudo realizado por Bittencourt e colaboradores (2001), foi avaliado a capacidade do probiótico *Bacillus cereus* GM em colonizar o intestino e a capacidade antagonista junto a bactéria patogênica *Salmonella typhimurium* (Fundação Ezequiel Dias-BH) em camundongos gnotobióticos. Os resultados mostraram que *Bacillus cereus* GM foi capaz de colonizar o intestino em camundongos saudáveis sem provocar desconfortos ou danos teciduais. Quanto aos camundongos desafiados com *Salmonella typhimurium* e tratados com o probiótico, não houve manifestação do quadro da salmonelose. Entretanto, ambas bactérias foram isoladas do tecido intestinal após 10 dias. Evidenciando que *Bacillus cereus* GM não interfere na colonização da *S. typhimurium*, mas apresenta outros mecanismos capazes de inibir a produção ou manifestação das toxinas.

Nesse sentido, associando as propriedades dos probióticos, propomos avaliar pela primeira vez a cepa GM de *Bacillus cereus* do produto Biovicerin® frente a infecção de *Schistosoma mansoni* (Cepa BH). Avaliando a sua repercussão intestinal e sistêmica em contornar as alterações observadas na esquistossomose mansoni.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Avaliar os efeitos do probiótico *Bacillus cereus* (GM) sobre a resposta imunológica e as alterações hepáticas e intestinais na esquistossomose mansoni experimental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a carga parasitária;
- ✓ Avaliar o padrão de oviposição (oograma);
- ✓ Quantificar os ovos retidos no tecido hepático;
- ✓ Avaliar marcadores bioquímicos de função hepática;
- ✓ Analisar a concentração de citocinas Th1/Th2/Th17 (IFN- γ , TNF, IL-6, IL-4, IL-2, IL-10 e IL17A) em cultura de células esplênicas;
- ✓ Analisar as alterações histopatológicas e histomorfométricas dos granulomas hepático e intestinal.

4 METODOLOGIA

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE por meio do processo nº 23076.015035/2018-01 o estudo experimental de intervenção terapêutica foi realizado empregando camundongos fêmeas Swiss Webster (*Mus musculus*) com 30 dias de nascidos e pesando 28 ± 2 g, obtidos e mantidos no biotério do Instituto Keizo Asami – iLIKA/UFPE. Trinta desses animais, previamente anestesiados com cloridrato de xilasina e cloridrato ketamina, foram infectados por via percutânea com 50 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH). Essa cepa vem sendo mantida pelo Laboratório de Imunologia e Esquistossomose Experimental – iLIKA/UFPE, através da passagem sucessiva em caramujos *Biomphalaria glabrata*. Os camundongos foram alocados em três grupos com 10 animais cada, sendo:

Grupo 1 (Controle infectado): Animais infectados que receberam o veículo (Solução fisiológica) do 1º ao 90º dia de tratamento;

Grupo 2 (Profilático): Animais que receberam *Bacillus cereus* (GM) 15 dias antes da infecção e continuaram recebendo do 16º até o 90º dia de tratamento após infecção;

Grupo 3 (Terapêutico): Animais que receberam o veículo (Solução fisiológica) antes e após infecção, em que no 35º dia de infecção foram tratados com *Bacillus cereus* (GM) até o 90º dia de tratamento.

4.2 OBTENÇÃO DE *Bacillus cereus* (GM)

Os esporos da cepa GM de *B. cereus* foram obtidos do Biovicerin® (Geyer Medicamentos SA, Porto Alegre, RS, Brasil) Lote 19.009.051. Dois frascos (5mL) contendo 10^6 esporos/mL, os quais foram adicionados a 390 mL de caldo trip-case de soja e incubado por 72 horas a $35^\circ\text{C} \pm 2$. Em seguida, esta cultura foi aquecida a 75°C por 10 min e centrifugada a 4000g por 30 min, para concentrar os esporos. O precipitado foi lavado duas vezes com solução salina e semeado em Mueller Ágar

Hinton para enumeração de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) e os esporos foram contados em hemocitômetro conforme metodologia descrita por Vidic e colaboradores (2020). As suspensões foram padronizadas em 10^6 esporos/mL, pipetadas em frascos individuais e fechados hermeticamente e mantidos refrigerado a 4°C até a administração. A administração foi de 0,3 mL /dia em dose única por gavagem.

4.3 AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA

Contagem dos vermes recuperados

Após o término do tratamento os animais foram eutanasiados e realizado uma incisão inicial na parte inferior do abdômen estendendo-se até a caixa torácica. Em seguida, com auxílio de pinça e tesoura cirúrgicas foi feita a perfusão injetando-se solução salina (cloreto de sódio a 0,85% e citrato de sódio 1,5%) na veia cava inferior (PELLEGRINO e SIQUEIRA, 1956). Solução salina também foi injetada na aorta descendente, procedendo-se à perfusão das veias mesentéricas (DUVALL e DEWITT, 1967). Ao final, foi realizada a contagem dos vermes recuperados e classificados conforme o sexo.

A porcentagem de redução da carga parasitária foi realizada conforme a equação:

$$\%Redução = \frac{C - V}{C} \times 100$$

Onde:

C = Número médio de vermes recuperados a partir de animais infectados e não tratados.

V= Número médio de vermes recuperados a partir de animais infectados e tratados.

Oograma

Foram removidos três fragmentos (1cm cada) da porção média do intestino delgado e lavados com solução salina para remoção das fezes. Em seguida, os tecidos foram transferidos para uma lâmina de microscopia e recobertos por lamínula.

Os ovos foram classificados em imaturos, maduros e mortos por meio da observação em microscópio óptico (objetiva 10X) em 10 campos (PELLEGRINO et al., 1962).

Quantificação de ovos no tecido hepático

Para estimar o número de ovos por grama do tecido hepático, foi coletado fragmentos do órgão e processado individualmente, conforme a técnica de digestão hepática em hidróxido de potássio 4% (KOH 4%). Os ovos foram contados em triplicata por amostra. (CHEEVER, 1968).

4.4 DOSAGEM BIOQUÍMICA DOS MARCADORES DE FUNÇÃO HEPÁTICA

Para determinação das concentrações séricas de Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Fosfatase Alcalina (FAL) and Gama-Glutamil-Transferase (Gama-GT), o sangue foi coletado por punção cardíaca (Donavan e Brown, 2005) e transferidos para tubos de eppendorfs, os quais foram centrifugados para separação do soro conforme Mazzaccara e colaboradores (2008). Camundongos não infectados foram introduzidos como controles sadios e os valores obtidos serviram como referência.

As dosagens da AST (Lote 0103), ALT (lote 0101), Gama-GT (Lote 0060) e FAL (Lote 0006) foram realizadas utilizando reagentes da Bioclin (Brasil). Os protocolos para processamento e leitura das amostras foram realizados conforme recomendado pelo fabricante.

4.5 DOSAGEM DE CITOCINAS EM CULTURA DE CÉLULAS ESPLÊNICAS

A cultura de esplenócitos foi realizada em meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) com soro fetal bovino e a viabilidade celular observada após coloração pelo Trypan Blue (10%). As culturas foram mantidas em meio RPMI caracterizando ausência de qualquer mitógenos e sob estímulos da Concanavalina A (5 µg/mL) e esporos do *B. cereus* (1×10^6 UFC). Os níveis de TNF α , IFN- γ , IL-6, IL-2, IL-4, IL-10 e IL-17A da cultura das células esplênicas foram mensurados com Cytometric Bead Array (CBA) utilizando o kit CBA mouse Th1/Th2/Th17 de acordo com as instruções do fabricante. Os dados foram adquiridos no Becton Dickinson FACScalibur citômetro de fluxo e

analisado pelo software FCAP 3.0 (BD Bioscience). Os resultados foram expressos com a média de intensidade de fluorescência (MIF) e a média dos níveis das citocinas foram expressos em pg/mL.

4.6 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS E INTESTINAL

Fragmentos do fígado e intestino removidos da parte central do lóbulo esquerdo e da porção média do intestino delgado foram fixados em formaldeído a 10% tamponado em PBS, incluídos em parafina para obtenção de cortes histológicos com 5µm de espessura para posterior coloração com Tricrômio de Masson (TM).

Seis campos aleatórios por amostra foram utilizados para avaliação histopatológica e determinação do volume médio dos granulomas. Inicialmente, em granulomas contendo ovos ou vestígios de ovo central foram medidos dois diâmetros perpendiculares ao nível médio transmiracidial de todos os granulomas para determinar o diâmetro médio (PHILLIPS et al., 1977).

Considerando a forma esférica dos granulomas, os raios obtidos a partir de seus diâmetros foram utilizados para calcular o volume da esfera, obtendo assim, o volume dos granulomas, usando a seguinte fórmula: $V = 4/3\pi R^3$, onde R = raio; $\pi = 3,14$ (FEMOE et al., 2022). As imagens foram capturadas usando um microscópio ótico (Leica®) conectado a uma câmera digital (Nikon®) e a um computador contendo software de análise (Motic Images Plus 2.0 MLTM).

5 RESULTADOS

Os resultados deste trabalho estão demonstrados no artigo publicado, o qual se encontra no apêndice A.

6 CONCLUSÃO

O probiótico *Bacillus cereus* GM foi capaz de modular a resposta infecciosa causada por *Schistosoma mansoni* (BH) frente as diferentes fases evolutivas evidenciadas pela redução da carga parasitária. Além disso, a redução da carga parasitária está associada a imunomodulação promovida pelo probiótico por meio da polarização do perfil Th1. Esta modulação repercutiu, significativamente, na redução do volume médio dos granulomas hepático e intestinal e melhorou as concentrações dos marcadores de função hepática.

Diante do exposto, conclui-se que o probiótico *Bacillus cereus* GM pode ser considerado uma ferramenta terapêutica para o tratamento da esquistossomose mansoni, o qual ainda poderá ser explorado para potencializar o seu efeito protetor e esquistossomicida.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, S., GHILARDI, N., XIE, M. H., SAUVAGE, F. J., GURNEY, A. L. Interleukin-23 Promotes a Distinct CD4 T Cell Activation State Characterized by the Production of Interleukin-17. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 3, p. 1910-1914, 2003.
- ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada. **RDC Nº 241**, 2018.
- ARICAN, O., ARAL, M., SASMAZ, S., CIRAGIL, P. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. **Mediators of Inflammations**, v. 2005, n. 5, p. 273-279, 2005.
- AUGUSTO, R. C., TETREAU, G., CHAN, P., WALET-BALIEU, M. L., MELLO-SILVA, C. C., SANTOS, C. P., GRUNAU, C. Double impact: natural molluscicide for schistosomiasis vector control also impedes development of *Schistosoma mansoni* cercariae into adult parasites. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1-19, 2017.
- BABA, N., SAMSON, S., SICARD, R. B., RUBIO, M., SARFATI, M. Commensal bacteria trigger a full dendritic cell maturation program that promotes the expansion of non-Tr1 suppressor T cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 84, n. 2, p. 468-476, 2008.
- BAHIA, D., AVELAR, L. G. A., VIGOROSI, F., CIOLI, D., OLIVEIRA, G. C., MORTARA, R. A. The distribution of motor proteins in the muscles and flame cells of the *Schistosoma mansoni* miracidium and primary sporocyst. **Parasitology**, v. 133, n. 3, p. 321-329, 2022.
- BARBI, J., PARDOLL, D. M., PAN, F. Treg functional stability and its responsiveness to the microenvironment. **Immunol Rev**, v. 259, n. 1, p. 115-139, 2014.
- BARBOSA, C. S., SANTOS, R. S., GOMES, E. S., ARAUJO, K., ALBUQUERQUE, J., MELO, F., SEVILHA, M. A., BRASILEIRO, D., BARRETO, M. I., NETO, O. L., BARBOSA, V., CORREIA, W., GUIMARÃES, R. J. P. S. Epidemiologia da Esquistossomose no Litoral de Pernambuco. **Rev. Patol. Trop**, v. 43, n. 4, p. 436-445, 2014.
- BARBOSA, C. S., GOMES, E. C. S., CAMPOS, J. V., JUNIOR, F. J. M. O., MESQUITA, M. C. S., OLIVEIRA, E. C. A. O., DOMINGUES, A. L. C. Morbidity of mansonii schistosomiasis in Pernambuco-Brazil: Analysis on the temporal evolution of deaths, hospital admissions and severe clinical forms (1999–2014). **Acta Tropica**, v. 164, p. 10-16, 2016.
- BARBOSA, V. S., LOYO, R. M., GUIMARÃES, R. J. P. S., BARBOSA, C. S. The Geographic Information System applied to study schistosomiasis in Pernambuco. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 107, p. 1-10, 2017.

BAYNE, C. J. Successful parasitism of vector snail *Biomphalaria glabrata* by the human blood fluke (trematode) *Schistosoma mansoni*: a 2009 assessment. **Mol. Biochem. Parasitol**, v. 165, n. 1, p. 8-18, 2009.

BEAR, J. W., LONG, T., SKINNER, D., MCKERROW, J. H. Predictions of novel *Schistosoma mansoni* - human protein interactions consistent with experimental data. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p.1-14, 2018.

BETTELLI, E., CARRIER, Y., GAO, W., KORN, T., STROM, T. B., OUKKA, M., WEINER, H. L., KUCHROO, V. K. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector T17 and regulatory T cells. **Nature**, v. 441, n. 7090, p. 235-238, 2006.

BHAT, A. A., UPPADA, S., ACHKAR, I. W., HASHEM, S., YADAV, S. K., SHANMUGAKONAR, M., AL-NAEMI, H. A., HARIS, M., UDDIN, S. Tight Junction Proteins and Signaling Pathways in Cancer and Inflammation: A Functional Crosstalk. **Frontiers in Physiology**, v. 23, n. 9, p. 1-19, 2019.

BISCHOFBERGER, M., REINHOLDT, C., DANNENHAUS, T. A., ALEITH, J., BERGMANN-EWERT, W., MULLER-HILKE, B., LOBERMANN, M., REISINGER, E. C., SOMBETZKI. Individually or as a Team—The Immunological Milieu in the Lung Caused by Migrating Single-Sex or Mixed-Sex Larvae of *Schistosoma mansoni*. **Pathogens**, v. 12, n. 1432, p. 1-13, 2023.

BITTENCOURT, J. L., NICOLI, J. R., PENA, F. J., VIEIRA, M. C., SOBRINHO, A. P. R., ARANTES, R. M. E. Colonização e efeitos no ecossistema digestivo de camundongos gnotobióticos de uma cultura comercial (BIOVICERIN®) de *Bacillus cereus*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 1, n. 3, p. 1-8, 2001.

BOAG, P. R., NEWTON, S. E. e GASSER, R. B. Molecular Aspects of Sexual Development and Reproduction in Nematodes and Schistosomes. **Advances in Parasitology**, v.50, p. 153-198, 2001.

BOISSIER, J., MOUAHID, G. and MONÉ, H. *Schistosoma* spp. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) Global Water Pathogen Project. <http://www.waterpathogens.org> (Robertson, L (eds) Part 4 Helminths) <http://www.waterpathogens.org/book/schistosoma> Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO. 2019.

BOTTIEAU, E., CLERINX, J., VEGA, M. R., ENDEN, E. V., COLEBUNDERS, R., ESBROECK, M. V., VERVOORT, T., GOMPEL, A. V., ENDE, J. V. Imported Katayama fever: Clinical and biological features at presentation and during treatment. **Journal Of Infection**, v. 52, n. 5, p. 339-345, 2006.

BOTTONE, E. J. *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 382-398, 2010.

BOURKE, C. D., NAUSCH, N., RUJENI, N., APPLEBY, L. J., MITCHELL, K. M., MIDZI, N., MDULUZA, T., MUTAPI, F. Integrated Analysis of Innate, Th1, Th2, Th17, and Regulatory Cytokines Identifies Changes in Immune Polarisation Following Treatment

of Human Schistosomiasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 208, n.1, p. 159-169, 2013.

BRANDTZAEG, P., KIYONO, H., PABST, R., RUSSELL, M. W. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. **Mucosal Immunology**, v. 1, n. 1, p. 31-37, 2008.

BRANNSTROM, K., SELLIN, M. E., HOLMFELDT, P., BRATTSAND, M., GULLBERG, M. The *Schistosoma mansoni* Protein Sm16/SmSLP/SmSPO-1 Assembles into a Nine-Subunit Oligomer with Potential To Inhibit Toll-Like Receptor Signaling. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 3, p. 1144-1154, 2009.

