

Formas larvais de Trematoda provenientes de gastrópodes límnicos da microrregião Rio de Janeiro, sudeste do Brasil

Maria F. Boaventura¹, Monica A. Fernandez¹, Silvana C. Thiengo¹, Roney E. Silva² & Alan L. de Melo².

¹ Departamento de Malacologia, IOC/FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, 21045-900 – Rio de Janeiro. E-mail: sthiengo@ioc.fiocruz.br

² Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG, Caixa Postal 486, 30123-970 – Belo Horizonte.

Abstract

The study of freshwater molluscs associated with helminth larval stages from the state of Rio de Janeiro revealed different morphological types of cercariae. Among them, *Pleurolophocercus cercaria*, *Echinostomocercaria*, *Strigeocercaria*, and *Xiphidiocercaria*, were found in *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835), *Physa marmorata* Guilding, 1828 and *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774). For the later species is the first occurrence as an intermediate host for trematodes in Brazil and the first record of *Pleurolophocercus cercaria* in Brazil.

Keywords: Cercaria, Trematoda, Morphology, Molluscs, Rio de Janeiro.

Introdução

No Brasil, as formas larvais de trematódeos foram inicialmente estudadas por Pirajá da Silva (Silva, 1912) que descreveu *Cercaria blanchardi*, forma larvar do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. O pioneiro nos estudos de outras formas larvais foi Lutz (1919) que descreveu *Cercaria ocellifera*, proveniente de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) e em 1922, além de fornecer a primeira chave de classificação de cercárias para o Brasil, considerou o grupo das xifidiocercárias como o mais abundante. Prosseguindo seus estudos, observou *B. tenagophila* parasitado por furcocercárias que possuíam o tronco da cauda dilatado em forma de balão (Lutz, 1931) e reuniu diversas furcocercárias emergidas de moluscos, baseado em caracteres de fácil determinação, como por exemplo presença de ocelos e estágio de desenvolvimento larval (Lutz, 1933).

Uma nova chave de classificação morfológica e uma metodologia para o estudo de cercárias foram propostas por Ruiz (1952a), o qual contribuiu intensamente para o estudo das formas larvais, ao descrever as xifidiocercárias *Cercaria lutzii* (Ruiz, 1943), *Cercaria santense* (Ruiz, 1952b) e *Cercaria minense* (Ruiz, 1952c); a cistocercária *Cercaria hemiura* (Ruiz, 1952b); e as furcocercárias *Cercaria caratinguensis* e *Cercaria ampli-coecata* (Ruiz, 1953).

O encontro de moluscos parasitados por diferentes tipos de cercárias tem sido relatado na literatura: Veitenheimer-Mendes (1981) observou exemplares de *B. tenagophila* do Rio Grande do Sul parasitados por equinostomocercária, xifidiocercária, monostomocercária e furcocercária; Espindola et al. (1992) encontraram moluscos de Santa Catarina parasitados com os seguintes tipos de cercárias: *C. caratinguensis* e *Cercaria macrogranulosa*, em *Drepanotrema cimex* (Moricand, 1839), e

Cercaria ocellifera, furcocercárias semelhantes às *C. caratinguensis* e uma furcocercária desconhecida, em *B. tenagophila*; e Souza et al. (1998) realizando o levantamento malacológico na Microrregião Belo Horizonte, observaram *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *B. tenagophila*, *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) e *Physa marmorata* Guilding, 1828 parasitados por *C. caratinguensis*, *C. hemiura*, *C. macrogranulosa*, *C. minense*, *C. ocellifera* e cercária de *S. mansoni*.

No Estado do Rio de Janeiro, o estudo da malacofauna límnic tem revelado vários tipos de cercárias diferentes de *S. mansoni* em moluscos coletados na Microrregião Serrana (Thiengo et al., 1998) e Mesorregião Metropolitana (Thiengo et al., 2001). O objetivo principal deste trabalho foi caracterizar morfológicamente algumas destas formas larvais e compará-las com aquelas já descritas.

