

BIOMPHALARIA STRAMINEA NO PERU E SUA SUSCETIBILIDADE A CEPAS BRASILEIRAS DE SCHISTOSOMA MANSONI

C.A. Cuba Cuba* e L.R. Corrêa**

Em Maio de 1973, um dos autores (C.A.C.) coletou na localidade de Imacita, Província de Bagua, Departamento de Amazonas, vários espécimes de Biomphalaria straminea (Dunker, 1848), uma espécie que, até então, não havia sido assinalada no Peru.

Descendentes destes indivíduos foram submetidos a provas de suscetibilidade às cepas BH e SJ de Schistosoma mansoni que, em condições naturais, evoluem em B. glabrata de Belo Horizonte e B. tenagophila de São José dos Campos, respectivamente.

Oitenta espécimens foram expostos à cepa BH dos quais em 13 ou 16,2% a infecção evoluiu caracteristicamente até a formação de esporocistos secundários sem haver, contudo, eliminação de cercárias, mesmo no indivíduo que apresentou uma sobrevivência de 88 dias após a exposição. Não se verificou cura espontânea neste lote.

Entre as 40 B. straminea expostas à cepa SJ 9 ou 22,5% infectaram-se, sendo que apenas duas eliminaram poucas cercárias aos 57 e 77 dias após a exposição, por dois dias consecutivos, tendo uma morrido e uma se curado espontaneamente. A cura espontânea do parasitismo foi notado em mais dois indivíduos, nos quais a infecção foi observada através da concha.

Cortes histológicos seriados de 9 caramujos, expostos individualmente a 50 miracídeos da cepa BH e fixados entre 6 e 120 horas após a exposição, mostraram esporocistos em desenvolvimento e esporocistos invadidos por amebócitos, sem formação de granulomas por parte do hospedeiro, fato assinalado em caramujos suscetíveis.

A população estudada comportou-se experimentalmente de modo semelhante a outras populações de B. straminea testadas em laboratório, isto é, com baixa suscetibilidade, embora tal comportamento não afaste a possibilidade dela vir a manter o ciclo do parasita em sua área de distribuição.

INTRODUÇÃO

Biomphalaria straminea, importante hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni* no Nordeste do Brasil, apresenta vasta distribuição geográfica sendo encontrada na Venezuela, Guianas, Paraguai e Brasil, alcançando perto de 20° latitude sul¹¹. Ainda no Brasil sua presença é assinalada em várias áreas da Bacia Amazônica como em Manaus¹, tendo sido incriminada como vetor

de esquistossomose em Fordlandia, Estado do Pará¹⁰, um foco atualmente extinto.

Em relação a seu potencial de vetor de *S. mansoni* e visando caracterizar o que foi denominado como "qualidade de vetor", Barbosa & Coelho²; Coelho & Barbosa⁵, pesquisaram as relações hospedeiro-parasita de *B. straminea* a uma cepa pernambucana de *S. mansoni*. Posteriormente, Barbosa & Figueiredo³ realizaram estudos sobre a suscetibilidade de diversas cepas de *B. stra-*

* Professor da Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília. Brasília D.F., Brasil.

** Professora do Instituto de Biologia. Universidade de Brasília. Brasília, D.F., Brasil.

Recebido para publicação em 15.6.1977

minea, coletadas em 5 Estados do Nordeste brasileiro, à uma cepa de *S. mansoni* verificando, geralmente, baixas taxas de infecção experimental.

No presente trabalho são apresentados os resultados do estudo da suscetibilidade ao *S. mansoni* de *B. straminea* procedente do Peru, país onde até agora essa espécie não tinha sido assinalada.

MATERIAL E MÉTODOS

Nas experiências foram usadas duas cepas de *Schistosoma mansoni* a cepa BH, isolada em 1959 de um paciente crônico de esquistossomose contraída em Belo Horizonte, MG., e a cepa SJ, isolada em 1962 de *Biomphalaria tenagophila* naturalmente infectada, coletada em São José dos Campos, Estado de São Paulo, ambas mantidas regularmente em camundongos albinos no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Biologia, da Universidade de Brasília.