BREVES, B. Y. G., WALTER, C., BURMESTER, M., SCHRÖDER, B. *In vitro* studies on the effects of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on nutrient transport in pig jejunum. **Journal Animal Physiol.Nutr**, v. 84, n. 1-2, p. 9-20, 2001.

BRITO, M. B., DIAZ, J. P., QUEZADA, S. M., LLORENT, C. G., GIL, A. Probiotic Mechanisms of Action. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 61, p. 160-174, 2012.

BUNKER, J. J., BENDELAC, A. IgA responses to microbiota. **Immunity**, v. 49, n. 2, p. 211-224, 2018.

CAI, P., GOBERT, G. N., YOU, H., MACMANU, D. P. The Tao survivorship of schistosomes: implications for schistosomiasis control. **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 7, p. 453-463, 2016.

CANDELA, M., BERGMANN, S., VICI, M., VITALI, B., TURRONI, S., EIKMANN, B. J., HAMMERSCHMIDT, S., BRIGIDI, P. Binding of Human Plasminogen to *Bifidobacterium*. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 16, p. 5929-5936, 2007.

CAROL, M., BORRUEL, M., ANTOLIN, M., LLOPIS, M., CASELLAS, F., GUARNER, F., MALAGELADA, J. R. Modulation of apoptosis in intestinal lymphocytes by a probiotic bacteria in Crohn's disease. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 79, n. 5, p. 917-922, 2006.

CARVALHO, O. S., MENDONÇA C. L. F., MARCELINO, J. M. R., PASSOS, L. K. J., FERNANDEZ, M. A., LEAL, R. S., CALDEIRA, R. L., SCHOLTE, R. G. C., CARMO, E. H., MESQUITA, S. G., THIENGO, S. C. Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. **Epidemiol Serv. Saúde**, v. 27, n. 3, p. 1-9, 2018.

CARVALHO, O. S., COELHO, P. M. Z. e LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose**: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. 1124 p. ISBN 978-85-7541-370-8.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Schistosomiasis**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>. Acesso em: 10 fev. 2024.

CHEEVER A.W. Conditions affecting the accuracy of potassium hydroxide digestion techniques for counting *Schistosoma mansoni* eggs in tissues. **Bull World Health Organ**, v. 39, n. 2, p. 328–331, 1968.

CIOLI, D. et al., Schistosomiasis control: praziquantel forever?. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 1, p. 23-29, 2014.

CLEC'H, W. L., CHEVALIER, F. D., JUTZELER, K., ANDERSON, T. J.C. No evidence for schistosome parasite fitness trade-offs in the intermediate and definitive host. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 132, 2023.

COELHO, P. M. Z., ANDRADE, A. A., BORGES, C. M. C., RIBEIRO, F., BARBOSA, L. ***Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. 1124 p. ISBN 978-85-7541-370-8.

COLLEY, D. G., BUSTINDUY A. L., SECOR, W. E., KING, C. H. Human Schistosomiasis. **Lancet**, v. 383, p. 2253-2264, 2014.

COLLINS, J. J., KING, R. S., COGSWELL, A., WILLIAMS, D. L., NEWMARK, P. A. An Atlas for *Schistosoma mansoni* Organs and Life-Cycle Stages Using Cell Type-Specific Markers and Confocal Microscopy. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 3, p. 1-17, 2011.

CONTESINI, F. J., MELO, R. R., SATO, H. H. Na Overview of *Bacillus* proteases: from production application. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 321-334, 2018.

COSTAIN, A. H., MACDONALD, A. S. e SMITS, H. H. Schistosome Egg Migration: Mechanisms, Pathogenesis and Host Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. 3042, p. 1-16, 2019.

CURWEN, R. S., ASHTON, P. D., SUNDARALINGAM, S., WILSON, R. A. Identification of Novel Proteases and Immunomodulators in the Secretions of Schistosome Cercariae That Facilitate Host Entry. **Molecular & Cellular Proteomics**. v. 5, n. 5, p. 835-844, 2006.

CUTTING, S. M. *Bacillus* probiotics. **Food Microbiology**, v. 28, p. 214-220, 2011.

DEJON-AGOBÉ, J. C., EDOA, J. R., ADEGNIKA, A. A., GROBUSCH, M. P. Schistosomiasis in Gabon from 2000 to 2021 - A review. **Acta Tropica**, v. 228, n. 106317, p. 1-13, 2022.

DOMINGUES, A. L. C., BARBOSA, C. S., AGT, T. F. A., MOTA, A. B., FRANCO, C. M. R., LOPES, E. P., LOYO, R., GOMES, E. C. S., 2020. Spinal neuroschistosomiasis caused by *Schistoma mansoni*: cases reported in two brothers. **BMC Infect. Dis**, v. 20, n. 1, p. 1–8, 2020.

DUVALL, R. H.; DEWITT, W. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v. 16, n. 4, p. 483-486, 1967.

DVORAK, J., FAJTOVÁ, P., ULRYCHOVÁ, L., LEONTOVIC, A., ROJO-ARREOLA, L., SUZUKI, B. M., HORN, M., MARES, M., CRAIK, C. S., CAFFREY, C. R., O'DONOGHUE, A. J. Excretion/secretion products from *Schistosoma mansoni* adults, eggs and schistosomula have unique peptidase specificity profiles. **Biochimie**, v. 122, p. 99-109, 2016.

EGESA, M., LUBYAYI, L., TUKAHEBWA, E. M., BAGAYA, B. S., CHALMERS, I. W., WILSON, S., HOKKE, C. H., HOFFMANN, K. F., DUNNE, D. W., YAZDANBAKHSH, M., LABUDA, L. A., COSE, S. *Schistosoma mansoni* schistosomula antigens induce Th1/Pro-inflammatory cytokine responses. **Parasite Immunology**, v. 40, n. 12, p. 1-11, 2018.

EHLING-SCHULZ, M., SVENSSON, B., GUINEBRETIERE, M. H., LINDBACK, T., ANDERSSON, M., SCHULZ, A., FRICKER, M., CHRISTIANSSON, A., GRANUM, P. E., MARTLBAUER, E., THE, C. N., SALONEN, M. S., SCHERER, S. Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. **Microbiology**, v. 151, n. 1, p. 183-197, 2005.

EL-ANSARY, A., AL-DAIHAN, S. Important aspects of Biomphalaria snail-schistosome interactions as targets for antischistosome drug. **Med. Sci. Monit**, v. 12, n. 12, p. 282-292, 2006.

EL-ZAYAT, S. R., SIBAI, H., MANNAA, F. A. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 187, p. 1-12, 2019.

EL-FAHAM, M. H., FRANCKLOW, K. J. W., PRICE, H. P., SAYERS, J., DOENHOFF, M. *Schistosoma mansoni* cercarial elastase (SmCE): differences in immunogenic properties of native and recombinant forms. **Parasitology**, v. 144, n. 10, p. 1356-1364, 2017.

ELIAS, E., SILVESTRI, V., MUSHI, V., MANDARANO, M. Ovarian schistosomiasis: challenges of a neglected ectopic involvement of blood flukes. Case report and review of literature. **Pathologica**, v. 115, n. 4, p. 237-245, 2023.

EVERTS, B., WRIGHT, G. P., SMITS, H. H., HOKKE, C. H., HAM, A. J., FITZSIMMONS, C. M., DOENHOFF, M. J., BOSCH, J., MOHRS, K., HASS, H., MOHRS, M., YAZDANBAKHSH, M., SCHRAMM, G. Omega-1, a glycoprotein secreted by *Schistosoma mansoni* eggs, drives Th2 responses. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 8, p. 1673-1680, 2009.

FANIZZA, J., D'AMICO, F., LUSETTI, F., FASULO, E., ALLOCCA, M., FURFARO, F., ZILLI, A., PARIGI, T. L., RADICE, S., BIROULET, L. P., DANESE, S., FIORINO, G. The Role of IL-23 Inhibitors in Crohn's Disease. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-19, 2023.

FAO/WHO. **Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Cordoba, Argentina, October, 2001. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf> . Acesso em: 12 jan. 2024.

FEMOE, U. M., JATSA, H. B., GREIGERT, V., BRUNET, J., CANNET, C., KENFACK, M. C., FEUSSOM, N. G., FASSI, J. B. K., NKONDO, E. T., ABOU-BACAR, A., PFAFF, A. W., DIMO, T., KAMTCHOUING, P., TCHUEM-TCHUENTE, L. A. Pathological and immunological evaluation of different regimens of praziquantel treatment in a mouse model of *Schistosoma mansoni* infection. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 16, n. 4, p. 1–32, 2022.

FOGARTY, C. E., PHAN, P., DUKE, M. G., MCMANUS, D. P., WYETH, R. C., CUMMINS, S. F., WANG, T. Identification of *Schistosoma mansoni* miracidia attractant candidates in infected *Biomphalaria glabrata* using behaviour-guided comparative proteomics. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. 954282, p. 1-19, 2022.

FORMENTI, F., CORTES, A., DEIANA, M., SALTER, S., PARKHILL, J., BERRIMAN, M., RINALDI, G., CANTACESSI, C. The Human Blood Fluke, *Schistosoma mansoni*, Harbors Bacteria Throughout the Parasite's Life Cycle. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 228 n. 9, p. 1299–1303, 2023.

FREER, J. B., BOURKE, C. D., DURHUUS, G. H., KJETLAND, E. F., PRENDERGAST, A. J. Schistosomiasis in the first 1000 days. **Lancet Infect Dis**, v. 18, n. 6, p. 193-206, 2017.

GASBARRINI, G., BONVICINI, F., GRAMENZI, A. Probiotics History. **Journal Clinical Gastroenterology**, v. 50, n. 2, p. 116-119, 2016.

GEYER MEDICAMENTOS. **Biovicerin** Disponível em: <https://www.geyermed.com.br/biovicerin/> Acesso em: 08 fev. 2020.

GHANEM, K. Z., SALAM, A. M. A., MAGHARBY, A. S. Immunoprophylactic effect of probiotic yoghurt feeding on *Schistosoma mansoni*-infected mice. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 55, n. 2, p. 123-126, 2005.

GIACINTO, C. D., MARINARO, M., SANCHEZ, M., STROBER, W., BOIRIVANT, M. Probiotic Ameliorate Recurrent Th1-mediated Murine Colitis by Inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF- β -Bearing Regulatory Cells. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 6, p. 3237-3246, 2005.

GORDON, C. A., KURSCHEID, J., WILLIAMS, G. M., CLEMENTS, A. C. A., LI, Y., ZHOU, X. N., UTZINGER, J., MCMANUS, D. P., GRAY, D. J. Asian Schistosomiasis: Current Status and Prospects for Control Leading to Elimination. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 1, p. 1-29, 2019.

GOYAL, N., TIWARI, R. P., SHUKLA, G. *Lactobacillus rhamnosus* GG as an Effective Probiotic for Murine Giardiasis. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2011, n. 795219, p.1-4, 2011.

GOYAL, N., SHUKLA, G. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG modulates the mucosal immune response in *Giardia intestinalis*-infected BALB/c mice. **Dig Dis Sci**, v. 58, n. 5, p. 1218–1225, 2013.

GUINEBRETIERE, M. H., VELGE, P., COUVERT, O., CARLIN, F., DEBUYSER, M. L., THE, C. N. Ability of *Bacillus cereus* Group Strains To Cause Food Poisoning Varies According to Phylogenetic Affiliation (Groups I to VII) Rather than Species Affiliation. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 9, p. 3388-3391, 2010.

HAAS, W., GRABE, K., GEIS, C., PACH, T., STOLL, K., FUCHS, M., HABERL, B., LOY, C. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of l-arginine. **Parasitology**, v. 124, n. 2, p. 153-167, 2002.

HAMS, E., AVIELLO, G., FALLON, P. G. The *Schistosoma* granuloma: friend or foe? **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. 89, 1-8, 2013.

HAN, Z. G., BRINDLEY, P. J., WANG, S. Y., CHEN, Z. Schistosoma Genomics: New Perspectives on Schistosome Biology and Host-Parasite Interaction. **Ann. Rev. Genomics Hum. Genet.**, v. 10, p. 211-240, 2009.

HART, A. L., LAMMERNIS, K., BRIGIDI, P., VITALI, B., RIZZELLO, F., GIONCHETTI, P., CAMPIERI, M., KAMM, M. A., KNIGHT, S. C., STAGG, A. J. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. **Gut**, v. 53, n. 11, p. 1602-1609, 2004.

HASSAN, A., EL-MOGY, S., ZALATA, K., MOSTAFA, T., 2011. Testicular schistosomiasis: a case study. **Fertil. Steril**, v. 95, n. 6, p. 1-4, 2011.

HASHIMOTO, T., AKIYAMA, K., KOBAYASHI, N., MORI, A. Comparison of IL-17 Production by HelperT Cells among Atopic and NonatopicAsthmatics and Control Subjects. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 137, n. 1, p. 51-54, 2005.

HE, B., XU, W., SANTINI, P. A., POLYDORIDES, A. D., CHIU, A., ESTRELLA, J., SHAN, M., CHADBURN, A., VILLANACCI, V., PLEBANI, A., KNOWLES, D. M., RESCIGNO, M., CERUTTI, A. Intestinal Bacteria Trigger T Cell-Independent Immunoglobulin A2 Class Switching by Inducing Epithelial-Cell Secretion of the Cytokine APRIL. **Immunity**, v. 26, n. 6, p. 812-826, 2007.

HEINI, N., STEPHAN, R., SCHULZ, M. E., JOHLER, S. Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 283, p. 59-64, 2018.

HEWITT, R., WILLINGHAM, A. L. Status of Schistosomiasis Elimination in the Caribbean Region. **Trop. Med. Infect. Dis**, v. 4, n. 1, p. 1-17, 2019.

HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON, G. R., MERENSTEIN, D. J., POT B., MORELLI, L., CANANI, R. B., FLINT, H. J., SALMINEN, S., CALDER, P. C., SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

HIROTA, K., HASHIMOTO, M., YOSHITOMI, H., TANAKA, S., NOMURA, T., YAMAGUCHI, T., IWAKURA, Y., SAKAGUCHI, N., SAKAGUCHI, S. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17+ Th cells that

cause autoimmune arthritis. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 204, n. 1, p. 41-47, 2007.

HOARAU, C., LAGARAINÉ, C., MARTIN, L., ROUSSEL, F. V., LEBRANCHU, Y. Supernatant of *Bifidobacterium breve* induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a Toll-like receptor 2 pathway. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 117, n. 3, p. 696-702, 2006.

HOARAU, C., MARTIN, L., FAUGARET, D., BARON, C., DAUBA, A., JACQUIN, C. A., ROUSSEL, F. V., LEBRANCHU, Y. Supernatant from *Bifidobacterium* Differentially Modulates Transduction Signaling Pathways for Biological Functions of Human Dendritic Cells. **Plos One**, v. 3, n. 7, p. 1-10, 2008.

HOTEZ, P. J., FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and Infection**, v. 16, n. 8, p. 601-606, 2014.

HUMEM, M. A., ANTONI, G. L., BENYACOU, J., COSTAS, M. E., CARDOZO, M. I., KOZUBSKY, L., SAUDAN, K. Y., BRUAND, A. B., BLUM, S., SCHIFFRIN, E. J., PEREZ, P. F. *Lactobacillus johnsonii* La1 Antagonizes *Giardia intestinalis* In Vivo. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 2, p. 1265–1269, 2005.

IVANOV, I. I., MCKENZIE, B. S., ZHOU, L., TADOKORO, C. E., LEPELLEY, A., LAFAILLE, J. J., CUA, D. J., LITTMAN, D. R. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. **Cell**, v. 126, n. 6, p. 1121-1133, 2006.

JEZEWSKA-FRACKOWIAK, J., SEROCZYNSKA, K., BANASZCZYK, J., JEDRZEJCZAK, G., ZYLICZ-STACHULA, A. The promises and risks of probiotic *Bacillus* species. **Acta Biochimica Polonica**, v. 65, n. 4, p. 509-519, 2018.

JOÃO, Roberto Carlos Ferreira. ***Schistosoma mansoni* (trematoda: digenea) sambo, 1907: diagnóstico ultraestrutural e laboratorial**. 2011. Dissertação (Mestrado em Biologia parasitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

KANAYA, T., OHNO, H. The mechanisms of M-cell differentiation. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, v. 33, n. 3, p. 91-97, 2014.

KIM, H. G., KIM, N. R., GIM, M. G., LEE, J. M., LEE, S. Y., KO, M. Y., KIM, J. Y., HÁ, S. H., CHUNG, D., K. Lipoteichoic Acid Isolated from *Lactobacillus plantarum* Inhibits Lipopolysaccharide-Induced TNF- α Production in THP-1 Cells and Endotoxin Shock in Mice. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2553-2561, 2008.

