

INFECÇÃO DE *Deroceras* sp. COM *Davainea proglottina* (DAVAINE,
1860) DE *Gallus gallus* NO BRASIL E ALGUNS ASPECTOS
MORFOLÓGICOS DO CISTICERCÓIDE

FLORENCE GONÇALVES MARTINS

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

INFECÇÃO DE *Deroceras sp.* COM *Davainea proglottina* (DAVAINE,
1860) DE *Gallus gallus* NO BRASIL E ALGUNS ASPECTOS
MORFOLÓGICOS DO CISTICERCÓIDE

FLORENCE GONÇALVES MARTINS

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:
DR. JOSÉ LUIZ DE BARROS ARAÚJO

Tese submetida como requisito par-
cial para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária -
Parasitologia Veterinária

ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO
AGOSTO, 1990

TÍTULO DA TESE

INFECÇÃO DE *Deroceras sp.* COM *Davainea proglottina* (DAVAINE,
1860) DE *Gallus gallus* NO BRASIL E ALGUNS ASPECTOS
MORFOLÓGICOS DO CISTICERCÓIDE

AUTOR

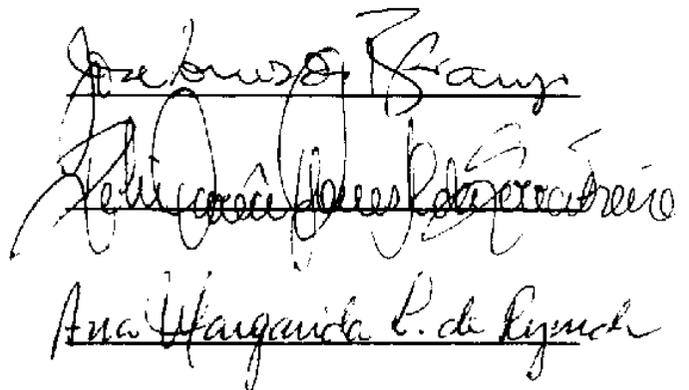
FLORENCE GONÇALVES MARTINS

TESE APROVADA EM: 15/08/1990

JOSÉ LUIZ DE BARROS ARAÚJO

DELIR C. G. M. DA SERRA FREIRE

ANA MARGARIDA L. DE REZENDE



*Aos meus pais e irmãos
pelo constante incenti-
vo e apoio.*

AGRADECIMENTOS

*Pelos obstáculos que nos ensinam resistência,
Pelos provações que nos induzem à paciência,
Pelos lágrimas que nos lavam os olhos,
para que vejamos com mais clareza,
Pelos desenganos que nos acordam para a realidade,
Pelos amigos que, por amor, em meio a tudo, compartilham conosco tristezas e alegrias,
Por todas as forças que nos arrancam da inércia
para a construção de um mundo melhor,
Por seu amor*

Obrigado Senhor

BIOGRAFIA

Florence Gonçalves Martins, filha de Antonio Francisco Martins e Wanda Gonçalves Martins, nasceu a 19 de janeiro de 1963, na Cidade do Rio de Janeiro, RJ.

No primeiro semestre de 1981 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, graduando-se em agosto de 1985.

Em março de 1987 ingressou no curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, a nível de Mestrado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Cestóide	3
2.1.1. Taxionomia e biologia	3
2.1.2. Distribuição geográfica	4
2.1.3. Patogenicidade	4
2.2. Moluscos	6
2.3. Infecções	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Colheita e manutenção dos hospedeiros	11
3.1.1. Moluscos	11
a. Espécies	11
b. Locais de colheita	11
c. Transporte	12
d. Manutenção em laboratório	12
3.1.2. Aves	13
3.2. Infecção experimental no hospedeiro interme-	

diário	14
3.3. Histologia e histoquímica do cisticercóide	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1. Pesquisa de aves portadoras dos cestóides adultos	17
4.2. Receptividade dos moluscos ao material infectante	17
4.3. Infecções positivas	18
4.3.1. Aspectos histológicos e histoquímicos do cisticercóide	19
4.4. Infecções negativas	20
5. CONCLUSÕES	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Fotomicrografia de cisticercóide de <i>Davainea proglottina</i> . Rostelo ao centro e ventosas. H.E., 1000 x	22
FIGURA 2. Fotomicrografia de cisticercóide de <i>Davainea proglottina</i> . Camada externa e camada fina. P.A.S., 1000 x	23
FIGURA 3. Fotomicrografia de cisticercóide de <i>Davainea proglottina</i> . Camada mais externa, camada fibrosa interna e corpúsculos calcários. Tricrômico de Gomori, 1000 x	24
FIGURA 4. Fotomicrografia de cisticercóide de <i>Davainea proglottina</i> . Camada externa e camada fina. Alcian Blue, 1000 x	25

RESUMO

Observações foram feitas acerca do ciclo de *Davainea proglottina* (Davaine, 1860) com o principal objetivo de se determinar um possível hospedeiro intermediário para este parasito no Brasil. Para isso foram testadas cinco espécies de moluscos: *Bradybaena similaris* Fèrussac, 1821, *Bulimulus tenuissimus* Orbigny, 1835, *Leptinaria unilamellata* Orbigny, 1835, *Subulina octona* Brugière, 1789 e *Deroceras* sp. Rafinesque, 1820. Nestas infecções foram utilizadas proglótides grávidas deste cestóide, obtidas de galinhas naturalmente infectadas.

Cisticercóides foram encontrados somente em *Deroceras* sp., 13 dias após a infecção, sendo evidenciados em cortes histológicos, na parede do tubo digestivo e na cavidade geral destes moluscos.

Alguns testes histoquímicos foram utilizados como auxílio na evidenciação e caracterização destes cisticercóides.

SUMMARY

Experimental research was conducted to clarify the possible role played by species of molluscs from Southeastern Brazil in the life cycle of *Davainea proglottina* (Davaine, 1860). Five species *Bradybaena similaris* Fèrussac, 1821, *Bulimulus tenuissimus* Orbigny, 1835, *Subulina octona* Brugière, 1789 and *Deroce-
ras* sp. Rafinesque, 1820 were used. Gravid proglotids obtained from naturally infected chickens were given to molluscs. Cysticercoids were found in tissue section only in *Deroce-
ras* sp. 13 days post infection in the walls of digestive tube and in the body cavity of the slugs.

Some histochemical tests were used to help in identification and identification of these cysticercoids.

