

***Habronema* sp. (NEMATODA: HABRONEMATIDAE): VARIÁVEIS  
REFERENTES AO PARASITO E À SUA INTERAÇÃO COM O  
MICRO E O MACRO AMBIENTE**

**SÁVIO AMADO DA SILVA**

**2000**

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

***Habronema* sp. (NEMATODA: HABRONEMATIDAE): VARIÁVEIS  
REFERENTES AO PARASITO E À SUA INTERAÇÃO COM O  
MICRO E O MACRO AMBIENTE**

**SÁVIO AMADO DA SILVA**

SOB A ORIENTAÇÃO DA PROFESSORA:  
Dra. ELIANE MARIA VIEIRA MILWARD-DE-AZEVEDO

Tese submetida como requisito parcial  
para a obtenção do grau de Doutor em  
Medicina Veterinária - Parasitologia  
Veterinária.

SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO

JULHO, 2000

## TÍTULO DA TESE

***Habronema* sp. (NEMATODA: HABRONEMATIDAE): VARIÁVEIS  
REFERENTES AO PARASITO E À SUA INTERAÇÃO COM O MICRO E O  
MACRO AMBIENTE**

AUTOR

**SÁVIO AMADO DA SILVA**

APROVADA EM: 20/07/2000

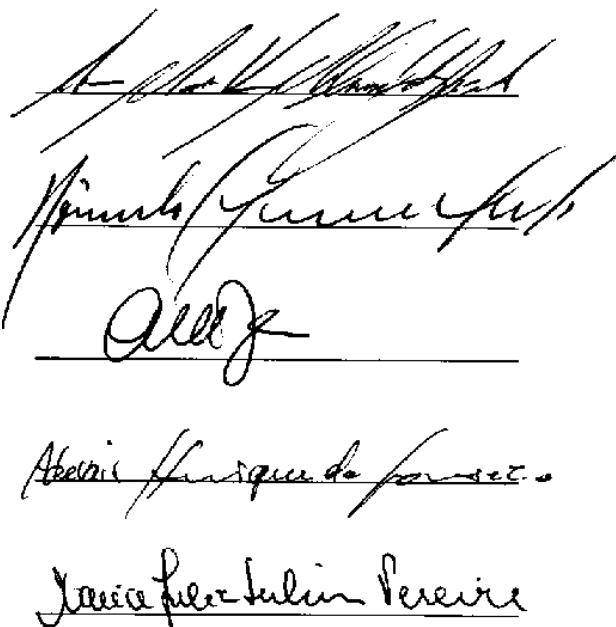
Dra. ELIANE MARIA MILWARD-DE-AZEVEDO

Dr. ROMÁRIO CERQUEIRA LEITE

Dra. ANA MARIA JANSEN

Dr. ADEVAIR HENRIQUE DA FONSECA

Dra. MARIA JÚLIA SALIM PEREIRA



The image shows five handwritten signatures, each written on a horizontal line. The signatures are in black ink and are cursive. From top to bottom, they correspond to the reviewers listed on the left: Eliane Maria Milward-de-Azevedo, Romário Cerqueira Leite, Ana Maria Jansen, Adevair Henrique da Fonseca, and Maria Júlia Salim Pereira.

*Aos meus queridos pais, Guilherme e Dalva,  
meus irmãos Saul, Saulo e Salmo, que me  
permitiram alçar um vôo pleno, em busca de uma  
fugaz e contra-corrente liberdade, cada vez mais  
descoberta e presente... Minha gratidão.*

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dra. ELIANE M.V. MILWARD DE AZEVEDO, pela confiança depositada em mim. O convívio relativamente curto, mas intenso, revelou o seu verdadeiro caráter da personalidade: honesto, responsável e ético. O contato me estimulou iniciar meu caminhar pelo trilho bioestatístico e engrandeceu a minha compreensão sobre a ciência e a vida.

À colega da pós-graduação CLAUDIA C. GULIAS GOMES, responsável pelo empreendimento dos dois primeiros trabalhos aqui apresentados e pelas críticas e discussões oportunas. Grato também pelo convívio, diligência e amizade exemplares.

Ao laboratorista IVAN SERAFIM DA SILVA, pela constante boa vontade demonstrada, auxiliando em diversos trabalhos laboratoriais.

Aos doutorandos ELZA MIKA SUZUKI e CLÉBER OLIVEIRA SOARES, pelo auxílio na execução da eletroforese e pela dedicação demonstrada em todos os momentos.

Ao colega da pós-graduação FLÁVIO DIAS VIEIRA, amigo de longa jornada percorrida, em diversos caminhos e momentos compartilhados.

Ao colega da pós-graduação ROBERT MACEDO, pelo companheirismo e fidelidade exemplares e pelas discussões impelidas numa direção multidisciplinar.

Ao professor Dr. ADELSON PAULO ARAÚJO, exemplo de zelo e integridade, auxiliar e cúmplice na busca do conhecimento imparcial e ilimitado.

Ao professor Dr. ADEVAIR HENRIQUE DA FONSECA, quem introduziu-me e auxiliou-me na modelagem teórica, discutindo os diversos obstáculos e conduzindo-me aos caminhos mais adequados.

À equipe de pesquisa do professor Dr. FÁBIO BARBOUR SCOTT, pelo apoio fundamental nas coletas dos espécimens-alvos; agradeço especialmente às mestrandas MARILENE ÁLVARES e ISABELLA VILHENA FREIRE MARTINS, companheiras nestas investigações à campo.

Ao professor Dr. GENEROSO MANOEL CHAGAS e demais professores do Departamento de Ciências Fisiológicas (IB), que tiveram paciência e tolerância e me apoiaram num momento crucial da minha carreira profissional e científica.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro durante os anos de 1997 e 1998.

A muitas outras pessoas, não citadas, que direta ou indiretamente me contataram durante esses doze anos de estudo e permanência na Universidade Rural. Estou certo de que todos contribuíram decisivamente para minha formação profissional e pessoal. Muito obrigado.

## BIOGRAFIA

**SÁVIO AMADO DA SILVA**, filho de Guilherme da Silva e Dalva Freire, nascido a 26 de março de 1971 em Cáceres, estado de Mato Grosso, iniciou sua carreira escolar no Instituto Santa Maria, onde concluiu em 1985 o primeiro grau (ensino fundamental). Em seguida, obteve a formação de Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Cáceres, em 1988, curso especializado de segundo grau (ensino médio).

Ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 1990. Foi monitor da disciplina Química Fisiológica (IB 309) em 1992, durante um ano. Foi estagiário no Departamento de Parasitologia Animal em 1993, sob orientação da Professora Ana Margarida Langenegger de Rezende. Foi Bolsista de Iniciação Científica da FAPERJ, em 1994, onde deu início ao projeto “Acompanhamento Histológico do Desenvolvimento de *Habronema muscae* em *Musca domestica*”, sob orientação do Professor Dr. Tetsuo Inada.

Finalizou sua graduação em 1994, ingressando no curso de mestrado em Parasitologia Veterinária, da UFRRJ, no ano seguinte. Obteve o grau de *Magister Scientiae* em março de 1997, com a tese intitulada “O desenvolvimento biológico de *Habronema muscae* Carter, 1861 (Diesing, 1861) (Nematoda: Habronematidae) em *Musca domestica* Linnaeus, 1751 (Diptera: Muscidae)”, sob a orientação da professora Ana Margarida Langenegger de Rezende.

Dando continuidade a sua formação científica, ingressou no Curso de Doutorado em Parasitologia Veterinária, da UFRRJ, em março de 1997.

Foi bolsista do CNPq durante o exercício do mestrado (1995-1996) e nos dois primeiros anos do Doutorado (1997-1998).

Foi aprovado em Concurso Público para Professor Substituto da Disciplina Química Fisiológica (IB-309) - UFRRJ, em março de 1999, função que exerce até o momento.



## SUMÁRIO

	Págs.
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Considerações Gerais.....	4
2.2. Distribuição geográfica e prevalência dos habronematídeos.....	7
2.3. Sistemática.....	9
2.4. Ciclo biológico.....	9
2.5. Hospedeiros intermediários.....	12
2.6. Reação dos muscídeos, hospedeiros intermediários de habronematídeos.....	13
2.7. Reação dos hospedeiros intermediários em outras espécies de Spirurida.....	16
2.8. Cibernética.....	17
2.8. Modelos Teóricos.....	17
2.9. Técnicas Bioquímicas e suas aplicações em Parasitologia.....	19
<b>3. CARACTERIZAÇÃO PROTÉICA DE <i>Habronema muscae</i> E <i>Habronema microstoma</i> (NEMATODA: HABRONEMATIDAE).....</b>	<b>22</b>
3.1. Introdução.....	22
3.2. Material e Métodos.....	23
3.3. Resultados e Discussão.....	24

<b>4. LONGEVIDADE DE <i>Musca domestica</i> (DÍPTERA: MUSCIDAE)</b>	
<b>PARASITADAS POR <i>Habronema muscae</i> (NEMATODA: HABRONEMATIDAE).....</b>	<b>33</b>
4.1. Introdução.....	33
4.2. Material e Métodos.....	34
4.3. Resultados e Discussão.....	36
<b>5. MODELO TEÓRICO NO ESTUDO DA DINÂMICA POPULACIONAL DE</b>	
<b><i>Habronema muscae</i> (Carter, 1861) (NEMATODA: HABRONEMATIDAE).....</b>	<b>43</b>
5.1. Introdução.....	43
5.2. Material e Métodos.....	44
5.3. Resultados e Discussão.....	45
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>51</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>

## ÍNDICE DAS FIGURAS

	Págs.
Figura 3.1. Gráfico densitométrico de cinco padrões protéicos utilizados como referenciais para comparação da migração eletroforética.	27
Figura 3.2. Gráficos densitométricos e pesos moleculares estimados (P22 e P26) do fracionamento do conteúdo protéico de <i>Habronema muscae</i> e <i>Habronema microstoma</i> , a partir da migração eletroforética. Análise comparativa dos intervalos selecionados entre 0,32 e 0,40 de Mobilidade Relativa.	28
Figura 3.3. Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P38) do fracionamento do conteúdo protéico de fêmeas de <i>Habronema muscae</i> , a partir da migração eletroforética.	29
Figura 3.4. Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P38) do fracionamento do conteúdo protéico de machos de <i>Habronema muscae</i> , a partir da migração eletroforética.	30
Figura 3.5. Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P26) peso molecular estimado do fracionamento do conteúdo protéico de fêmeas de <i>Habronema microstoma</i> , a partir da migração eletroforética.	31
Figura 3.6. Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P26) do fracionamento do conteúdo protéico de machos de <i>Habronema microstoma</i> , a partir da migração eletroforética.	32
Figura 4.1. Curvas de sobrevivência observadas (traços) e esperadas (linha)	

e longevidade média (LM) de machos e fêmeas de *Musca domestica*, oriundos de larvas não submetidas (grupo Controle negativo) e submetidas à infecção (grupo Infectado) por *Habronema muscae*, em condições experimentais.

37

**Figura 4.2.** Intensidade média de infecção e frequência de mortalidade de adultos de *Musca domestica* pertencentes ao grupo infectado, originados de larvas submetidas à infecção por *Habronema muscae*, em intervalos etários dos adultos. (M=Macho e F= Fêmea)

39

**Figura 4.3.** Declínio da intensidade média de infecção de adultos de *Musca domestica* submetidos à infecção por *Habronema muscae*, em intervalos etários dos muscídeos. A linha e a equação representam o modelo de declínio exponencial da intensidade média de infecção.

39

**Figura 6.1.** Cladograma indicando o arranjo filogenético para classificação superior do filo Nematoda. Acima do cladograma estão indicadas as divisões sugeridas nas classificações de diversos autores, relacionados lateralmente.

53

**Figura 6.2.** Cladograma simplificado indicando o arranjo filogenético para as superfamílias da ordem Spirurina (Nematoda: Spirurida), baseado nas descrições de QUENTIN & POINAR (1973), CHABAUD (1975), INGLIS (1983) e ADAMSON (1987).

54

**Figura 6.3.** Cladograma indicando o arranjo filogenético para a superfamília Habronematoidea (Spirurida:Nematoda), baseado nas descrições de BULL (1919), ROUBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922a, 1922b) QUENTIN & POINAR (1973), CHABAUD (1975), OUHELLI *et al.* (1979), INGLIS (1983) e ADAMSON (1987). *Habronema microstoma* representa a espécie que compartilha caracteres plesiomórficos de espécies da superfamília Filarioidea, considerados mais especializados.

55

## ÍNDICE DAS TABELAS

	Págs.
Tabela 3.1. Mobilidade relativa (MR) e Peso molecular (PM) de cinco padrões protéicos utilizados como referenciais para comparação da migração eletroforética.	27
Tabela 4.1. Taxa de sobrevivência de muscídeos imaturos, abundância média e prevalência de infecção avaliadas em adultos de <i>Musca domestica</i> oriundos de larvas expostas ao parasitismo por <i>Habronema muscae</i> , em condições experimentais. (Temperatura média: 26,3 °C; UR: 57-76 %).	38
Tabela 5.1. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares e quadráticas, representativos da intensidade média de adultos de <i>H. muscae</i> , dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de <i>M. domestica</i> , caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.	48
Tabela 5.2. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares e quadráticas, representativos da intensidade média de imaturos de <i>H. muscae</i> , dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de <i>M. domestica</i> , caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.	48
Tabela 5.3. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares ou quadráticas, representativos da prevalência de adultos de <i>H.muscae</i> , dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de <i>M. domestica</i> , caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.	49

<b>Tabela 5.4. Prevalência de <i>Habronema muscae</i> observados e simulados e o índice de correlação para o clima Cw em Queensland/Austrália.</b>	<b>49</b>
<b>Tabela 5.5. Intensidade média de adultos e imaturos de <i>Habronema muscae</i> observados e simulados e seus índices de correlação para o clima Cf em Victoria/Austrália.</b>	<b>50</b>

## RESUMO

Entre as patologias dérmicas dos eqüídeos (*Equus caballus*) (Mammalia: Equidae), são relevantes as causadas pelas espécies de habronematídeos, helmintos heteroxenos. Uma dessas espécies, *Habronema muscae* Carter (Ransom, 1911) (Nematoda: Habronematidae), se destaca pela distribuição cosmopolita, e demonstra ser muito freqüente no Brasil, apresentando intensidade média e prevalência relativamente altas no Rio de Janeiro. Essa espécie obrigatoriamente se desenvolve em dípteros muscídeos, freqüentemente em *Musca domestica* L. 1758 (Diptera: Muscidae), durante sua primeira fase de parasitismo. Sua transmissão demonstra ser dependente da freqüência desses vetores. Os estudos relacionados a essa família focalizaram a coleta de dados sobre a biologia dos parasitos, em ambos hospedeiros, e sobre a epizootiologia da habronemíase gástrica e cutânea, nos eqüídeos. Diante do avanço técnico dos métodos bioquímicos e de modelagem matemática, disponibilizados atualmente, tornou-se viável iniciar a caracterização molecular e discutir e aprofundar o conhecimento sobre a epizootiologia de *H. muscae*. Nesse sentido, o primeiro bioensaio objetivou caracterizar o conteúdo protéico dos helmintos adultos e esclarecer possíveis diferenças entre as duas espécies do gênero *Habronema*. Por essa razão, foi realizada a coleta e identificação de exemplares machos e fêmeas das duas espécies de *Habronema* sp, que isoladamente foram macerados, suas proteínas purificadas, para serem submetidos à corrida eletroforética em gel de poliacrilamida. Os zimogramas do conteúdo protéico de machos e fêmeas de *Habronema* sp foi contrastada e revelaram diferenças qualitativas e quantitativas, intra e inter-específicas. Um segundo estudo foi conduzido para avaliar a interferência do parasitismo dos três primeiros estágios larvais de *H. muscae* sobre

a longevidade do principal vetor *M. domestica*. Nesse caso, dois grupos de larvas dos muscídeos foram criados em dieta artificial. Em um desses grupos foram inoculadas larvas de primeiro estágio de *H. muscae*. Adultos recém emergidos dos pupários de ambos os grupos foram colocados em gaiolas separadas. O acompanhamento da mortalidade diária dos grupos e as possíveis comparações serviram para evidenciar uma pequena interferência negativa do parasitismo de *H. muscae* sobre a longevidade média do vetor.

O terceiro estudo teve como objetivo uma questão mais ampla e essencialmente teórica, relacionada a bioecologia dos habronematídeos. Para isso, foi realizada uma revisão e seleção da literatura para obtenção de dados epidemiológicos e/ou populacionais de habronematídeos dos eqüídeos. Em seguida foi avaliada a possibilidade de se utilizar modelos teóricos que possam auxiliar na previsão populacional de *H. muscae*. Tratamentos bioestatísticos foram então introduzidos como proposta de estudo, quando destacou-se o uso de regressões lineares e polinomiais entre as variáveis selecionadas, o que possibilitou realizar as estimativas. O estudo resultou no desenvolvimeto de um modelo teórico que relaciona parâmetros populacionais de *H. muscae* a dois fatores climáticos (temperatura e precipitação) e à fecundidade teórica dos vetores, possibilitando estimar a intensidade média e prevalência estacionais dessa espécie de habronematídeos, para qualquer clima terrestre.



## ABSTRACT

Among cutaneous pathologies of equids (*Equus caballus*) (Mammalia: Equidae) are important those caused by species classified as habronematids, heteroxenous helminths. One of these species, *Habronema muscae* Carter (Ransom, 1911) (Nematoda: Habronematidae) possess cosmopolite distribution and demonstrate to have high frequency at Brazil, showing high mean intensity and prevalence at Rio de Janeiro. That species necessarily develops in dipterous muscids, commonly on *Musca domestica* L. 1758 (Diptera: Muscidae), during its first parasitic phase. Therefore, the transmission of nematode depends from frequency of vectors. The previous studies of this helminth group were directed to collection of biological data from both hosts and also those related to epizootiological data of cutaneous and gastric habronemiasis. With the actual technic advances of the biochemistry and mathematical modelling field, become viable to initiate the protein characterization, to discuss and to explore the knowledge on *H. muscae* epizootiology.

With these purposes, the first bioassay searched to characterize the protein content of adult helminths and points differences possibles between two species of genera *Habronema*. Consequently, a collecting of habronematids were realized and the nematodes were sexual and taxonomically identified. The sample groups were separately macerated and its protein content purified before to be submitted to electrophoretical running in polyacrilamide gel. The protein content zimograms of males and females of both *Habronema* sp species were compared and revealed qualitative, quantitative, intra- and inter-specific differences.

One second experiment was conducted to evaluate the parasitism influence of *H. muscae* larvae on the longevity of *M. domestica*, main vector. Therefore two muscids larvae groups were kept at artificial diet. In one of groups were inoculated first stage larvae of *H. muscae*. Adults recently emerged from puparium of both muscoid groups were kept at separated cages. Daily, the mortality was compared between the two different groups and served to note a little but significative negative interference of parasitism by *H. muscae* on vector mean longevity.

The last one point was directed to an widest and theoretic question related to the habronematids bioecology. Hence, a literature review and selection was realized to obtain epizootiological and populational data from *H. muscae*. In the next step was evaluated the possibility to implement theoretic models that can help to suppose populational parameters to *H. muscae*. Biostatistical treatments were introduced as study purposes. Mainly linear and polinomial regression were demonstrated useful to relate the studied variables enabling to realize estimations. The study resulted in a mathematical model that utilize climatological data (temperature, precipitation and Köppen classification) and theoric mean fecundity of vectors, becoming possible to make estimation of stational mean intensity and prevalence of *H. muscae* to anywhere world climate.

## PREFÁCIO

A um passo do início do próximo século, é oportuno relevar a necessidade da vigilância incessante sobre a ética científica. A partir dos últimos trinta anos vislumbro uma significativa mudança na velocidade da evolução científica. Uma progressão até então linear passou a evoluir em proporções logarítmicas. As ferramentas bioquímicas e cibernéticas se destacam pela sua disponibilidade e são precursoras dessa revolução tecnológica, vivida atualmente. A vigilância sobre a ética na utilização dessas ferramentas deve ser mantida, objetivando direcionar os trabalhos e implicações científicas, para garantir o equilíbrio ecológico (a preservação da interação entre a humanidade e demais espécies da natureza), e simultaneamente buscar uma distribuição mais justa dos recursos terrestres, entre os homens. Em consequência, a comunidade científica deve resguardar-se, evitando a propagação de técnicas pouco confiáveis ou que possibilitem a ocorrência de efeitos nocivos nesses equilíbrios.