Material e métodos

As formas larvais foram obtidas de gastrópodes coletados em Guapimirim, Niterói e Maricá (Microrregião Rio de Janeiro). Os moluscos foram coletados, com o auxílio de conchas de captura e pinças, em córregos, valas de drenagem, lagoas e rios. No laboratório, foram mantidos em aquários com água desclorada e filtrada, tendo como substrato uma fina camada de argila, acrescida de carbonato de cálcio e farinha de ostra, e alimentados diariamente com alface (*Lactuca sativa* L.) fresca. Na manhã seguinte à coleta, foi realizada a triagem para verificar a presença das formas larvais. Os moluscos eram postos individualmente em frascos de vidro com 4 ml de água desclorada e filtrada e após a exposição à iluminação artificial por 2 horas, observados sob microscópio estereoscópico. Caso nenhuma cercária fosse observada, outras triagens eram feitas num intervalo de 5 dias.

Os moluscos que eliminaram cercárias foram mantidos em aquários até morrerem e fixados em Railliet-Henry. Aqueles que não eliminaram, foram esmagados à procura de esporocistos, rédias e metacercárias.

A caracterização das cercárias foi realizada seguindo diferentes metodologias: (a) observadas a fresco, em frascos com 4 ml de água, para registrar o tempo de vida nestas condições experimentais; (b) observadas a fresco ou com corante vermelho neutro para caracterizar seus movimentos e estruturas vitais; (c) mortas em água quente, fixadas em álcool 70% ou AFA e coradas com lugol ou corantes a base de carmim (carmim clorídrico ou carmim acetoalumen). Neste caso eram desidratadas, clarificadas em salicilato de metila e montadas em bálsamo de Canadá, possibilitando a caracterização morfológica, mensuração e registro em câmara lúcida ou câmara fotográfica acopladas ao microscópio óptico.

A identificação foi baseada na chave de classificação proposta por Shell (1970), a partir de 10 formas larvais. O material está depositado nas Coleções do Instituto Oswaldo Cruz, sendo as lâminas na Coleção Helmintológica e os moluscos na Coleção Malacológica.

Resultados

Dos 3774 exemplares de *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774) coletados, 128 foram obtidos em Guapimirim (rio Bananal) e 3646 em Maricá (lagoa de Maricá), sendo os índices de infecção por *Pleurolophocercus cercaria* de 21,1% e 0,6%, respectivamente. Quanto ao desenvolvimento larval intra-molusco, um grande número de rédias no intestino, estômago e gônadas foi observado.

Dos 68 exemplares de *P. marmorata* coletados em Maricá, apenas um (1,5%) eliminou equinostomocercárias e quatro (5,9%), examinados por esmagamento, apresentaram metacercárias provavelmente de equinostomatídeo, no pericárdio. O índice de positividade obtido foi 7,4%. Não foi possível observar o tempo de vida das cercárias e o seu desenvolvimento intra-molusco, pois o único exemplar parasitado morreu após a primeira exposição à luz, provavelmente devido à grande carga parasitária, e as cercárias haviam sido destinadas ao estudo morfológico.

Dos 9 exemplares de *P. marmorata* coletados em Niterói, dois eliminaram xifidiocercárias (índice de positividade de 22,2%), nos quais foram observados numerosos esporocistos na glândula digestiva, quando fixados.

O índice de positividade por estrigeocercárias encontrados nos 1894 exemplares de *B. tenagophila* provenientes de Niterói foi 0,16%. Não foi possível a observação do desenvolvimento intra-molusco.

Descrição dos tipos de cercárias:

I. *Pleurolophocercus cercaria* (Fig. 1)

- Molusco hospedeiro: *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774).
- Localidade: Maricá, RJ e Guapimirim, RJ.
- Tempo de vida: aproximadamente 48 horas após emergirem dos moluscos.
- Medidas: Corpo - 93µm (83-103) de comprimento X 56µm (47-61) de largura; ventosa oral - 24µm (19-28) de comprimento X 22µm (19-25) de largura; cauda - 109µm (100-127) de comprimento X 17µm (13-22) de largura.
- Características:

Corpo oval rodeado por pêlos sensitivos de difícil observação. Ventosa oral esférica, subterminal, com espinhos curtos em

toda sua superfície e uma coroa de espinhos mais longos na abertura da ventosa oral, sendo possível a observação de sete espinhos na região anterior à ventosa oral. Acetábulo pequeno, de difícil visualização, localizado no terço posterior do corpo.

