

INTER-RELACIONAMENTO ENTRE O TREMATÓDEO DIGENÉTICO  
*Postharmostomum gallinum* WITENBERG, 1923 E  
O HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO *Bradybaena*  
*similaris* (FÉRUSSAC, 1821)

**JOSÉ CLECILDO BARRETO BEZERRA**

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

INTER-RELACIONAMENTO ENTRE O TREMATÓDEO DIGENÉTICO  
*Postharmostomum gallinum* WITENBERG, 1923 E  
O HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO *Bradybaena*  
*similaris* (FÉRUSSAC, 1821)

**JOSÉ CLECILDO BARRETO BEZERRA**

SOB A ORIENTAÇÃO DA PROFESSORA:

Dra. SUZANA BENCKE AMATO

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária - Área de Concentração em Parasitologia Veterinária

ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO

FEVEREIRO, 1989

**TÍTULO DA TESE**

**INTER-RELACIONAMENTO ENTRE O TREMATÓDEO DIGENÉTICO**

*Postharmostomum gallinum* WITENBERG, 1923 E

O HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO *Bradybaena*

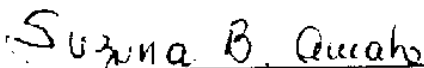
*similaris* (FÉRUSSAC, 1821)

**AUTOR**

**JOSÉ CLECILDO BARRETO BEZERRA**

APROVADA EM: 22/Fev./1989

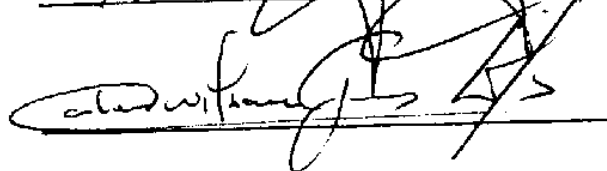
SUZANA B. AMATO

  
\_\_\_\_\_

PEDRO JURBERG

  
\_\_\_\_\_

CARLOS WILSON GOMES LOPES

  
\_\_\_\_\_

*Dedico*

*Ao Curso de Biologia da UFRRJ*

*e*

*Aos meus pais Reinando e Neuza  
e minha avó Virginia pelo  
estímulo na realização des-  
te trabalho.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Dra. SUZANA BENCKE AMATO, professora do Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. JOSÉ FELIPE RIBEIRO AMATO pelo ensino e orientação na Pesquisa Científica.

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária da UFRRJ, na pessoa do Professor Dr. NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE, pelo apoio recebido.

Ao Setor de Audio-visuais da Fundação Oswaldo Cruz pelas aulas de fotografias científicas.

Aos amigos do Curso que de alguma forma contribuíram para o fortalecimento e engrandecimento de nosso trabalho.

Ao Professor HUGO EDISON BARBOZA DE REZENDE e Professor JOSÉ LUIS DE BARROS ARAÚJO por incentivarem a área de moluscos ligados à parasitologia na UFRRJ.

Ao Conselho Nacional para a Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro

durante a realização do Curso.

## BIOGRAFIA

Ingressou no Curso de Licenciatura em Ciências, habilitação em Biologia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em 1982, formando-se em dezembro de 1985. Durante o curso de graduação foi estagiário na Área de Biologia, do Departamento de Biologia Animal, da UFRRJ, e a seguir Bolsista de Iniciação Científica do CNPq, durante dois anos, tendo sob a Orientação da Dra. Suzana B. Amato começado a trabalhar com a biologia do caramujo *Bradybaena similaria*.

Em maio de 1984, participou como membro da Mesa Redonda sobre "Iniciação Científica no Instituto de Biologia", durante o I Seminário de Pesquisas promovido pelo Instituto de Biologia, da UFRRJ.

Em 1985, cursou como aluno especial, as disciplinas Parasitologia I e Zoologia Médica e Parasitologia II, Ministradas na Área de Parasitologia, do Departamento de Biologia Animal, da UFRRJ.

Em 1988, se submeteu ao processo de seleção pleiteando

uma bolsa do Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) para realizar Curso de Doutorado na Alemanha Ocidental, tendo sido um dos selecionados para iniciar os estudos em 1989.



## CONTEÚDO

	Págs.
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	4
1. Taxionomia e distribuição geográfica de <i>B. similis</i> (Férussac, 1821)	4
2. Taxionomia de <i>P. gallinum</i> Witenberg, 1923	6
3. Relações biológicas entre <i>P. gallinum</i> e <i>B. similis</i>	6
MATERIAL E MÉTODOS	9
1. Coleta e manutenção dos hospedeiros	9
1.1. Hospedeiro intermediário - <i>B. similis</i>	9
1.2. Hospedeiro definitivo - <i>G. gallus</i>	10
2. Infecção experimental do hospedeiro definitivo	11
3. Identificação do parasito	12
4. Necropsias de <i>G. gallus</i> à procura de infecção natural de <i>P. gallinum</i>	13

	Págs.
5. Prevalência e intensidade de infecção das formas larvais de <i>P. gallinum</i> em <i>B. similaris</i>	13
6. Alterações causadas por <i>P. gallinum</i> em <i>B. similaris</i>	14
6.1. Taxa de mortalidade	14
6.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo	14
6.3. Análise histológica e histoquímica	15
7. Desenho e fotomicrografia	16
8. Análise estatística	16
<b>RESULTADOS</b>	<b>17</b>
1. Coleta e manutenção dos hospedeiros	17
2. <i>Postharmostomum gallinum</i> no hospedeiro definitivo	18
3. <i>Postharmostomum gallinum</i> no hospedeiro intermediário - prevalência e intensidade	20
4. Alterações causadas por <i>P. gallinum</i> em <i>B. similatis</i>	24
4.1. Taxa de mortalidade	24
4.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo	25
5. Análise histológica e histoquímica da interface <i>P. gallinum/B. similaris</i>	26
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>28</b>
1. Criação e manutenção de <i>B. similaris</i>	28

	Págs.
2. <i>Postharmostomum gallinum</i> no hospedeiro definitivo	29
3. <i>Postharmostomum gallinum</i> no hospedeiro intermediário - prevalência e intensidade	31
4. Alterações causadas por <i>P. gallinum</i> em <i>B. similaris</i>	36
4.1. Taxa de mortalidade	36
4.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo	37
5. Histologia e histoquímica de <i>B. similaris</i> e sua interface com <i>P. gallinum</i>	38
CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

## LISTA DE TABELAS

	Págs.
TABELA I. Infecção experimental de pintos ( <i>Gallus gallus</i> ) com diferentes doses de metacercárias de <i>Postharmostomum gallinum</i>	19
TABELA II. Dados mensais, de coletas de <i>Bradybaena similaris</i> , realizadas entre outubro de 1983 e setembro de 1988	21
TABELA III. Parasitismo natural de <i>Bradybaena similaris</i> por <i>Postharmostomum gallinum</i> , em uma amostra de 270 caramujos	23
TABELA IV. Número de mortos de <i>Bradybaena similaris</i> infectados e não-infectados durante os cinco anos de estudo	25

## LISTA DE FIGURAS

	Págs.
FIGURA 1. Terráreos utilizados para manutenção e criação de <i>Bradybaena similaris</i> em laboratório. Placas de Petri; caixas plásticas; aquários de vidro; caixa de acrílico; caixas de madeira	52
FIGURA 2. Terráreos maiores de cimento-amianto, com terra e comunidade vegetal estabelecida em seu interior	52
FIGURA 3. Coletas mensais de <i>Bradybaena similaris</i> , mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de <i>Postharmostomum gallinum</i> , no Ano I (1983-1984), Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais	53

FIGURA 4. Coletas mensais de *Bradybaena similis*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano II (1984-1985). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais

53

FIGURA 5. Coletas mensais de *Bradybaena similis*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano III (1985-1986). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais

54

FIGURA 6. Coletas mensais de *Bradybaena similis*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano IV (1986-1987). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais

54

- FIGURA 7. Coletas mensais de *Bradybaena similis*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano V (1987-1988). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais 55
- FIGURA 8. Intensidade média de infecção de *Postharmostomum gallinum* relacionados ao diâmetro da concha de *Bradybaena similis* 56
- FIGURA 9. Esporocisto (E) maduro de *Postharmostomum gallinum* na glândula digestiva de *Bradybaena similis* naturalmente infectadas. Notar parede única e cercárias (C) no seu interior. (100 X, Coloração carmim de Mayer) 57
- FIGURA 10. *Bradybaena similis* com infecção conjunta de esporocisto (E) de *Eurytrema coelomaticum* na glândula digestiva e metacercárias (M) de *Postharmostomum gallinum* na cavidade pericárdica. (151 X) 57
- FIGURA 11. Esporocistos (E) de *Eurytrema coelomaticum* retirados da glândula digestiva de *Bradybaena si-*

- milaris* com infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum* na cavidade pericárdica. (160 X, Coloração carmim de Mayer) 58
- FIGURA 12. Esporocitos (E) de *Eurytrema coelomaticum* com cercárias (C) no interior do endocisto (ED). (400 X, Coloração carmim de Mayer) 58
- FIGURA 13. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano I (1983-1984) 59
- FIGURA 14. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano II (1984-1985) 59
- FIGURA 15. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano III (1985-1986) 60



- FIGURA 16. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano IV (1986-1987) 60
- FIGURA 17. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano V (1987-1988) 61
- FIGURA 18. Cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* com infecção natural de metacercárias (ME) de *Postharmostomum gallinum*. Notar aurículo (A) e ventrículo (V). Contadas 94 metacercárias no seu interior. (400 X) 62
- FIGURA 19. Redução dos lóbulos do ovotestis de *Bradybaena similaris*, naturalmente infectadas por *Postharmostomum gallinum*. A. Ovotestis normal de *B. similares* não-infectada; B. Ovotestis reduzido de *B. similaris* com metacercárias de *Postharmostomum gallinum* na cavidade pericárdica. Diâmetro da concha do caramujo A media 13.4 mm e do caramujo B 14.0 mm. (80 X) 62

- FIGURA 20. Fotomicrografia de um corte histológico da glândula digestiva de *Bradybaena similaris* não-infectada. Notar nítido contorno celular, quantidades normais de grânulos no citoplasma (GC) e núcleos basais (N). (640 X, Coloração Hematoxilina-Eosina) 63
- FIGURA 21. Fotomicrografia de um corte histológico da glândula digestiva de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas com metacercárias na cavidade pericárdica. Notar ausência de contorno celular, grânulos no citoplasma (GC) em grandes quantidades e ausência de núcelos nas células acinares. (640 X, Coloração Hematoxilina-Eosina) 63
- FIGURA 22. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* não-infectada. Notar espessura da parede da cavidade pericárdica (P), ventrículo (V) e nefrídio (N). (100 X, Coloração Hematoxilina-Eosina) 64
- FIGURA 23. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* naturalmente infectada, com reação tecidual

ã presença da metacercária (M) de *Postharmostomum gallinum*. Notar projeção da parede em torno da metacercária (PP). (160 X, Coloração Hematoxilina-Eosina)

64

FIGURA 24. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similis* naturalmente infectada com metacercárias (M) de *Postharmostomum gallinum*, observando-se a presença de granulações (G) em seu interior. Parede da cavidade pericárdica (P), ventrículo (V) e nefrídio (N). (100 X, Coloração Hematoxilina-Eosina)

65

FIGURA 25. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similis*, infectada naturalmente com metacercárias de *Postharmostomum gallinum*. Evidencia-se o tegumento (T) da metacercária (M) e o envoltório (E) observado ao seu redor. (400 X, Coloração Hematoxilina-Eosina)

65

## RESUMO

O relacionamento entre *Postharmostomum gallinum* e *Bradybaena similaris* foi estudado com os seguintes objetivos: a) avaliar a prevalência e a intensidade de infecção do parasito no hospedeiro intermediário; b) analisar a existência, ou não, de correlação entre a intensidade de infecção e o tamanho do caramujo hospedeiro intermediário; c) avaliar as alterações causadas pelo parasito no hospedeiro intermediário. A manutenção dos caramujos *B. similaris* foi feita em terráneos de diversos tipos, visando encontrar o tipo mais adequado a esta espécie. Foram utilizados: caixas de plástico, placas de Petri, caixas de madeira, aquários de vidro, caixas de acrílico e caixas de cimento-amianto. As caixas de cimento-amianto nas quais foram plantadas uma pequena comunidade vegetal tiveram melhor resultado para criação e manutenção dos caramujos. Para confirmar a identificação das metacercárias encontradas na cavidade pericárdica de *B. similaris* foram feitas infecções experimentais em pintos da raça Leghorn com idade média de cinco dias. Os trematódeos cole-

tados dos cecos destas aves foram identificados como *Postharmostomum gallinum*. Um total de 7.103 *B. similaris* foram coletadas em hortas e jardins do bairro de Campo Grande, no município do Rio de Janeiro, e nos municípios de Paracambi e Itaguaí, RJ, entre outubro de 1983 e setembro de 1988. A prevalência de *P. gallinum* no estágio de metacercária em *B. similaris* foi calculada em 33,3% entre os 7.103 caramujos coletados. Uma amostra de 270 *B. similaris*, que haviam sido previamente identificadas como infectadas por transparência através da concha, foi dissecada e a prevalência de esporocistos de *P. gallinum* nesta amostra foi de 0,7%. A intensidade de infecção nesta amostra variou entre 1 e 94 metacercárias por cavidade pericárdica. Análise de correlação mostrou a inexistência de correlação entre o número de metacercárias presentes na cavidade pericárdica e o tamanho do caramujo. Ainda nesta amostra detectou-se infecção conjunta com metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica e esporocistos maduros de *Eurytrema coelomaticum* na glândula digestiva. A avaliação da taxa de mortalidade dos caramujos mantidos em laboratório foi feita através do teste estatístico da Tabela de Contingência e este indicou que a mortalidade estava relacionada à presença de metacercárias na cavidade pericárdica dos caramujos. A presença das larvas de *P. gallinum* em *B. similaris* provocou alterações nos ácinos da glândula digestiva, notando-se nos caramujos infectados que as células dos ácinos apresentavam núcleos picnóticos, não apresentavam contorno distinto, eram mais vacuolizadas e apresentavam maior quantidade de grânulos de secreção, do que as células dos caramujos não-infec-

tados. O ovotestis nos caramujos infectados apresentou lóbulos de menor tamanho, entretanto a análise histológica mostrou que a gametogênese foi preservada nestes caramujos. O revestimento da cavidade pericárdica dos caramujos infectados mostrou-se mais espesso em comparação ao dos não-infectados. Nos caramujos que apresentavam metacercárias na cavidade pericárdica observou-se vilosidades no epitélio que revestia a cavidade pericárdica. Com frequência observou-se que as metacercárias em alguns caramujos apresentavam uma coloração mais amarelada. Cortes histológicos revelaram a presença de uma camada uniforme homogênea, revestindo o tegumento destas metacercárias. Testes histoquímicos mostraram que esta camada não era celular e que era constituída de mucopolissacarídeo ácido.

## SUMMARY

The relationship between *Postharmostomum gallinum* and *Bradybaena similaris* was studied with the following objectives: a) to evaluate the prevalence and the intensity of infection in the snail host; b) to analyse if there was correlation between the intensity of infection and the size of the snail host; and c) to evaluate the alterations caused by the parasite in the intermediate host. The snails *B. similaris* were maintained in different types of terraria: plastic boxes, Petri dishes, wooden boxes, glass aquaria, acrylic boxes and cement boxes. In the cement boxes a small vegetal community was planted, and this type of terrarium showed to be the best for rearing the snails. To confirm the identification of the metacercaria found in *B. similaris* pericardial cavity, five days old Leghorn chick were experimentally infected. The trematodes collected from the ceca of these birds were identified as *P. gallinum*. A total of 7,103 *B. similaris* were collected from vegetable and flower gardens from Campo Grande suburb, Rio de Janeiro County and from the

Municipalities of Paracambi and Itaguaí, State of Rio de Janeiro, Brazil, between October 1983 and September 1988. The prevalence of *P. gallinum* as metacercariae in *B. similis* was calculated to be 33.3% among the 7,103 snails collected. A sample of 270 *B. similis*, which had been previously identified as infected by examination through the snail shell, was dissected and the prevalence of *P. gallinum* as sporocysts was found to be 0.7%. The intensity of infection varied between 1 and 94 metacercariae per pericardial cavity. Correlation analysis showed no correlation between the number of metacercariae present in the pericardial cavity and the snail size. Also in this sample it was found a concurrent infection with metacercariae of *P. gallinum* in the pericardial cavity and mature sporocysts of *Eurytrema coelomaticum* in the digestive gland. Evaluation of the snails mortality in the laboratory made through the statistic's Table of Contingency indicated the mortality being related to the presence of metacercariae in the snails pericardial cavity. The presence of *P. gallinum* larvae in *B. similis* caused alterations in the acinar cells of the digestive gland in the infected snails, when compared to non-infected ones, such as: the acinar cells had pycnotic nuclei, their outline could not be seen, there was an increase in cytoplasmic vacuoles and showed increased amount of secretions granules. The ovotestis of the infected snails showed smaller lobules than that of the non-infected, although histology showed that the gametogenesis was preserved in these snails. When metacercariae were present in the pericardial



cavity, the lining of this cavity was thicker and villosities were present. Frequently it could be seen metacercariae with a light yellowish color. Histology showed the presence of an uniform layer covering the tegument of these metacercariae. Histochemical tests showed that this layer was not cellular and that it had an acid mucopolysaccharide composition.

## INTRODUÇÃO

Os moluscos da espécie *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) pertencem à família Xanthonychidae Strebel & Pfeiffer, 1879. Esta espécie tem sido encontrada nos continentes Americano (FULLINGTON, 1975; HUBRICHT, 1963; JAUME et al., 1981; LOUREIRO, 1960), Europeu e Asiático (GERMAIN, 1929; KARABAEVA, 1976; PILSBRY, 1926; YANAGIHARA, 1930); e serve como hospedeiro intermediário de diversos helmintos de importância médico-veterinária.

Os trematódeos digenéticos da espécie *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923, pertencem à família Brachylaimidae e são parasitos de cecos intestinais de aves domésticas, principalmente galinhas caipiras, *Gallus gallus*.