1. INTRODUÇÃO

Entre os cestóides que parasitam as aves domésticas, *Davainea proglottina* (Davaine, 1860) é um dos principais, pela frequência com que é encontrado e, principalmente, pelas lesões que provoca, resultantes da patogenicidade para o hospedeiro.

Não existem informações relativas à transmissão do parasito às aves no Brasil, permanecendo-se dependentes da literatura mundial. Esta literatura refere várias espécies de moluscos como hospedeiros intermediário e a infecção das aves se dá de forma passiva, com a ingestão do molusco portando o cisticercóide.

Das espécies referidas como hospedeiros intermediários, aquelas pertencentes à família Limacidae prevalecem, mas algumas outras das famílias Zonitidae, Subulinidae, Helicidae e Arionidae são destacadas. Destas, apenas a última citada, não tem representantes no Brasil.

Na maioria das vezes, as espécies de moluscos são conhecidas somente pelos caracteres conquiliológicos ou de morfologia externa, o que também representa uma dificuldade no estudo de todos os aspectos que a elas se relacionem. As espécies

da família Limacidae são conhecidas pelos caracteres de anatomia visceral; contudo, embora várias delas sejam citadas no Brasil, há carência de estudos comparativos para a segura definição de suas identidades.

Se avaliarmos a distribuição geográfica destas espécies de moluscos passíveis de atuarem como hospedeiros intermediários de *D. proglottina*, bem como a da própria espécie do cestóide, constatamos que existe, em quase todas as regiões, pelo menos uma espécie capaz de atuar como tal, mas nem sempre com a mesma eficiência. Existem peculiaridades que determinam a preferência do parasito e que precisam ser detectadas em cada caso. Por outro lado, em algumas áreas é frequente o parasitismo sem que ainda tenha sido detectado um possível hospedeiro intermediário.

O estudo morfológico da ontogenia do parasito no hospedeiro intermediário permite interpretar o seu desenvolvimento até completa maturação, quando está capaz de infectar o hospedeiro final apropriado.

Estes são alguns dos tópicos cuja abordagem é essencial para o início dos estudos e que se objetivou conhecer como aspectos básicos para a adoção de medidas de controle do parasitismo em etapas futuras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cestóide

2.1.1. Taxionomia e biologia

Este parasito foi originalmente observado em galinhas na França por DAVAINÉ (1860), conforme DAVAINÉ (1877), que o descreveu como *Taenia proglottina*.

BLANCHARD (1891) propôs o gênero *Davainea* re combinando *T. proglottina* que foi considerada como espécie tipo do novo gênero.

KALYANKAR e cols. (1984), revisando este gênero, propuseram três subgêneros: *Davainella*, *Blanchardea* e *Davainea*; neste último foi incluída a espécie *Davainea proglottina*.

Este parasito se localiza no duodeno de galinhas e, apesar de seu tamanho diminuto (0,5 a 4,0, mm de comprimento), possui ventosas e rostelo armados de ganchos e se fixam profundamente entre as vilosidades intestinais. As proglótides grávidas são eliminadas nas fezes. São ativas e se arrastam pelo solo liberando os ovos. Uma vez ingerido pelo molusco hospedeiro intermedi-

ário, o ovo liberta o embrião hexacanto que penetra a parede do tubo digestivo do hospedeiro se encistando nos tecidos deste. Esse processo de formação do cisticercóide leva de 13 a 26 dias (ABDOU, 1958), dependendo da temperatura ambiente. As aves se infectam ingerindo os moluscos contendo o cisticercóide maduro e começam a eliminar proglótides grávidas nas fezes em 15 dias (BAYON, 1933) e 20 dias (CHANDLER, 1923).

2.1.2. Distribuição geográfica

Esta espécie é considerada cosmopolita. No Brasil, DUARTE (1981), em uma lista de parasitos no Estado do Rio de Janeiro, não cita a ocorrência de *D. proglottina*. Mais tarde, COSTA e cols. (1986) assinalam esta espécie nas seguintes unidades da Federação: Pará, Maranhão, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Distrito Federal.

2.1.3. Patogenicidade

A patogenicidade deste cestóide para o hospedeiro definitivo ainda não é bem definida, apesar dele ser apontado como o mais patogênico para as aves.

BAYON (1933) se refere a posturas insatisfatórias em aves com infecções graves por este parasito durante observações a campo. Comenta ainda uma possível relação entre a paralisia aviária ou neurolinfomatose e a forma grave deste parasitismo. Nestes casos o autor considerou a infecção como maciça (acima de 2000 espécimes) e o parasito foi encontrado em quase todo o intestino.

DICK & BURT (1970), discutindo a patogenicidade de cestóides, comentam que TAYLOR (1933), trabalhando com *D. proglottina*, infectou experimentalmente frangos de 10 semanas de idade e não encontrou correlação entre a severidade da infecção e o atraso de ganho de peso, mesmo onde mais de 3000 vermes estavam presentes em uma única ave.

LEVINE (1938b) parece ter sido o primeiro a conduzir um experimento sob condições controladas para verificar os efeitos deste parasito em frangos de corte. Não foram notados nas aves sintomas que pudessem ser atribuídos diretamente ao parasitismo, mas a diferença no ganho de peso entre o grupo infectado e o grupo controle foi significativa. Tal diferença não foi somente, estatística, mas também perceptível sob o ponto de vista prático, sendo esta de até 12%.

Segundo SOULSBY (1965) *D. proglottina* é o mais patogênico de todos os cestóides de galinha. Ele fica profundamente inserido entre as vilosidades do duodeno causando necrose da mucosa com inflamação hemorrágica. Ocorre edema e infiltração celular excessiva e o duodeno contém muco e fragmentos celulares. Em infecções maciças uma enterite hemorrágica pode levar à morte, mas em casos crônicos a enterite está associada com debilidade geral e emagrecimento. Distúrbios nervosos têm sido atribuídos à infecção por este parasito, mas nenhum trabalho foi publicado que sustente esta hipótese.

Outros autores como KALKUS (1928), BISSET (1928), NEVEU -LEMAIRE (1936) e REID (1984) citam ainda apatia, penas eriçadas, movimentos lentos, fraqueza nas pernas e dificuldade respiratória como sintomas nas aves infectadas por *D. proglottina*.