Caramujos criados no laboratório (4,5 – 9 mm de diâmetro) descendentes de espécimens coletados na localidade de Imacita, Província de Bagua, Departamento de Amazonas, Peru, numa área denominada "selva alta", a 650 m. sobre o nível do mar, foram individualmente expostos a 10 miracídios de *S. mansoni* (Cepas BH e SJ). A concentração dos miracídios era efetuada pela técnica de Chaia⁴ a partir de fezes de camundongos albinos infectados com as cepas estudadas. No estereomicroscópio, os miracídios eram coletados com a ajuda de pipeta Pasteur de calibre fino e contados, sendo depositados em placa de petri de 4 cms de diâmetro, contendo água desclorada. Especial cuidado na escolha dos miracídios foi tomada, pois somente os mais ativos foram empregados. Os caramujos eram colocados nas placas em contacto com os miracídios por um período de 6 hs. após o qual eram colocados em aquários balanceados. Diariamente observava-se os espécimens e no caso da morte de algum deles procedia-se a dissecação e examinava-se a presença de formas larvárias em desenvolvimento do *S. mansoni*. Entre o 26º e 30º dias após a exposição e depois cada 48 hs. os caramujos eram isolados individualmente em pequenos vidros contendo água desclorada e expostos a luz de lâmpadas elétricas de acordo com a técnica padronizada neste laboratório.

O material destinado a estudo histológico era obtido pela morte dos caramujos infectados na água quente (70°C) e retirada do corpo puxando e esticando as partes moles sobre papel de filtro. Posteriormente se fixava em Bouin (12-24 hs), sendo retirado o excesso de ácido pícrico com 3 passagens em álcool *n*-butílico e incluídos em parafina. Cortes seriados de 6 μ da totalidade do corpo do animal foram corados pela Hematoxilina-eosina.

Desenhos em câmara clara da genitália de alguns exemplares foram realizados. Como controle para as diversas experiências de infecção foram utilizados *B. glabrata* de Belo Horizonte, MG.

RESULTADOS

O estudo das conchas e genitália dos moluscos coletados no Peru mostraram similitude morfológica com *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1858) (Fig. 1).

A TABELA I apresenta os resultados da exposição de 80 caramujos à cepa BH de *S. mansoni*, dos quais 13 *B. straminea*, tornaram-se infectados obtendo-se um índice de infecção de 16,2%. Todavia nenhum deles eliminou cercárias, embora houvesse invasão maciça de esporocistos secundários nos órgãos internos e a evolução da infecção ter sido acompanhada durante 3 meses, aproximadamente. Três espécimens com 46, 55 e 88 dias após exposição apresentaram esporocistos secundários finos, sem contudo haver evolução para cercárias.

A observação dos cortes histológicos revelou que a massa cefalopedal e o manto foram as áreas com maior número de esporocistos. O exame do aspecto dos esporocistos revelou formas aparentemente íntegras (inalteradas), com numerosas células germinativas em multiplicação e presença de massa neural, sem reação tissular do hospedeiro, junto a formas em destruição (alteradas), invadidas por amebócitos e com discreta reação celular. Nos esporocistos que apresentaram alterações degenerativas não foi verificada a presença de granulomas. De 86 esporocistos observados nos cortes histológicos seriados de 9 caramujos infectados, 73,2% se apresentaram aparentemente íntegros.

Um índice de infecção de 22,5% foi observado entre os 40 *B. straminea* expostos à cepa SJ (TABELA II), nove dos quais tornaram-se intensamente infectados.