ALICATA (1938a e 1940) foi o primeiro autor a citar *B. similaris* como hospedeiro intermediário de *P. gallinum*, no Havaí. DUARTE (1980) coletou *B. similaris*, naturalmente infectadas, em Lins de Vasconcelos e Campo Grande, Rio de Janeiro, RJ e estudando o ciclo biológico de *P. gallinum* no Brasil, demonstrou que *B. similaris* serve como primeiro e segundo hospedeiro intermediário.

rio para este helminto.

Durante o ciclo biológico, os ovos de *P. gallinum* vão ao exterior com as fezes do hospedeiro definitivo. Estes ovos são ingeridos pelo caramujo hospedeiro intermediário, *B. similis*. O miracício eclode na porção anterior do tubo digestivo deste hospedeiro, atravessa a parede do tubo digestivo, e o esporocisto irá se desenvolver na glândula digestiva. Após o amadurecimento de esporocisto as cercárias maduras saem e através do canal renopericárdico, irão para a cavidade pericárdica se desenvolver em metacercárias (ULMER, 1951); ou vão ao exterior através do pneumóstomo, penetrando no segundo hospedeiro intermediário, que pode ser outro espécime de *B. similis*, ou ainda, espécimes de outros moluscos terrestres como *Subulina octona*, *Bulimulus* sp. ou *Leptinaria* sp., conforme observações de DUARTE (1980). O ciclo se completa com a ingestão de caramujos contendo metacercárias, pelo hospedeiro definitivo. As metacercárias, no interior da ave, se liberam das partes moles do molusco ingerido e migram para os cecos intestinais, onde atingirão o estágio adulto.

Estudos sobre o relacionamento do molusco, hospedeiro intermediário, e os estágios larvais dos helmintos, vem sendo realizado por diversos pesquisadores estrangeiros, que entendem a Malacologia como importante área de estudos para o helmintologista. Isto é melhor notado quando o helmintologista se propõe a estudar ciclos biológicos que envolvam moluscos como hospedeiros intermediários, ou a epidemiologia do helminto, ou até mesmo, o controle de determinadas helmintoses. No caso dos digenéticos, os

moluscos sempre serão hospedeiros intermediários, e nos ciclos biológicos com mais de um hospedeiro intermediário, o primeiro hospedeiro será sempre um molusco.

No presente estudo sobre a relação de *P. gallinum* com seu hospedeiro *B. similis* foram estudados: prevalência e intensidade de infecção das formas larvais de *P. gallinum* em *B. similis* e as alterações causadas pelo parasito no molusco.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. TAXIONOMIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *B. similaris* (FÉRUS-SAC, 1821)

A espécie *B. similaris* segundo THIELE (1931) e BURCH (1982) tem como sinônimos *Helix similaris* Férussac & Deshayes, 1820/1850 e *Eulota similaris* Tryon & Pilsbry, 1894.

PILSBRY (1934) revisou o gênero *Bradybaena* Beck, 1837 e considerou *Fruticicola* Held como seu sinônimo. THIELE (1931) citou *Bradybaena* e o sinônimo *Eulotella* (Moussoun) Martens, 1891.

Esta espécie de molusco gastropode está incluída, segundo BURCH (1982), na família Xanthonychidae Strebel & Pfeiffer, 1879, tendo esta família como sinônimos Bradybaenidae Pilsbry, 1934 e Fruticolidade Lindholm, 1927.

PILSBRY (1926) fazendo uma revisão sobre os moluscos terrestres da Korea, assinalou a presença de *Eulota* sp.

GERMAIN (1929) realizou estudos sobre a fauna de moluscos da França e incluiu em sua lista a família Eulotidae, sinôni-

mo de Bradybaenidae.

YANAGIHARA (1930) e EMURA (1932) registraram *B. similis* no Japão.

PILSBRY (1934) registrou *B. similis* no material proveniente de uma expedição realizada na China e HAAS (1935) também registrou o gênero *Bradybaena* para este país.

HUBRICHT (1963) assinalou *B. similis* no Alabama, Mississippi e Louisiana (USA) e afirmou que breve esta espécie estaria dispersa por todo o território dos Estados Unidos da América do Norte.

OLIVEIRA et al. (1971) registraram a ocorrência no Brasil de *B. similis*.

FULLINGTON (1975) registrou o gastropode *B. similis* pela primeira vez no Estado do Texas, USA, e revelou que até o ano de sua publicação não havia sido estudado por nenhum pesquisador, o impacto ou dano da presença deste molusco na América do Norte.

KARABAEVA (1976) estudou a distribuição de moluscos da família Bradybaenidae na União Soviética.

DUNDEE & CINCIENNE (1978) registraram no Estado da Louisiana, USA, o grande número destes moluscos em plantações.

LEAHY (1980 e 1984) no Brasil, estudou aspectos da biologia de *B. similis*.

## 2. TAXIONOMIA DE *P. gallinum* WITENBERG, 1923

A espécie *P. gallinum* foi descrita por Witenberg e sua descrição foi publicada por SKRJABIN (1923). Alguns autores como JOYEUX & HOUEMER (1928), SINITSIN (1931), JOYEUX et al. (1934), PEREIRA & CUOCOLO (1939) e DEIANA & ARRU (1963) consideraram *P. commutatum* como sinônimo de *P. gallinum*. Enquanto TRAVASSOS (1928), SKRJABIN (1948) e YAMAGUTI (1958 e 1971) consideraram *P. gallinum* e *P. commutatum* como espécies diferentes. Outros sinônimos de *P. gallinum*, de acordo com YAMAGUTI (1971), são *Harmostomum horizawai* Ozaki, 1925, *H. (Postharmostomum) hawaiiensis* Guberlet, 1928, *H. momiyamai* Fukui et Ogata, 1938, *P. gallinum ulari* Kassimov, 1952, *P. waricum* Kurashvili, 1956.

A espécie *P. gallinum* está incluída na família Brachylaimidae Miller, 1936 e esta família tem como sinônimos Harmostomidae Odhner, 1912 e Brachylaemidae Joyeux & Foley, 1930.

## 3. RELAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE *P. gallinum* E *B. similaris*

SINITSIN (1931) caracterizou as fases larvais da família Harmostomidae (sinônimo de Brachylaimidae), e revelou aspectos do ciclo, discutindo a ausência do segundo hospedeiro intermediário, já que as fases larvais se desenvolviam no mesmo molusco, primeiro hospedeiro intermediário.

ALICATA (1938a) estudando o ciclo de *P. gallinum* fez o

primeiro registro na literatura de *Eulota similaris*, sinônimo de *B. similaris*, como hospedeiro intermediário, sob condições naturais. Este mesmo autor, em 1938b, descreveu a trajetória da larva deste helminto no molusco.

PEREIRA & CUOCOLO (1939) observaram que áreas que apresentavam moluscos infectados, com helmintos da família Brachylaimidae, dificilmente apresentavam a forma adulta destes helmintos em seus hospedeiros definitivos.

ALICATA (1940) publicou com detalhes o ciclo de *P. gallinum*. Criou moluscos terrestres, sob condições de laboratório, e realizou infecções em moluscos jovens, obtendo metacercárias a partir das cercárias oriundas de outros espécimes de *B. similaris*, demonstrando a troca do primeiro para o segundo hospedeiro intermediário.

ULMER (1951) estudou aspectos do ciclo biológico na subfamília Brachylaiminae.

JOE & NASEMARY (1973) e COLLEY et al. (1975) estudaram o hiperparasitismo do microsporídeo *Nosema eurytrema* em metacercárias de *P. gallinum*, localizadas na cavidade pericárdica de *B. similaris*.

NEWSOME et al. (1980) fizeram o primeiro registro de *P. gallinum* em perus na América do Norte.

DUARTE (1980) registrou, pela primeira vez, a ocorrência da espécie *P. gallinum* no Rio de Janeiro, estudando pela primeira vez o ciclo biológico de um representante da família Brachylaimidae no Brasil, com esta espécie. Des-



creveu aspectos biológicos e morfológicos das fases larvais e ainda registrou os moluscos *Leptinaria* e *Bulimulus* como segundo hospedeiro intermediário.

ZDARSKÁ & SOBOLEVA (1983) estudaram a ultraestrutura dos esporocistos de *P. gallinum* obtidos dos moluscos *Ponsadenia semenovi* (Martens, 1864) e *Monachoides candacharica* Pfeiff, 1846.

VIANNA et al. (1988) encontraram uma prevalência de 46,7% de *P. gallinum* em *B. similaris* coletadas no Vale do Paraíba, SP, e conseguiram infectar pintos utilizando cavidades pericárdicas contendo metacercárias de *P. gallinum*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. COLETA E MANUTENÇÃO DOS HOSPEDEIROS

#### 1.1. Hospedeiro intermediário - *B. similaris*

Durante cinco anos, entre outubro de 1983 e setembro de 1988, foram realizadas coletas de *B. similaris* em hortas e jardins nos bairros de Vila da Penha, Campo Grande, Santa Cruz, Jabour e Pedra de Guaratiba, no município do Rio de Janeiro, RJ; nos arredores do Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, município de Itaguaí, RJ; no município de Paracambi, RJ; e em Pindamonhangaba, SP.

Os exemplares de *B. similaris* após a coleta, foram levados para a Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz (E.P.P.W.O.N.) do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ. Durante o período em que o estudo foi desenvolvido, os moluscos coletados passaram por vários acondicionamentos, buscan-

do-se o melhor meio para sua manutenção. Foram utilizados como terráneos: a) caixa de plástico de 28 x 23 x 12 cm; b) placas de Petri de 15 cm de diâmetro x 3 cm de altura e 10 cm de diâmetro x 2 cm de altura; c) caixa de madeira de 52 x 50 x 30 cm; d) aquário de vidro de 55 x 30 x 30 cm; e) caixa de acrílico de 122 x 22 x 12 cm; f) caixa de amianto de 145 x 100 x 65 cm com tampa de plástico transparente no topo e nas laterais tela de nylon. Todos os terráneos foram preenchidos com dois a 10 cm de terra autoclavada, com exceção das placas de Petri, nas quais colocou-se apenas papel filtro ao fundo.

Nas caixas de cimento-amianto (f) foram plantadas mudas de samambaia, maracujá e bertália. Os adultos foram colocados em uma caixa e as posturas eram recolhidas e transferidas para outra caixa, com as mesmas condições com relação a terra e vegetação.

Os terráneos eram pulverizados com água diariamente, com auxílio de Pulverizador ideal spray, e a alimentação dos caramujos era constituída por folhas de alface, repolho e fatias de cenoura. O alface era trocado diariamente, enquanto o repolho e a cenoura eram trocados a cada dois dias.

## **1.2. Hospedeiro definitivo - *G. gallus***

Para infecção experimental, foram utilizados pintos da raça Leghorn com cinco a 15 dias de idade. Os pintos foram mantidos em gaiolas apropriadas na E.P.P.W.O.N. e alimentados com ração adequada. Antes de cada infecção os pintos foram submeti-

dos a exame coprológico dois a três dias antes da infecção.

## 2. INFECÇÃO EXPERIMENTAL DO HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Setenta e três exemplares de *B. similaris* foram dissecados e as metacercárias de *Postharmostomum* sp., localizadas na cavidade pericárdica destes moluscos foram retiradas, contadas e dadas via oral a 33 pintos, *G. gallus*.

Para infecção dos pintos formaram-se dois grupos: um grupo recebeu as metacercárias juntamente com as partes moles do caramujo, e neste caso o número de metacercárias foi avaliado por transparência através da parede da cavidade pericárdica, com auxílio de microscópio estereoscópico; e outro grupo recebeu uma dose de metacercárias sem adição de material do caramujo.

O procedimento para a coleta das metacercárias foi o seguinte: a concha do caramujo era medida, quebrada, as partes moles eram removidas e colocadas em placas de Petri com solução salina 0,85%, a cavidade pericárdica era aberta, e as metacercárias eram coletadas e reunidas em outra placa de Petri, contendo solução salina a 0,85%. As doses de metacercárias eram coletadas e reunidas em outra placa de Petri, contendo solução salina a 0,85%. A dose de metacercárias dada aos pintos variou entre 1 a 175 metacercárias por pinto.

Após a infecção os pintos foram submetidos a exames coprológicos, e com cerca de 28 dias pós-infecção foram necropsiados.

### 3. IDENTIFICAÇÃO DO PARASITO

Os trematódeos digenéticos coletados dos cecos intestinais dos pintos infectados experimentalmente, foram lavados em água destilada, comprimidos entre lâminas, e fixados com AFA (álcool 70% - 93 pts: formalina 37% - 5 pts: ácido acético glacial - 2 pts). Foram corados pelo carmim de Mayer (HUMASON, 1972) ou pela hematoxilina de Delafield (HUMASON, 1972), e montados entre lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá, seguindo a metodologia recomendada por AMATO (1985).

A identificação dos trematódeos adultos foi feita através de YAMAGUTI (1971) para identificação a nível de gênero, e SKRJABIN (1923) para identificação a nível de espécie.

As metacercárias após serem retiradas da cavidade pericárdica de *B. similaris*, foram comprimidas entre lâmina e lamínula, fixadas com AFA, e coradas com carmim de Mayer. O processamento foi idêntico ao realizado para fixação e coloração dos digenéticos adultos. As metacercárias, já identificadas através da infecção experimental dos pintos, foram também comparadas à descrição de DUARTE (1980) para metacercárias de *P. gallinum*.

Os esporocistos foram retirados com cuidado de glândula digestiva do molusco, passando pelo mesmo processo de coloração descrito anteriormente. Para identificação dos esporocistos foi utilizada a descrição feita por DUARTE (1980).

#### **4. NECROPSIAS DE *G. gallus* A PROCURA DE INFECÇÃO NATURAL DE *P. gallinum***

Foram realizadas 31 necropsias em galinhas caipiras adquiridas nas regiões próximas a alguns dos locais de coleta dos moluscos, em Campo Grande (Rio de Janeiro), Itaguaí e Paracambi, RJ, com objetivo de encontrar *P. gallinum* adulto.

#### **5. PREVALÊNCIA E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DAS FORMAS LARVAIS DE *P. gallinum* EM *B. similis***

Os caramujos *B. similis* ao chegarem ao laboratório, das diferentes áreas de coletas, eram examinados ao microscópio estereoscópico e separados em dois grupos, infectados e não-infectados.

Dados sobre a prevalência de metacercárias foram coletados durante os cinco anos de estudo.

Para avaliação da prevalência de infecção dos esporocistos de *P. gallinum*, na glândula digestiva de *B. similis*, foram dissecados 270 caramujos. Entre estes exemplares infectados com metacercárias na cavidade pericárdica, foi verificada a intensidade de infecção. Estes caramujos foram medidos, dissecados em solução salina 0,85%, e todas as metacercárias presentes em cada cavidade pericárdica, foram contadas e registradas. A intensidade de infecção foi relacionada ao diâmetro da concha do molusco através do teste estatístico de correlação.

## **6. ALTERAÇÕES CAUSADAS POR *P. gallinum* EM *B. similaris***

### **6.1. Taxa de mortalidade**

Os moluscos ao serem coletados, eram examinados com auxílio do microscópio estereoscópico, e por transparência através da concha, as metacercárias de *P. gallinum*, quando presentes, eram detectadas na cavidade pericárdica. Os moluscos eram separados em infectados e não-infectados, e mantidos em terrários, de acordo com a metodologia descrita no item 1. Diariamente, era feita a contagem e remoção dos mortos. Para avaliar o efeito do parasitismo sobre a biologia e manutenção dos caramujos em laboratório, utilizou-se a comparação da taxa de mortalidade entre os caramujos infectados e não-infectados, através do teste de  $\chi^2$ ,

### **6.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo**

Estudos macroscópicos foram realizados, para comparar danos e alterações provocados por *P. gallinum*. Foram observados nos caramujos, aspectos da glândula digestiva, ovotestis e cavidade pericárdica. Foram examinados espécimes livres de esporocistos na glândula digestiva e de metacercárias na cavidade pericárdica; espécimes livres de esporocistos e com metacercárias na cavidade pericárdica. Estas observações foram realizadas com auxílio de microscópio estereoscópico. Os moluscos comparados apresentavam tamanhos idênticos.

### 6.3. Análise histológica e histoquímica

Exemplares de *B. similaris* vivos eram deixados em placas de Petri sem contato com terra, por um período de três dias, com alimentação vegetal; a seguir a alimentação era retirada e os caramujos deixados em jejum por mais cinco dias. Os caramujos eram colocados vivos no fixador. Alguns sem a concha, outros com concha. Em alguns exemplares, apenas a cavidade foi dissecada e fixada para estudo histológico.

O processamento para histologia compreendeu as etapas de: fixação em Bouin (HUMASON, 1972), remoção do ácido pícrico, com trocas sucessivas, durante o período de três semanas, de etanol 70%; desidratação através da série alcoólica; diafanização em xilol; e inclusão em parafina. A espessura dos cortes variou entre 5 e 10  $\mu\text{m}$ . Os cortes foram corados com hematoxilina de Delafield (HUMASON, 1972) e eosina (HUMASON, 1972), para estudos morfológicos. Para estudos histoquímicos, a respeito do envoltório encontrado nas metacercárias, foram utilizadas as seguintes técnicas: Tricrômico de Masson (BEHMER et al., 1976), para evidenciação de fibras colágenas; Tricrômico de Gomori (BEHMER et al., 1976), para evidenciação de fibras reticulares e elásticas; Carmim de Best (BEHMER et al., 1976) para evidenciação de mucopolissacarídeos e PAS (BEHMER et al., 1976) (ácido periódico de Schiff) para evidenciação de mucopolissacarídeo neutros; Alcian Blue pH 2,5 (HUMASON, 1972) para caracterização de mucopolissacarídeo ácido e Nuclear Fast Red para evidenciação de núcleos, ve-



rificando a presença celular no envoltório (HUMASON, 1972).

## 7. DESENHO E FOTOMICROGRAFIA

Os desenhos foram realizados utilizando-se estereomicroscópio Carl Zeiss JENA, com câmara clara.