Diante dessa circunstância, é prudente lembrarmos um fato lastimável, ocorrido em meados do presente século, descrito aqui por HEISENBERG (1996, página 226). O autor alemão, prêmio Nobel em física atômica aos trinta e um anos de idade, narra em um ensaio autobiográfico, o recebimento de um fato chocante que influenciou nos contornos políticos e históricos da humanidade: “Na tarde de 6 de agosto de 1945, Karl Wirtz entrou de repente, esbaforido, para me falar de um

noticiário especial; uma bomba atômica fora lançada sobre Hiroshima. A princípio, recusei-me a acreditar, pois estava convencido de que a construção de bombas atômicas implicava em esforços enormes e, provavelmente, muitos bilhões de dólares em recursos. Eu também achava psicologicamente implausível que cientistas a quem eu conhecia tão bem houvessem colocado todo seu peso num projeto dessa ordem. Nessas condições, estava muito mais inclinado a acreditar nos físicos norte-americanos que nos haviam interrogado do que num locutor de rádio que talvez tivesse recebido ordens de divulgar uma espécie de historieta de propaganda. Além disso, Wirtz me dissera que a palavra ‘urânio’ não fora mencionada no noticiário; isso parecia sugerir que, se alguma bomba tinha sido lançada, não deveria ter sido uma ‘bomba atômica’, no sentido como eu usava esse termo. Mais tarde, porém, quando o noticiário da noite descreveu os gigantescos esforços técnicos que se haviam empreendido, tive de aceitar o fato de que o progresso da física atômica, do qual eu participara por 25 longos anos, havia acabado de levar à morte de mais de 100 mil pessoas” (...).

## **1. INTRODUÇÃO**

Por ocasião do final do século XX, duas características poderiam ser destacadas: o notável avanço técnico-científico e a consolidação das aplicações científicas no meio doméstico. Esta revolução parece ter direção multiplicativa e ilimitada e lança expectativas para um desenvolvimento mais equilibrado e sustentável da humanidade no século vindouro.

Na área biomédica, dois novos campos de avanço científico são relevantes, a bioquímica e a modelagem teórica, por apresentarem amplo potencial de aplicação. A bioquímica possui técnicas úteis para a caracterização molecular de proteínas e isoenzimas que podem auxiliar para o conhecimento definitivo das manifestações genéticas e fenotípicas dos organismos e suas doenças. Uma subárea da bioquímica, denominada Biologia Molecular, tornou-se independente e muito desenvolvida ultimamente, relaciona-se principalmente ao estudo dos nucleotídeos. Estas áreas científicas podem fornecer subsídios para discussões evolutivas e filogenéticas. O segundo campo, a modelagem matemática, que utiliza tratamentos matemáticos na tentativa de explicar e/ou simular

fenômenos, foi amplamente utilizado entre as ciências exatas, mas recentemente tem demonstrado ser útil também no campo biomédico. Assim, diversos fenômenos biocomportamentais e populacionais de diversas espécies e epidemiológicos de muitas doenças, vem sendo melhor compreendidos.

A praticabilidade e disposição desses métodos estimulou a exploração inicial de tópicos específicos relacionados à bioquímica e à ecologia comportamental de *Habronema muscae* Carter (Ransom, 1911) (Nematoda: Habronematidae), espécie de helminto gástrico de eqüídeos, freqüentemente assinalada no Rio de Janeiro. O nematóide necessita desenvolver-se em muscídeos coprófagos em sua primeira fase parasítica e portanto a sua freqüência depende da presença desses vetores. A espécie vetora mais importante é *Musca domestica* Linnaeus 1758 (Diptera: Muscidae). Motivados em dar continuidade a estudos previamente elaborados com ambas espécies e oportunamente utilizando as áreas acima mencionadas, foram desenvolvidos três estudos específicos, muito inter-relacionados, que serão apresentados neste trabalho como capítulos independentes.

O primeiro bioensaio objetivou caracterizar o conteúdo protéico dos helmintos adultos e esclarecer possíveis diferenças entre as espécies *H. muscae* e *Habronema microstoma* Schneider, 1866. A hipótese formulada assumia que a composição protéica dessas espécies poderia ser considerada um marcador específico, distinto entre as espécies e sexo. O detalhamento dessa caracterização poderá ser futuramente utilizada no desenvolvimento de técnicas de diagnósticos sensíveis e específicos. A busca de marcadores fenotípicos poderá ser valiosa também para o conhecimento evolutivo dessas espécies.

Um segundo estudo foi conduzido para avaliar a interferência do parasitismo dos três primeiros estágios larvais de *H. muscae* sobre a longevidade do principal vetor *M. domestica*, assumindo a hipótese de que o parasitismo por *H. muscae* diminui a longevidade de seus vetores.

O último ponto assimilou uma questão mais ampla e essencialmente teórica, relacionada a ecologia comportamental dos habronematídeos. Para isso, inicialmente, foi realizada uma revisão e seleção da literatura para obtenção de dados epizootiológicos e/ou populacionais de habronematídeos dos equídeos. Em seguida, foi avaliada a possibilidade de desenvolver modelos teóricos que possam auxiliar a previsão populacional de *H. muscae*. Tratamentos bioestatísticos foram introduzidos como proposta de estudo, destacando-se o uso de regressões lineares e polinomiais entre as variáveis selecionadas, que serviram como ferramentas para a compreensão das suas relações. A hipótese que orientou o trabalho foi a de desenvolver um modelo matemático que relacionasse os parâmetros populacionais de *H. muscae* às variáveis climáticas, a partir de dados disponíveis na literatura.

A consciência dessa evolução técnica e científica e da responsabilidade gerada pela disposição do conhecimento elaborado, foram importantes durante as discussões e a execução dos trabalhos aqui apresentados. Por exemplo, *softwares* foram utilizados para análise dos proteinogramas de eletroforese e para estimar a longevidade média dos muscóides, enquanto os dados climatológicos de diversas regiões geográficas foram obtidos através da rede mundial de computadores. Assim, a disposição e a praticidade dessas ferramentas tecnológicas foram imprescindíveis na execução do presente trabalho.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Considerações Gerais

*Habronema muscae*, *H. microstoma* e *Draschia megastoma* Rudolphi, 1819 (Nematoda: Habronematidae) parasitam o estômago de eqüídeos, onde desenvolvem-se até a fase adulta. As formas larvares iniciais desenvolvem-se obrigatoriamente em muscídeos como *M. domestica* e *Stomoxys calcitrans* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae). Larvas do nematóide no terceiro estágio, presentes nos muscídeos adultos, são infectantes para eqüídeos (BULL, 1919). Tais larvas, quando ingeridas, completam o desenvolvimento no estômago dos animais. Entretanto, essas larvas provocam o aparecimento de afecções cutâneas denominadas de ferida de verão, quando depositadas em ferimentos da pele dos animais (PEREIRA & MELLO, 1948).

A frequência dos habronematídeos na região Metropolitana do Rio de Janeiro é alta (LEITE *et al.*, 1997), propiciando a ocorrência da ferida de verão durante todo o ano. A ferida deprecia economicamente o animal e muitas vezes o invalida para o trabalho (DIEULOUARD,



1927; STICK, 1981). Seu tratamento requer atenção e pode ser dispendioso (CAMPOS & VIANA, 1975; HERD & DONHAM, 1981)

A relação entre *M. domestica* e *S. calcitrans* e *Habronema* spp. foi estudada por vários autores, sendo tais espécies confirmadas como vetores em vários países (HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1922a, 1922b; MELLO & CUOCOLO, 1943b; JAGANNATHAN, 1980). Entretanto, outros trabalhos demonstram o desenvolvimento de *Habronema* sp. em outras espécies de dípteros (JOHNSTON & BANCROFT, 1920; CRAWFORD, 1926; NISHIYAMA, 1958; IVASHKIN *et al.*, 1984; MURALIDHAR & RAO, 1991).

O desenvolvimento de *Habronema* sp. em muscídeos foi bem esclarecido sob o ponto de vista biomorfológico dos nematóides (HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922b). No entanto, a biologia de dípteros parasitados foi pouco estudada; poucos trabalhos evidenciaram a forma de escape de nematóides infectantes do corpo de muscídeos adultos, frente a vários estímulos (TORRES, 1925a e 1925b; MELLO & PEREIRA, 1946). A viabilidade das formas de terceiro estágio dentro das imagos, incluindo a longevidade dos dípteros infectados, são fatores importantes para o conhecimento epidemiológico da habronemose dos equídeos, fatores que ainda não foram cientificamente explorados.

O aprofundamento na questão biocomportamental que assimila a relação entre *Habronema* spp. e vetores, contribuirá para o conhecimento da dinâmica epidemiológica de helmintoses que exigem ciclo indireto. Obtendo-se informações sobre a curva de mortalidade, longevidade média, caracteres reprodutivos e sobre a dinâmica ecológica de uma espécie, pode-se elaborar modelos matemáticos (WILLIAMS *et al.*, 1990) que simulem a dinâmica populacional dos organismos-alvo, com precisão, em determinadas áreas. Ampliando as bases

populacionais, incluindo informações referentes aos insetos vetores e sua relação com helmintos, poder-se-ia estimar, da mesma forma, a dinâmica populacional de helmintos heteroxenos, conhecer os parâmetros mais influentes ? Poder-se-ia estimar a endemicidade de doenças causadas por helmintos, através da quantificação de formas intermediárias, coletadas em amostras padronizadas de vetores?

O parasitismo em dípteros, além disso, é interessante do ponto de vista fisiológico, pois desencadeia uma reação hemocítica nestes insetos. Tal fenômeno culmina na formação capsular, quando os nematóides tornam-se envolvidos na hemocele, isolados dos demais tecidos, formando um ambiente propício para o seu desenvolvimento (AMADO & REZENDE, 1997). Os fatores que determinam a capacidade dos dípteros em tornarem-se hospedeiros intermediários de *Habronema* spp. e *Draschia* sp. são totalmente desconhecidos, e as reações hemocíticas têm demonstrado ser um fator fenotípico importante relacionado à tal fenômeno (BRONSKILL, 1962; SALT, 1963; NAPPI & STOFFOLANO, 1971). A hematologia de insetos vem se desenvolvendo rapidamente, ultrapassando os limites da padronização linguística em estudos fisiomorfológicos de células hemolinfocíticas no universo de espécies pertencentes à Classe Insecta (SCHELL, 1952; WIGGLESWORTH, 1959; BRONSKILL, 1962; SALT, 1963; GRIMSTONE *et al.*, 1967; GUPTA, 1979; KAAYA & RATCLIFFE, 1982). Esta é a base para o entendimento do sistema imunológico, reconhecimento dos fatores e moléculas importantes influentes sobre a vitalidade dos insetos e interação com patógenos; reconhece-se, conseqüentemente as susceptibilidades dos vetores (BOMAN & HULTMARK, 1987; HURD, 1990; STRAND & PECH, 1995). O desenvolvimento de moléculas que atuem mais especificamente contra insetos, ou a seleção de cepas de vetores mais resistentes a determinados patógenos, por exemplo, depende de maiores conhecimentos na área imunológica.

A influência do parasitismo de *H. muscae* e de *H. microstoma* sobre o biocomportamento e o gradiente de resposta do sistema imune de espécies de dípteros, complementa a última idéia tecida aqui: o direcionamento co-evolutivo das espécies interrelacionadas, sobretudo porque os nematóides desenvolvem-se em hospedeiros intermediários obrigatoriamente diferentes, embora filogeneticamente próximos. Sob o aspecto evolutivo, os habronematóides são assumidos em interessante posição, intermediária entre espécies primitivas incluídas na ordem Spirurida e os nematóides mais complexos, os últimos considerados entre espécies alocadas na superfamília Filarioidea (CHITWOOD & CHITWOOD, 1974).

Auxiliadas pelas acessíveis tecnologias contemporâneas, a partir da disseminação de métodos de diagnóstico e tratamento e da discussão ampla dos resultados por especialistas, poderão ser implementadas estratégias inovadoras objetivando o conhecimento profundo e o controle seguro das doenças que afligem os animais e o homem.

## 2.2. Distribuição geográfica e prevalência dos habronematídeos

Os habronematídeos que parasitam estômago de equídeos têm ampla distribuição geográfica, mas apresentam índices de prevalência e intensidade média muito variáveis entre os países. Nas Américas eles foram citados nos E.U.A., México, Panamá, Costa Rica, Venezuela, Brasil, Argentina, Chile, entre outros (FOSTER, 1936; SCIALDO, 1977; DIAZ-UNGRIA, 1979; ALCAÍNO *et al.*, 1980; ALFARO, 1982; REINEMEYER *et al.*, 1984; LYONS *et al.*, 1983, 1984, 1990). Na Europa e Ásia, foram assinalados na Tchecoslováquia, antiga U.R.S.S., Finlândia, Inglaterra, Alemanha, Itália e França (KNEZIK & BELAK, 1972; ZHDNOVA, 1972; LARIONOV, 1976; FINAZZI *et al.*, 1977; PYÖRÄLÄ *et al.*, 1984; BAUER, 1986). No continente africano e Oceania, houve relatos sobre a ocorrência dos habronematídeos nos seguintes países: Marrocos, Egito, Zâmbia, África do Sul, Índia, Japão e Austrália (BULL, 1919; RAI, 1960; KONO, 1980; PANDEY *et al.*, 1981; SCIALDO *et al.*, 1982; SHAMSUL ISLAM, 1985; KRECEK, 1989).

No Brasil, há referências sobre a ocorrência de *Habronema* spp. em São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e no Rio de Janeiro (FREITAS & MARTINS, 1949; COSTA *et al.*, 1986; PAIVA, 1988; LEITE *et al.*, 1997). LEITE *et al.* (1997) descreveram dados sobre prevalência dos habronematídeos em necrópsias de 40 equídeos, procedentes da região metropolitana do Rio de Janeiro. Neste estudo *H. muscae* foi observada em 90 % dos animais, *H. microstoma* em 65 % e *Trichostrongylus axei* em 89,47 %. A amplitude de intensidade de infecção variou de 5 até 1926 exemplares para *H. muscae*, de 2 até

2001 para *H. microstoma*. Esses nematóides foram observados principalmente na região glandular do estômago (84,29%) (formas adultas: 80,32%; formas imaturas: 3,97%) .

### 2.3. Sistemática

Ainda hoje, autores divergem em pontos relacionados à classificação Lineuliana dos habronematídeos nos táxons superiores, mas especialmente àqueles referentes à classificação genérica (CHITWOOD & CHITWOOD, 1974; CHABAUD, 1975). Segundo CHABAUD (1975), a espécie *Habronema muscae* pertence à ordem Spirurida, superfamília Habronematoidea, família Habronematidae. *Habronema microstoma* e *D. megastoma*, duas espécies que também parasitam estômago de equídeos, pertencem à mesma família de *H. muscae*. Alguns autores não admitem o gênero *Draschia*, mas consensualmente a espécie *D. megastoma* é considerada sinônimo de *H. megastoma*, atualmente. Em atenção a considerações contemporâneas da filogenética e evolução das espécies, é recomendada a distinção genérica e a aceitação do parentesco entre *Draschia* sp. e *Habronema* sp., em função de suas peculiaridades biológicas (CHABAUD, 1975).

## 2.4. Ciclo biológico

A biologia dos habronematídeos em seus hospedeiros intermediários foi estudada principalmente no início deste século. Os autores procuraram esclarecer o desenvolvimento e a localização dos nematóides em seus vetores.

As primeiras observações sobre o ciclo biológico de *H. muscae* foram feitas por RANSOM (1911 e 1913). O autor relacionou os nematóides encontrados naturalmente em *M. domestica* com nematóides encontrados no estômago de equídeos, apenas pela semelhança morfológica existente entre eles. RANSOM (1913) descreveu-os, com detalhes, supondo seis estádios larvares encontrados em *M. domestica*. Além disso, ele ilustrou as principais diferenças observadas entre adultos de *H. muscae* e *H. microstoma*. O envoltório dos nematóides encontrados em pupas de *M. domestica* foi descrito como sendo um cisto de parede fina (RANSOM, 1913).

Na Austrália, HILL (1918) realizou um trabalho mais amplo, enfocando o ciclo biológico das três espécies. Procedeu a infecção experimental dos muscídeos por meio de embriões recuperados de fêmeas dos nematóides. As larvas encontradas nos muscídeos foram caracterizadas seguindo a nomenclatura estabelecida por RANSOM (1913). HILL (1918) descreveu as diferenças morfológicas entre as formas larvares das três espécies encontradas nos muscídeos adultos. Denominou de cisto o envoltório dos nematóides encontrado principalmente em adultos muscídeos recém-emergidos do pupário, mas observou que “os estágios iniciais são encontrados livres na hemocele ou encistado no corpo gorduroso das larvas”, referindo-se aos achados das dissecações dos muscídeos.

Trabalhos sobre a biologia dos habronematídeos intramuscídeo foram também realizados por ROUBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922a, 1922b). Houve confirmação dos achados morfológicos prévios de RANSOM (1913) e HILL (1918), entretanto os autores classificaram corretamente apenas três estádios larvares, obtidos através de dissecação de muscídeos, o que é fato bem documentado em outras espécies de Spirurida (DYER & OLSEN, 1967; POINAR & QUENTIN, 1972; QUENTIN & POINAR, 1973). Segundo ROUBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922b), os embriões de *D. megastoma* invadem o epitélio dos túbulos de Malpighi, enquanto *Habronema* spp. alcançam o corpo gorduroso. Os autores notaram que a célula gordurosa altera-se, tornando-se hipertrofiada e sua membrana revela-se espessada (ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922b). Os autores sugeriram que as larvas de *Habronema* sp. em evolução se alimentam do conteúdo celular presente na célula envoltória do hospedeiro e ainda são protegidas por essa membrana, que denominam de “thylacies adipeuse”. No Brasil, MELLO & CUOCOLO (1943b) mencionaram que larvas de muscídeos, inoculadas como L1, se infectam em sua maioria, no segundo e terceiro dias, em fezes de eqüinos mantidas a 37-39° C de temperatura.

Pode-se simplificar o desenvolvimento evolução de *H. muscae* em *M. domestica*: os ovos de *H. muscae* saem junto com fezes dos eqüídeos, onde são ingeridos por larvas dos muscídeos criados nesse meio (RANSOM, 1913; HILL, 1918). Na *M. domestica*, as larvas de primeiro estágio invadem o corpo gorduroso do inseto (RANSOM, 1913; HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922b). Nestas células, desenvolvem-se lentamente e passam por mudanças morfológicas tornando-se mais robustas, forma esta denominada “saucisse” (salsicha) (ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922b), como descrita entre os filarídeos. São então consideradas larvas de segundo estágio (ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1922b).

Depois, nesse mesmo estágio, os espécimens tornam-se alongar, retomando o aspecto vermiforme; a segunda muda ocorre principalmente em pupas adiantadas; as larvas de terceiro estágio são encontradas envolvidas pela cápsula delgada no abdômen dos muscídeos adultos, sendo que posteriormente elas são encontradas livres, na cabeça do inseto (RANSOM, 1913; HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1922b).

O modo de se estabelecer no hospedeiro definitivo não foi bem esclarecido, embora vários autores tenham investigado este assunto (VAN SACEGHAM, 1917; BULL, 1919; JOHNSTON & BANCROFT, 1920; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1922b; TORRES, 1925a, 1925b; MELLO & PEREIRA, 1946). Foi notada a atração das larvas pelo soro eqüino, umidade e temperatura próxima à do animal por TORRES (1925a, 1925b), ROUBAUD & DESCAZEUX (1922b) e MELLO & PEREIRA (1946). Os autores sugerem então que naturalmente a infecção ocorre através da ingestão da mosca, ou mesmo, pelo escape dos nematóides no momento em que os insetos perambulam pela região peri-oral e perinasal dos equídeos. No caso da forma cutânea, as larvas de terceiro estágio são atraídas pela solução de continuidade na pele.