Pré-faringe não observada, pequena faringe musculosa e esôfago curto. Cecos intestinais de fundo cego terminando anteriormente ao acetábulo. Presença de um par de ocelos pigmentados, dispostos lateralmente ao esôfago, e sete glândulas de penetração de cada lado do corpo, ventralmente sobre os cecos intestinais. Vesícula excretora epitelial grande e poro excretor localizado na parte distal da cauda. Cauda simples, um pouco mais longa que o corpo, desprovida de aleta caudal, apresentando dois tipos de células de colorações diferentes (um tipo redondo e pequeno e outro de forma e tamanho variados). Quando coradas pelo carmim, o corpo apresenta granulações grosseiras e a cauda fica pouco corada.

II. *Echinostomocercaria* (Fig. 2)

- Molusco hospedeiro: *Physa marmorata* Guilding, 1828.
- Localidade: Maricá, RJ.
- Tempo de vida: não observado.
- Medidas: Corpo - 228µm (194-253) de comprimento X 123µm (94-147) de largura; ventosa oral - 42µm (33-50) de comprimento X 41µm (33-50) de largura; acetábulo - 43µm (33-50) de comprimento X 47µm (33-59) de largura; cauda - 470µm (444-547) de comprimento X 44µm (38-55) de largura.
- Características:

Colar cefálico, com 20 a 22 espinhos na extremidade anterior, localizado entre a ventosa oral e a faringe. Corpo com várias células cistogênicas, alongado, sendo a extremidade anterior mais afilada. Ventosa oral subterminal, acetábulo situado na região subequatorial do corpo. Na região dorsoposterior ao acetábulo, notam-se dois grupos de células que provavelmente constituem os primórdios genitais.

Pré-faringe longa, faringe musculosa, esôfago longo comunicando-se, na altura do acetábulo, com os cecos intestinais que terminam posteriormente à vesícula excretora, situada na extremidade posterior do corpo. Sistema excretor posterior à ventosa oral, com dois canais excretores, que percorrem as margens laterais do corpo. Entre a faringe e o acetábulo, esses canais estão preenchidos por concreções circulares. Cauda longa e afilada na extremidade posterior, com numerosas células em toda sua extensão.

III. *Xiphidiocercaria* (Fig. 3)

- Molusco hospedeiro: *Physa marmorata* Guilding, 1838.
- Localidade: Niterói, RJ.
- Tempo de vida: aproximadamente 24 horas após emergirem dos moluscos.
- Medidas: Corpo - 216µm (188-250) de comprimento X 104µm (91-130) de largura; ventosa oral - 41µm (33-52) de comprimento X 44µm (38-52) de largura; acetábulo - 36µm (27-50) de comprimento X 38µm (27-50) de largura; cauda - 274µm (240-300) de comprimento X 34µm (27-44) de largura; estilete - 24µm (22-25) de comprimento.
- Características:

Presença de um estilete na extremidade anterior do corpo, na região da ventosa oral, sem ultrapassá-la. Ventosa oral esférica e subterminal, de onde partem dois canais das glândulas