KING, C. H., DICKMAN, K., TISCH, D. Reassessment of the cost of chronic helminth infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. **Lancet**, v. 365, n. 9470, p. 1561-1569, 2005.

KLOOS, H., CORREA-OLIVEIRA, R., QUITES, H. F. O., SOUZA, M. C. C., GAZZINELLI, A. Socioeconomic Studies of Schistosomiasis in Brazil: a Review. **Acta Tropica**, v. 108, n. (2-3), p. 194-201, 2008.

KLOOS, H., CORREA-OLIVEIRA, R., REIS, D. C., RODRIGUES, E. W., MONTEIRO, L. A. S., GAZZINELLI, A. The role of population movement in the epidemiology and control of schistosomiasis in Brazil: a preliminary typology of population movement. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 578-586, 2010.

KNIGHT, M., ITTIPRASERTI, W., ARICAN-GOKTAS, H. D., BRIDGER, J. M. Epigenetic modulation, stress and plasticity in susceptibility of the snail host, *Biomphalaria glabrata*, to *Schistosoma mansoni* infection. **International Journal of Parasitology**, v. 46, n. 7, p. 389-94, 2016.

KUEBUTORNYE, F. K. A., ABARIKE, E. D., LU, Y. A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 87, p. 820-828, 2019.

KUESTNER, R. E., TAFT, D. W., HARAN, A., BRANDT, C. S., BRENDER, T., LUM, K., HARDER, B., OKADA, S., OSTRANDER, C. D., KREINDLER, J. L., AUJLA, S. J., REARDON, B., MOORE, M., SHEA, P., SCHRECKHISE, R., BUKOWSKI, T. R., PRESNELL, S., LEWIS, P. G., NOVAK, J. P., ELLSWORTH, J. L., JASPERS, S., LEWIS, K. E., APPLEBY, M., KOLLS, J. K., RIXON, M., WEST, J. W., GAO, Z., LEVIN, S. D. Identification of the IL-17 Receptor Related Molecule IL-17RC as the Receptor for IL-17F. **J. Immunol**, v. 179, n. 8, p. 5462–5473, 2007.

LACET, C. M. C., NETO, J. B., RIBEIRO, L. T., OLIVEIRA, F. S., WYSZOMIRSKA, R. F., STRAUSS, E. Schistosomal portal hypertension: Randomized trial comparing endoscopic therapy alone or preceded by esophagogastric devascularization and splenectomy. **Annals of Hepatology**, v. 15, n. 5, p. 738-744, 2016.

LEBEER, S., VANDERLEYDEN, J., KEERSMAECKER, S. C. J. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 171-184, 2010.

LE POUL, E., LOISON, C., STRUYF, S., SPRINGAEL, J. Y., LANNOY, V., DECOBECQ, M. E., BREZILLON, S., DUPRIEZ, V., VASSART, G., DAMME, J. V., PARMENTIER, M., DETHEUX, M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 28, p 25481-25499, 2003.

LEE, N. K., KIM, W. S., PAIK, H. D. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. **Food Science Biotchnology**, v. 28, n. 5, p. 1297-1305, 2019.

LIAO, Y., WU, S., ZHOU, G., MEI, S., YANG, Z., LI, S., JIN, Z., DENG, Y., WEN, M., YANG, Y. Cellulolytic *Bacillus cereus* produces a variety of short-chain fatty acids and has potential as a probiotic. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. e0326723, 2024.

LICA, I. C. L., FRAZÃO, G. C. C. G., NOGUEIRA, R. A., LIRA, M. G. S., SANTOS, V. A. F., RODRIGUES, J. G. M., MIRANDA, G. S., CARVALHO, R. C., SILVA, L. A., GUERRA, R. N. M., NASCIMENTO, F. R. F. Immunological mechanisms involved in

macrophage activation and polarization in schistosomiasis. **Parasitology**, v. 150, n. 5, p. 401-415, 2023.

LIU, T. S., MUSCH, M. W., SUGI, K., REITZ, M. M. W., ROPELESKI, M. J., HENDRICKSON, B. A., POTHOUAKIS, C., LAMONT, J. T., CHANG, E. B. Protective role of HSP72 against *Clostridium difficile* toxin A-induced intestinal epithelial cell dysfunction. **American Journal of Physiology**, v. 284, n. 4, p. C1073-82, 2003.

LIU, B., QIAN, J., WANG, Q., WANG, F., MA, Z., QIAO, Y. Butyrate Protects Rat Liver against Total Hepatic Ischemia Reperfusion Injury with Bowel Congestion. **Plos One**, v. 9, n. 8, p. 1-8, 2014.

LOUIS, P., FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29-41, 2017.

LOVERD, P. T. Schistosomiasis. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1154, p. 47-70, 2019.

MACFARLANE, S., MACFARLANE, G. T. Regulation of Short-chain fatty acid production. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 1, p. 67-72, 2003.

MANGAN, P. R., HARRINGTON, L. E., O'QUINN, D. B., HELMS, W. S., BULLARD, D. C., ELSON, C. O., HATTON, R. D., WAHL, S. M., SCHOEB, T. R., WEAVER, C. T. Transforming growth factor- β induces development of the T(H)17 lineage. **Nature**, v. 441, n. 7090, p. 231-234, 2006.

MARKOWIAK, P., SLIZEWSKA, K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1-30, 2017.

MARTINS-MELO, F. R., JUNIOR, A. N. R., ALENCAR, C. H., HEUKELBACH, J. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil, 2000–2011. **Bull World Health Organ**, v. 94, n. 2, p. 103-110, 2016.

MARTINS-MELO, F. R., CARNEIRO, M., JUNIOR, A. N. R., HEUKELBACH, J., RIBEIRO, A. L. P., WERNECK, G. L. The burden of Neglected Tropical Diseases in Brazil, 1990-2016: A subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 6, p. 1-24, 2018.

MASI, B., BARBACARU, T. A. P., BERNARD, M., VIOLA, A. Clinical and Preclinical Imaging of Hepatosplenic Schistosomiasis. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 2, p. 206-221, 2020.

MATSUGUCHI, T., TAKAGI, A., MATSUZAKI, T., NAGAOKA, M., ISHIKAWA, K., YOKOKURA, T., YOSHIKAI, Y. Lipoteichoic Acids from *Lactobacillus* Strains Elicit Strong Tumor Necrosis Factor Alpha-Inducing Activities in Macrophages through Toll-Like Receptor 2. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 10, n. 2, p. 259-266, 2003.

MAYER, J. U., DEMIRI, M., AGACE, W. W., MACDONALD, A. S., FREJ, M. S., MILLING, S. W. Different populations of CD11b⁺ dendritic cells drive Th2 responses in the small intestine and colon. **Nature Communications**, v. 8, n. 15820, p. 1-12, 2017.

MEEVISSSEN, M. H. J., YAZDANBAKHSH, M., HOKKE, C. H. *Schistosoma mansoni* egg glycoproteins and C-type lectins of host immune cells: Molecular partners that shape immune responses. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 1, p. 14-21, 2012.

MELMAN, S. D., STEINAUER, M. L., CUNNINGHAM, C., KUBATKO, L. S., MWANGI, I. N., WYNN, N. B., MUTUKU, M. W., KARANJA, D. M. S., COLLEY, D. G., BLACK, C. L., SECOR, W. E., MKOJI, G. M., LOKER, E. S. Reduced susceptibility to praziquantel among naturally occurring Kenyan isolates of *Schistosoma mansoni*. **PLOS Negl Trop Dis**, v. 3, n. 8, p. e504, 2009.

MENARD, S., CANDALH, BAMBOU, J. C., TERPEND, K., BENSUSSAN, N. C., HEYMAN, M. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport. **Gut**, v. 53, n. 6, p. 821-828, 2004.

MENG, Y. C., JIANG, H. X., ZHANG, J. H., LU, Z. F., QIN, S. Y., NING, L., YANG, W. Activation of hepatocyte growth factor-induced apoptosis in hepatic stellate cells. **Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi**, v. 20, n. 9, p. 698-702, 2012.

MIETKE, H., BEER, W., SCHLEIF, J., SCHABERT, G., REISSBRODT, R. Differentiation between probiotic and wild-type *Bacillus cereus* isolates by antibiotic susceptibility test and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, n. 1, p. 57-60, 2010.

MILLIGAN, J. N., JOLLY, E. R. Cercarial transformation and *in vitro* cultivation of *Schistosoma mansoni* schistosomules. **Journal of Visualized Experiments**, v. 54, n. 3191, p. 1-4, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE/DATA-SUS. **Programa de Controle da Esquistossomose-Brasil**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinan/pce/cnv/pcebr.def>. Acesso em 09 mar. 2021.

MISHRA, P., COLOMBE, S., PAUL, N., MLINGI, J., TOSIRI, I., ARISTIDE, C., GAO, J., KASHANGAKI, P., NAGAI, H., KALLUVYA E., DOOD, C. J., CORSTJENS, P. L., MNGARA, J., DAM, G. J., DOWNS, J. A. Insufficiency of annual praziquantel treatment to control *Schistosoma mansoni* infections in adult women: A longitudinal cohort study in rural Tanzania. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 11, p. 1-14, 2019.

MORRISON, D. J., PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut Microbes**, v. 7, n. 3, p. 189-200, 2016.

NAKAMURA, S., KUDA, T., AN, C., KANNO, T., TAKAHASHI, H., KIMURA, B. Inhibitory effects of *Leuconostoc mesenteroides* 1RM3 isolated from narezushi, a

fermented fish with rice, on *Listeria monocytogenes* infection to Caco-2 cells and A/J mice. **Anaerobe**, v. 18, n. 1, p. 19-24, 2012.

NIELSEN, D. S., CHO, G. S., HANAK, A., HUCH, M., FRANZ, C. M. A. P., ARNEBORG, N. The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic *Listeria monocytogenes* single cells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 553-559, 2010.

NOYA, O., KATZ, N., POINTIER, J. P., THERON, A., NOYA, B. A. Schistosomiasis in America. **Neglected Tropical Diseases**, p. 11-43, 2015.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G., DAVID, E. B., RIBEIRO, C., GUIMARÃES, S., MASSENO, A. P. B., KATAGIRI, S., SEQUEIRA, J. L. Effect of *Bifidobacterium animalis* on mice infected with *Strongyloides venezuelensis*. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 56, n. 2, p. 105-109, 2014.

OZEN, M., DINLEYICI, E. C. The history of probiotics: the untold story. **Beneficial Microbes**, v. 6, n. 2, p. 159-165, 2015.

PAHO/WHO. **Defining a road map toward verification of elimination of schistosomiasis transmission in Latin America and the Caribbean by 2020**. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/pahowho-schistosomiasis-regional-meeting-defining-road-map-toward-verification-0> Acesso em: 10 fev. 2014.

PALOMINO, D. C. T., MARTI, L. C. Quimiocinas e Imunidade. **Revendo Ciências Básicas**, v. 13, n. 3, p. 469-473, 2015.

PEARCE, E. J., KANE, C. M., SUN, J., TAYLOR, J. J., MCKEE, A. S., CERVI, L. Th2 response polarization during infection with the helminth parasite *Schistosoma mansoni*. **Immunological Reviews**, v. 201, p. 117-126, 2008.

PELLEGRINO, J., SIQUEIRA, A. Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infestadas. **Rev. Brasileira de Malacologia e Doenças Trop**, v. 8, p. 589-597, 1956.

PELLEGRINO, J., OLIVEIRA, C. A., FARIA, J., CUNHA, A. S. New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v. 11, p. 201-215, 1962.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. **Plano Integrado de Ações para o Enfrentamento às Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco/ SANAR – 2015 – 2018**. 2015 / Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. – Recife: Secretaria Estadual de Saúde, 2015.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. **Programa para enfrentamento das Doenças Negligenciadas no estado de Pernambuco SANAR / 2019-2022**. Secretaria Estadual da Saúde. Secretaria

Executiva de Vigilância em Saúde. – 1º edição Recife: Secretaria Estadual de Saúde, 2019.

PETERSON, D. A., MCNULTY, N. P., GURUGE, J. L., GORDON, J. I. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. **Cell Host & Microbe**, v. 2, n. 5, p. 328-339, 2007.

PETERSON, N. A., HOKKE, C. H., DEELDER, A. M., YOSHINO, T. P. Glycotope analysis in miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*: Differential expression during the miracidium-to-sporocyst transformation. **International Journal Parasitol**, v. 39, n. 12, p. 1331-1344, 2009.

PHILLIPS, S. M., DICONZA, J. J., GOLD, J. A., REID, W. A. Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse. I. Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation, and host morbidity. **J. Immunol**, v. 118, n. 2, p. 594–599, 1977.

PINAUD, S., PORTELA, J., DUVAL, D., NOWACKI, F. C., OLIVE, M. A., ALLIENNE, J. F., GALINIER, R., DHEILLY, N. M., KIEFFER-JAQUINOD, S., MITTA, G., THÉRON, A., GOURBAL, B. A Shift from Cellular to Humoral Responses Contributes to Innate Immune Memory in the Vector Snail *Biomphalaria glabrata*. **PLOS Pathogen**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 2016.

POTTERS, I., DUFFEL, L. V., BROECKX, G., BOTTIEAU, E. Intestinal schistosomiasis: a very long-lived tropical parasite. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 6, p. 696-698, 2019.

RAD, A. H., MEHRABANY, E. V., ALIPOOR, B., MEHRABANY, L. V., JAVADI, M. Do probiotics act more efficiently in foods than in supplements?. **Nutrition**, v. 28, n. (7-8), p. 733-736, 2012.

RIAZ, Q. U. A., MASUD, T. Recent Trends and Applications of Encapsulating Materials for Probiotic Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 231-244, 2013.

ROCHA, R. E. T., JUNIOR, A. S. A. A., JUNIOR, N. C. P., NASCIMENTO, A. V., LEITE, N. M. S., OLIVEIRA, J. F., LIMA, M. C. A., FEITOSA, A. P. C., MELO, M. E. B., BRAYNER, F. A., ALVES, L. C. Synthesis, *in vitro* schistosomicidal activity and ultrastructural alterations caused by thiosemicarbazones and thiazolidinones against juvenile and adult *Schistosoma mansoni* worms (Sambon, 1907). **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 252, n.111520, p. 1-7, 2022.

RODRIGUEZ, E. V. A., NAPOLITANI, G., LANZAVECCHIA, A., SALLUSTO, F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. **Nat Immunol**, v. 8, n. 9, p. 942-949, 2007.

ROLLINSON, D., KNOPP, S., LEVITZ, S., STOTHARD, J. R., TCHUENTÉ, L. A. T., GARBA, A., MOHAMMED, K. A., SCHUR, N., PERSON, B., COLLEY, D. G., UTZINGER, J. Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. **Acta Tropica**, v. 128, n. 2, p. 423-440, 2013.

ROOCK, S., ELK, M., DIJK, M. E. A., TIMMERMAN, H. M., RIJKERS, G. T., PRAKKEN, B. J., HOEKSTRA, M. O., KLEER, I. M. Lactic acid bacteria differ in their ability to induce functional regulatory T cells in humans. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 40, n. 1, p. 103-110, 2010.

ROQUIS, D., TAUDT, A., GEYER, K. K., PADALINO, G., HOFFMANN, K. F., HOLROYd, N., BERRIMAN, M., ALIAGA, B., CHAPARRO, C., GRUNAU, C., AUGUSTO, R. C. Histone methylation changes are required for life cycle progression in the human parasite *Schistosoma mansoni*. **PLOS Pathogens**, v. 14, n. 5, p. 1-26, 2018.

RUTITZKY, L. I., ROSA, J. R. L., STADECKER, M. J. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. **The Journal of Immunology**, v. 175, n. 6, p. 3920-3926, 2005.

SACOLO-GWEBU, H., CHIMBARI, M., KALINDA, C. Prevalence and risk factors of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis among preschool aged children (1–5 years) in rural KwaZulu-Natal, South Africa: a cross-sectional study. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 8, n. 1, p. 47, 2019.

SANKARARAMAN, S., VELAYUTHAN. *Bacillus cereus*. **Pediatrics in Review**, v. 34, n. 4, p. 195-198, 2013.

SANTANA, J. B., ALMEIDA, T. V. V. S., LOPES, D. M., PAGE, B., OLIVEIRA, S. C., SOUZA, I., RIBEIRO, L. E. V. S., GUTIERREZ, N. A. G., CARVALHO, E. M., CARDOSO, L. S. Phenotypic Characterization of CD4⁺ T Lymphocytes in Periportal Fibrosis Secondary to Schistosomiasis. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. 605235, p. 1-10 2021.