2.2. Moluscos

Apesar de representarem o maior grupo de animais, depois dos insetos, os Mollusca ainda continuam pouco conhecidos, principalmente com relação a sua sistemática e a literatura específica é escassa.

THIELE (1931) classificou os Mollusca caracterizando-os até o nível de subgênero.

SCOTT (1945) publicou uma lista de espécies de moluscos terrestres e aquáticos coletadas em Tilcara, Argentina, quando se refere à identificação de *Agriolimax laevis* baseada principalmente em aspectos morfológicos da rádula.

PILSBRY (1948) apresentou uma classificação para a família Limacidae onde considerou *Agriolimax* como sinônimo de *Deroceras* e algumas espécies daquele gênero foram incluídas neste.

MORRETES (1949) relaciona as espécies de moluscos que ocorrem no Brasil. Para a família Limacidae cita o gênero *Agriolimax* com as espécies *A. agrestis* e *A. laevis*, e *Limax flavus* e *Milax gargates*. Dentre os subulinidae cita *Subulina octona* e *Leptinaria lamellata*; e ainda *Bradybaena similaris* (Fruticicolidae) e *Bulimulus tenuissimus* (Bulimulidae).

GETZ (1959), a partir de observações no campo e no laboratório, comenta aspectos da reprodução, alimentação, preferências de habitat, umidade e temperatura de *Arion circumscriptus*, *Deroceras laeve* e *Deroceras reticulatum*.

BURCH (1960), recorrendo à caracteres de morfologia externa, classifica os moluscos, inclusive limacídeos, para os quais havia quarentena obrigatória nos Estados Unidos da América. Esse autor (BURCH, 1982) atualiza a sistemática de Mollusca.

STEPHENSON & KNUTSON (1966) apresentam uma revisão sobre a associação de lesmas com outros invertebrados dos filos Insecta, Protozoa, Nematelminthe e Platyhelminthe. Nesta, citam ABDOU (1958) a respeito da presença de cisticercóides de *D. proglottina* em espécies das famílias Limacidae e Arionidae.

HYMAN (1967) comenta aspectos de morfologia, fisiologia, histologia e comportamento das seis classes de Mollusca.

WALKER (1970) estudou os tipos celulares encontrados em glândula digestiva de *Agriolimax reticulatus* e discutiu as possíveis funções de cada uma delas. O mesmo autor (WALKER, 1972) também estudou fagocitose e absorção de nutrientes nessa espécie de molusco.

MALEK & CHENG (1974) detalharam hematologia e mecanismos de defesa interna de molusco; suas relações com parasitos, além de comentar aspectos histológicos e histoquímicos de moluscos. Estudos histológicos foram feitos no Brasil por BONFATI (1974) em manto de *Megalobulimus sp.* e BONFATI (1980) em tubo digestivo desta mesma espécie.

BOFFI (1976) cita para o Brasil as espécies *Limax maximus*, *L. flavus* e *D. reticulatum* para a família Limacidae e *B. similis* para a família Bradybaenidae. ARAÚJO (1982) cita a ocorrência e distribuição no Brasil de *S. octona*, *Leptinaria unilamellata*, *B. similis*, *B. tenuissimus* e *Deroceras sp.* entre outros, além de descrever anatomicamente as três primeiras espécies listadas.

DUTRA (1988) descreve aspectos da biologia e reprodução de *L. unilamellata*, observando uma população em Pernambuco.

2.3. Infecções

GRASSI & ROVELLI (1889) foram os primeiros a sugerir que o hospedeiro intermediário de *D. proglottina* poderia ser uma lesma. Eles identificaram experimentalmente *Limax flavus*, *L. cinereus* e *A. agrestis* como hospedeiros intermediários deste parasito.

MEGGITT (1916) em Birmingham, Inglaterra, fracassou em suas tentativas de infectar cinco *Arion ater*, seis *Arion hortensis*, 18 *A. circumscriptus* e 45 *A. agrestis* utilizando proglótides grávidas sobre vegetais que serviriam de alimento às lesmas. Dissecções e cortes histológicos não mostraram desenvolvimento de cisticercóides. O tempo entre a infecção e a dissecação variou entre 10 e 35 dias. Tentando explicar o insucesso das infecções, enumerou alguns fatores que julgou importantes como a incerteza do completo desenvolvimento dos ovos, a possibilidade da não ingestão por todas as lesmas e a morte das lesmas infectadas.

CHANDLER (1923), nos EUA, encontrou 150 cisticercóides em um dos 25 *A. agrestis* naturalmente infectados, coletados de quintal de galinhas. Os cisticercóides foram dados às duas galinhas e após 20 dias estas estavam eliminando nas fezes proglótides de *D. proglottina*. Estas foram dadas a dois *A. agrestis* e quatro *L. flavus*. Nos dois primeiros foram encontrados cisticercóides maduros 22 dias depois. Nos quatro últimos, somente um cisticercóide foi encontrado.

Novamente resultados negativos foram obtidos por BISSET (1928) testando a preferência de *A. agrestis* em ingerir proglótides grávidas frente a outros alimentos. Colocou estas lesmas durante 14 dias em uma placa de Petri contendo um número definido

de segmentos grávidos e pedaços de repolho. Ambos eram trocados diariamente. Por vezes, o autor retirava o repolho e ainda assim as lesmas não ingeriram as proglótides.

JONES (1929) infectou experimentalmente com proglótides grávidas de *D. proglottina* os seguintes moluscos: *Zonitoides arborea*, *Vallonia indentata*, *Gasterodonta ligera* e *Polygyra thyroides*. Infectando frangos com cisticercóides provenientes destes moluscos, obteve o parasito adulto no intestino destas aves.

TAYLOR (1933), in ABDOU (1956), capturou moluscos naturalmente infectados, que foram administrados à frangos em doses variando de 25 a 304. Os moluscos capturados foram: *Thrichia sericia*, *Helicella virgata*, *Helicella caprata* e *A. agrestis*. Como resultado ele obteve adultos de *D. proglottina* nas aves infectadas.

BAYON (1933) capturou *A. agrestis* de uma área onde galinhas não tinham acesso e alimentou-os com proglótides grávidos de *D. proglottina*. Apesar da grande mortalidade das lesmas, algumas sobreviveram o tempo suficiente para desenvolver cisticercóides maduros. Estes foram dados à duas frangas que após três semanas apresentaram poucos cestóides adultos no duodeno (três e 33).

