

O CICLO EVOLUTIVO DE *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923,
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.

TESE

Apresentada à Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro para obtenção do grau de
"Magister Scientiae"

MARIA JOSÉ DE FARIA DUARTE

=Dezembro 1977=

B I O G R A F I A

MARIA JOSÉ DE FARIA DUARTE, filha de José Santana de Faria e Maria Ferreira Pinto Faria, nasceu em Teixeira, Estado de Minas Gerais, em 5 de janeiro de 1953.

Realizou o curso primário, em Teixeira, no extinto Grupo Escolar "Antonio Carlos". Freqüentou o curso ginásial no Ginásio Estadual de Teixeira, tendo-o concluído em 1967. Iniciou em 1968, o curso normal na Escola Normal dos Santos Anjos, Vassouras, Estado do Rio de Janeiro, transferindo-se em 1969 para a Escola Normal Professor Loris Melecchi, Seropédica, 2º Distrito de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, onde o concluiu em 1970. Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, tendo-se graduado em 1974. Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) de 1972 a 1974 na categoria de Iniciação Científica. Atualmente é Pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), na categoria de Pós-Graduação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Vernon E. Thatcher, orientador que não mediu esforços para me apoiar constantemente em todas as fases deste trabalho.

Aos Profs. Dr. Hugo Edison Barboza de Rezende e Dr. José Luiz de Barros Araújo, orientadores que me despertaram o interesse pela Parasitologia, agradeço a assistência prestada à realização desta pesquisa.

A Alberto François d'Escoffier, aluno do 4º ano de Medicina Veterinária da U.F.R.R.J., pela coleta dos moluscos infectados, sem os quais seria impossível iniciar estes experimentos.

Ao Prof. Dr. José Carlos Duarte, que tão gentilmente me cedeu pombos para a realização destes experimentos.

Ao Sr. Delci Gomes, funcionário do Biotério, pelo cuidado com as aves.

Ao Sr. Waldir Jacinto da Silva, laboratorista da Área

de Parasitologia da U.F.R.R.J., pelo auxílio nas necrópsias das aves.

E ainda ao Dr. Hugo Edison Barboza de Rezende, Dr. Vernon E. Thatcher, Dr. Gonzalo E. Moya Borja, Dr. Fugio Akiba, Dr. Nicolau Maués da Serra Freire e Domingos Martins Charles, pela realização das fotografias.

Aos colegas de curso, e a todos que de alguma forma me auxiliaram na realização deste trabalho, meu muito obrigado.

Ao meu pai adotivo, ALDO
e ao meu esposo, ROBERTO AUGUSTO,
pelo estímulo, compreensão e carinho
tão necessários à realização
deste trabalho.

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO DE LITERATURA	3
	2.1. Origem da Família Brachylaemidae	3
	2.2. Origem do género <i>Postharmostomum</i>	3
	2.3. Espécies de <i>Postharmostomum</i> de <i>Gallus gallus</i> L., 1758	4
	2.4. Validade dos nomes <i>P. gallinum</i> e <i>P. commutatum</i>	5
	2.5. Sinonímia das espécies de <i>Postharmostomum</i> de <i>G. gallus</i>	5
	2.6. Distribuição geográfica das espécies de <i>Postharmostomum</i> de <i>G. gallus</i>	6
	2.6.1. No mundo	6
	2.6.2. No Brasil	7
	2.6.2.1. Descrições	7
	2.6.2.2. Citações	7
	2.7. Ciclos biológicos	7
	2.7.1. Ciclos incompletos	8
	2.7.2. Ciclos completos	9

2.8.	Patologia	10
III.	MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1.	Animais utilizados	11
3.1.1.	Moluscos	11
3.1.2.	Aves	12
3.2.	Obtenção de adultos, ovos e formas larvais do trematódeo	13
3.2.1.	Adultos	13
3.2.2.	Ovos	13
3.2.3.	Miracídios	14
3.2.4.	Esporocistos, cercárias e metacercárias	14
3.3.	Exames a fresco e métodos de coloração	16
3.4.	Estudo morfológico dos ovos e formas larvais e adultas do trematódeo	17
3.5.	Determinação do índice de infecção natural dos moluscos	17
3.6.	Infecção experimental de moluscos	18
3.6.1.	Infecção com ovos do trematódeo	18
3.6.2.	Infecção com cercárias provenientes de moluscos naturalmente infectados	18
3.7.	Infecção experimental das aves	19
3.7.1.	Por ingestão de moluscos infectados	19
3.7.2.	Por ingestão de metacercárias isoladas de moluscos infectados	20
3.8.	Emergência de cercárias	20
3.9.	Transmissão de cercárias de moluscos infectados para moluscos não infectados	21
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22

4.1.	Determinação do índice de infecção natural dos moluscos	22
4.2.	Infecção experimental de moluscos	23
4.2.1.	Infecção com ovos do trematódeo	24
4.2.2.	Infecção com cercárias provenientes moluscos infectados naturalmente	26
4.3.	Infecção experimental das aves	28
4.3.1.	Por ingestão de moluscos infectados	28
4.3.2.	Por ingestão de metacercárias isoladas de moluscos infectados	29
4.4.	Estudo morfológico dos ovos e das formas larvais e adultas do trematódeo	30
4.4.1.	Ovos	30
4.4.2.	Miracídios	30
4.4.3.	Esporocistos	31
4.4.3.1.	Esporocistos de 20 dias	31
4.4.3.2.	Esporocistos de 40 dias	32
4.4.3.3.	Esporocistos de 60 dias	32
4.4.3.4.	Esporocistos de 70 dias	32
4.4.3.5.	Esporocistos de 80 dias	32
4.4.3.6.	Esporocistos de 90 dias	33
4.4.3.7.	Esporocistos de 100 dias	33
4.4.4.	Cercárias	33
4.4.5.	Metacercárias	34
4.4.6.	Adultos	35
4.5.	Emergência de cercárias	38
4.6.	Transmissão de cercárias de moluscos infectados para moluscos não infectados	38

4.7.	Patologia	40
V.	CONCLUSÕES	41
VI.	RESUMO	44
VII.	ABSTRACT	46
VIII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
IX.	APÊNDICE	56

I. INTRODUÇÃO

A sistemática dos gêneros e espécies da Família Brachylamidae Joyeux e Foley, 1930, tem sido bastante discutida. O gênero *Postharmostomum* Witenberg, 1923, pertencente a esta Família, também carrega discussões a respeito da validade de algumas de suas espécies. Entre elas, *P. gallinum* e *P. commutatum* são as mais discutidas, caindo em sinonímia por diversos autores.

Segundo YAMAGUTI (1971) este gênero possui seis espécies parasitas de aves e quatro espécies parasitas de mamíferos. No Brasil é citada apenas a ocorrência de *Postharmostomum commutatum* (Diesing, 1858) parasita de ceco de galinha doméstica, encontrada em São Paulo (= *Brachylaemus fleuryi* Fonseca, 1939), em Minas Gerais e no Paraná.

SINIT SIN (1931) ao revisar a Subfamília *Harmostominae*, afirmou que a classificação de trematódeos digenéticos deve ser baseada em sua morfologia e em seus ciclos evolutivos, embora, muitas vezes, isto seja trabalhoso, se não impossível. Segundo es-

te autor, a classificação sistemática apoiada apenas na morfologia, não estabelece relacionamentos entre as Famílias, gêneros e espécies. TRAVASSOS (1964) arrolou 60 nomes específicos, entre eles *gallinum* e *commutatum*, aplicáveis aos gêneros *Brachylaemus* e *Postharmostomum*. Estes nomes, segundo ele, só terão validade após a realização de estudos experimentais que venham a confirmá-los ou não.

A dissecação de moluscos terrestres provenientes de Lins de Vasconcelos, Rio de Janeiro, RJ e Campo Grande, Rio de Janeiro, RJ, resultou no encontro de metacercárias de brachylemídeo em suas cavidades pericárdicas. Aves suscetíveis foram infectadas com estes moluscos e em pouco tempo abrigaram parasitos adultos nos cecos intestinais.

Servindo-nos do achado, procedemos o estudo do ciclo evolutivo do parasito com a finalidade de classificá-lo adequadamente e de determinar os hospedeiros responsáveis pela disseminação desta parasitose no Estado do Rio de Janeiro.

Constitui este, o primeiro relato deste parasito no Estado do Rio de Janeiro e, o primeiro ciclo biológico de um representante de Família *Brachylaemidae* Joyeux e Foley, 1930, realizado no Brasil.

II. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Origem da Família Brachylaemidae

ODHNER (1912) estabeleceu a Família Harmostomidae, tendo como gênero típico *Harmostomum* Braun, 1899. JOYEUX e FOLEY (1930) baseando-se na sinonímia de *Harmostomum* Braun, 1899, com *Brachylaima* Dujardin, 1843, corrigido ortograficamente para *Brachylaemus* Blanchard, 1847, mudaram o nome da Família para Brachylaemidae.

2.2. Origem do gênero *Postharmostomum*

WAGENER (1852) citou a ocorrência de *Distoma dimorphum* Diesing, 1839, em Pisa, Itália, parasitando *Gallus gallus* (L.). DIESING (1858) denominou este parasito de *D. commutatum*, considerando-o como espécie diferente. SONSINO (1889, 1891) em Pisa; BARBAGALLO (1906) na Catânia, e GALLI-VALLERIO (1894 e 1901) em Milão, referiram-se a esta espécie, situando-a porém, no gênero

Mesogonimus. No ano de 1899, BRAUN criou o gênero *Harmostomum* para parasitos deste grupo. JOYEUX e FOLEY (1930) colocaram *Harmostomum* como sinônimo de *Brachylaemus*. Deste modo, *D. commutatum* passou a *Brachylaemus commutatum* (Diesing, 1858).

WITENBERG (1923) criou o gênero e espécie *Postharmostomum gallinum* para trematódeos de galinha do Turkestão, no trabalho que foi publicado em SKRJABIN (1923). Devido a semelhança morfológica de *D. commutatum* com as descrições do gênero *Postharmostomum*, SKRJABIN (1923) transferiu esta espécie para *Postharmostomum commutatum*. Mais tarde, WITENBERG (1925) reduziu o gênero *Postharmostomum* a subgênero de *Harmostomum* Braun, 1899. Entretanto, McINTOSH (1934) preferiu referir-se a *Postharmostomum* como grau genérico, concordando com ele, entre outros, ALICATA (1940), ROBISON (1949b), TRAVASSOS e KOHN (1966) e YAMAGUTI (1971).

2.3. Espécies de *Postharmostomum* de *Gallus gallus* (L.)

De acordo com YAMAGUTI (1971) são as seguintes as espécies de *Postharmostomum* que parasitam os cecos intestinais de *Gallus gallus* no mundo:

P. gallinum Witenberg, 1923;

P. commutatum (Diesing, 1858) Skrjabin, 1923;

P. fleuryi (Fonseca, 1939) Skrjabin, 1948;

P. malayense (Tubangui e Musiluñgan, 1941) Yamaguti, 1958;

P. ntowi Hodasi, 1967.

2.4. Validade dos nomes *P. gallinum* e *P. commutatum*

Existem várias discussões a respeito da sinonímia ou não entre estas duas espécies. JOYEUX e HOUEMER (1928) e JOYEUX et al. (1934) aceitaram a sinonímia, enquanto que TRAVASSOS (1928), SKRJABIN (1948) e YAMAGUTI (1933, 1958, 1971) acreditaram que são espécies distintas. DOLLFUS (1935) aceitou *gallinum* como variedade de *commutatum*.

2.5. Sinonímia das espécies de *Postharmostomum*
de *Gallus gallus*

Além de *P. commutatum* outros nomes são considerados sinônimos de *P. gallinum*, por diversos autores:

segundo YAMAGUTI (1958), TRAVASSOS (1965) e GROSCHAFT et al. (1969):

Harmostomum horizawai Ozaki, 1925;

Harmostomum hawaiiensis Guberlet, 1928;

Harmostomum momiyamai Fukui e Ogata, 1938;

segundo TRAVASSOS (1965) e GROSCHAFT et al. (1969):

Postharmostomum annamense (Railliet, 1924);

Postharmostomum fleuryi (Fonseca, 1949) Skrjabin, 1948;

segundo TRAVASSOS (1965):

Postharmostomum malayense Tubangui e Musiluñgan, 1941.

Além de *P. gallinum*, têm-se os seguintes nomes conside-

rados sinônimos de *P. commutatum*.

segundo SINITSIN (1931):

Harmostomum hawaiiensis Guberlet, 1928.

segundo PEREIRA e COCUOLO (1939):

Distoma dimorphum Wagener, 1852;

Distoma commutatum Diesing, 1858;

Mesogonimus commutatus (Diesing, 1858) Sonsino, 1889;

Mesogonimus dimorphus (Wagener, 1858) Galli-Valerio, 1901;

Harmostomum commutatum (Diesing, 1858) Braun, 1889;

Harmostomum annamense Railliet, 1924;

Harmostomum (Postharmostomum) gallinum (Witenberg, 1923) Witenberg, 1925;

Harmostomum horizawai Ozaki, 1925;

Harmostomum hawaiiensis Guberlet, 1928;

Brachylaemus commutatus (Diesing, 1858) Joyeux e Foley, 1930;

Brachylaemus fleuryi Fonseca, 1939;

2.6. Distribuição geográfica das espécies de

Postharmostomum de *Gallus gallus*.