SANTOS, Victor Hugo Barbosa dos. **Avaliação da Atividade Esquistossomicida da Associação β -lapachona/Praziquantel**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2018.

SANTOS, I. C., LOPES, S. R., TEIXEIRA, M., MARTINS, C., GONÇALVES, M., ALVES, A. L. The lucky polyp: an unusual manifestation of chronic schistosomiasis. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**. p. 1-5, 2024.

SARJAPURAM, N., MEKALA, N., SINGH, M., TATU, U. The Potential of *Lactobacillus casei* and *Enterococcus faecium* Combination as a Preventive Probiotic Against *Entamoeba*. **Probiotics & Antimicro. Prot**, v. 9, n. 2, p. 142–149, 2017.

SATO, A., IWASAKI, A. Peyer's patch dendritic cells as regulators of mucosal adaptive immunity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, n. 12, p. 1333-1338, 2005.

SCHWARTZ, C., FALLON, P. G. *Schistosoma* "Eggs-lting" the Host: Granuloma Formation and Egg Excretion. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. 2492, p. 1-16, 2018.

SILVA, P. B., BARBOSA, C. S. Aspectos físico-químicos e biológicos relacionados à ocorrência de *Biomphalaria glabrata* em focos litorâneos da esquistossomose em Pernambuco. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 901-906, 2006.

SILVA, V. B. R., CAMPOS, B. R. K. L., OLIVEIRA, J. F., DECOUT, J. L., LIMA, M. C. A. Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxfamiquine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 3259–3277, 2017.

SOARES, G. G. C., MARINHO, C. H., PITOL, R., ANDRETTA, C., OLIVEIRA, E., MARTINS, C., RIELLA, M. C. Sporulated *Bacillus* as alternative treatment for diarrhea of hospitalized adult patients under enteral nutrition: A pilot randomized controlled study. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 22, p. 13-18, 2017.

SOE, H. Z., OO, C. C., MYAT, T. O., MAUNG, N., S. Detection of Schistosoma Antibodies and exploration of associated factors among local residents around Inlay Lake, Southern Shan State, Myanmar. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2017.

SOUGIOULTZIS, S., SIMEONIDIS, S., BHASKAR, K. R., CHEN, X., ANTON, P. M., KEATES, S., POTHOUKAKIS, C., KELLY, C. P. *Saccharomyces boulardii* produces a soluble anti-inflammatory factor that inhibits NF- κ B-mediated IL-8 gene expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 343, n. 1, p. 69-76, 2006.

SOUZA, F. P. C., VITORINO, R. R., COSTA, A. P., JUNIOR, F. C. F., SANTANA, L. A., GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: Aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Revista Brasileira Clínica Médica**, v. 9, n. 4, 300-307, 2011.

SOUZA, R. P., FAVERO, V., PASCOAL, V. F., LINDHOLZ, C., BITTENCOURT, H. R., GRAEFF-TEIXEIRA, C. Criteria for identification of *Schistosoma mansoni* eggs in faecal sediments prepared with the Helmintex method and stained by ninhydrin. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 114, p. 1-3, 2019.

SOUZA, I. S. M., PEREIRA, L. M. A., NEVES, S. N., FARIAS, D. S., INOCÊNCIO, J. S., NETO, L. M. L., DIAS, J. A. B., JUNIOR, A. C. V., GONÇALVES, D. J., PEREIRA, H. N., J. G. S. Atualização sobre a esquistossomose mansônica no Brasil: uma revisão integrativa. **Research Society and Development**, v. 2, n. 5, p. 1-12, 2023.

STADECKER, M. J., ASahi, H., FINGER, E., HERNANDEZ, H. J., RUTITZKY, L. I., SUN, J. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. **Immunological Reviews**, v. 201, p. 168-179, 2004.

SUTTON, C., BRERETON, C., KEOGH, B., MILLS, K. H. G., LAVELLE, E. C. A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 7, p. 1685-1691, 2006.

TAFT, A. S., VERMEIRE, J. J., BERNIER, J., BIRKELAND, S. R., CIPRIANO, M. J., PAPA, A. R., MCARTHUR, A. G., YOSHINO, T. P. Transcriptome analysis of *Schistosoma mansoni* larval development using serial analysis of gene expression (SAGE). **Parasitology**, v. 136, n. 5, p. 469-485, 2009.

TAFT, A. S., YOSHINO, T. P. Cloning and functional characterization of two calmodulin genes during larval development in the parasitic flatworm *schistosoma mansoni*. **Journal Parasitol**, v. 97, n. 1, p. 72-81, 2011.

TAKAKI, K. K., RINALDI, G., BERRIMAN, M., PAGAN, A. J., RAMAKRISHNAN, L. *Schistosoma mansoni* Eggs Modulate the Timing of Granuloma Formation to Promote Transmission. **Cell Host Microbe**, v. 29, n. 1, p. 58-67, 2021.

TAO, Y., DRABIK, K. A., WAYPA, T. S., MUSCH, M. W., ALVERDY, J. C., SCHNEEWIND, O., CHANG, E. B., PETROF, E. O. Soluble factors from *Lactobacillus* GG activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells. **American Journal of Physiology**, v. 290, n. 4, p. 1018-1030, 2006.

TCHUENTÉ, L. A. T., ROLLINSON, D., STOTHARD, J. R., MOLYNEUX, D. Moving from control to elimination of schistosomiasis in sub-Saharan Africa: time to change and adapt strategies. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 42, p. 1-14, 2017.

TESMER, L. A., LUNDY, S. K., SARKAR, S., FOX, D. A. Th17 cells in human disease. **Immunol Ver**, v. 223, p. 87–113, 2008.

THOMAS, C. M., VERSALOVIC, J. Probiotics-host communication Modulation: of signaling pathways in the intestine. **Gut microbes**, v. 1 n. 3, p. 148-163, 2010.

TODORIKI, K., MUKAI, T., SATO, S., TOBA, T. Inhibition of adhesion of food-borne pathogens to Caco-2 cells by *Lactobacillus* strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 1, p. 154-159, 2001.

TSAI, C. C., LIN, P. P., HSIEH, Y. M. Three *Lactobacillus* strains from healthy infant stool inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* grown in vitro. **Anaerobe**, v. 14, n. 2, p. 61-67, 2008.

TURNER, J. D., JENKINS, G. R., HOGG, K. G., AYNSLEY, S. A., PAVELEY, R. A., COOK, P. C., COLES, M. C., MOUNTFORD, A. P. CD4+CD25+ Regulatory Cells Contribute to the Regulation of Colonic Th2 Granulomatous Pathology Caused by Schistosome Infection. **PLOS Negl. Trop. Dis**, v. 5, n. 8, p. 1-11, 2011.

VALE, N., GOUVEIA, M. J., RINALDI, G., BRINDLEY, P. J., GARTNER, F., COSTA, J. M. C. Praziquantel for Schistosomiasis: Single-Drug Metabolism Revisited, Mode of Action, and Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, p. 1-16, 2017.

VANDENPLAS, Y., HUYS, G., DAUBE, G. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 1, p. 6-21, 2015.

VEIGA, Z. S. T., FERNANDES, F. F., GUIMARÃES, L., PIEDADE, J., PEREIRA, G. H. S. Natural History of Hepatosplenic Schistosomiasis (HSS) Non–Cirrhotic Portal Hypertension (NCPH): Influence of Gastrointestinal Bleeding and Decompensation in Prognosis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 3, p. 1-12, 2023.

VIDIC, J., CHAIX, C., MANZANO, M., HEYNDRIKX, M. Food Sensing: Detection of *Bacillus cereus* Spores in Dairy Products. **Biosensors**, v. 10, n. 3, p. 1-16, 2020.

VINDEROLA, G., MATAR, C., PERDIGON, G. Role of Intestinal Epithelial Cells in Immune Effects Mediated by Gram-Positive Probiotic Bacteria: Involvement of Toll-Like Receptors. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 12, n. 9, p. 1075-1084, 2005.

VYDIA, M. K., KUMAR, V. G., SEJIAN, V., BAGATH, M., KRISHNAN, G., BHATTA, R. Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. **International Reviews Of Immunology**, v. 37, n. 1, p. 20-36, 2018.

WALCHER, D. L, CRUZ, L. A. X., TELMO, P. L., MARTINS, L. H. R., AVILA, L. F. C., BERNE, M. E. A., SCAINI, C. J. *Lactobacillus rhamnosus* reduces parasite load on *Toxocara canis* experimental infection in mice, but has no effect on the parasite in vitro. **Parasitology Research**, v. 117, n. 2, p. 597-602, 2018.

WANG, B., LEE, J., LI, P., SABERI, A., YANG, H., LIU, C., ZHAO, M., NEWMARK, P. A. Stem cell heterogeneity drives the parasitic life cycle of *Schistosoma mansoni*. **eLifeSciences**, v. 7, n. 35449, p. 1-23, 2018.

WANG, H. B., WANG, P. Y., WANG, X., WAN, Y. L., LIU, Y. C. Butyrate Enhances Intestinal Epithelial Barrier Function via Up-Regulation of Tight Junction Protein Claudin-1 Transcription. **Digestive Disease and Science**, v. 57, n. 12, p. 3126-3135, 2012.

WANG, W., WANG, L. e LIANG, Y. S. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. **Parasitol. Res**, v. 111, n. 5, p. 1871-1877, 2012.

WILSON, M. S., KANE, M. M. M., PESCE, J. T., RAMALINGAM, T. R., THOMPSON, R., WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis. **Immuno Cell Biol**, v. 85, n. 2, p. 148-154, 2007.

WILSON, R. A., COULSON, P. S. Immune effector mechanisms against schistosomiasis: looking for a chink in the parasite's armour. **Trends Parasitol**, v. 25, n. 9, p. 423-431, 2009.

WILSON, R. A. The saga of schistosome migration and attrition. **Parasitology**, v. 136, n.12, p. 1581-1592, 2009.

WILSON, R. A., COULSON, P. S. Immune effector mechanisms against schistosomiasis: looking for a chink in the parasite's armour. **Trends Parasitology**, v. 25, n. 9, p. 423–431, 2009.

WINKELMANN, F., SALAZAR, M. G., HENTSCHKER, C., MICHALIK, S., MACHÁČEK, T., SCHARF, C., REISINGER, E. C., VOLKER, U., SOMBETZKI, M. Comparative proteome analysis of the tegument of male and female adult *Schistosoma mansoni*. **Nature: Scientific Report**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2022.

World Health Organization (WHO). **Weekly epidemiological record**, v. 94, p. 601-612, 2019.

WHO. World Health Organization. **Schistosomiasis**. Disponível em: <https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/schistosomiasis#:~:text=Schistosomiasis%20is%20an%20acute%20and%20chronic%20parasitic%20disease%20caused%20by,will%20reduce%20and%20prevent%20morbidity>. Acesso em: 10 fev. 2024.

WRIGHT, J. F., GUO, Y., QUAZI, A., LUXENBERG, D. P., BENNETT, F., ROSS, J. F., QIU, Y., WHITTERS, M. J., TOMKINSON, K. N., JOANNOPOULOS, K. D., CARRENO, B. M., COLLINS, M., WOLFMAN, N. M. Identification of an Interleukin 17F/17A Heterodimer in Activated Human CD4₊T Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 18, p. 13447-13455, 2007.

YANG, G., TIAN, X., DONG, S., PENG, M., WANG, D. Effects of dietary *Bacillus cereus* G19, *B. cereus* BC-01, and *Paracoccus marcusii* DB11 supplementation on the growth, immune response, and expression of immune-related genes in coelomocytes and intestine of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 45, n. 2, p. 800-807, 2015.

YEH, Y. T., ÁLAMO, J. C. D., CAFFREY, R. Biomechanics of parasite migration within hosts. **Trends in Parasitology**, v. 40, n. 2, p. 165-175, 2024.

ZHANG, Y., CHEN, L., GAO, W., HOU, X., GU, Y., GUI, L., HUANG, D., LIU, M., REN, C., WANG, S., SHEN, J. IL-17 neutralization significantly ameliorates hepatic granulomatous inflammation and liver damage in *Schistosoma japonicum* infected mice. **European Journal of Immunology**, v. 42, n. 6, p. 1523–1535, 2012.

ZHAO, Y., YUAN, L., WAN, J., SUN, Z., WANG, Y., SUN, H. Effects of potential probiotic *Bacillus cereus* EN25 on growth, immunity and disease resistance of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. **Fish and shellfish Immunology**, v. 49, p. 237-242, 2016.

ZHOU, Y. B., LIANG, S., CHEN, G. X., REA, C., HE, Z. G., ZHANG, Z. J., WEI, J. G., ZHAO, G. M., JIANG, Q. W. An Integrated Strategy for Transmission Control of *Schistosoma japonicum* in a Marshland Area of China: Findings from a Five-Year Longitudinal Survey and Mathematical Modeling. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 85, n. 1, p. 83-88, 2011.

ZONI, A. C., CATALÁ, L., AULT, S. K. Schistosomiasis Prevalence and Intensity of Infection in Latin America and the Caribbean Countries, 1942-2014: A Systematic Review in the Context of a Regional Elimination Goal. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. 1-22, 2016.

APÊNDICE A- EFFECTS OF THE PROBIOTIC *BACILLUS CEREUS* GM ON EXPERIMENTAL SCHISTOSOMIASIS MANSONI

Parasitology Research (2024) 123:72
<https://doi.org/10.1007/s00436-023-08090-0>

RESEARCH



Effects of the probiotic *Bacillus cereus* GM on experimental schistosomiasis mansoni

Victor Hugo Barbosa dos Santos^{1,2} · Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes^{2,3} · Renan Andrade Fernandes de Souza^{1,2} · Raul Penaforte Correia da Silva¹ · Maria da Conceição Silva¹ · Lucas Vinícius Moreira de Andrade¹ · Valdenia Maria de Souza Oliveira^{1,4} · Mario Ribeiro de Melo-Júnior⁵ · Vláudia Maria Assis Costa^{1,5} · Virginia Maria de Barros Lorena⁶ · Hallysson Douglas Andrade de Araújo^{1,7} · André de Lima Aires^{1,8} · Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque^{1,2,8}

Received: 26 September 2023 / Accepted: 9 December 2023 / Published online: 27 December 2023
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2023

Abstract

Probiotics contribute to the integrity of the intestinal mucosa and preventing dysbiosis caused by opportunistic pathogens, such as intestinal helminths. *Bacillus cereus* GM obtained from Biovicerin® was cultured to obtain spores for in vivo evaluation on experimental schistosomiasis. The assay was performed for 90 days, where all animals were infected with 50 cercariae of *Schistosoma mansoni* on the 15th day. Three experimental groups were formed, as follows: G1—saline solution from the 1st until the 90th day; G2—*B. cereus* GM (10⁵ spores in 300 µL of sterile saline) from the 1st until the 90th day; and G3—*B. cereus* GM 35th day (onset of oviposition) until the 90th day. G2 showed a significant reduction of 43.4% of total worms, 48.8% of female worms and 42.5% of eggs in the liver tissue. In G3, the reduction was 25.2%, 29.1%, and 44% of the total number of worms, female worms, and eggs in the liver tissue, respectively. G2 and G3 showed a 25% ($p < 0.001$) and 22% ($p < 0.001$) reduction in AST levels, respectively, but ALT levels did not change. ALP levels were reduced by 23% ($p < 0.001$) in the G2 group, but not in the G3. The average volume of granulomas reduced ($p < 0.0001$) 65.2% and 46.3% in the liver tissue and 83.0% and 53.2% in the intestine, respectively, in groups G2 and G3. Th1 profile cytokine (IFN- γ , TNF- α , and IL-6) and IL-17 were significantly increased ($p < 0.001$) stimulated with *B. cereus* GM in groups G2 and G3. IL-4 showed significant values when the stimulus was mediated by ConA. By modulating the immune response, *B. cereus* GM reduced the burden of worms, improved some markers of liver function, and reduced the granulomatous inflammatory reaction in mice infected with *S. mansoni*, especially when administered before infection.