As fotomicrografias foram feitas em estereomicroscópio WILD com câmara fotográfica e Lente Makrozoom 1:5 e em microscópio óptico DIALUX 20 EB com câmara fotográfica.

## 8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para observações da causa mortis dos moluscos mantidos em laboratório, com as categorias infectados e não-infectados por metacercárias, empregou-se o Teste de  $X^2$  (Tabela de Contingência 2 x 2) (SPIEGEL, 1976).

Para avaliar a intensidade média de infecção das metacercárias de acordo com o tamanho de *B. similis* utilizou-se o Teste de Regressão Linear Simples (SPIEGEL, 1976).

Os testes foram realizados sob o nível de significância de 95%.

## RESULTADOS

### 1. COLETA E MANUTENÇÃO DOS HOSPEDEIROS

Um total de 7.103 *B. similis* foram coletados em hortas e jardins. Nos jardins eram encontrados, preferencialmente, sob vasos de plantas, em telhas velhas, próximos à parede das casas. Nas hortas, onde era cultivada alface cercadas por horte-lã, os caramujos foram encontrados em grande número nas laterais inclinadas das hortas, e em locais onde haviam plantações de bertalia.

A manutenção e criação dos moluscos em diferentes tipos de terráneos proporcionaram as seguintes observações:

a) nas caixas de plástico, obteve-se bom resultado, os caramujos efetuaram posturas e a taxa de mortalidade não foi alta, desde que o número de caramujos mantidos em cada caixa não excedesse a 50; em caixas com super lotação os caramujos morriam rapidamente; b) as placas de Petri, com papel de filtro umedecido, foram utilizadas principalmente para o acondicionamento de ovos

após a postura, mas não serviram como um bom criadouro; c) nos terráreos de madeira, aquários de vidro e terráreos de acrílico, como eram terráreos maiores, o resultado obtido foi bom, quando comparado ao obtido com os dos pequenos terráreos, nestes houveram maior número de posturas e maior eclodibilidade, mas não foram os melhores locais para criação de moluscos terrestres; d) na caixa de amianto, foi onde se obteve o melhor resultado de criação e manutenção de *B. similaris*, graças ao seu tamanho, e estabelecimento de uma pequena comunidade vegetal. Os terráreos são mostrados nas Figuras 1 e 2.

O repolho foi o alimento mais utilizado, uma vez que o processo de deteriorização neste vegetal era mais lento.

## **2. *Postharmostomum gallinum* NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO**

Os trematódeos digenéticos coletados dos cecos, das aves infectadas experimentalmente, foram identificados como *P. gallinum*.

Dos 33 pintos infectados experimentalmente, somente seis apresentaram em seus cecos *P. gallinum*, correspondente a uma percentagem de infecção de 18,2%.

A Tabela I mostra o resultado obtido na infecção experimental do hospedeiro definitivo. A partir do 24º dia pós-infecção foram detectados, ovos de *P. gallinum*, nos exames coprológicos das aves infectadas.

Dos 31 exemplares de *G. gallus*, provenientes de áreas

TABELA I. Infecção experimental de pintos (*Gallus gallus*) com diferentes doses de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*.

Hosp. def.	Dosagem das metacerc. <i>P. gallinum</i>			Nº Metacerc. utilizadas	Necropsia	
	Nº Caramujo	Com cavidade pericárdica	Apenas metacerc.		Dias pós-infecção	Nº <i>P. galli</i> num obtido
1	1	x	-	5	10*	0
2		x	-	5	38	0
3		x	-	5	75	0
4		x	-	4	57	0
5		-	x	8	22	0
6		-	x	12	33	0
7		-	x	7	33	0
8		-	x	70	33	0
9		-	x	7	33	0
10		-	x	5	33	0
11		-	x	10	33	0
12		-	x	1	30	0
13		-	x	14	39	0
14		-	x	1	32	0
15		-	x	12	30	0
16		-	x	5	32	0
17		-	x	10	32	0
18		-	x	18	30	0
19	2	x	-	4	29	2
20		-	x	27	33	1
21		-	x	25	39	20
22		-	x	40	10	0
23		-	x	83	30	1
24		-	x	7	32	0
25		-	x	34	30	0
26	3	x	-	15	24	3
27		-	x	51	30	0
28	4	-	x	128	30	0
29		-	x	21	8*	0
30	5	-	x	159	30	11
31	6	x	-	14	30	0
32	7	-	x	156	30	0
33	9	-	x	175	32	0

\* Necropsias realizadas antes do término do período pré-patente.

onde foram coletados caramujos *B. similaris* infectados com larvas de *P. gallinum* e que foram necropsiados, apenas um estava positivo e nesta ave encontrou-se um único exemplar *P. gallinum* adulto.

### **3. *Postharmostomum gallinum* NO HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO - PREVALÊNCIA E INTENSIDADE DE INFECÇÃO**

Um total de 7.103 espécimes de *B. similaris* foram coletados durante os cinco anos de estudo, e por transparência através da concha, detectou-se em 2.366 caramujos, metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica. A prevalência de *P. gallinum* no estágio de metacercária, em *B. similaris* foi calculada em 33,3%. A Tabela II e as Figuras 3, 4, 5, 6, 7, mostram os dados das coletas mensais de *B. similaris*, entre outubro de 1983 e setembro de 1989.

A Tabela III mostra o resultado das dissecações de 270 *B. similaris* retiradas ao acaso do grupo de caramujos identificados como infectados, logo após a coleta, pela presença de metacercárias livres na cavidade pericárdica. Entre estes caramujos, além das metacercárias foram encontradas também: a) esporocistos de *P. gallinum* na glândula digestiva de duas *B. similaris*, com uma prevalência de 0,74% na amostra examinada; b) esporocistos maduros de *E. coelomaticum* na glândula digestiva de 14 *B. similaris*, com uma prevalência de 5,18%, estes moluscos apresentavam metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica; c) cercárias

TABELA II. Dados mensais, das coletas de *Bradybaena similaris*, realizadas entre outubro de 1983 e setembro de 1988.

Mês	Ano I(83-84)			Ano II(84-85)			Ano III(85-86)			Ano IV(86-87)			Ano V(87-88)		
	Nº caram	Infec tados	Prevalência (%)	Nº caram.	Infec tados	Prevalência (%)	Nº caram.	Infec tados	Prevalência (%)	Nº caram.	Infec tados	Prevalência (%)	Nº caram.	Infec tados	Prevalência (%)
Out.	393	71	18,06	17	04	23,53	208	04	1,92	-	-	-	224	12	5,4
Nov.	84	49	58,33	92	92	100	900	391	43,44	-	-	-	487	0	0,0
Dez.	245	08	3,26	52	0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jan.	-	-	-	92	40	43,47	72	22	30,55	-	-	-	-	-	-
Fev.	124	68	54,83	33	00	0,0	-	-	-	24	24	100	516	0	0,0
Mar.	186	66	35,48	289	214	74,05	-	-	-	-	-	-	237	14	5,9
Abr.	117	77	65,81	-	-	-	73	73	100	96	19	19,80	-	-	-
Mai.	-	-	-	-	-	-	605	457	75,53	47	38	80,85	-	-	-
Jun.	11	11	100	-	-	-	-	-	-	150	0	0,0	35	33	94,3
Jul.	176	03	1,70	-	-	-	-	-	-	26	0	0,0	599	180	30,05
Ago.	91	22	24,17	119	73	61,34	-	-	-	-	-	-	80	23	28,75
Set.	58	39	67,24	-	-	-	264	221	83,71	179	0	0,0	102	18	17,65

de *P. gallinum*, na cavidade pericárdica de 16 *B. similaris* ou seja, 5,93% da amostra examinada.

A Tabela III mostra a intensidade de infecção dos 270 caramujos examinados, dentro das diferentes classes de tamanho. O teste estatístico de regressão linear simples mostrou que não existe correlação entre o tamanho da concha e o número de metacercárias presentes na cavidade pericárdica (Fig. 8).

As metacercárias, retiradas da cavidade pericárdica de *B. similaris* naturalmente infectadas, foram identificadas, através da infecção experimental em pintos, como sendo de *P. gallinum*.

Na amostra de 270 *B. similaris* dissecadas, encontrou-se: metacercárias na cavidade pericárdica destes moluscos, que já haviam sido previamente separados; esporocistos de *P. gallinum* na glândula digestiva; e esporocistos maduros de *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892) Looss, 1907, na glândula digestiva; e cercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica.

O esporocisto de *P. gallinum*, na Figura 9, apresentou uma forma enovelada, cor branca, com uma massa central de onde partiam ramos afilados, dentro dos quais se notavam as cercárias, e seu tegumento era fino e transparente.

Os esporocistos de *E. coelomaticum* se apresentavam bem desenvolvidos, com cercárias já formadas. Eram alongados, roliços, com uma porção mais dilatada, dentro do qual se concentravam as cercárias, envolvidas por uma membrana fina, o endocisto. Apresentavam uma coloração esbranquiçada, seu tegumento era es-

TABELA III. Parasitismo natural de *Bradybaena similaris* por *Postharmostomum gallinum*, em uma amostra de 270 caramujos.

Diâmetro da concha (mm)	Nº caram. examinados	Nº metacercárias/caramujo	Nº médio metacerc.
4	1	3	3,0
5	2	3, 3	3,0
6	2	3*, 13	8,0
7	4	3+, 4, 5, 8	5,0
8	13	1, 1, 1, 2*, 2, 4, 4, 5, 5, 8 <sup>Δ</sup> , 9, 13, 15	5,4
9	15	1, 1, 1, 2, 3, 3, 4, 6, 10, 11, 12, 13, 15, 15+, 22+	7,9
10	24	1, 1, 1, 1, 1, 1, 2, 2, 2, 3, 3, 4 <sup>Δ</sup> , 4, 4, 5, 5, 5, 7, 8, 12, 18, 30, 35, 52	8,6
11	58	1, 1, 1, 1, 2, 2, 2, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 4, 4, 4, 5, 5, 5, 5 <sup>Δ</sup> , 5 <sup>Δ</sup> , 5+, 5, 6, 6, 6, 6, 6, 7, 8, 9, 9, 9, 9, 9, 10, 11, 11, 11+, 12, 12, 13+, 14+, 14, 15+, 15, 15, 18 <sup>Δ</sup> , 19, 19, 21, 22, 23, 25+, 33, 36, 36, 38, 47, 50	12,0
12	78	1, 1, 1, 1, 1, 2 <sup>Δ</sup> , 2, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 3, 4, 4, 5 <sup>Δ</sup> , 5, 5, 5 <sup>Δ</sup> , 5, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 7 <sup>Δ</sup> , 7, 7, 7, 8, 9, 9, 9, 9, 9 <sup>Δ</sup> , 10, 10+, 11, 12, 12, 12, 13, 14, 14, 15, 15, 15, 16+, 16, 19, 19, 20, 21+, 21, 23, 24, 25, 25, 27, 27, 29+, 32, 35, 37, 38, 39, 47, 47, 53, 59, 60+, 66, 94 <sup>Δ</sup>	16,0
13	31	1, 1, 1, 1, 2, 3, 4, 4, 4, 4, 5, 7, 7, 7, 8, 9, 10 <sup>Δ</sup> , 10, 10, 12, 14, 14, 14, 15 <sup>Δ</sup> , 20, 20, 21, 34, 39, 46+, 50 91	15,6
14	32	1, 1, 2 <sup>Δ</sup> , 2, 2, 3, 3, 4, 4, 4, 4, 5, 5, 5, 5, 6, 6, 7, 7, 8, 9, 9, 9, 10, 10, 10, 11, 14, 16, 20, 23, 30, 83+	10,4
15	8	1, 1, 3, 5, 7, 8, 9, 32	8,3
16	2	1, 14	7,5

\* Além das metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica, apresentava esporocistos de *P. gallinum* na glândula digestiva.

+ Metacercárias e cercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica.

Δ Além das metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica tinha esporocisto de *Eurytrema coelomaticum* na glândula digestiva.



peço e pouco transparente (Figs. 10, 11 e 12).

As cercárias que foram encontradas dentro da cavidade pericárdica, distinguiam-se das metacercárias por seu tamanho pequeno, por sua forma alongada, mais afilada posteriormente e por apresentarem mais movimento do que as metacercárias.

Na amostra dissecada, os caramujos que apresentaram cercárias na cavidade pericárdica, não apresentaram esporocistos, na glândula digestiva.

Durante as dissecações, quando a cavidade pericárdica era aberta, notou-se que algumas metacercárias apresentavam uma coloração levemente amarelada e pareciam menos transparentes, enquanto outras eram mais transparentes, não tinham a opacidade acima referida, e apresentavam mais movimento.

#### **4. ALTERAÇÕES CAUSADAS POR *P. gallinum* EM *B. similaris***

##### **4.1. Taxa de mortalidade**

Dados sobre a mortalidade dos caramujos, coletados durante cinco anos de estudos (Figs. 13, 14, 15, 16, 17) mostraram que os índices de mortalidade registrados entre caramujos infectados e não-infectados, analisados através do Teste de  $X^2$  (Qui-Quadrado), mostraram que o índice de mortalidade era dependente de infecção, encontrando-se  $X^2 = 216$  (GL = 1 e  $\alpha = 5\%$ ), altamente significativo (Tab. IV).

TABELA IV. Número de mortos de *Bradybaena similaris* infectados e não-infectados durante os cinco anos de estudo.

Caramujo	Não infectado	Infectado	Total
Vivos	2.061	605	2.666
Mortos	2.676	1.761	4.437
Total	4.737	2.366	7.103

$$\chi^2_c = 216,0.$$

$$\chi^2_t = 3,84.$$

$$\alpha = 5\%.$$

#### 4.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo

Considerando a rota de migração e a localização dos estágios larvais de *P. gallinum* no hospedeiro *B. similaris*, não foram observadas alterações na glândula digestiva, mas o ovotestis e a parede da cavidade pericárdica mostraram alterações devido ao parasitismo.

Com relação à cavidade pericárdica, os caramujos infectados com metacercárias apresentavam a parede da cavidade pericárdica espessa, com papilas, enquanto nos caramujos não-infectados a parede era fina e transparente. Quando o número de metacercárias era elevado, notava-se, no seu interior uma massa pardo-a-

marelada. A Figura 18, mostra a cavidade pericárdica de um exemplar de *B. similaris* que continha 94 metacercárias de *P. gallinum*. Este molusco antes de ser dissecado foi observado durante algum tempo sob estereomicroscópio e pode-se notar que o ritmo cardíaco estava bastante lento, como se o animal estivesse moribundo.

Comparando o ovotestis de espécimes naturalmente infectados, com metacercárias na cavidade pericárdica, com o de espécimes não-infectados, de tamanho similar, observou-se redução no tamanho deste órgão e no número de lóbulos, nos caramujos infectados (Fig. 19).

## **5. ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA INTERFACE *P. gallinum*/ *B. similaris***

A Figura 20 mostra um corte histológico de parte da glândula digestiva de um exemplar de *B. similaris* não-infectado. As células apresentam contorno nítido, com núcleos em posição basal, com a vacuolização normal, e presença de grânulos no interior do citoplasma. A Figura 21 mostra um corte histológico da glândula digestiva de um caramujo identificado como infectado, pela presença de metacercárias na cavidade pericárdica, notando-se alterações nas células acinares, com perda do contorno celular, ausência de núcleos, aumento acentuado na quantidade de grânulos no citoplasma e uma maior vacuolização.

Com relação à cavidade pericárdica, observou-se através

dos cortes histológicos, que caramujos não-infectados apresentavam uma parede fina revestindo a cavidade pericárdica (Fig. 22). Caramujos que continham metacercárias na cavidade pericárdica mostraram as seguintes alterações: a) parede mais espessa, com papilas internas; b) reação celular da parede da cavidade pericárdica, parecendo englobar a metacercária (Fig. 23); c) várias aglomerações celulares no interior da cavidade pericárdica relacionando-se aos grânulos observados na macroscopia (Fig. 24); d) presença de envoltório em torno do tegumento da metacercária, com evidências de não estar fortemente aderido a este tegumento (Fig. 25).

Os testes histoquímicos realizados nos cortes que continham metacercárias apresentaram o seguinte resultado: a) negativo para o Tricrômico de Masson, Tricrômico de Gomori e Nuclear Fast Red; b) positivo para o Carmim Best e PAS evidenciando a presença de mucopolissacarídeos; c) positivo para Alcian Blue pH 2,5 evidenciando a presença de mucopolissacarídeo ácido.

## DISCUSSÃO

### 1. CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE *B. similaris*

Dos vários tipos de terráreos utilizados para a manutenção e criação dos caramujos, as caixas de amianto (Fig. 2) apresentaram o melhor resultado. Nestes terráreos acredita-se que influíram o tamanho, oferecendo proporcionalmente uma maior área por caramujo; melhor condição de circulação do ar (oxigenação); e a manutenção da umidade que foi beneficiada com estabelecimento da pequena comunidade vegetal.

LOUREIRO (1960) recomenda um número médio de 30 *B. similaris*, em terráreos de 50 x 30 x 25 cm. Nas caixas de amianto, de tamanho bem maior (145 x 100 x 65 cm) mantiveram-se com sucesso entre 100 e 150 caramujos por caixa. Por outro lado a manutenção dos caramujos nestas caixas de amianto torna mais difícil a observação e coleta de dados sobre postura e eclosão. Em terráreos feitos em caixa de plástico, com tamanho de 28 x 23 x 12 cm, pode-se manter cerca de 50 caramujos, com uma

taxa de mortalidade um pouco mais elevada, mas com melhor acesso a dados sobre postura e eclodibilidade.

