

## Infecção experimental de *Physa cubensis* Pfeiffer 1839 e *Lymnaea columella* com miracídios de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758

### Experimental infection of *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 and *Lymnaea columella* with *Fasciola hepatica* miracidiae Linnaeus, 1758

CORRESPONDÊNCIA PARA:  
EDWIN PILE

Núcleo de Biologia e Controle de Endo e Ectoparasitos de Interesse Médico e Veterinário  
Departamento de Biologia/IOC/FIOCRUZ  
Av. Brasil, 4365  
21045-900 – Rio de Janeiro - RJ  
e-mail: edwin\_pile@uol.com.br

1- Departamento de Biologia/IOC/FIOCRUZ,  
Rio de Janeiro - RJ

Juliana SãoLuiz de BARROS<sup>1</sup>; Edwin Alberto Maure PILE<sup>1</sup>; Mauricio Carvalho de VASCONCELLOS<sup>1</sup>; José Augusto Albuquerque dos SANTOS<sup>1</sup>; Claudia LESSA<sup>1</sup>

#### RESUMO

Foi realizada a infecção experimental de *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839, com miracídios de *Fasciola hepatica*. Para tanto, cada um dos cem moluscos, selecionados para o experimento, foram infectados com três miracídeos. Alguns exemplares, escolhidos ao acaso, foram mantidos até o 60º dia para observação da emergência de formas larvais. Os moluscos restantes foram fixados após 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 24; 48; 72; 96; 120 e 144 horas de infecção, utilizando Raillet & Henry. O trabalho foi realizado de forma comparativa com *Lymnaea columella*. Os resultados demonstraram o desenvolvimento das formas larvais do trematódeo em *L. columella* e a presença de esporocistos em vários estágios de degeneração na região cefalopodal e na região do manto nos primeiros dias de infecção em *P. cubensis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Physa* sp. *Lymnaea* sp. *Fasciola hepatica*. Infecção experimental.

#### INTRODUÇÃO

A fasciolose causada por *Fasciola hepatica* é considerada uma zoonose com ampla distribuição geográfica, capaz de limitar a criação de diversas espécies de animais domésticos de interesse zootécnico, além de acometer o homem hospedeiro como ocasional.

Em todas as regiões endêmicas, as espécies do gênero *Lymnaea* são aceitas, quase por unanimidade, como hospedeiro intermediário de *F. hepatica*<sup>5</sup>. As exceções no hemisfério ocidental ficam por conta de Vigueira; Moreno, em Cuba<sup>10</sup>, Richards, em Porto Rico<sup>9</sup> e Busseti, no Brasil<sup>2</sup>. Esses autores destacam a *Physa cubensis* como boa hospedeira intermediária de *F. hepatica*, registros discordantes dos resultados de De León, Ritchie e Chiriboga<sup>3</sup>; Morales Pino e Angelo<sup>7</sup> e Luz, Vieira e Cezar<sup>5,6</sup>.

Com base nesses dados, e considerando os estudos sobre aspectos epidemiológicos da fasciolose hepática, realizaram-se investigações experimentais comparativas infectando exemplares de *P. cubensis* e *L. columella* com miracídios de *F. hepatica*.

#### MATERIALE MÉTODO

Os moluscos foram coletados em campo e identificados segundo os registros de Paraense<sup>8</sup>. Depois de aclimatados, foram criados e mantidos em laboratório, em condições naturais de luz e temperatura. Os experimentos foram realizados com as gerações obtidas desses indivíduos. Para a realização dos experimentos, cem moluscos de cada espécie foram selecionados e separados em grupos de dez animais.

Os ovos de *F. hepatica* foram obtidos da bile de bovinos criados e beneficiados no município de Santa Vitória do Palmar-RS/Brasil. A bile obtida desses animais foi processada através da técnica de Quatro Tamises<sup>4</sup> e, os ovos isolados foram colocados, em recipientes de vidro que continha água destilada. Posteriormente, esses recipientes foram envoltos em papel laminado, o que os mantinham protegido da luz. A incubação foi feita em câmara climatizada<sup>a</sup> a uma temperatura de 26±1 °C.

Após quinze dias de incubação, os ovos foram expostos à luz de lâmpada incandescente de 60 watts, durante vinte minutos, aproximadamente para a eclosão dos miracídios.