Keywords Probiotic · *Bacillus cereus* · Schistosomiasis · *Schistosoma mansoni* · Immunomodulation

Handling Editor: Una Ryan

✉ Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque
monica.aalbuquerque@ufpe.br

¹ Instituto Keizo Asami (iLIKA), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

³ Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁴ Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁵ Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁶ Instituto Aggeu Magalhães, Laboratório de Imunologia, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, PE, Brazil

⁷ Laboratório de Biotecnologia e Fármacos e Laboratório de Tecnologia de Biomateriais - Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁸ Centro de Ciências Médicas, Área Acadêmica de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

Introduction

Schistosomiasis is a parasitic disease endemic to tropical and subtropical countries with acute and chronic repercussions caused by fluke worms of the genus *Schistosoma* (Shams et al. 2022). Currently, 78 countries have records of the disease, and it is estimated that 251.4 million people will need preventive chemotherapy in 2021 (World Health Organization 2023).

Schistosoma mansoni, *S. japonicum*, *S. mekongi*, and *S. intercalatum* are the most prevalent species of medical interest that cause intestinal schistosomiasis, while *S. haematobium* is responsible for urogenital schistosomiasis. *S. mansoni* is the most prevalent species on the African continent and the only one present in Central and South America (Dejon-Agobé et al. 2022; World Health Organization 2023).

With *Schistosoma mansoni*, the inflammatory and granulomatous response to egg antigens results in fibrosis and functional impairment of the hepatosplenic and gastrointestinal systems, the severity of which is related to the parasite load over time of infection and the host's immune response (Colley and Secor 2014; LoVerde 2019). The disease is largely triggered by cellular immune responses and generation of cytokine patterns, during different stages of the parasite life cycle in the course of infection (Pearce and MacDonald 2002).

Treatment for schistosomiasis is performed by administering praziquantel (PZQ), the drug of choice for over 40 years (Siqueira et al. 2017). Although safe in terms of toxicity and effective against adult worms, it is ineffective against young worms, does not protect patients from re-infections, and there are reports of worm resistance and does not manifest antifibrotic and anti-inflammatory activities at antiparasitic concentrations (Couto et al. 2011; Thetiot-Laurent 2013; Vimieiro et al. 2013; Vale et al. 2017).

Given the limitations of PZQ, our group works to evaluate new therapeutic alternatives for schistosomiasis (Soares et al. 2023; Araújo et al. 2020; Araújo et al. 2019a, Silva et al. 2018). One of them is the administration of probiotics (Cruz et al. 2022).

Probiotics are defined as "live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer some benefit to the host" (Hill et al. 2014). Probiotics exert their effects through mechanisms such as maintaining intestinal integrity through short-chain fatty acid metabolism (Wang et al. 2012; Bhat et al. 2019), anti-inflammatory action (Liu et al. 2014), increased mucin production, inhibition of adhesion of gastrointestinal pathogens (Servin 2004; Bermudez-Brito et al. 2012), and immunomodulation through Toll-like receptors (Vinderola et al. 2005; Thomas and Versalovic 2010).

Lactic acid-producing bacteria (*Lactobacillus* and *Bifidobacterium*), spore-forming bacteria (*Bacillus*), and

Yeasts (*Saccharomyces*) are part of the main groups of probiotic microorganisms (Azad et al. 2018).

Probiotics obtained from the genus *Bacillus* are responsible for numerous beneficial effects in humans (Meroni et al. 1983; Hoa et al. 2000; Cutting 2011; Plaza-Diaz et al. 2014; Kadaikunnan et al. 2015; Elshagabee et al. 2017; Piewngam et al. 2018). Because they are sporulated, these bacteria resist stomach pH and bile, and because of their rapid germination, they easily colonize the intestine (Jeżewska-Frackowiak et al. 2018).

B. cereus is known to cause food poisoning and to be responsible to produce enterotoxins causing emetic and diarrheal conditions (Sankararaman and Velayuthan 2013). However, it is known that certain strains of *Bacillus cereus* do not carry the gene (PanC III) involved in the production of the cereulide toxin (Ehling-Schulz et al. 2005; Guinebreière et al. 2010; Heini et al. 2018).

Strains of *B. cereus* with probiotic characteristics have been described and are marketed for human consumption in the prophylaxis of intestinal dysbiosis, treatment of bacterial diarrhea of various etiologies and as an adjuvant to antibiotic therapy (Hong et al. 2005).

In pioneering works carried out by Guida and Guida (1978) antiparasitic activity of strains of *B. cereus*, *B. megaterium*, and *B. intermedius* was observed. The schistosomicidal activity of *B. amyloliquefaciens* was also observed by these authors after treatment with the spore suspension for 4 to 10 months.

Currently, other probiotics have demonstrated activity against protozoa and helminths. Studies point to activities against *Giardia lamblia* (Perrucci et al. 2019), *Cryptosporidium* (Foster et al. 2003; Glass et al. 2004), *Entamoeba histolytica* (Rigothier et al. 1994; Mohamed et al. 2015), *Toxocara canis* (De Avila et al. 2016), *Strongyloides venezuelensis* (Oliveira-Sequeira et al. 2014), *Trichinella spiralis* (Bautista-Garfias et al. 2001), and *S. mansoni* (Teixeira et al. 1996; Santos et al. 2004; Mohamed et al. 2016; Cruz et al. 2022).

In view of the antiparasitic properties attributed to probiotics, the aim of the present study was to determine, for the first time, the activity of *B. cereus* strain GM marketed in Brazil as Biovicerin® on experimental schistosomiasis *mansoni*, analyzing parasitological, histopathological, and immunological parameters.

Materials and methods

B. cereus GM culture and standardization of spore suspension

The spores of *B. cereus* GM strain were obtained from Biovicerin® (Geyer Medicamentos SA, Porto Alegre, RS, Brazil)

Lot 19,009,051. Two vials (5 mL) containing 10^6 spores were added to 390 mL of tryptic soy broth, incubated for 72 h at 35 °C. Then, this culture was heated at 75 °C for 10 min and centrifuged at 4000g for 30 min, to concentrate the spores. The precipitate was washed twice with saline and seeded on Mueller Hinton agar for enumeration of Colony Forming Units (CFU/mL), and the spores were counted in hemocytometer according to methodology described by Vidic et al. (2020). The suspensions were standardized in 10^6 spores/mL, pipetted into individual vials, and hermetically closed and kept refrigerated at 4 °C until administration.

Ethical considerations, animal infection, and formation of experimental groups

Female Swiss Webster mice (*Mus musculus*), 30 days old and weighing 28 ± 2 g, were obtained, and maintained in the vivarium of the Keizo Asami Institute (iLIKA) of the Federal University of Pernambuco (UFPE, Brazil), according to standard conditions breeding season 23 ± 2 °C, humidity 40–50% and light/dark photoperiod of 12 h with water and food (Labina®) ad libitum.

The animals were infected percutaneously (Olivier and Stirewalt 1952) with 50 cercariae of *S. mansoni* (strain BH – Belo Horizonte, Brazil). Three experimental groups were formed, with 10 animals each, as observed in Fig. 1.

B. cereus GM was administered daily by gavage dose of 10^5 spores in 300 µL of sterile saline solution/mice/day based on the study by Guida and Guida (1978). All mice were euthanized by cervical dislocation 90 days after the beginning of the experiment.

The experimental protocols were approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of the Biosciences

Center of the Federal University of Pernambuco (CEUA/UFPE) through process no. 23076.015035/2018-01.

Evaluation of parasitological parameters

Counting of recovered worms

Worms were recovered from the hepatic portal system and mesenteric vessels by perfusion with sterile saline solution (0.9% NaCl w/v), counted, and classified (couples or females) using the technique described by Smithers and Terry (1965). The percentage reduction in the number of worms after treatment was calculated according to the equation: % reduction = $C - V/C \times 100$, where C = mean number of worms recovered from untreated infected animals and V = mean number of worms recovered from treated animals (Tendler et al. 1968).

Oogram pattern

Three fragments of the small intestine, measuring 3 cm, were cut longitudinally, and used to evaluate the development of eggs according to the classification described by Pellegrino et al. (1962) as immature, mature, and dead.

Quantification of eggs in liver tissue

To estimate the number of eggs per gram of liver tissue, liver fragments were collected and processed according to the liver digestion technique in potassium hydroxide (KOH 4%) as described by Cheever (1968).

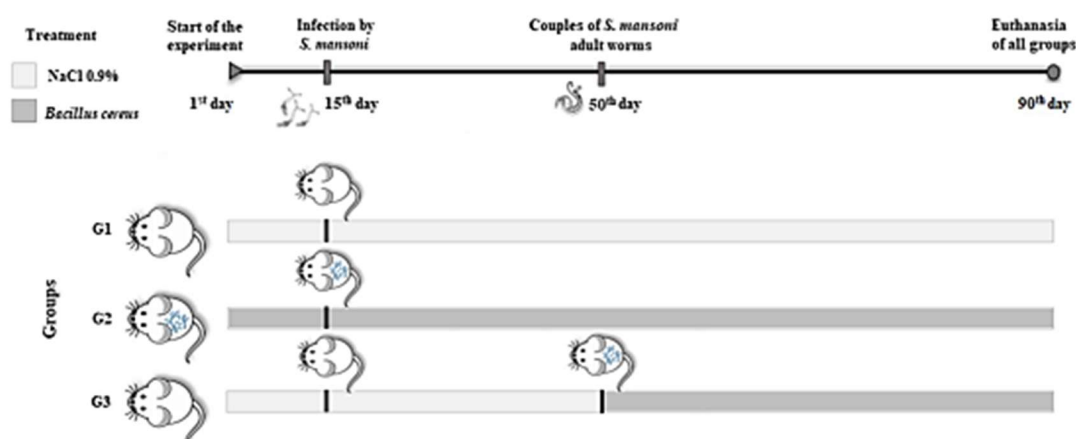


Fig. 1 Experimental drawing. The infected animals in G1 (control) received saline solution (NaCl 0.9% w/v) 15 days before infection and continued to receive it until the 90th day of experimentation; G2—animals received *B. cereus* GM 15 days before infection and contin-

ued to receive it until the 90th day of experimentation; G3—animals received *B. cereus* GM from the 35th day of infection (beginning of oviposition by *S. mansoni*) until the 90th day of experimentation (40 days of therapeutic intervention)

Biochemical dosage of liver markers

For the determination of serum concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and gamma-glutamyl transferase (γ -GT), blood was collected by cardiac puncture (Araújo et al. 2019b) and transferred into eppendorfs tubes, which were centrifuged to separate the serum (Mazzaccara et al. 2008). Non-infected mice were introduced as healthy controls, and the values obtained served as a reference. The dosages of AST (Batch 0103), ALT (Batch 0101), γ -GT (Batch 0060), and ALP (Batch 0006) were performed using reagents from Bioclin (Brazil). The protocols for processing and reading the samples were performed as recommended by the manufacturer.

Histopathology and morphometry of hepatic and intestinal granuloma

Liver and intestine fragments, removed from the central part of the left lobe and the middle portion of the small intestine, respectively, were fixed in 10% buffered formaldehyde in PBS, embedded in paraffin to obtain histological sections with 5- μ m thickness for subsequent staining with Masson's trichrome (TM). Six random fields per sample were used for histopathological evaluation and determination of mean granuloma volume. Initially, in granulomas containing eggs or traces of a central egg, two diameters perpendicular to the mean transmittal level of all granulomas were measured to determine the mean diameter (Phillips et al. 1977). Considering the spherical shape of the granulomas, the radii obtained from their diameters were used to calculate the volume of the sphere, thus obtaining the volume of the granulomas, using the following formula: $V = 4/3\pi R^3$, where R = radius; $\pi = 3.14$ (Femoe et al. 2022; Aires et al., 2023). Images were captured using an optical microscope (Leica®) connected to a digital camera (Nikon®) and a computer running analysis software (Motic Images Plus 2.0 MLTM).

Cytokine levels in spleen culture

Splenocyte cultures were performed in RPMI 1640 medium (Sigma-Aldrich®) with fetal bovine serum and cell viability was observed after staining with Trypan Blue (10%). The cultures were maintained in RPMI medium characterizing the absence of any mitogens and under stimuli of Concanavalin A (5 μ g/mL) and spores of *B. cereus* (10⁶/mL). The TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-2, IL-4, and IL-17A levels from spleen cells culture were measured with cytometric bead array (CBA) using the CBA mouse Th1/Th2/Th17 Kit, according to manufacturer's instructions. Data were acquired in a Becton Dickinson FACScalibur flow cytometer and analyses performed using FCAP array software v 3.0 (BD

Bioscience). The results were expressed as mean fluorescence intensity (MFI), and cytokine levels are represented as mean ($\pm$ standard deviation) pg/mL.

Statistical analysis

Quantitative variables were expressed as mean and standard deviation, qualitative variables as absolute and relative frequencies. To compare the results obtained between the different groups, the data were analyzed by analysis of variance—ANOVA, with the aid of the GraphPad Prism 5.0 software, considering the significance level ($p < 0.05$) for all cases.

Results

Effect of *B. cereus* GM on parasitological parameters

In mice treated with *B. cereus* GM 15 days before infection (G2) or after 35 days of infection (G3), there was a significant reduction in the worm burden and in the number of eggs retained in the liver tissue compared to infected mice (G1). When *B. cereus* GM was administered to animals in the G2 group, there was a reduction of 43.5% ($p < 0.001$) and 48.8% ($p < 0.05$) of total and female worms, respectively (Fig. 2A) and reduction in the number of eggs in the liver tissue of 42.5% ($p < 0.01$) (Fig. 2B). In the animals of the G3 group, the reduction in the total loads of worms and females was 25.2% ($p < 0.05$) and 29.1%, respectively (Fig. 2A), and a reduction in the number of eggs in the hepatic tissue of 44% ($p < 0.01$) (Fig. 2B). The oogram pattern has not been changed by the *B. cereus* GM. All egg stages (immature, mature, and dead) were visualized on the intestinal wall and showed no significant difference when compared to the control (Fig. 2C).

Effect of *B. cereus* GM on some parameters of the liver function

To determine the impact of *B. cereus* GM on the change in liver function induced by *S. mansoni* infection, transaminase (ALT, AST), ALP, and γ -GT activities were measured in serum. Results are expressed in Table 1. ALT, AST, ALP, and γ -GT levels were significantly increased ($p < 0.001$) in the infected control group (G1) compared to the healthy group. The treated groups G2 and G3 showed a reduction in AST levels of 25% ($p < 0.001$) and 22% ($p < 0.001$), respectively, compared to the G1 group. However, ALT levels showed no reduction. Alkaline phosphatase levels were reduced by 23% ($p < 0.001$) in the G2 group, but not reduced in the G3 group. The levels of the γ -GT enzyme showed a

Fig. 2 Effect of *B. cereus* GM (10^5 spores in 300 μ L) in mice infected with *S. mansoni* in two therapeutic regimens, starting 15 days before infection until the end of the experiment (G2) and starting 35 days after infection until the end of the experiment (G3) compared to the control group (G1). **A** Parasite burden, where the letters A in groups G1–G3 correspond to total worms and B to female worms. **B** number of eggs trapped in liver tissue and **C** oogram pattern

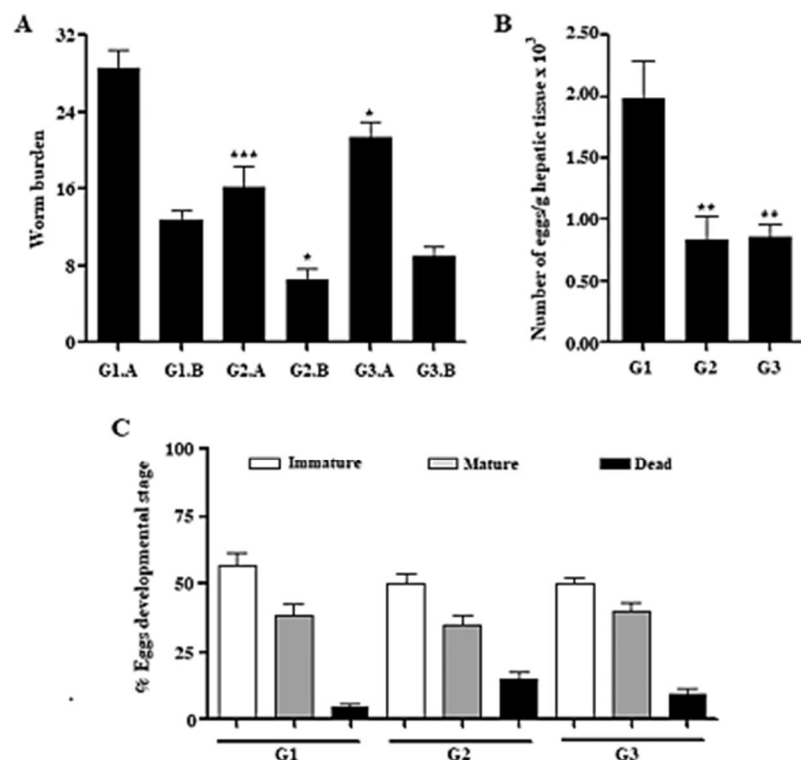


Table 1 Measurements of biochemical markers of liver function

Group	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	γ -GT (U/L)
Healthy noninfected control	35.4 $\pm$ 6.8	20.8 $\pm$ 5.4	44.4 $\pm$ 4.9	5.1 $\pm$ 0.6
G1—infected control	74.9 $\pm$ 5.1 ***	40.2 $\pm$ 4.2 ***	57.8 $\pm$ 2.0 ***	8.3 $\pm$ 1.2 ***
G2—treated before infection	56.2 $\pm$ 6.7 *** ^a	38.8 $\pm$ 7.5 ***	44.6 $\pm$ 2.9 ^{a, b}	6.6 $\pm$ 1.5
G3—treated 35 days after infection	58.7 $\pm$ 4.7 *** ^a	39.5 $\pm$ 6.4 ***	57.3 $\pm$ 4.3 ***	7.4 $\pm$ 2.4 **

Data are expressed as means $\pm$ standard deviations. ANOVA followed by Tukey multiple comparison test was also used for statistical analysis

** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$: values are significantly different from those of uninfected mice (healthy noninfected control group)

^a $p < 0.001$: values are significantly different from those of infected mice (G1)

^b $p < 0.001$: values are significantly different from those of infected mice treated 35 days after infection (G3)

reduction when compared to the G1 group, but it was not statistically significant.

