

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

BIOMPHALARIA STRAMINEA (MOLLUSCA: PLANORBIDAE) COMO HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO DE *ZYGOCOTYLE LUNATA* (TREMATODA: ZYGOCOTYLIDAE) NO BRASIL

BIOMPHALARIA STRAMINEA (MOLLUSCA: PLANORBIDAE) AS INTERMEDIATE HOST OF *ZYGOCOTYLE LUNATA* (TREMATODA: ZYGOCOTYLIDAE) IN BRAZIL

Fernando Sérgio Barbosa¹, Hudson Alves Pinto¹ & Alan Lane de Melo^{1,2}

¹Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

²aldemelo@icb.ufmg.br

Suggested citation: Barbosa, F.S., Pinto, H.A. & Melo, A.L. 2011. *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae) como hospedeiro intermediário de *Zygocotyle lunata* (Trematoda: Zygocotylidae) no Brasil. Neotropical Helminthology, vol 5, nº 2, pp. 241-246.

Abstract

Malacological surveys were carried out in lakes located near the São Francisco River or its tributaries in Iguatama, Minas Gerais, Brazil, between July 2009 and September 2010. Of 2.609 specimens of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) collected, 14 (0.54%) were infected by amphistome cercariae. Metacercariae obtained in solid substrate were used to perform experimental infection of AKR/J strain of mice. It was verified the presence of eggs of the parasite in the feces of the mice 30 days after infection. Adult parasites recovered from the intestinal caecum were identified as *Zygocotyle lunata* (Diesing, 1836). This is the first report of *Z. lunata* in *B. straminea* from Brazil.

Keywords: experimental infection – mollusks - new host – Planorbidae - trematodes.

Resumo

Coletas malacológicas foram realizadas em lagoas localizadas próximas ao rio São Francisco ou de seus afluentes no município de Iguatama, Minas Gerais, Brasil, entre julho de 2009 e setembro de 2010. De 2.609 exemplares de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) coletados, 14 (0,54%) apresentavam-se infectados por larvas do tipo anfistoma. Metacercárias formadas em substrato sólido foram utilizadas para a infecção experimental de camundongos da linhagem AKR/J. Foi verificada a presença de ovos nas fezes dos roedores a partir de 30 dias após a infecção. Parasitos adultos recuperados no ceco intestinal dos roedores foram identificados como *Zygocotyle lunata* (Diesing, 1836). Este é o primeiro registro de *Z. lunata* em *B. straminea* no Brasil.

Palavras-chaves: infecção experimental – moluscos - novo hospedeiro – Planorbidae – trematódeos.

INTRODUÇÃO

Zygocotyle lunata (Diesing, 1836) é um trematódeo intestinal com ampla distribuição geográfica descrito de ruminantes, *Blastocerus dichotomus* (Illiger, 1815), e de aves, *Sarkidiornis melanotus sylvicola* (Ihering & Ihering, 1907), *Amazonetta brasiliensis ipecutiri* (Vieillot, 1816) e

Charadrius wilsonia (Ord, 1814) coletados por Johann Natterer em expedição científica realizada ao Brasil no início do século XIX. Posteriormente, o parasito foi registrado na América do Norte, África e Ásia (Fried *et al.*, 2009). O ciclo biológico de *Z. lunata* envolve moluscos planorbídeos do

gênero *Helisoma* Swainson, 1840 na América do Norte, e *Biomphalaria* Preston, 1910 na América do Sul (Ostrowski de Núñez *et al.*, 2003; Fried *et al.*, 2009; Ostrowski de Núñez *et al.*, 2011). Apesar de o parasito ter sido relatado em várias espécies de vertebrados no Brasil (Viana, 1924; Ferreira, 1933; Travassos, 1933, 1934; Travassos *et al.*, 1969; Müller *et al.*, 1983; Nascimento *et al.*, 2006), o conhecimento de aspectos relacionados aos moluscos transmissores de *Z. luntata* no país são ainda necessários.