## **2. *Postharmostomum gallinum* NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO**

Analisando os dados da Tabela I, nota-se que dos 33 pintos infectados experimentalmente, apenas 6 adquiriram infecção (18,2%), um número baixo, quando comparado ao resultado obtido por VIANNA et al. (1988). Estes autores infectaram quatro pintos com "câmara cardíacas" de *B. similaris* e do molusco *Bulimulus tenuissimus*, 15 câmaras por pinto, recuperando *P. gallinum* adultos nas quatro aves utilizadas, ou seja, 1, 184, 1, 54 helmintos, respectivamente. Entretanto no seu trabalho VIANNA et al. (op. cit.) não mencionam o número de metacercárias estimado por cavidade pericárdica, e a recuperação de 54 e de 184 *P. gallinum* destes pintos infectados experimentalmente, está muitíssimo acima da intensidade de infecção encontrada no presente estudo, e também por outros autores como PEREIRA & CUOCOLO (1939) e DUARTE (1980). PEREIRA & CUOCOLO (op. cit.) discutem a prevalência extremamente baixa de *P. gallinum* em aves, das regiões onde são coletados caramujos infectados com metacercárias, concluindo que este helminto atinge a maturidade sexual em curto período de tempo e deve ter um período de vida curto, no hospedeiro definitivo. Outra observação de PEREIRA & CUOCOLO (1939) refere-se à uniformidade quanto ao desenvolvimento dos helmintos, os quais se apresentam em lotes homogêneos, sugerindo que o recrutamento tenha ocorrido

a um só tempo. O único espécime *G. gallus*, entre os que foram coletados das regiões onde existiam caramujos naturalmente infectados, que apresentou *P. gallinum* nos cecos intestinais, tinha apenas um exemplar deste helminto, não nos permitindo conclusões sobre o recrutamento. DUARTE (1980) também relatou intensidade de infecção bem mais baixas do que as de VIANNA et al. (1988). O número mais elevado de *P. gallinum* coletado em uma das infecções experimentais realizadas por DUARTE (op. cit.), foi 48, entretanto este pinto havia ingerido 30 caramujos infectados, ou seja, o dobro da dose utilizada por VIANNA et al. (1988). DUARTE (1980) também não menciona o número de metacercárias estimado por cavidade pericárdica.

Analisando-se o resultado obtido nas infecções experimentais, com relação à ingestão das metacercárias envoltas pelo tecido da câmara pericárdica ou sem tecido algum do caramujo, não se pode afirmar com segurança qual o melhor método, pois entre os seis pintos infectados, dois foram infectados com metacercárias envoltas pela câmara cardíaca, e quatro com metacercárias sem tecido algum do hospedeiro. Quanto ao número de metacercárias presentes por dose, pode-se dizer que não é necessário um grande número de metacercárias para que se obtenha sucesso na infecção, já que o pinto número 19 foi infectado com quatro metacercárias e recuperou-se dois helmintos adultos, ou seja 50%, enquanto o pinto número 23, foi infectado com 83 metacercárias e recuperou-se apenas um helminto adulto, como pode ser observado na Tabela I.

### 3. *Postharmostomum gallinum* NO HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO - PREVALÊNCIA E INTENSIDADE DE INFECÇÃO

Existem registros de prevalências bastante mais elevadas de *Postharmostomum* em estágio de metacercária, no caramujo hospedeiro intermediário, do que os 33,3% de *P. gallinum* em *B. similis* calculados no presente estudo. ALICATA (1940) coletou 100 caramujos *Eulota similis* em uma área endêmica para *P. gallinum* em Honolulu, Hawaii, e 95% destes apresentaram metacercárias na cavidade pericárdica. ULMER (1951) registrou prevalências entre 88 e 93% de *P. heliciis* nas 6.116 *Anguispira alternata* examinadas. A amostragem de ULMER (op. cit.) pode ser comparada em número de caramujos examinados, com os 7.103 *B. similis* examinadas no presente trabalho. DUARTE (1980), que trabalhou com *B. similis* coletadas no município do Rio de Janeiro, RJ, encontrou uma prevalência de *P. gallinum* de 100%, em uma amostragem de 100 caramujos. VIANNA et al. (1988) encontraram *P. gallinum* em 46,7% dos 1.280 *B. similis* e em 60% dos 195 *Bulimulus tenuissimus* examinados. A prevalência que mais se aproxima aos 33,3% do presente trabalho, foi a encontrada por CANARIS (1963), que registrou 36%, dos 60 caramujos *Limicolaria nortensiana* examinados, infectados com metacercárias de *Postharmostomum* sp. Apesar de haver bastante variação com relação à prevalência no estágio de metacercárias, todos estes autores encontraram prevalências baixas no estágio de esporocisto. ALICATA (1940) encontrou esporocisto em 2% dos caramujos *E. similis* examinados. ULMER (1951) en-



controu esporocistos e cercárias em 1,1% dos caramujos examinados. DUARTE (1980) registrou uma prevalência de 20% para o estágio de esporocisto. VIANNA et al. (1988) não registraram números com relação à infecção com esporocisto, mas mencionaram que foram poucos os caramujos que apresentaram esporocistos. CANARIS (1963) encontrou esporocistos em 13% dos caramujos examinados. Estas referências suportam o que foi visto neste estudo, onde a prevalência de esporocistos em 270 *B. similis* dissecadas foi de 0,7%.

ALICATA (1940) foi o primeiro autor a chamar a atenção para a necessidade de dois hospedeiros intermediários no ciclo biológico de *P. gallinum*, propondo inclusive a via de migração intramolusco das cercárias. De acordo com este autor, as cercárias deixariam os esporocistos e o corpo do caramujo, podendo tornar a penetrar no mesmo hospedeiro, ou em outro caramujo de mesma espécie, e alcançariam a cavidade pericárdica pela abertura renal, que se abre na base da cavidade paleal. ULMER (1951) descreveu o acesso de *P. helix* ao segundo hospedeiro intermediário, e a rota através da qual as cercárias atingem a cavidade pericárdica de *A. alternata*, concordando com a observação de ALICATA (1940) que descreveu a entrada da cercária via abertura renal. As cercárias migrariam através do ureter, entrando na câmara renal e através da conexão reno-pericárdica, alcançariam a cavidade pericárdica. A necessidade que as cercárias têm de abandonar o caramujo que serve de primeiro hospedeiro intermediário pode ser evidenciada na Tabela III,

quando se observa que os 16 caramujos *B. similaris* que apresentaram cercárias na cavidade pericárdica, juntamente com cercárias bem desenvolvidas, não apresentaram esporocistos de *P. gallinum* na glândula digestiva. Como, morfologicamente, estas formas larvais pequenas encontradas na cavidade pericárdica destes caramujos eram muito mais semelhantes às cercárias do que às metacercárias, e não existiam esporocistos no mesmo hospedeiro, elas necessariamente deviam ter recém chegado à cavidade pericárdica, vindas de outro caramujo. ULMER (1951) chama a estas formas que, no presente trabalho, caracterizam-se por cercárias, de metacercárias uma vez que elas já atingiram o local de desenvolvimento normal, no segundo hospedeiro intermediário. Por esta razão, o número destas larvas jovens foi computado juntamente com as metacercárias mais desenvolvidas na Tabela III. Outro ponto que deve ser ressaltado com relação às metacercárias de *P. gallinum* em *B. similaris* é que nos 270 caramujos dissecados, exceção aos 16 que apresentaram formas jovens, semelhantes à cercária, na cavidade pericárdica, nos demais 254 caramujos encontrou-se uma uniformidade marcante no tamanho e estágio de desenvolvimento das metacercárias, demonstrando que seu recrutamento aconteceu em uma mesma época (Fig. 18).

DUARTE (1980) observou a migração de cercárias de *P. gallinum* em *B. similaris* para *Subulina octona* e para *Bulimulus* sp., duas outras espécies de caramujos terrestres encontradas no mesmo ambiente de *B. similaris*. SINITSIN (1931) e ALICATA (1940) já haviam discutido sobre a necessidade de trocar de caramujo pa-

ra dar continuidade ao ciclo biológico. DUARTE (Op. cit.) concluiu, baseada nos resultados obtidos com as infecções experimentais, que *B. similaris* era o principal hospedeiro intermediário de *P. gallinum*, e que *S. octona* e *Bulimulus* sp., podem servir como segundo hospedeiro intermediário.

A Tabela III e a Figura 8, mostram intensidade de infecção, ou seja, o número de metacercárias por cavidade pericárdica. A intensidade de infecção variou entre uma e 94 metacercárias por cavidade pericárdica. ALICATA (1940) encontrou como número máximo, 48 metacercárias de *P. gallinum* em uma cavidade pericárdica de *B. similaris*. ULMER (1950) encontrou até 83 metacercárias de *P. helicis* por cavidade pericárdica de *A. alternata*. Nos caramujos examinados por DUARTE (1980) a intensidade de infecção variou entre 5 e 77 metacercárias por cavidade pericárdica.

Um fato bastante interessante que foi testemunhado neste estudo foi a infecção conjunta de metacercárias de *P. gallinum*, na cavidade pericárdica, e esporocistos maduros de *E. coelomaticum* na glândula digestiva do mesmo hospedeiro. O caramujo *B. similaris* foi anteriormente registrado como hospedeiro intermediário deste helminto por TANG & TANG (1977), MATTOS Jr. & VIANNA (1987) e SAKAMOTO et al. (1980). Como os esporocistos destes dois trematódeos são semelhantes em forma, os esporocistos de *E. coelomaticum* podem ser confundidos com os de *P. gallinum*.

Os esporocistos de *P. gallinum* formam uma massa esbranquiçada com ramos delicados, que estão presos a um corpo central. Estes quando comparados com os esporocistos maduros de *E.*

*coelomaticum*, apresentam-se menores, mais delicados e com um tegumento fino e transparente. A Figura 11 mostra parte de um esporocisto maduro de *E. coelomaticum*, ele tem a forma alongada, mas não está preso a um corpo central.

Quando fixados e corados, nota-se que os esporocistos de *P. gallinum* apresentam um envoltório único um tegumento fino, que envolve as cercárias. Já os esporocistos maduros de *E. coelomaticum* apresentam um envoltório espesso e abaixo deste, nota-se a presença de um segundo envoltório, semelhante a uma membrana fina (Fig. 12), é o endocisto, que irá envolver as cercárias no interior do esporocisto. AMATO & SANTA ROSA (1982) descreveram a ultra-estrutura da parede do esporocisto expelido de *E. coelomaticum*. Esta diferença em relação à espessura do tegumento dos esporocistos de *P. gallinum* e *E. coelomaticum* está relacionada às estratégias de transmissão que são diferentes, nestes dois helmintos. O esporocisto de *P. gallinum* nunca abandona o caramujo primeiro hospedeiro intermediário, mas são as cercárias que ganham acesso ao exterior e vão infectar o segundo hospedeiro intermediário ou migram no interior deste hospedeiro até a cavidade pericárdica. Em *E. coelomaticum*, o esporocisto maduro é expelido do primeiro hospedeiro intermediário, levando dentro dele um grupo de cercárias maduras que irão infectar o segundo hospedeiro intermediário, quando este ingerir o esporocisto. Portanto até que aconteça o contato com o próximo hospedeiro, os esporocistos de *E. coelomaticum* ficam expostos, na vegetação, e o tegumento mais espesso e o endocisto, irão pro-

teger as cercárias contra dessecação.

RAGUSA & CAMPOS (1976) identificaram *B. similaris* como hospedeiro intermediário de *E. coelomaticum*, ao encontrarem metacercárias livres na cavidade pericárdica destes caramujos, como sendo formas larvais de *E. coelomaticum*. Observando-se as fotografias publicadas por estes autores, pode-se constatar que as formas larvais por eles encontradas eram, na verdade, metacercárias de *P. gallinum*. RAGUSA & CAMPOS (op. cit.) não identificaram o estágio larval que encontraram, referindo-se a ele como "formas larvais". Estes autores podem também ter testemunhado, sem saber, infecção conjunta de *P. gallinum* na cavidade pericárdica e *E. coelomaticum* na glândula digestiva.

#### **4. ALTERAÇÕES CAUSADAS POR *P. gallinum* EM *B. similaris***

##### **4.1. Taxa de mortalidade**

A dependência da infecção como fator maior na causa mortis de *B. similaris* infectadas, concorda com as observações realizadas por autores que trabalharam com outras espécies de moluscos. OLIVIER et al. (1954) registrou *Biomphalaria glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* com índice de mortalidade maior, quando comparados com moluscos em condições ambientais desfavoráveis. JAMES (1965) trabalhou com *Littorina saxatilis* e acrescentou que os danos causados aos moluscos pela presença dos parasitos, podem levá-lo à morte, mas irão depender da

natureza do parasito e tempo de infecção.

#### **4.2. Alterações anatômicas causadas pelo parasitismo**

De acordo com KENDALL (1949) caramujos parasitados raramente exibem sinais externos da infecção. WRIGHT (1966) fez uma revisão extensa sobre as alterações causadas por helmintos nos moluscos hospedeiros intermediários, incluindo além da patogenicidade, alterações com relação ao crescimento, potencial de reprodução, comportamento e mortalidade. Durante as dissecações de *B. similaris*, notou-se o espessamento acentuado da parede da cavidade pericárdica, nos caramujos que apresentavam metacercárias neste órgão, e o revestimento interno desta parede apresentava pequenas papilas em forma de botão. Inicialmente estas papilas foram consideradas como tendo sido provocadas pelas ventosas das metacercárias, entretanto a observação dos cortes histológicos deste órgão, não suporta esta idéia. As papilas correspondem às vilosidades evidenciadas nos cortes histológicos. O espessamento da parede está sendo interpretado como uma reação do hospedeiro à presença das metacercárias, as quais quando em número elevado dificultam os batimentos cardíacos. A intensidade da infecção irá determinar o grau de alteração, ou a extensão dos danos causados ao hospedeiro.

Com relação à redução do tamanho do ovotestis dos caramujos infectados (Fig. 19) pode-se pensar que *P. gallinun* esteja reduzindo o potencial reprodutivo de *B. similaris* GAR-

NAULT (1889) foi o primeiro autor a referir o fenômeno da castração parasitária causada pelas larvas dos trematódeos, inibindo a reprodução do molusco hospedeiro intermediário. Segundo UZMAN (1953) os esporocistos impedem o desenvolvimento das gônadas, bloqueando ou absorvendo substâncias necessárias ao desenvolvimento deste órgão. Entretanto, nos terráneos onde estavam os caramujos infectados, foram observados posturas periódicas.

## **5. HISTOLOGIA E HISTOQUÍMICA DE *B. similaris* E SUA INTERFACE COM *P. gallinum***

A histopatologia de caramujos infectados com larvas de helmintos, tem atraído a atenção de diversos pesquisadores, e inúmeros são os registros sobre este tópico. Entre os trabalhos pioneiros estão os de FAUST (1920) e de AGERSBORG (1924). As alterações observadas nas células dos ácinos da glândula digestiva dos exemplares de *B. similaris* que continham metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica, se assemelham as alterações descritas por AGERSBORG (op. cit.) em *Physa gyrina* (Say), *Lymnaea obrussa* (Say) e *Planorbis trivolvis* (Say) infectadas com larvas de trematódeos. Segundo AGERSBORG as células do hospedeiro respondem à infecção através de produção de secreções citológicas, que ele considerou como tendo origem no núcleo, passando ao citoplasma e sendo lançadas nos espaços intercelulares. Comparando-se corte histológicos de caramujos infectados e caramujos não-infectados com *P. gallinum*, a quantidade

de grânulos citoplasmáticos presentes nas células acinares dos caramujos infectados era bem maior, chegando a chamar a atenção do observador. Estes grânulos apresentavam uma coloração amarelada, e não coraram em presença de hematoxilina.

WRIGHT (1966) na revisão sobre a patogênese dos helmintos nos moluscos, chama atenção para a degeneração epitelial dos túbulos da glândula digestiva e para as alterações sofridas pelos núcleos destas células que além de mudarem sua posição basal para distal, degeneram, tornam-se picnóticos e desaparecem. A análise comparativa entre cortes histológicos de glândulas digestivas de *B. similis* infectadas com larvas de *P. gallinum*, mostrou também o desaparecimento dos núcleos basais nas células acinares dos caramujos infectados.

A observação sobre a redução do tamanho do ovotestis das *B. similis* infectadas com *P. gallinum* chamou atenção para a possibilidade deste helminto estar provocando uma castração parasitária. O exame dos cortes histológicos, entretanto, mostrou que a gametogênese estava preservada mesmo nos caramujos que apresentavam um grande número de metacercárias na cavidade pericárdica. Portanto, apesar de provocar uma redução em tamanho do ovotestis, *P. gallinum* não castra a *B. similis* PAN (1965) também observou produção de ovos em *Biomphalaria glabrata* infectadas com *Schistosoma mansoni*.

A presença das metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica de *B. similis* provocou um espessamento na parede que reveste esta cavidade, dificultando o funcionamento deste ór-



gão. LEE & CHENG (1970) observaram diferenças significativas no funcionamento cardíaco de *B. glabrata* parasitada por *S. mansoni*.

O resultado da análise histoquímica sobre a constituição do envoltório observado nas metacercárias, negativo para os tricrômico de Masson e de Gomori, bem como para o "Nuclear Fast Red", demonstrou que este envoltório não era celular e não apresentava fibras. O resultado positivo encontrado nas colorações com PAS indicou a presença de mucopolissacarídeo, e o resultado positivo com o Alcian Blue pH 2,5 mostrou ainda ser um mucopolissacarídeo ácido. BAKKE (1980) revisando a família Leucochloridiidae, estressou a importância de considerar-se as características dos estágios larvais. Em seu trabalho BAKKE menciona a presença de um revestimento mucóide nas metacercárias dos gêneros *Urotocus* Looss, *Leucochloridium* Carus e *Neoleucochloridium* Kagan, e a ausência deste revestimento no gênero *Urogonimus* Monticelli. Discutindo o trabalho de SCHMIDT (1965) in BAKKE (1980) este autor chama a atenção para o relacionamento entre as famílias Brachylaimidae e Leucochloridiidae e que *Urogonimus* teria uma posição intermediária entre estas duas famílias. A constatação da presença de um envoltório em *P. gallinum*, que foi histoquimicamente identificado como tendo constituição mucopolissacarídica, vem somar às observações feitas por SCHMIDT in BAKKE (op. cit.).

## CONCLUSÕES

1. Entre os diferentes tipos de terráneos utilizados para a manutenção e criação dos caramujos *B. similaris*, foram as caixas de cimento-amianto que continham uma comunidade vegetal composta por samambaias e hortaliças, que apresentaram o melhor resultado.