<sup>a</sup>Marca Fanem

<sup>b</sup>Microscópio marca Carls Zeiss

<sup>c</sup>Asa 100, marca Kodak

<sup>d</sup>Moluscos com 6±1mm de comprimento de concha e valor modal 6mm

<sup>e</sup>Moluscos com 5±1mm de comprimento de concha e valor modal 5mm

Para realizar a infecção, os moluscos foram mantidos em recipientes individuais. Cada molusco foi exposto a três miracídios por um período de sessenta minutos, aproximadamente.

Posteriormente, cinco moluscos de cada grupo foram anestesiados com tionebutal após 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de infecção e, tiveram suas conchas removidas cuidadosamente. Os moluscos restantes foram mantidos até o sexagésimo dia de infecção para a verificação da eliminação de cercárias. Posteriormente, foram imersos em solução fixadora Raillet & Henry. Após o material ter sido fixado, procedeu-se a rotina para os exames histológicos<sup>1</sup>. Os órgãos estudados foram: rim, glândula digestiva e gônadas.

As fotomicrografias foram feitas com microscopia de luz<sup>b</sup>, utilizando filme colorido<sup>c</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 2 estão apresentadas as taxas de infecção de *P. cubensis* e *L. columella* com miracídios de *F. hepatica*. Os resultados demonstraram que houve infecção das duas espécies de moluscos utilizados durante o experimento. As taxas de

infecção foram confirmadas através da histologia. Em *L. columella*, conseguiu-se acompanhar a infecção e o desenvolvimento das formas larvais até a fase de escape das cercárias do corpo do molusco. Estes registros contrastaram com os observados em *P. cubensis*, em que só pode ser observado a presença de esporocistos por ocasião da penetração da larva na região cefalopodal e na região do manto, estas observações puderam ser registradas até a quarta hora de infecção. Nesse período, também foi verificado o comprometimento da integridade tecidual do molusco. Estes resultados estão em concordância, em parte, com os de Luz, Vieira e Cezar<sup>6</sup>, já que os autores não registraram parasitismo por *F. hepatica* em 6392 exemplares de *P. cubensis* dissecados, nem nos analisados histologicamente. Neste caso, nos exemplares de *P. cubensis*, mantidos até sexagésimo dia de infecção, não houve liberação de cercárias, porém, através da histologia demonstraram-se evidências de infecção nas primeiras horas. Estes registros deixaram a indicação da possibilidade da espécie se infectar, contudo, sem evolução das fases larvais. Fato este que nos leva a discordar da afirmação feita por Vigueiras; Moreno<sup>10</sup>, Richards<sup>9</sup> e Busseti<sup>2</sup>, os quais destacaram a *Physa cubensis* como hospedeira de *F. hepatica*.

**Tabela 1**

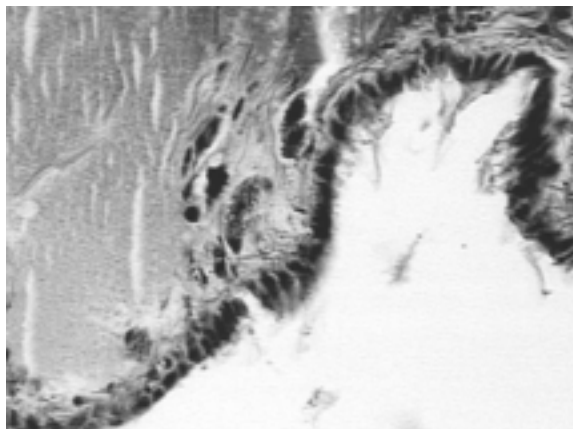
Número de *Lymnaea columella*<sup>d</sup> e *Physa cubensis*<sup>e</sup> utilizados em infecção experimental com miracídios de *Fasciola hepatica*.