## 2.5. Hospedeiros intermediários (HI) de habronematídeos

*Habronema muscae* demonstrou desenvolvimento completo, até larvas de terceiro estágio, nas seguintes espécies de dípteros pertencentes ao gênero *Musca*: *M. domestica* (HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1923; JOHNSTON & BANCROFT, 1920), *M. sorbens* Wiedmann, *M. fergusonii* Johnston e Bancroft, *M. terrareginae* Johnston e Bancroft, e *M. hilli* Johnston e Bancroft (JOHNSTON & BANCROFT, 1920). Os nematóides também se desenvolveram na espécie da família Sarcophagidae, *Sarcophaga misera* Walker (JOHNSTON & BANCROFT, 1920), em drosofilídeos (CRAWFORD, 1926) e em empidídeos (Brachicera) (MURALIDHAR & RAO, 1991). HILL (1918) evidenciou a possibilidade de *H. muscae* infectar *M. domestica*, e possivelmente, mas raramente *S. calcitrans*, enquanto *H. microstoma* infecta facilmente esta última, mas muito raramente (somente em condições experimentais) se desenvolve em *M. domestica*. Em áreas asiáticas, há relatos do envolvimento de *Haematobia* (sinonímia de *Lyperosia*) *irritans* e *H. exigua*, na transmissão de *H. microstoma* (IVASHKIN *et al.*, 1984).

## 2.6. Reação dos muscídeos, hospedeiros intermediários de habronematídeos

As reações dos insetos aos parasitos metazoários foi discutida revisão de SALT (1963), que concluiu que tais reações dependem exclusivamente da ação dos hemócitos; estas células utilizam a formação capsular e a melanização como formas de defesa para o inseto. A resposta de insetos a parasitos não-preferenciais tende a ser mais intensa do que a parasitos preferenciais,

causando muitas vezes a morte dos mesmos (BRONSKILL, 1962; SALT, 1963; NAPPI & STOFFOLANO, 1971).

A reação tissular de *M. domestica* ao parasitismo por *H. muscae* foi esclarecida, incluindo o papel dos hemócitos na formação capsular por AMADO (1997) e AMADO & REZENDE (1997). O envolvimento dos hemócitos foi registrado a partir do estágio pupal dos muscídeos. As descrições detalhadas nos parágrafos seguintes, foram retiradas destes trabalhos.

A reação dos tecidos de *M. domestica* durante a fase larval foi observada nos cortes histológicos como uma massa simples, hialina, circundando o nematóide. As formas encontradas na dissecação foram vistas no interior de célula, semelhante à célula gordurosa. Não houve indício de reação hemocítica nesse momento, apenas os nematóides se apresentaram envoltos numa massa anucleada.

Na fase pupal, os nematóides foram vistos em vários estádios de encapsulamento. As células arredondadas formaram um aglomerado circular e se mostravam interligadas. Essas células possuíam núcleo com cromatina difusa.

Em adultos faratos, a reação tissular de *M. domestica* foi vista de forma semelhante à fase pupal. Em 5 casos percebeu-se cápsula com aspecto granuloso.

Em adultos recém emergidos do pupário, as cápsulas foram observadas de forma semelhante às vistas em adultos faratos, apresentando normalmente a parede mais delgada. Geralmente, células gordurosas e ramos de traquéias estavam presentes. Os nematóides também foram observados livres no abdômen.

Não foi observado qualquer indício de melanização.

No segmento torácico de dois adultos, no segundo dia após emergência do pupário, nematóides livres foram vistos na aorta; na hemocele, próximo ao tubo digestivo e também entre a musculatura torácica.

Em cortes histológicos de cabeça de adultos, verificou-se a presença de L3 livres na hemocele.

A reação do inseto ao parasitismo por *H. muscae* foi descrito como um processo de encistamento por RANSOM (1913) e HILL (1918), caracterizado como resultado a ação do próprio parasito. ROUBAUD & DESCAZEUX (1921 e 1922b) fazem menção à ação conjunta dos “fagócitos” que ajudam na formação da “thylacie”, estrutura que na opinião destes ajuda na proteção do parasito. Entretanto, os entomologistas SALT (1963) e NAPPI e STOFFOLLANO (1971) questionaram a descrição do envoltório, e supuseram-no, na verdade, uma formação capsular. Seguindo os conceitos modernos das reações hemocíticas dos insetos (SALT, 1963) e as descrições fornecidas sobre as reações de dípteros (BRONSKILL, 1962; NAPPI, 1970; NAPPI & STOFFOLLANO 1971; BARTLETT, 1984; O’HARA & KENNEDY, 1991), torna-se evidente que o processo descrito nos quatro primeiros parágrafos dessa seção é uma reação hemocítica que culmina na formação capsular, como já descrito em larvas de *M. domestica* infectadas por *Heterotylenchus autumnalis* Nickle (Nematoda: Sphaerulariidae), nematóide que parasita usualmente *Musca autumnalis* De Geer (Diptera: Muscidae). Neste caso, a reação hemocítica e a encapsulação formada por larvas de *M. domestica* inibiram o desenvolvimento do nematóide (NAPPI & STOFFOLLANO, 1971). Em *M. autumnalis* parasitadas por *Thelazia skrjabini* Ershow (Nematoda: Thelaziidae) há também evidente formação capsular envolvendo larvas de segundo e terceiro estádios do nematóide (O’HARA & KENNEDY, 1991). De acordo com a visão de SALT (1963), há uma etapa

preliminar denominada como fase de aglomeração, onde os hemócitos envolvem os parasitos. Em seguida, há uma fase sincicial, culminando finalmente na formação capsular, onde se percebe, à microscopia ótica, uma massa envoltória anucleada, de aparência hialina e homogênea.

Vários autores comentaram sobre a possibilidade de vetores de espécies de *Habronema* sp. terem sua vitalidade diminuída, em função do parasitismo (HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921, 1922; NAPPI & STOFFOLLANO, 1971), mas não há confirmação desta hipótese através de procedimentos experimentais.

## **2.7. Reação dos hospedeiros intermediários de espécies de nematóides da ordem Spirurida**

Quando se compara a morfologia das formas evolutivas (L1, L2 e L3), a reação do hospedeiro intermediário (HI) e o modo de infecção do hospedeiro definitivo (HD) expressos pelos membros da ordem Spirurida, observa-se que larvas de primeiro estágio dos grupos mais primitivos infectam invertebrados adultos. Normalmente, são encapsulados fortemente pelos hemócitos e, passivamente, permanecem dentro do HI, até serem ingeridos pelo HD. Vários trabalhos comprovam este tipo de ciclo para diversas espécies de nematóides heteroxenos (SCHELL, 1952; BRONSKILL, 1962; DYER & OLSEN, 1967; POINAR & QUENTIN, 1972; QUENTIN & POINAR, 1973; CAWTHORN & ANDERSON, 1977; ANDERSON & WONG, 1982; GRAY & ANDERSON, 1982; WONG & ANDERSON, 1982, 1987; O'HARA & KENNEDY, 1991). Uma exceção é notada no ciclo de *T. skrjabini* em relação à última característica, pois essa espécie abandona ativamente seus hospedeiros intermediários. Entretanto, *H. muscae* infecta muscídeos na fase larval, é encapsulado levemente, e migra ativamente para a probóscide na tentativa de alcançar o hospedeiro definitivo. Os filarídeos tem

hábitos semelhantes aos habronematídeos durante sua fase evolutiva no HI, sendo os primeiros considerados mais evoluídos (BARTLETT, 1984). Filarídeos normalmente utilizam dípteros em seu ciclo biológico, enquanto membros de Spirurida primitivos (Physalopteroidea, Rictularioidea, Thelazioidea, Spiruroidea) utilizam ortópteros e coleópteros (POINAR & QUENTIN, 1972; QUENTIN & POINAR, 1973; POINAR & HESS, 1974; CAWTHORN & ANDERSON, 1977; ANDERSON & WONG, 1982; GRAY & ANDERSON, 1982).

## **2.8. Cibernética**

Cibernética é a ciência que estuda as relações e os mecanismos de comunicação e de controle nas máquinas e nos seres vivos. Os avanços científicos e tecnológicos vêm sendo rapidamente viabilizados domesticamente e cosmopolitamente, no final deste século. Os computadores pessoais e a rede mundial de computadores são dois exemplos adequados dessas inovações. *Softwares* estão mais disponíveis e cada vez são mais acessíveis, financeiramente. As informações e o conhecimento científicos também obedecem essa tendência, principalmente se referindo à Internet. Entretanto, é necessário estabelecer padrões, dentro da metodologia científica, que incluam esse conhecimento ‘virtual’, mas que imponha limites para sua validação, visando garantir a segurança da informação. Assim, é aconselhável restringir informações anônimas e que não tenham caráter regular (disposição contínua). Por essa razão, vale relevar o cuidado e a ética na utilização dessas informações disponíveis através da Internet. Estes aspectos vêm sendo discutidos por alguns grupos de cientistas (CRANE, 1997; JULIA *et al.*, 2000; BYRD, 2000).

## 2.9. Modelos teóricos

Os modelos matemáticos constituem uma das ferramentas utilizadas há muito tempo para entender, prever e interferir em muitos fenômenos astronômicos, físicos e químicos, entre outros. Na biologia, apenas ultimamente tem se difundido e se consolidado o emprego desses processos teóricos. Atualmente, são utilizados modelos matemáticos em diversas áreas da biologia.

Na área biomédica modelos matemáticos são utilizados desde o controle da quimioterapia de aidióticos (KIRSCHNER *et al.*, 1997), na conduta terapêutica da tuberculose (CASTILHO-CHAVEZ & FENG, 1997), na análise da progressão de neoplasias (FRIEDMAN & REITICH, 1999) e até na compreensão fisiológica dos neurônios (BRESSLOFF, 2000).

Em Parasitologia, diversos modelos e programas vêm sendo propostos nos últimos anos. Provavelmente, a área relacionada mais desenvolvida nessa direção é a Entomologia. Modelos que preveem a dinâmica populacional de parasitos e que reconhecem o comportamento do parasitismo são numerosos na literatura (HOUSTON *et al.*, 1988; ZUBEN *et al.*, 1993; GATTO & DE LEO, 1998; PUGLIESE *et al.*, 1998; ROBERTS & HEESTERBEEK, 1998).

Dois tipos básicos de modelos matemáticos são universalmente consolidados nas diversas áreas científicas: os denominados determinísticos e os estocásticos. Os modelos determinísticos utilizam equações para descrever a dinâmica do tamanho das classes epidemiológicas (número de indivíduos infectados, susceptíveis, não-susceptíveis; carga parasitária, intensidade de virulência, entre outros exemplos) em função do tempo ou outra variável. Os modelos estocásticos descrevem as probabilidades de transição de uma classe a outra. Normalmente, os modelos determinísticos são mais simples, não incluem a função do acaso e não apresentam os dados

gerados com intervalo de confiança. O resultado da simulação sempre será o mesmo, quando se repetir o valor de entrada de uma variável requisitada. Os modelos estocásticos relevam o papel do acaso, mas são mais difíceis de serem interpretados. O resultados gerados nas simulações não serão, necessariamente, os mesmos quando se repetir o valor de entrada de uma variável requisitada. (MASSAD,1992; DIEKMANN *et al.*, 1998; STRUCHINER *et al.*, 1998; HERBERT & ISHAM, 2000).

É notável o avanço matemático na predição da dinâmica populacional das espécies de insetos e ácaros de interesse econômico. Índices reprodutivos, estratégias comportamentais, índices populacionais e a relação desses grupos com a vetoração de patógenos vêm sendo estudados há muito tempo, a partir de estudos laboratoriais (HAGSTRUM & MILLIKEN, 1991; MOUNT *et al.*, 1991; HAILE *et al.*, 1992; HENSON & CUSHING, 1997; HENSON, 1999).

Entretanto, entre os helmintos dos animais domésticos são escassas as relações matemáticas com caracteres biológicos, apesar dos inúmeros inquéritos epizootiológicos realizados durante o presente século. Nenhuma tentativa de discutir estes fatores foi realizada para as espécies incluídas na família Habronematidae.

## **2.10. Técnicas bioquímicas e suas aplicações em Parasitologia**

Diversas técnicas foram desenvolvidas na consolidada ciência denominada Bioquímica. Muitos dos métodos estão disponíveis em estudos biomédicos. Em suas interfaces com a Parasitologia, pode-se destacar a utilização da eletroforese e da cromatografia na caracterização e separação de diversos compostos orgânicos. Assim, estas ferramentas são úteis na identificação

de proteínas antigênicas dos parasitos e na quantificação da resposta imunológica e/ou patológica dos seus hospedeiros. De uma forma sintética, pode-se conceituar eletroforese como a técnica na qual são fracionados compostos orgânicos, principalmente proteínas e nucleotídeos, baseado nas propriedades elétricas das moléculas. Ou seja, moléculas que possuam carga líquida diferente de zero (sejam positivas ou negativas) deverão migrar dentro de um campo elétrico conhecido, atraídas pela polaridade oposta à sua carga líquida. As cargas são fornecidas basicamente pelos radicais amínicos e carboxílicos dos aminoácidos, no caso de proteínas. A velocidade da migração ou corrida eletroforética dependerá, sobretudo, da carga elétrica da própria molécula, da intensidade do campo, do atrito com o meio e do pH da solução onde a migração ocorre (se utilizam géis de celulose, amido, poliacrilamida, entre outros). Portanto, vários fatores podem influenciar a velocidade de migração, mas normalmente diante da complexidade estrutural das proteínas e dos nucleotídeos, e conseqüentemente das diferenças inerentes às suas propriedades elétricas, torna-se possível a separação de suas frações durante a corrida eletroforética, em razão das diferentes velocidades de migração impelidas por cada grupo de moléculas. A migração das moléculas obedece uma progressão logarítmica, razão pela qual são confeccionadas curvas de calibração relativas à corrida dos padrões protéicos. Conseqüentemente, há necessidade de controle do pH do meio, da intensidade do campo elétrico, da porosidade dos géis. A diferenciação é possível mesmo em moléculas tão semelhantes estruturalmente como as isoenzimas, pois sempre existem diferenças nas seqüências dos aminoácidos formadores (estrutura primária), conseqüentemente em sua organização estrutural superior (estruturas secundária, terciária e quaternária), que determinam diferença na velocidade de migração destas moléculas. Atualmente, é possível por meio de *softwares* integrar a imagem das frações dos géis corados e construir gráficos densitométricos que relacionem a intensidade de imagem e a



mobilidade relativa das frações moleculares. Assim, pode-se obter subsídios para uma discussão precisa, qualitativa e quantitativamente (TORGGLER *et al.*, 1996; KARSHER & EPSTEIN, 1998; ULLMAN *et al.*, 1998; NAOUM, 1999)

Muitos métodos modernos em biomedicina foram derivadas e relacionados à essas técnicas bioquímicas, tais como a imuno-elektroforese e imunoquímica, atualmente sendo utilizadas na rotina de laboratórios clínicos (KRICKA, 1998). Portanto, estas técnicas são utilizáveis na questão imunológica da relação parasito-hospedeiro, sendo aplicáveis na busca da fisiopatologia, diagnose e profilaxia de doenças parasitárias. Também é útil em estudos taxonômicos, principalmente através de diferenciação isoenzimática entre espécies e subespécies.

### **3. CARACTERIZAÇÃO PROTÉICA DE ADULTOS DE *Habronema muscae* Carter E *Habronema microstoma* Schneider (NEMATODA: HABRONEMATIDAE)**

#### **3.1. INTRODUÇÃO**

A principal implicação patológica provocada pelos habronematídeos é exercida pelas formas imaturas, após abandono das larvas de terceiro estágio dos muscídeos vetores e sua transferência ocasional para a derme dos eqüídeos, facilitada por uma solução de continuidade. A localização errática dessas larvas pode causar a denominada habronemose cutânea, conjuntival e pulmonar, lesões que provocam transtornos aos proprietários e depreciação econômica dos animais (BULL, 1919; FREITAS & MARTINS, 1949; SOULSBY; 1982).

Atualmente, o diagnóstico mais confiável nesse caso é realizado através de histopatologia, uma técnica pouco acessível e inviável na rotina de laboratórios clínicos veterinários. A identificação ou caracterização, rotineiramente, seja protéica ou nucleotídica, fornecerão importantes subsídios para o aperfeiçoamento técnico na área de diagnóstico, prevenção e controle de parasitos de importância veterinária ou em saúde pública (FLAUSINO *et al.*, 1997). Estes estudos podem

evidenciar ou explicar a diversidade do comportamento patogênico ou imunogênico das diferentes espécies de habronematídeos. Com o objetivo de caracterizar as diferenças protéicas inter ou intra-específica das espécies envolvidas na família Habronematidae, foi realizada a corrida eletroforética de proteínas das duas mais frequentes no país, incluídas no gênero *Habronema* Carter, 1861: *H. muscae* Carter (Diesing, 1861) e *H. microstoma* Schneider, 1866.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de habronematídeos foram coletados em dois eqüinos, naturalmente infectados, necropsiados na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Os espécimens foram mantidos em solução salina (NaCl a 0,85%) antes de serem identificados. A identificação foi realizada com o auxílio de microscópio ótico, seguindo a caracterização morfológica de RANSOM (1913). As amostras de machos e fêmeas de *H. muscae* e *H. microstoma* constituíram os quatro tratamentos submetidos a esse estudo. Obteve-se o extrato bruto total por maceração de dez exemplares/tratamento, em tampão fosfato (PBS), em pH 7,4. Procedeu-se a dosagem de proteínas solúveis totais, segundo o método do reagente de Folin, pelo qual obteve-se 9,718 mg/ml para machos e 10,50 mg/ml para fêmeas de *H. muscae*; 18,29 mg/ml para machos e 32,44 mg/ml para fêmeas de *H. microstoma*. Realizou-se a eletroforese em gel de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)-poliacrilamida a 10% (proporção bis-acrilamida: acrilamida igual a 1: 29), em sistema descontínuo vertical. Padronizou-se a utilização de 60 µg de extrato protéico para cada repetição. A corrida foi realizada a 80 V, 25 mA e 15 W, para a separação e revelação das moléculas conforme a mobilidade relativa no proteinograma. Foi utilizada uma curva de

calibração, de padrões de peso molecular contendo: lisozima (14,3 KiloDalton - KDa), tripsinogênio (24 KDa), pepsina (34,7 KDa), ovoalbumina (45 KDa) e albumina bovina (66 KDa), como parâmetro para a corrida eletroforética (Tabela 3.1 e Figura 3.1). Após montagem dos géis, foi realizada a análise comparativa de pelo menos quatro repetições/tratamento, e, entre os tratamentos, para a qual confeccionou-se gráficos densitométricos através do programa computacional Band Leader Version 3.00 (Copyright M. Aharoni, Israel, 1994-1997). O programa analisa a intensidade de imagem que possui índices com amplitude variando de 0 a 250.

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise eletroforética revelou perfis protéicos distintos entre os tratamentos. A comparação das áreas superiores das bandas protéicas de peso molecular de 22 e 26 KDa, relacionadas ao período do intervalo entre 0,32 a 0,40 de Mobilidade Relativa (MR), evidenciou uma área relativamente menor para a banda P26 de *H. microstoma*, quando comparada com a contígua P22; essa desproporção revelou-se menos acentuada no caso de *H. muscae* (Figura 3.2).

A análise intra-específica de *H. muscae* evidenciou que a espécie possui moléculas protéicas com variações de 7,9 a 48,7 KDa (Figuras 3.3 e 3.4). Para a caracterização sexual de *H. muscae* foram utilizadas as bandas de 13 e 22 KDa, relativamente superiores nas fêmeas e a de 38 KDa, que é superior nos machos. Esta última banda (P38) apresentou invariavelmente intensidade de imagem maior que a banda P22 nos machos desta espécie.

A análise intra-específica de *H. microstoma* evidenciou que espécie possui moléculas protéicas com variações de 8,8 a 38,8 KDa. A principal banda, que pode ser utilizada para caracterização específica é a de 26 KDa. A banda P22 apresenta densitometria claramente superior

em fêmeas de *H. microstoma* (>150), o que as diferenciam dos demais tratamentos (Figuras 3.5 e 3.6).

As variações observadas no presente estudo permitem inferir que as espécies estudadas são fenotipicamente distintas e a ocorrência de alguns marcadores sexuais possibilita a diferenciação intra-específica. A busca de moléculas específicas, que caracterizem as três espécies dessa família e o reconhecimento das que possuam propriedades antigênicas ou imunogênicas, será necessária para o esclarecimento dos diferentes graus de virulência exercidos por essas espécies em seus hospedeiros.

A caracterização do conteúdo protéico total através de eletroforese não poderia ser utilizada para a diferenciação específica sistemática, pois seria muito difícil e pouco confiável. Entretanto, subsídios precisos para caracterização taxonômica poderiam ser obtidos a partir de estudos que enfoquem a separação enzimática, como utilizada em plantas e preconizada para outras espécies de nematóides (DICKSON *et al.*, 1971; ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU, 1985; ALFENAS *et al.*, 1991; TORGGLER *et al.*, 1996).