2. Em espécimes de *B. similaris* que continham esporocistos de *P. gallinum* na glândula digestiva e metacercárias na cavidade pericárdica, não foram encontradas cercárias na cavidade pericárdica. Quando foram encontradas cercárias na cavidade pericárdica não haviam esporocistos na glândula digestiva do caramujo. Estas observações indicam que *P. gallinum* utiliza dois caramujos durante o seu desenvolvimento.

3. A constatação da infecção conjunta, com metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica e esporocistos de *E. coelomaticum* na glândula digestiva de *B. similaris*, demonstrou a ausência de antagonismo entre estes helmintos no hospedeiro intermediário.

4. O aumento da taxa de mortalidade de *B. similaris* mantidas em laboratório, foi provocado pela presença das metacercárias de *P. gallinum* na cavidade pericárdica do caramujo.

5. O espessamento da parede da cavidade pericárdica, a diminuição dos folículos do ovotestis, e a perda do contorno celular, bem como o desaparecimento dos núcleos basais e o aumento dos grânulos de secreção das células acinares da glândula digestiva foram alterações observadas em *B. similaris* infectadas com *P. gallinum* sendo portanto atribuídas ao parasitismo.

6. O envoltório observado ao redor das metacercárias de *P. gallinum* foi identificado histoquimicamente como sendo acelular e de constituição mucopolissacarídica ácida, concluindo-se que ele era produto de secreção da própria metacercária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGERSBORG, H.P.K. 1924. Studies on the effect of parasitism upon the tissues. I. With special reference to certain gasteropod molluscs. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 68:361-401.
- ALICATA, J.E. 1938a. The land-snail an intermediate host of the cecae fluke of poultry. *Science*, 88(2277):129.
- ALICATA, J.E. 1938b. Life history of the cecal fluke, *Postharmostomum gallinum*, of poultry. *Journal of Parasitology*, 24 (6):29.
- ALICATA, J.E. 1940. The life cycle of *Postharmostomum gallinum* the cecal fluke of poultry. *Journal of Parasitology*, 26(2): 135-143.
- AMATO, J.F.R. 1985. Platelminhos (Temnocefálidos, Trematódeos, Cestóides, Cestodários e Acantocéfalos). *In: Manual de Técnicas para Preparação de Coleções Zoológicas*, Sociedade Bra-

sileira de Zoologia, São Paulo, 1-11.

AMATO, S.B. & SANTA ROSA, M.R. 1982. Ultra-estrutura do esporocisto expelido de *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet) Looss, 1907. *Resumos do VII Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia*, Porto Alegre, RS.

BAKKE, T.A. 1980. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835. *Systematic Parasitology*, 1(3/4):189-202.

BEHMER, O.A.; CASTRO DE TOLOSA, E.M. & FREITAS NETO, A.G. 1976. *Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica*. Edart. Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo, 241 p.

BURCH, J.B. 1982. Taxonomic and nomenclatural changes since 1960 in snails and slugs of quarantine significance to the United States. *Malacological Review*, 15(1-2):141-142.

CANARIS, A.G. 1963. *Postharmostomum* sp. Witenberg, 1923 (Brachylaemidae, Trematoda) in land snails from Uganda, East Africa. *Journal of Parasitology*, 49(5):26.

COLLEY, F.C.; LIM, H.K. & LIE, K.J. 1975. *Nosema eurytremae* Canning, 1972 in heart tissue of the land snail *Bradybaena similis*. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 6(1):142-143.

- DEIANA, S. & ARRU, E. 1963. Il ciclo biologico di *Postharmostomum commutatum* (Dies, 1858) ricostruito sperimentalmente in Sardegna. *Rivista di Parassitologia*, 24(3):163-177.
- DUARTE, M.J.F. 1980. O ciclo evolutivo de *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Trematoda, Brachylaemidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 40 (4) : 793-809.
- DUNDEE, D.S. & CANCIENNE, E.A. 1978. Louisiana citrus being damaged by snails. *Nautilus*, 92(1):55-56.
- EMURA, S. 1932. The life history of *Bradybaena similaris stimpsoni*. *Venus* (The Japanese Journal of Malacology), 3(2):72-91.
- FAUST, E.C. 1920. Pathological changes in the gasteropod liver produced by fluke infection. *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, 31(349):78-84.
- FULLINGTON, R.W. 1975. Asiatic land snail new to Texas, *Bradybaena similaris* Férussac. *Southwestern Naturalist*, 20(2):287.
- GARNAULT, P. 1889. La castration parasitaire chez *Helix aspersa*. *Bulletin Scientifique de la France Belgique*, 2(1-4):137-142.
- GERMAIN, L. 1929. Los Helicidae de la faune française. *Archives du Muséum National d'Histoire Lyon*, 13:1-484.
- HAAS, F. 1935. Kleine Bemerkungen IV. *Archiv für Molluskenkunde*, 67(1):45-47.

- HUBRICHT, L. 1963. New localities for *Bradybaena similaris*. *Nautilus*, 76:152.
- HUMASON, G.L. 1972. *Animal Tissue Techniques*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, U.S.A., 641 p.
- JAMES, B.L. 1965. The effects of parasitism by larval Digenea on the digestive gland of the intertidal prosobranch *Littorina saxatilis* (Olivi) subsp. *Tenebrosa* (Montagee). *Parasitology*, 55(1):93-115.
- JAUME, M.L.; PUGA, G.P. & AGUIAR, P.H. 1981. *Bradybaena similaris*: *Angiostrongylus cantonensis* intermediate host in Cuba. *Revista Cubana Medicina Tropical*, 33(3):207-209.
- JOE, L.K. & NASEMARY, M. 1973. Transmission of *Nosema eurytremae* (Microsporida: Nosematidae) to various trematode larvae. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 41:109-117.
- JOYEUX, C. & HOUEMER, E. 1928. Recherches sur le faune helminthologique de l'Indochine (Cestodes et Trématodes). *Annales de Parasitologie*, 6:27-58.
- JOYEUX, C.; BAER, J.G. & TIMON-DAVID, J. 1934. Recherches sur les trématodes du genre *Brachylaemus* Dujardin (syn. *Harmostomum* Braun). *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, 68:385-418.

- KARABAEVA, C.D. 1976. On the vertical distribution of molluscs (Bradybaenidae, Helicidae) in the Zailyskii Alatau. *Biologiya Geo Alma Ata*, 1973(8):104-109.
- KENDALL, S.B. 1949. Nutricional factors affecting the rate of development of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea truncatula*. *Journal of Helminthology*, 24(1/2):63-74.
- LEAHY, W.M. 1980. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. *Boletim de Fisiologia Animal, Univ. S. Paulo*, 5:131-138.
- LEAHY, W.M. 1984. Reprodução do *Bradybaena similaris*: características de comportamento e anatomofuncional. *Ciência e Cultura*, 36(8):1389-1392.
- LEE, F.O. & CHENG, T.C. 1970. Increased heart rate in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 16:148-149.
- LOUREIRO, M.C. 1960. Manutenção de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) em terráneos. *Revista Ceres*, 62(11):60-63.
- MATTOS Jr., D.G. & VIANNA, S.S.S. 1987. O *Eurytrema coelomaticum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) no Brasil. *Arquivos Fluminenses de Medicina Veterinária*, 2(1):3-7.



- NEWSOME, A.L.; BAFUNDO, K.W. & WILHELM, W.E. 1980. First Report of *Postharmostomum gallinum* from North America. *Journal of Parasitology*, 66(5):864.
- OLIVEIRA, M.P.; VIEIRA, I. & OLIVEIRA, M.H.R. 1971. Comunicacion Malacologica N°. 6 sobre *Bradybaena similaris* Férussac (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora, Fruticicolidae) copula y funcionamiento del oviducto durante el formacion del Huevo. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay*, 3 (21):155-161.
- OLIVIER, L.; BARBOSA, F.S. & COELHO, M.V. 1954. The influence of infection with *Schistosoma mansoni* on survival of *Australorbis glabratus*. *Publicações avulsas. Instituto Aggeu Magalhães*, 3:63-71.
- PAN, C.T. 1965. Studies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14:931-976.
- PEREIRA, C. & CUOCOLO. 1939. A propósito de *Postharmostomum commutatum* (Diesing, 1858). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, 10:73-86.
- PILSBRY, H.A. 1926. Review of the land Molluska of Korea. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 78: 453-475.

- PILSBRY, H.A. 1934. The land snail names of Beck and Held, with special reference to *Bradybaena* and *Fruticicola*. Proceedings of the Malacological Society of London, 21(2):147-148.
- RAGUSA, A.L. & CAMPOS, M.S. 1976. Identificação do hospedeiro intermediário de *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1882) Looss, 1907, (Trematoda, Dicrocoeliidae), em fazendas de criação de bovinos no Estado de São Paulo - Brasil. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 13(1):269-287.
- SAKAMOTO, T.; KONO, I.; YASAUDA, N. & YAMAUCHI, C. 1980. Studies on *Eurytrema coelomaticum*. I. Preliminary observations on the biological characters of *E. coelomaticum*. Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 16(25):83-92.
- SCHMIDT, R. 1965. Zur Kenntnis der Trematodenlarven aus Landmollusken. I. Der Entwicklungszyklus von *Urogenimus macrostomus* (Rudolphi, 1803) (Trematoda: Digenea: Leucochloridiidae). Zeitschrift für Parasitenkunde, 26:1-17.
- SINITSIN, D. 1931. Studien Über die phylogenie der trematoden. V. Revision of Harmostominae in the light of new facts from their morphology and life history. Zeitschrift für Parasitenkunde, 3(4):786-835.
- SKRJABIN, K.I. 1923. Trematoden der Hausvögel. Trudy Gosudarstvennogo Instituta Eksperimental'noi Veterinari. 1(2):193-256.

- SKRJABIN, K.I. 1948. *Trematodi Zhivotnikhi Cheloveka*, Vol. 2. 295 figs. Akademiya Nauk SSSR, ed. Moscou, 600 p.
- SPIEGEL, M.R. 1976. *Estatística*. McGraw-Hill do Brasil Ltda. ed., São Paulo, Brasil, 580 p.
- TANG, Z. & TANG, C. 1977. The biology and epidemiology of *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892) and *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) in cattle and sheep in China. *Acta Zoologica Sinica*. 23(3):267-282.
- THIELE, J. 1931. *Handbuch der Systematischen Weichtierkunde* 1: VI + 1-778, 783 figs. Jena.
- TRAVASSOS, L. 1928. Fauna helmintológica de Mato Grosso, (Trematódeos - 1a. parte). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 21(2):309-341.
- ULMER, M.J. 1950. A new secondary intermediate host for *Postharmostomum helicis* (Trematoda: Brachylaemidae). *Journal of Parasitology*, 36(6):20.
- ULMER, M.J. 1951. *Postharmostomum helicis* (Leidy, 1847) Robinson, 1949 (Trematoda), its life history and a revision of the subfamilia Brachylaeminae. *Transactions of American Microscopical Society*, 70(3):189-238.
- UZMANN, O.R. 1953. *Cercaria milfordensis* nov. sp., a microcercous trematode larva from the marine bivalve, *Mytilus edulis*

L. with special reference to its effect on the host. *Journal of Parasitology*, 39(4):445-451.

VIANNA, S.S.S.; MATTOS Jr., D.G. & TORTELLY, R. 1988. *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923 (Trematoda: Brachylaemidae) no Vale do Paraíba, SP: Ocorrência nos hospedeiros intermediários. *Arquivos Fluminenses de Medicina Veterinária*, 3(1): 5-8.

WRIGHT, C.A. 1966. The Pathogenesis of Helminths in Mollusca. *Helmintological Abstracts*, 35(3):207-224.

YAMAGUTI, S. 1958. *Systema Helminthum. I. The Digenetic Trematodes of Vertebrates*. Parts I and II. Interscience, New York. 1575 p.

YAMAGUTI, S. 1971. *Synopsis of digenetic Trematodes of Vertebrates* Vols. I and II. Keigaku Publishing Company, Tokyo, 1800 p.

YANAGIHARA, M. 1930. Notes the enjurions Pulmonata Gasteropods of sugar cane in Formosa. *Transactions of the Natural History Society of Formosa*, 20(106):14-18.

ZDÁRSKÁ, Z. & SOBOLEVA, T.N. 1983. Electro microscope observations of the sporocyst of *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923 (Brachylaimidae). *Folia Parasitologica*, 32(3): 227-230.

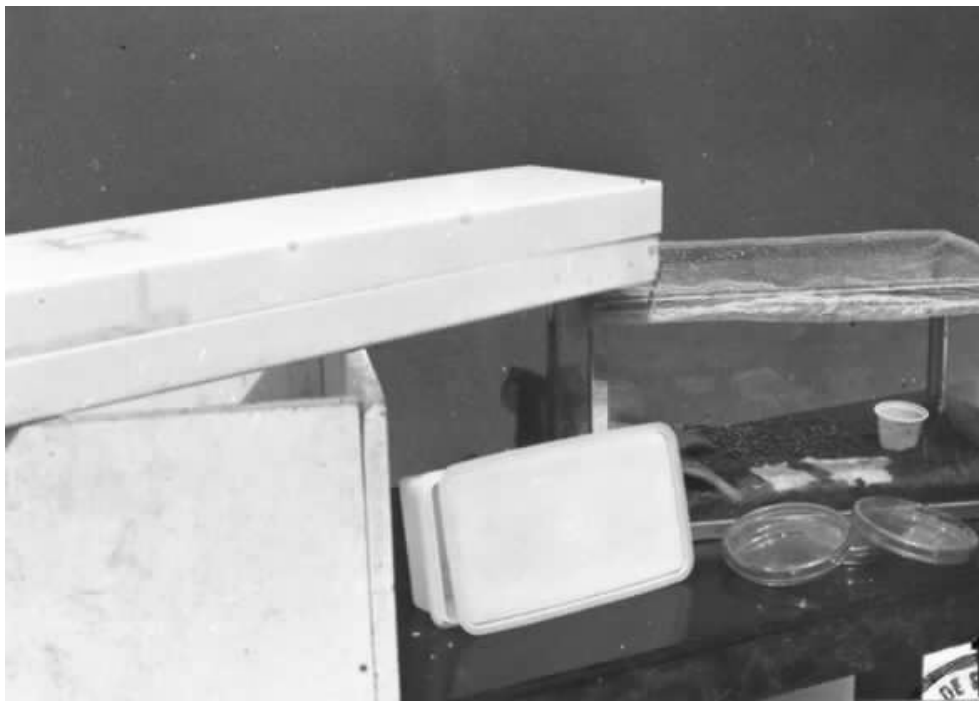


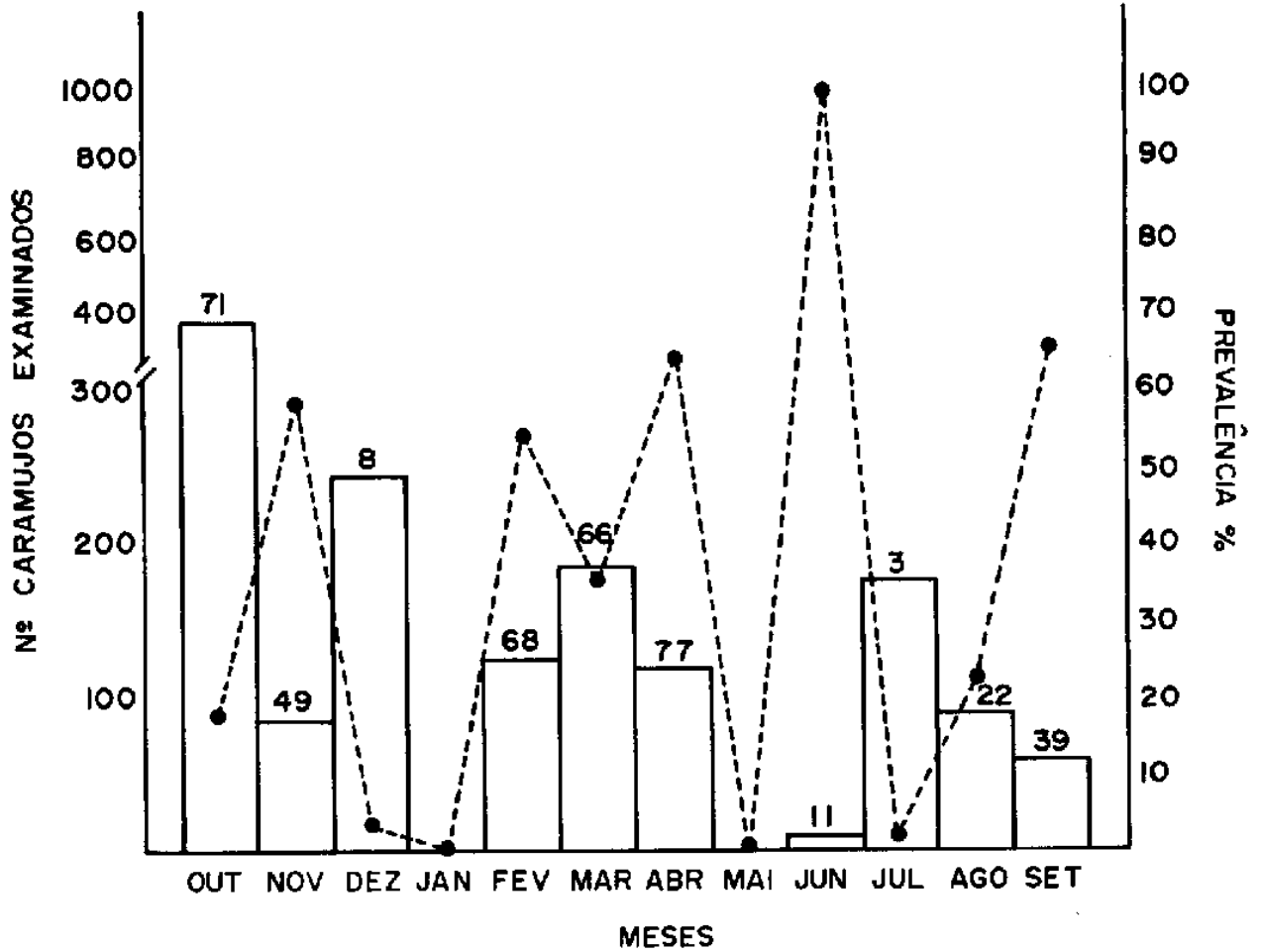
FIGURA 1. Terráreos utilizados para manutenção e criação de *Bradybaena similaris* em laboratório. Placas de Petri; caixas plásticas; aquários de vidro; caixa de acrílico; caixas de madeira.



