

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

DETECÇÃO AO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE TRANSMISSÃO DE PARTÍCULAS
VIRAIS DO GRUPO TOGA E PARAMIXO EM MOLLUSCA GASTROPODA,
PULMONATA *HELIX ASPERSA* (ESCARGOT) HELICIDAE E GRUPO
PARAMIXO EM LESMA *AGINULUS* SP. VERONICELIDAE⁴M. Hipolito¹, M.H.B. Catroxo², N.A. Curi², H. Schmich²¹Unidade Laboratorial de Referência para Produção de Imunobiológicos e Insumos, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: hipolito@biologico.br

RESUMO

Relata-se a observação ao microscópio eletrônico de transmissão de partículas virais do grupo Toga em músculos e do grupo Paramixo em fezes de *Helix aspersa* (Escargot Gros Gris) Molusca Gastropoda Pulmonata provenientes de criação comercial que apresentou alto índice de mortalidade associado a falha no manejo sanitário. As partículas virais do grupo Toga foram encontradas nos músculos podal (movimentação) e columelar (retração na concha) somente de animais doentes. As partículas do grupo Paramixo foram vistas somente nas fezes de *H. aspersa* saudáveis e nas fezes da lesma *Vaginulos* Verocinelidae sadias. Ainda se desconhece a importância destes vírus como agentes patogênicos ou oportunistas para o "escargot" *H. aspersa*. Com este artigo fica também o alerta para a importância dos cuidados sanitários na criação de "escargots".

PALAVRAS-CHAVE: *Helix aspersa*, caracol, escargot, molusco, patologia, vírus.

ABSTRACT

DETECTION BY TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE OF VIRAL PARTICLES OF TOGA GROUP AND PARAMIXO GROUP VIRUS IN MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA *HELIX ASPERSA* (ESCARGOT - COMMON GARDEN SNAIL) HELICIDAE AND PARAMIXO GROUP IN SNAIL *VAGINULUS* SP. VERONICELIDAE. The authors describe the observation by transmission electron microscope of virus particles of the Toga group in muscles and the Paramixo group in faeces of *Helix aspersa* (Escargots Gros Gris - common garden snail) Molusca Gastropoda Pulmonata from commercial snail farming with high rate of mortality associated with substandard sanitary management. The virus particles of the Toga group were seen in podal (movement) and columella (shell inside retraction) muscles only in diseased animals. The virus particles of the Paramixo group were seen only in faeces of *H. aspersa* healthies and in faeces of healthy snail *Vaginulos* Verocinelidae snails. The importance of these viruses as pathogenic or opportunistic agents for the *H. aspersa* snail is still unknown. The purpose of this paper is furthermore to raise awareness concerning the importance of sanitary management in snail breeding.

KEY WORDS: *Helix aspersa*, common garden snail, escargot, mollusk, pathology, virus.

A helicicultura é uma atividade recentemente implantada no Brasil e, como toda criação que é feita em confinamento, devido ao grande número de animais alojados e em parte pelo desconhecimento do criador de procedimentos básicos em limpeza, higienização e de manejo sanitário, surgem problemas graves, que levam a perda de grande número de animais, por vezes até inviabilizando o empreendimento comercial.

Em relação à literatura encontrada sobre a presença viral em "escargots" criados comercialmente, só foram encontradas informações superficiais (RIBAS, 1986). Entre os outros agentes patogênicos, estão as bactérias do gênero *Aeromonas* e *Pseudomonas* (AVAGNINA, 1997; COOPER & KNOWLER, 1991, HIPOLITO *et al.*, 1987), fungos (COOPER & KNOWLER, 1991; RIBAS, 1986) e parasitas (AVAGNINA, 1997; BONNET *et al.*, 1990; COOPER & KNOWLER, 1991; RIBAS, 1986).

²Unidade Laboratorial de Referência em Microscopia Eletrônica, Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.⁴Trabalho apresentado na 11ª Reunião Anual do Instituto Biológico, 1998, SP.

Para outros moluscos, há notificação de uma iridovirose acometendo naturalmente a *Lymnaea truncatula*, de vida livre, comportando-se como uma epidemia (RONDELAUD & BARTHE, 1992).

De criação comercial em município da região de Campinas, São Paulo, com perdas de mais de 30.000 animais em poucos dias, desde jovens até adultos reprodutores, foram recebidos para exames, centenas de exemplares de "escargot" gros gris *Helix aspersa* doentes e mortos. Destes, foram separados 20, em fase agônica, para os exames. Nestes exemplares foi feito inicialmente somente exame bacteriológico, que não apresentou nos resultados os agentes patogênicos associados a estes animais. Como complemento foram então encaminhados fragmentos dos músculos podal e columelar para exame pela microscopia eletrônica.