Formas larvais de Trematoda

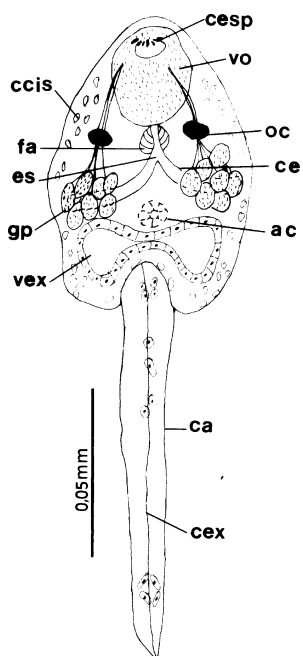


Fig. 1 - *Pleurolophocercus cercaria*

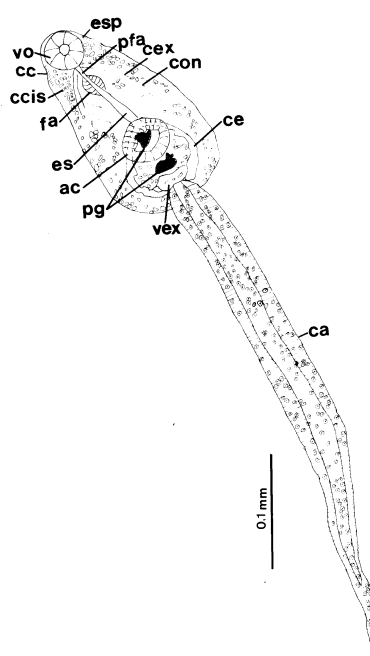


Fig. 2 - Equinostomocercária

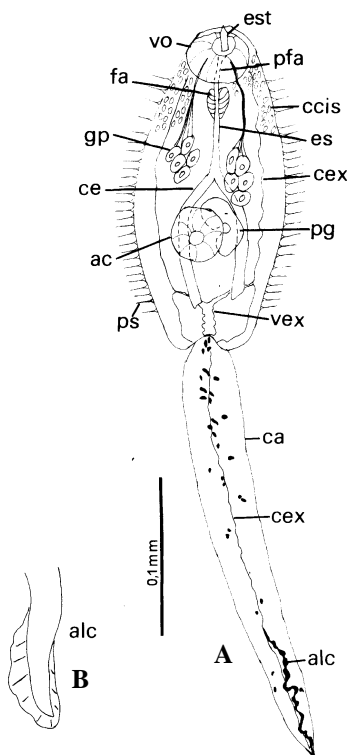


Fig. 3 - Xifidiocercária: A. vista ventral; B. porção final da cauda

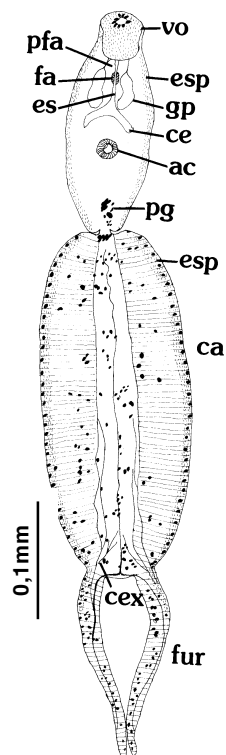


Fig. 4 - Estrigeocercária

Abreviações usadas nas Figuras: ac - acetábulo, alc - aleta caudal, ca - cauda, cesp - coroa de espinhos, cc - collar cefálico, ccis - células cistogênicas, cex - canal excretor, ce - ceco intestinal, con - concreções, es - esôfago, esp - espinhos, est - estilete, fa - faringe, fur - furca, gp - glândula de penetração, oc - ocelo, pfa - pré-faringe, pg - primórdio genital, ps - pêlos sensitivos, vex - vesícula excretora e vo - ventosa oral.

de penetração, que podem apresentar-se cheias, atingindo a região anterior ao acetábulo, ou vazias e murchas formando dois pequenos sacos laterais. Acetábulo um pouco menor que a ventosa oral, localizado ventralmente na região subequatorial. Primórdio genital localizado dorsalmente no nível do acetábulo. Corpo oval com pêlos sensitivos laterais que se iniciam posteriormente à ventosa oral e se distribuem uniformemente até a extremidade posterior do corpo. A observação desses pêlos sensitivos só foi possível quando as cercárias encontravam-se em movimento.

Pré-faringe seguida de faringe musculosa em forma de pêra invertida. Esôfago longo que se bifurca em dois longos cecos intestinais de fundo cego. Sistema excretor com vesícula excretora em forma de Y. Canais excretores estreitos percorrendo as margens laterais do corpo da cercária, partindo da região posterior à ventosa oral e encontrando-se na altura da bifurcação da vesícula excretora, posteriormente ao acetábulo. Cauda afilada e mais longa que o corpo, com aleta caudal dorsoventral na região posterior.

IV. Estrigeocercaria (Fig. 4)

- Molusco hospedeiro: *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835).
- Localidade: Niterói, RJ.
- Tempo de vida: aproximadamente 18 horas após emergirem dos moluscos.
- Medidas: Corpo - 217µm (188–229) de comprimento X 78µm (70–88) de largura; ventosa oral - 43µm (35–50) de comprimento X 28µm (23–41) de largura; acetábulo - 18µm (17–32) de comprimento X 28µm (15–36) de largura; cauda - 505µm (476–541) de comprimento X 124µm (70–141) de largura; furca - 176µm (158–203) de comprimento.
- Características:

Furcocercária grande, corpo oval alongado, recoberto por espinhos curtos. Ventosa oral terminal grande e nítido acetábulo, localizado na região subequatorial do corpo.