2.6.1. No mundo.

As espécies de *Postharmostomum* parasitos de cecos intestinais de *Gallus gallus* estão reportados na Itália (Pisa, Cântia, Milão, Puglia, Sardenha), Japão (Tokyo, Kyoto), Hawaii (Ho-

nolulu), Indochina Oriental (Hué-Annam), África (Gana, Mahdia-Tunis) e Rússia (Turkestão). (WAGENER, 1852; SONSINO, 1889, 1891; BARBAGALLO, 1906; GALLI-VALLERIO, 1894, 1901; NARDI, 1958; DEIANA, 1961; HORIZAWA, 1914; OZAKI, 1925; HIRATA, 1928; ASADA, 1928; YAMAGUTI, 1933; GUBERLET, 1928; ALICATA, 1940; RAILLIET, 1925; HODASI, 1967; JOYEUX, 1923; JOYEUX e HOUEMER, 1928; WITENBERG, 1923).

2.6.2. No Brasil.

2.6.2.1. Descrições.

FONSECA (1939) descreveu *Brachylaemus fleuryi* parasita de cecos intestinais de galinha doméstica, em São Paulo. PEREIRA e CUOCOLO (1939) descreveram *Postharmostomum commutatum* em galinhas domésticas de São Paulo. Estes autores consideram a espécie de FONSECA (1939), pertencente ao grupo *commutatum*.

2.6.2.2. Citações

FREITAS e HIPÓLITO (1943) citaram a ocorrência de *Postharmostomum commutatum* em Minas Gerais.

FERNANDES (1965) citou *P. commutatum* no Paraná.

2.7. Ciclos Biológicos

Estudos experimentais sobre alguns aspectos da biologia ou mesmo o ciclo evolutivo completo de algumas espécies da Família Brachylaemidae foram realizados por diversos autores.

2.7.1. Ciclos incompletos

SINIT SIN (1931) encontrou primeira geração de esporocistos de *Ectosiphonus rhomboideus* Sinit sin, 1931, no caramujo terrestre *Gastrodonta ligera*, em Washington, D.C. e metacercárias de *E. ovatus* Sinit sin, 1931, no rim de *G. suppressa*, na Virgínia.

JOYEUX *et al.* (1932) observaram o desenvolvimento de esporocistos e metacercárias de *Brachylaima nicolli* (Witenberg, 1925) Adam e Leloup, 1934, em *Helicella (Trocoidea) scitula*, *Oxychilus*, *cellarius* e *Agriolimax agrestis*.

ALICATA (1938a) encontrou *Bradybaena similaris* como hospedeiro intermediário de *P. gallinum* Witenberg, 1923, na natureza, em Honolulu, Hawai.

ALICATA (1938b) iniciou a infecção experimental de *Bradybaena* com ovos de *P. gallinum*.

ROBISON (1949a) iniciou estudos sobre a biologia de *P. helici s* (Leidy, 1847) Robison, 1949, e observou que cercárias encontradas em *Anguispira alternata* passavam para outros moluscos desta mesma espécie ou para *Polygyra thyroides*.

ULMER (1950) observou que *Anguispira alternata*, primeiro e segundo hospedeiro intermediário de *P. helici s* podia abrigar também esporocistos, cercárias e metacercárias de outro brachylaemídeo.

ULMER (1951a) observou que *Polygyra thyroides* abrigava metacercárias de *Brachylaemus virginiana* (Dickerson) nos rins e metacercárias de *P. helici s* na cavidade pericárdica.

DEIANA e ARRU (1962) encontraram formas evolutivas de *P. commutatum* (Diesing, 1858) Skrjabin, 1923, em *Helix pisana*, na Sardenha.

GROSCHAFT et al. (1969) investigando algumas espécies de moluscos terrestres, encontraram metacercárias de *P. gallinum* em *Praticolella griseola*, *Oleacina* spp., *Zachrysia auricoma* e *Subulina octona*, na província de Habana (Cuba).

2.7.2. Ciclos completos.

KRULL (1933) realizou o ciclo de *Brachylaemus spinosulum* (Hofmann, 1889) Adam e Leloup, 1934, utilizando como hospedeiro intermediário *Polygyra thyroides*.

KRULL (1934, 1935) determinou experimentalmente o ciclo de *Panopistus pricei* Sinitsin, 1931, utilizando *Zonitoides arbo-reus* como primeiro e segundo hospedeiros intermediários. REYNOLDES (1938) relatou *Agriolimax agrestis* como primeiro e segundo hospedeiros intermediários do mesmo parasito, enquanto VILLELLA (1954) indicou *Ventridens ligera* como primeiro hospedeiro.

JOYEUX et al. (1934) estudaram o ciclo de *Brachylaemus fuscatus* (Rud., 1819) Babero, 1953, dissecando *Helix pisana* em diferentes épocas do ano.

ALICATA (1940) realizou o ciclo evolutivo de *Postharmostomum gallinum*, determinando como primeiro e segundo hospedeiros intermediários *Bradybaena similis* e como segundo *Subulina octona*, em Honolulu, Hawai.

ALLISON (1943) estudou o ciclo de *Leucochloridiomorpha constantine* (Mueller, 1935) Allison, 1943, tendo como hospedeiro intermediário *Campelona decisum*.

ROBISON (1949b) estudou o ciclo de *P. helicis* (Leidy, 1847), Robison, 1949, determinando como primeiro e segundo hospedeiro intermediário *Anguispira alternata* e como segundo hospedeiro intermediário *Polygyra thyroides*, *Zonitoides arboreus*, *Philomycus carolinianus* e *Derocera reticula*.

ULMER (1951b) observou duas gerações de esporocistos de *P. helicis* e considerou *Anguispira alternata* como principal hospedeiro intermediário.

ULMER (1949b) realizou o ciclo de *P. laruei* McIntosh, 1934, utilizando *Anguispira alternata* *Polygyra thyroides* nas infecções experimentais, os esporocistos foram encontrados apenas em *A. alternata*.

2.8. Patologia

ALICATA (1940) sugeriu que *P. gallinum* fosse responsável pela presença de sangue no conteúdo cecal de aves parasitadas. NARDI (1958) encontrou degeneração hepática e tiflite hemorrágica em aves parasitadas com *P. commutatum*. DEIANA (1961) referiu-se a postarostose como tiflite catarral crônica, e comentou que, quando a infestação era maçica, as aves apresentaram inapetência, emagrecimento, diarreia profusa e fezes com estrias de sangue.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido na Área de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

3.1. Animais utilizados

3.1.1. Moluscos

Foram utilizados moluscos terrestres, representativos de quatro gêneros: *Bradybaena similaris* Férussac, 1821, *Subulina octona* Bruguière, 1792, *Leptinaria lamellata* (Potiez e Michaud, 1838) e *Bulimulus tenuissimus* (Orbigny, 1835).

Os moluscos foram mantidos no laboratório em caixas de plástico de 21 x 15 x 6 ou de 22,7 x 16,7 x 9,1 cm. Estas caixas continham terra autoclavada (120°C-40 minutos) até cerca da metade de sua altura. Diariamente, esta terra foi umedecida com água destilada, renovando-se ao mesmo tempo, os alimentos dos moluscos, que se compunham de alface para *Bradybaena* e *Subulina* e cenoura para *Leptinaria* e *Bulimulus*.

Para iniciar a criação de *Bradybaena* em laboratório, procedeu-se a coleta de ovos deste molusco, em locais onde ele ocorria em abundância. A postura do molusco era realizada sob folhas secas, pedras e pedaços de madeira. Este material foi transferido para o laboratório. Os ovos foram descolados com pincel e colocados em caixas contendo terra autoclavada. Teve-se o cuidado de cobri-los com pedaços de telha, simulando seu habitat. Os moluscos de outros gêneros foram transferidos para o laboratório já adultos, para se iniciar a reprodução e criação.

3. 1. 2. Aves

Em sua maior parte, as aves utilizadas nestes experimentos foram obtidas com a idade de dois dias a uma semana, de casas comerciais de Campo Grande, no Rio de Janeiro. Constavam de galinha doméstica (*Gallus gallus* L., 1758), pato (*Cairina moschata* L.) e de dois pombos adultos (*Columba livia* Gmelin) doados por seus proprietários.

Estas aves foram mantidas em gaiolas e aquecidas com lâmpadas elétricas durante os primeiros dias de vida. Foram alimentadas com ração inicial (farelada) até completarem o primeiro mês de vida, e depois, com ração de crescimento (granulada). As gaiolas foram limpadas diariamente e mantidas com água e ração.

Como fonte inicial de infecção utilizou-se um galo proveniente de Lins de Vasconcelos, no Rio de Janeiro.

3.2. Obtenção de adultos, ovos e formas larvais do trematódeo

3.2.1. Adultos

As aves natural ou experimentalmente infectadas foram sacrificadas e necropsiadas procedendo-se à coleta dos parasitos adultos em seu local de eleição, ou seja, nos cecos intestinais. Os trematódeos encontrados foram colocados em placa de Petri contendo solução fisiológica em temperatura ambiente ou estufa a 37° C, para provocar a eliminação de ovos. Uma vez considerada suficiente a postura, estes trematódeos foram retirados das placas e colocados entre lâmina e lamínula contendo água e submetidos a fogo brando até morrerem. Foram fixados em AFA (50ml de álcool etílico 95%, 10ml de formalina comercial e 2ml de ácido acético glacial), estando assim prontos para coloração.

3.2.2. Ovos

Os ovos foram obtidos de posturas de vermes adultos realizadas quando estes foram colocados em placa de Petri contendo solução fisiológica, em meio ambiente ou estufa e 37°C. A postura iniciava-se em aproximadamente 20 minutos, mas os trematódeos foram deixados na placa de 5 a 20 horas para se conseguir maior quantidade de ovos.

Outro método utilizado foi a dissecação de trematódeos, com estiletos, com a finalidade de coletar ovos em suas alças ute-

rinas.

Os ovos, colhidos com pipeta tipo Pasteur, foram colocados em cálice de sedimentação. Após sedimentarem e conseguida a quantidade desejada, os ovos foram utilizados para infecções experimentais de moluscos.

3.2.3. Miracídios

Foram utilizadas duas técnicas para obtenção de miracídios. A primeira consistiu em preparar um suco de intestino de molusco, colocar algumas gotas em lâmina e com pipeta tipo Pasteur, distribuir alguns ovos neste meio, observando-se ao microscópio se o estímulo representado pelo suco era capaz de proporcionar a eclosão dos miracídios. A segunda técnica, preconizada por ULMER (1951b) consistiu em colocar os trematódeos em refrigeração, por vários dias, em salina normal ou água e depois transferi-los para água de torneira em temperatura ambiente, esmagá-los e remover os ovos. Para verificar se o estímulo térmico proporcionou a eclosão dos miracídios, foram colocadas algumas gotas deste líquido em uma lâmina, observando-se sob microscópio.

3.2.4. Esporocistos, cercárias e metacercárias.

Os esporocistos, cercárias e metacercárias foram obtidos, em sua maioria, de moluscos experimentalmente infectados. Apenas as cercárias utilizadas na infecção de moluscos criados em laboratório e as metacercárias utilizadas na infecção de *Gallus*

gallus foram conseguidas de moluscos naturalmente infectados.

As partes moles dos moluscos foram retiradas das conchas pelo rompimento destas. Este material foi preso com alfinetes em placa de Petri contendo como suporte parafina escurecida com pó de carvão, e procedia-se à dissecação em meio de solução fisiológica sob microscópio de dissecação.

A glândula digestiva dos moluscos foi cuidadosamente dissecada para se exporem os esporocistos. Estes iniciavam seu crescimento da região anterior para a posterior do hepatopâncreas. De 70 dias de infecção em diante, foram duplicados os cuidados na coleta dos esporocistos, pois estes formavam verdadeiro emaranhado dificultando o trabalho de retirada.

As cercárias foram obtidas por três métodos: por rompimento de esporocistos completamente desenvolvidos; por nascimento espontâneo das cercárias através do poro de nascimento e por dissecação da cavidade pericárdica dos moluscos. Os dois primeiros métodos mostraram-se ser os melhores, pois forneceram maior quantidade de cercárias.

As metacercárias foram obtidas por abertura cuidadosa da cavidade pericárdica dos moluscos.

Os esporocistos, cercárias e metacercárias foram transferidos, com pipeta tipo Pasteur, do órgão de eleição para embalagens plásticas para comprimidos, contendo solução fisiológica. Neste recipiente foi possível fazer observações necessárias. Terminados os estudos, foram colocados entre lâmina e lamínula contendo água e submetidos a fogo brando até morrerem. Foram fixa-

dos em AFA, estando preparados para coloração.

3.3. Exames a fresco e métodos de coloração

Os vermes adultos e formas larvais foram examinados vivos entre lâminas e lamínulas contendo solução fisiológica, sob microscópio composto. Sob microscópio de dissecação, foram examinados os vermes adultos e formas larvais respectivamente em placas de Petri e embalagens plásticas para comprimidos, ambas contendo solução fisiológica.

Deve-se ressaltar a utilidade das embalagens plásticas para comprimido, para colocação deste material. Sendo um recipiente pequeno, mantém unidas as formas evolutivas, facilitando o seu manuseio. Mostraram-se excelentes também, quando utilizadas para coloração deste material.