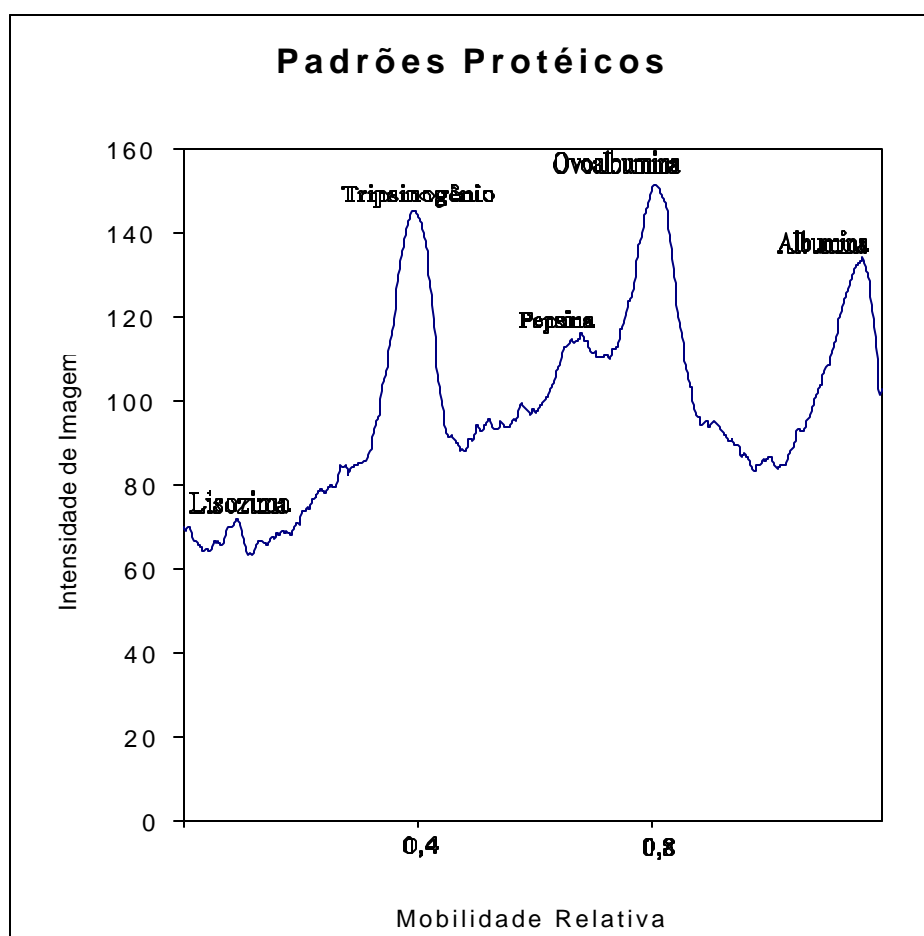
A caracterização molecular espécies-alvo poderá servir para o entendimento da predisposição individual ou hipersensibilidade de equídeos relacionados à evolução da habronemose cutânea. Também pode embasar o desenvolvimento de técnicas para fins diagnósticos que evidenciem a infecção gástrica ou dérmica dos habronematídeos eficaz e especificamente. Inferências filogenéticas poderão ser realizadas através de comparações com estudos sobre a evolução molecular; entre estes, a evolução das proteínas e dos nucleotídeos, atualmente moléculas suficientemente manipuláveis (FUTUYAMA, 1992; EPE *et al.*, 1995).



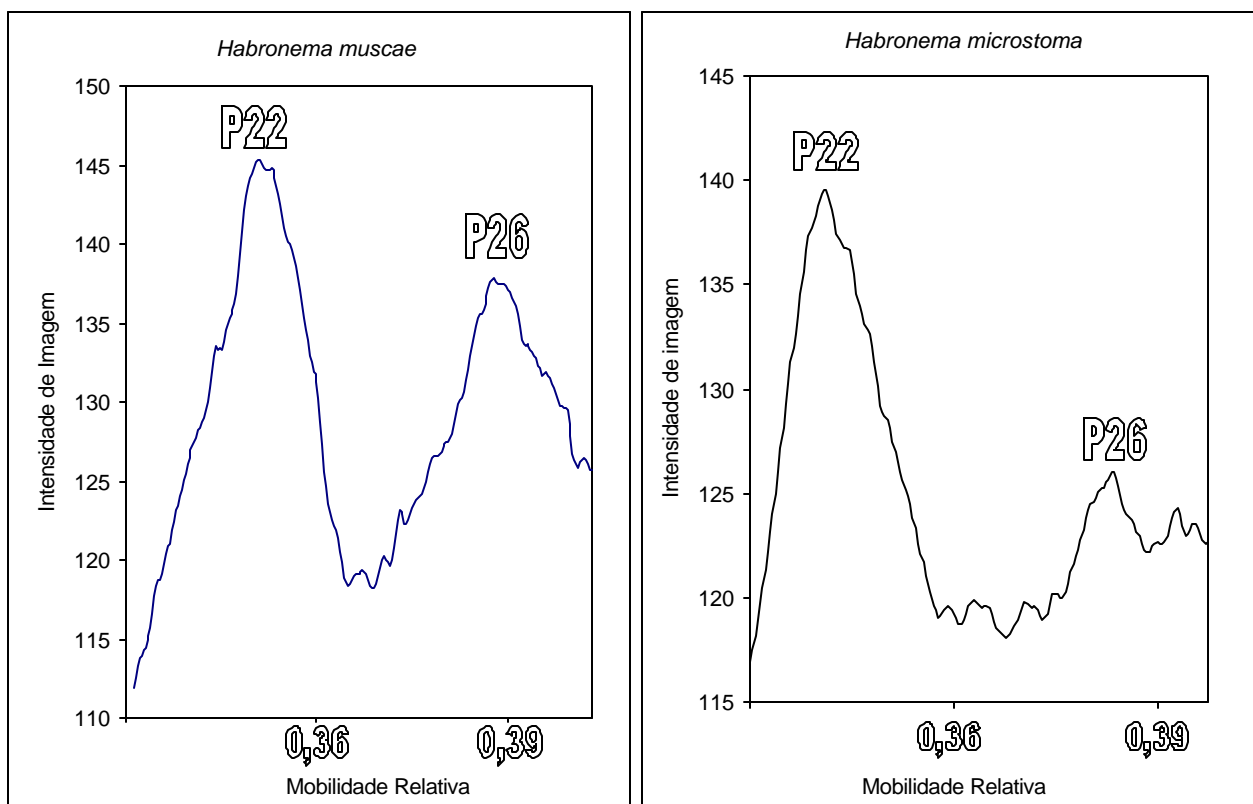
**Tabela 3.1. Mobilidade relativa (MR) e Peso molecular (PM) de cinco padrões protéicos utilizados como referenciais para comparação da migração eletroforética.**

<b>Padrões protéicos*</b>	<b>Mobilidade Relativa</b>	<b>Peso Molecular (KDa)</b>
Albumina Bovina	0,92	66
Ovoalbumina	0,87	45
Pepsina	0,63	34,7
Tripsinogênio	0,42	24
Lisozima	0,21	14,3

\*Padrões produzidos por Sigma Chemical Company, 1998.



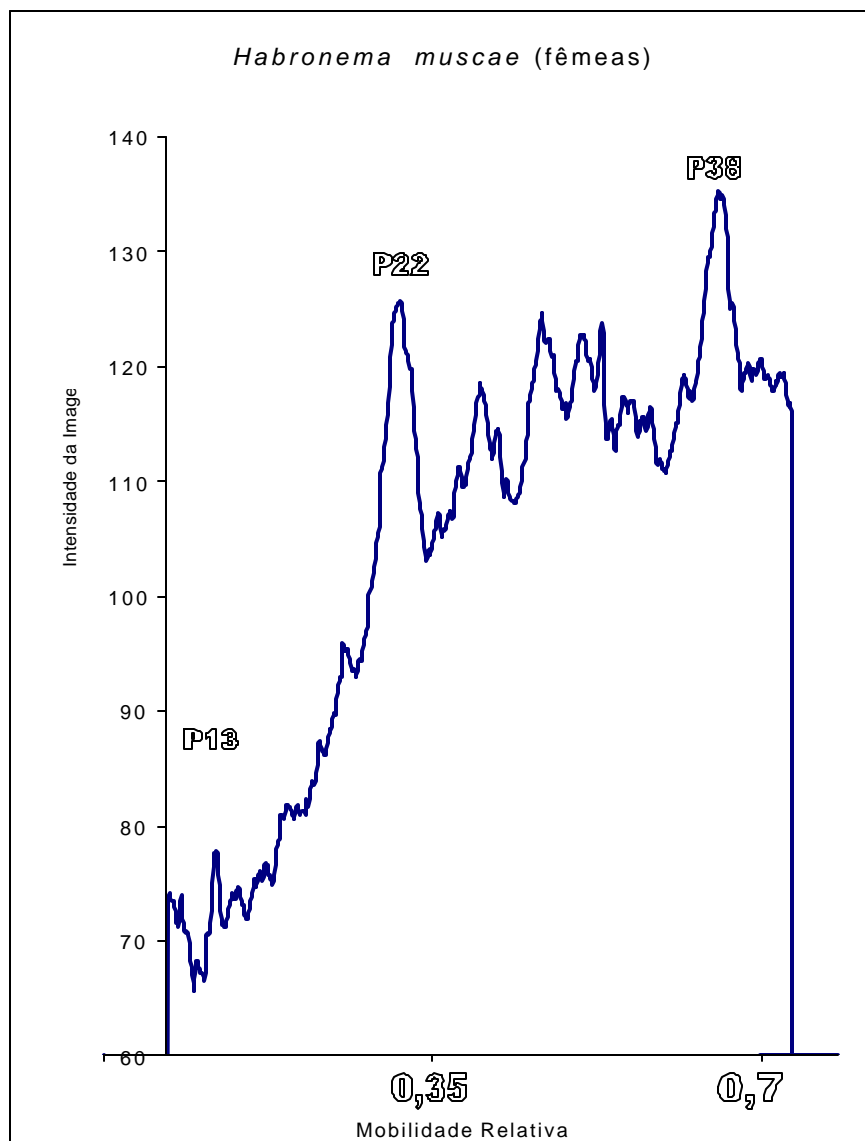
**Figura 3.1. Gráfico densitométrico de cinco padrões protéicos utilizados como referenciais para comparação da migração eletroforética.**



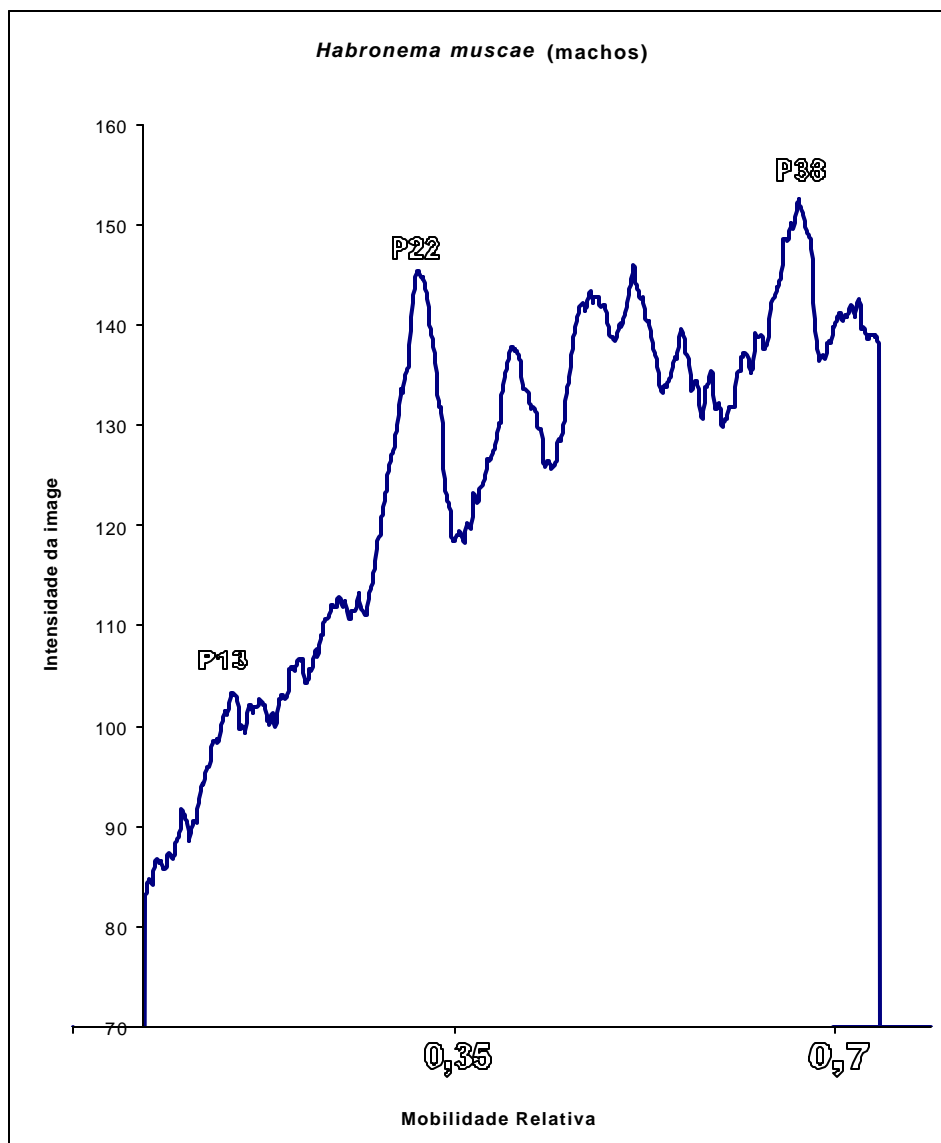
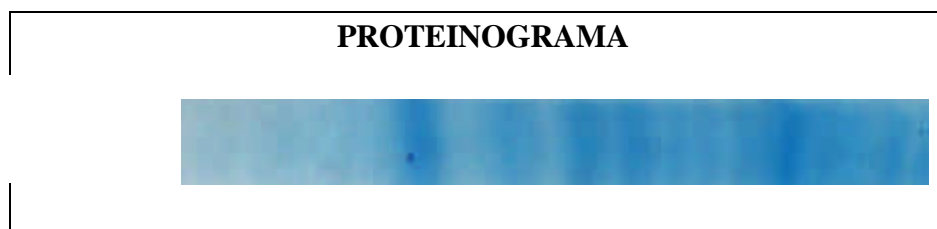
**Figura 3.2. Gráficos densitométricos e pesos moleculares estimados (P22 e P26) do fracionamento do conteúdo protéico de *Habronema muscae* e *Habronema microstoma*, a partir da migração eletroforética. Análise comparativa dos intervalos selecionados entre 0,32 e 0,40 de Mobilidade Relativa.**



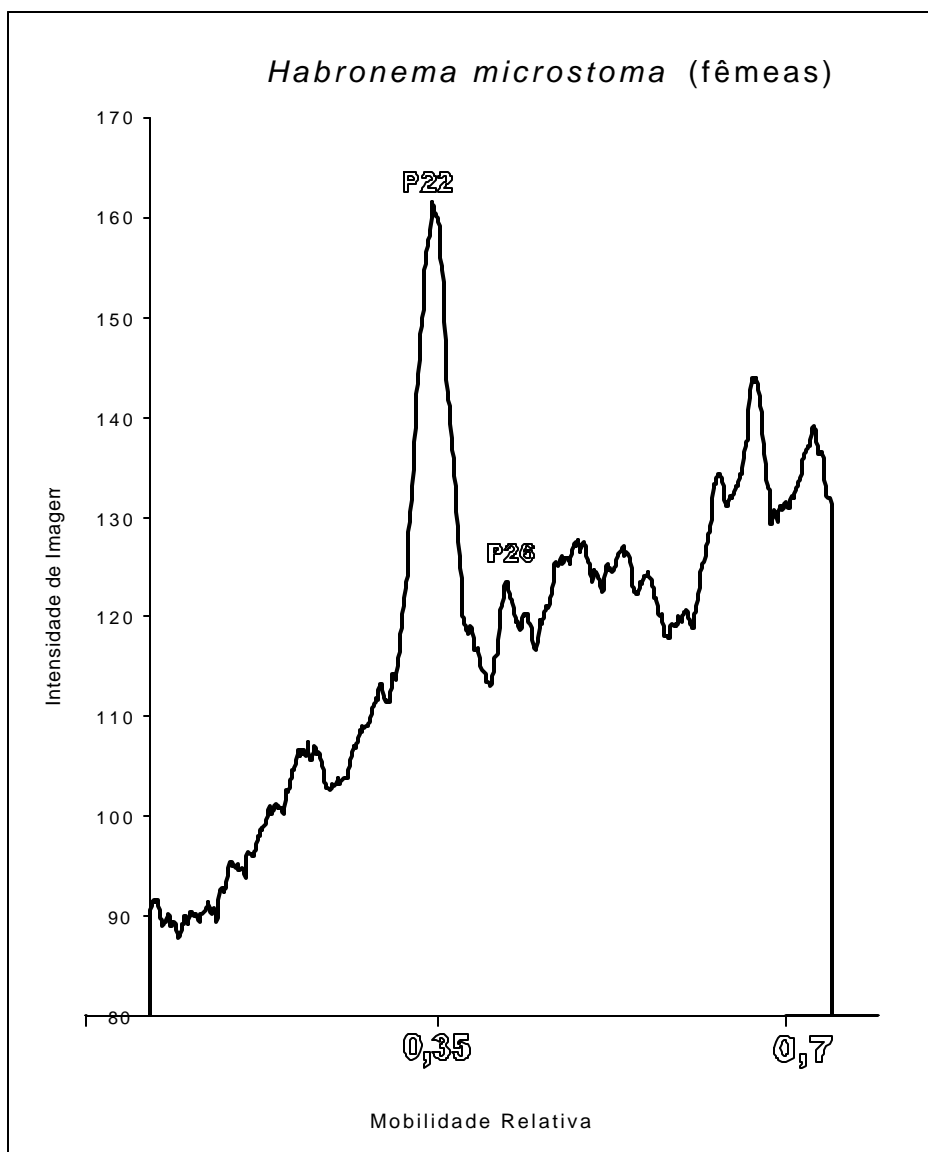
# PROTEINOGRAMA



**Figura 3.3.** Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P38) do fracionamento do conteúdo protéico de fêmeas de *Habronema muscae*, a partir da migração eletroforética.

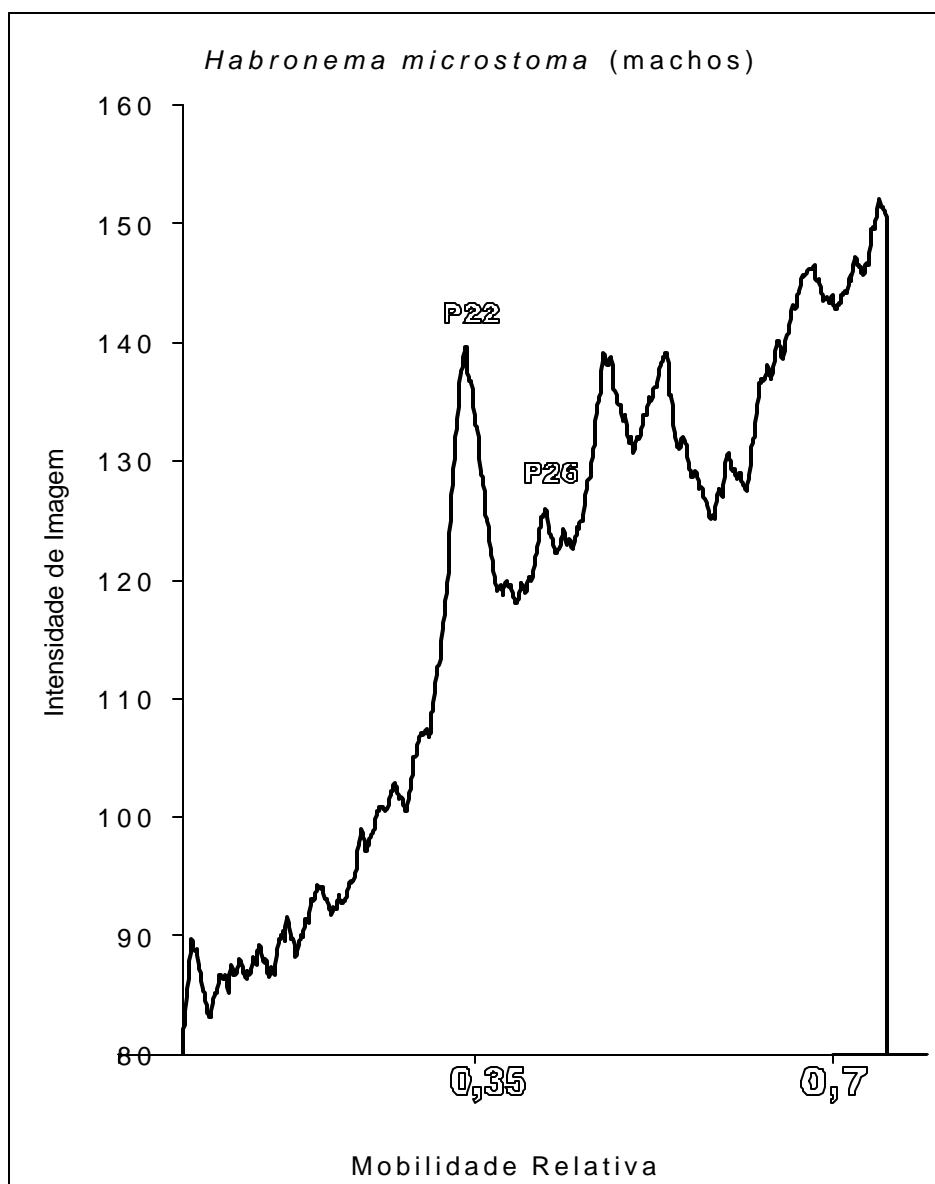


**Figura 3.4.** Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P38) do fracionamento do conteúdo protéico de machos de *Habronema muscae*, a partir da migração eletroforética.



