

OCORRÊNCIA DE UMA HAEMOGREGARINA (PROTOZOA, APICOMPLEXA)
EM BUFO PARACNEMIS LUTZ, 1925

MONIR RAGEL KATTAR

Universidade de Brasília, Depto de
Biologia Animal, 70910 - Brasília,
DF. (recebido em 22.I.1986).

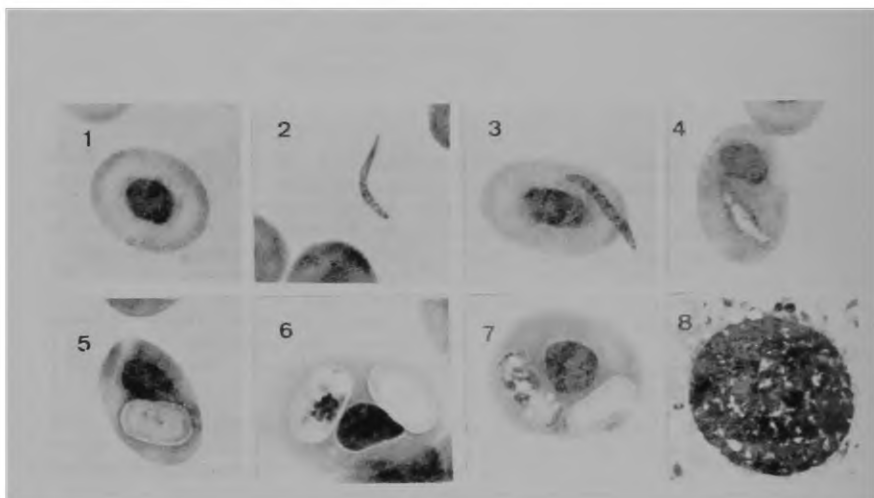
RESUMO - Foram examinadas cem preparações de sangue de **Bufo paracnemis**, coletados em João Pessoa, Estado da Paraíba, Brasil. Oito exemplares destes anuros mostraram-se portadores de formas parasitas de uma espécie de **Haemogregarina** "sensu lato". As hemácias habitualmente continham parasitos alongados ou encapsulados. Duplo parasitismo foi diversas vezes observado. Deformação do eritrócito era rara e ocorria quando havia duas cápsulas ou apenas uma hipertrofiada. Duas fêmeas partenogênicas do carrapato **Amblyomma rotundatum** Koch, 1844, encontradas sobre a pele de um dos sapos, seriam vetores deste hemoparasito.

ABSTRACT - One hundred blood smears of **Bufo paracnemis**, from João Pessoa (State of Paraíba, Brazil), were examined. Eight toads were found parasited by a species of **Haemogregarina** "sensu lato". The erythrocytes of **Bufo** usually contained elongated or encapsulated forms of haemogregarines. Double parasitism was observed in many cases. Deformation of the erythrocyte was rarely seen and it occurred when there were two capsules or just one hyperthrophied. Two partenogenetic females of **Amblyomma rotundatum** Koch, 1844, found adhered on the skin of one of the toads, could be the vector of this haemoparasite.

INTRODUÇÃO

Kattar & Paz (1980) relatam a ocorrência de uma **Haemogregarina** em sangue de um anfíbio procedente de João Pessoa, Estado da Paraíba, determinado, naquela oportunidade, como **Bufo marinus**. Na realidade, após reexame do sapo, verificaram tratar-se da espécie **Bufo paracnemis** Lutz, 1925.

Nesta nota, o autor não tem a pretensão de apresentar um estudo completo da hemogregarina observada em **Bufo paracnemis**. Embora tenham sido encontrados dois exemplares do ácaro **Amblyomma rotundatum**, presumivelmente hospedeiro intermediário do hemoparasito, aderidos na pele do anuro, o autor não



Estampa 1

Haemogregarina em *Bufo paracnemis* (escala, x 1000)

- Fig. 1 - Hemácia normal, não parasitada. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 2 - Esporozoíto livre. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 3 - Esporozoíto penetrando numa hemácia. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 4 - Forma endoglobular mostrando grânulos citoplasmáticos acolados à membrana celular May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 5 - Hemácia com gametócito. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 6 - Hemácia com dois gametócitos recém formados. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 7 - Hemácia com dois gametócitos em fase adiantada de desenvolvimento. May-Grunwald e Giemsa.
 Fig. 8 - Forma encontrada no interior do intestino do carrapato, *Amblyomma rotundatum*. May-Grunwald e Giemsa.

dispõe de preparações bem trabalhadas que lhe permitam a descrição das formas observadas no organismo do artrópodo. Por outro lado, o exame das vísceras do vertebrado revelou-se negativo para formas tissulares do esporozoário. Por estes motivos, o autor se ocupa, no momento, apenas das formas observadas no sangue periférico do anfíbio.