Os esporocistos, cercárias, metacercárias e vermes adultos passaram pelo mesmo método de coloração. O material foi retirado do fixador, lavado em água destilada por 5 horas, trocando-se a água duas a três vezes, e colocado para corar em Carmalum de Mayer. Foi descorado até o ponto ideal, em álcool acidulado (álcool 35°C com algumas gotas de ácido clorídrico), desidratado em série alcoólica (50%, 70%, 80%, 95% e absoluto), clarificado em salicilato de metila e montado entre lâmina e lamínula em Balsamo do Canadá.

3.4. Estudo morfológico dos ovos e das formas larvais e adultas do trematódeo.

Os ovos, as formas larvais e as adultas foram estudados e desenhados utilizando-se microscópio Wild M-11 com auxílio de tubo de desenho. Foram também estudados sob microscópio de dissecação. As medidas foram feitas com auxílio da ocular micrométrica Wild, sendo dadas em milímetro para adultos e formas larvais e em micra para ovos. As fotografias foram realizadas em microscópio Wild M-20.

O material foi depositado na Coleção Helminológica do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia da U.F.R.R.J., sob os números: 204 (esporocisto de 20 dias), 205 (esporocisto de 40 dias), 208 (esporocisto de 80 dias), 209 (esporocisto de 90 dias), 210 (esporocisto de 100 dias), 211 (cercária e metacercária) e 211a e b (adultos), e na Coleção de Maria José de Faria Duarte sob os números 23 (esporocisto de 20 dias), 24 (esporocisto de 40 dias), 25 (esporocisto de 60 dias), 26 (esporocisto de 70 dias), 27 (esporocisto de 80 dias), 28 (esporocisto de 90 dias), 29 (esporocisto de 100 dias), 30 (cercária e metacercária) e 31 a e b (adultos).

3.5. Determinação do índice de infecção natural dos moluscos

Foram dissecados 100 *Bradybaena*, 24 *Subulina*, 55 *Leptinaria* e 20 *Bulimulus* para determinação do índice de infecção natu-

ral. O exame se ateve à pesquisa de esporocistos, cercárias metacercárias existentes nestes moluscos.

3.6. Infecção experimental de moluscos

3.6.1. Infecção com ovos de trematódeo.

Placas de Petri com aproximadamente 15cm de diâmetro; 1,5cm de profundidade; foram forradas com terra autoclavada. Foram recortadas folhas de alface na medida do diâmetro das placas e com elas cobriu-se esta terra. Os ovos foram coletados do cálice de sedimentação com uma pipeta tipo Pasteur e jogados sobre a folha de alface. Em cada placa de Petri foram colocados dez moluscos de uma espécie. Foram utilizados 100 *Bradybaena similares*, 40 *Subulina octona*, 40 *Leptinaria lamellata* e 30 *Bulimulus tenuissimus*, distribuídos em 21 placas. Os moluscos foram dissecados periodicamente (aos 20, 40, 60, 70, 80, 90 e 100 dias após) para se acompanhar o desenvolvimento das formas evolutivas do trematódeo.

3.6.2. Infecção com cercárias provenientes de moluscos naturalmente infectados.

Procedeu-se do modo indicado para o teste anterior, apenas substituindo os ovos por cercárias obtidas por rompimento dos esporocistos ou por nascimento espontâneo através do poro de nascimento. Foram utilizadas 10 *Bradybaena*, 10 *Subulina*, 10 *Leptina-*

ria e 3 *Bulimulus* na primeira tentativa, e respectivamente 8, 10, 10 e 3 na segunda. Os moluscos foram dissecados 15, 25 e 27 dias após a infecção.

3.7. Infecção experimental das aves

As aves foram infectadas por ingestão de moluscos contendo metacercárias na cavidade pericárdica ou por introdução de metacercárias isoladas de moluscos infectados. A partir do 15º dia de infecção procedeu-se à realização de exames de fezes diários, de todas as aves, para comprovar a infecção e determinar o período pré-patente do parasito.

O método utilizado foi o de sedimentação. As aves infectadas foram sacrificadas e necropsiadas entre 33 e 92 dias após a inoculação, para pesquisa de vermes adultos. As aves foram marcadas por pintura das asas e da cabeça e com anéis numerados presos em uma das patas.

3.7.1. Por ingestão de moluscos infectados.

Moluscos infectados, em número conhecido, foram administrados às aves por via oral. Não se sabia ao certo o número de metacercárias que era administrado a cada ave, mas exames de moluscos deste mesmo grupo possibilitaram constatar que o número de metacercárias presentes em suas cavidades pericárdicas variou de 5 a 77 para *Bradybaena*, 2 a 12 para *Subulina*, 2 a 42 para *Lep- tinaria* e 3 a 43 para *Bulimulis*.

Os moluscos administrados às aves estavam natural ou experimentalmente infectados; entre os primeiros, 5, 10, 15, 20, 30 e 30 *Bradybaena* foram administradas a seis *Gallus gallus*; 3, 3, 15 e 15 *Bradybaena* administradas a quatro *Cairina moschata*; 15 e 20 *Bradybaena* administradas a duas *Columba livia*; 5, 10, 15, 20 e 30 *Leptinaria* foram administradas a cinco *Gallus gallus* e 15 *Subulina* foram administradas a um *Gallus gallus*. Apenas 15 *Bradybaena* experimentalmente infectadas foram administradas a um *Gallus gallus*.

3.7.2. Por ingestão de metacercárias isoladas de
de moluscos infectados.

As metacercárias, isoladas de moluscos naturalmente infectados, foram introduzidas no esôfago das aves por meio de de uma pipeta em cuja extremidade fora adaptada uma pêra de borracha para aspiração e expulsão do material. Foram inoculados 10 *Gallus gallus* administrando-lhes de 23 a 300 metacercárias por ave, sendo 8 *Gallus* infectados com metacercárias, oriundas de *Bradybaena* e 2 *Gallus* infectados por metacercárias oriundas de *Bulimulus*.

3.8. Emergência de cercárias

Em placas de Petri pequenas, contendo um pouco de água destilada, foram colocados de 4 a 8 moluscos de cada espécie, para se observar a emergência de cercárias. A partir de 1 hora até 24 horas estas placas foram examinadas sob microscópio de dissecação.

3.9. Transmissão de cercárias de moluscos infectados para moluscos não infectados.

Em caixas de plástico de 22,7 x 16,7 x 9,1 cm contendo terra autoclavada umedecida, foram colocadas 20, 25, 20 e 20 *Bradybaena* infectadas naturalmente; nas mesmas caixas foram colocados, respectivamente, 10 *Bradybaena*, 30 *Subulina*, 10 *Leptinaria* e 4 *Bulimulus* não infectados. Em caixa idêntica e igualmente preparada, foram colocados 30 *Leptinaria* naturalmente infectadas e 30 *Subulina* não infectadas. Os moluscos inicialmente livres de infecção foram examinados aos 21, 40 e 47 dias após iniciado o contato, para se verificar se tinha havido a transmissão.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4. 1. Determinação do índice de infecção natural dos moluscos

De acordo com o Quadro 1, *Bradybaena* e *Bulimulus* mostraram um índice de infecção natural de 100% para metacercárias. Todos os gêneros examinados estavam positivos para metacercárias. Apenas *Bradybaena* apresentou esporocistos (completamente desenvolvidos) na percentagem de 20%.

Os achados para *Bradybaena* e *Subulina* podem ser comparados com os de ALICATA (1940) que dissecando moluscos em áreas endêmicas para *P. gallinum*, em Honolulu, Hawaii, logrou encontrar 95% de positivos com metacercárias e 2% de positivos com esporocistos, em 100 *Bradybaena* dissecadas, e 80% de positivos com metacercárias, em 100 *Subulina* dissecadas. Concordam também com o achado de ULMER (1949b) que encontrou 4.793 moluscos abrigando metacercárias de *P. helioides* e 59 abrigando esporocistos, em 6.116

exemplares dissecados.

Acredita-se que ALICATA (op.cit.) esteja certo, quando relatou que o fato de ocorrer maior percentagem de *Bradybaena*, em condições naturais, abrigando metacercárias, em comparação com as que abrigam esporocistos se explica pela troca de cercárias em condições naturais. Realmente é de admitir-se que nem todos os 100 moluscos positivos com metacercárias possam ter ingerido ovos de trematódeo. A possibilidade é que um número menor tenha ingerido ovos e o restante se tenha infectado por cercárias transmitidas por moluscos infectados, facilitando a disseminação e viabilidade do ciclo. No entanto, achamos que também a percentagem menor de *Bradybaena* com esporocistos se deva ao fato de possuírem estes, um período de vida limitado. Terminada sua função de produzir cercárias, eles regridem ou degeneram.

O número de metacercárias encontradas na cavidade pericárdica dos moluscos naturalmente infectados, variou de 5 a 77 para *Bradybaena*, 2 a 12 para *Subulina*, 2 a 42 para *Leptinaria* e 3 a 43 para *Bulimulus*, enquanto que ALICATA encontrou de 4 a 48 para *Bradybaena* e 1 a 5 para *Subulina* e GROSCHAFT et al. (1969) encontraram de 3 a 8, de modo geral, sem especificar os moluscos.

Leptinaria e *Bulimulus* apresentaram índices de infecção bastante elevados, de 91 e 100%, respectivamente.

4.2. Infecção experimental de moluscos

4.2.1. Infecção com ovos de trematódeo.

Dissecando moluscos de vários gêneros, naturalmente infectados, foi possível verificar a percentagem de 100% de *Bradybaena* positivas com metacercárias e 20% com esporocistos (Quadro 1). Apesar de *Subulina*, *Leptinaria* e *Bulimulus*, terem apresentado um índice de infecção natural relativamente alto com metacercárias, chegando o último a apresentar 100%, elas não exibiram desenvolvimento de esporocistos. Estes dados sugeriram que *Bradybaena* se comporta como hospedeiro intermediário principal na natureza. Baseando-se nestes fatos, resolveu-se fazer estudos experimentais para comparar a infectividade dos vários gêneros de moluscos e seus papéis como hospedeiros intermediários.

Ovos do trematódeo foram espalhados em placas de Petri de 15cm de diâmetro e 1,5cm de profundidade, contendo terra autoclavada, coberta com folha de alface recortada na forma da placa. Dez exemplares de cada espécie dos gêneros *Bradybaena*, *Subulina*, *Leptinaria* *Bulimulus*, foram colocados em placas separadas por 5 a 10 horas, expostos aos ovos e depois foram transferidos para caixas de plástico e dissecados periodicamente, para se acompanhar o desenvolvimento das formas evolutivas. Foram utilizados 100 *Bradybaena*, 40 *Subulina*, 40 *Leptinaria* e 30 *Bulimulus*. Apenas *Bradybaena* apresentou resultados positivos. De 100 *Bradybaena* utilizadas, foram dissecadas apenas 70 e 15 foram empregadas na infecção de um *Gallus gallus*. Pode-se observar no Quadro 2, que *Bradybaena* apresentou índice de infecção experimental entre 40 e 60% com metacercárias. As percentagens de infecção experimental obtidas neste estudo, relativamente baixas em relação à infecção natural (100%), podem ser explicadas pela di-

ficuldade dos moluscos em ingerirem ovos do trematódeo e pela presença de um número desconhecido de ovos imaturos entre os oferecidos. Apesar disto, *Bradybaena* mostrou ser o hospedeiro intermediário principal, resultado que concorda com os achados de ALICATA (1940). O fato de os outros moluscos não terem se infectado por ingestão de ovos, se explica por serem eles os segundos hospedeiros intermediários, como foi sugerido por ALICATA, quando não conseguiu infectar *Subulina* por ingestão de ovos. Ainda no Quadro 2, pode-se verificar que aos 60 e 70 dias após a infecção, *Bradybaena* apresentou cercárias maduras na cavidade renal, indicando a migração delas. Este fato parece apoiar a teoria de SINITSIN (1931) sobre a saída das cercárias de *Harmostominae* do corpo dos moluscos para depois reentrarem através de alguma abertura externa a alcançarem seu destino. Este pode ser rim, cavidade pericárdica ou glândulas salivares. Apoiar também a sugestão de ALICATA (op. cit.) sobre o caminho a ser percorrido pelas cercárias de *P. gallinum*. Este autor opinou que as cercárias para alcançarem a cavidade pericardial precisam entrar pela abertura renal, a qual se abre na base da cavidade paleal. Desta abertura as cercárias passam ao rim e através da comunicação reno-pericárdica ganham a cavidade pericárdica. ULMER (1951b) fazendo observações sobre a trajetória das cercárias de *P. heliciis*, apoiou esta sugestão.

A partir de 80 dias de infecção, foram encontradas cercárias e metacercárias na cavidade pericárdica, discordando um pouco dos resultados de ALICATA, que encontrou apenas poucas metacercárias em desenvolvimento aos 90 dias após a infec-

ção. As medidas das metacercárias encontradas variam de 0,36 a 0,50 de comprimento por 0,18 a 0,25 de largura aos 80 dias, 0,69 a 0,80 de comprimento por 0,30 a 0,35 de largura, aos 90 dias e 0,84 a 0,90 de comprimento por 0,28 a 0,35 de largura, aos 100 dias após infecção.

4.2.2. Infecção com cercárias provenientes de moluscos infectados naturalmente.

Realizou-se este teste com a finalidade de averiguar se os moluscos que não se infectaram por ingestão de ovos poderiam ser segundos hospedeiros intermediários infectando-se com cercárias.