LEVINE (1938a) infectou *A. agrestis* com proglótides grávidas de *D. proglottina* e após três a quatro semanas as lesmas foram dadas a galinhas das quais foram recuperadas nas fezes proglótides grávidas do parasito. O mesmo autor (LEVINE, 1938b) infectou 17 galinhas com 75 *A. agrestis* infectados experimentalmente, recuperando até mais de 5.000 cisticercóides maduros de três das aves infectadas.

ABDOU (1956) demonstrou em trabalhos experimentais que as seguintes espécies foram capazes de atuar como hospedeiros in-

intermediários de *D. proglottina*: *Agriolimax carvanae*, *A. reticulatus*, *L. cinereus*, *L. flavus*, *Milax gracilis*, *M. sowerby*, *Arion hortensis*, *A. circumscriptus* e *A. intermedius*. Este mesmo autor (ABDOU, 1958) estudando o cisticercóide em vários estágios de desenvolvimento identificou ainda mais três espécies de moluscos como hospedeiros intermediários deste parasito: *Agriolimax caruane*, *A. agrestis* e *Arion empericorum*. Demonstrou também a term dependência deste parasito durante o estágio larvar. À temperatura de cerca de 15°C, os cisticercóides necessitam de 26 dias para se tornarem infectantes para a ave, enquanto que à 25°C isto foi conseguido em 13 dias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Colheita e manutenção dos hospedeiros

3.1.1. Moluscos

a. Espécies

Durante 1988-89 foram realizadas colheitas de espécimes de *B. similaris*, *S. octona*, *L. unilamellata* e *B. tenuissimus*. De setembro a novembro de 1989 foram colhidos espécimes de *Deroce-
ras sp.*

b. Locais de colheita

Os caramujos foram capturados no campus da UFRRJ e em outras áreas do município de Itaguaí; no bairro de Vila da Penha, município do Rio de Janeiro; em São José do Vale do Rio Preto, município de Petrópolis, todos no Estado do Rio de Janeiro. Também no município de Viçosa, Estado de Minas Gerais. As lesmas foram encontradas somente nas duas últimas, das localidades ci-

tadas e no município de Piquete, Estado de São Paulo.

Os caramujos foram retirados de seus habitats, lugares úmidos, sombreados, sob pedras, pedaços de madeira e telhas e folhas. As lesmas foram encontradas em lugares com características semelhantes porém com mais umidade; algumas vezes também foram colhidas sob fezes secas de bovinos e na pastagem.

Para se estabelecer as criações em laboratório, visando a realização das infecções experimentais, foram colhidos moluscos preferentemente em áreas onde não tinham acesso galinhas. Entretanto, para detecção de infecção natural no hospedeiro intermediário, foram realizadas colheitas em áreas com ocorrência do parasitismo.

c. Transporte

Os moluscos colhidos foram acondicionados em caixas plásticas com 10 cm de diâmetro por oito cm de profundidade, contendo terra retirada dos locais onde os moluscos foram encontrados. Sobre a terra foram colocados pedaços de madeira e folhas secas de vegetais para que a umidade se mantivesse por mais tempo. As caixas com os moluscos foram fechadas com tecido de nylon com menos de 2 mm de malha.

Nessas condições foram transportados os moluscos colhidos nas áreas de captura fora de Itaguaí.

d. Manutenção em laboratório

Os moluscos colhidos foram transferidos para a Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, da

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (EPP-WON/CPGPV).

No laboratório os moluscos foram mantidos em caixas de cimento de amianto de 40 x 40 x 20 cm com terra autoclavada (120 °C/30 min.) a uma altura de até 10 cm. Sobre a terra, pedaços de madeira e pedras. As caixas foram fechadas com tela de nylon com malha de 2,0 mm.

As lesmas foram mantidas em potes de plástico com 15 cm de diâmetro por 10 cm de profundidade. Os recipientes continham terra autoclavada até uma altura de 3 cm; sobre esta terra foram colocados pedaços de madeira, pedras e folhas secas. Foram fechados com tecido de nylon com menos de 2 mm de malha.

Diariamente todas as caixas eram borrifadas com água para que a terra se mantivesse úmida. Para a alimentação de todos os moluscos a dieta básica era alface, algumas vezes complementada com cenoura, batata e repolho. Como fonte de cálcio, os moluscos dispunham "ad libitum" de pó de giz.

Das criações eram retirados periodicamente os ovos e/ou filhotes que foram submetidos ao mesmo manejo e condições ambientais, e em caixas separadas para serem utilizados nas infecções experimentais.

3.1.2. Aves

Entre 1987 e 1989 foram adquiridos 30 *Gallus gallus* de criações de fundo de quintal no campus da UFRRJ e adjacências. As galinhas foram mantidas na EPPWON/CPGPV em gaiolas de arame com 60 x 40 x 50 cm e alimentadas com ração comercial de crescimento ou postura e água "ad libitum". Essas aves destinaram-se à detecção de infecção natural, com *D. proglotina*, através de exa-

mes coprológicos e necrópsias. Para os exames coprológicos, as fezes foram diluídas em solução fisiológica e examinadas em placas de Petri sob microscópio estereoscópico. Uma vez observada a presença do parasito, iniciava-se o processo de colheita das proglótides para a infecção dos moluscos.

3.2. Infecção experimental no hospedeiro intermediário

Os caramujos foram infectados com proglótides grávidas de *D. proglotina* colhidos da luz intestinal das aves durante as necrópsias. As proglótides recolhidas foram colocadas em placas de Petri de 100 x 15 mm com solução fisiológica até reunir quantidade suficiente para a infecção. Esse processo não durava mais de 2 horas.

As lesmas foram infectadas com proglótides colhidas de fezes eliminadas pelas galinhas adquiridas para o experimento. Para o recolhimento das proglótides as fezes totais eram colhidas três vezes por dia e examinadas ao microscópio estereoscópico. Isto foi feito baseado no trabalho de LEVINE (1938a), onde ele observou que havia uma periodicidade na eliminação de proglótides grávidas.

Antes de serem oferecidas aos moluscos todas as proglótides eram examinadas para avaliar a viabilidade dos ovos baseada no completo desenvolvimento das oncosferas e no movimento realizado por elas para romper os ovos.

Para as infecções dos moluscos estabeleceu-se um período máximo de jejum pré-infecção de 24 horas

No dia da infecção preparava-se uma placa de Petri de 150 x 50 mm com papel de filtro umedecido que recobria todo o fundo da placa. Sobre o papel de filtro eram depositados frag-

mentos de folhas de alface, sobre os quais foram colocadas proglótides inteiras ou fragmentos de *D. proglotina*.