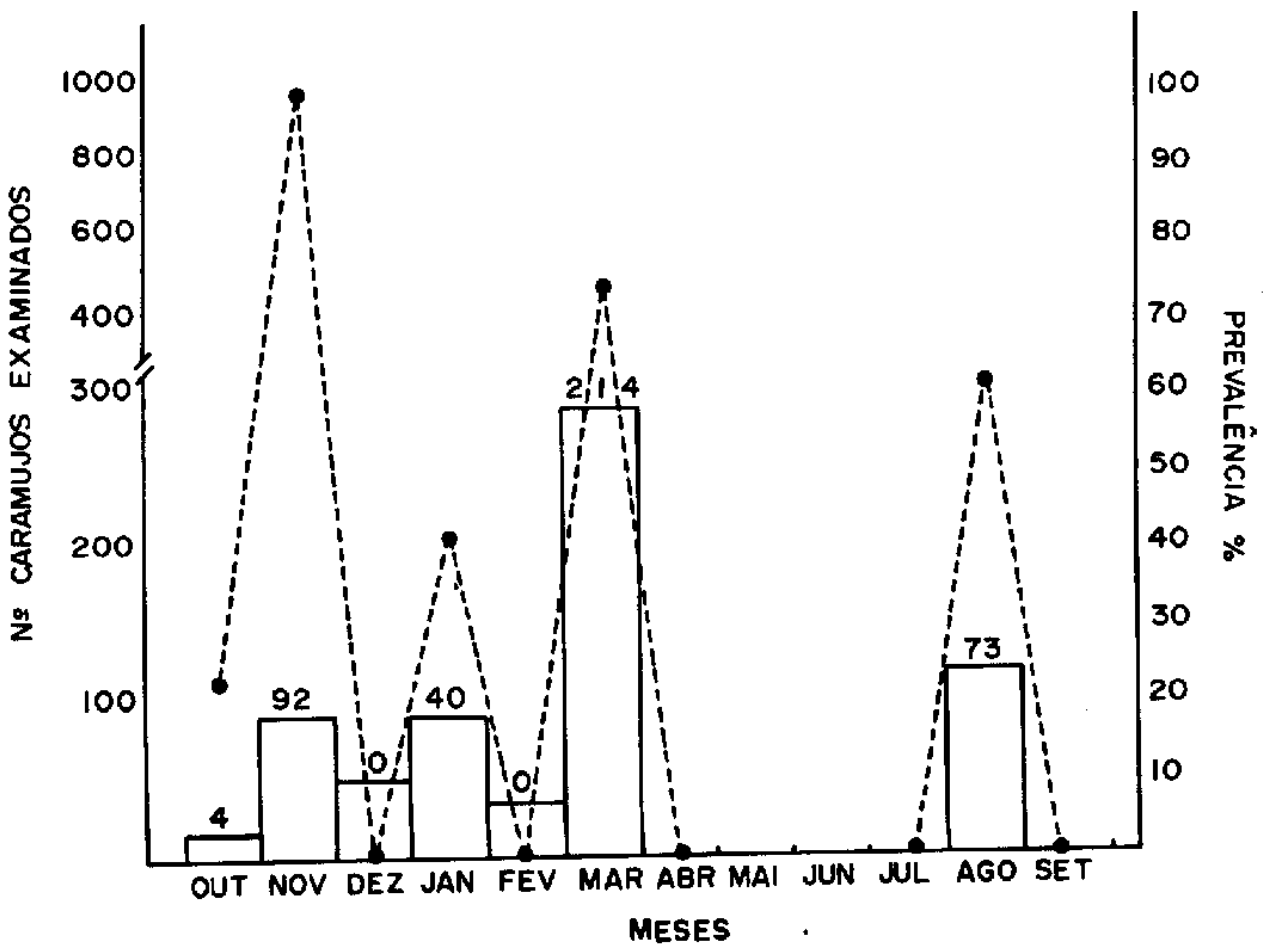
FIGURA 2. Terráreos maiores de cimento-amianto, com terra e comunidade vegetal estabelecida em seu interior.

FIGURA 3. Coletas mensais de *Bradybaena similaris*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano I (1983-1984). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais.

FIGURA 4. Coletas mensais de *Bradybaena similaris*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano II (1984-1985). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais.



3

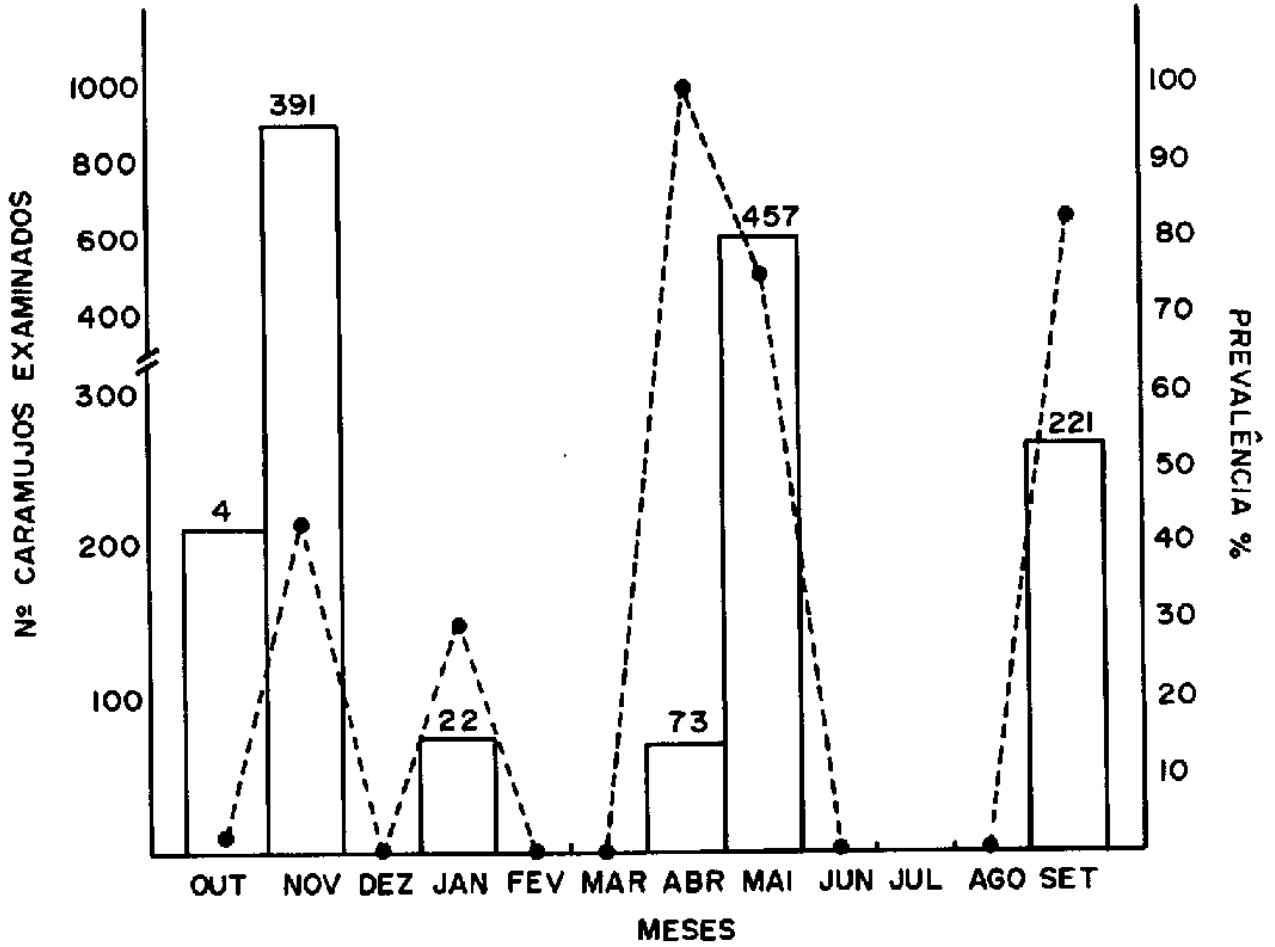


4

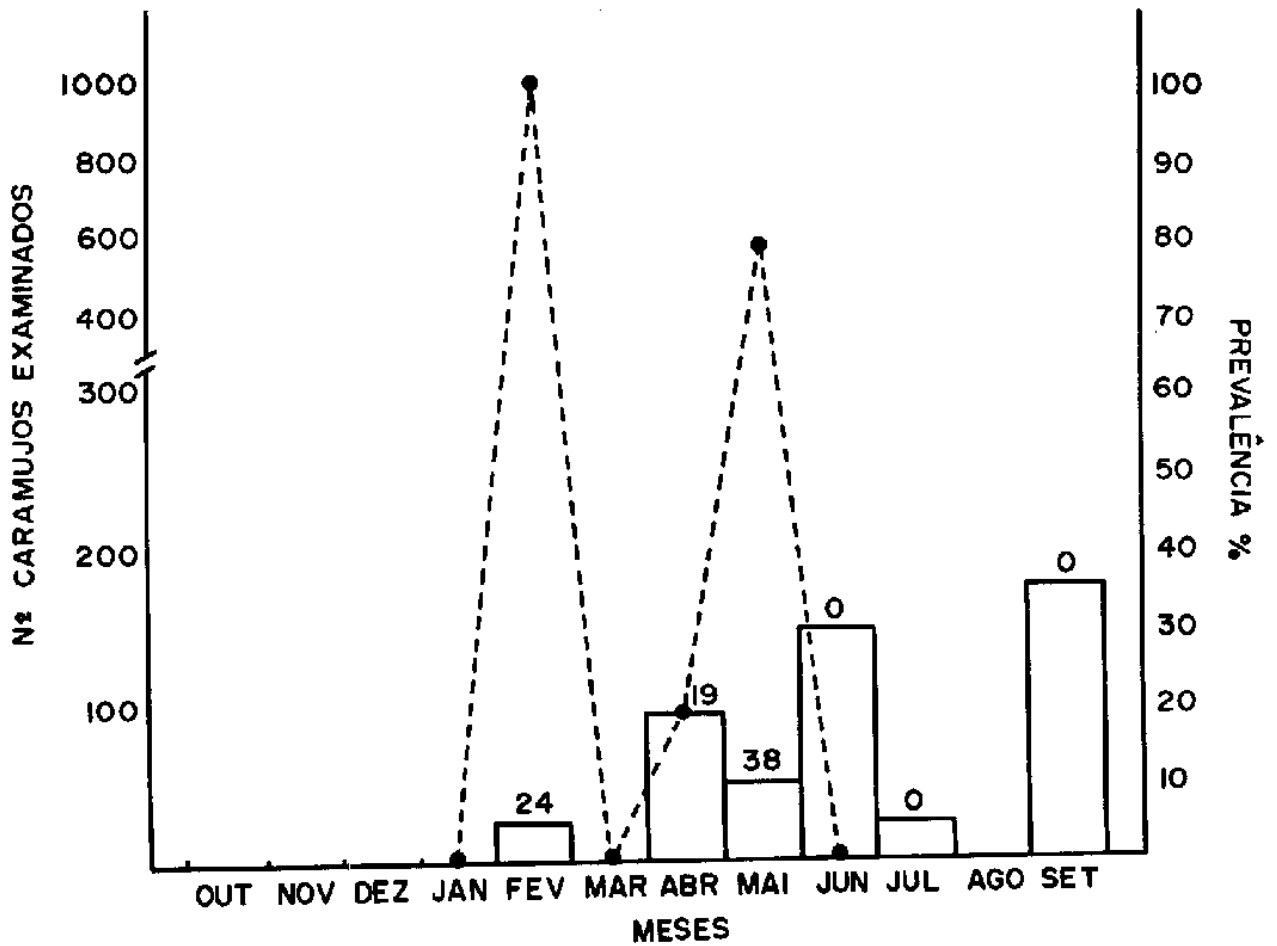
FIGURA 5. Coletas mensais de *Bradybaena similaris*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano III (1985-1986). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais.

FIGURA 6. Coletas mensais de *Bradybaena similaris*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano IV (1986-1987). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais.





5



6

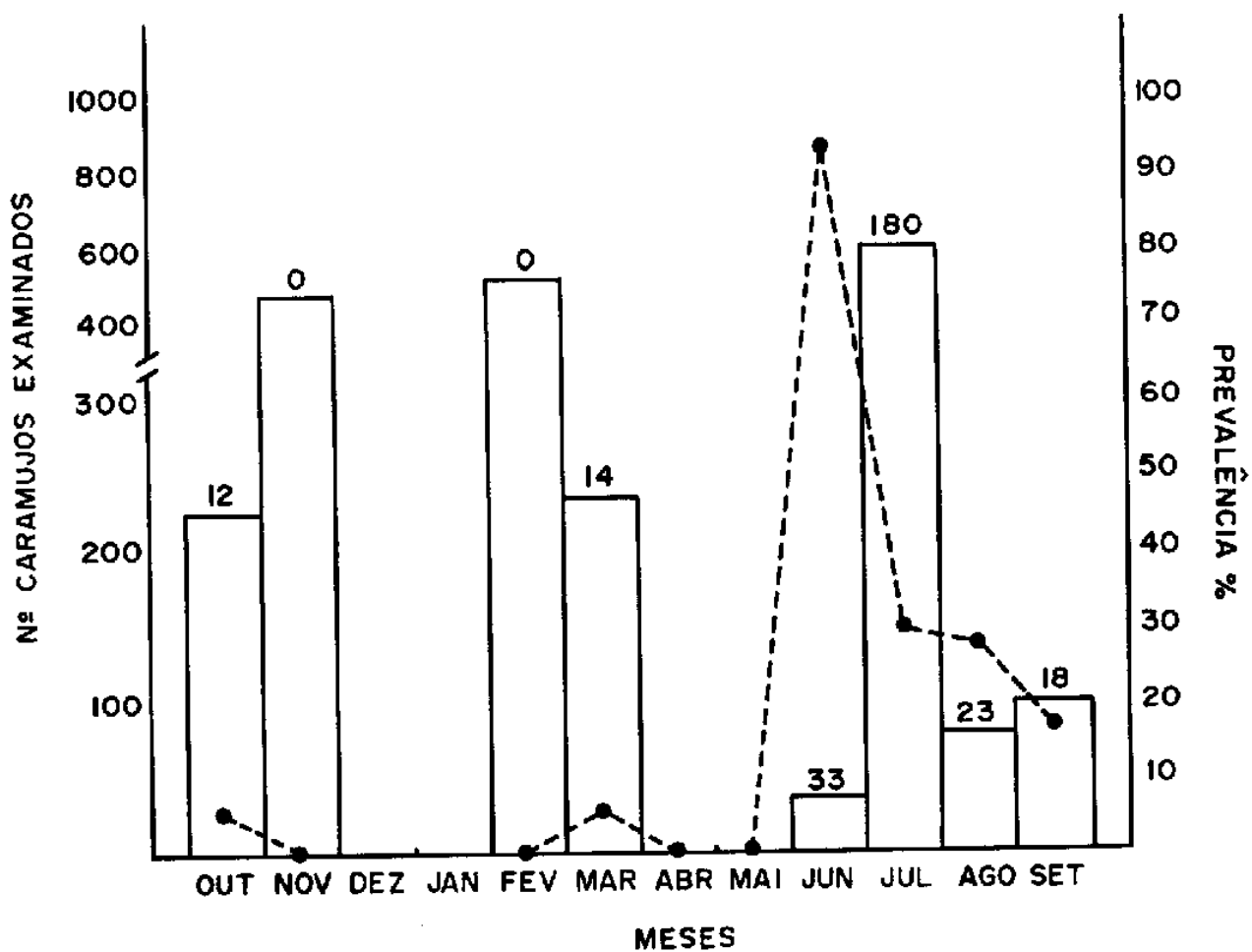


FIGURA 7. Coletas mensais de *Bradybaena similaris*, mostrando a prevalência de infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum*, no Ano V (1987-1988). Os números no topo das colunas indicam o número de caramujos infectados. A linha pontilhada representa o gráfico da prevalência da infecção, indicado em valores percentuais.