Cercárias provenientes de esporocistos de moluscos infectados, foram jogadas sobre folha de alface em placa de Petri, do mesmo modo que se procedeu para os ovos. Os moluscos foram colocados nestas placas para se infectarem. A primeira tentativa de se infectarem 10 *Bradybaena*, 10 *Subulina*, 10 *Leptinaria* e 3 *Bulimulus*, com cercárias oriundas de *Bradybaena* naturalmente infectadas deu resultado negativo. O resultado da segunda tentativa é apresentado no Quadro 3.

O fato de *Bradybaena* ter se infectado também por exposição às cercárias concordou com os achados de ALICATA (1940). Este autor, dissecando *Bradybaena* após 15 horas, 12 dias e 25 dias da infecção, encontrou respectivamente 1 cercária, 1 metacercária em desenvolvimento e 4 metacercárias em desenvolvimen-

to na cavidade pericárdica.

No presente experimento, foram encontradas, aos 27 dias após a infecção, apenas 6 metacercárias, cujas medidas foram 0,58 a 0,73 de comprimento por 0,21 a 0,26 de largura, bastante próximas das encontradas por ALICATA aos 25 dias e que foram 0,82 x 0,25. Este mesmo autor observou que *Subulina* coletadas na natureza não apresentaram o estágio de esporocistos. Ele sugeriu que este estágio não se desenvolve neste hospedeiro, mas não infectou exemplares deste gênero com cercárias para averiguar sua possível implicação como segundo hospedeiro intermediário. Em nossos estudos, foram tentadas infecções de *Subulina* com cercárias, com resultados positivos. Foram encontrados 2 moluscos positivos entre 5 dissecados, 25 dias após a infecção, com respectivamente 9 e 11 metacercárias em desenvolvimento na cavidade pericárdica. Suas medidas variaram de 0,75 a 0,98 de comprimento por 0,28 a 0,33 de largura.

Leptinaria e *Bulimulus* foram encontrados na natureza parasitados com metacercárias. Experimentalmente, não se infectaram por ingestão de ovos, porém foram infectados quando expostos às cercárias. *Leptinaria* apresentou resultados positivos aos 15, 25 e 27 dias após a infecção. As medidas das metacercárias encontradas na cavidade pericárdica variaram de 0,32 a 0,70 de comprimento por 0,14 a 0,41 de largura aos 15 dias; de 0,42 a 0,92 de comprimento por 0,28 a 0,33 de largura aos 25 dias e 0,42 a 0,98 de comprimento a 0,33 de largura aos 27 dias. *Bulimulus* apresentou resultados positivos aos 25 dias, sendo en-

contradas, na cavidade pericárdica, 6 metacercárias cujas medidas foram de 0,50 a 0,74 de comprimento por 0,27 a 0,42 de largura.

Bradybaena infectou-se não só por ingestão de ovos como também por exposição às cercárias, comportando-se como primeiro e como segundo hospedeiro intermediário, resultado concordante com os de ALICATA (1940). *Subulina* infectou-se apenas por exposição às cercárias, comportando-se como segundo hospedeiro intermediário, resultado também concordante com a sugestão do mesmo autor.

Foram citados como hospedeiros intermediários de *P. gallinum*: *Eulota similis* (= *Bradybaena similis*) e *Subulina octona* (ALICATA, 1940); *Praticolella griseola*, *Oleacina sp.*, *Zachrysia auricoma* e *Subulina octona* (GROSCHAFT et al. 1969). *Leptinaria lamellata* e *Bulimulus tenuissimus*, no presente trabalho, foram encontrados naturalmente infectados com metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica. Estas espécies foram experimentalmente infectadas por exposição direta às cercárias ou por contato com moluscos infectados. Estes achados representam dois novos hospedeiros intermediários de *P. gallinum*.

4.3. Infecção experimental das aves

4.3.1. Por ingestão de moluscos infectados.

Moluscos infectados, em número conhecido foram administrados às aves por via oral. Os exames de fezes foram realiza-

dos individualmente, para todas as aves a partir do 15º dia de ingestão.

No Quadro 4, observa-se que 5 a 30 *Bradybaena* infectadas, ingeridas por *Gallus gallus*, deram resultado positivo. O número de trematódeos encontrados variou de 2 a 48 nos cecos intestinais. Quatro exemplares foram encontrados no intestino grosso, na região próxima à desembocadura dos cecos. Os trematódeos não mostraram nenhuma diferença morfológica relacionada com a procedência ou a idade. O período pré-patente variou de 24 a 27 dias, aproximando-se dos resultados de ALICATA (op. cit.) cuja variação de 5 *Gallus gallus* por ingestão de 5 a 30 *Leptinaria* e de 1 *Gallus* por ingestão de 15 *Subulina* não deu resultado positivo.

Não se conseguiu infectar quatro *Cairina moschata* de 30 a 60 dias de idade e duas *Columba livia* adulta com 3, 3, 15 e 15 e 15 e 30 *Bradybaena* infectadas, respectivamente.

4.3.2. Por ingestão de metacercárias isoladas

de moluscos infectados

Com auxílio de uma pipeta que possuía em uma das extremidades, uma pera de borracha, administrou-se 70 metacercárias procedentes de *Bulimulus* e 985 procedentes de *Bradybaena* a 2 e 8 *Gallus gallus*, respectivamente. Apenas uma das aves inoculadas com 300 metacercárias oriundas de *Bradybaena* apresentou resultados positivos. Foram encontrados 4 trematódeos adultos nos cecos intestinais. Os trematódeos eram

iguais àqueles obtidos por ingestão de molusco.

4.4. Estudo morfológico dos ovos e das formas larvais e adultas do trematódeo

Os vários estágios do ciclo biológico estudados foram semelhantes às descrições de ALICATA (1940).

Apenas foi acompanhado mais detalhadamente o desenvolvimento das formas larvais, dissecando moluscos aos 20, 40, 60, 70, 80, 90 e 100 dias, enquanto ALICATA (1940) os dissecavam aos 20, 40, 60 e 90 dias.

4.4.1. Ovos

A casca do ovo mede de 27,0 a 39,0 μ de comprimento por 16,0 a 18,2 μ de largura. É ovóide, assimétrica, marron escura, (Fig. 10). Os ovos são operculados em uma das extremidades. As estruturas internas não são bem visíveis. Foi possível ver apenas o contorno do miracídio, cuja extremidade anterior, afilada, estava voltada para o opérculo do ovo. Foram observados algumas grânulos refringentes, entre a casca do ovo e o corpo do miracídio.

4.4.2. Miracídios

Não foi possível evidenciar o miracídio, apesar de todo o cuidado empregado. Utilizando a técnica recomendada por

ULMER (1951b), apenas duas vezes o opérculo se abriu e deixou sair uma massa transparente, amorfa, sem movimento, pouco menor que a casca do ovo, e que parecia possuir cílios. Talvez se tratasse de miracídios mortos. ALICATA (1940) também não observou o miracídio deste parasito. ULMER (1951b) comentou que nos dados publicados sobre membros da Família Brachylaemidae faltam informações a respeito do miracídio, dada a dificuldade de libertá-lo da casca do ovo. A melhor descrição do miracídio, neste gênero, foi feita por ULMER (1951b), para miracídio de *P. heliçis*

4.4.3. Esporocistos

Foi encontrada apenas uma geração de esporocistos, ao contrário de ULMER (1949a, 1951b) que encontrou duas gerações de esporocistos, respectivamente, para *P. laruei* e *P. heliçis*.

A morfologia e a atividade dos esporocistos variaram de acordo com o estágio de desenvolvimento.

4.4.3.1. Esporocistos de 20 dias. Constituem-se de um corpo central, de onde brotam de 4 a 6 ramos (Fig. 1). O comprimento total das estruturas variam de 0,17 a 0,68. Seu movimento é imperceptível sob microscópio de dissecação. Nota-se discreto movimento de suas paredes, quando observados vivos sob microscópio de maior aumento.

4.4.3.2. Esporocistos de 40 dias. Mostram os ramos do corpo

já crescidos. Há ramos primários e secundários curtos (Fig.2). Os ramos primários variam de 0,26 a 0,95 de comprimento. Fecham várias bolas germinativas de diferentes estágios de desenvolvimento e poucas cercárias jovens. Seu movimento é perceptível sob microscópio de dissecação.

4.4.3.3. Esporocisto de 60 dias. Seus ramos principais já medem de 0,16 a 1,4 de comprimento. Contém várias bolas germinativas de vários estágios de desenvolvimento e cercárias jovens e poucas maduras (Fig. 3). Seu movimento é mais acentuado, sendo perceptível sob microscópio de dissecação e a olho nu. A partir deste estágio é possível visualizar nitidamente, os poros de nascimento, localizados nas extremidades dos ramos.

4.4.3.4. Esporocistos de 70 dias. A partir deste estágio os esporocistos formam verdadeiro emaranhado que, observado a olho nu, parece vários fios de linha branca com movimentos intensos. Estes movimentos acentuados explicam-se pela atividade das cercárias a caminho do poro de nascimento. Os ramos principais medem de 0,98 a 1,82 de comprimento. Englobam várias bolas germinativas de diferentes estágios de desenvolvimento e cercárias em desenvolvimento e maduras (Fig. 4).

4.4.3.5. Esporocistos de 80 dias. São semelhantes aos anteriores, apenas possuindo maior número de cercárias maduras. Seus ramos principais medem de 0,67 a 1,89 de comprimento

(Fig. 5).

4.4.3.6. Esporocistos de 90 dias. Neste estágio eles apresentam-se sem ou com poucas bolas germinativas. Seus ramos principais medem de 0,93 a 2,26 de comprimento (Fig. 6 e 7).

4.4.3.7. Esporocistos de 100 dias. Seus ramos principais medem 0,88 a 2,68 de comprimento. Sem bolas germinativas, possuem cercárias maduras em grande quantidade (Fig.8).

4.4.4. Cercárias

As cercárias imaturas não apresentam primórdios genitais, e os cecos intestinais são curtos (Fig.13). A região posterior, onde nas cercárias maduras se observou uma cauda, nas cercárias jovens existe apenas uma protuberância com algumas células. Não foram observados vesícula excretora e túbulos excretores.

As cercárias maduras são ligeiramente foleáceas, mais afiladas na extremidade posterior (Fig. 9 e 14). Medem 0,17 a 0,20 de comprimento por 0,09 a 0,10 de largura. A ventosa oral e o acetábulo medem de 0,5 a 0,6 e 0,4 a 0,5 de comprimento por 0,5 a 0,6 e 0,4 a 0,5 de largura, respectivamente. A faringe mede 0,03 de comprimento por 0,02 a 0,03 de largura. Esôfago ausente. Cecos intestinais saculares, bem nítidos, laterais, estendendo-se posteriormente ao acetábulo. Primórdios genitais visíveis abaixo do acetábulo. Vesícula excretora envia dois tú-

bulos excretores laterais que se abrem na extremidade posterior do corpo, em pequena cauda. Espinhos distribuídos por todo o corpo.

As cercárias, quando em placa de Petri com um pouco de água destilada, se arrastam no fundo das placas e quando observadas vivas sob microscópio, movimentam-se rapidamente em movimentos de contração e extensão.

O fato de terem os intestinos das cercárias sido bem evidenciados foi explicado por SINITSIN (1931) quando comentou que as cercárias de *Harmostominae* (= *Brachylaeminae*) possuíam intestinos notáveis, contrariamente a outras cercárias, porque os utilizavam para se alimentarem do tecido hepático dos moluscos.

Os mesmos espinhos referidos por ROBISON (1949a) para cercárias de *P. helioides* como projeções cuticulares possivelmente de função sensorial, foram observados nas cercárias de *P. galinum*.

4.4.5. Metacercárias

As metacercárias imaturas possuem estruturas semelhantes à cauda das cercárias, que em pouco tempo se degenera ficando uma estrutura similar a um saco, que desaparece nas metacercárias maduras (Fig. 11 e 15). Medem de 0,32 a 0,70 de comprimento por 0,14 a 0,41 de largura.

As metacercárias são ovaladas. Cutícula apresentando algumas pregas transversais quando examinadas ao vivo. Medem de

0,58 a 1,4 de comprimento por 0,35 a 0,45 de largura (Fig. 12 e 16). Ventosa oral e acetábulo medem 0,10 a 0,22 e 0,08 a 0,16 de comprimento por 0,10 a 0,17 e 0,09 a 0,14 de largura, respectivamente. Cecos sinuosos, estendendo-se até a região posterior do corpo. Vestígio de testículos presente. Vesícula excretora abrindo-se em um único poro, formado em resultado da constrição e degeneração da cauda das cercárias, onde se abriam dois túbulos excretores.

A vesícula excretora e os túbulos excretores foram melhor observados em metacercárias examinadas vivas sob microscópio.