Todas as infecções foram acompanhadas no microscópio estereoscópico para que se tivesse certeza da ingestão de proglótides e/ou ovos pelos moluscos. Esses permaneceram na placa de Petri até o dia seguinte à infecção para que pudessem ingerir maior quantidade de material infectante. Após esse período, eram transferidos para caixas plásticas de 10 cm de diâmetro por 8 cm de profundidade, com terra autoclavada e fechadas com tecido de nylon com malha de menos de 2 mm.

Foram feitas 14 tentativas de infecção dos moluscos, e em cada uma destas, 10 exemplares de cada espécie foram liberados nas placas preparadas para esse fim, acompanhando-se a ingestão de material infectante. Uma vez que nem todos ingeriram, a quantidade final de moluscos infectados variou em cada tentativa. O número de moluscos em cada grupo controle foi igual ao do grupo infectado.

Além das tentativas de infecção que foram feitas com proglótides recém obtidas do intestino das aves necropsiadas ou das fezes frescas dos hospedeiros vertebrados, também foram tentadas infecções com proglótides obtidas de necrópsias e mantidas até 15 horas após a colheita; isso para verificar se o contato destas com a ambiente influenciava na capacidade infectiva dos ovos. Nessa abordagem as proglótides foram contadas, divididas em três grupos e mantidas em três placas de Petri de 50 x 50 mm. Em um dos grupos as proglótides foram estocadas sobre fezes de galinha; no outro permaneciam imersas em solução fisiológica e no terceiro foram depositadas no próprio vidro do fundo da placa de Petri. Depois disso as proglótides eram transferidas para a placa de infecção e o procedimento era o mesmo utilizado com to-

dos os moluscos.

Para avaliar a influencia da temperatura no desenvolvimento do cisticercóide, dois grupos de caramujos infectados foram mantidos, durante 15 dias após terem ingerido ovos de *D. proglotina* em estufa para BOD com temperatura controlada a 27°C e umidade relativa de 70 ± 10%.

Transcorridos 20 dias de infecção, isolava-se as partes moles dos caramujos, retirando-as das conchas pelo rompimento destas; procedia-se o exame com auxílio de microscópio estereoscópico, e fixava-se o material em formol-cálcio de Baker. As lesmas foram fixadas inteiras após morte natural, oito, 12 e 13 dias após a infecção.

3.3. Histologia e histoquímica do cisticercóide

Após a fixação, iniciou-se o processamento histológico quando as partes moles dos moluscos foram desidratadas na série crescente de álcoois e diafanizadas no xilol. O tempo de permanência do material em cada etapa desse processo foi reduzido devido à fragilidade do tecido. Após a desidratação e diafanização o material foi incluído em blocos de parafina. Os cortes em série foram realizados com espessura de 5 µm.

Para os estudos morfológicos, os cortes foram corados com hematoxilina e eosina. Para estudos histoquímicos, a respeito dos envoltórios do cisticercóide foram utilizados as seguintes técnicas: Tricrômico de Gomori (seg. GOMORI, 1950) para evidenciação de fibras conjuntivas colágenas; PAS (seg. PEREIRA, 1970) (ácido periódico de Schiff) para evidenciação de mucopolissacarídeos neutros e Alcian Blue pH 0,5 e 2,5 (seg. PEREIRA, 1970) para caracterização de mucopolissacarídeos ácidos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Pesquisa de aves portadoras dos cestóides adultos

Para a obtenção de proglótides grávidas para as infecções dos moluscos, foram examinadas trinta galinhas de fundo de quintal, obtendo-se um índice de 80% de aves infectadas, assinalando-se desta forma a presença deste cestóide também no Estado do Rio de Janeiro.

4.2. Receptividade dos moluscos ao material infectante

A receptividade das lesmas às proglótides foi superior quando comparada a dos caramujos. Mesmo quando estas não estavam em jejum de 24 horas a ingestão das proglótides era quase imediata e se estas eram colocadas longe dos fragmentos de alface, eram preferidas a estes. BISSET (1928) observou um comportamento contrário com *A. agrestis* utilizando repolho e proglótides grávidas de *D. proglottina*. As lesmas sempre ingeriram o vegetal e não as proglótides.

Dentre os caramujos, *S. octona* e *L. unilamellata* mostra-

ram maior receptividade às proglótides do que *B. similaris* e *B. tenuissimus*. Além disso, quando fezes de galinha foram colocadas na placa de Petri com os moluscos, para observação do comportamento destes, as *Deroceras sp.* foram as únicas que não somente ficaram em contato com as fezes, como também as ingeriram. Esta diferença no comportamento de caramujos e lesmas também foi observada por ABDU (1956) quando ele relata que as lesmas foram atraídas pelas fezes de aves, nas quais pareceram se alimentar. Também foi notado quão facilmente estas lesmas, especialmente *A. reticulatus*, devoraram as proglótides, enquanto por outro lado, os caramujos não mostraram qualquer destes hábitos. BAYON (1933) também comenta que as lesmas devoram as proglótides quase prontamente.

Estes fatores podem favorecer a infecção de *Deroceras sp.* em relação aos outros moluscos.

4.3. Infecções positivas

Foram consideradas desta forma as infecções dos moluscos, nas quais após decorridos os 13 dias, foram detectados os cisticercóides. Tal fato só aconteceu nas infecções utilizando-se *Deroceras sp.* Os cisticercóides foram observados nos cortes histológicos, localizados na parede do tubo digestivo do molusco e livres em vários pontos da cavidade geral.

Para obtenção dos cisticercóides foram feitas duas infecções, utilizando-se 22 lesmas. Apenas oito ingeriram o material infectante e destas apenas seis sobreviveram o tempo mínimo para o completo desenvolvimento do cisticercóide, com ventosas e rostelo armados de ganchos observados ao microscópio ótico (Fig. 1). A quantidade de cisticercóides encontrados em cada lesma va-

riou de 1 a 5.

4.3.1. Aspectos histológicos e histoquímicos do cisticercóide

No estudo histológico verificou-se que os cisticercóides localizavam-se na parede do tubo digestivo, no córion, entre o epitélio e a camada fibro-conjuntiva e também na cavidade geral.