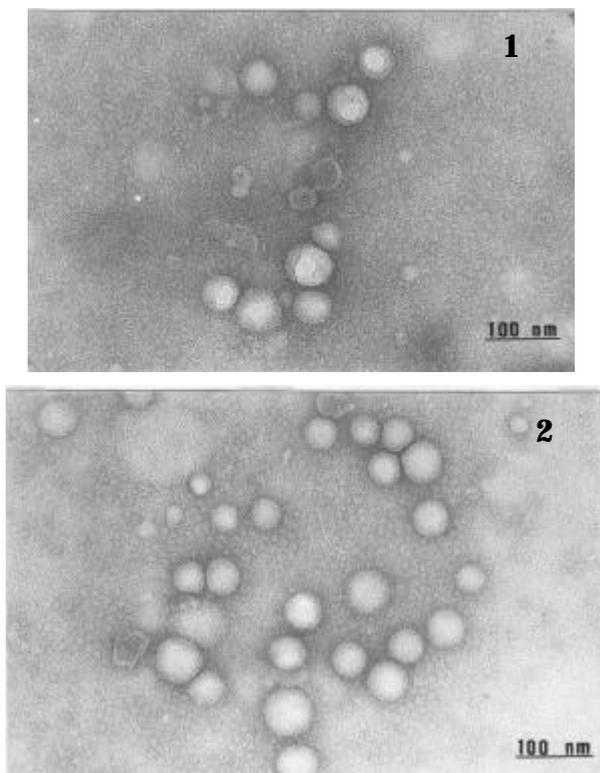
Estes fragmentos foram processados por meio da técnica de contrastação negativa, sendo as amostras suspensas em tampão fosfato 0,1M e pH 7,0 e colocados em contato com grades metálicas, previamente, cobertas com filme de colódio e carbono, drenadas com papel filtro e contrastadas negativamente com molibdato de amônio a 2%, pH 5,0. Foram observadas em microscópio eletrônico de transmissão modelo PHILIPS EM 208.

Nos músculos foi visualizado grande número de partículas semelhantes a vírus, do grupo Toga, arredondadas, envelopadas, medindo aproximadamente 50 a 70 nm de diâmetro (Figs. 1 e 2).

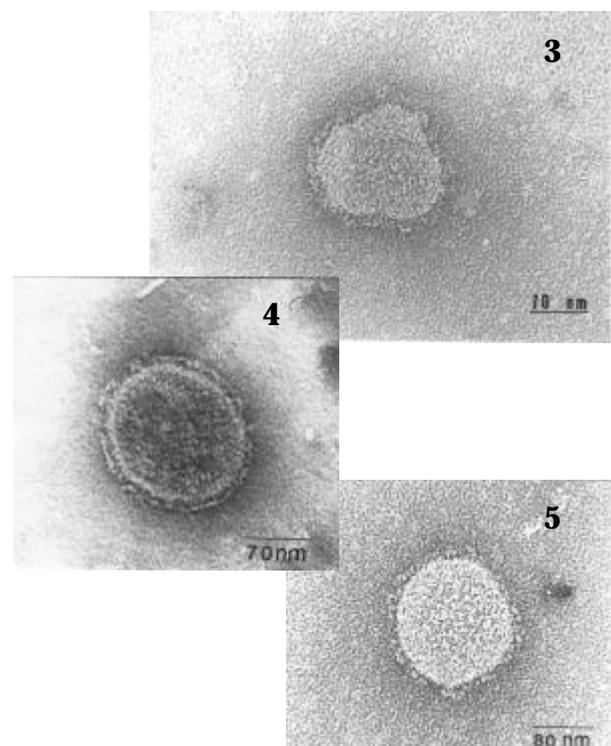
Com a intenção de se conhecer se este grupo viral está normalmente presente em "escargots", posteriormente, o mesmo tipo de material de animais sadios, provenientes da mesma propriedade e amostras de suas fezes, além de fezes da lesma *Vaginulus*, criadas experimentalmente no Instituto Biológico, foram também processadas e examinadas pela microscopia eletrônica.