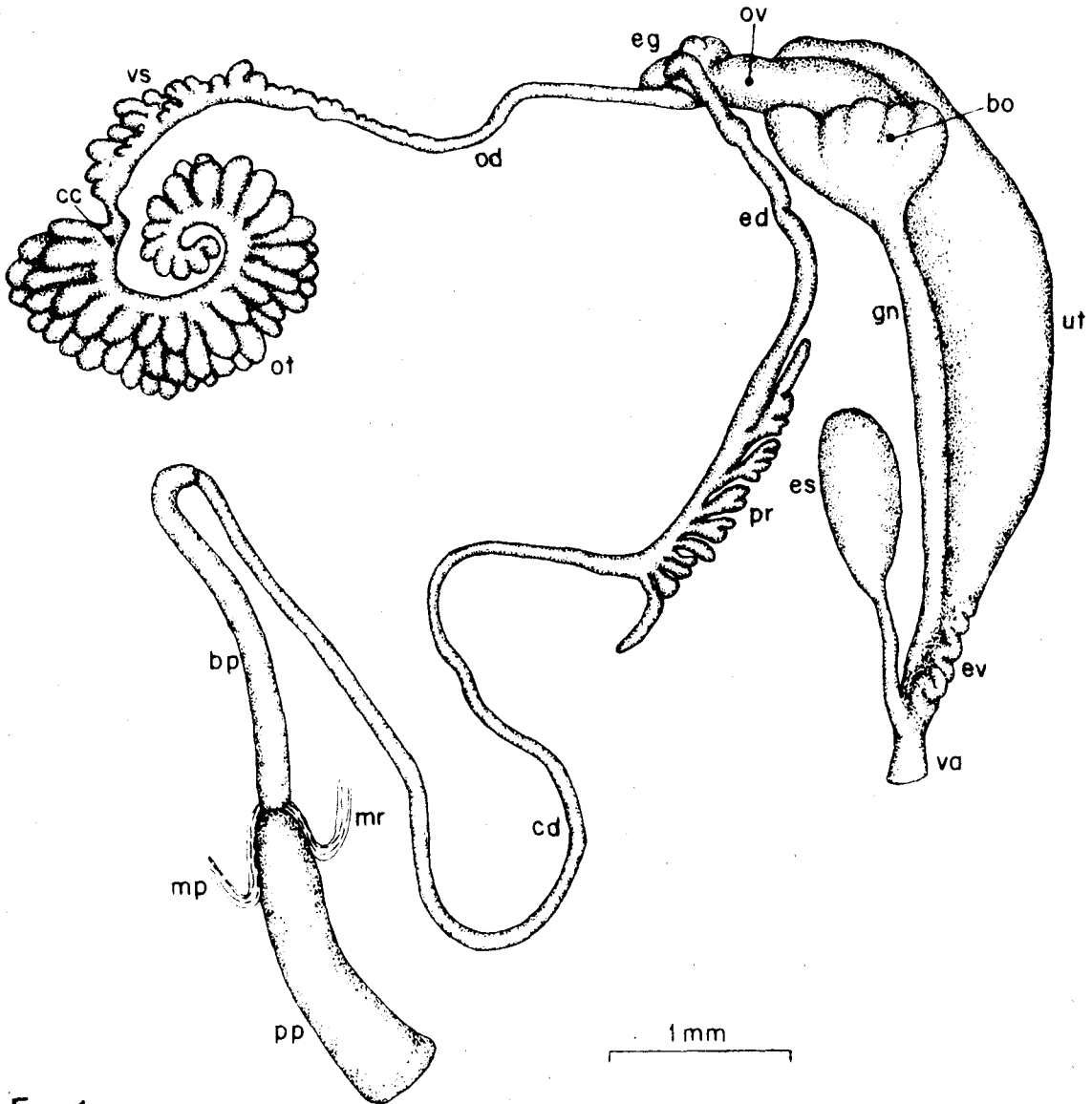


Fig.1

Biomphalaria straminea de Bagua, Peru: sistema genital

bo, bolsa do oviduto; bp, bainha do pênis; cc, canal coletor do ovoteste; cd, canal deferente; ed, espermiduto; eg, encruzilhada genital; es, espermateca; ev, enrugamento vaginal; gn, glândula nidamental; mp, músculo protrator; mr, músculo retrator; od, ovispermiduto; ot, ovoteste; ov, oviduto; pp, prepúcio; pr, próstata; ut, útero; va, vagina; vs, vesícula seminal.

TABELA I RESULTADOS DA EXPOSIÇÃO DE 80 *BIOMPHALARIA STRAMINEA* DE BAGUA, AMAZONAS, PERU, À CEPA BH DE *SCHISTOSOMA MANSONI* (10 MIRACÍDIOS POR CARAMUJO).

DIAS APÓS EXPOSIÇÃO	CARAMUJOS EXAMINADOS	RESULTADOS **
3-20	12	MORTOS NEGATIVOS
21	1	ES NO OT, GD, CR, PN, CP
22-28	5	MORTOS NEGATIVOS
29	1	ES* NA GD, PP, MC. O RESTO AUTOLISADO
30-33	2	MORTOS NEGATIVOS
34	1	ES* NO OT, GD, GA, PP, CR
35	1	MORTO NEGATIVO
36	1	ES OT, GD, CR, MC
37-41	2	MORTOS NEGATIVOS
42-43	2	1 COM ES NA CR, PN, IN; 1 COM ES NO OT, GD, GN, CR, TR, PP, MC
46	1	ES* NO OT, GD, PP
47	1	ES NO OT, GD, CR, PN
48-50	8	MORTOS NEGATIVOS
51	1	ES NO OT, GD, ET, IN, MC, PP, PN
52-54	4	MORTOS NEGATIVOS (ES. ANTENA. PÉ. COLAR MANTO. CR. OV. GD. MC. PAREDE ESTÔMAGO)
55	1	ES* NO OT, PP, MC, TR, CP
56-84	27	DISSECADOS NEGATIVOS
85	1	ES NO OT, GA, PP, CR, CM
88	1	ES* NA GD; O RESTO AUTOLISADO
90-96	3	DISSECADOS NEGATIVOS