Com relação à localização, CHANDLER (1923) relata que alguns dos cisticercóides foram encontrados livres na cavidade do corpo da lesma, mas muitos deles estavam embebidos nos tecidos, particularmente nas paredes do canal alimentar.

ABDOU (1958) observou que as oncosferas tinham penetrado a parede intestinal 24 horas depois de ingeridas e algumas delas foram encontradas na cavidade do corpo entre o estômago e a glândula salivar e algumas entre o intestino e a glândula digestiva.

Como resultado dos testes histoquímicos, verificou-se que os tecidos que envolvem o escólex dispõe-se em camadas, que também haviam sido observadas por ABDOU (1958), e que são descritas a seguir:

- uma camada mais externa, fibrosa, resultante da reação do hospedeiro, evidenciada pela coloração com o Tricrômico de Gomori o que caracteriza a presença de fibras conjuntivas (Fig. 3);
- uma camada externa, delgada, fina, própria do cisticercóide com reação ao P.A.S. e ao Alcian Blue fortemente positiva indicando a presença de mucopolissacarídeos ácidos (Fig. 2 e 4);
- abaixo desta um revestimento granular com presença de células, caracterizada pela coloração com Hematoxilina-eosina, e com rea-

ção ao P.A.S. e ao Alcian Blue positivas, porém menos intensa que na camada anterior;

- uma membrana basal fina, com reação ao P.A.S. e ao Alcian Blue positivas;

- uma camada fibrosa mais interna, espessa, evidenciada pelo Tricrômico de Gomori, indicando a presença de fibras conjuntivas (Fig. 3);

- internamente, envolvendo o escólex, e abaixo dessa camada fibrosa, estão numerosos corpúsculos calcáreos (Fig. 3).

Estes resultados conferem com aqueles obtidos por ABDU (1958), que também identificou seis camadas no cisticercóide de *Davainea proglottina* em *Agriolimax reticulatus*.

4.4. Infecções negativas

Ao exame das localizações prováveis do cisticercóide em cortes histológicos ou nos exames ao microscópio estereoscópio, que seriam principalmente no aparelho digestivo em sua porção média, não foram encontradas formas que se assemelhassem a ele. Este fato ocorreu com *S. octona*, *L. unilamellata*, *B. similaris* e *B. tenuissimus*, tanto nas infecções experimentais, como com os espécimes colhidos nas áreas de alta incidência do parasitismo entre as aves. BAYON (1933) encontrou apenas 3 a 5% de *A. agrestis* infectados em áreas de grande parasitismo. Comparando-se ambos resultados, os negativos podem ter sido devidos a fatores que impediram a detecção de tão baixos índices, ou provavelmente estas espécies de moluscos não sejam os hospedeiros intermediários de eleição na região. Levando-se em conta também que *Deroceras sp.*, positiva para a infecção experimental, não ocorria na região onde

a parasitose alcançava altos índices nas aves, sugere que uma outra espécie de molusco não estudada possa estar atuando no ciclo. Pensou-se também na possibilidade de alguma influência da temperatura sobre os moluscos e a infecção. Para eliminação desta possibilidade os moluscos infectados foram colocados em estufa B.O. D. à 27°C e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Também para se eliminar a possibilidade da necessidade da proglótide ficar em contato com o ambiente, foram utilizadas proglótides com 15 horas de eliminação. Mesmo diante destas variações os resultados mantiveram-se negativos.

Estes resultados permitem apontar *Deroceras* sp. como uma espécie susceptível de atuar como hospedeiro intermediário de *D. proglottina* no Brasil. Contudo, muitos fatores podem fazer com que este fato possa se alterar, pois as características ambientais variadas das diferentes regiões, podem também provocar variações no comportamento dos parasitos, determinando-lhes situações que favoreçam o seu desenvolvimento, até mesmo a preferência por outra espécie como seu hospedeiro intermediário. Assim se pode explicar como fator provável a existência de muitas espécies apontadas na literatura como hospedeiro intermediário, sem contudo atuarem como tal em áreas endêmicas da parasitose.

Outros fatores precisam ser estudados como o comportamento de cada espécie de molusco nas várias condições ambientais durante seu ciclo de vida, determinando-se assim as oportunidades que são oferecidas aos parasitos para as infecções, explicando-se então a atuação de espécies diferentes com maior eficiência em diferentes regiões.



FIGURA 1. Fotomicrografia de cisticercóide de *Davainea proglossina*. Notar o rostelo ao centro (R) e as ventosas (V). H.E., 1000 x.

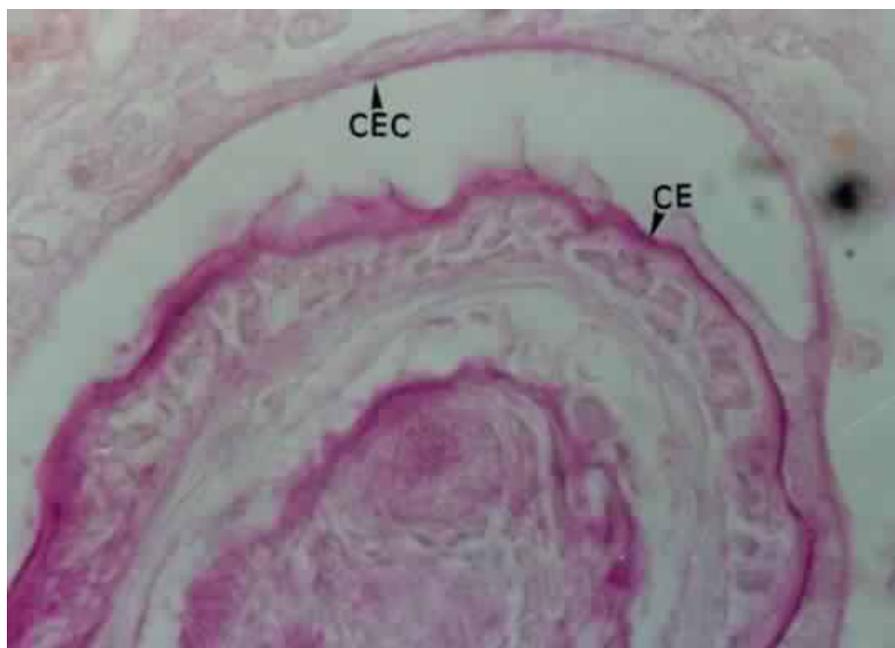


FIGURA 2. Fotomicrografia de cisticercóide de *Davainea proglo-ttina*. Notar a camada mais externa, própria do cisticercóide (CEC) e camada externa (CE). P.A.S., 1000 x.