4.4.6. Adultos

Trematódeo relativamente grande, mede 10, 10 a 17, 23 de comprimento por 2,32 a 3,95 de largura. Corpo achatado dorsoventralmente, alongado, com a extremidade caudal mais aguda e a cefálica mais arredondada. Cutícula lisa. Ventosa oral subterminal, mais larga que longa, de fundo afunilado, mede de 0,94 a 1,43 de comprimento por 1,05 e 1,48 de largura. Préfaringe ausente. Faringe bem desenvolvida, mede 0,44 a 0,68 de comprimento por 0,44 a 0,78 de largura. Esôfago curto. Acetábulo geralmente circular, mediano, pré-equatorial, no fim do terço anterior do corpo, mede 0,78 a 1,19 de comprimento por 0,80 a 1,20 de largura. Cecos intestinais com paredes delgadas e luz variável de diâmetro; a princípio dirige-se anterior e lateralmente e depois dobra-se e volta-se e descreve um trajeto sinuoso, cujos cam-

pos quase se tocam medianamente. Terminam em fundo de saco, próximo à extremidade posterior, quase justapostos. Cirro grande, musculoso, cilíndrico. Bolsa de cirro pouco desenvolvida. Testículos em número de dois, grandes, irregulares, situados no terço posterior do corpo em diagonal. Testículo anterior, geralmente bilobado, mede 0,78 a 1,38 de comprimento por 0,52 a 1,06 de largura. Testículo posterior geralmente trilobado, mede 0,86 a 1,67 de comprimento por 0,57 a 1,22 de largura. Ovário ímpar, reniforme, ovóide ou esferóide, deslocado para a direita, entre os dois testículos, mede 0,42 a 0,94 de comprimento por 0,29 a 0,57 de largura. Glândula Mehlis volumosa, de contorno esférico. Canal de Laurer presente. Vitelinos constituídos de um grande número de folículos laterais, que se estendem da zona ovariana, próximo ao bordo anterior do testículo posterior até o bordo posterior do acetábulo, mas não ultrapassando estes limites. Poro genital abrindo-se anteriormente ao nível equatorial da área testicular anterior. Poro excretor situado entre as duas porções terminais dos cecos, em forma de fenda longitudinal, com bordos musculares (Fig. 17).

Neste estudo foram examinados 140 trematódeos provenientes de infecções experimentais. Os moluscos utilizados nas infecções foram de três procedências: Lins de Vasconcelos, Rio de Janeiro; Campo Grande, Rio de Janeiro e experimentalmente infectados. Todos os trematódeos encontrados apresentaram as glândulas vitelínicas distribuídas do bordo anterior do testículo posterior ao bordo posterior do acetábulo, nunca ultrapassando estes limites. Por considerar este um bom caráter o material

foi classificado como *P. gallinum*.

Foram realizadas medidas para a distância do nível anterior das glândulas vitelínicas e o bordo posterior do acetábulo. Entre 26 medidas realizadas, 8 não mostraram distância entre o bordo posterior do acetábulo e o nível anterior das glândulas vitelínicas e 18 mostraram sua variação entre 0,05 a 0,65 mm.

JOYEUX e HOUEMER (1928) chamaram a atenção para a validade de *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923, indicando que os caracteres enumerados pelo autor, extensão das glândulas vitelínicas, marcada sinuosidade dos cecos, além de outros, são variáveis demais, para servir de validade específica. Concluíram pela sinonímia de *P. gallinum* com *P. commutatum*. No entanto, YAMAGUTI (1933) encontrou trematódeos nos cecos intestinais de galinhas domésticas, em Kyoto, e os classificou como *P. gallinum*. Este autor discordou de JOYEUX e HOUEMER (1928) considerando a figura apresentada por estes autores como sendo de *P. gallinum*, por acreditar como bom caráter específico a distribuição das glândulas vitelínicas que não se estendem além da zona acetabular em *P. gallinum*. TRAVASSOS (1928), SKRJABIN (1948) e novamente YAMAGUTI (1958, 1971) estão acordes quanto à validade de *P. gallinum*.

No Brasil, FONSECA (1939) descreveu *Brachylaemus fleuryi* de galinha doméstica, em São Paulo. PEREIRA E CUOCOLO (1939) descreveram *P. commutatum* (Diesing, 1858) Skrijabin, 1923, em São Paulo e acreditaram que a espécie de FONSECA (1939) caía perfeitamente no grupo *commutatum*, não encontrando elementos para

distinguí-la desta espécie nem, naturalmente de suas sinônimas, cuja possibilidade de terem o valor de variedade não lhes pareceu aceitável, motivo pelo qual, consideram-na, ao lado de *gallinum*, *annamense*, *horizawai* e *hawaiiense* entre os sinônimos de *P. commutatum*.

As descrições e desenhos apresentados por FONSECA (1939) e PEREIRA E CUOCOLO (1939) correspondem a *P. gallinum*.

4.5. Emergência de cercárias

ALICATA (1940) evidenciou quatro cercárias livres do corpo de *Bradybaena*, quando este molusco foi passado em placa de Petri contendo um pouco de água destilada. No presente estudo realizou-se o mesmo método e foi possível observar 4 a 12 cercárias arrastando-se no fundo das placas, em que haviam sido colocadas *Bradybaena*, *Subulina* e *Bulimulus*, no período de 1 a 24 horas. Apenas uma vez foi possível verificar que 200 cercárias saíram do corpo de uma *Bradybaena*. Isto indica que as cercárias podem sair do corpo dos moluscos desses gêneros. Em várias tentativas sucessivas, realizadas com *Leptinaria*, os resultados foram negativos.

4.6. Transmissão de cercárias de moluscos

infectados para moluscos não infectados

Para confirmar que as cercárias saem de um molusco e penetram em outro da mesma espécie, ou de outra espécie, seria me-

lhor simular aquilo que ocorria na natureza. Para tal, foi realizado este experimento, que consistiu em colocar *Bradybaena* infectadas junto com *Bradybaena*, *Subulina*, *Leptinaria* e *Bulimulus* livres de infecção, em caixas plásticas contendo terra autoclavada e umedecida. *Leptinaria* infectadas foram colocadas juntas com *Subulina* livres de infecção, em caixas igualmente preparadas. Aos 21, 40 e 47 dias após o início do contato, os moluscos inicialmente livres de infecção foram dissecados para averiguar se ocorrera a transmissão de cercárias. *Subulina* colocada junto com *Leptinaria* infectadas apresentou resultado negativo. Dos moluscos colocados juntos com *Bradybaena* infectadas deram resultado positivo: *Bradybaena*, *Subulina* e *Leptinaria*. *Bradybaena* e *Leptinaria* mostraram índice de infecção de 60 e 100% respectivamente, aos 47 dias, como está indicado no Quadro 5. O número de metacercárias encontradas foi de 6 a 18 para *Bradybaena*, 5 a 19 para *Subulina* e 6 a 25 para *Leptinaria*. As medidas variaram conforme a seguinte tabela:

		P e r í o d o		
Moluscos		21 dias	40 dias	47 dias
<i>Bradybaena</i>	comprimento	0,42 a 0,75	0,67 a 0,80	0,42 a 0,83
	largura	0,20 a 0,27	0,24 a 0,32	0,21 a 0,32
<i>Subulina</i>	comprimento	0,54 a 0,82	0,63 a 0,86	0,75 a 0,90
	largura	0,23 a 0,26	0,27 a 0,42	0,27 a 0,42
<i>Leptinaria</i>	comprimento		0,50 a 0,61	0,55 a 0,70
	largura		0,19 a 0,21	0,19 a 0,23

Deste modo pôde-se verificar que as cercárias real-

mente saem de um molusco e entram em outro da mesma espécie, ou de espécie diferente, confirmando a teoria de SINITSIN (1931) e o comentário de ALICATA (1940), que opinou que a troca de cercária de molusco para molusco é facilitada por período de chuvas, quando os caramujos terrestres estão mais ativos.

4.7. Patologia

Após o 14° dia de infecção de *Galus gallus* por ingestão de moluscos que abrigavam metacercárias de *P. gallinum*, teve-se a oportunidade de observar que as fezes destas aves apresentavam estrias de sangue. Este fato também foi evidenciado por ALICATA (1940) que sugeriu *P. gallinum* como agente da infecção dos cecos e causa da presença de estrias de sangue nas fezes das aves infectadas, caso não houvesse nenhum outro agente, como por exemplo *Eimeria* spp., que pudesse provocar tal processo patológico. Em nossos estudos, observou-se tiflíte hemorrágica em todas as aves infectadas. À necrópsia, os cecos apresentavam-se aumentados, com abundante conteúdo hemorrágico. No entanto, foi constatada a presença de oocistos de *Eimeria* spp., nas fezes de quase todas as aves, com exceção de uma, que possuía conteúdo cecal hemorrágico, embora em menor volume. As aves positivas necropsiadas, mostraram trematódeos fixados à parede dos cecos, podendo-se observar que seus intestinos estavam cheios de um líquido de cor vermelha, indicando a presença de sangue recém ingerido.

V. CONCLUSÕES

Com base nos resultados dos experimentos realizados, pôde-se chegar às seguintes conclusões:

1) *Bradybaena similaris*, apresentando índice de infecção de 100% com metacercárias e 20% com esporocistos, mostrou ser o hospedeiro intermediário principal, tanto primeiro como segundo, na natureza, no Estado do Rio de Janeiro.

2) *Bradybaena similaris* infectou-se com ovos e com cercárias de *P. gallinum*, comportando-se como primeiro e como segundo hospedeiro intermediário, experimentalmente.

3) *Subulina octona*, *Leptinaria lamellata* e *Bulimulus tenuissimus* apresentaram apenas metacercárias, indicando serem segundos hospedeiros intermediários no Estado do Rio de Janeiro.

4) *Subulina octona*, *Leptinaria lamellata* e *Bulimulus tenuissimus* infectaram-se experimentalmente apenas por contato com as cercárias, comportando-se como segundos hospedeiros intermediários.

5) *Leptinaria* e *Bulimulus* foram dois novos hospedeiros intermediários citados, para *P. gallinum*.

6) Houve transmissão de cercárias de *Bradybaena* infectados para *Bradybaena*, *Subulina*, *Leptinaria* e *Bulimulus* não infectados.

7) Foram encontradas cercárias na cavidade renal dos moluscos experimentalmente infectados, indicando migração das cercárias dentro dos moluscos.

8) Foi evidenciada a emergência de cercárias em meio líquido.

9) *Gallus gallus* infestou-se por ingestão de *Bradybaena* natural ou experimentalmente infectados.

10) *Gallus gallus* não se infectou por ingestão de *Leptinaria* e *Subulina* infectadas naturalmente.

11) Houve grande dificuldade em infectar *Gallus gallus* por ingestão de metacercárias isoladas de *Bradybaena*.

12) *Gallus gallus* não se infectou pela administração esofagiana de metacercárias isoladas de *Bulimulus* naturalmente infectados.

13) *Cairina moschata* e *Columba livia* não se infectaram quando ingeriram *Bradybaena* naturalmente infectadas.

14) O período pré-patente no hospedeiro definitivo variou de 24 a 27 dias.

15) No primeiro hospedeiro intermediário, os esporocistos localizavam-se na glândula digestiva e iniciavam seu crescimento da região anterior para a posterior; foram encontrados ape-

nas esporocistos de primeira geração.

16) As cercárias foram encontradas dentro dos esporocistos no primeiro hospedeiro intermediário e dentro da cavidade peridicárdica nos primeiros e segundos hospedeiros intermediários.

17) Houve maior quantidade de cercárias nos esporocistos do que nas cavidades renais e pericárdicas.

18) As metacercárias foram encontradas na cavidade pericárdica do primeiro e do segundo hospedeiros intermediários.

19) O ciclo estudado correspondeu ao de *P. gallinum*, relatado por ALICATA (1940), em Honolulu, Hawai.

R E S U M O

Caramujos terrestres, *Bradybaena similaris*, *Subulina octona*, *Leptinaria lamellata* e *Bulimulus tenuissimus* foram encontrados infectados naturalmente com formas larvais de um trematódeo brachylae-mideo no Rio de Janeiro, Brasil.

Em estudos preliminares, estes caramujos infectados foram administrados à galinhas domésticas (*Gallus gallus*) e vermes adultos foram recuperados dos seus cecos intestinais. Os vermes adultos foram classificados como *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923.

Com esta descoberta foi possível estudar o ciclo desta espécie no Brasil e determinar quais os caramujos foram mais importantes na disseminação local do parasito.

O ciclo biológico de *P. gallinum* e a morfologia dos estágios larvais assemelharam-se com àqueles que foram reportados por ALICATA (1940) para esta mesma espécie no Hawaii, U.S.A. Caramujos terrestres servem como primeiros e segundos hospedeiros in-

termediários, e a infecção do hospedeiro definitivo resulta da ingestão do segundo hospedeiro intermediário contendo metacercárias desenvolvidas.

As mesmas espécies de caramujos que foram encontradas infectadas na natureza, foram expostas a ovos e cercárias do parasito. Somente *Bradybaena* pôde infectar-se com ambos. Também esporocistos foram somente encontrados neste gênero. Foi verificado que cercárias podem passar de caramujos infectados a não infectados e dentro destes crescem para metacercárias. Assim, foi verificado que *Bradybaena* serve como primeiro e segundo hospedeiro intermediário de *P. gallinum*. *Subulina*, *Leptinaria* e *Bulimulus* não puderam se infectar por exposição aos ovos do parasito, mas em cada uma das espécies citadas desenvolveram metacercárias após eles ficarem em proximidade com *Bradybaena* infectadas, em condições de umidade. Este fato indica que estes três gêneros podem servir como segundos hospedeiros intermediários para o trematódeo.

Galinhas domésticas inoculadas com caramujo natural ou experimentalmente infectados mostraram o período pré-patente em 24 a 27 dias. Foi também possível, mas difícil, infectar galinhas domésticas com metacercárias isoladas de caramujos. Tentativas para infectar patos e pombos com *P. gallinum* resultaram negativas.