* ESPOROCISTOS SECUNDARIOS DELGADOS

** ÍNDICE DE INFECÇÃO 16,2 %

CM COLAR DO MANTO, CP MASSA CEFALOPEDAL, CR CRISTA RETAL, ES ESPOROCISTO SECUNDÁRIO, ET ESTÔMAGO, GA GLÂNDULA DO ALBÚMEN, GD GLÂNDULA DIGESTIVA, IN INTESTINO, MC MÚSCULO COLUMELAR, OT OVOTESTE, PP PAREDE PULMONAR TR TUBO RENAL

TABELA II - RESULTADOS DA EXPOSIÇÃO DE 40 *BIOMPHALARIA STRAMINEA* DE BAGUA, AMAZONAS, PERU, À CEPA SJ DE *SCHISTOSOMA MANSONI* (10 MIRACÍDIOS POR CARAMUJO)

DIAS APÓS EXPOSIÇÃO	CARAMUJOS EXAMINADOS	RESULTADOS *
15 - 32	6	MORTOS AUTOLISADOS NEGATIVOS
35 - 44	7	DISSECADOS NEGATIVOS
54	1	ELIMINOU CERCÁRIA (Nº 1)**
57	2	POSITIVOS. ES OBSERVADOS ATRAVÉS DA CONCHA (Nºs 3,4)**
70	6	DISSECADOS NEGATIVOS
73	1	POSITIVO. ES OBSERVADOS ATRAVÉS DA CONCHA (Nº 5)**
75	4	DISSECADOS NEGATIVOS
77	1	ELIMINOU CERCÁRIAS (Nº 2)**
78	1	POSITIVO. ES OBSERVADOS ATRAVÉS DA CONCHA (Nº 6)**
81	1	ES NO OT, GD, ET, GA, PP, CR, MC, CP
84	2	1 COM ES NO OT, GD, ET, CR, PP, MC, CP; 1 COM ES NO OT, GD, ET, GN, TR, PP, CP
86	8	DISSECADOS NEGATIVOS

* ÍNDICE DE INFECÇÃO 22,5 %. ÍNDICE ELIMINAÇÃO CERCÁRIAS 5%

CM COLAR DO MANTO, CP MASSA CEFALOPEDAL, CR CRISTA RETA ES ESPOROCISTO SECUNDÁRIO, ET ESTÔMAGO, GA GLÂNDULA DO ALBÚMEN, GD GLÂNDULA NIDAMENTAL, MC MÚSCULO COLUMELAR, OT OVOTESTE, PP PAREDE PULMONAR, TR TUBO RENAL.

TABELA III - ELIMINAÇÃO DE CERCÁRIAS E EVOLUÇÃO DA INFECÇÃO EM *BIOMPHALARIA STRAMINEA* (PERU) INFETADAS COM A CEPA SJ DE *SCHISTOSOMA MANSONI*.

CARAMUJO Nº **	PERÍODO DE ELIMINAÇÃO***	Nº TOTAL DE CERCÁRIAS	DIAS APÓS EXPOSIÇÃO	OBSERVAÇÕES ****
1	2	9	119	SACRIFICADO: CURA ESPONTÂNEA
2	2	10	79	MORREU COM INFECÇÃO MACIÇA. ES NO OT, GD, GA, CR, PP
3	—	—	65	MORREU. ES NO OT, GD, ET, PP, CR, CP
4	—	—	106	SACRIFICADO: CURA ESPONTÂNEA
5	—	—	84	MORTO ACIDENTALMENTE. ES NO OT, GD, ET, PP, PN, CR, CM, CP
6	—	—	90	SACRIFICADO: CURA ESPONTÂNEA

** VEJA A TABELA II

*** CONTADOS EM DIAS ALTERNADOS

**** CM COLAR DO MANTO, CP MASSA CEFALOPEDAL, CR CRISTA RETAL, ES ESPOROCISTO SECUNDÁRIO, ET ESTÔMAGO,
GA GLÂNDULA DO ALBÚMEN, GD GLÂNDULA DIGESTIVA, OT OVOTESTE, PP PAREDE PULMONAR, PN PNEUMÓSTOMA.