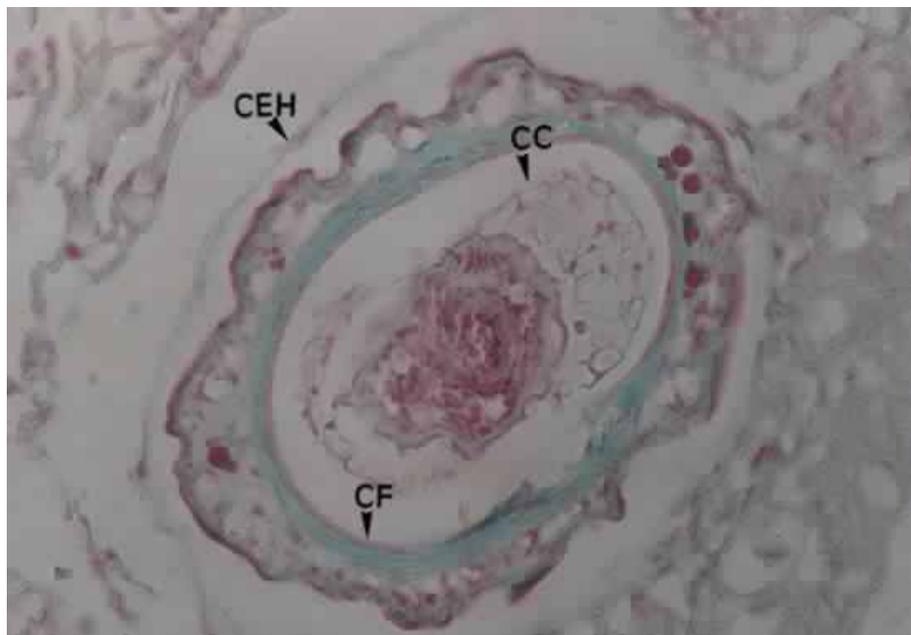


FIGURA 3. Fotomicrografia de cisticercóide de *Davainea proglo-ttina*. Notar a camada mais externa, resultante da reação do hospedeiro (CEH), a camada fibrosa interna (CF) e os corpúsculos calcários (CC). Tricrômio de Gomori, 400 x.

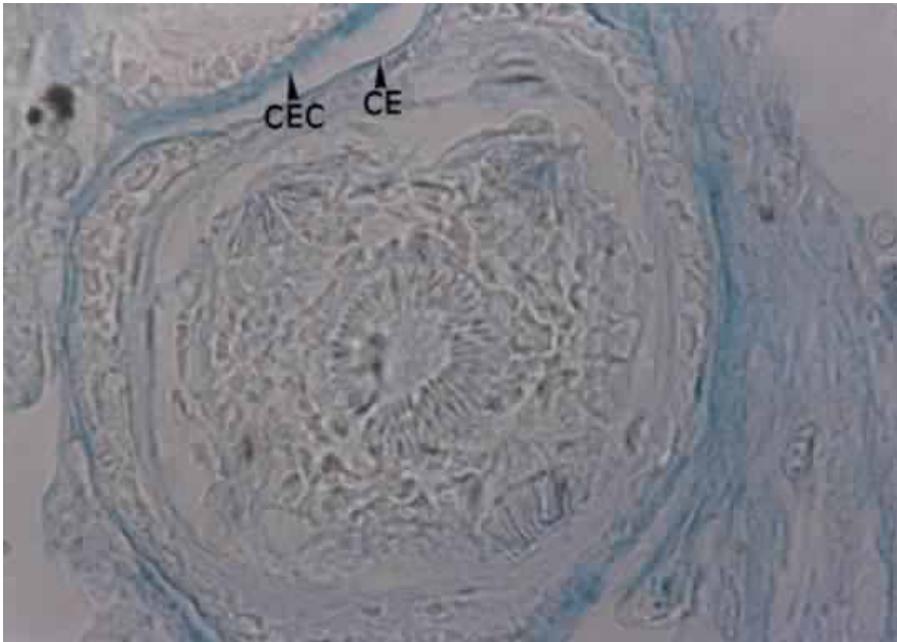


FIGURA 4. Fotomicrografia de cisticercóide de *Davainea proglo-ttina*. Notar a camada mais externa, própria do cisticercóide (CEC) e a camada externa (CE). Alcian Blue, 1000 x.

5. CONCLUSÕES

Diante destes resultados obtidos, concluimos que:

1. *Davainea proglottina* é um cestóide assinalado em *Gallus gallus* também no Estado do Rio de Janeiro.

2. *Deroceras sp.* é um hospedeiro intermediário, no Brasil, de *Davainea proglottina*.

3. Através de estudos histológicos e histoquímicos, verificou-se que o cisticercóide é composto de seis camadas, assim dispostas de fora para dentro: camada fibroconjuntiva própria do hospedeiro; camada fina, própria do cisticercóide; camada celular; membrana basal; camada conjuntiva e corpúsculos calcários.

4. *Subulina octona*, *Leptinaria unilamellata*, *Bradybaena similaris* e *Bulimulus tenuissimus*, frequentes nas áreas endêmicas da parasitose, foram negativos nas infecções experimentais.

5. Pela ausência de *Deroceras sp.* e a negatividade das espécies citadas acima, sugere-se a hipótese de outros moluscos atuarem como hospedeiros intermediários de *D. proglottina* em áreas onde o parasitismo é frequente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, A. H. 1956. Observations on the life cycle of *Davainea proglottina* in Britain. *J. Helmint.*, 30(4): 189-202.
- ABDOU, A. H. 1958. Studies on the development of *Davainea proglottina* in the intermediate host. *J. Parasit.*, 44: 484-488.
- ARAÚJO, J. L. B. 1982. Alguns moluscos terrestres como hospedeiros intermediários de parasitos de animais domésticos no Brasil: Estudos sobre anatomia, sistemática de participação em helmintoses. Tese de Doutorado - UFRRJ, 104 p.
- BAYON, H. P. 1933. "Recent advances in our knowledge of poultry diseases. Three lectures at the Imperial College of Science. Lecture I". *Vet. Rec.*, 13: 655-669.
- BISSET, N. 1928. Observations on *Davainea proglottina* in the domestic fowl, with a note on *Amoebotaenia sphenoids* V. Linstow. *Vet. Jour.*, 84: 19-32.
- BLANCHARD, R. 1891. "Notices helminthologiques (2 me. ser.) Sur les téniaqués a ventouses armées genres *Echynocotyle*, *Davainea*,