Este estudo representa o primeiro ciclo biológico realizado para um trematódeo brachylemídeo no Brasil, e *Leptinaria* e *Bulimulus* foram reportados como novos segundos hospedeiros intermediários de *P. gallinum*.

ABSTRACT

Terrestrial snails, *Bradybaena similaris*, *Subulina octona*, *Leptinaria lamellata* and *Bulimulus tenuissimus*, were found naturally infected with larval forms of a brachylaemid trematode in Rio de Janeiro State, Brazil.

In preliminary studies, these infected snails were administered to domestic chickens (*Gallus gallus*), and adult trematodes were recovered from the intestinal caeca. The adult worms were found to belong to the species *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923.

This discovery made it possible to study the life cycle of this species in Brazil in order to find out which snails are more important in the local dissemination of the parasite.

The life cycle of *P. gallinum* and the morphology of the larval stages were found to be similar to those reported by Alicata (1940) for the same species in Hawaii, U.S.A.

Terrestrial snails serve as both first and second intermediate hosts, and infection of the avian definitive host results from the ingestion of the second intermediate host containing developed metacercariae.

The same species of snails, that were found infected in nature, were exposed to eggs and cercariae of the parasite. It was found that only *Bradybaena* could be infected by both. Also, sporocysts were only found in that genus. It was shown that cercariae can pass from infected to uninfected snails and there grow to metacercariae. Thus, *Bradybaena* was shown to serve as both first and second intermediate hosts for *P. gallinum*.

Subulina, *Leptinaria* and *Bulimulus* could not be infected by exposure to parasite eggs, but each of these genera developed metacercariae after being placed near infected *Bradybaena* under wet or humid conditions. This fact indicated that these three genera could serve as second intermediate hosts for the trematode.

Chickens given either naturally or experimentally infected snails showed a pre-patent period of 24 to 27 days. It was also found to be possible, but difficult, to infect chickens with metacercariae isolated from snails. Attempts to infect ducks and pigeons with *P. gallinum* were unsuccessful.

This study represents the first life cycle study reported for any brachylaemid trematode in Brazil, and

Leptinaria and *Bulimulus* are reported for the first time as potential second intermediate hosts for *P. gallinum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICATA, J.E., 1938a, The land-snail an intermediate host of the cecal fluke of poultry. *Science*. 88(2277):129.
- ALICATA, J. E., 1938b, Life history of the cecal fluke, *Postharmostomum gallinum*, of poultry. *J. Parasit.* 24(6):29.
- ALICATA, J. E., 1940, The life cycle of *Postharmostomum gallinum*, the cecal fluke of poultry. *J. Parasit.* 26(2):135-143.
- ALLISON, L. N., 1943, *Leucochloridiomorpha constantiae* (Mueller) (Brachylaemidae) its life cycle and taxonomy relationships among digenetic trematodes. *Trans. Am. Micr. Soc.* 62(2):127-168.
- ASADA, J., 1928, On *Harmostoma horizawai* from Japanese domestic fowl its life history and its relation to the larva encysted in "long-armed schrimp". *Tokyo Iji Schimshi*. (2589):1963-1968.
- BARBAGALLO, P., 1906, Sugli elminti parassiti dell'intestino del tacchino e del colombo. *Boll. Soc. Tra i Cullori delle Scienze Natur.* Cagliari, (4):143-144.

- BRAUN, M. von, 1899, Uber *Clinostomum* Leidy. *Zool.Anz.* 22:489-493.
- DEIANA, S., 1961, Sulla Postharmostomosi dei polli. *Postharmostomum commutatum* (Diesing, 1858) o *Postharmostomum gallinum* (Witenberg, 1923) *Atti Della Soc. Italiana Delle Scienze Veterinarie*.15: 574-577.
- DEIANA, S. e ARRU, E., 1962, Ciclo biológico di *Postharmostomum commutatum* ricostruito sperimentalmente. *Atti.Della Soc. Italiana Delle Scienze Veterinarie* 16(2):230-231.
- DIESING, K. M., 1858, Revision der Muzhelminthen.Abt. Trematoden. *Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien.,Math. Naturwiss. Classe* 32:307.
- DOLLFUS, R. Ph., 1935, Sur quelques *Brachylaemus* de la faune française récoltés principalement Richelieu (Indre.et.Loire), suit et fin. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* 13(1):52-79.
- FERNANDES, B. F., 1965, Parasitas de animais domésticos no Paraná. Tese. Escola de Agronomia e Veterinária. Curitiba, 41 pp.
- FREITAS, M. G. e HIPOLITO, H., 1943, Notas helmintológicas de *Gallus gallus domesticus* em Minas Gerais. *An. II Con. Bras. Vet.*, Belo Horizonte, 111-121.
- FONSECA, F., 1939, Novo trematoide parasita - *Brachylaemus fleuryi* n. sp., (Brachylaemidae - Fascioloidea). Nota prévia. *Bol. Biol.*, São Paulo, 4(1):114-116.
- GALLI-VALLERIO, B., 1894, Note di parassitologia. *Il Moderno Zooiatro*.22:426-432.
- GALLI-VALLERIO, B., 1901, La collection de parasites du labora-

- toire d'hygiène et de parasitologia de l'Université de Lausanne. *Bull. Soc. Vandoise Sc. Nat.* 37(4):343-381.
- GROSCHAFT, J., VALLE, M.T. DEL e LORENZO HERNANDEZ, N., 1969, *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923 (Trematoda:Brachylaemidae), un tremátodo de las gallinas cubanas, com notas sobre el ciclo evolutivo. *Torreia, n.s.* (12): 3-12.
- GUBERLET, J.E., 1928, Parasitic worms of chickens with a description of a new trematode. *Trans. Am. Micr. Soc.* 47:444-451.
- HIRATA, M., 1928, On a trematode having a fresh water shrimp as intermediate host. *Tokyo Iji.Schinshi* (2584): 1708-1720.
- HODASI, J.K.M., 1967, Digenetic trematodes from the domestic fowl in Ghana. *J. Helminth.* 41(4):329-336.
- HORIZAWA, J., 1914, On a trematode obtained from the caecum of the fowl. *Nippon Byori Galkwai Shi.* (3):377-380.
- JOYEUX, Ch., 1923, Recherches sur la faune helminthologique africaine. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 12:328-338.
- JOYEUX, Ch. e HOUEMER, E., 1928, Recherches sur le faune helminthologique de l'Indochine (Cestodes et Trématodes). *Ann. Parasit.* 6:27-58.
- JOYEUX, Ch. e FOLEY, H., 1930, Les helminthes de *Meriones shawai* Rozet dans le nord de l'Algérie. *Bull.Soc. Zool. France* 55: 353-358.
- JOYEUX, Ch., BAER, J.G. e TIMON-DAVID, J., 1932, Le development du Trématode *Brachylaemus (Brachylaemus) nicolli* (Witenberg) C.R. *Soc. Biol.* 109:464-466.

- JOYEUX, Ch., BAER, J.G. e TIMON-DAVID, J., 1934, Recherches sur les Trématodes du genre *Brachylaemus* Dujardin (syn. *Harmostomum* Braun). *Bull. Biol. France et Belgique* 68:385-418.
- KRULL, W.H., 1933, Studies on the life history of *Brachylaemus* sp., possibly *B. spinosulum* (Hofmann, 1899). *J. Parasit.* 20:109-110.
- KRULL, W.H., 1934, Note on the life history of *Panopistus pricei* Snitsin, 1931. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 1:5.
- KRULL, W.H., 1935, Studies on the life history of *Panopistus pricei* Snitsin, 1931 (Trematoda). *Parasit.* 27:93-100.
- McINTOSH, A., 1934, Two new species of trematodes, *Scaphiostomum pancreaticum* n. sp. and *Postharmostomum laruei* n. sp. from the chipmunk. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 1(1):2-4.
- NARDI, E., 1958, Tiflite emorragica del pollo sostenuta da *Postharmostomum commutatum* (Diesing, 1858). *Veterinaria Italiana.* 9(12):977-982.
- ODHNER, T., 1912, Zur natürlichen System der digenen Trematoden. V. Die Phylogenie des Bilharzia-Typus. *Zool. Anz.* 41:54-71.
- OZAKI, Y., 1925, Sur *Harmostoma horizawai* et son développement. *To kyo Iji Shinshi* (2434):12-15.
- PEREIRA, C. e CUOCOLO, R., 1939, A propósito de *Postharmostomum commutatum* (Diesing, 1958). *Arq. Inst. Biol., São Paulo,* 10:73-86.
- RAILLIET, A., 1925, Les helminthes des animaux domestiques et de l'homme en Indochine. *Bull. Soc. Zool., France,* 49:589-608.

- REYNOLDS, B.D., 1938, Developmental stages of *Panopistus pricei* Sinitzin, in *Agriolimax agrestis*. *Parasitol.* 30:320-323.
- ROBISON, Jr. E. J., 1949a, Notes on the life history of a Brachylaemid Trematode. *Science*, 109(2820):32.
- ROBISON, Jr. E. J., 1949b, The life history of *Postharmostomum helicis* (Leidy, 1847) n. comb. (Trematoda: Brachylaemidae). *J. Parasit.*, 35(5):513-533.
- SINITZIN, D., 1931, Studien über die Phylogenie der Trematoden. V. Revision of Harmostominae in the light of new facts from their morphology and life history. *Z. Parasitenk.* 3:786-835.
- SKRJABIN, K. I., 1923, Trematoden der Hausvögel. *Travaux de l'Institut Vétérinaire expérimental de l'Etal. Moscou*, 1(2):193-256.
- SKRJABIN, K. I., 1948, Trematodi Zhivotnikhi Cheloveka, Vol 2 600pp. 295 figs. Akad. Nauk SSSR ed. Moscou (em russo).
- SONSINO, P., 1889, Stidi e notizie elmintologiche. *Atti Soc. Toscana di Sc. Natural, Pisa. Processi-verbali* (1887-1889), 6:273-285.
- SONSINO, P., 1891, Notizie di parassiti. *Processi verbali della Soc. Toscana di Sc. Natural, Pisa*, 7:201-202.
- STAFSETH, H. J. e KOTLAN, A., 1925, Report of investigations of an alleged epizootic of ruffed grouse in Michigan. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 67 (N.S.20):260-267.
- TRAVASSOS, L., 1928, Fauna helmintológica de Mato Grosso, (Trematódeos - 1ª. parte), *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 21(2):309-341.

- TRAVASSOS, L., 1964, Sobre *Brachylaemus* dos gambás. *Atas Soc. Biol.*, Rio de Janeiro, 8(3):13-14.
- TRAVASSOS, L., 1965, Sinopse dos *Brachylaemidea* dos gêneros *Brachylaemus*, *Postharmostomum*, *Glaphyrostomum* e *Cersartrema*. *Atas Soc. Biol.*, Rio de Janeiro, 9(1)3-6.
- TRAVASSOS, L. e KOHN, A., 1966, Lista dos gêneros incluídos na Superfamília *Brachylaemoidea*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 64:11-25.
- ULMER, M. J., 1949a, Sporocyst generations of *Postharmostomum laruei* McIntosh (Trematoda: Brachylaemidae), *J. Parasit.* 35(6, sec.2):22.
- ULMER, M. J., 1949b, Life cycle of *Postharmostomum laruei* McIntosh, 1934 (Trematoda: Brachylaemidae). *Science*. 109(2820):13-14.
- ULMER, M. J., 1950, A precociously developed brachylaemid metacercaria within a sporocyst. *J. Parasit.* 36(6,sec.2):28.
- ULMER, M. J., 1951a, Studies on brachylaemid metacercariae (Trematoda: Brachylaemidae). Morphological features of *Brachylaemus virginiana* metacercariae and migration route of cercariae in the second intermediate host. *Anat. Rec.* 11(3):584.
- ULMER, M. J., 1951b, *Postharmostomum helicis* (Leidy, 1847) Robison, 1949, (Trematoda) its life history and revision of the Subfamily Brachylaeminae. *Trans. Am. Micr. Soc.* 70(3):189-238.
- VILLELLA, J. B., 1954, *Ventridens ligera*, a new first intermediate host of *Panopistus pricei* Sinitzin, 1931 (Trematoda: Brachylaematidae). *J. Parasit.* 40:470-472.
- WAGENER, G. R., 1852, *Enthelminthica*, nº3. *Archiv. für Anat. Phy.*

siol.:555-567.

WITENBERG, G., 1923, (veja em SKRJABIN, 1923).

WITENBERG, G., 1925, Versuch einer Monographie der Trematoden Unterfamilie *Harmostomidae* Braun. *Zool. Jahrbücher System.* 51:167-264.

YAMAGUTI, S., 1933, Studies on the helminth fauna of Japan. Part. I. Trematodes of Birds, Reptiles and Mammals. *Japan. Journ. Zool.* 5:1-134.