	No. de <i>L. columella</i>	No. de <i>P. cubensis</i>
Exemplares expostos à infecção	100	100
Exemplares sacrificados	60	60
Exemplares c/ formas larvais	47	02
Índice de infecção	78%	3,2%

**Tabela 2**

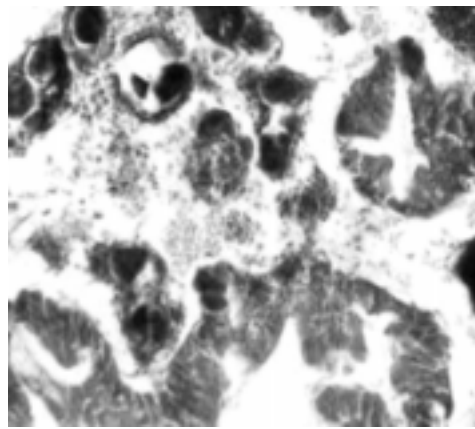
Mortalidade (%) de *Lymnaea columella* e *Physa cubensis* infectados com miracídios de *Fasciola hepatica*.

Espécies	No. de animais infectados	No. de animais infectados mortos	Mortalidade (%)
<i>Lymnaea columella</i>	30	28	93
<i>Physa cubensis</i>	38	3	7,8



**Figura 1**

Histologia da massa cefalopodal de *Physa cubensis*. Esporocisto nas primeiras horas de infecção (1mm=0,22mm).



**Figura 2**

Histologia da glândula hepática de *Lymnaea columella*. Esporocistos 120 horas após a infecção (1mm=0,22mm).

### SUMMARY

The experimental infection of *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 was realized with three *Fasciola hepatica* miracidiae. One hundred snails were infected. Some groups were maintained up to the 60<sup>o</sup>. day post infection for the observation of the larval forms emergency. The snails, in the remaining groups, were immersed in Raillet & Henry 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 24; 48; 72; 96; 120 and 144 hours post infection. The experiment was realized comparatively with *Lymnaea columella*. The results demonstrated, at first days infection, esporocysts presence in the cephalopodal mass and mantle, however, in the last days it didn't get to identify any larval form, in *P. cubensis*.

**KEY-WORDS:** *Physa* sp. *Lymnaea* sp. *F. hepatica*. Experimental infection.

### REFERÊNCIAS

1. BEHMER, O.A., DE TOLOSA, E.M.C., DE FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Ed. Edart, 1976. 257 p.
2. BUSSETI, E.T. **Contribuição ao estudo da *Fasciola hepatica* no Estado do Paraná-Brasil**. 1985. Tese (Professor Titular em Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1985.
3. DE LEON, D.; RITCHIE, L.; CHIRIBOGA, J. Refractiveness of *Physa cubensis* Pfeiffer and *Aplexa marmorata* Guildind to *Fasciola hepatica* L. **Journal Agricultural University Puerto Rico**, v.55, p.267-270, 1971.
4. GIRÃO, E. S.; UENO, H. Técnica de Quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da fasciolose dos ruminantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.8, p.905-912, 1985.
5. LUZ, E.; SILVANA, M.C.; DINIZ, J.M.F.; LEITE, L.C.; KOZEMJAKIN, D.A.; WERKA, L. Infecção Experimental de *Lymnaea columella*, *Physa cubensis* e *Physa marmorata* com miracídios de *Fasciola hepatica*, provenientes de gado das regiões metropolitana de Curitiba e do litoral Paranaense, Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 39, n. 2, p. 401-403, 1996.
6. LUZ, E.; VIEIRA, A.M.; CEZAR, T.C.P. Aspectos biológicos de *Lymnaea columella*, Say, 1817, *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 e *Physa marmorata* Guilding, 1828 (Mollusca-Pulmonata) no Primeiro Planalto e Litoral Paranaense. **Arquivos Biologia Tecnológicos Paraná**, v. 37, n.3, p. 667-671, 1994.
7. MORALES, G.; PINO, L.; ANGULO, N. Resistencia de *Physa cubensis* a la infección com *Fasciola hepatica*. **Revista Facultad Ciencias. Veterinarias**, v.34, n.1-4, p. 43-55, 1987.
8. PARAENSE, W.L. *Lymnaea columella* in Northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 4, p. 477-482, 1983.
9. RICHARDS, C.S. Studies on Puerto Rican Physidae. **Public Health Rep.**, v. 79, n. 11, p. 25-29, 1964.
10. VIGUEIRA, I.; MORENO, A. *Physa cubensis* (Mollusca). Un nuevo hospedero intermediario de *Fasciola hepatica* (Trematoda). **Memorias. de la Sociedad Cubana de Historia Natural Felipe Poey**, v. 12, p. 74, 1938.

**Recebido para publicação: 08/06/2001**  
**Aprovado para publicação: 19/03/2002**