- Ophriocotyle*. *Mém. Soc. Zool. France*, 4: 420-489.
- BOFFI, A. V. 1979. Moluscos Brasileiros de Interesse Médico e Econômico. 182 pp. 191 figs. Hucitec ed.
- BONFATI, I. D. 1975. Histologia do manto de *Megalobulimulus* (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora, Megalobulimidae). *Boletim do Instituto de Ciências Biológicas e Geociências da UFJF*, 17: 1-36.
- BONFATI, I. D. 1980. Histologia do tubo digestivo de *Megalobulimus* (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora, Magalobulimidae). *Boletim do Instituto de Ciências Biológicas e Geociências da UFJF*, 28: 1-59.
- BURCH, J. B. 1960. Some snails and slugs of quarantine significance to the United States. *Sterkiana*, 2: 13-53.
- BURCH, J. B. 1982. Taxonomic and nomenclatural changes since 1960 in snails and slugs of quarantine significance to the United States. *Malacol. Rev.*, 15(1-2): 141-142.
- CHANDLER, A. C. 1923. Observations on the life cycle of *Davainea proglottina* in the United States. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 42: 144-147.
- COSTA, H. M. A.; GUIMARÃES, M. P.; LEITE, A. C. R. & LIMA, W. S. 1986. Distribuição de helmintos Parasitos de Animais Domésticos no Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 38(4): 465-579.
- DAVAINE, C. 1877. *Traité des Entozoaires et des maladies vermineuses da l'homme et des animaux domestiques*. J. B. 1003 p.

ilust. 2° ed. Paris, Libraire.

DUARTE, M. J. F. 1981. Helmintos Parasitas dos Animais Domésticos no Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(1): 67-98.

DUTRA, A. V. C. 1988. Aspectos da biologia e da reprodução de *Leptinaria unilamellata* (Orbigny, 1835). *Rev. Bras. Zool.*, 5 (4): 581-585.

DICK, T. A. & BURT, M. D. B. 1970. The life cycle and seasonal variation of *Davainea tetraoensis*. *Fuhrmann, 1919*, a cestode parasite of ruffed grouse *Bonasa umbellus* (L.). *Can. J. Zoo.*, 49: 109-119.

GETZ, L. L. 1959. Notes on the Ecology of Slugs: *Arion circumscriptus*, *Deroceras reticulatum* and *D. laeve*. *Am. Mid. Nat.*, 61 (2): 485-498.

GOMORI, G. 1950. A rapid one-step Trichrome stain. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 20(7): 661-664.

GRASSI, G. B. & ROVELLI, G. 1889. "Embryologische Forschungen an Cestodes". *Zbl. Bakt.*, 5: 370-377; 401-410.

HYMAN, L. H. 1967. The Invertebrates. Vol. VI. Mollusca. Mc. Graw-Hill Book Co. New York. 792 pp.

JONES, M. F. 1929. Report of cysticercoids of *Davainea proglottina* from four species of snails. *J. Parsit.*, 15: 223-224.

KALKUS, J. W. 1928. A preliminary note regarding the presence of

Davainea proglottina in Washington. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 73: 612-616.

KALYANKAR, S. D.; DESHMUKH, A. L. & VYAS, G. H. 1984. Revision of the genus *Davainea* Blanchard, 1891 (Cestoda: Davaineidae). *Rivista di Parasitologia*, 1(45): 407-409.

LEVINE, P. P. 1938a. Observations on the biology of the poultry cestode *Davainea proglottina* in the intestine of the host. *J. Parasit.*, 24: 423-431.

LEVINE, P. P. 1938b. The effect of infection with *Davainea proglottina* on the weights of growing chickens. *J. Parasit.*, 24:550-551.

MALEK, E. A. & CHENG, T. C. 1974. Medical and Economic Malacology. Academic Press. London. 398 pp.

MEGGITT, F. 1916. "A contribution to the knowledge of the tapeworms of fowls and sparrows". *Parasit.*, 8: 390-410.

MORRETES, F. L. 1949. Ensaio de Catálogo dos Moluscos do Brasil. *Arq. Mus. Paranaense, Curitiba*, 7: 5-216.

NEVEU-LEMAIRE, M. 1936. *Traité D'helminthologie Médicale et Vétérinaire*. Vigot Frères ed., Paris. x-xxiii + 1-1514 p. 787 fig.

PEREIRA, G. C. 1970. Contribuição ao estudo dos mucopolissacarídeos do epitélio da vesícula biliar do cobaio (*Cavia porcellus*) Tese de Mestrado. 53 pp. Rio de Janeiro.

PILSBRY, H. A. 1948. Land Mollusca of north America (North of Me-

- xico). *Mon. Acad. Nat. Sci. Philad.*, 3(2): xlvii + 1113 PP.
585 figs.
- REID, W. M. 1984. Cestodes. In: *Diseases of Poltry* (HOFSTAD, M. S., ed.). Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 649-67.
- SCOTT, M. I. H. 1945. Faunula malacologica de Tilcara. *Rev. do Museo de La Plata*, 4: 195-211.
- SOULSBY, E. J. L. 1965. *Textbook of Veterinary Clinical Parasitology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1119 p.
- STEPHENSON & KNUTSON, 1966. A Resumé of Recent studies of Invertebrate Associated with Slugs. *J. Econ. Entomol.*, 59(2): 356-360.
- WAITE, T. A. 1988. Huddling and postural adjustments in response to desiccating conditions in *Deroceras reticulatum* (Muller). *J. Moll. Stud.*, 54(2) 249-250.
- THIELE, J. 1931. *Handbuch der Systematischen Weichtierkunde*. 1: vi + 1-778, 783 figs. Jena.
- WALKER, G. 1970. The cytology, histochemistry, and ultrastructure of the cell types found in the digestive gland of the slug *Agriolimax reticulatus* (Muller). *Protoplasma*, 71: 91-109.
- WALKER, G. 1972. The digestive system of the slug *Agriolimax reticulatus* (Muller): Experiments on phagocytosis and nutrients absorption. *Proc. Malacol. Soc. London*, 40: 33-43.