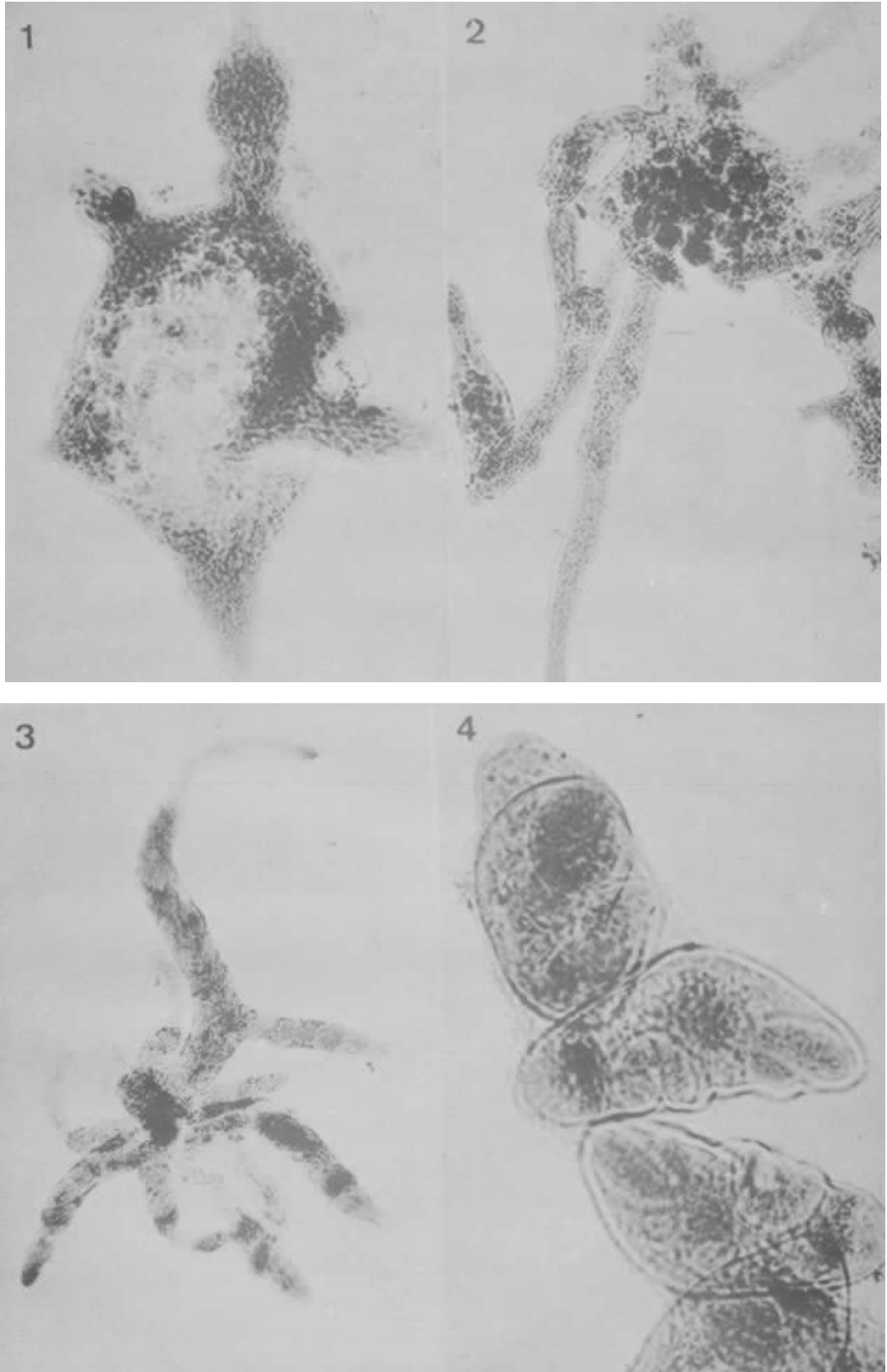
YAMAGUTI, S., 1958, *Systema Helminthum. The Digenetic Trematodes of Vertebrates.* Vol. I, Pts. 1 e 2. Interscience Publishers, New York.

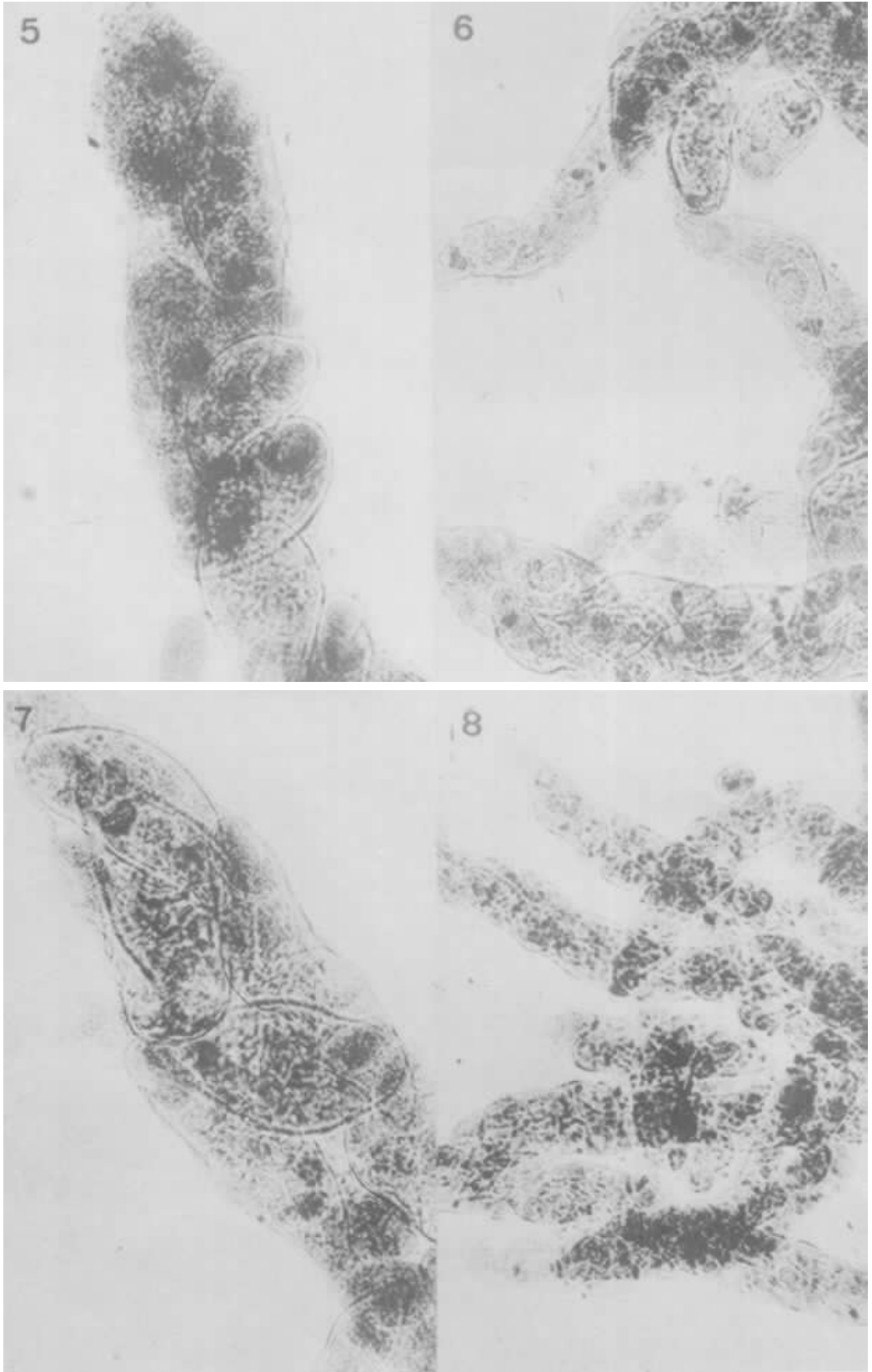
YAMAGUTI, S., 1971, *Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates.* Vol. 1 e 2. Keigaku. Publishing Co., Tokyo.

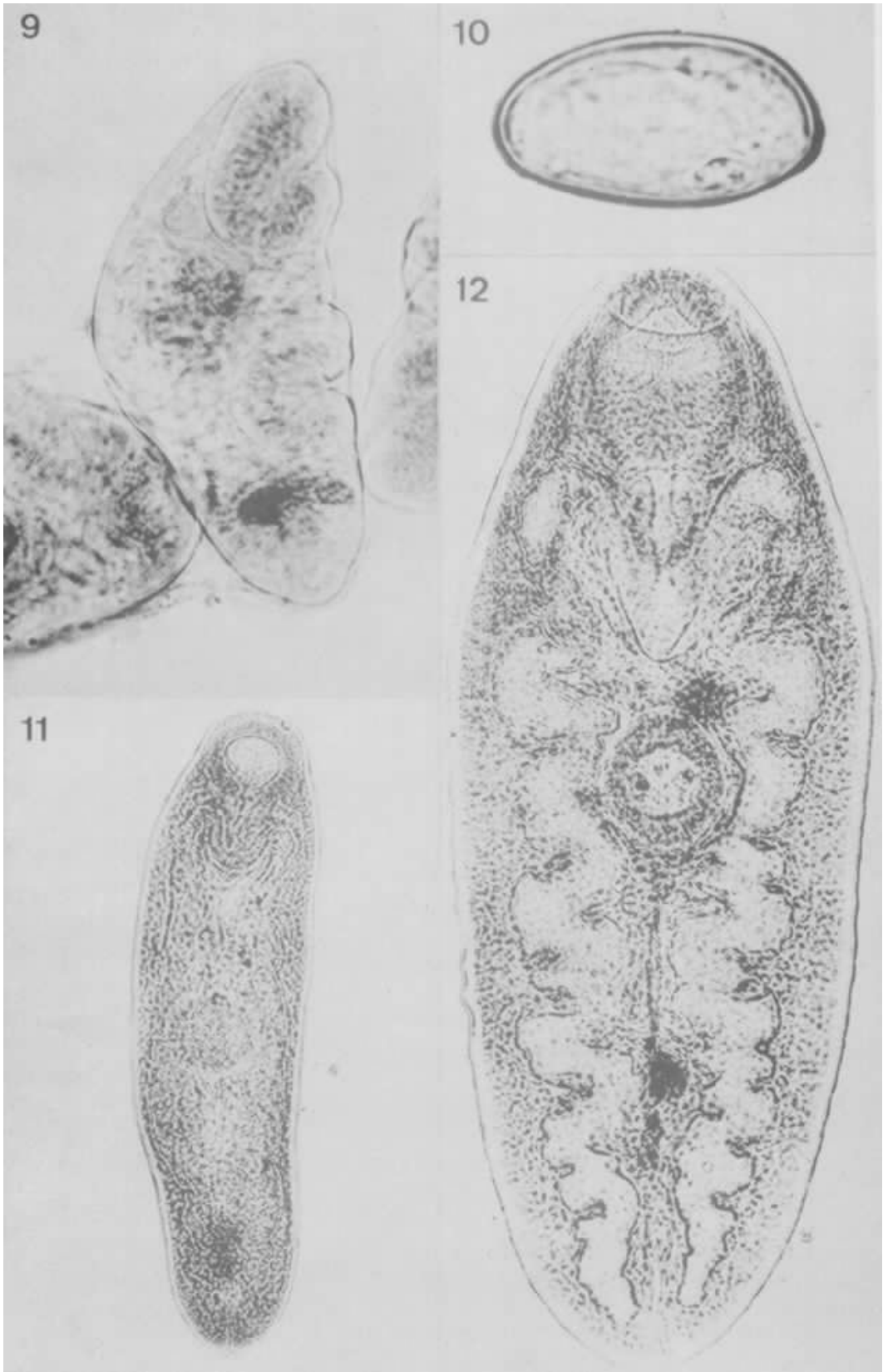
APÊNDICE

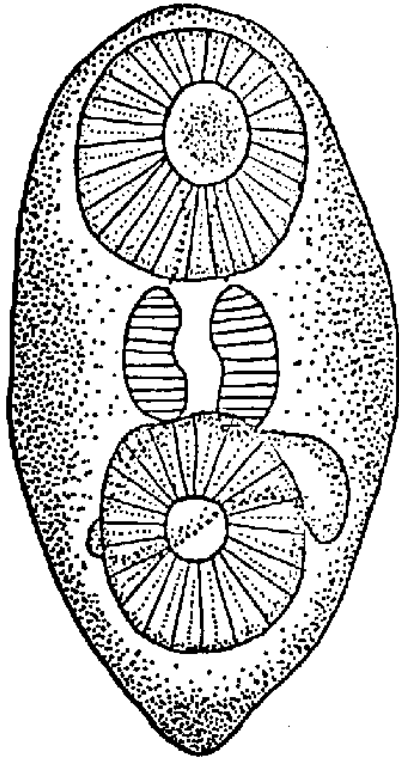
- Fig. 1 Esporocisto de 20 dias, mostrando corpo central, pequenos ramos e bolas germinativas. (167X).
- Fig. 2 Esporocisto de 40 dias, mostrando ramos primários e secundários curtos e bolas germinativas (100X).
- Fig. 3 Esporocisto de 60 dias, mostrando ramos contendo cercárias (47X).
- Fig. 4 Esporocisto de 70 dias, mostrando cercárias e poro de nascimento. (300X).
- Fig. 5 Esporocisto de 80 dias, mostrando várias cercárias maduras e bolas germinativas (68X).
- Fig. 6 Esporocisto de 90 dias, mostrando intensas ramificações e cercárias maduras em grande quantidade (41X).
- Fig. 7 Esporocisto de 90 dias, mostrando cercárias maduras e bolas germinativas (68X).