Pré-faringe, faringe e esôfago curtos. Cecos intestinais curtos. Em exemplares corados, sistema digestivo de difícil visualização. Em exame a fresco, foram observados dois canais excretores laterais que partem da região anterior, na altura da ventosa oral, e se ligam a uma pequena vesícula excretora, provavelmente do tipo epitelial, localizada na porção terminal do corpo. Da vesícula excretora, partem dois feixes longitudinais laterais de canais excretores e um canal central que se divide na altura da bifurcação, terminando na metade posterior da furca. Os canais longitudinais são ligados a numerosos canais transversais. Tronco da cauda transparente, longo, dilatado com aspecto de barril, recoberto por curtos espinhos e termina em duas pequenas furcas.

Discussão

O tipo *Pleurolophocercus cercaria* encontrado em *M. tuberculatus* é característico da família Opisthorchiidae e Cryptogonimidae por se desenvolverem de rédias em moluscos operculados, apresentarem ocelos, acetábulo vestigial, vesícula excretora epitelial bilobada e ausência de aleta caudal. Estas formas larvais se encistam em peixes e atingem a maturidade sexual quando ingeridos por aves e mamíferos. Ostrowski de Núñez (1998) descreveu a cercária de *Ascocotyle (Phagicola) angelo*

Travassos, 1928 emergida de *Littoridina castellanosa* (Gaillard, 1974) na Argentina que, apesar da ausência de acetábulo, assemelha-se ao tipo encontrado em *M. tuberculatus*.

A equinostomocercária encontrada em *P. marmorata* apresenta collar cefálico com espinhos, característico da família Echinostomatidae. Em gastrópodes límnicos, podem ser encontradas formas larvais livres ou formas císticas (metacercárias), podendo estas últimas serem encontradas em uma grande variedade de hospedeiros invertebrados e vertebrados. Os hospedeiros definitivos são répteis, aves e mamíferos.

No Rio Grande do Sul, Veitenheimer-Mendes (1982) descreveu equinostomocercárias emergidas de *Biomphalaria peregrina* (Orbigny, 1835) semelhantes à aqui descrita, divergindo entretanto por apresentarem comprimentos do corpo e da cauda menores, e concreções circulares diminutas nos canais excretores. Quando comparada à cercária de *Paryphostomum segregatum* Dietz, 1909 estudada por Lutz (1924) e Ruiz (1952b), observou-se canais excretores com concreções menores e grânulos refringentes na base da ventosa oral, diferindo da equinostomocercária ora descrita.

A xifidiocercária encontrada em *P. marmorata* pertence ao grupo das cercárias ornatas por apresentar estilete na ventosa oral e aleta caudal dorsoventral. Esse tipo de cercária, característico de trematódeos das famílias Macroderoididae e Haplometridae, se desenvolve a partir de um esporocisto, e posteriormente se encista em várias espécies de vertebrados e invertebrados aquáticos. Anfíbios e peixes são os hospedeiros definitivos. Essa xifidiocercária é semelhante àquela estudada por Veitenheimer-Mendes (1982), emergidas de *Drepanotrema kermatoides* (Orbigny, 1835), quanto às medidas e disposição dos pêlos sensitivos. Entretanto, difere quanto a presença de glândulas de penetração e ao tamanho dos cecos intestinais, que chegam a atingir a extremidade posterior do corpo.

A estrigeocercária encontrada em *B. tenagophila* pertence à família Strigeidae. Cercária com este formato foi citada pela primeira vez no Brasil por Lutz (1931), quando estudou a ontogenia de *Hemistomum trilobum* (Rudolphi, 1819) e assinalou exemplares de *B. tenagophila* parasitados por “cercária de formato extraordinário”. Espindola et al. (1992) ilustraram este tipo cercariano encontrado em *B. tenagophila*, como sendo furcocercária desconhecida.