Apenas dois destes últimos eliminaram cercárias (5% do total dos caramujos expostos). A liberação de cercárias (TABELA III) foi acompanhada nos dois caramujos (1, 2) sendo que ambos só eliminaram 9 e 10 cercárias respectivamente durante dois dias, após o que o nº 1 deixou de eliminar e dissecado aos 119 dias, após exposição, não apresentou sinal de infecção, demonstrando cura da infecção. O nº 2 morreu no terceiro dia mostrando intensa infecção por esporocistos secundários, do ovoteste e glândula digestiva. Os caramujos nº 4 e 6, cuja infecção foi comprovada aos 57 e 78 dias após a exposição pela observação de esporocistos através da concha, não apresentaram mais sinal de formas larvárias quando dissecados aos 106 e 90 dias, respectivamente. Dessa forma os espécimens foram considerados curados espontaneamente da infecção.

DISCUSSÃO

Embora no Peru não tenha sido verificada a presença de *Schistosoma mansoni* e esquistossomose, moluscos vetores do parasita estão distribuídos em certas áreas do território peruano. Paraense & cols.⁹ assinalaram a espécie *Biomphalaria tenagophila* no vale interandino de Condebamba, Departamento de Cajamarca, a qual se mostrou altamente suscetível à infecção experimental por uma cepa brasileira de *S. mansoni*.

Neste trabalho, comunicamos pela primeira vez a presença de *B. straminea*, no Peru, outro importante vetor de esquistossomose no nordeste brasileiro, na localidade de Imacita, Província de Bagua, Departamento de Amazonas, ampliando, desta forma, o conhecimento da distribuição geográfica dessa espécie¹¹.

Estudos experimentais com cepas de *B. straminea* e *S. mansoni* de diversas procedências têm evidenciado índices de infecção não superiores a 5%, demonstrando a baixa suscetibilidade dessa espécie ao trematódeo^{2,3,7}.

A cepa de *B. straminea* testada no presente trabalho apresentou índice de infecção com eliminação de cercárias de 5%, quando exposta à cepa SJ de *S. mansoni*; este dado é comparável aos relatados pelos autores anteriormente citados. Quando testados com a cepa BH não houve eliminação de cercárias. No entanto, para se estudar a suscetibilidade de um molusco vetor, observações sobre a

infecção e evolução das formas intra-molusco devem ser realizadas.

O comportamento da evolução da infecção nos diversos órgãos internos dos caramujos expostos ao parasita mostrou diferenças importantes entre as cepas BH e SJ. A cepa BH evoluiu até esporocistos secundários, invadindo ovoteste e glândula digestiva, apresentando períodos de infecção tão longos como 51 e 88 dias, com índice de 16,2% dos caramujos expostos, porém sem eliminação de cercárias. A cepa SJ invadiu os órgãos internos de vários espécimens, completando sua evolução, com eliminação de cercárias em dois exemplares cujos períodos pré-patentes de infecção foram de 54 e 77 dias, respectivamente.

Esta aparente contradição entre índice de infecção (16,2% e 22,5%) e índice de eliminação de cercárias (5% e 0,0%), se deve ao fato de ser considerado infectados todos os caramujos que apresentaram formas evolutivas de *S. mansoni*, após sua exposição à miracídios do trematódeo. O comportamento da infecção em *B. straminea*, e outras espécies de planorbídeos vetores de esquistossomose, têm sido muito bem estudados por Barbosa & Coelho²; Paraense & Corrêa⁸; Paraense & cols.⁹; Corrêa & Paraense⁶, em seus estudos com outros modelos experimentais.

É verdade que do ponto de vista epidemiológico, a taxa de infecção com eliminação de cercárias é a característica mais relevante em infecções experimentais de planorbídeos. Entretanto, em estudos sobre suscetibilidade devem ser estabelecidas as características de evolução das formas larvárias intra-molusco. A mortalidade e a cura espontânea observadas são, evidentemente, conseqüências da relação parasita-hospedeiro.