No presente estudo, é registrada a infecção natural de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) por larvas de trematódeos do tipo anfistoma no estado Minas Gerais. Infecções experimentais realizadas em roedores permitiram a obtenção de parasitos adultos identificados como *Z. lunata*.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas malacológicas foram realizadas em lagoas localizadas próximas ao rio São Francisco ou de seus afluentes (20°15'13"S, 45°46'54"W; 20°17'77"S, 45°42' 59"W) no município de Iguatama, Minas Gerais, Brasil, entre julho de 2009 e setembro de 2010. Os moluscos foram coletados com auxílio de concha metálica, acondicionados em sacos plásticos, etiquetados e transportados em caixa térmica para o laboratório, onde foram contados, separados e identificados por meio de parâmetros conquiológicos e morfológicos segundo Paraense (1975). Para a verificação de emergência de cercárias, os moluscos foram colocados individualmente em placas de polietileno contendo 5 mL de água isenta de cloro e deixados durante a noite para exame no dia seguinte antes e após fotoestimulação artificial. As cercárias e metacercárias obtidas foram estudadas em microscópio de luz, com ou sem o auxílio de colorantes vitais (vermelho Neutro e sulfato azul do Nilo a 0,05%), ou após fixação em formalina, coloração pelo carmim aceto-alúmem, desidratação em série crescente de alcoóis, clarificação em creosoto de Faia e montagem em lâminas permanente em bálsamo do Canadá (Melo, 2008).

Cinco camundongos da linhagem AKR/J receberam per os 20 metacercárias encistadas a cerca de 60 dias. Exames parasitológicos de fezes

foram realizados pelo método de sedimentação espontânea (Lutz, 1919) diariamente a partir do 15º dia de infecção. Verificada a presença de ovos nas fezes, os camundongos foram mortos por deslocamento cervical (em acordo com os princípios éticos preconizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal local, CETEA - UFMG), sendo as vísceras separadas em placas de Petri contendo solução fisiológica (NaCl 0,85%) e examinadas em estereomicroscópio. Os parasitos recuperados foram prensados entre lâminas de vidro, mortos em água a 70°C, fixados em formalina 10%, corados e montados como descrito anteriormente. Desenhos foram realizados em câmara clara e as medidas obtidas com auxílio de ocular milimetrada. Os resultados da análise morfológica e morfométrica dos estágios evolutivos obtidos foram comparados com estudos e chaves taxonômicas de diversos autores (Price, 1928; Willey, 1941; Travassos *et al.*, 1969). O material estudado foi depositado na coleção do Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados (DPIC), Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais (número de acesso: 6207-6216).

RESULTADOS

No período entre julho de 2009 e setembro de 2010 foram coletados 2.609 exemplares de *B. straminea*, dos quais 14 (0,54%) apresentavam-se infectados por larvas preliminarmente caracterizadas como pertencentes ao tipo anfistoma (Figura 1a). Estas cercárias emergiram após fotoestimulação artificial, sendo observada a formação de metacercárias (Figura 1b) na parede do recipiente ou na concha do molusco. Os camundongos experimentalmente infectados apresentaram ovos nas fezes a partir de 30 dias após a infecção (Figura 1c). Todos os camundongos apresentavam-se infectados, sendo recuperados em média 4 (3-5) parasitos (Figura 1d). As medidas e o estudo morfológico das formas larvares e dos parasitos adultos obtidos experimentalmente permitiram a identificação de *Z. lunata* (Figura 2). A análise comparativa entre as medidas dos parasitos adultos obtidos no presente estudo e as relatadas por diferentes autores é apresentada na Tabela 1.

DISCUSSÃO

O ciclo biológico de *Z. lunata* foi elucidado na década de 30 do século XX. A larva, descrita como