Dentre os tipos de cercárias descritos por Silva (1992) encontrados durante o levantamento malacológico do Lago Soledade, Ouro Branco, MG, uma estrigeocercária, denominada tipo B4 emergida de *B. tenagophila*, assemelha-se à deste trabalho, diferindo desta pela rede característica de canais excretores da cauda e por apresentar tamanhos menores, exceto no que se refere ao acetábulo.

Para um completo conhecimento das interações parasito-hospedeiro encontradas nos levantamentos malacológicos, é fundamental a descrição dos estádios evolutivos dos trematódeos, incluindo as formas larvais. Estudos visando a identificação definitiva e o completo ciclo biológico deverão ser realizados.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Roberto Magalhães Pinto, do Departamento de Helminologia –IOC, pelas valiosas sugestões e ao Arq. José Eduardo Prado, do Departamento de Malacologia –IOC pelo importante auxílio na parte gráfica deste trabalho.

Referências

- Espindola, K. S.; Machado, M. M. & Hofmann, P. R. P. 1992. Natural and experimental infection of planorbids from the island of Santa Catarina (Brazil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **34**: 289-294.
- Lutz, A. 1919. *Schistosoma mansoni* e a schistosomose segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **11**: 121-155.
- Lutz, A. 1922. Introdução ao estudo da evolução de endotrematodes brasileiros. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **14**: 95-103.
- Lutz, A. 1924. Introdução ao estudo da evolução de endotrematodes brasileiros. Parte especial I: Echinostomatidae **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **17**: 55-73.
- Lutz, A. 1931. Contribuição ao conhecimento da ontogenia das strigeidas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **25** (4): 333-42.
- Lutz, A. 1933. Notas sobre dicranocercarias brasileiras. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **27** : 349-75.
- Ostrowski de Núñez, M. 1998. Life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) angeloi* (Digenea: Heterophyidae) in the Neotropical Region. **Folia Parasitologica**, **45**: 199-204.
- Ruiz, J. M. 1943. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. **Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo**, **3**: 105-112.
- Ruiz, J. M. 1952a. Noções Técnicas aplicadas à epidemiologia da Schistosomose.1. Captura de Moluscos. Pesquisa e reconhecimento de cercarias. **Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo**, **10**: 41-62.
- Ruiz, J. M. 1952b. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 2. Fauna de Santos, Estado de São Paulo. **Memórias do Instituto Butantan**, **24**:17-36.
- Ruiz, J. M. 1952c. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte e Jaboticatubas, Estado de Minas Gerais. **Memórias do Instituto Butantan**, **24**:45-61.
- Ruiz, J. M. 1953. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 5. Descrição de três furcocercárias que ocorrem em planorbídeos hospedeiros de *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Butantan**, **25**:77-89.
- Schell, S. 1970. - **How to Know the Trematodes**. WMC Co. Publishers, Dubuque, 355pp.
- Silva, P. 1912. Cercaire brésilienne (*Cercaria blanchardi*) à queue bifurquée. **Archives de Parasitologie** **15**:38.
- Silva, R. E. 1992. Estudo Malacológico da Bacia Hidrográfica do Lago Soledade (Ouro Branco, Minas Gerais): testes de susceptibilidade com os transmissores do *Schistosoma mansoni*. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- Souza, C. P.; Lima, L. C.; Zannotti-Passos, L. K.; Ferreira, S. S.; Guimarães, C. T.; Vieira, L. B. F. & Mariani Junior, R. J. 1998. Moluscos límnicos da Microrregião de Belo Horizonte, Minas Gerais, com ênfase nos vetores de parasitoses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **31**: 449-456.
- Thiengo, S. C.; Fernandez, M. A.; Boaventura, M. F. & Storti, M. A. 1998. A survey of gastropods in the Microrregião Serana of the Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **93**, supp.I: 233-234.
- Thiengo, S. C.; Fernandez, M. A.; Boaventura, M. F.; Gault, C. E.; Silva, H. F. R.; Mattos, A.C. & Santos, S. B. 2001. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the State of Rio de Janeiro, Brazil: I – Metropolitan Mesoregion. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **96**, supp.: 177-184.
- Veitenheimer-Mendes, I. L. 1981. Cercárias em *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) (Mollusca, Planorbidae) de Guafba, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia** **60**: 3-12.
- Veitenheimer-Mendes, I. L. 1982. Cercárias em moluscos planorbídeos de Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, **42**:545-551.