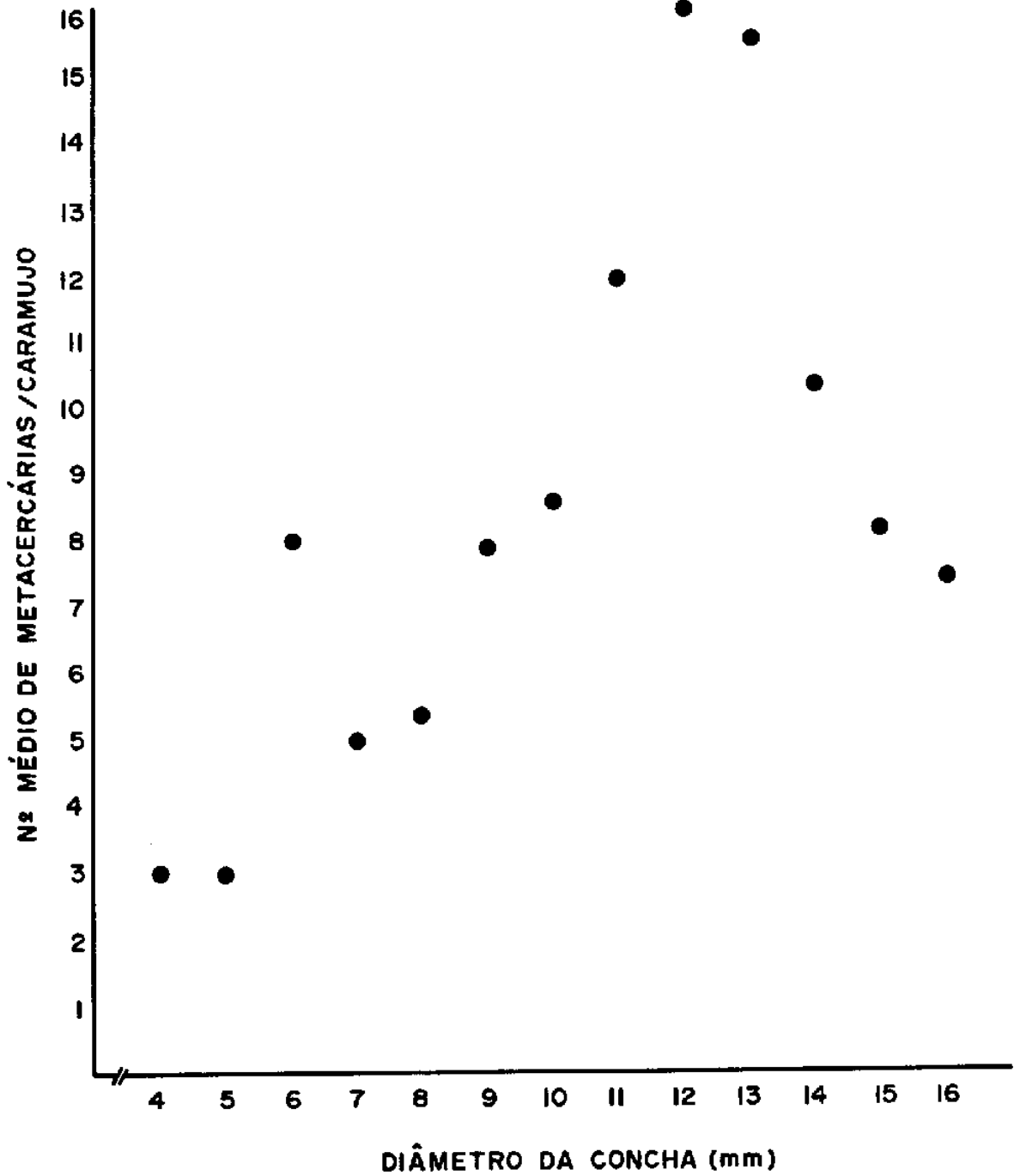
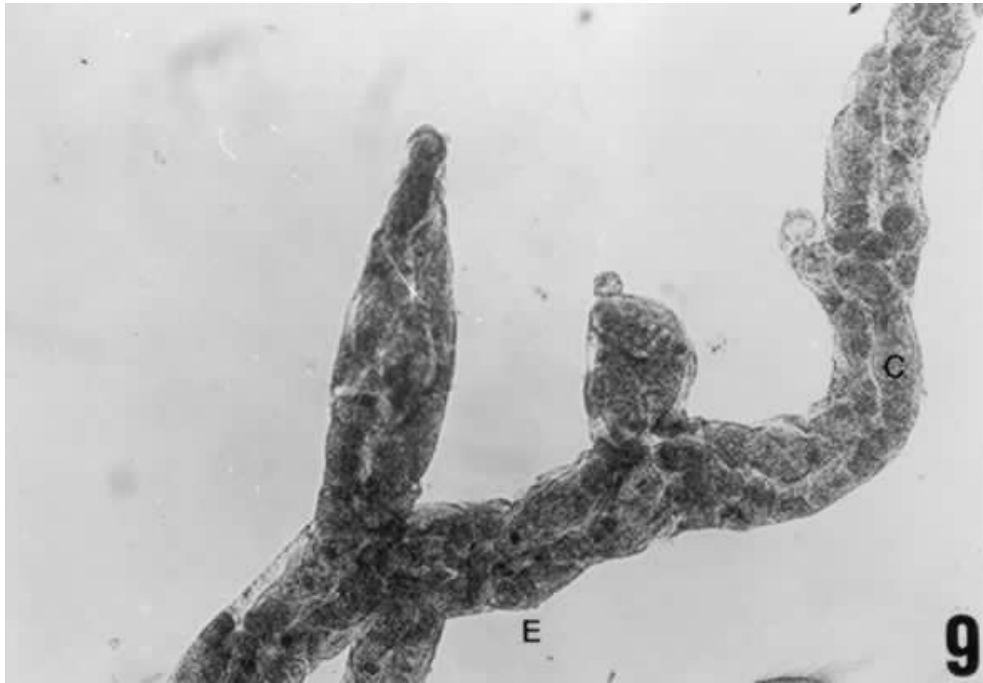


FIGURA 8. Intensidade média de infecção de *Postharmostomum gallinum* relacionados ao diâmetro da concha de *Bradybaena similaris*.



**FIGURA 9.** Esporocistos (E) maduro de *Postharmostomum gallinum* na glândula digestiva de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas. Notar parede única e cercárias (C) no seu interior (100 X, Coloração carmim de Mayer).



**FIGURA 10.** *Bradybaena similaris* com infecção conjunta de esporocisto (E) de *Eurytrema coelomaticum* na glândula digestiva e metacercárias (N) de *Postharmostomum gallinum* na cavidade pericárdica (151X).

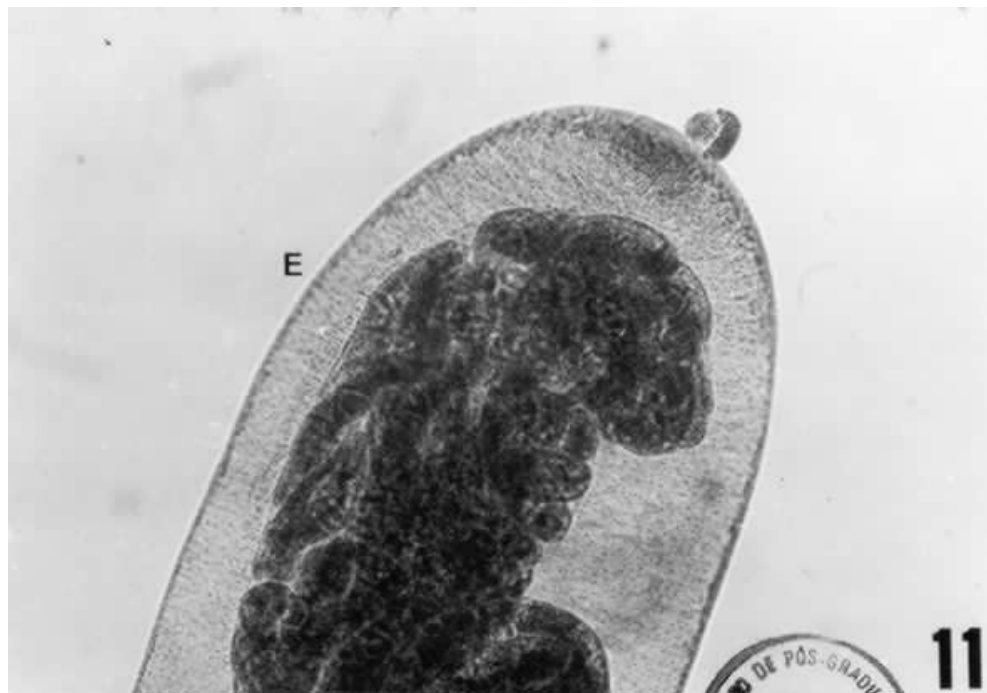


FIGURA 11. Esporocistos (E) de *Eurytrema coelomaticum* retirados da glândula digestiva de *Bradybaena similaris* com infecção natural de metacercárias de *Postharmostomum gallinum* na cavidade pericárdica (160 X, Coloração carmim de Mayer).

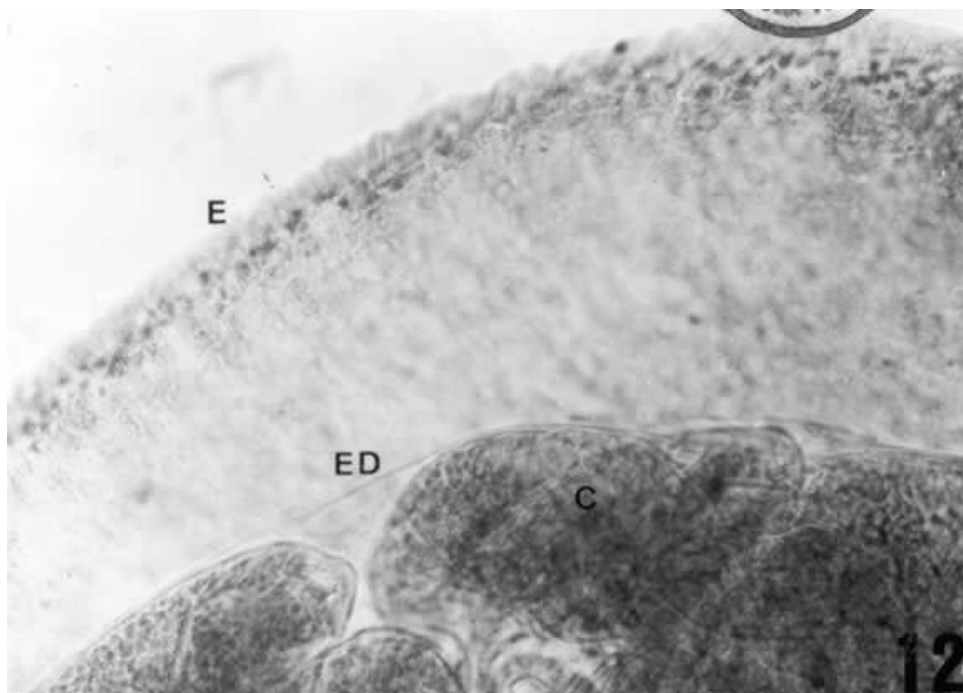
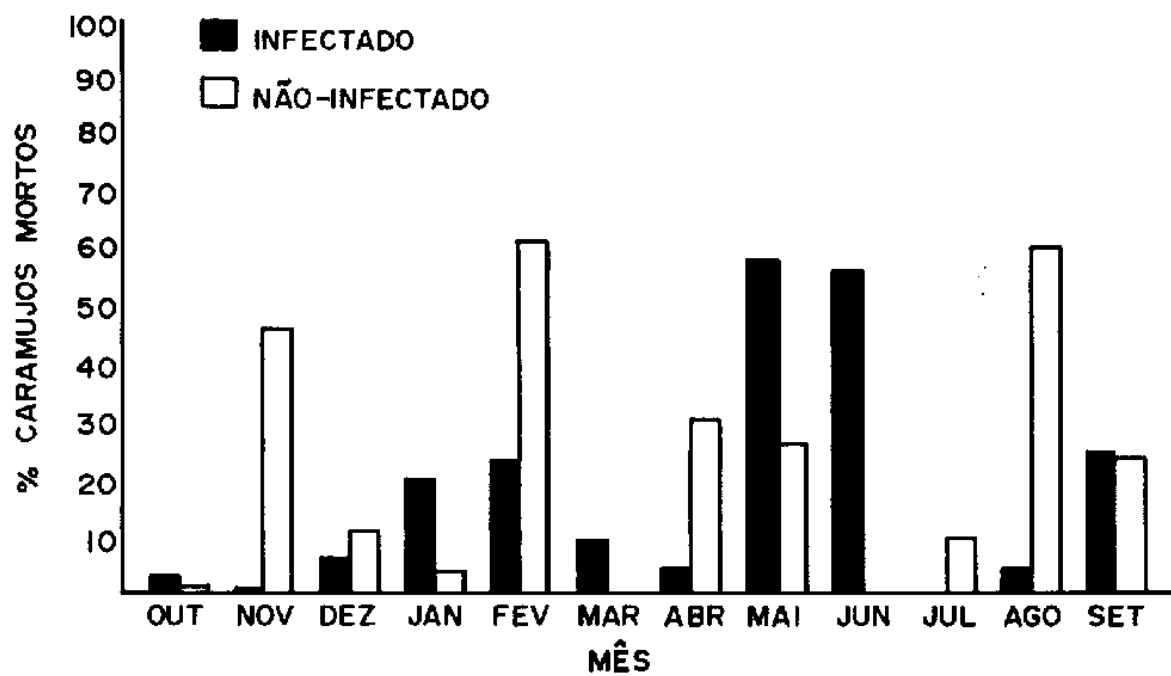


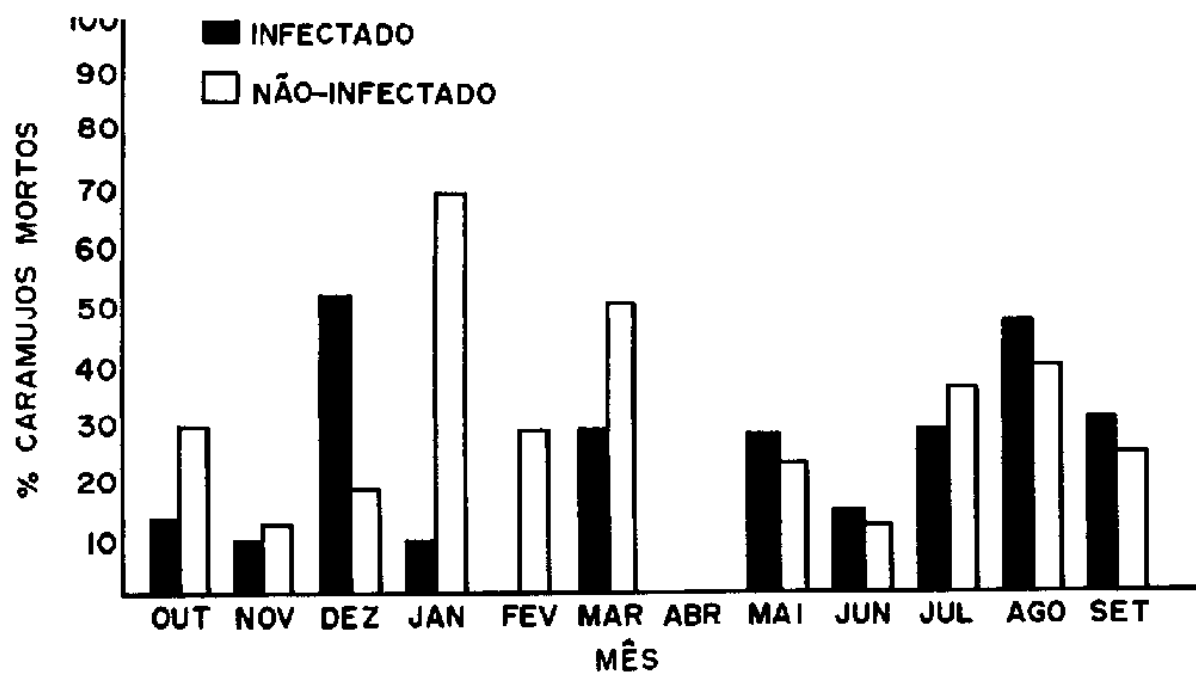
FIGURA 12. Esporocisto (E) de *Eurytrema coelomaticum* com cercárias (C) no interior do endocisto (ED) (400 X, Coloração carmim de Mayer).

FIGURA 13. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório, Ano I (1983-1984).

FIGURA 14. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano II (1984-1985).



13



14

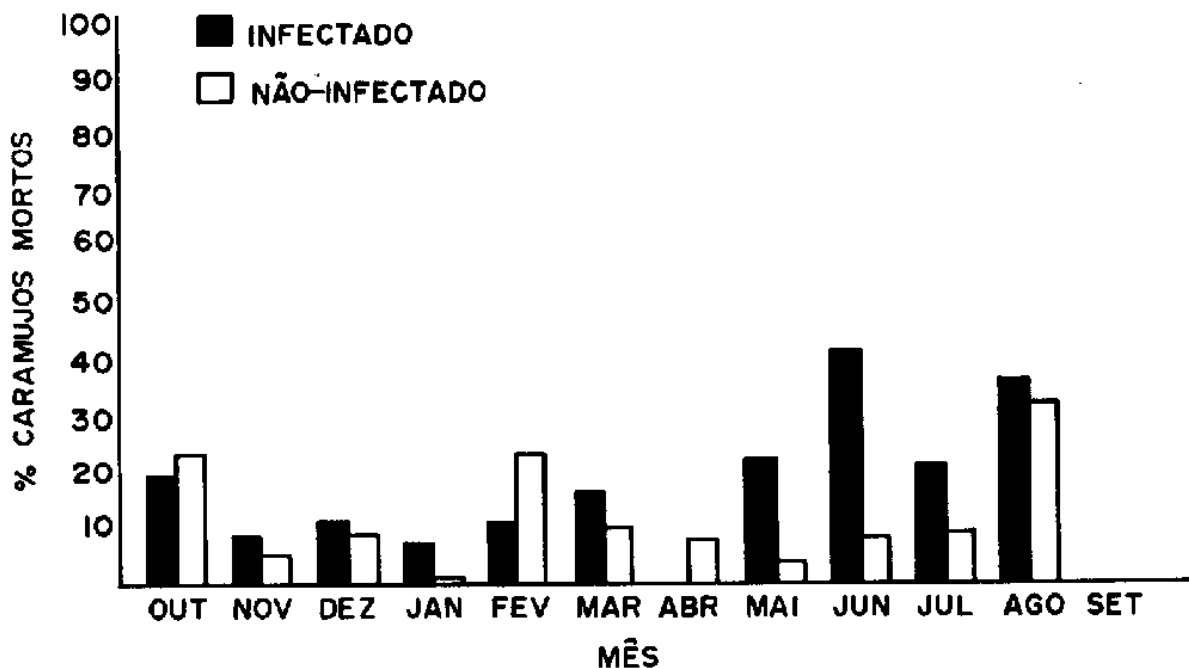


FIGURA 15. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano III (1985-1986).