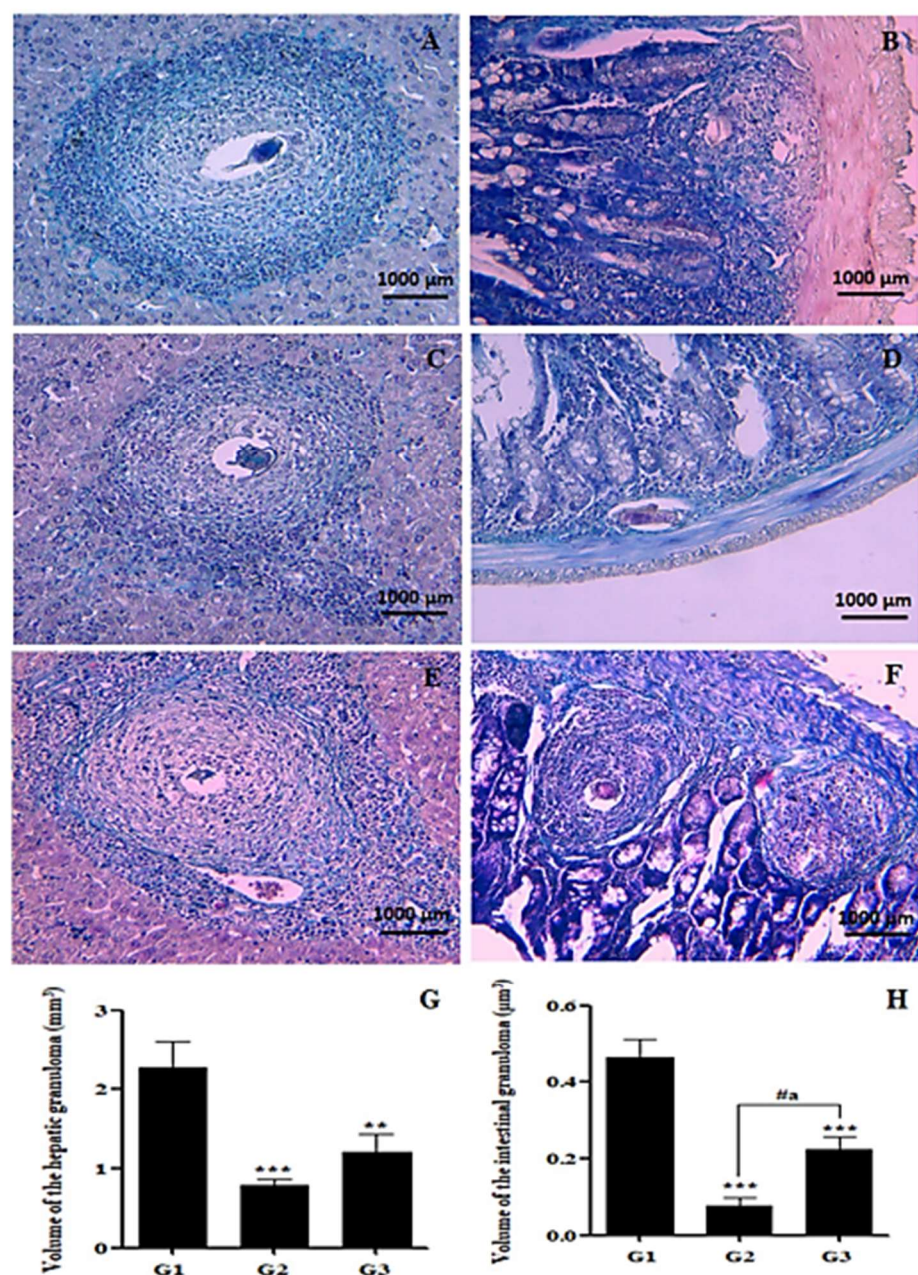
Effect of the *B. cereus* GM on schistosomal granuloma

Through morphometric analysis, it was possible to verify significant differences in the mean volumes of periportal granulomas, present in the liver and intestine of animals treated with *B. cereus* GM before infection (G2) and from the 35th day of infection (G3), when compared to untreated animals (G1) (Fig. 3).

Periportal granulomas present in the liver of animals in group G1 had a mean volume of 2.3 ± 0.7 mm³, while in

treated animals, it was 0.8 ± 0.4 mm³ and 1.2 ± 0.7 mm³ in groups G2 and G3, respectively. These numbers reveal a significant reduction in the average volume of granulomas of 65.2% ($p < 0.0001$) in G2 and 46.3% in G3 when compared to G1. The average volume of granulomas in the intestine was 0.5 ± 0.1 mm³, 0.1 ± 0.03 mm³, and 0.2 ± 0.1 mm³ in groups G1, G2, and G3, respectively. With a significant reduction ($p < 0.0001$) in the treated groups G2 (83.0%) and G3 (53.2%) when compared to the G1 group, a significant difference was also observed between the treated groups, with an average volume of granulomas 2.7 times smaller in the G2 group. Evaluating the histopathological profile of the hepatic tissue and intestinal mucosa, a typical chronic inflammatory infiltrate is observed in both tissues,

Fig. 3 Histological sections of liver and intestinal tissue from mice infected with *S. mansoni* and treated with *B. cereus* GM (10^5 spores in 300 μ L), showing periovular granulomas stained with Masson trichrome and mean volume of granulomas (graph). A, C, E, and G Liver tissue and B, D, F, and H intestinal tissue. A, B Control saline solution (G1); C, D treated 15 days before infection until the end of the experiment (G2); E, F treated on the 35th day after infection until the end of the experiment (G3); G, H mean volume of granulomas showing significant difference between treated groups (G2) and (G3) and controls (G1). ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ between G1 vs. G2 and G3; # $p < 0.05$ between G2 and G3



predominating mononuclear cells (lymphocytes and plasmacytes), occasional macrophages, and epithelioid cells with Langhans-type granulomatous formation. When comparing the pattern of the inflammatory response between the experimental and control groups, no significant alterations are observed regarding the cell types present, but a decrease in the pool of cells that form the granulomas is evident, as evidenced in the morphometric analysis of the volume. In the groups treated from the 35th day of infection onwards (G3), a greater structuring of the cytoarchitecture of the granuloma is observed, mainly in the intestine, when

compared to the G2 group, although it still presents a lower inflammatory cellularity when compared to the untreated group. Also, a greater deposition of collagen is visualized in the granulomas of the G3 group in relation to the G2 group.

Dosage of cytokines IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-2, IL-4, IL-10, and IL-17A obtained from splenic cell culture

Cytokine levels in culture of splenic cells stimulated by Concanavalin A (ConA) and *B. cereus* GM spores and in culture without mitogens (RPMI-1640 medium) are shown

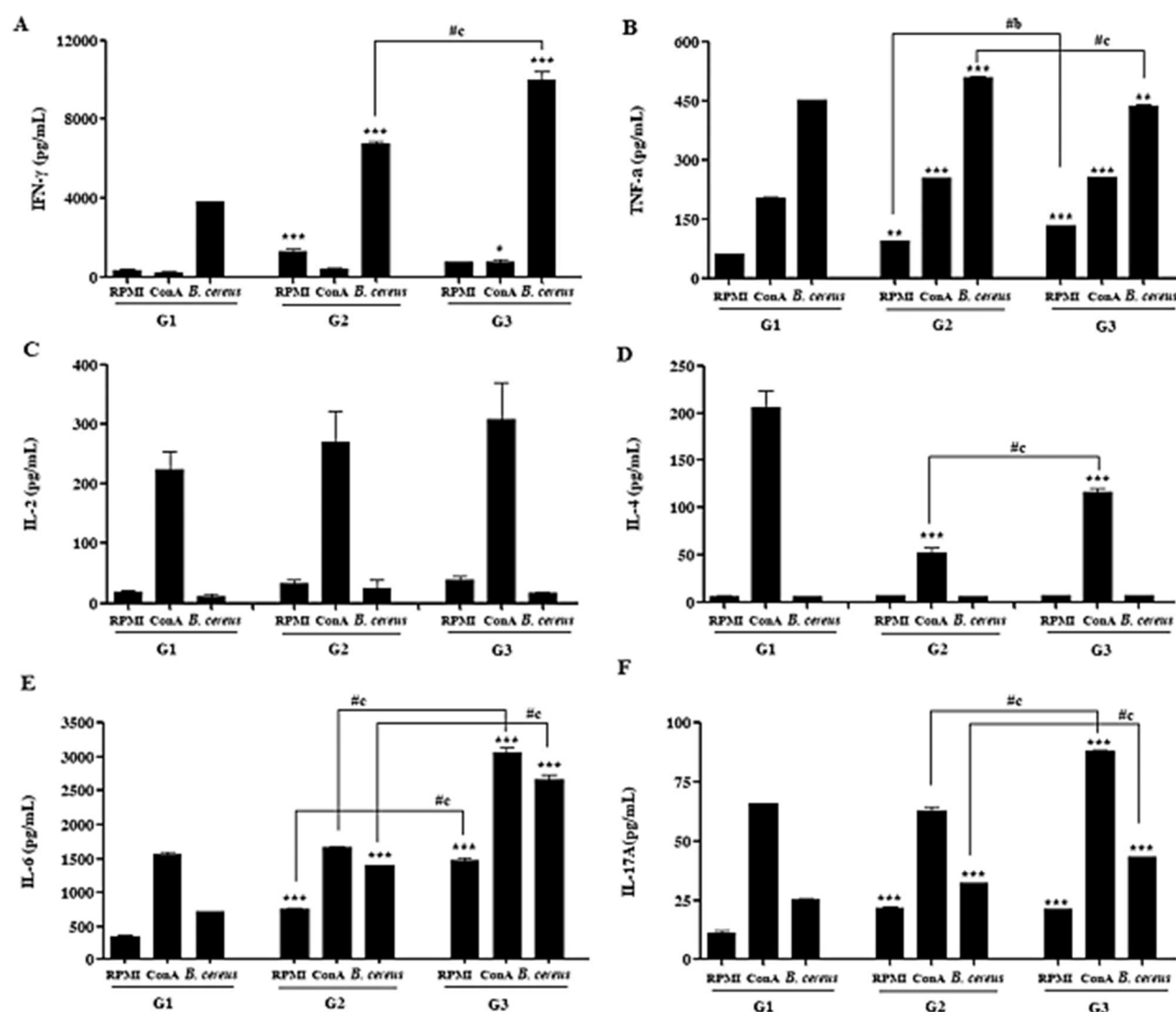


Fig. 4 Cytokines IFN- γ (A), TNF- α (B), IL-2 (C), IL-4 (D), IL-6 (E), and IL-17A (F) levels in the supernatant of splenocytes culture, under ConA mitogenic stimulus and *B. cereus* GM, from *S. mansoni* infected mice and treated with *B. cereus* GM (10⁵ spores in 300 μ L) 15 days before infection until the end of the experiment (G2) and 35

days after infection until the end of the experiment (G3) compared to the control group (G1). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$, when compared G1 vs. G2 and G3, while # $p < 0.01$ and #c $p < 0.001$ when compared G2 vs. G3

in Fig. 4. Cytokines IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-2, IL-4, and IL-17A were produced in all experimental groups: (G1) infected animals, (G2) animals treated with *B. cereus* GM before infection, and (G3) animals treated from the 35th day of infection. Higher levels of IFN- α and TNF- α were observed in cultures of spleen cells stimulated by *B. cereus* GM spores, while levels of IL-6 and IL-17 were higher in cultures stimulated by ConA. IFN- γ , TNF- α , IL-6, and IL-17 increased significantly ($p < 0.001$) in the G2- and G3-treated groups when stimulated by *B. cereus* GM spores compared to the G1 group. Comparing G2 and G3, the levels of IFN- γ , IL-6, and IL-17 were 48%, 90%,

and 34%, respectively, higher in the G3 group. While the TNF- α level was higher by 17% in the G2 group. Figure 4C, D illustrates IL-2 and IL-4 concentrations obtained from cultured splenocytes. These cytokines showed higher levels through ConA. Regarding this stimulus, the IL-4 levels showed a significant difference ($p < 0.0001$) in the G2 and G3 groups when compared to the G1 group and between the G2 and G3 groups, with levels 2.2 times higher in the group G3. Within the sensitivity threshold of the technique used, no concentrations of IL-10 were detected.

Discussion

It is worrying to have only praziquantel to treat schistosomiasis, mainly because it is not effective against schistosomula and young worms and may develop resistance in endemic areas of high prevalence.

When administered in therapeutic doses, PZQ presents a significant reduction or elimination of the burden of adult worms and consequent reduction in the number of eggs in the hepatic tissue, as demonstrated by the work of Pica-Mattoccia and Cioli (2004), Morsy (2009), Khalil et al. (2022), and Bakery et al. (2022) and those of our research group (Aires et al. 2012, 2014; Cruz et al. 2022; Soares et al. 2023), but in mixed infections, with worms in different evolutionary stages, it fails because it is not effective on schistosomula and young worms.

Another point to be considered with the use of PZQ is the resolution of the granulomatous inflammatory process. Farah et al. (2000) showed that in secondary exposure after treatment of *Schistosoma mansoni* infection, there was a reduction in the diameter of hepatic granulomas and variations in cytokine levels with an increase in IFN- γ and a reduction in IL-10. However, to manifest effective antifibrotic and anti-inflammatory activities, PZQ needs higher concentrations than those used as an antiparasitic (El-Lakkany et al. 2012; Yepes et al. 2015; El Gendy et al. 2019).

In the present study, we demonstrated for the first time the activity of *B. cereus* GM obtained from the probiotic Biovicerin® in modulating the immune response of the host infected by *Schistosoma mansoni*, as well as its effect on the course of the infection, observed from the reduction of the parasite burden, number of eggs in the liver, and on the histology and morphometry of schistosomal granuloma.

Mice treated with *B. cereus* GM showed a significant reduction in the total number of worms when compared to untreated group, with a high percentage reduction in those treated before infection. These results corroborate to a few studies on the treatment of experimental schistosomiasis with probiotics. Santos et al. (2004) used the probiotic *Zymomonas mobilis* strain CP4 as a treatment in mice infected with *S. mansoni* and was observed a reduction in the parasite burden (61%) after 7 days of treatment. Two strains of *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* DSM 20080) in association was able to reduce 67.8% of the total burden of worms in the group of animals treated 7 days before infection by *S. mansoni* and a reduction 59.8% after the infection (El-Khadragy et al. 2019). A reduction in the total worm burden in 41.4% was observed by Cruz et al. (2022) in mice treated with *Bacillus clausii*

(Enterogermina®) before infection with *S. mansoni*. In that same study, a reduction in 30.1% was determined for the treated group after 38 days of infection. The total worm burden was reduced by 53.1% when mice infected with *S. mansoni* were administered *Lactobacillus sporogenes* strain UNI-SANKYO LTD for 8 weeks (Mohamed et al. 2016).