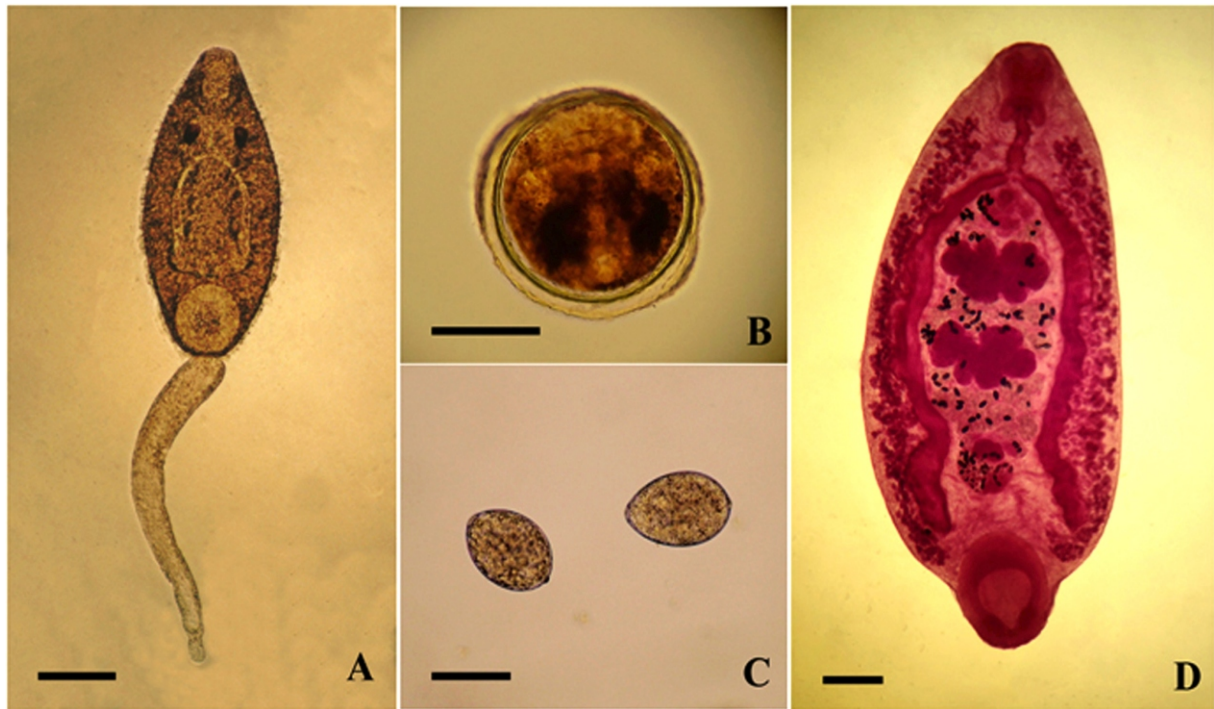


Figura 1: *Zygotocyle lunata*: (A) Cercária emergida de *Biomphalaria straminea* oriunda de Iguatama, Minas Gerais, Brasil. (B) Metacercária encistada em substrato sólido. (C) Ovos do parasito obtidos de camundongos experimentalmente infectados. (D) Parasito adulto recuperado no ceco intestinal de camundongos 30 dias após a infecção experimental.

Tabela 1. Dados morfométricos de *Zygotocyle lunata* obtidos experimentalmente a partir de cercárias emergidas de *Biomphalaria straminea* oriundas de Iguatama, Minas Gerais, Brasil, e dados reportados por diferentes autores. Medidas em micrômetros, exceto para comprimento e largura do corpo que estão em milímetros. C: comprimento, L: largura, d: diâmetro, *: não informado.

		Presente estudo	Price, 1928	Travassos, 1933	Willey, 1941	Müller <i>et al.</i> , 1983	Ostrowski de Núñez, <i>et al.</i> , 2011
Hospedeiro		<i>Mus musculus</i>	<i>Bos taurus</i>	<i>Cairina moschata</i>	<i>Rattus</i> sp.	<i>Netta peposaca</i>	<i>Mus musculus</i>
Localidade		Brasil	Panamá	Brasil	EUA	Brasil	Argentina
Corpo	C	4,0-7,0	4,0-6,0	5,5-7,0	5,4	5,5-7,0	4,1-5,9
	L	2,0-3,0	2,0-3,0	2,0-2,5	2,6	2,5-3,5	1,0-2,7
Faringe	C	410-546	390-650 d	420	613	590	448-560
	L	471-621	*	420	628	*	464-592
Ventosa ventral	C	928-1.410	780-1.100	1.220-1.700	1.3	1.610-1.888	1.040-1.568
	L	774-1.186	910-1.200	900-1.200	1.060	1.250-1.410	672-1.520
Testículo anterior	C	413-756	325-650	250-680	1.04	*	432-720
	L	602-1.547	260-390	780-920	552	*	480-1.280
Testículo posterior	C	344-791	520-650	250-680	1.040	*	448-720
	L	516-1.479	325-520	780-920	594	*	480-1.088
Ovário	C	137-375	156-260 d	650	445	*	240-512
	L	205-642		310	255	*	240-800
Ovos	C	134-145	130-143	120	132-158	132	113-157
	L	78-89	77-79	80	92-105	115	57-94