**Figura 3.5. Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P26) peso molecular estimado do fracionamento do conteúdo protéico de fêmeas de *Habronema microstoma*, a partir da migração eletroforética.**

# **PROTEINOGRAMA**



**Figura 3.6.** Proteinograma, gráfico densitométrico e pesos moleculares estimados (P22 e P26) do fracionamento do conteúdo protéico de machos de *Habronema microstoma*, a partir da migração eletroforética.

## **4. LONGEVIDADE DE *Musca domestica* (DIPTERA:MUSCIDAE) PARASITADAS POR *Habronema muscae* (NEMATODA: HABRONEMATIDAE)**

### **4.1. INTRODUÇÃO**

Entre os helmintos que acometem os equídeos, os habronematídeos revelam sua importância, pois, embora uma alta ou média intensidade de infecção não demonstre um quadro clínico expressivo, o parasitismo potencializa a ocorrência de lesões gástricas, além das denominadas feridas de verão, relacionadas ao ciclo errático do parasito. Por outro lado, a participação ativa dos vetores biológicos das espécies incluídas no gênero *Habronema* Carter (Diesing) (Nematoda: Habronematidae) é fundamental na disseminação deste e vários outros agentes patógenos de grande importância médico-sanitária.

A literatura especializada existente nos fornece subsídios para a compreensão do desenvolvimento biomorfológico do nematóide em seu hospedeiro intermediário (RANSOM, 1913; HILL, 1918) e a evidenciação do modo de escape das formas infectantes

do aparelho bucal do díptero (MELLO & CUOCOLO, 1943b). Recentemente, descreveu-se o mecanismo de resposta do inseto ao parasitismo como uma reação hemocítica, que culmina na encapsulação do nematóide (AMADO, 1997). Contudo, até o momento, ignora-se a possível ocorrência de interferências fisiológicas, causadas pela passagem do helminto, no corpo em desenvolvimento do muscídeo. Tais interferências poderiam contribuir para modificar a dinâmica das populações naturais destes vetores.

O estudo direcionado à interação hospedeiro invertebrado-parasito tem revelado efeitos nocivos sobre a reprodução, crescimento e comportamento de alguns hospedeiros. O conhecimento das estratégias de sobrevivência co-evolutivas destes espécimens poderia auxiliar em seu controle (HURD, 1990). Baseado neste propósito, investigou-se, comparativamente, a longevidade de dípteros parasitados e não parasitados na associação entre *M. domestica* e *H. muscae*. Todavia, a amplitude e o caráter multidisciplinar do tema indicam um vasto campo de pesquisa a ser explorado.

## **4.2. MATERIAL E MÉTODOS**

Utilizaram-se, no experimento, larvas de *M. domestica* com aproximadamente 30 hs de idade, pertencentes à segunda geração. A dieta artificial era constituída de uma mistura de farelo de trigo, farinha de peixe e levedo de cerveja (proporção de 4:2:1 partes, respectivamente), umedecida com água destilada. Observou-se a relação de dois gramas por larva. Aos adultos, forneceu-se, diariamente, solução de mel a 50 %, leite em pó e água destilada.

Durante a necrópsia de dois eqüinos, foram coletadas da mucosa do estômago, formas adultas de *Habronema* sp. Após o inventário, 120 fêmeas de *H. muscae* foram maceradas em gral e pistilo, resultando numa suspensão de, aproximadamente, 14.000 ovos íntegros do nematóide por ml de soro fisiológico. Utilizaram-se três repetições por tratamento, inoculando-se 80 neolarvas de *M. domestica* por repetição, considerando-se os grupos controle negativo (livre de infecção) e infectado. Um terceiro lote, controle positivo, constituiu-se de 20 larvas por repetição (x3), tendo por objetivo ratificar e quantificar a infecção dos adultos de *M. domestica* recém emergidos pelas formas infectantes de *H. muscae*, como parâmetro para o grupo infectado. Foi utilizado um volume de inóculo de 500 ovos de *H. muscae*/larva de *M. domestica* nos grupos infectado e controle positivo.

Os tratamentos foram mantidos em câmara climatizada, regulada a 27 °C de temperatura, 60 ± 10% de UR e 14 h de fotofase. Após a pupariação, os muscídeos foram individualizados e mantidos em tubos de ensaios, contendo vermiculita. Após a emergência, agrupou-se 25 casais por repetição (x3), distribuindo-os em gaiolas. Estes lotes foram mantidos sob condições ambientais, no laboratório. Diariamente, os indivíduos mortos eram retirados das gaiolas e dissecados. A temperatura e UR (%) foram registradas com auxílio de um termohigrógrafo. Obteve-se valores médios de 26,3 °C de temperatura (amplitude total: 21,9 – 28,9 °C) e 67 % de UR (amplitude total: 57 % – 76 % UR). Não houve controle de luz.

A longevidade média esperada e o tipo de curva de sobrevivência das amostras foram obtidos, baseando-se em um modelo de linearização, através da aplicação da função de Weibull. A aplicação de uma regressão linear simples permitiu a comparação dos

coeficientes angulares, das equações linearizadas, dos dois tratamentos (SGRILLO, 1982). A influência do sexo e do parasitismo sobre a longevidade, foram avaliados através de análise fatorial da variância (ZAR, 1996). Utilizou-se, para os testes, o nível de 95 % de confiança.

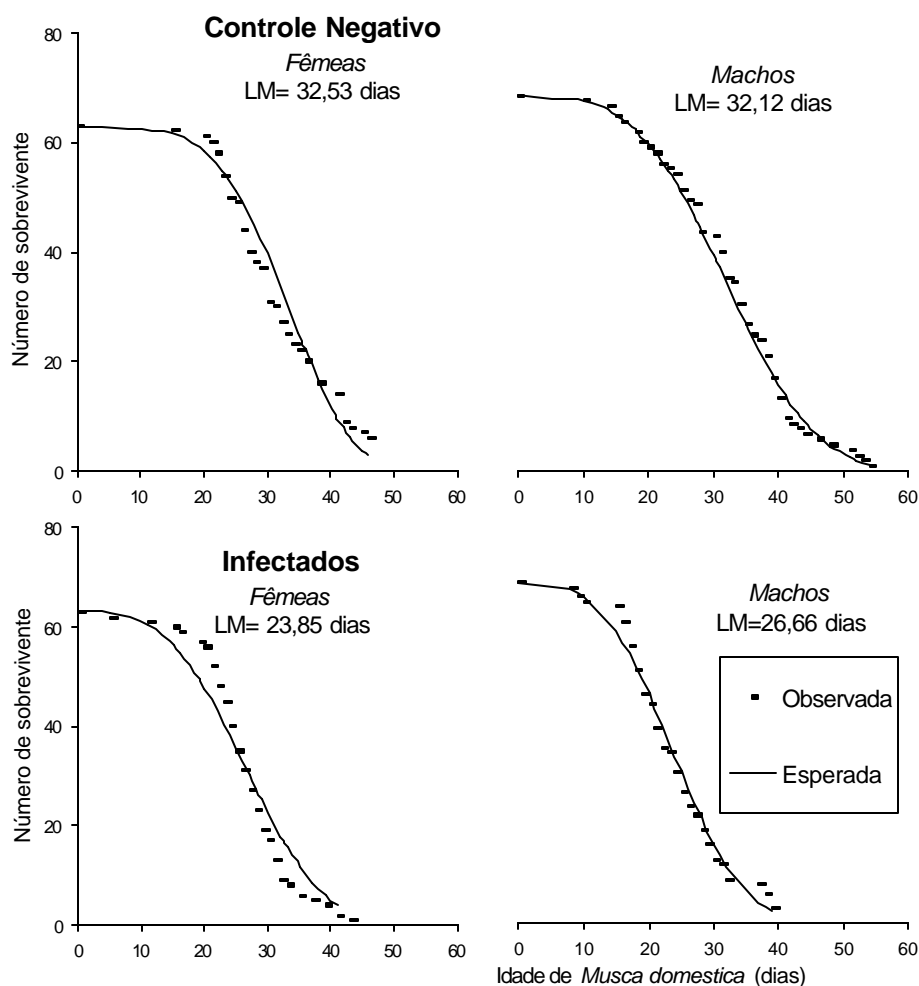
Os termos ecológicos utilizados neste estudo, como intensidade e abundância médias e prevalência obedeceram os conceitos de BUSH *et al.*, 1997.

#### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos demonstraram concordância entre os valores das curvas de sobrevivência observadas e esperadas. Evidenciou-se, tanto no grupo controle negativo quanto no grupo infectado, uma taxa de mortalidade de *M. domestica* crescente com o tempo (Figura 4.1).

Observou-se uma redução significativa no tempo de sobrevivência média dos adultos de *M. domestica* infectados por *H. muscae* quando comparado ao grupo controle negativo (24,72 e 31,53 dias, respectivamente); contudo, não houve influência do fator sexo sobre esta variável.





**Figura 4.1.** Curvas de sobrevivência observadas (traços) e esperadas (linha) e longevidade média (LM) de machos e fêmeas de *Musca domestica*, oriundos de larvas não submetidas (grupo Controle negativo) e submetidas à infecção (grupo Infectado) por *Habronema muscae*, em condições experimentais. A linearização utiliza a distribuição de Weibull.

O grupo controle positivo exibiu uma abundância média de 7,2 larvas infectantes de *H. muscae* por adulto de *M. domestica*. Somente um muscídeo não estava infectado. Os dípteros pertencentes ao grupo infectado (machos e fêmeas) apresentaram uma abundância média de 3,19 formas infectantes por indivíduo. Ao excluir-se os exemplares que

apresentavam-se livres de infecção, admitiu-se uma intensidade média de 4,14 larvas por indivíduo. Observou-se, em dieta artificial, a mesma susceptibilidade de infecção para machos e fêmeas de *M. domestica* (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1. Taxa de sobrevivência de muscídeos imaturos, abundância média e prevalência de infecção avaliadas em adultos de *Musca domestica* oriundos de larvas expostas ao parasitismo por *Habronema muscae*, em condições experimentais (Temperatura média: 26,3 °C; UR: 57-76 %).**

Tratamento	Sobrevivência (%) <sup>2</sup>	Número de indivíduos dissecado	Abundância média <sup>1</sup>				Prevalência (%) <sup>2</sup>
			<i>Machos</i>		<i>Fêmeas</i>		
			$\chi \pm DP^3$	Amplitude	$\chi \pm DP$	Amplitude	
<b>Controle positivo</b>	86,50 a	52	8,34±1,8 Aa	01-23	6,20±1,85 Aa	0-21	98,26 a
<b>Infectado</b>	89,58 a	134	3,09±1,13 Bb	0- 11	3,30±0,30 Bb	0-14	79,86 b

<sup>1</sup> Oferta de, em média, 500 ovos de *H. muscae* por *M. domestica*

<sup>2</sup> Para análise estatística os dados em % foram transformados através de  $p' = \arcseno(p)^{1/2}$ .

<sup>3</sup> Valores seguidos pela mesma letra (minúscula para colunas e maiúscula para linhas) não diferem entre si pelo teste T de Student, ao de nível de 95% de confiança.

Os resultados esquematizados nas figuras 4.2 e 4.3 sugerem uma relação inversa entre a longevidade dos muscídeos e a intensidade média de parasitismo. Este fato pode justificar a diferença significativa entre as prevalências observadas para os grupos controle positivo e infectado (Tabela 4.1).

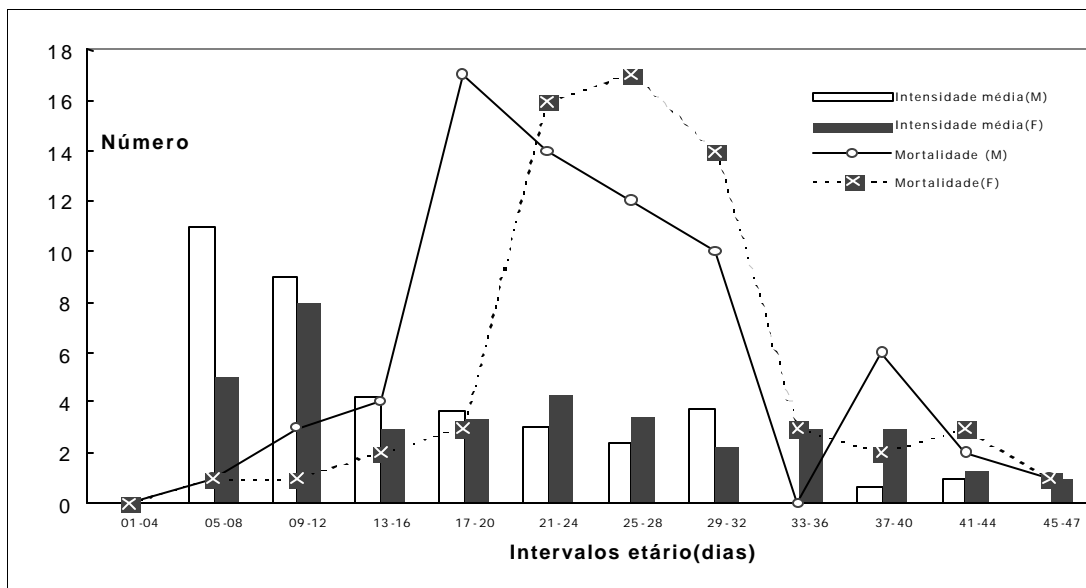


Figura 4.2. Intensidade média de infecção e frequência de mortalidade de adultos de *Musca domestica* pertencentes ao grupo infectado, originados de larvas submetidas à infecção por *Habronema muscae*, em intervalos etários dos adultos. (M=Macho e F= Fêmea)

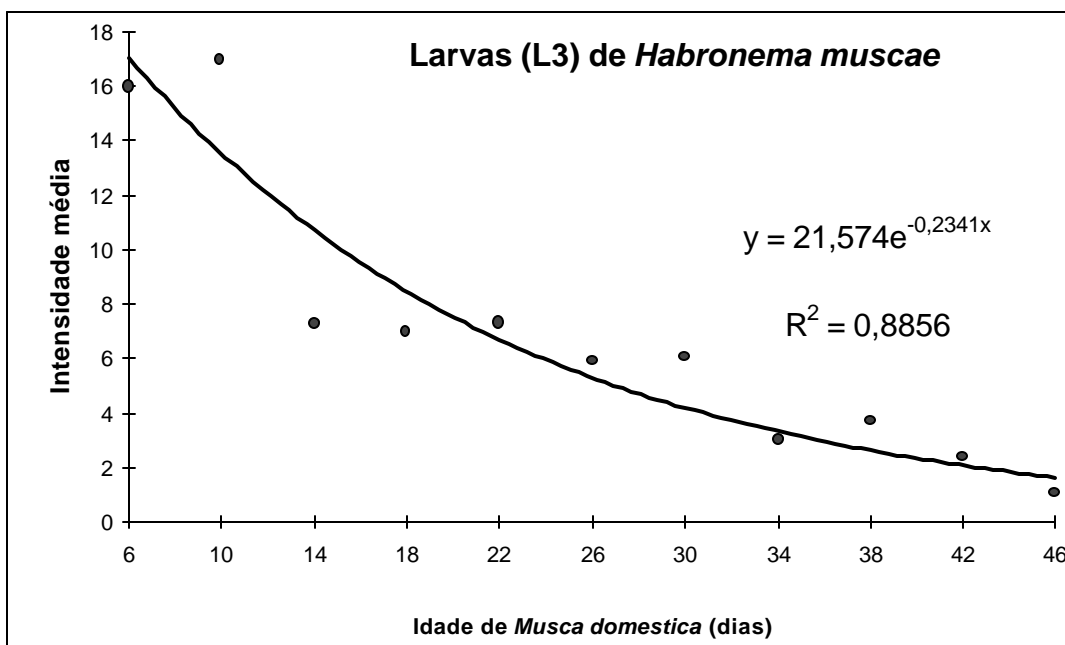


Figura 4.3. Declínio da intensidade média de infecção de adultos de *Musca domestica* submetidos à infecção por *Habronema muscae*, em intervalos etários dos muscídeos. A linha e a equação representam o modelo de declínio exponencial da intensidade média de infecção.

O tipo de influência exercida por parasitos, em seus hospedeiros preferenciais, varia substancialmente entre as espécies e em muitos casos depende do grau de infecção estabelecido. Assim, CHRISTENSEN (1978) considerou que uma alta microfilaríemia em cães (decorrente de infecção por *Dirofilaria immitis* Leidy – Nematoda: Filaridae) conduz a maior infecção de *Aedes trivittatus* Coq. (Diptera: Culicidae), e conseqüentemente, a um significativo aumento da mortalidade desses vetores. O autor demonstrou um padrão de declínio similar ao encontrado nesse estudo, que relaciona a disposição de larvas infectantes do nematóide em função da idade dos dípteros adultos (Figura 4.3). RICHARDSON & CHANTER (1979), ao especularem sobre o uso de *Howardula husseyi* Richardson, Hesling & Riding (Nematoda: Allantonematidae), nematóide de vida livre, como agente controlador do díptero *Megaselia halterata* Wood (Diptera: Phoridae), observaram que o parasitismo reduziu a longevidade das moscas em seis dias para os machos e dois dias para as fêmeas. Este helminto parasita o sistema reprodutor das fêmeas do forídeo, reduzindo a produção de ovos ou levando a esterilidade. No entanto, a investigação da longevidade de *Musca autumnalis* De Geer (Diptera: Muscidae) infectada pelo nematóide *Heterotylenchus autumnalis* Nickle (Nematoda: Sphaerulariidae) mostrou não haver interferência do parasitismo sobre esta variável (ROBINSON & COMBS, 1976). A mesma constatação foi observada por FREIER & FRIEDMAN (1987) ao verificarem o efeito da infecção de *Plasmodium gallinaceum* Brumpt (Eucoccida: Plasmodiidae) sobre a mortalidade e massa corporal do mosquito *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Estes autores sugeriram a existência de uma relação de comensalismo entre as duas espécies. Mecanismos de defesa, como a encapsulação do parasito, coagulação do sangue nos tubos

de Malpighi e utilização da membrana peritrófica como barreira, auxiliam alguns hospedeiros a evitarem cargas parasitárias letais (MILLER & LEHANE, 1993).

A oferta estimada, em dieta artificial, de 500 ovos de *H. muscae* por larva de *M. domestica* criou a expectativa de obter-se uma alta intensidade média. A baixa taxa de infecção obtida neste experimento, entretanto, assemelhou-se a dados obtidos de dípteros infectados naturalmente, coletados no campo e posteriormente dissecados, quando se descreve amplitudes de infecção variáveis, mas de no máximo 20 nematóides por muscídeo (RANSOM, 1913; JAGANNATHAN, 1980; ROUBAUD & DESCAZEAUX, 1921; DUNSMORE & SUE, 1985).