MATERIAL E MÉTODOS

Oito exemplares do anuro **Bufo paracnemis** Lutz, 1925 coletados ao longo da Av. José Américo de Almeida (Av. Beira Rio), em João Pessoa, Estado da Paraíba, mostraram-se portadores de uma **Haemogregarina** "sensu lato"

Aderidos à pele de dois destes anfíbios, foram encontrados dois exemplares de fêmeas partenogenéticas do carrapato **Amblyomma rotundatum** Koch, 1844.

As observações foram feitas servindo-se exclusivamente de material fixado e corado. Esfregaços, tratados pelo método panóptico (May-Grunwald e Giemsa) demonstraram, no sangue obtido dos membros posteriores ou por punção cardíaca, a presença de formas evolutivas exoeritrocitárias e intraeritrocitárias do parasito.

Cortes histológicos do fígado, vesícula biliar, pulmão, coração e intestino do sapo, fixados em Bouin, foram corados com hematoxilina de Harris e eosina.

Finalmente, foram efetuados esfregaços de justaposição do tubo intestinal do carrapato e corados pelo método panóptico.

RESULTADOS

Em condições normais, isto é, em sapos não parasitados pela **Haemogregarina**, as hemácias, ovaladas, medem geralmente 18 micrômetros de comprimento por 13 micrômetros de largura e são dotadas de um núcleo central, de forma também aproximadamente ovalada, medindo 7 micrômetros de comprimento por 4 micrômetros de largura (Fig. 1)

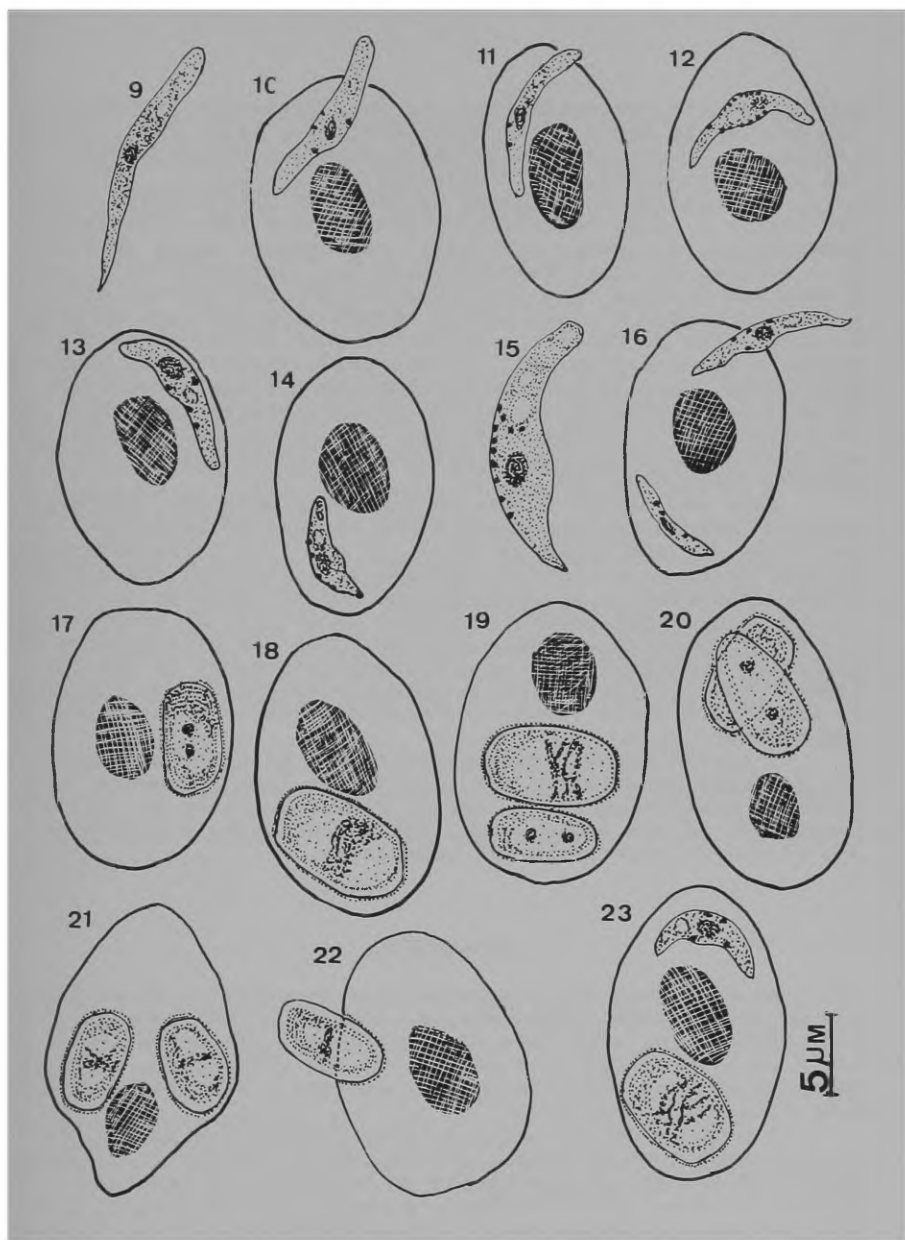
No sangue do anuro foram observadas formas livres ou esporozoítos, exoeritrocitários, assim como formas endoglobulares do parasito. Os esporozoítos (Figs. 2 e 9) são alongados, com a extremidade anterior menos afilada do que a posterior; apresentam-se ligeiramente encurvados, com o aspecto de uma banana. Medem 13 micrômetros de comprimento por 1,3 micrômetro de largura. O citoplasma, após coloração panóptica, apresenta-se intensamente róseo. O núcleo é aproximadamente central, corando-se fracamente em azul. Estas formas livres, após algum tempo no plasma sanguíneo, penetram em hemácias sadias (Figs. 3, 10 e 11)