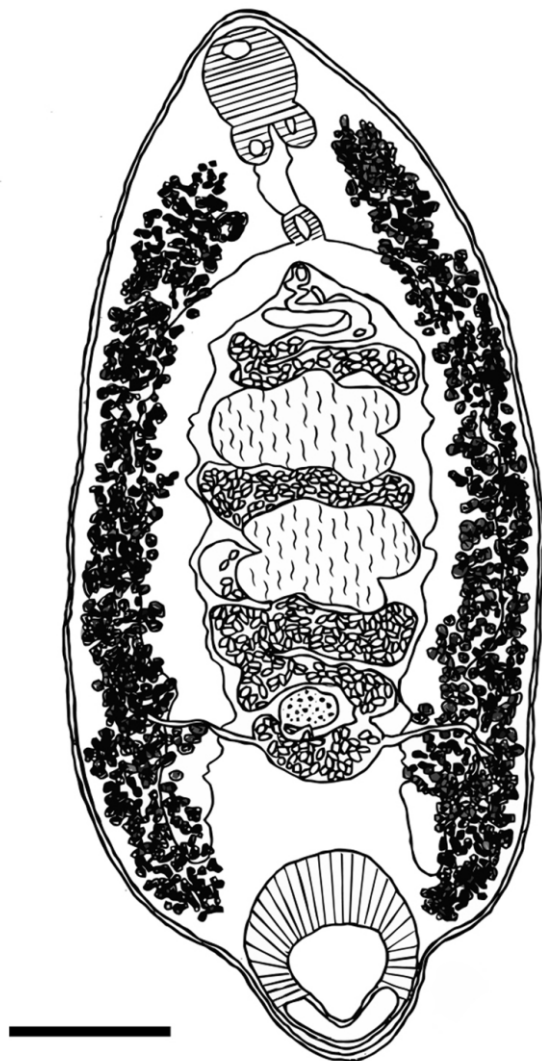


Figura 2: Desenho em câmara clara de *Zygocotyle lunata* obtido experimentalmente em camundongo. Escala = 1 mm.

Cercaria poconensis, foi encontrada em *Helisoma antrosum* (Conrad, 1834) nos EUA (Willey, 1930, 1936). Este mesmo autor, posteriormente obteve parasitos adultos em aves e roedores experimentalmente infectados (Willey, 1941). Mais recentemente, *Helisoma trivolvis* (Say, 1817) também foi incriminada como espécie transmissora de *Z. lunata* na América do Norte (Huffman, 1991; Etges, 1992, Klockars et al., 2007; Fried et al., 2008). Vários estudos têm avaliado aspectos da manutenção de *Z. lunata* em condições laboratoriais, estando os dados sobre infectividade, período pré-patente, comportamento e morfologia dos estágios evolutivos obtidos no presente estudo em acordo com os relatados por diferentes autores (Willey, 1936, 1941; Huffman et al., 1991; Ostrowski de Núñez et al., 2003; LeSage & Fried, 2010; Fried & LeSage, 2011; Ostrowski de Núñez et al., 2011).

Poucos estudos avaliaram a participação de moluscos na transmissão de *Z. lunata* na América do Sul. Santos (1980), em comunicação de congresso, relatou o encontro de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) naturalmente infectada por *Z. lunata* no vale do Paraíba, estado São Paulo, Brasil. Posteriormente, *Biomphalaria peregrina* (Orbigny, 1835), foi encontrada infectada pelo parasito na Argentina e estudos de infecção experimental demonstraram a suscetibilidade de cinco espécies de *Biomphalaria* à infecção pelo parasito, sendo *B. straminea* a espécie que apresentou maior taxa de infecção (73%) (Ostrowski de Núñez et al., 2003). Por outro lado, as taxas de infecção natural por *Z. lunata* são relativamente baixas, sendo verificadas percentuais de infecção de 0,22% e 0,56% respectivamente para *B. peregrina* e *B. tenagophila* oriundas da Argentina (Ostrowski de Núñez et al., 2011), valores semelhantes ao verificado no presente estudo (0,54%).

Biomphalaria straminea, espécie amplamente distribuída pelo Brasil e um importante vetor da esquistossomose mansoni principalmente na região Nordeste do país, é aqui registrada como um novo hospedeiro intermediário natural de *Z. lunata*. Estudos visando ampliar o conhecimento sobre a distribuição do parasito na região neotropical bem como a sua interação biológica com as espécies brasileiras de *Biomphalaria* e mesmo com o *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, são ainda necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Diesing, KM. 1836. *Monographie der Gattungen Amphistoma und Diplodiscus*. Annalen des Wiener Museums der Naturgeschichte, vol. 1, pp. 235-260.
- Etges, FJ. 1992. *Zygocotyle lunata: laboratory maintenance in snail and mice*. Journal of Helminthological Society of Washington, vol. 59, pp. 22-24.
- Ferreira, WA. 1933. *Zygocotyle lunatum (Diesing, 1835), parasito de Gallus domesticus no Brasil*. Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, vol. 10, pp. 172.