Infere-se, assim, que a passagem dos nematóides, mesmo que em pequeno número, pelo corpo em desenvolvimento do muscídeo afetou o tempo de sobrevivência do último. Contudo, a longevidade observada para os espécimens adultos infectados inclui-se em um prazo de tempo suficiente para a transmissão do parasito e reprodução do díptero. Este fato reflete um entre os processos de adaptações inseridos na co-evolução, já que a existência do parasito implica na presença do seu vetor (FUTUYAMA, 1992).

Possivelmente, a alta intensidade de infecção conduza à redução drástica da sobrevivência do díptero, de forma a prejudicar sua reprodução. Estudos sobre vetores dos habronematídeos apontaram altas taxas de mortalidade de adultos de *M. domestica* infectadas intensamente por *Draschia megastoma* Rudolphi (Nematoda: Habronematidae) (ROUBAUD & DESCAZEAUX, 1921). Esta tendência, também foi verificada ao monitorar-se a interação entre *Stomoxys calcitrans* Linnaeus (Diptera: Muscidae) e *H. microstoma* Schneider (Nematoda: Habronematidae) (ROUBAUD & DESCAZEAUX,

1922a, 1922b). No entanto, estes relatos originam-se de observações casuais, com ausência de metodologia adequada.

## **5. MODELO TEÓRICO NO ESTUDO DA DINÂMICA POPULACIONAL DE *Habronema muscae* (Carter, 1861) (NEMATODA: HABRONEMATIDAE)**

### **5.1. INTRODUÇÃO**

Entre os nematóides heteroxenos prevalentes no Brasil e importantes como patógenos de eqüídeos, destacam-se os pertencentes à família Habronematidae (Nematoda: Spirurida) (LEITE *et al.*, 1997). O ciclo de vida e a dinâmica epidemiológica de espécies desta família estão associados diretamente à frequência populacional de muscídeos, que participam como hospedeiros intermediários (DUNSMORE & SUE, 1985).

Modelos teóricos são aplicados para se aprofundar o entendimento da dinâmica populacional de diversos patógenos, para prever epidemias e para se avaliar o risco de infecções, em determinados locais (STINNER *et al.*, 1975; MOUNT *et al.*, 1991; STRUCHINER *et al.*, 1998). Conseqüentemente, esses estudos auxiliam no controle de diversos agentes patológicos (MASSAD, 1992). Estudos recentes revelam alto grau de correlação entre temperatura, precipitação e umidade relativa do ar com a frequência de agentes transmitidos por artrópodes (MOLYNEUX, 1998; KOVATS, 2000).

Modelos que simulam a dinâmica populacional de outras espécies de nematóides heteroxenos estão em desenvolvimento, mas ainda são escassos na Helminologia Veterinária (ANDERSON, 1987). A ecologia comportamental dos habronematídeos pode

servir como base para entendimento da epidemiologia de outras espécies de nematóides heteroxenos, como *Spirocerca lupi* (Rudolphi, 1819) (Spirurida: Spiruroidea), *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) e *Wuchereria bancrofti* Cobbold, 1877 (Spirurida: Filarioidea), espécies similares em muitos aspectos ecológicos.

Dados populacionais sobre os habronematídeos, em diversas regiões do globo, foram apresentados ao longo da última metade deste século. Entretanto, nenhum estudo aprofundou-se na análise epidemiológica dos mesmos. Este trabalho objetivou desenvolver um modelo teórico para a caracterização da dinâmica populacional de *Habronema muscae* (Carter, 1861).

## 5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se quatro artigos científicos, oriundos da América do Norte (LYONS *et al.*, 1983), América do Sul (ALCAÍNO *et al.*, 1980), Norte da África (PANDEY *et al.*, 1981) e Sul da África (SCIALDO *et al.*, 1982), com dados disponíveis sobre a intensidade média de adultos, imaturos e a prevalência de adultos *H. muscae*, agrupados por estação do ano. Em seguida procedeu-se a classificação dos locais de realização de cada estudo obedecendo-se os conceitos climatológicos de Köppen, sendo estes representantes dos climas B, Cf, Cs e Cw (MÜHR, 2000). Para os Climas A, D e E da classificação de Köppen não havia estudos científicos à disposição que fornecessem os dados necessários. Os modelos para estes climas foram elaborados por extrapolações teóricas, oriundas dos quatro trabalhos citados anteriormente, priorizando suas similaridades climáticas.

A precipitação e temperatura médias foram obtidas através de acesso aos dados meteorológicos dos seguintes endereços eletrônicos: National Climatic Data Center (NCDC, 2000); World Climate (HOARE, 1998) e Klimadiagramme (MÜHR, 2000).

A representação teórica da intensidade média (IM) de adultos e imaturos e da prevalência de adultos de *H. muscae*, determinadas pela temperatura e precipitação, para cada tipo de clima considerado, foram obtidas por modelos de regressões lineares e quadráticas. As equações foram selecionadas pela análise de significância dos índices de



determinação, e pela capacidade de predição para os tipos e subtipos de climas considerados no estudo.

A fecundidade teórica de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Díptera: Muscidae) foi obtida a partir do modelo de FLETCHER *et al.* (1990), que assume a temperatura para a simulação da fecundidade e é dada pela seguinte equação:

$$r(K) = \frac{RH025 \frac{K}{298,15} * \exp \left[ \frac{HA}{1987} * \left( \frac{1}{298,15} - \frac{1}{K} \right) \right]}{1 + \exp \left[ \frac{HH}{1987} * \left( \frac{1}{TH} - \frac{1}{K} \right) \right]}$$

onde  $r(K)$  = número médio de ovos por fêmea (fecundidade), em temperatura  $K$  ( $^{\circ}$  Kelvin =  $^{\circ}$  C + 273,15). RH025, HA, TH, e HH são constantes (3.701, 98.616, 296, e 110.181, respectivamente), estimadas seguindo preceitos de WAGNER *et al.* (1984).

A simulação da dinâmica estacional da IM de habronematídeos adultos e imaturos e da prevalência média de adultos foi obtida para cada um dos tipos climáticos, utilizando-se a média aritmética dos resultados das equações representativas das inter-relações parasito/hospedeiro/vetor/variáveis climáticas.

Os resultados das simulações do modelo foram validados pela comparação com os resultados observados nos estudos experimentais de MFITILODZE & HUTCHINSON (1989) e BUCKNELL *et al.* (1995) através de análise comparativa da significância dos coeficientes de correlação, conforme ZAR (1996b).

### 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os índices de determinação e os parâmetros selecionados para a representação da intensidade média (IM) de adultos e imaturos e da prevalência de adultos de *H. muscae*, dependentes da temperatura, da precipitação e da fecundidade teórica de *M. domestica*,

identificados para os tipos de clima considerados no modelo, estão relacionados nas tabelas 1, 2 e 3

Alguns tipos e subtipos de clima foram representados por grupo de parâmetros em comum, apesar de equações independentes terem sido avaliadas. Esse procedimento mostrou-se necessário quando se realizaram as simulações dos índices populacionais de *H. muscae* para climas de algumas cidades com limites de temperatura e precipitação extremos, pois os resultados obtidos a partir de equações geradas pelo próprio clima, mostraram-se fora do padrão de variação destes índices epidemiológicos. Estes resultados podem estar associados à reduzida diversidade de locais e ao pequeno número de dados disponíveis para a elaboração do modelo.

O número reduzido de publicações científicas relacionadas à epidemiologia de *H. muscae* forneceu dados suficientes para proceder à validação do modelo apenas para dois subtipos de clima (Tabelas 4 e 5). Para o clima Cw foram comparados os dados de prevalência obtidos por MFITLODZE & HUTCHINSON (1989) em Queensland, Austrália. Apesar da pequena variação de amplitude entre os dados simulados e observados, o coeficiente de correlação foi de apenas 0,27 ( $P>0,50$ ). Estes resultados foram determinados pela divergência climática entre as estações de maior e menor prevalência de *H. muscae*. A baixa representatividade pode ser atribuída a natureza dos dados originais para a elaboração do modelo, provenientes da África do Sul, de uma região de clima Cw com alto nível de precipitação. Contrapondo-se ao clima Cw característico do Nordeste Australiano, que apresenta baixos níveis de precipitação. A opção de restringir os dados a uma simulação estacional, ao invés de mensal, torna os graus de liberdade muito baixos, e conseqüentemente, os valores críticos mais rigorosos durante a avaliação dos níveis de significância.

A validação para o clima Cf foi procedida pela comparação dos resultados da intensidade média de adultos e imaturos obtidos por BUCKNELL *et al.* (1995), em Victoria, Austrália, com os simulados pelo modelo para o local do estudo. Apesar de maior dispersão entre os dados simulados e observados, o coeficiente de correlação foi de 0,80 ( $0,10<P<0,20$ ) e 0,94, ( $0,05<P<0,10$ ) para a intensidade média de adultos e imaturos, respectivamente.

Estes resultados evidenciam que a plasticidade da classificação climatológica de Köppen, que considera fatores como temperatura, precipitação umidade, altitude e características botânicas e geográficas, possibilita a ocorrência de distorções durante o exercício de simulação, pois os dados disponíveis na literatura permitiram incluir no modelo apenas as variáveis climáticas temperatura e precipitação.

Aspecto importante a destacar sobre o modelo teórico é a possibilidade de predição da variação da amplitude obtida para intensidade média de adultos e imaturos e a prevalência de adultos, entre os diversos climas estudados. Desse modo, o modelo simula o potencial populacional alto, característico no clima A, intermediário nos climas B, Cs, Cf e Cw e baixo nos climas D e E, por exemplo. Deste modo, em climas mega-térmicos úmidos existe a tendência de se verificar prevalências próximas a 100% e IM de imaturos e adultos acima de mil espécimes para *H. muscae* (SCIALDO, 1977; LEITE *et al.*, 1997), embora nesses climas a dinâmica ecológica se apresente de modo pouco estacional. Contrariamente a essa tendência direcionam-se os índices populacionais para os climas mais secos e frios, proporcionando a ocorrência de baixas IM e prevalências (ALCAÍNO *et al.*, 1980; PANDEY *et al.*, 1981; LYONS *et al.*, 1990; GAWOR, 1995). Portanto, as simulações geradas pelo modelo podem ser utilizadas como informação importante no planejamento das formas e medidas de intervenções médico-veterinárias a serem adotadas na profilaxia e no controle do parasitismo. Com futuras coletas de dados em diferentes regiões, poder-se-á avaliar a eficiência do modelo, desenvolvendo maior precisão nas simulações.

O estudo de modelos que utilizem metodologia similar, em outras espécies, será útil para a consolidação do método. Outras espécies podem incluir maior disponibilidade de dados, como no caso de *D. immitis* e *Onchocerca* sp. Diesing, 1841 (Nematoda:Filarioidea), nematóides prevalentes e combatidos em várias regiões do globo.

**Tabela 5.1. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares e quadráticas, representativos da intensidade média de adultos de *H. muscae*, dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de *M. domestica*, caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.**

Climas Köppen	Parâmetros das equações			
	Temperatura			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A	-4,3678	217,96	-2230	0,9388
B	7,8506	-294,1	2848,2	0,9541
Cf/Cs	1,3331	-39,257	428,87	0,9787
Cw	39,496	-475,94		0,9787
D/E	0,5822	12,286	116,12	0,9999
	Precipitação			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A	3,0716	226,94	60,859	0,6609
B/Cf/Cs	0,1305	-8,7457	277,02	0,9377
Cw	-1,0065	86,17		0,8349
D/E	0,876	-3,103	105,61	0,8397
	Fecundidade Teórica			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A/B/Cf/Cw	-0,0009	1,2199	86,069	0,9217
Cs	-0,0183	11,026	679,24	0,8401
D/E	0,0112	2,4302	18,413	0,7033

**Tabela 5.2. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares e quadráticas, representativos da intensidade média de imaturos de *H. muscae*, dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de *M. domestica*, caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.**

Climas Köppen	Parâmetros das equações			
	Temperatura			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A	39,496	-475,94		0,8349
B	7,8506	-294,1	2848,2	0,9541
Cf	0,5822	-12,286	116,12	0,6841
Cs/D/E	6,126	-33,327	-	0,6022
Cw	0,0427	4,8602	-24,579	0,6026
	Precipitação			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A	0,1305	-8,7457	277,02	0,9337
B/Cs/D/E	0,0276	-3,103	105,61	0,8397
Cf	-0,2621	41,83	-1507,5	0,9988
Cw	-1,0065	86,17		0,8349
	Fecundidade Teórica			$R^2$
	$a$	$b$	$c$	
A/Cw	-0,0089	7,5812	-97,197	0,9217
B/Cf/Cs	-0,0009	1,2199	86,069	0,9217
D/E	-0,0112	2,4302	18,413	0,7035

**Tabela 5.3. Parâmetros e índices de determinação das regressões lineares ou quadráticas, representativos da prevalência de adultos de *H.muscae*, dependentes da temperatura e precipitação ambientais e da fecundidade teórica de *M. domestica*, caracterizados para os tipos de climas considerados no modelo.**

Climas Köppen	Parâmetros das equações			
	Temperatura			$R^2$
	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	
A/B/Cw/Cs	0,0949	-4,3476	141,2	0,8313
Cf	0,0502	-0,2699	36,016	0,9576
D/E	0,2255	6,1129	-20,921	0,8217
	Precipitação			$R^2$
	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	
A/Cw	-0,0005	0,1194	92,839	0,381
B/Cs/D/E	-0,0098	0,8011	8,2056	0,8999
Cf	-0,0466	7,9932	-284,85	0,9576
	Fecundidade Teórica			$R^2$
	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	
A	0,0097	92,427	-	0,6308
B	0,0001	-0,0979	100,64	0,9958
Cf	-0,0007	0,4783	38,045	0,9317
Cs/Cw	-0,0416	19,178	-	0,7099
D/E	0,002	0,4103	16,049	0,8874

**Tabela 5.4. Prevalência de *Habronema muscae* observados e simulados e o índice de correlação para o clima Cw em Queensland/Austrália.**

Índices Populacionais	Estações do Ano			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Prevalência Observada	67	20	56	53
Prevalência Simulada	59	58	60	67
R	0,27			

**Tabela 5.5. Intensidade média de adultos e imaturos de *Habronema muscae* observados e simulados e seus índices de correlação para o clima Cf em Victoria/Austrália.**

Índices Populacionais de	Estações		
Adultos de <i>H. muscae</i>			
	Verão	Outono	Inverno
IM Observada	280	515	400
IM Simulada	141	224	237
R	0,80		
Índices Populacionais de	Estações		
Imaturos de <i>H. muscae</i>			
	Verão	Outono	Inverno
IM Observada	245	405	330
IM Simulada	218	271	263
R	0,94		

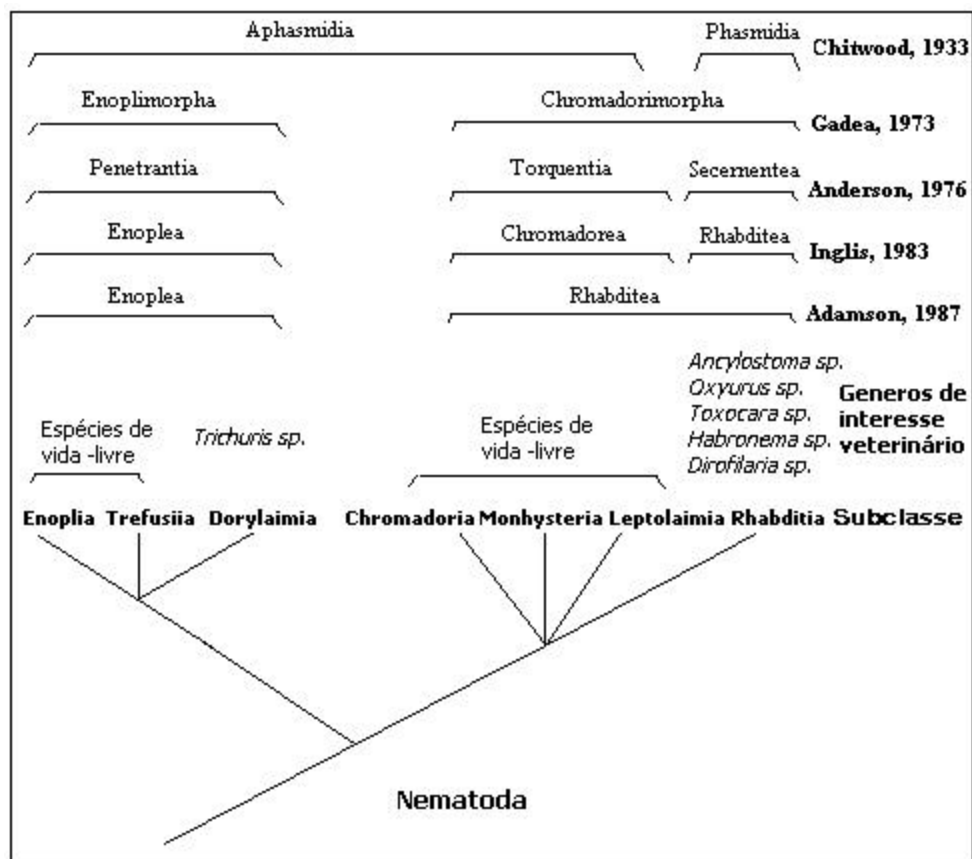
## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização protéica das espécies de *Habronema* spp. evidenciou diferenças inter e intra-específicas. No entanto, seria muito difícil utilizar o método experimental aqui apresentado, isoladamente, para a diferenciação sistemática de suas espécies. A constituição protéica é apenas uma das inúmeras expressões potenciais do genoma desses organismos. Reconhecidamente, existem variações fenotípicas significativas intraespecíficas em diversas espécies, que apenas demonstram o quanto é simplista o conceito lineano. Por exemplo, ocorrem divergências significativas na morfologia de espécies de nematóides de interesse veterinário, dependendo apenas da origem geográfica ou do hospedeiro definitivo do qual foram coletados, como no caso de *Haemonchus placei* (Place, 1893) Ransom, 1911 e *Haemonchus contortus* Rudolphi, 1803 (CHITWOOD, 1957). Similarmente, devem existir variações fenotípicas dependendo do estado fisiológico e do estágio de desenvolvimento dos organismos. Portanto, o simples exame do conteúdo protéico de nematóides assegura apenas mais um parâmetro, dentre vários outros, quando se objetiva a consolidação dos limites entre as espécies. Logo, auxiliam nas identificações e classificações sistemáticas mais precisas.

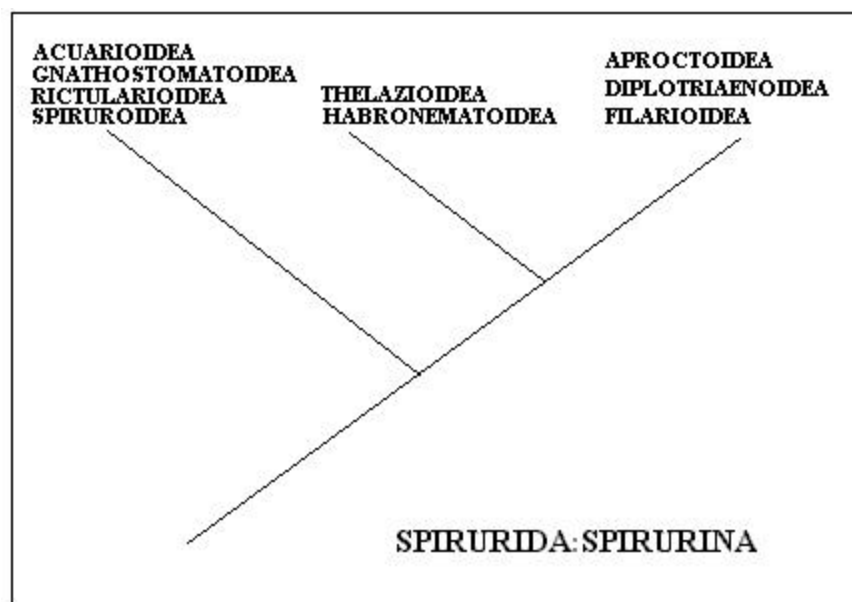
No caso dos habronematídeos, a distinção das três espécies que parasitam os eqüídeos domésticos é conspícua. Inclusive, há muitas características comportamentais das espécies, incluídas naquela família, que evidenciam um sentido evolutivo na cadeia filogenética dos nematóides. Esta relação já foi mencionada por alguns autores (RANSOM, 1913; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922b; CHITWOOD & CHITWOOD, 1933). Com os avanços das teorias filogenéticas, nematologistas propuseram diversos modelos de classificação sistemática. ADAMSON (1987) propôs um cladograma para os táxons superiores que, inclusive, relaciona a posição das classificações anteriores. Este cladograma foi redesenhado, e está ilustrado na Figura 6.1.