Em relação ao exame de *B. straminea* sacrificados durante as primeiras horas após infecção houve um maior percentual de esporocistos íntegros (73,2%), não sendo evidenciado um aumento de formas larvárias destruídas à medida que a infecção se tornava mais antiga. Este fato é discordante das observações realizadas por Coelho & Barbosa⁵ em suas experiências com *B. straminea* de Pernambuco. Esporocistos invadidos por amebócitos foram encontrados geralmente em tecidos altamente vascularizados, mas sem reação tissular intensa e nem formação de granulomas. Aparentemente as

formas larvárias evoluem e migram até o ovoteste e glândula digestiva, mas falham no momento de diferenciarem-se em cercárias e as vezes regridem até o desaparecimento total sem deixar sinais de restos parasitários. Esse fato foi observado com a cepa SJ (TABELAS II e III) e foi reportado anteriormente por Coelho & Barbosa⁵.

A avaliação do possível papel epidemiológico de *B. straminea* na região amazônica peruana, não pode ser determinada neste trabalho, porém as observações realizadas contribuem para o conhecimento de seu comportamento face à infecção por *S. mansoni*.

SUMMARY

In May 1973 one of the Authors (C.A.C.) collected specimens of *Biomphalaria straminea* (Dunker 1848) at Imacita, Bagua Province, Amazonas, Peru. This species has not been described before in Peru.

Progeny from these specimens tested for susceptibility to the BH and SJ strains of *Schistosoma mansoni* which under natural conditions develop in *B. glabrata* of Belo Horizonte and *B. tenagophila* of São José dos Campos, respectively.

Eighty specimens were exposed to the BH strain of which 13 or 16.2% developed infection with secondary sporocysts. However no elimination of cercariae was observed even in a specimen which lived 88 days after exposure. No spontaneous cure was found in this batch.

Of 40 *B. straminea* exposed to strain SJ, 9 or 22.5% became infected but only two eliminated a few cercariae on two consecutive days at 57 and 77 days after exposure. One died and one underwent spontaneous cure. In two other infected snails in which infection was visible through the shell spontaneous cure was noted.

Serial histological sections of 9 snails were made after individual exposure to 50 miracidia of the BH strain and fixed 6-120 hours after exposure. These showed sporocysts in development and invaded by amebocytes without forming granulomas in the host tissues, demonstrating the snails were susceptible.

The population studied behaved experimentally in a manner similar to other populations of *B. straminea* tested in the laboratory in that a low susceptibility was demonstrated. However this does not exclude the possibility that this species could maintain the parasitic cycle in its area of distribution.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, F.S. A note on *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) from Manaus State of Amazonas, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2:77-78, 1968.
2. BARBOSA, F.S. & COELHO, M.C. — Qualidades de vetor dos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no nordeste do Brasil I. Suscetibilidade de *A. glabratus* e *T. centimetralis* à infecção por *S. mansoni*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães.* 3:55-62, 1954.
3. BARBOSA, F.S. & FIGUEIREDO, T. — Susceptibility of the snail intermediate hosts of Schistosomiasis from northeastern Brazil to the infection with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 12 (3):196-206, 1970.
4. CHAIA, G. — Técnica para concentração de miracídios. *Rev. Brasil. Malar. Doen. Trop.* 8:355-357, 1956.
5. COELHO, M.V. & BARBOSA, F.S. — Qualidades de vetor dos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no nordeste do Brasil. III. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *Tropicorbis centimetralis*. *Pub. Av. Inst. Aggeu Magalhães.* 5:21-29, 1956.
6. CORRÊA, L.R. & PARAENSE, W.L. — Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of

- Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 13 (6):387-390, 1971.
7. GERKEN, S.E., ARAUJO, M. de P. & FREITAS, J.R. de — Suscetibilidade da *Biomphalaria straminea* da região de Lagoa Santa (MG) ao *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 17:388-343, 1975.
 8. PARAENSE, W.L. & CORRÉA, L.R. — Susceptibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 5:23-29, 1963.
 9. PARAENSE, W.L., IBÁÑEZ, N.H. & MIRANDA, C.H. — *Australorbis tenagophilus* in Peru, and its susceptibility to *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 13:534-540, 1964.
 10. PARDAL, P.O., VIANNA, C.M., SANTOS, M.F. & SOUZA, I.M. — Desativação de foco de esquistossomose no Vale do Tapajós, no Estado do Pará. *Resumo. XII Congresso Soc. Brasil. Med. Trop. I Congresso Soc. Brasil Parasit.*, Belém, Pará, 1976.
 11. WHO. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. A Guide for the identification of the snail intermediate hosts of schistosomiasis in the Americas. *Scientific Publication* nº 168, 1968.