- Fried, B, Peoples, R, Saxton T & Huffman, J. 2008. *The association of Zygoctyle lunata and Echinostoma trivolvis with Chaetogaster limnaei, an ectosymbiont of Helisoma trivolvis*. Journal of Parasitology, vol. 94, pp. 553-554.
- Fried, B, Huffman, JE, Keeler, S & Peoples, RC. 2009. *The biology of the caecal trematode Zygoctyle lunata*. Advances in Parasitology, vol. 69, pp. 1-40.
- Fried, B & Lesage, KE. 2011. *Longevity of Zygoctyle lunata in Balb/c mice and long-term survival of digeneans in vertebrate hosts*. Journal of Helminthology. vol. 85, pp. 476-477.
- Huffman, JE, Sabol, C & Fried, B. 1991. *Infectivity, growth, survival, and pathogenicity of Zygoctyle lunata (Trematoda) in experimental rodent hosts*. Journal of Parasitology, vol. 77, pp. 280-284.
- Klockars, J, Huffman, J & Fried, B. 2007. *Survey of seasonal trematode infections in Helisoma trivolvis (Gastropoda) from lentic ecosystems in New Jersey, U.S.A.* Comparative Parasitology, vol. 74, pp. 75-80.
- LeSage, KE & Fried, B. 2010. *Infectivity, development, and growth of Zygoctyle lunata (Trematoda) in Balb/c mice*. Journal of Parasitology, vol. 96, pp. 663-665.
- Lutz, A. 1919. *O Schistosomum mansoni e a Schistosomatose segundo observações, feitas no Brazil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 11, pp. 121-155.
- Melo, AL. 2008. *Formas larvais de trematódeos encontradas em moluscos límnicos*. In: Amaral, RS, Thiengo, SC, Pieri, OS (Eds.). *Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)*. 2ª Ed. Ministério da Saúde, Brasília. pp. 71-80.
- Müller, G, Ribeiro, PB & Costa, PRP. 1983. *Zygoctyle lunatum (Diesing, 1836) Stunkard, 1917 (Trematoda; Paramphistomatidae) em Marrecão (Netta peposaca) no Rio Grande do Sul*. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol. 35, pp. 925-928.
- Nascimento, CG, Nascimento, AA, Mapeli, EB, Tebalde, JH, Duarte, JMB & Hoppe EGL. 2006. *Natural infection by Paramphistomoidea Stiles and Goldberger, 1910 Trematodes in wild marsh deer (Blastocercus dichotomus Illiger, 1815) from Sérgio Mottas's hydroelectric power station flooding area*. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, vol.15, pp. 133-137.
- Ostrowski de Núñez, M, Davies, D & Spatz, L. 2011. *The life cycle of Zygoctyle lunata (Trematoda, Paramphistomoidea) in the subtropical region of South America*. Revista Mexicana de Biodiversidad, vol. 82, pp. 581-588.
- Ostrowski de Núñez, M, Spatz, L & Gonzalez Cappa, SM. 2003. *New intermediate hosts in the life cycle of Zygoctyle lunata in South America*. Journal of Parasitology, vol. 89, pp.193-194.
- Paraense, WL. 1975. *Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros*. Arquivos do Museu Nacional, vol. 55, pp. 105-128.
- Price, EW. 1928. *The host relationship of the trematode genus Zygoctyle*. Journal of Agricultural Research, vol. 36, pp. 911-914.
- Santos, L. 1980. *Primeiro encontro do trematóide Zygoctyle lunatum no Vale do Paraíba. Estudo do seu ciclo de vida no laboratório*. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, 5, Rio de Janeiro. pp. 84.
- Travassos, L. 1933. *Observations sur Zygoctyle lunatum (Diesing, 1835) (Trematoda-Paramphistomidae)*. Comptes rendus des séances de la Société de Biologie, vol. 114, pp. 958-959.

- Travassos, L. 1934. *Synopse dos Paramphistomoidea*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 29, pp. 19-178.
- Travassos, L, Freitas, JFT & Kohn, A. 1969. *Trematódeos do Brasil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 67, pp. 1-886.
- Viana, L. 1924. *Tentativa de catalogação das espécies brasileiras de trematódeos*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 17, pp. 95-227.
- Willey, CH. 1930. *An amphistome cercaria, C. poconensis, with branched main excretory tubes*. Anatomical Record, vol. 47, pp. 364.
- Willey, CH. 1936. *The morphology of the amphistome cercaria, C. poconensis Willey, 1930, from the snail, Helisoma antrosa*. Journal of Parasitology, vol. 22, pp.68-75.
- Willey, CH. 1941. *The life history and bionomics of the trematode, Zygotocyle lunata (Paramphistomidae)*. Zoologica, vol. 26, pp.65-92.

Received August 31, 2011.
Accepted October 31, 2011.

Correspondence to author /Autor para correspondência:

Alan Lane de Melo
Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. CP 486, 30123-970, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

e-mail: aldemelo@icb.ufmg.br