Entre os nematóides parasitas da subclasse Rhabtidea, na qual se inclui a maioria das espécies de interesse veterinário, a ordem Spirurida demonstra estar numa posição extrema: apresentam os ciclos biológicos mais complexos, exibem maior especialização à vida parasitária e maior dependência dos seus hospedeiros. Baseado nas proposições teóricas de QUENTIN & POINAR (1973), CHABAUD (1975), INGLIS (1983) e ADAMSON (1987), que descrevem e comparam vários caracteres biomorfológicos daquela ordem, poderíamos supor um cladograma simplificado para algumas superfamílias da subordem Spirurina (Ordem Spirurida), como ilustrada na Figura 6.2.





**Figura 6.1.** Cladograma indicando o arranjo filogenético para classificação superior do filo Nematoda. Acima do cladograma estão indicadas as divisões sugeridas nas classificações de diversos autores, relacionados lateralmente. Intermediariamente, foram colocados os gêneros de interesse veterinário, relacionando-os às sub-classes indicadas.



**Figura 6.2.** Cladograma simplificado indicando o arranjo filogenético para as superfamílias da ordem Spirurina (Nematoda: Spirurida), baseado nas descrições de QUENTIN & POINAR (1973), CHABAUD (1975), INGLIS (1983) e ADAMSON (1987). A superfamília Filarioidea representa um dos grupos mais especializados entre os nematóides parasitas de vertebrados.

A família Habronematidae, pertencente à superfamília Habronematoidea, é uma das representantes que se localizam em posição intermediária na dinâmica evolutiva da ordem Spirurida. As três espécies que parasitam os eqüídeos domésticos exibem caracteres biomorfológicos análogos, comparáveis tanto aos espiruróides como aos filarióides. Muitos caracteres são estados apomórficos paralelos desses grupos. Para tornar mais racional essa discussão, está ilustrada na Figura 6.3 um cladograma que evidencia as relações filogenéticas das três espécies-alvo desse estudo, e indicados os caracteres sinapomórficos utilizados para compor o arranjo.

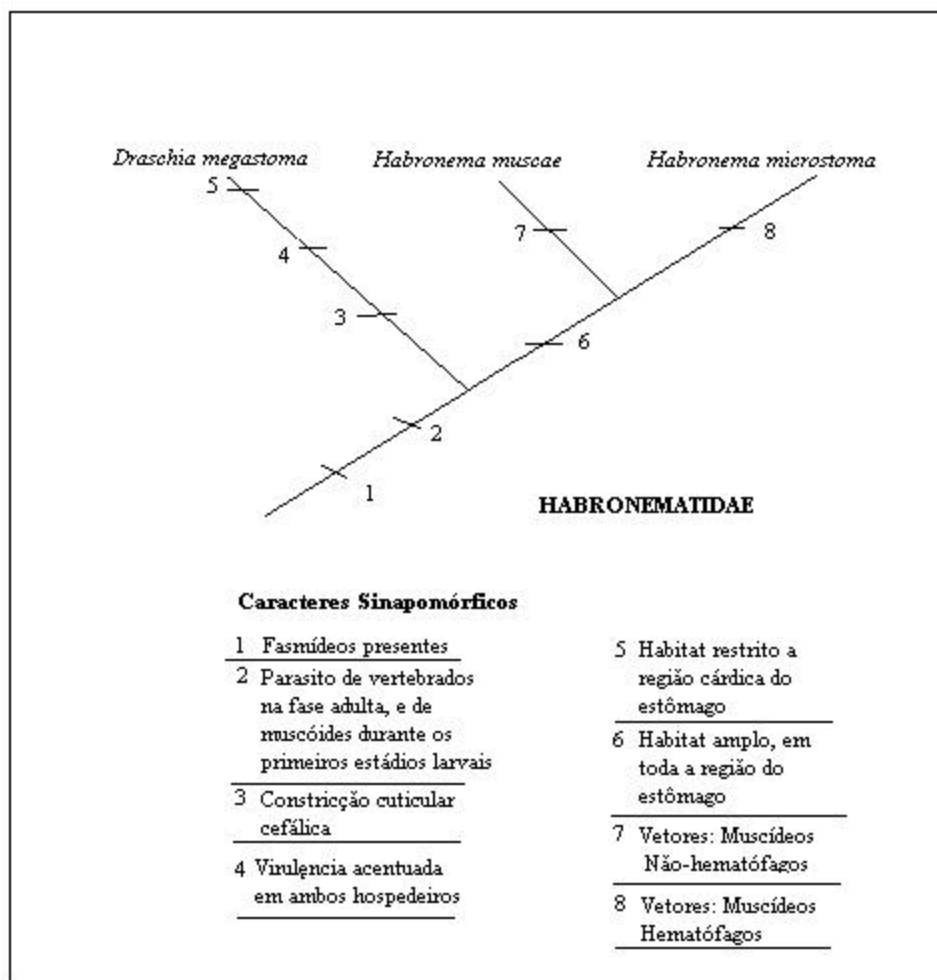


Figura 6.3. Cladograma indicando o arranjo filogenético para a superfamília Habronematoidea (Spirurida:Nematoda), baseado nas descrições de BULL (1919), ROUBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922a, 1922b) QUENTIN & POINAR (1973), CHABAUD (1975), OUHELLI *et al.* (1979), INGLIS (1983) e ADAMSON (1987). *Habronema microstoma* representa a espécie que compartilha caracteres plesiomórficos de espécies da superfamília Filarioidea, considerados mais especializados. Os números de 1 a 8 são os caracteres sinapomórficos utilizados no arranjo filogenético.

A posição mais primitiva de *D. megastoma* é corroborada na interrelação com o seu hospedeiro intermediário. Esta é a única espécie, entre as pertencentes à família

Habronematidae, que se desenvolve nos túbulos de Malpighi dos muscídeos. É a espécie que causa maior reação hemocítica e prejuízo ao seu vetor. Provavelmente, a longevidade média de *M. domestica* parasitadas por *D. megastoma* seria menor do que aquela obtida no item 4, se houvesse a experimentação com o mesmo inóculo utilizado. Essa espécie apresenta uma distribuição geográfica mais restrita que as demais, e parece ser mais abundante em criações de eqüídeos confinados. Em contraste, as espécies do gênero *Habronema* spp. que são prevalecentes em qualquer tipo de manejo zootécnico dos eqüídeos (MFITILODZE & HUTCHINSON, 1989). Talvez este comportamento de *D. megastoma* esteja relacionado com a sua estratégia ecológica de desenvolvimento e reprodução, aparentemente *r*. Para o gênero *Habronema* spp., esta estratégia utilizada parece ser a *k*. Essa disposição comportamental dessas espécies explicaria tais características epizootiológicas.

DICKSON *et al.* (1971) e ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1985) estudaram a relação química-taxonômica entre as variações isoenzimáticas de esterases, fosfatases e desidrogenases de alguns gêneros de nematóides de plantas. Recentemente, a análise isoenzimática do gênero *Arthrobotrys* spp. (Fungi) revelou possíveis marcadores fenotípicos na utilização de alfa-esterase para a sistematização das espécies (ARAÚJO *et al.*, 1997). Nesse sentido, o estudo isoenzimático dos habronematídeos, através de eletroforese, utilizando-se meios apropriados de extração, poderiam ser implementados no estudo evolutivo e sistemático das três espécies incluídas nesta família. Esse tipo de estudo é mais seguro, pois a caracterização isoenzimática representa uma expressão mais segura entre poucas moléculas protéicas, de modo mais específico. Estes métodos evidenciam

direções evolutivas, pois possuem padrões conhecidos, que facilitam as considerações filogenéticas.

Como alternativa, a caracterização de padrões genotípicos destas espécies de habronematídeos, através de técnicas fragmentadoras de DNA como o RAPD-PCR (*Random Amplified Polymorphic DNA- Polymerase Chain Reaction*) será útil e constituirá mais um parâmetro, auxiliar nas identificações específicas e subespecíficas. As vantagens adicionais deste método são as suas satisfatórias especificidade e sensibilidade. A caracterização dos habronematídeos por esses métodos implementaria uma possível técnica de diagnóstico para a habronemose cutânea, pois a evidenciação de uma única célula desses nematóides, teoricamente, evidenciaria a patologia por eles provocados. O mapeamento genético de *Caenorhabditis elegans* (Nematoda:Rhabditoidea) já foi finalizado, sendo sua relação com os caracteres fenotípicos e as técnicas utilizadas para este propósito, uma das mais avançadas em Biologia Molecular (COWING & KENYON, 1992; CHOW & EMMONS, 1994). Há relato de utilização da análise por RAPD-PCR, com objetivo taxonômico, em estudo envolvendo nematóides da família Dictyocaulidae (EPE *et al.*, 1995), que pode servir de modelo na caracterização dos habronematídeos.

De modo similar, técnicas de imuno-ensaio devem constituir futuras propostas que objetivem o diagnóstico da habronemíase ou habronemose dos eqüídeos. A inoculação de extratos protéicos dos nematóides-alvo, experimentalmente, em animais de laboratório e nos próprios eqüídeos, e a possível recuperação de anticorpos séricos, implementaria testes para diagnóstico do parasitismo gástrico ou da própria patologia dérmica ou pulmonar. O caminho mais prático seria o estudo baseado nas reações antígeno-anticorpo, possivelmente através de complexos de aglutinação ou incluindo ensaios enzimáticos (ELISA) (KRICKA,

1998; MADRUGA *et al.*, 1998; FLAUSINO *et al.*, 1997). Certamente, algumas daquelas bandas protéicas caracterizadas no item 3 devem representar componentes antigênicos, que poderiam ser evidenciados por imunoenaios. Este tipo de estudo averiguaria a possível hipersensibilidade de alguns animais aos antígenos dos habronematídeos, mencionada por alguns autores (PEREIRA & MELLO, 1948). Esta elucidação direcionará o inquérito e a profilaxia dirigida a possíveis animais predispostos ou hipersensíveis. Também revelaria a razão dos diferentes graus de virulência expressos pelas três espécies de habronematídeos nos eqüídeos.

Já a reação imune dos muscídeos, que é aparentemente específica para cada espécie de nematóide-alvo, constitui um campo aberto para a elucidação epizootológica relacionado ao hospedeiro invertebrado (WIGGLESWORTH, 1959; ARNOLD, 1974; CANTWELL *et al.*, 1976; BOMAN & HULTMARK, 1987; HURD, 1990; STRAND & PECH, 1995). Futuramente, a caracterização de moléculas hemolinfocíticas, marcadoras da infecção dos insetos, poderá constituir uma das ferramentas a se utilizar para o aprofundamento no conhecimento da interface vertebrado-nematóides-invertebrados.

O estudo da literatura correlacionada à epizootologia dos habronematídeos forneceu subsídios para a implementação do modelo registrado no item 5. É evidente que a pesquisa representou apenas um pequeno avanço, limitado pela mínima oferta literária. Provavelmente, muitos outros fatores devem influenciar na abundância relativa desses nematóides-alvo. Por exemplo, LYONS (1987) menciona que a simples introdução das ivermectinas na profilaxia de helmintíases dos eqüídeos a partir de 1983 em Kentucky, reduziu significativamente a prevalência destas espécies naquela região americana.

O modelo aqui apresentado propõe estimativas de caráter regional e estacional, em função apenas de três variáveis. Deve-se esperar que, o estudo adicional em áreas localizadas, como haras ou propriedades de áreas limitadas, onde se possa incluir o número de animais, o estado inicial de infecção da população de equídeos e os índices geomorfológicos destas áreas, certamente incrementará estimativas mais precisas para a predição populacional dos habronematídeos e logicamente para subsidiar o seu controle ou erradicação.

## 7. CONCLUSÕES

1. O fracionamento por eletroforese do conteúdo protéico ratificou a diferenciação específica entre *Habronema muscae* e *Habronema microstoma*, e, paralelamente, a diferenciação sexual intra-específica.
2. O parasitismo provocado por *Habronema muscae* interfere deletериamente sobre a longevidade de sua espécie vetora mais eficiente, *Musca domestica*.
3. A intensidade média dos imaturos e adultos e a prevalência dos adultos de *Habronema muscae* podem ser estimadas em função da temperatura e precipitação ambientais e fecundidade teórica dos vetores.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON, M.L. 1987. Phylogenetic analysis of the higher classification of the Nematoda. *Canadian Journal of Zoology*, 65:1478-1482.

ALCAÍNO, H., GORMAN, T., CORNEJO, S., MOLINARI, R. & PINTO, A. 1980. Estudio epizootiológico de parasitismo estomacal del equino de la zona Centro Sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinária*, 12:10-29.

ALFARO, A.A. 1982. Tratamiento intra-lesional de habronemasis cutânea con el organofosforado thriclorfon en caballos. *Ciências Veterinárias*, 4:25-28.

ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. 1991. *Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais*. Ed. da Universidade Federal de Viçosa. 242 p.

AMADO, S. 1997. O desenvolvimento biológico de *Habronema muscae* Carter, 1861 (Dieseng, 1861) (Nematoda: Habronematidae) em *Musca domestica* Linnaeus, 1758. Tese de Mestrado/ UFRRJ, 65 p.

- AMADO, S. & REZENDE, A.M.L. 1997. Encapsulamento e localização de *Habronema muscae* (Carter, 1861)(Nematoda:Habronematidae) em *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae). *Resumos do Seminário de Parasitologia Veterinária*, Itapema, SC, 6, supl. 1, H68, p.243.
- ANDERSON, R.C. & WONG, P.L. 1982. The transmission and development of *Paracuaria adunca* (Creplin, 1846) (Nematoda:Acuarioidea) of gulls (Laridae). *Canadian Journal of Zoology*, 60:3092-3104.
- ANDERSON, R.M. 1987. The role of mathematical model in helminth population biology. *International Journal of Parasitology*, 17:519-529.
- ARAÚJO, J.V.; JUNGHANS, T.G.; ALFENAS, A.C. & GOMES, A.P.S. 1997. Isoenzyme analysis of *Arthrobotrys*, a nematode-trapping fungus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30:1149-1152.
- ARNOLD, J.W. 1974. The hemocytes of insects. *The physiology of insecta* (Rockstein, M. ed.). *Academic Press Inc.*, 5:201-254.
- BARTLETT, C.M. 1984. Development of *Dirofilaria scapiceps* (Leidy, 1886) (Nematoda: Filarioidea) in *Aedes* spp and *Mansonia perturbans* (Walker) and responses of mosquitoes to infection. *Canadian Journal of Zoology*, 62:112-129.
- BAUER, C. 1986. Befall mit Magarparasiten bei Pferdai in Nord-dentschland. *Deutsche Tierarztliche Wocheuxrhrift*, 93:386, 388-389.

- BOMAN, H.G. & HULTMARK, D. 1987. Cell free immunity in insects. *Annual Review Microbiology*, 41: 103-126.
- BRESSLOFF, P.C. 2000. Traveling waves and pulses in a one-dimensional network of excitable integrate-and-fire neurons. *Journal of Mathematical Biology*, 40:169-198.
- BRONSKILL, J.F. 1962. Encapsulation of Rhabditoid nematodes in mosquitoes. *Canadian Journal of Zoology*, 40:1269-1275.
- BUCKNELL, D.G.; GASSER, R.B. & BEVERIDGE, I. 1995. The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*, 25: 711-724.
- BULL, L.B. 1919. A contribution to the study of habronemosis; a clinical, pathological and experimental investigation of a granulomatous condition of the horse - Habronemic granuloma. *Transactions Royal Society of South Australia*, 43:85-141.
- BUSH, A. O.; LAFFERTY, K.D; LOTZ, J.M. & SHOSTAK, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* Revisited. *Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- BYRD, S. 2000. Guide for citing electronic information. [15 pp.] Acesso: <http://www.wilpaterson.edu/wpcpages/library/citing.htm> [2000, 20 de março].
- CAMPOS, J. M. & VIANA, E.S. 1975. Tratamento da habronemose cutânea dos eqüídeos com um polímero de condensação do ácido metacresolsulfônico com metanal. *Arquivos da escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, 27:47-54.

- CANTWELL, G.E., NAPPI, A.J. & STOFFOLANO, J.G. 1976. Embryonic and post embryonic development of the house fly (*Musca domestica* L.). *U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin*, n. 1519, 69 p.
- CASTILLO-CHAVEZ, C. & FENG, Z. 1997. To treat or not to treat: the case of tuberculosis. *Journal of Mathematical Biology*, 35: 629-656.
- CAWTHORN, R.J. & ANDERSON, R.C. 1977. Cellular reaction of field cricket (*Acheta pennsylvanicus* Burmeister) and German cockroach (*Blattella germanica* L.) to *Physaloptera maxilaris* Molin (Nematoda: Physalopteroidea). *Canadian Journal of Zoology*, 55:368-375.
- CHABAUD, A.G. 1975. Keys to the nematode parasites of vertebrates. N° 3 keys to genera of the order spirurida - part 2. Spiruroidea, Habronematoidea and Acuarioidea. *Commonwealth Agricultural Bureaux, Farham Royal, Slough SL2, 3 BN, England*, 29 p.
- CHITWOOD, B.G. 1957. Intraspecific variation in parasitic nematodes. *Systematic Zoology*, 6: 19-23.
- CHITWOOD, B.G. & CHITWOOD, M.B. 1974. *Introduction to Nematology*. Library of Congress, Cataloging in Publication Data, 333 p.
- CHOW, K.L. & EMMONS, S.C. 1994. HOM-C/Hox genes and four interacting loci determine the morphogenetic properties of single cells in the nematode male tail. *Development*, 120: 2579-2593.

- CHRISTENSEN, B. M. 1978. *Dirofilaria immitis*: effect on the longevity of *Aedes trivittatus*. *Experimental Parasitology*, 44: 116-123.
- COSTA, H.M.A., LEITE, A.C.R., GUIMARÃES, M.P. & LIMA, W.S. 1986. Distribuição de helmintos parasitos de animais domésticos no Brasil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 38:465-579.
- COWING, D.W. & KENYON, C. 1992. Expression of the homeotic gene *mab-5* during *Caenorhabditis elegans* embryogenesis. *Development*, 116:481-490.
- CRANE, N. 1997. Electronic Sources: APA Style of citation [15 pp.] Acesso: <http://www.uvm.edu/~ncrane/styles/apa.html> [2000, 20 de março].
- CRAWFORD, M. 1926. Development of *Habronema* larvae in drosophilid flies. *Journal Comparative of Pathology and Therapeutic*, 39: 321-323.
- DIAZ-UNGRIA. 1979. Algunas espécies de helmintos nuevas para Venezuela. *Revista Iberica de Parasitologia*, 39:313-336.
- DICKSON, D.W.; HUISING, D. & SASSER, J.N. 1971. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases, and esterase for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *Journal of Nematology*, 3: 1-18.
- DIEKMANN, O.; GYLLENBERG, M.; METZ, J.A.J. & THIEME, H.R. 1998. On the formulation and analysis of general deterministic structured population models I. Linear Theory. *Journal of Mathematical Biology*, 36: 349-388.

- DIEULOUARD, P. 1927. *Patologia Cirúrgica e Habronemose dos Equídeos*. Imprensa Militar - RJ. 49 p.
- DYER, W.G. & OLSEN, O.W. 1967. Biology of *Mastophorus numidica* (Seurat, 1914) Read and Millemann, 1953 (Nematoda: Spiruridae) with a description of the juvenile stages. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 34:98-103.
- DUNSMORE, J.D. & SUE, L. P.J. 1985. Prevalence and epidemiology of the major gastrointestinal parasites of horse in Perth, Western Australia. *Equine Veterinary Journal*, 17: 208-213.
- EPE, C.; BIENIOSCHEK, S.; REHBEIN, ST.; SCHNIEDER, T. 1995. Comparative RAPD-PCR analysis of lungworms (Dictyocaulidae) from fallow deer, cattle, sheep, and horses. *Journal of Veterinary Medicine*, 42: 187-191
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1985. Use of phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, 17: 6-20.
- FINAZZI, M., LATTANZIO, G. & MALNATI, G. 1977. Habronemiasis genitale nello stallone. *Clinica Veterinária*, 100:23-31.
- FLAUSINO, W.; SOARES, C.O., FREIRE, R.B. & LOPES, C.W.G. 1997. Caracterização protéica de uma amostra acistogênica de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de galinha naturalmente infectada. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 19:110-112.