A significant decrease in the number of eggs per gram of liver tissue was also registered in the groups treated with *B. cereus* GM, mostly in the group treated before infection. This reduction is directly linked to the reduction in the total number of worms, especially female worms, whose reduction was also significant. These results corroborate by Santos et al. (2004), Mohamed et al. (2016), El-Khadragy et al. (2019), and Cruz et al. (2022).

The oogram pattern is made from the visualization and counting of different evolutionary stages of *S. mansoni* eggs retained in the intestinal tissue. The absence of one of the stages (immature, mature) presents changes when oviposition is interrupted or the ovicidal (dead) action of schistosomicidal compounds (Pellegrino et al. 1962). During the treatment period with *B. cereus* GM, the oogram revealed an apparent increase in dead eggs in the groups treated with *B. cereus* GM when compared to the control group, but this increase was not statistically significant. Thus, the pattern of the oogram regarding the oviposition of the remaining worms did not change. A similar result was observed in intestinal tissues by Lin et al. (2021) with the use of the probiotic *B. subtilis* in experimental infection by *S. japonicum*. Differently from what was observed by Mohamed et al. (2016) and Cruz et al. (2022) when they investigated the schistosomicidal action of the probiotics *L. sporogenes* and *B. clausii* respectively on *S. mansoni*. The authors report a significant increase in immature, mature, and dead eggs for the first probiotic, while for the second probiotic, only an increase in dead eggs was observed.

The formation of hepatic fibrosis is a characteristic of the pathological evolution caused by the egg antigens of *Schistosoma mansoni*, omega-1, characterized by highly hepatotoxic (Fitzsimmons et al. 2005; Steinfeldt et al. 2009). Damage to the membrane of hepatocytes releases liver enzymes into the serum (Aly and Mantawy, 2013; Al-Sayed et al. 2014) and seems to be responsible for the increase in the serum enzymes, AST, ALT, and ALP after schistosomal infection (Naik et al. 2011).

In our experimental model, we evaluated if the treatment with *B. cereus* GM attenuates the hepatotoxic effect mediated by *S. mansoni* egg antigens. For the liver biomarkers measured, AST transaminase was significantly reduced in both treated groups, and ALP showed a significant reduction in the group treated before infection, leading to baseline levels.

Although the hepatoprotective effects of probiotics are not completely elucidated, it is known that *Bacillus* spp. strains, including the *B. cereus* (Zheng et al. 2016), are capable in producing exopolysaccharide, a constituent of the extracellular matrix, as a potent antioxidant and anti-inflammatory providing liver protection (Kodali and Sem 2008; Neag et al. 2020). Furthermore, Duc et al. (2005) demonstrated species of *Bacillus* spp. capable of synthesizing carotenoids as a potent antioxidant, supporting to the neutralization of free radicals in the hepatocytes.

In schistosomiasis, the immunological response from host determines the clinical symptoms (Llanwarne and Helmbly 2020). At the beginning of the infection, the migration of the immature forms of the parasite leads the Th1 response with increase of IFN- γ , TNF, and IL-6 (Pearce and MacDonald 2002; Wilson et al. 2007). After the oviposition, fifth or sixth week, there is a reduction in the Th1 response and a predominance of the Th2 response (Meevisen et al. 2012). In our studies, Th1 cytokines (IFN- γ , TNF, and IL-6) remained elevated in groups treated with *B. cereus* GM. While the untreated animals produced higher levels of IL4 than the treated.

You et al. (2018) proved in mice immunized with recombinant *Schistosoma japonicum* insulin receptor (rSjLD1) that after infection, there was a significant increase in IFN- γ in splenic CD4+ T cells stimulated by rSjLD1, suggesting a response of the type Th1 associated with protective efficacy by cercarial challenge.

The predominance of Th1 profile cytokines observed in our study appears to be directly related to the probiotic. Duc et al. (2004a, b) verified the synthesis of IFN- γ and TNF- α in GALT and secondary lymphoid organs when spores of *B. subtilis* or *B. pumilus* were administered to mice. Similarly, to our experimental model, the culture of splenocytes stimulated by *B. cereus* GM spores showed a significant increase in the levels of IFN- γ and TNF- α in the treated groups. IFN- γ is a potent key in cellular responses and may have been produced by an innate immune response, probably including Natural Killer (NK) cells (Hong et al. 2005).

Our result corroborates the findings by Roos et al. (2012), when they used *B. cereus* var. *toyoi* as a vaccine adjuvant against bovine herpesvirus 5 (BoHV-5), leading high levels of IFN- γ and better vaccine response in the supplemented group. Wherefore, the Th1 profile seems to have a significant involvement in the protection and, consequently, in the reduction of the parasitic burden of *Schistosoma mansoni*, as showed in our work.

Th1 cytokines playing to the reduction of the parasitic burden at the early phase infection and several studies have also shown their influence in decrease the granulomatous reactions caused for the egg antigen of *Schistosoma* spp. (Kaplan et al. 1998; Hoffmann et al. 2000; Schwartz and Fallon 2018; Molehin 2020). In our work, the volumes

of hepatic and intestinal granulomas were reduced in the treated groups, which showed a reduction in the inflammatory infiltrate compared to the control group. The reduction was more significant in the group treated before infection (G2), which suggests a higher modulating effect of *B. cereus* GM in early administration. About collagen deposition, we evidenced a higher deposition in the granulomas of the G3 group compared to the G2 group, and this result was expected due to the fact the treatment did not alter the natural processes of stromal remodeling from the inflammatory response. Although Th1 profile contributes to reducing the parasite burden, its exacerbation can be prejudicial to the host (Ndlovu and Brombacher 2014; Llanwarne and Helmbly 2020). Here, *B. cereus* GM contributed to the high levels of cytokines in the Th1 profile; however, the levels of IL-4 modulated in the course of the infection reflect the balance of Th1/Th2 responses, as shown by the treated group in the reduction of the granulomatous reaction compared to the group not treated.

Interleukin 2 is characterized by several actions, including its lymphoproliferative activity and modulator of effector T cells involved in granulomatous reactions (Yamashita and Boros 1992; Liao et al. 2013; Fernandes et al., 2018). Although the many facets in modulating the immune response, in our experimental model, the IL-2 level did not show a significant difference between the groups. Thus, it is necessary to investigate other mechanisms that may involve the IL-2.

In schistosomiasis, interleukin-17 has been associated with pro-inflammatory, enlarging the granulomatous reaction and leading liver damage in animals after 7 weeks of infection (Rutitzky et al. 2005). Additionally, Rutitzky and Staderker (2011) also showed the regulatory role of IFN- γ on IL-17 and observed that IFN- γ knockout animals had high levels of IL-17 and high damage caused by the intense granulomatous reaction. In our experimental model, IL-17 levels remained low when stimulated by the probiotic. This way, the results show that probiotic treatment is responsible to a balanced response without exacerbation of the inflammatory condition.

Conclusion

B. cereus GM reduced the pathological process in mice infected with *S. mansoni* cercariae by modulating the immune response. Thus, it reduced the number of worms, the number of eggs in the liver tissue, and the volume of granulomas and improved the levels of some liver markers, especially when administered before the infection. These results lead to the possibility of using the probiotic *B. cereus* GM in the therapeutic of schistosomiasis, mainly in endemic areas whose population are at constant risk of infection.

Author contributions V. H. B. Santos, E. C. P. A. Ximenes, A. L. Aires, and M. C. P. A. Albuquerque designed the study protocol. V. H. B. Santos, E. C. P. A. Ximenes, R. A. F. Souza, R. P. C. Silva, M. C. Silva, L. V. M. Andrade, V. M. O. Souza, V. M. A. Costa, V. M. B. Lorena, H. D. A. Araújo, A. L. Aires, and M. C. P. A. Albuquerque carried out the assays and/or were involved in the analysis and interpretation of all data. V. H. B. Santos, E. C. P. A. Ximenes, V. M. A. Costa, H. D. A. Araújo, A. L. Aires, and M. C. P. A. Albuquerque contributed to drafting the manuscript and/or critically revising the paper and intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

Funding This work received financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Grant No. 001) and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE). H. D. A. Araújo would like to thank FACEPE for the Regional Science Development Scholarship (Process DCR-0015-4.03/23). In addition, A. L. Aires and H. D. A. Araújo would like to thank FACEPE Research Project Aid (Process APQ-Emergent 1181-4.03/22 and APQ-0037-4.03/23 respectively).

Data availability The datasets generated during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethical approval The animal study protocol was approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the UFPE Biosciences Center (no. 0084/2020).

Consent to participate Not applicable.

Consent for publication Not applicable.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Aires AL, Albuquerque MCPA, Silva RA, Schirato GV, Pontes Filho NT, Araújo SB, Souza VM, Costa VM, Malagueño E (2012) Immunohistopathological changes in murine Schistosomiasis mansoni under the influence of N-acetyl-L-cysteine. *Parasitol Res* 111:1569–1578. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2997-4>
- Aires AL, Araújo HDA, Galvão AM, Araújo SB, Silva RL, dos Anjos ZP, Maia MBS, Souza VMO, Albuquerque MCPA (2023) Schistosomicidal, hepatoprotective and antioxidant activities of the N-acetyl-L-cysteine and/or praziquantel in experimental acute mansoni schistosomiasis. *3 Biotech* 13:1–12. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03639-3>
- Aires AL, Ximenes ECPA, Silva RAR, Barbosa VX, Góes AJS, Souza MVO, Albuquerque MCPA (2014) β -Lapachone: a naphthoquinone with promising antischistosomal properties in mice. *Phyomedicine* 21:261–267. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.08.012>
- Al-Sayed E, Hamid HA, Abu El Einin HM (2014) Molluscicidal and antischistosomal activities of methanol extracts and isolated compounds from *Eucalyptus globulus* and *Melaleuca styphelioides*. *Pharm Biol* 52:698–705. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.865240>
- Aly HF, Mantawy MM (2013) Efficiency of ginger (*Zingibar officinale*) against *Schistosoma mansoni* infection during host-parasite association. *Parasitol Int* 62:380–389. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.04.002>
- Araújo HDA, Aires AL, Soares CLR, Brito TGS, Nascimento WM, Martins MCB, Silva TG, Brayner FA, Alves LC, Silva NH, Albuquerque MCPA, Lima VLM (2019a) Usnic acid potassium salt from *Cladonia substellata* (Lichen): synthesis, cytotoxicity and *in vitro* anthelmintic activity and ultrastructural analysis against adult worms of *Schistosoma mansoni*. *Acta Trop* 192:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.024>
- Araújo HDA, Santos VHB, Brayner FA, Alves LC, Silva NH, Albuquerque MCPA, Aires AL, Lima VLM (2020) *In vitro* activity of usnic acid potassium salt against different developmental stages of *Schistosoma mansoni*: an ultrastructural study. *Acta Trop* 201:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105159>
- Araújo HDA, Silva Júnior JG, Oliveira JRS, Ribeiro MHML, Martins MCB, Bezerra MAC, Aires AL, Albuquerque MCPA, Melo Júnior MR, Pontes Filho NT, Pereira EC, Silva DJR, Dos Anjos JV, Falcão EPS, Silva NH, Lima VLM (2019b) Usnic acid potassium salt: evaluation of the acute toxicity and antinociceptive effect in murine model. *Molecules* 24:1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules24112042>
- Azad MAK, Sarker M, Li T, Yin J (2018) Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview. *Biomed Res Int* 2018:1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>
- Bakery HH, Allam GA, Abuelsaad ASA, Abdel-Latif M, Elkenawy AE, Khalil RG (2022) Anti-inflammatory, antioxidant, antifibrotic and schistosomicidal properties of plumbagin in murine schistosomiasis. *Parasite Immunol* 44:1–18. <https://doi.org/10.1111/pim.12945>
- Bautista-Garfias CR, Ixta-Rodriguez O, Martinez-Gomez F, Lopez MG, Aguilar-Figueroa BR (2001) Effect of viable or dead *Lactobacillus casei* organisms administered orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis*. *Infection Parasite* 8:226–228. <https://doi.org/10.1051/parasite/200108s2226>
- Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A (2012) Probiotic mechanisms of action. *Annals of nutrition and metabolism*. *Ann Nutr Metab* 61:160–174. <https://doi.org/10.1159/000342079>
- Bhat AA, Uppada S, Achkar IW, Hashem S, Yadav SK, Shanmugakumar M, Al-Naemi HA, Haris M, Uddin S (2019) Tight junction proteins and signaling pathways in cancer and inflammation: a functional crosstalk. *Front Physiol* 23:1–19. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01942>
- Cheever AW (1968) Conditions affecting the accuracy of potassium hydroxide digestion techniques for counting *Schistosoma mansoni* eggs in tissues. *Bull World Health Organ* 39:328–331
- Colley DG, Secor WE (2014) Immunology of human schistosomiasis. *Parasite Immunol* 36:347–357. <https://doi.org/10.1111/pim.12087>
- Couto FFB, Coelho PMZ, Araújo N, Kusel JR, Katz N, Jannotti-Passos LK, Mattos ACA (2011) *Schistosoma mansoni*: a method for inducing resistance to praziquantel using infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106:153–157. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000200006>
- Cruz CS, França WWM, Araújo HDA, Ximenes ECPA, Souza VM, Albuquerque MCPA, Aires AL, Costa VMA (2022) *In vivo* and *in vitro* evaluation of *Bacillus clausii* against *Schistosoma mansoni*. *Acta Trop* 235:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106669>
- Cutting S (2011) *Bacillus probiotics*. *Food Microbiol* 28:214–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>
- De Avila LFDC, De Leon PMM, Moura MQ, Berne MEA, Scaini CJ, Leivas Leite FP (2016) Modulation of IL-12 and IFN- γ by probiotic supplementation promotes protection against *Toxocara canis* infection in mice. *Parasite Immunol* 38:326–330. <https://doi.org/10.1111/pim.12314>