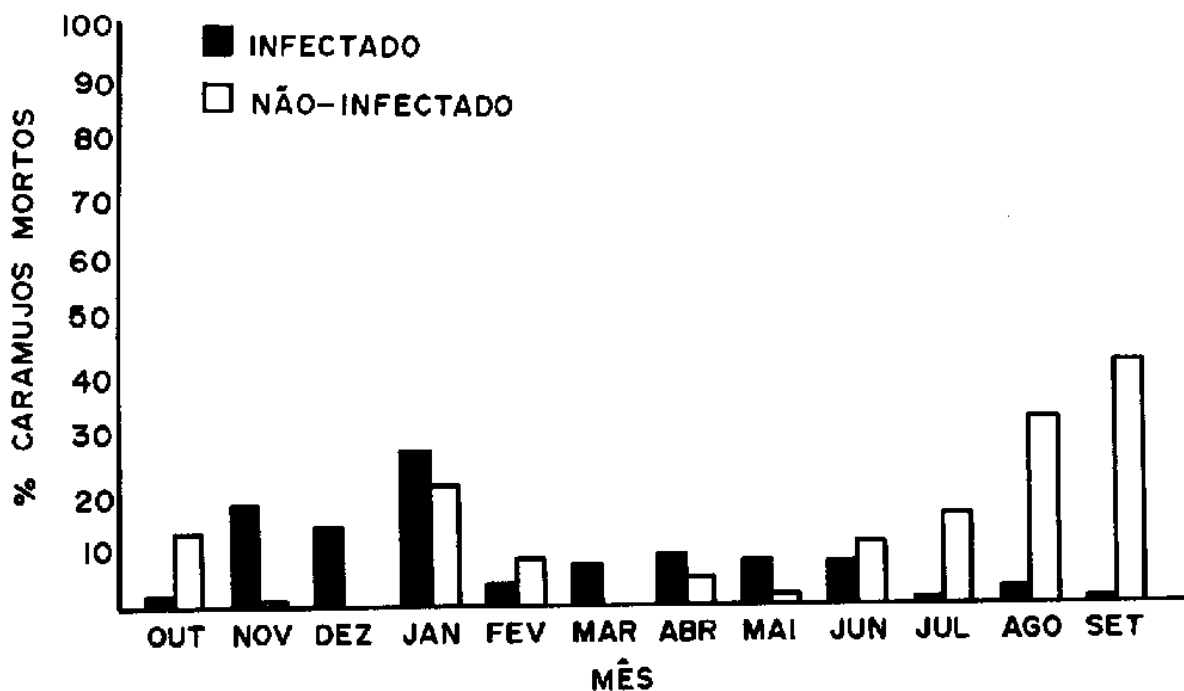


FIGURA 16. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano IV (1986-1987).



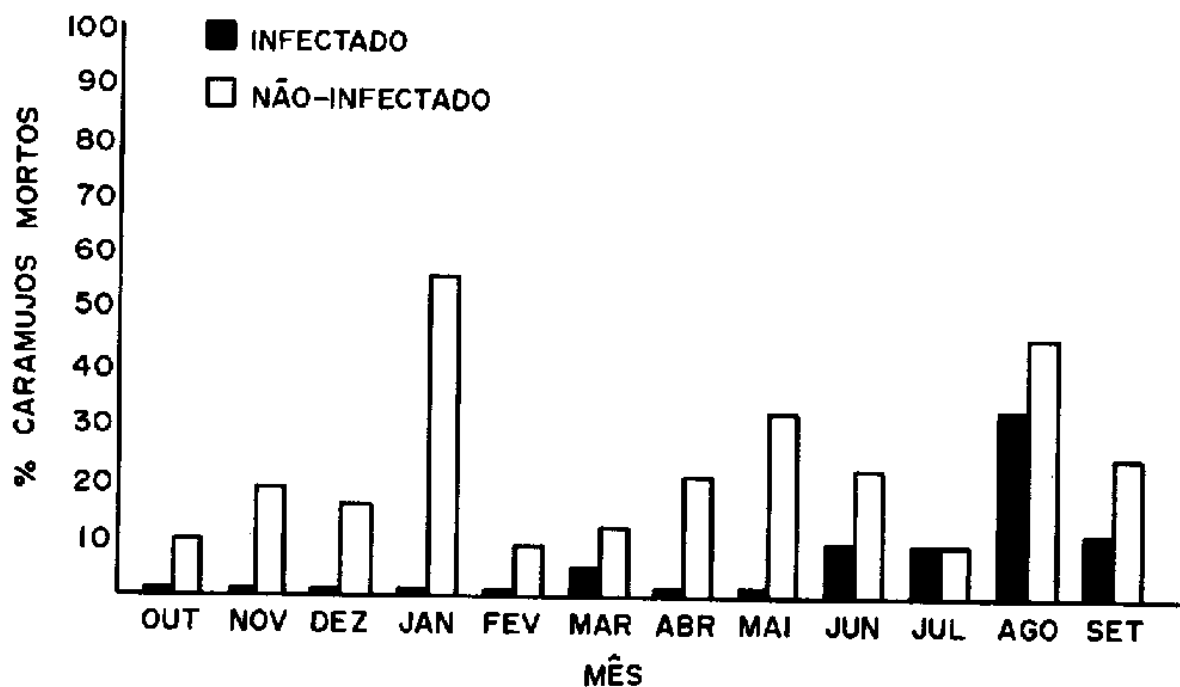


FIGURA 17. Comparação mensal da mortalidade de *Bradybaena similis* naturalmente infectadas, com metacercárias na cavidade pericárdica, e não-infectadas mantidas em laboratório. Ano V (1987-1988).

FIGURA 20. Fotomicrografia de um corte histológico de glândula digestiva de *Bradybaena similaris* não-infectada. Notar nítido contorno celular e quantidades normais de grânulos no citoplasma (GC) e núcleos basais (N) (640 X, Coloração HE).

FIGURA 21. Fotomicrografia de um corte histológico de glândula digestiva de *Bradybaena similaris* naturalmente infectadas com metacercárias na cavidade pericárdica. Notar ausência de contorno celular, grânulos no citoplasma (GC) em grandes quantidades e ausência de núcleos nas células acinares (640 X, Coloração HE).

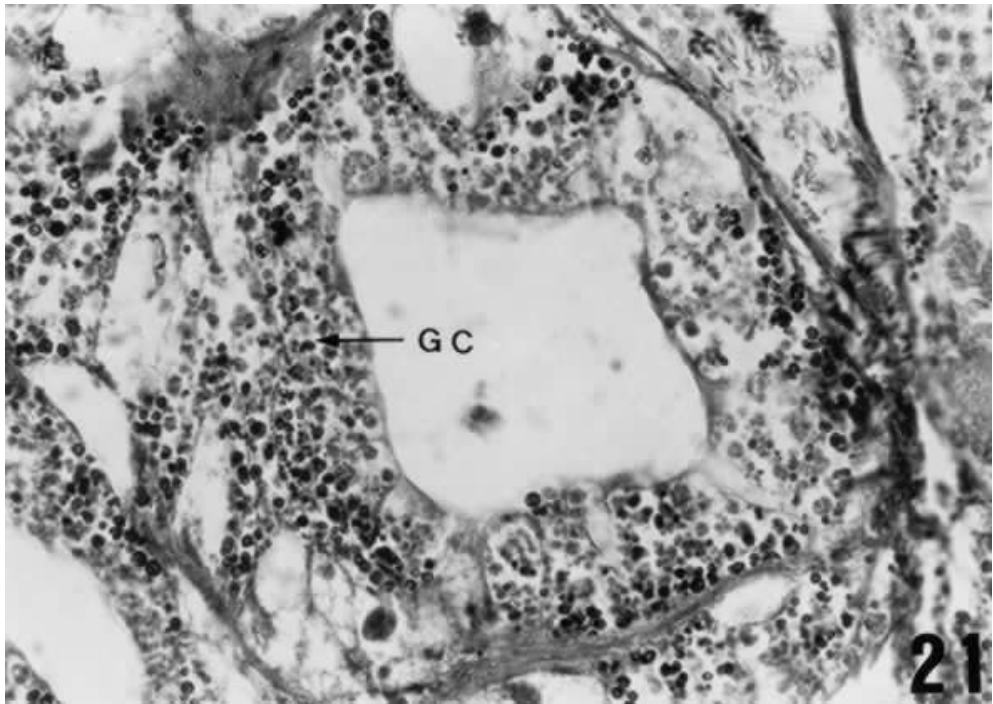
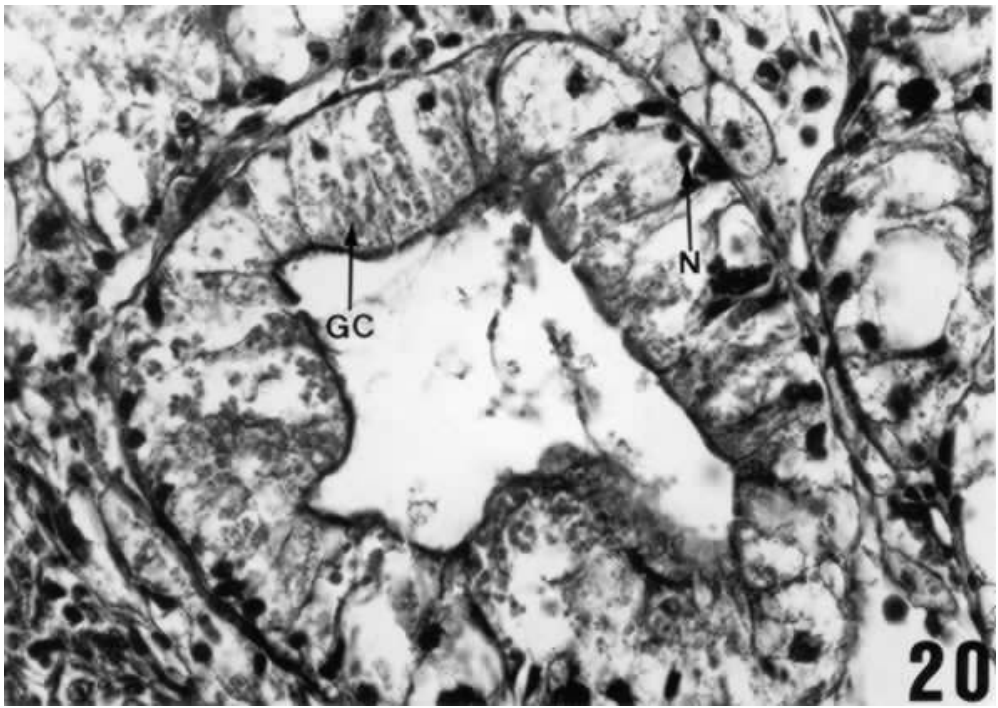


FIGURA 22. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* não-infectada. Notar espessura da parede da cavidade pericárdica (P), ventrículo (V) e nefrídio (N) (100 X, Coloração HE).

FIGURA 23. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* naturalmente infectada, com reação tecidual à presença da metacercária (M) de *Postharmostomum gallinum*. Notar projeção da parede em torno da metacercária (PP) (160 X, Coloração HE).

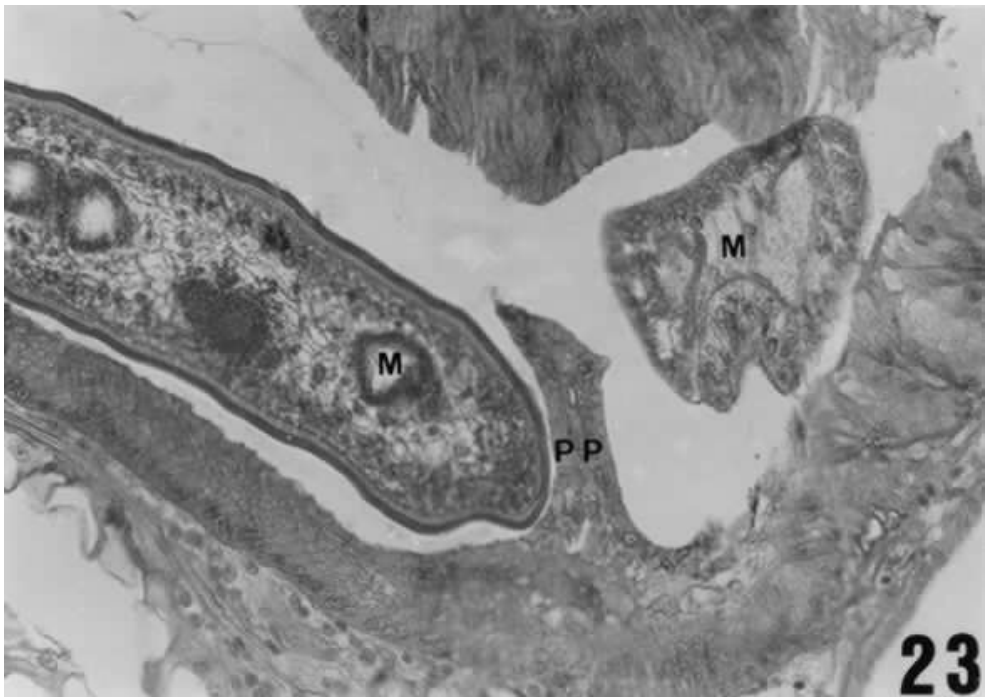


FIGURA 22. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* não-infectada. Notar espessura da parede da cavidade pericárdica (P), ventrículo (V) e nefrídio (N) (100 X, Coloração HE).

FIGURA 23. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similaris* naturalmente infectada, com reação tecidual à presença da metacercária (M) de *Postharmostomum gallinum*. Notar projeção da parede em torno da metacercária (PP) (160 X, Coloração HE).

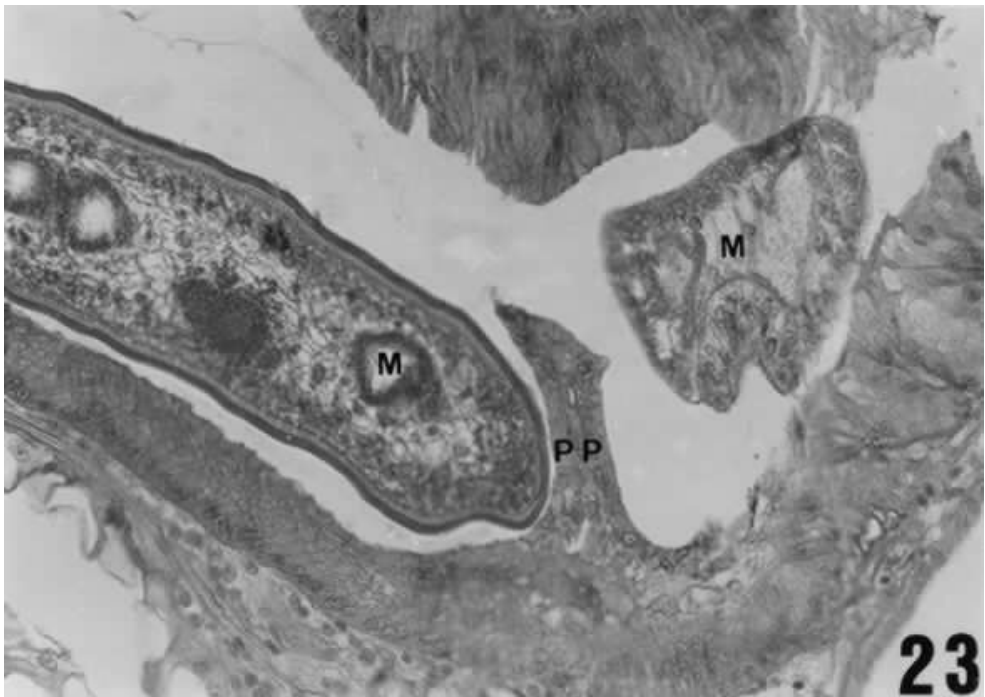
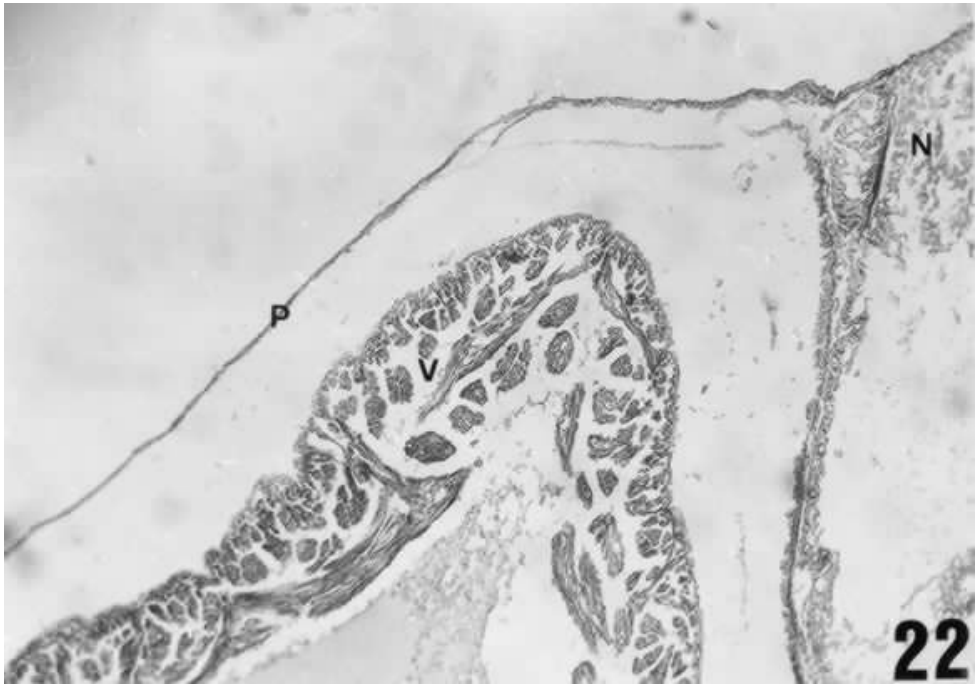


FIGURA 24. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similis* naturalmente infectada com metacercárias (M) de *Postharmostomum gallinum*, observando-se a presença de granulações (G) em seu interior. Parede da cavidade pericárdica (P), ventrículo (V) e nefrídio (N) (100 X, Coloração HE).

FIGURA 25. Fotomicrografia de um corte histológico da cavidade pericárdica de *Bradybaena similis*, infectada naturalmente com metacercárias de *Postharmostomum gallinum*. Evidencia-se o tegumento (T) da metacercária (M) e o envoltório (E) observado ao seu redor (400 X, Coloração HE).