- Fig. 8 - Esporocisto de 100 dias, mostrando ramificações com grande quantidade de cercárias maduras. (58X)
- Fig. 9 - Cercária madura, dentro do esporocisto, mostrando ventosa oral, acetábulo, cecos intestinais e primórdios genitais. (450X)
- Fig. 10 - Ovo, mostrando o contorno do miracídio. (1410X).
- Fig. 11 - Metacercária imatura, mostrando vestígio da cauda, vista ventral. (133X).
- Fig. 12 - Metacercária madura, vista ventral. (120X)
- Fig. 13 - Cercária imatura, vista ventral.
- Fig. 14 - Cercária madura, vista ventral.
- Fig. 15 - Metacercária imatura, vista ventral.
- Fig. 16 - Metacercária madura, vista ventral.
- Fig. 17 - Adulto, vista ventral.



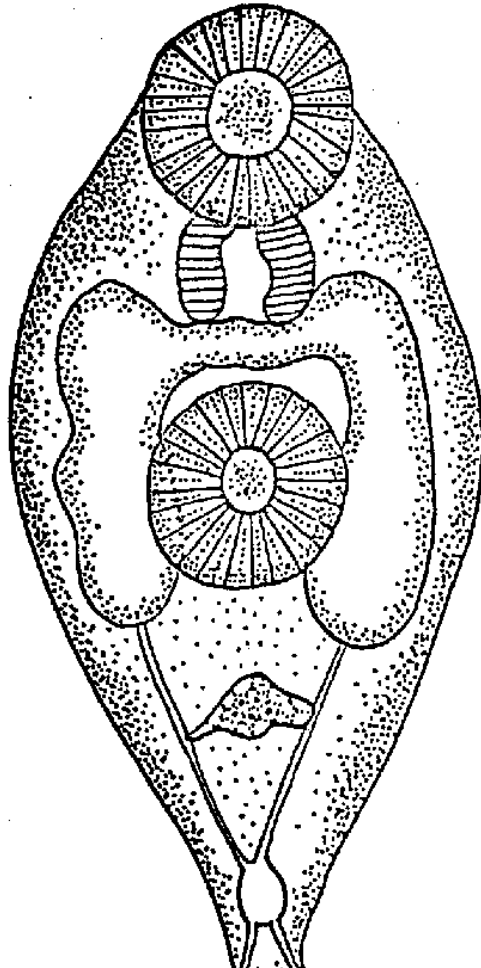






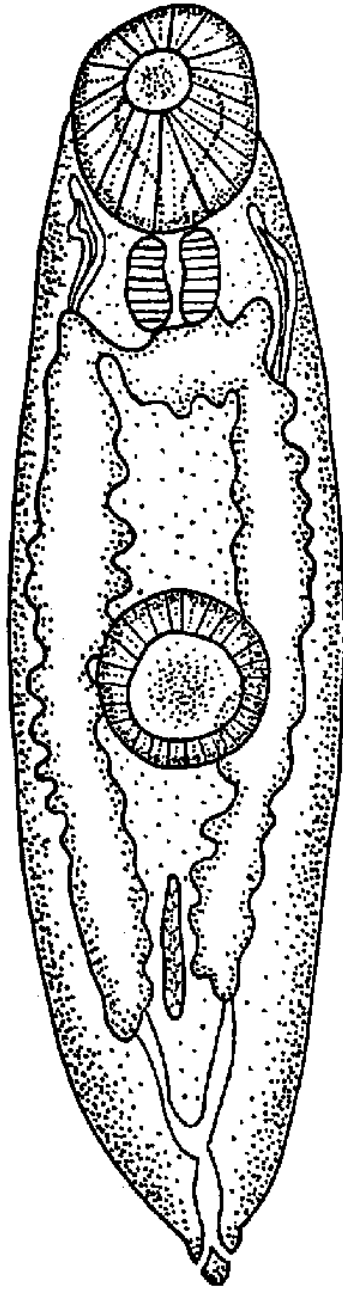
0.1 mm

13

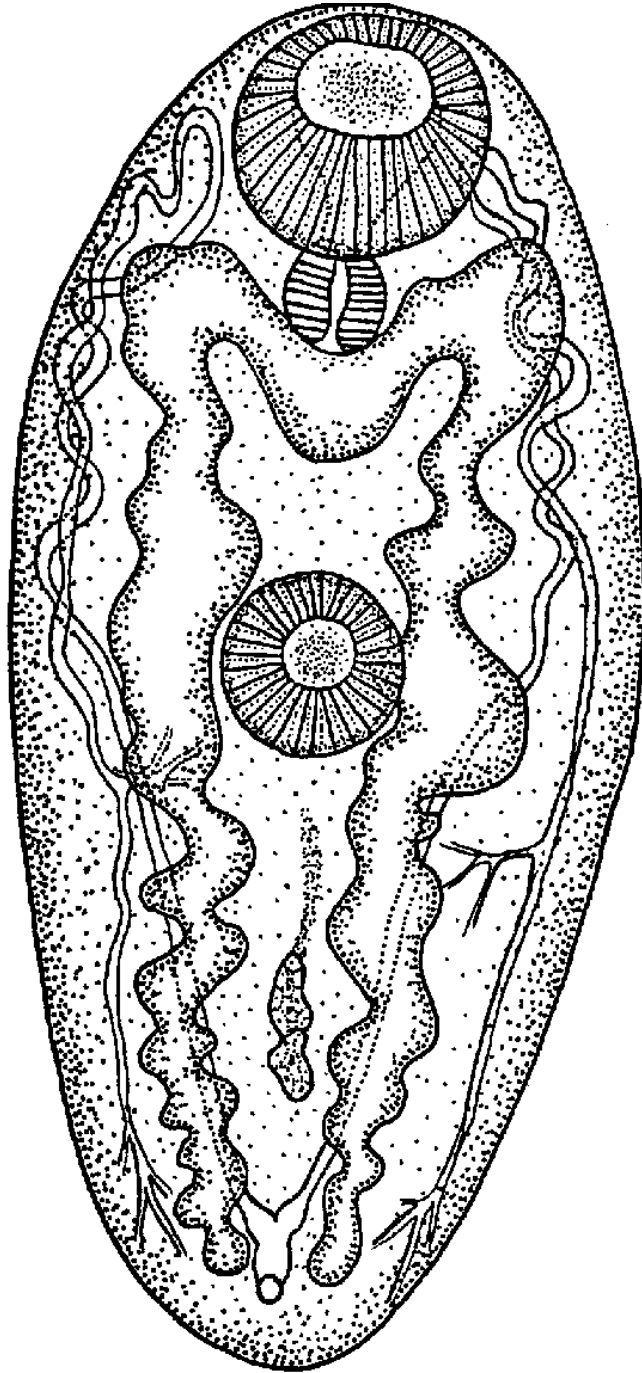


0.5 mm

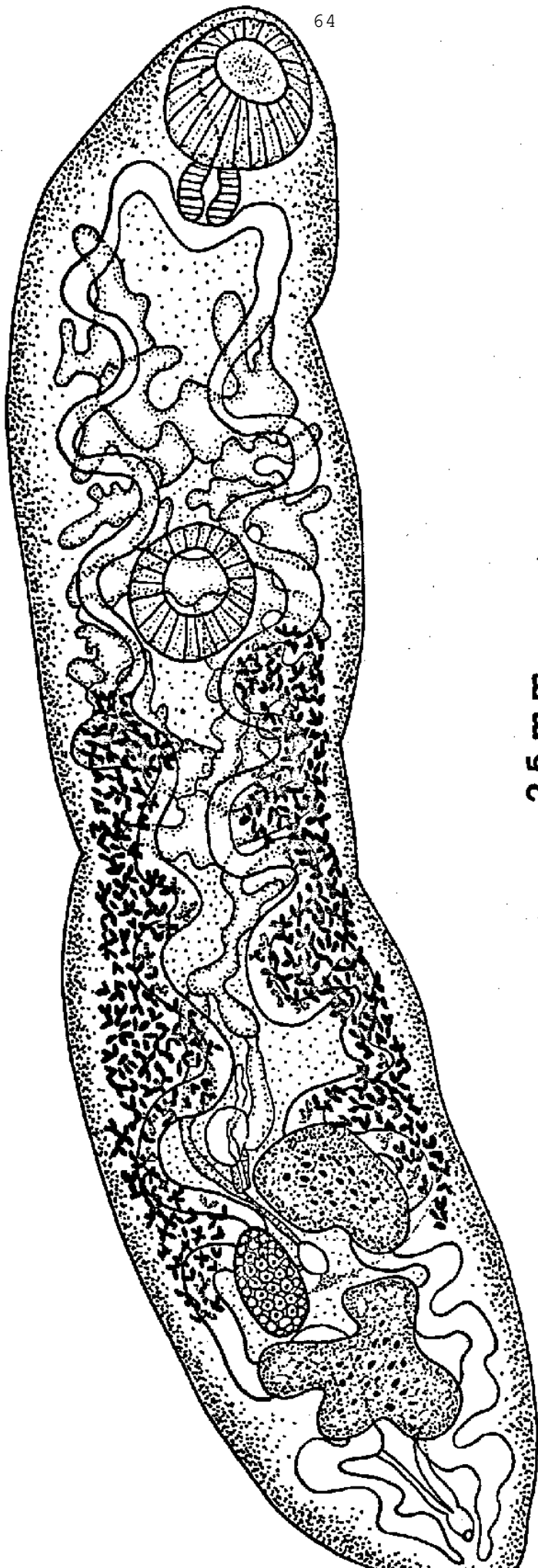
14



0.3mm



0.5mm



2.5 mm

Quadro 1. Determinação do índice de infecção de moluscos naturalmente infectados.

Molusco	Número Examinado	Número de Moluscos Positivos		Percentual de Moluscos Positivos		Número de Moluscos Negativos
		com Esporocistos	com Metacercárias	com Esporocistos	com Metacercárias	
<i>Bradybaena</i>	100	20	100	20	100	-
<i>Subulina</i>	24	0	10	-	41,67	14
<i>Leptinaria</i>	55	0	50	-	90,91	5
<i>Bulinulus</i>	20	0	20	-	100	-

Quadro 2. Infecção experimental de *Bradybaena similaris* com ovos de *Postharmostomum gallinum*.

Número de moluscos utilizados	Número de dias após infecção	Número e Percentagem de Moluscos Positivos						Número de meta-cercárias encontradas
		com esporocistos		com cercárias		com metacercárias		
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	
10	20	5	50	-	-	-	-	-
10	40	7	70	-	-	-	-	-
10	60	6	60	2 (rim)	20	-	-	-
10	70	3	30	1 (rim)	10	-	-	-
10	80	5	50	5 (cav.per.)	50	5 (em desenv)	50	15,10,8,7,8
10	90	6	60	6 (cav.per.)	60	6 (em des.mad.)	60	15,5,18,10,6,3
10	100	4	40	4 (cav.per.)	40	4 (maduras)	40	10,25,18,24

Obs. (cav .per.) = cavidade pericárdica - (em desenv.) = em desenvolvimento
 (em des. mad.) = em desenvolvimento e maduras.

Quadro 3. Infecção experimental de moluscos criados em laboratórios com cercárias oriundas de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas.

Molusco	Número de moluscos utilizados	Número de dias após infecção	Número de moluscos dissecados	Número e Percentual Moluscos Positivos	Número de Metacercárias encontradas
<i>Bradybaena</i>	8	15	2	-	-
		25	2	-	-
		27	2	1 (50)	6
<i>Subulina</i>	15	15	3	-	-
		25	5	2 (40)	9 , 11
		27	5	-	-
<i>Leptinaria</i>	10	15	3	2 (66,7)	10 , 26
		25	2	2 (100)	6 , 8
		27	3	2 (66,7)	36 , 6
<i>Bulimulus</i>	3	15	1	-	-
		25	1	1 (100)	6
		27	1	-	-

Quadro 4. Infecção experimental de *Gallus gallus* por ingestão de *Bradybaena*.

Idade de <i>Gallus</i> (em dias)	Número de Moluscos ingeridos	Período Pré-patente (dias)	Dias da infecção à necrópsia.	Número de Vermes adultos encontrados
28	5	?	45	5
28	10	24	81	2
28	15	24	92	27
28	20	26	57	9
28	30	26	33	48
28	30	26	40	27
15	15 (a)	27	40	10
30	15 (b)	27	40	6

Todos os moluscos foram provenientes de Lins de Vasconcelos, Rio de Janeiro, RJ, exceto: a) moluscos proveniente de Campo Grande, Rio de Janeiro, RJ. b) moluscos experimentalmente infectados.

Quadro 5. Transmissão de moluscos infectados para não infectados.

Moluscos infectados		Moluscos não infectados		Número de dias após infecção	Número de moluscos dissecados	Número de moluscos positivos	Percentual de moluscos positivos.	Número de Metacercárias encontradas
Gêneros	Número	Gênero	Número					
<i>Bradybaena</i>	20	<i>Bradybaena</i>	10	21	2	2	100	10, 9
				40	3	2	66	6, 8
				47	3	3	100	11, 8, 18
<i>Bradybaena</i>	25	<i>Subulina</i>	30	21	5	2	40	10, 9
				40	5	2	40	19, 13
				47	5	2	40	5, 5
<i>Bradybaena</i>	20	<i>Leptinaria</i>	10	21	2	-	-	-
				40	3	1	33	25
				47	5	3	60	6, 10, 25
<i>Bradybaena</i>	20	<i>Bulimulus</i>	4	21	2	-	-	-
				40	2	-	-	-