- FLETCHER, M.G.; AXTELL, R.C. & STINNER, R.E. 1990. Longevity and fecundity of *Musca domestica* as a function of temperature. *Journal of Medical Entomology*, 27: 922-926.
- FOSTER, A.O. 1936. A quantitative study of the nematodes from a selected group of equines in Panama. *Journal of Parasitology*, 22:479-510.
- FRAENKEL, G. & BHASKARAN, G. 1973. Pupariation and Pupation in Cyclorrhaphous flies (Diptera): Terminology and Interpretation. *Annals of the Entomological Society of America*, 66:418-422.
- FREIER, J. E. & FRIEDMAN, S. 1987. Effect of *Plasmodium gallinaceum* infection on the mortality and body weight of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal Medical Entomology*, 24: 6-10.
- FREITAS, M.G. & MARTINS, A.V. 1949. Estudos sobre habronemose equina. *Boletins da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária*, 17:9-14.
- FRIEDMAN, A & REITICH, F. 1999. Analysis of a mathematical model for the growth of tumors. *Journal of Mathematical Biology*, 38: 262-284.
- FUTUYAMA, D.J. 1992 A evolução da interação entre as espécies. *Biologia Evolutiva*. Ed. Ribeirão Preto (Sociedade Brasileira de Genética/CNPq), 506-529.
- GADEA, E. 1973. Sobre la filogenia interna de los Nematodos. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada (Barcelona)*, 54: 87-92.

- GATTO, M. & DELEO, G.A. 1998. Interspecific competition among macroparasites in a density-dependent host population. *Journal of Mathematical Biology*, 37:467-490.
- GAWOR, J.J. 1995. The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Veterinary Parasitology*, 58: 99-108.
- GRAY, J.B. & ANDERSON, R.C. 1982. Observation on *Turgida turgida* (Rudolphi, 1819) in the common field cricket (*Acheta pennsylvanicus* Burmeister). *Canadian Journal of Zoology*, 60:2134-2142.
- GRIMSTONE, A.V., ROTHERAM, S. & SALT, G. 1967. An electron-microscope study of capsule formation by insect blood cells. *Journal of Cell Science*, 2:281-292.
- GUPTA, A.P., 1979. Hemocyte types: their structures, synonymies, interrelationships, and taxonomic significance. IN: Gupta, A. P. (ed.) Insect hemocytes. Cambridge University Press, p. 85-127.
- HAGSTRUM, D.W. & MILLIKEN, G. 1991. Modeling differences in insect developmental times between constant and fluctuating temperatures. *Annual Entomological Society of America*, 84: 369-379.
- HAILE, D.G.; MOUNT, G.A. & COOKSEY, L.M. 1992. Computer simulation of *Babesia bovis* (Babes) and *B. bigemina* (Smith & Kilborne) Transmission by cattle tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 29: 246-258.
- HEISENBERG, W. 1996. *A parte e o todo*. Editora Contraponto. São Paulo. 356p.



- HENSON, S.M. 1999. A continuous, age-structured insect population model. *Journal of Mathematical Biology*, 39: 217-243
- HENSON, S.M & CUSHING, J.M. 1997. The effect of periodic habitat fluctuations on a nonlinear insect population model. *Journal of Mathematical Biology*, 36: 201-226.
- HERBERT, J. , ISHAM, V. 2000. Stochastic host-parasite interaction models. *Journal of Mathematical Biology*, 40: 343-371
- HERD, R.P. & DONHAM, J.C. 1981. Efficacy of ivermectin against cutaneous *Draschia* and *Habronema* infection (summer sores) in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 42:1953-1955.
- HILL, G.F. 1918. Relationship of insects to parasitic disease of stock. The life history of *Habronema muscae*, *H. microstoma*, and *H. megastoma*. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, 31:11-107.
- HOARE, J. 1998. World Climate. [15 pp.] Acesso: <http://www.worldclimate.com/> [2000, 20 de março].
- HOUSTON, A.; COLIN,C.; McNAMARA, J. & MANGEL, M. 1988. Dynamics models in behavioural and evolutionary ecology. *Nature*, 332: 29-34.
- HURD, H. 1990. Physiological and behavioural interactions between parasites and invertebrate hosts. *Advances in Parasitology*, 29:271-318.
- INGLIS, W.G. 1983. An outline classification of the Phylum Nematoda. *Australian Journal of Zoology*, 31: 705-716.

- IVASHKIN, V.M.; KHROMOVA, L.A. & DROÏ NOS, G.M. 1984. Biological characteristics of *Habronema* parasitic in equines. IN: *Gel'minty sel'skokhozyaïstvennikh i okhotnich'e-promyslovykh zhivotnykh*. (Ed. Sonin, M.D.) Moscow, USSR; Nauka, p. 10-17.
- JAGANNATHAN, J. 1980. *Musca domestica* L. as a vector of the nematode, *Habronema muscae* Carter, 1861 (Spiruroidea) in Madras. *Current Science*, 49: 877.
- JOHNSTON T.H. & BANCROFT, M.J. 1920. The life-history of *Habronema* in the relation to *M. domestica* and native flies in Queensland. *Proceeding of Royal Society of Queensland, Brisbane*, 32:61-68.
- JULIA, C.; GIESE, R.N. & REZBA, R.J. 2000. How to write a research report. [15 pp.] Acesso: <http://www.cegs.itesm.mx/methodology/proposal.html> [2000, 20 de março].
- KAAYA, G.P. & RATCLIFF, N.A. 1982 Comparative study of hemocytes and associated cells of some medically important Dipterans. *Journal of Morphology*, 173:351-365.
- KARSHER, R.E. & EPSTEIN, E. 1998. Eletroforese. IN: BURTIS, C.A. & ASHWOOD, E.R. 1998. *Fundamentos de Química Clínica (Tietz)*. Editora Guanabara Koogan S.A. 4ª edição. 654p.
- KIRSCHNER, D.; LENHART, S. & SERBIN, S. 1997. Optimal control of the chemotherapy of HIV. *Journal of Mathematical Biology*, 35: 775-792.
- KNEZIK, J. & BELÁK, M. 1972. Kznedkarym helmintozam koni u nás. *Veterinarstvi*, 22:115-117.

- KONO, I. 1980. Subtropical parasitic diseases in Japan. *Journal of the Japan Veterinary and Medical Association*, 33:158-163.
- KOVATS, R.S. 2000. El Niño and human health. *Bulletin of World Health Organization*, 78:1127-1135.
- KREBS, J.R. & DAVIES, N.B. 1993. *Introdução à ecologia comportamental*. Atheneu Editora. São Paulo. 304 p.
- KRECEK, R.C. 1989. *Habronema malani* sp. n. and *Habronema tomasi* sp. n. (Nematoda: Habronematidae) from the Burchell's zebras and Hartmann's mountain zebras in southern Africa. *Proceedings of the Helminthology Society of Washington*, 56:183-191.
- KRICKA, L.J. 1998. Fundamentos de técnicas imunoquímicas. IN: BURTIS, C.A. & ASHWOOD, E.R. 1998. *Fundamentos de Química Clínica (Tietz)*. Editora Guanabara Koogan S.A. 4ª edição. 654p.
- LARIONOV, G.M. 1976. In Aktual'nye problemy zhivotnovodstva n yakutii. *Referativnyi Zhurnal.*, 9:58-687.
- LEITE, J.O.; SOUTO, R.; AMADO, S. & REZENDE, A.M.L. 1997. Prevalência de helmintos gástricos de eqüídeos da região metropolitana do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 6:75-78.
- LIU, S.; ZHANG, G. & ZHU, J. 1995. In fluence of temperature variations on rate of development in insects: analysis of case studies from entomological literature. *Annual Entomological Society of America*, 88: 107-119.

- LYONS, E.T. , TOLLIVER, B.S. ; DRUDGE, J.H.; SWERCZEK, T.W.; CROWE, M.W.  
1983. Parasites in Kentucky Thoroughbreds at necropsy: emphasis on stomach worms and tapeworms. *American Journal of Veterinary Research*, 44: 839-844.
- LYONS, E.T. , TOLLIVER, B.S. ; DRUDGE, J.H.; SWERCZEK, T.W.; CROWE, M.W.  
1987. Common internal parasites found in the stomach, large intestine, and cranial mesenteric artery of Thoroughbreds in Kentucky at necropsy (1985 to 1986). *American Journal of Veterinary Research*, 48:268-273.
- LYONS, E.T.; DRUDGE, J.H. ; TOLLIVER, S.C. 1990. Prevalence of some internal parasites found (1971-1989) in horses born on a farm in central Kentucky. *Equine Veterinary Science* 10 : 99-10
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H. & MIGUITA, M. 1998. Teste de congutinação rápida para diagnósticos de anticorpo contra *Babesia bovis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 33: 487-495.
- MASSAD, E. 1992. Modelos matemáticos. (423-453) IN: Forattini (1992) Ecologia, epidemiologia e sociedade. Editora Artes Médicas. 529p.
- MELLO, M.J. & CUOCOLO, R. 1943a. Técnica para o xenodiagnóstico da habronemose gástrica dos Equídeos. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 14:217-226.
- MELLO, M.J. & CUOCOLO, R. 1943b. Alguns aspectos das relações de *Habronema muscae* (Carter, 1861) com a mosca doméstica. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 14:227-234.

- MELLO, M.J. & PEREIRA, C. 1946. Determinismo da evasão de larvas de *Habronema* sp da tromba da mosca doméstica. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 17:259-266.
- MFITILODZE, M.W. & HUTCHINSON, G.W. 1989. Prevalence and intensity of non strongyle intestinal of horses in northern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 66: 23-26.
- MILLER, N. & LEHANE, M. J. 1993. Peritrophic membranes, cell surface molecules and parasite tropisms within arthropod vectors. *Parasitology Today*, 9: 45-50.
- MOLYNEUX, D.H. 1998. Vector-borne parasitic diseases – an overview of recent changes. *International Journal of Parasitology*, 28: 927-934.
- MOUNT, G.A.; HAILE, D.G.; DAVEY, R.B. & COOKSEY, L.M. 1991. Computer simulation of *Boophilus* cattle tick (Acari: Ixodidae) population dynamics. *Journal of Medical Entomology*, 28: 223-240.
- MÜHR, B. 2000. Klimadiagramme. [7 pp.] Acesso: <http://www.klimadiagramme.de/> [2000, 11 de dezembro].
- MURALIDHAR, P. & RAO, P.N. 1991. A note on a new vector of horse nematode *Habronema* sp from a dipteran host (Empipidae) from Hyderabad, A.P. *Current Nematology* 2: 85-86.
- NAOUM, P.C. 1999. *Eletroforese, técnicas e diagnósticos*. Livraria Santos Editora. São Paulo. 324p.

- NAPPI, A.J. 1970. Hemocytes of larvae of *Drosophila euronotus* (Diptera: Drosophilidae). *Annals Entomology Society of America*, 63:1217.
- NAPPI, A.J. & STOFFOLANO, J.G. 1971. *Heterotilenchus autumnalis*: hemocytic reactions and capsule formation in the host *Musca domestica*. *Experimental Parasitology*, 29:116-125.
- N.C.D.C. 2000. CLIMVIS. [3 pp.] Acesso: <http://www.ncdc.noaa.gov/ghcn.SELECT.html> [2000, 04 de abril].
- NISHIYAMA, S. 1958. Studies on habronemiasis in horses. *Kagoshima Daigaku Nogakubu Gakujutsu Hokoku*, 7:1-81.
- O'HARA, J.E. & KENNEDY, M.J. 1991. Development of the nematode eyeworm, *Thelazia skrjabini* (Nematoda: Thelazioidea), in the infected face flies, *Musca autumnalis* (Diptera: Muscidae). *Journal of Parasitology*, 77:417-425.
- OUHELLI, H.; CABARET, J.; PANDEY, V.S. & ELKHALFANE, A. 1979. Localisation des parasites dans l'estomac du cheval de la région de settat (Maroc). *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 32: 347-352.
- PAIVA, F. 1988. *Habronema muscae* (Carter, 1861) Diesing, 1861: Descrição de formas imaturas, uma nova técnica de diagnóstico e a prevalência da habronemose gástrica no estado do Mato Grosso do Sul. Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 58 p.

- PANDEY, V.S., OUHELLI, H. & ELKHALFANE, A. 1981. Epidemiological observations on stomach worms of horses in Morocco. *Journal of Helminthology*, 55:155-160.
- PANDEY, V.S. & CABARET, J. 1993. Stomach parasites of donkeys in Morocco: habitat and interspecific interactions. *Veterinary Parasitology*, 49: 331-337.
- PEREIRA, C. & MELLO, M. J. 1948. Papel da predisposição do hospedeiro na produção da Habronemose Cutânea ('esponja') dos Eqüídeos. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 18: 363-379.
- POINAR, G.O. & HESS, R. 1974. An ultrastructural study of the response of *Blattella germanica* (Orthoptera:Blattidae) to the nematode *Abbreviata caucasica* (Spirurida: Physalopteridae). *International Journal for Parasitology*, 4:133-138.
- POINAR, G.O. & QUENTIN, J.C. 1972. The development of *Abbreviata caucasica* (von Linstow) (Spirurida: Physalopteridae) in the intermediate host. *Journal of Parasitology*, 58:23-28.
- PUGLIESE, A.; ROSÀ, R. & DAMAGGIO, M.L. 1998. Analysis of a model for macroparasitic infection with variable aggregation and clumped infections. *Journal of Mathematical Biology*, 36: 419-447.
- PYÖRÄLÄ, E., KATILA, T. & NIKANDER, S. 1984. Hevosen Kesahaava. *Suomen Eläinlaakarilehti*, 90:266-269.
- QUENTIN, J.C. & POINAR, G.O. Jr. 1973. Comparative study of the larval development of some heteroxenous subulurid and spirurid nematodes. *International Journal for Parasitology*, 3:809-827.

- RAI, P. 1960. Stomach worms of equines. *Indian Journal of Veterinary Science*, 34:641-649.
- RANSOM, B.H. 1911. The life history of a parasitic nematode *Habronema muscae*. *Reprint Science*, 34:690-692.
- RANSOM, B.H. 1913. The life history of *Habronema muscae* (Carter), a parasite of the horse transmitted by the housefly. *Bulletin No. 163 of the Bureau of Animal Industry*, United States Department of Agriculture, p. 1-36.
- REINEMEYER, C.R., SMITH, S.A., GABEL, A.A. & MERD, R.P. 1984. The prevalence and intensity of internal parasites of horse in the USA. *Veterinary Parasitology*, 15:75-83.
- RICHARDSON, P. N. & CHANTER, D. O. 1979. Phorid fly (Phoridae: *Megaselia halterata*) longevity and the dissemination of nematodes (Allantonematidae: *Howardula husseyi*) by parasitised females. *Annal of Applied Biology*, 93: 1-11.
- ROBERTS, M.G. & HEESTERBEEK, J.A.P. 1998. A simple parasite model with complicated dynamics. *Journal of Mathematical Biology*, 37: 272-290.
- ROBINSON, J. V. & COMBS, R. L. J. 1976. Incidence and effect of *Heterotylenchus autumnalis* on the longevity of face flies in Mississippi. *Journal of Ecomomic Entomology*, 69: 722-724.
- ROUBAUD, E. & DESCAZEAUX, J. 1921. Contribution a l'histoire de la mouche domestique comme agent vecteur des habronémoses d'équides. Cycle évolutif et



- parasitisme de l'*Habronema megastoma* (Rudolphi, 1819) chez la mouche. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, 14:471-506.
- ROUBAUD, E. & DESCAZEUX, J. 1922a. Evolution de l'*Habronema muscae* Carter chez la mouche domestique et de l'*Habronema microstomum* Schneider chez le stomoxe (Note préliminaire). *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, 15: 572-574.
- ROUBAUD, E. & DESCAZEUX, J. 1922b. Deuxième contribution a l'étude des mouches dans leurs rapports avec l'évolution des habronèmes d'équides. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, 15:978-1001.
- SALT, G. 1963. The defense reaction of insects to metazoan parasites. *Parasitology*, 53:527-642.
- SCHELL, S.C. 1952. Tissue reaction of *Blattella germanica* L. to the developing larva of *Physaloptera hispida* Schell, 1950 (Nematoda:Spiruroidea). *Transactions of the American Microscopical Society*, 71:293-302.
- SCIALDO, R.C. 1977. A survey of stomach parasites of horses from the southwestern, Southern and Central States. *Southwestern Veterinarian*, 30:155-157.
- SCIALDO, R.C.; REINECKE, R.K.& DE VOS, V. 1982. Seasonal incidence of helminths in the Burchell's zebra. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 49: 127-130.
- SGRILLO, R. B. 1982. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. *Ecossistema*, 7: 9-13.

- SHAMSUL-ISLAM, A.W.M. 1985. Prevalence of habronemiasis in horse in Zambia. *Indian Journal of Parasitology*, 9:65-66.
- SOULSBY, E.J.L. 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 809 p.
- STICK, J.A. 1981. Surgical management of genital habronemiasis in a horse. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 76: 410-414.
- STINNER, R.E.; BUTLER, G.D., Jr.; BACHELER, J.S. & TUTTLE, C. 1975. Simulation of temperature-dependent development in population dynamics models. *Canadian Entomology*, 107: 1167-1174.
- STOFFOLANO, J. G., Jr. 1970. Parasitism of *Heterotylenchus autumnalis* Nickle (Nematoda: Sphaerulariidae) to the face fly, *Musca autumnalis* DeGeer (Diptera: Muscidae). *Journal of Nematology*. 2, 324-329.
- STRAND, M.R. & PECH, L.L. 1995. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual Review of Entomology*, 40:31-56.
- STRUCHINER, C.J.; MASSAD, E. & AZEVEDO NETO, R. 1998. Notas sobre a dinâmica populacional das doenças transmissíveis, com ênfase sobre a dinâmica de transmissão do HIV. [87 pp]. Acesso: <http://www.aids.gov.br/drogas/seringas/doc13.htm> [2000, 20 de março].
- TORGGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B. & TORGGLER, S.P. 1996. Isoenzimas. Variabilidade genética em plantas. *Série Monografias. Gráfica e Editora F.C.A.* Ribeirão Preto, SP. Sociedade Brasileira de Genética. 186p.

- TORRES, C.M. 1925a. Déterminisme de la libération spontanée des larves de d'*Habronema muscae* (Carter, 1861) *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 93:33-35.
- TORRES, C.M. 1925b. L'hématotropisme des larves mûres d'*Habronema muscae* (Carter, 1861) *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 93: 38-39.
- ULLMANN, M.D.; BOWERS, L.D. & BURTIS, C.A. 1998. Cromatografia. IN: BURTIS, C.A. & ASHWOOD, E.R. 1998. *Fundamentos de Química Clínica (Tietz)*. Editora Guanabara Koogan S.A. 4ª edição. 654p.
- VAN SACEGHAM, R. 1917. Contribution l'étude de la dermite granuleuse des Equides. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 10:726-729.
- WAGNER, T.L.; WU, H.; SHARPE, P.J.H.; SCHOOLFIELD, R.M. & COULSON, R.N. 1984. Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Annual Entomological Society of America*, 77:208-225.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1959. Insect blood cells. *Annual Review of Entomology*, 4: 1-16.
- WILLIAMS, B.G.; DRANSFIELD, R.D. & BRIGHTWELL, R. 1990. Tsetse fly (Diptera:Glossinidae) population dynamics and the estimation of mortality rates from life table data. *Bulletin of Entomological Research*, 80:479-485.
- WONG, P.L. & ANDERSON, R.C. 1982. The transmission and development of *Cosmocephalus obvelatus* (Nematoda: Acuarioidea) of gulls (Laridae). *Canadian Journal of Zoology*, 60:1424-1440.

- ZAR, J. H. 1996a. Comparing Simple Linear Regression Equations. *Biostatistical Analysis*, Third edition/ cap. 17: 353-361.
- ZAR, J. H. 1996b. Two factor analysis of variance. *Biostatistical Analysis*, Third edition/ cap. 12: 235-277.
- ZHDANOVA, M.G. 1972. *Habronema* and *Draschia* infections in odd-toed ungulates in Uzbekistan. V.V. *Kuobysheva*, 24:154-156.
- ZUBEN, C.J.V.; REIS, S.F.; VAL, J.B.R.; GODOY, W.A.C. & RIBEIRO, O.B. 1993. Dynamics of a mathematical model of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 30:443-448.