Nos músculos dos "escargots" não foi observada a presença de partículas virais. As fezes apresentaram partículas virais do grupo Paramixo, pleomórficas, arredondadas ou alongadas, com envoltório característico envolvendo os capsômeros, medindo entre 150 a 250 nm de diâmetro (Figs. 3, 4 e 5).

Após a aplicação de medidas rigorosas de controle sanitário, como descarte de todos animais suspeitos e doentes, área de isolamento para os animais sadios, higienização com hipoclorito de sódio de todas as estruturas, utensílios e equipamentos utilizados dentro dos recintos de criação, e a não entrada de "escargots" estranhos e principalmente, com alterações de seus hábitos - provavelmente doentes - o problema foi controlado.



Figs. 1 e 2 - Partículas semelhantes a vírus, do grupo Toga, arredondadas, envelopadas, contrastadas pela técnica de coloração negativa, em suspensões de músculos podal e columelar, de "escargots" gros gris (*Helix aspersa*) doentes.



Figs. 3, 4 e 5 - Partículas semelhantes a vírus, do grupo Paramixo, arredondadas, contendo envoltório característico envolvendo os capsômeros, contrastadas pela técnica de coloração negativa, em fezes de "escargots" gros gris (*Helix aspersa*) sadios e de lesmas *Vaginulus* sp., sadias.

Como as medidas de controle sanitárias foram aplicadas imediatamente após o primeiro contato do criador e o resultado do exame de microscopia eletrônica ficar pronto alguns dias após a aplicação destas medidas, não havia mais animais doentes para serem usados como fontes numa infecção experimental. O contato de animais sadios com carcaças dos mortos, que foram mantidas sob congelamento, não causou qualquer tipo de doença.

Pelo histórico do caso, a mortalidade começou a se manifestar após a entrada de "escargots" estranhos à criação, proveniente de uma propriedade que estava perdendo seus animais. Com o intuito de colaborar para resolver esta outra mortalidade foi solicitado animais doentes na tentativa de se conhecer a causa das mortes. Por ingenuidade dos criadores, estes animais foram colocados dentro do galpão principal de criação, com animais sadios e cuidados pelos mesmos tratadores. Tal situação facilitou a propagação da doença, que assumiu caráter epidêmico. A única informação dada pelo outro criador, é que os animais, também de repente, começaram a morrer, não sendo observado nada que pudesse ser diferente ou anormal em relação às práticas rotineiras de criação de "escargots". Fica o alerta da necessidade de "quarentena em local próprio e isolado" quando da entrada de animais estranhos à criação, mesmo sadios como repositores para engorda ou reprodução. A maximização das medidas de higiene numa situação de doença ou mortalidade deve ser observada, além dos cuidados de asseio pessoal dos tratadores.

Devido a todas as amostras de animais doentes apresentarem somente o grupo Toga em grande número de partículas na musculatura, pode ser que

este esteja envolvido com a mortalidade, não sendo conhecido como um agente primário ou oportunista. Pela presença do grupo Paramixovirus somente nas fezes dos animais sadios, este pode fazer parte de sua microbiota normal.

Levando-se em conta que nada existe como literatura específica sobre a presença viral em caracóis, este estudo deve ser continuado. Acredita-se ser este o primeiro relato de presença viral em "escargots" *Helix aspersa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVAGNINA, G. *La Chiocciola: principi di elicicoltura*. Bologna: Edizioni Agricole, 1997.
- BONNET, J.C.; AUPINEL, P.; VRIILLON, J.L. *L'Escargot Helix aspersa: biologie - élevage*. Paris: INRA, 1990.
- COOPER, J.E. & KNOWLER, C. Snails and snail farming: an introduction for the veterinary profession. *Vet. Rec.*, v.129, n.25/26, p.541-549, 1991.
- HIPOLITO, M.; BALDASSI, L.; MOULIN, A.A.P.; CALIL, E.M.B.; BARBOSA, M.L.; CUNHA, R.M.; PIRES, D.C. Exames bacteriológicos em "escargots". Resultados e comentários. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA, 10., 1987, São Paulo. *Programa e Resumos*. São Paulo: S.B. Malacologia. 1987. p.12.
- RIBAS, J.F.L. *Criação de caracóis*. São Paulo: NOBEL, 1986.
- RONDELAUD, D. & BARTHE, D. Epidemiological observations on iridovirosis of *Lymnaea truncatula*, host mollusca of *Fasciola hepatica*. *C.R. Acad. Sci. Ser. III Sci. Vie*, v.314, n.13, p.609-612, 1992.

Recebido em 14/8/02

Aceito em 6/12/02