- Dejon-Agobé JC, Edoa JR, Adegnik AA, Grobusch MP (2022) Schistosomiasis in Gabon from 2000 to 2021: a review. *Acta Trop* 228:1–13. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106317>
- Duc LH, Fraser PD, Tam NKM, Cutting SM (2005) Carotenoids present in halotolerant *Bacillus* spore formers. *FEMS Microbiol Lett* 255:215–224. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2005.00091.x>
- Duc LH, Hong HA, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM (2004a) Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl Environ Microbiol* 70:2161–2171. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2161-2171.2004>
- Duc LH, Hong HA, Uyen NQ, Cutting SM (2004b) Intracellular fate and immunogenicity of *B. subtilis* spores. *Vaccine* 22:1873–1885. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.11.021>
- Ehling-Schulz M, Svensson B, Guinebreteiere MH, Lindback T, Andersson M, Schulz A, Fricker M, Christiansson A, Granum PE, Martlbauer E, Nguyen-The C, Salkinoja-Salonen M, Scherer S (2005) Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology* 151:183–197. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27607-0>
- El-Gendy AEM, Mohammed FA, Abdel-Rahman SA, Shalaby TIA, Fathy GM, Mohammad SM, El-Shafey MA, Mohammed NA (2019) Effect of nanoparticles on the therapeutic efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* infection in murine models. *J Parasit Dis* 43:416–425. <https://doi.org/10.1007/s12639-019-01106-6>
- El-Khadragy MF, Al-Olayan EM, Elmallah MIY, Alharbi AM, Yehia HM, Moncim AEA (2019) Probiotics and yogurt modulate oxidative stress and fibrosis in livers of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *BMC Complement Altern Med* 19:1–13. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2406-3>
- El-Lakkany NM, Hammam OA, El-Maaway WH, Badawy AA, Ain-Shoka AA, Ebeid FA (2012) Anti-inflammatory/anti-fibrotic effects of the hepatoprotective silymarin and the schistosomicide praziquantel against *Schistosoma mansoni*-induced liver fibrosis. *Parasit Vectors* 5:1–14. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-9>
- Elshagabee FMF, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C, Panwar H (2017) *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Front Microbiol* 8:1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>
- Farah O, Johansson M, Lovegren-Bengtson K, Hau J (2000) *Schistosoma mansoni* in mice: the pattern of primary cercarial exposure determines whether a secondary infection post-chemotherapy elicits a T Helper 1- or a T helper 2-associated immune response. *Scand J Immunol* 51:237–243. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.2000.00667.x>
- Femoe UM, Jatsa HB, Greigert V, Brunet J, Cannet C, Kenfack MC, Feussom NG, Fassi JBK, Nkondo ET, Abou-Bacar A, Pfaff AW, Dima T, Kamtchouing P, Tchuen-Tchuente LA (2022) Pathological and immunological evaluation of different regimens of praziquantel treatment in a mouse model of *Schistosoma mansoni* infection. *PLoS Negl Trop Dis* 16:1–32. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010382>
- Fernandes ES, Lorena VMB, Sales IRE, Albuquerque MCPA, Gomes YM, Costa VMA, Souza VMO (2018) Maternal schistosomiasis: IL-2, IL-10 and regulatory T lymphocytes to unrelated antigen in adult offspring mice. *Rev Soc Bras Med Trop* 51:546–549. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0338-2016>
- Fitzsimmons CM, Schramm G, Jones FM, Chalmers IW, Hoffmann KE, Grevelding CG, Wührer M, Hokke CH, Haas H, Doenhoff MJ, Dunne DW (2005) Molecular characterization of omega-1: a hepatotoxic ribonuclease from *Schistosoma mansoni* eggs. *Mol Biochem Parasitol* 144:123–127. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2005.08.003>
- Foster JC, Glass MD, Courtney PD, Ward LA (2003) Effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Food Microbiol* 20:351–357. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00120-X)
- Glass MD, Courtney PD, Lejeune JT, Ward LA (2004) Effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* cell-free supernatants on *Cryptosporidium* viability and infectivity *in vitro*. *Food Microbiol* 21:423–429. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.11.001>
- Guida LR, Guida VO (1978) Importância dos bacilos esporulados aeróbios (BEA) em gastroenterologia e nutrição. *RBM Rev Bras Med* 35:702–707
- Guinebreteiere MH, Velge P, Couvert O, Carlin F, Debuyser ML, Nguyen-The C (2010) Ability of *Bacillus cereus* group strains to cause food poisoning varies according to phylogenetic affiliation (groups I to VII) rather than species affiliation. *J Clin Microbiol* 48:3388–3391. <https://doi.org/10.1128/JCM.00921-10>
- Heini N, Stephan R, Ehling-Schulz M, Johler S (2018) Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. *Int J Food Microbiol* 283:59–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.019>
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJS, Calder PC, Sanders ME (2014) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 11:506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Hoa NT, Baccigalupi L, Huxham A, Smertenko A, Van PH, Ammendola S, Ricca E, Cutting SM (2000) Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. *Appl Environ Microbiol* 66:5241–5247. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5241-5247.2000>
- Hoffmann KE, Cheever AW, Wynn TA (2000) Schistosomiasis lethal immunopathology in murine cytokine responses induce distinct forms of polarization: excessive Type 1 and Type 2 IL-10 and the dangers of immune. *J Immunol* 166:6406–6416. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6406>
- Hong HA, Duc LH, Cutting SM (2005) The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiol Rev* 29:813–835. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.001>
- Jezewska-Frackowiak J, Seroczynska K, Banaszczak J, Jedrzejczak G, Zylcz-Stachula A, Skowron PM (2018) The promises and risks of probiotic *Bacillus* species. *Acta Biochim Pol* 65:509–519. <https://doi.org/10.18388/abp.2018.2652>
- Kadaikunnan S, Rejiniemon TS, Khaled JM, Alharbi NS, Mothana R (2015) *In-vitro* antibacterial, antifungal, antioxidant and functional properties of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 14:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0069-1>
- Kaplan MH, Whitfield JR, Boros DL, Grusby MJ (1998) Th2 cells are required for the *Schistosoma mansoni* egg-induced granulomatous response. *J Immunol* 160:1850–1856. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.160.4.1850>
- Khalil RG, Ibrahim AM, Bakery HH (2022) Juglone: “a novel immunomodulatory, antifibrotic, and schistosomicidal agent to ameliorate liver damage in murine schistosomiasis mansoni”. *Int Immunopharmacol* 113:109415. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109415>
- Kodali VP, Sem R (2008) Antioxidant and free radical scavenging activities of an exopolysaccharide from a probiotic bacterium. *Biotechnol J* 3:245–251. <https://doi.org/10.1002/biot.200700208>
- Liao W, Lin JX, Leonard WJ (2013) Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity* 38:1–13. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.01.004>
- Lin D, Song Q, Zhang Y, Liu J, Chen F, Du S, Xiang S, Wang L, Wu X, Sun X (2021) *Bacillus subtilis* attenuates hepatic and intestinal injuries and modulates gut microbiota and gene expression profiles in mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Front Cell Dev Biol* 9:1–13. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.766205>

- Liu B, Qian J, Wang Q, Wang F, Ma Z, Qiao Y (2014) Butyrate protects rat liver against total hepatic ischemia reperfusion injury with bowel congestion. *Plos One* 9:1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106184>
- Llanwarne F, Helmby H (2020) Granuloma formation and tissue pathology in *Schistosoma japonicum* versus *Schistosoma mansoni* infections. *Parasite Immunol* 43:1–12. <https://doi.org/10.1111/pim.12778>
- LoVerde PT (2019) Schistosomiasis. *Adv Exp Med Biol* 154:45–70. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18616-6_3
- Mazzaccara C, Labruna G, Cito G, Scarfò M, De Felice M, Pastore L, Sacchetti L (2008) Age-related reference intervals of the main biochemical and hematological parameters in C57BL/6J, 129SV/ EV and C3H/HeJ mouse strains. *PLoS One* 3:1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003772>
- Meevissen MHJ, Yazdanbakhsh M, Hokke CH (2012) *Schistosoma mansoni* egg glycoproteins and C-type lectins of host immune cells: molecular partners that shape immune responses. *Exp Parasitol* 132:14–21. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.05.005>
- Meroni PL, Palmieri R, Barcellini W, De Bartolo G, Zanussi C (1983) Effect of long-term treatment with *B. subtilis* on the frequency of urinary tract infections in older patients. *Chimioterapia* 2:142–144
- Mohamed AH, Osman GY, Zowail ME, El-Esawy HM (2016) Effect of *Lactobacillus sporogenes* (probiotic) on certain parasitological and molecular aspects in *Schistosoma mansoni* infected mice. *J Parasit Dis* 40:823–832. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0586-4>
- Mohamed ST, Khalaf KJ, Sulaiman NM (2015) *Lactobacillus salivarius* bacteriocin and supernatant activity against *Entamoeba histolytica* in vitro and in vivo. *Brit J Biol Health Med Sci Res* 3:19–28
- Molehin AJ (2020) Current understanding of immunity against schistosomiasis: impact on vaccine and drug development. *Res Rep Trop Med* 11:119–128. <https://doi.org/10.2147/RRTM.S274518>
- Morsy GH (2009) Parasitological and histo-pathological studies on schistosomiasis mansoni infected mice and treated with praziquantel and/or oltipraz. *J Egypt Soc Parasitol* 39:687–701
- Naik SR, Thakare VN, Patil SR (2011) Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol* 63:419–431. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.03.001>
- Ndlovu H, Brombacher F (2014) Role of IL-4Ra during acute schistosomiasis in mice. *Parasite Immunol* 36:421–427. <https://doi.org/10.1111/pim.12080>
- Neag MA, Cătean A, Muntean DM, Pop MR, Bocsan CI, Botan EC, Buzoianu AD (2020) Probiotic *Bacillus* spores protect against acetaminophen induced acute liver injury in rats. *Nutrients* 12:1–16. <https://doi.org/10.3390/nu12030632>
- Oliveira-Sequeira TCG, David EB, Ribeiro C, Guimarães S, Masseno APB, Katagiri S, Sequeira JL (2014) Effect of *Bifidobacterium animalis* on mice infected with *Strongyloides venezuelensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 56:105–109. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000200003>
- Olivier L, Stirewalt MA (1952) An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* 38:19–23. <https://doi.org/10.2307/3274166>
- Pearce EJ, Macdonald AS (2002) The immunobiology of schistosomiasis. *Nat Rev Immunol* 2:499–511. <https://doi.org/10.1038/nri843>
- Pellegrino J, Oliveira CA, Faria J, Cunah AS (1962) New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. *Am J Trop Med Hyg* 11:201–215. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1962.11.201>
- Pernucci S, Fichi G, Ricci E, Galosi L, Lalle M, Rossi G (2019) In vitro and ex vivo evaluation of the anti-*Giardia duodenalis* activity of the supernatant of Slab51 (SivoMixx). *PLoS One* 14:1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213385>
- Phillips SM, DiConza JJ, Gold JA, Reid WA (1977) Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse. I. Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation, and host morbidity. *J Immunol* 118:594–599. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.118.2.594>
- Pica-Mattocchia L, Cioli D (2004) Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to in vivo and in vitro praziquantel treatment. *Int J Parasitol* 34:527–533. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.003>
- Piewngam P, Zheng Y, Nguyen TH, Dickey SW, Joo HS, Villaruz AE, Glose KA, Fisher EL, Hunt RL, Li B, Chiou J, Pharkjaksu S, Khongthong S, Cheung GYC, Kiratisin P, Otto M (2018) Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference. *Nature* 562:532–537. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0616-y>
- Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A (2014) Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol* 20:15632–15649. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i42.15632>
- Rigother MC, Maccario J, Gayral P (1994) Inhibitory activity of *Saccharomyces* yeasts on the adhesion of *Entamoeba histolytica* trophozoites to human erythrocytes in vitro. *Parasitol Res* 80:10–15. <https://doi.org/10.1007/BF00932617>
- Roos TB, Lara APSS, Dummer LA, Fischer G, Leite FPL (2012) The immune modulation of *Bacillus cereus* var. Toyoi in mice immunized with experimental inactivated bovine herpesvirus type 5 vaccine. *Vaccine* 30:2173–2177. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.007>
- Rutitzky LI, Rosa JRL, Staderker MJ (2005) Severe CD4 T cell-mediated with high levels of IL-17 is dependent on IL-12p40 and correlates immunopathology in murine schistosomiasis. *J Immunol* 175:3920–3926. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.6.3920>
- Rutitzky LI, Staderker MJ (2011) Exacerbated egg-induced immunopathology in murine *Schistosoma mansoni* infection is primarily mediated by IL-17 and restrained by IFN- γ . *Eur J Immunol* 41:2677–2687. <https://doi.org/10.1002/eji.201041327>
- Sankaraman S, Velayuthan S (2013) *Bacillus cereus*. *Pediatr Rev* 34:195–198. <https://doi.org/10.1542/pir.34-4-196>
- Santos JFM, Vasconcelos J, Souza JR, Coutinho EM, Montenegro SML, Azevedo-Ximenes E (2004) The effect of *Zymomonas mobilis* culture on experimental *Schistosoma mansoni* infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 37:1–3. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822004000600015>
- Schwartz C, Fallon PG (2018) *Schistosoma* “Eggs-Itting” the host: granuloma formation and egg excretion. *Front Immunol* 9:1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02492>
- Servin AL (2004) Antagonistic activities of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev* 28:405–440. <https://doi.org/10.1016/j.femre.2004.01.003>
- Shams M, Khazaei S, Ghasemi E, Nazari N, Javanmardi E, Majidani H, Bahadory S, Anvari D, Fatollahzadeh M, Nemati T, Asghari A (2022) Prevalence of urinary schistosomiasis in women: a systematic review and meta-analysis of recently published literature (2016–2020). *Trop Med Health* 50:1–18. <https://doi.org/10.1186/s41182-022-00402-x>
- Silva LMMG, Oliveira JF, Silva WL, Almeida-Junior ASA, Santos VHB, Alves LC, Santos FAB, Costa VMA, Aires AL, Lima MCA, Albuquerque MCPA (2018) New 1,3-benzodioxole derivatives: synthesis, evaluation of in vitro schistosomicidal activity and ultrastructural analysis. *Chem Biol Interact* 283:20–29. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.01.016>
- Siqueira LDP, Fontes DAF, Aguilera CSB, Timóteo TRR, Ângelos MA, Silva LCPBB, Melo CG, Rolim LA, Silva RMF, Rolim Neto PJ (2017) Schistosomiasis: drugs used and treatment strategies.

- Acta Trop 176:179–187. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.08.002>
- Smithers SR, Terry RJ (1965) The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of adult worms. *Parasitology* 55:695–700. <https://doi.org/10.1017/S0031182000086248>
- Soares RN, Ximenes ECPA, Araújo SB, Silva RL, Souza VMO, Coelho LCBB, Freitas-Neto JL, Rolim-Neto PJ, Araújo HDA, Aires AL, Albuquerque MCPA (2023) Evaluation of β -lapachone-methyl- β -cyclodextrin inclusion complex prepared by spray drying and its application against different developmental stages of *Schistosoma mansoni* in murine model. *Chem Biol Interact* 273:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110374>
- Steinfelder S, Andersen JF, Cannons JL, Feng CG, Joshi M, Dwyer D, Caspar P, Schwartzberg PL, Sher A, Jankovic D (2009) The major component in schistosome eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease (omega-1). *J Exp Med* 206:1681–1690. <https://doi.org/10.1084/jem.20082462>
- Teixeira KM, Coutinho EM, Abath FGC, Montenegro SML (1996) Effects of non-specific immunopotentiators in experimental *Schistosoma mansoni* infection. II. *Corynebacterium parvum*. *Rev Inst Med Trop* 38:359–363. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822004000600015>
- Tendler M, Pinto RM, Lima AO, Gebara G, Katz N (1968) *Schistosoma mansoni*: vaccination with adult worm antigen. *Int J Parasitol* 16:347–352. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(86\)90113-x](https://doi.org/10.1016/0020-7519(86)90113-x)
- Th  tiot-Laurent SA, Boissier J, Robert A, Meunier B (2013) Schistosomiasis chemotherapy. *Angew Chem Int Ed Engl* 52:7936–7956. <https://doi.org/10.1002/anie.201208390>
- Thomas CM, Versalovic J (2010) Probiotics-host communication modulation: of signaling pathways in the intestine. *Gut Microbes* 1:148–163. <https://doi.org/10.4161/gmic.1.3.11712>
- Vale N, Gouveia MJ, Rinaldi G, Brindley PJ, G  rtner F, Costa JMC (2017) Praziquantel for schistosomiasis: single-drug metabolism revisited, mode of action, and resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 61:1–16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02582-16>
- Vidic J, Chaix C, Manzano M, Heyndrickx M (2020) Food sensing: detection of *Bacillus cereus* spores in dairy products. *Biosensors* 25:1–15. <https://doi.org/10.3390/bios10030015>
- Vimieiro ACS, Araujo N, Katz N, Kusel JR, Coelho PMZ (2013) Schistosome changes after administration of antischistosomal drugs in mice at the early phase of *Schistosoma mansoni* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 108:881–886. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130135>
- Vinderola G, Matar C, Perdigon G (2005) Role of intestinal epithelial cells in immune effects mediated by gram-positive probiotic bacteria: involvement of toll-like receptors. *Clin Diagn Lab Immunol* 12:1075–1084. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.9.1075-1084.2005>
- Wang W, Wang L, Liang YS (2012) Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. *Parasitol Res* 111:1871–1877. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3151-z>
- Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA (2007) Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol* 85:148–154. <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100014>
- World Health Organization (2023) Schistosomiasis. Fact sheet <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis> (accessed on February 20, 2023).
- Yamashita T, Boros DL (1992) IL-4 influences IL-2 production and granulomatous inflammation in murine *schistosomiasis mansoni*. *J Immunol* 149:3659–3664. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.149.11.3659>
- Yepes E, Varela-M RE, L  pez-Ab  n J, Rojas-Caraballo J, Muro A, Mollinedo F (2015) Inhibition of granulomatous inflammation and prophylactic treatment of schistosomiasis with a combination of edelfosine and praziquantel. *PLoS Negl Trop Dis* 9:1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003893>
- You H, Harvie M, Du X, Rivera V, Zhang P, McManus DP (2018) Protective immune responses generated in a murine model following immunization with recombinant *Schistosoma japonicum* insulin receptor. *Int J Mol Sci* 19:1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms19103088>
- Zheng LP, Zou T, Ma YJ, Wang JW, Zhang YQ (2016) Antioxidant and DNA damage protecting activity of exopolysaccharides from the endophytic Bacterium *Bacillus Cereus* SZ1. *Molecules* 21:1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules21020174>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

ANEXO A- APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 05 de outubro de 2018

Ofício nº 94/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Monica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque**

Departamento de Medicina Tropical

Centro de Ciências da Saúde

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **23076.020503/2018-51**

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeitos do *Bacillus Cereus* sobre a Esquistossomose mansoni: Estudo da resposta imunológica e alterações intestinais”** registrada com o nº **23076.020503/2018-51**, sob a responsabilidade de Prof. **Monica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 02/10/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/08/2018 a 14/12/2021
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogêneo
Nº de animais	50
Peso/Idade	28-30g/30 dias
Sexo	(50) Fêmea
Origem	Bioterio do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami LIKA/ UFPE.