Habitualmente, as hemácias são atacadas por apenas um parasito (monoparasitismo). Não é raro, todavia, observar-se

Estampa 2

Haemogregarina em Bufo paracnemis (Exceto Figs. 9 e 15, as demais na mesma escala).

- Fig. 9 - Esporozoíto livre no sangue circulante (comprimento = 12,3 μm)
- Fig. 10 - Esporozoíto penetrando numa hemácia.
- Fig. 11 - Esporozoíto em fase final de penetração na hemácia.
- Fig. 12 - Forma endoglobular mostrando desenvolvimento de grânulos citoplasmáticos.
- Fig. 13 e 14 - Formas endoglobulares dispendo-se contra a membrana da hemácia.
- Fig. 15 - Aspecto ampliado do parasito representado na Figura 14, mostrando o núcleo e os grânulos citoplasmáticos (comprimento = 12,0 μm)
- Fig. 16 - Duplo parasitismo por esporozoítos.
- Fig. 17 e 18 - Gametócitos em desenvolvimento.
- Fig. 19 a 21 - Duplo parasitismo por gametócitos, mostrando deslocamento do núcleo da hemácia.
- Fig. 22 - Liberação acidental do gametócito.
- Fig. 23 - Hemácias com duas formas parasitas defasadas.



duplo parasitismo; neste caso, os dois parasitos apresentam-se geralmente sob a mesma forma evolutiva (Fig. 16) Formas diferentes, parasitando simultaneamente uma mesma hemácia, foram esporadicamente observadas (Fig. 23)

Pelo estudo comparativo de hemácias parasitadas, pode-se seguir o ciclo intraeritrocitário desta hemogregarina. O esporozoíto, alongado, após total penetração, ocupa geralmente o sentido do comprimento da hemácia, instalando-se junto à membrana celular (Fig. 13) O eritrócito não sofre quaisquer deformações e o seu núcleo mantém-se em posição central. No citoplasma do parasito, as granulações tornam-se mais evidentes e maiores (Fig. 15) Formas gradualmente menos compridas, porém, mais largas corresponderiam a fases sucessivamente mais adiantadas de seu ciclo intraeritrocitário. O que há de mais marcante nestas fases é o fato de que, aos poucos, os grânulos citoplasmáticos se tornam mais basófilos e o núcleo, ovalado, mais distinto.

Cada uma destas formas, em fase mais adiantada transforma-se em gametócito que elabora uma cápsula no interior da qual fica alojado (Figs. 5, 6, 7, 17 a 23) A forma capsulada ou gametócito é de contorno ovalado a cilíndrico, com extremidades arredondadas, apresentando um núcleo filamentososo disposto, na maioria das vezes, no centro da célula. Em alguns exemplares, o núcleo se encontra próximo a uma das extremidades do parasito. A cápsula, que se distingue claramente do seu conteúdo, mede 12 micrômetros de comprimento por 6 micrômetros de largura. É muito comum encontrar-se hemácias contendo dois gametócitos.

O núcleo das hemácias parasitadas, salvo em alguns casos de duplo parasitismo por formas capsuladas, raramente apresenta-se excêntrico (Figs. 19, 20 e 21) O volume da hemácia parasitada altera muito pouco, mas sua membrana pode distender-se quando ocorrem formas capsuladas.

DISCUSSÃO

Ao contrário das hemogregarinas de répteis, as de anuros encerram ainda controvérsias, sobretudo com respeito a sua sistemática, pelo fato de, geralmente, desconhecer-se o ciclo em hospedeiros intermediários. Por outro lado, muitas vezes os autores têm baseado seus estudos unicamente em formas intraeritrocitárias.

A própria determinação a nível de gênero é condicionada a um conhecimento de fases, outras que as intraeritrocitárias, em particular formas tissulares no hospedeiro vertebrado e formas no vetor Com referência a estas últimas formas, o exame da única preparação obtida com material do carrapato, ainda que pouco contrastada, sugere a presença de formas evolutivas, provavelmente esquizontes. Sendo confirmada esta suposição, estas formas deveriam também ser observadas no fígado, pulmão e outras vísceras do anuro.

Levine (1982) propõe a diferenciação dos três gêneros afins (**Haemogregarina**, **Hepatozoon** e **Karyolysus**) através de ca

racterísticas da forma e número de esporozoítos contidos nos oocistos. Por este motivo, parece ser mais aconselhável adotar a classificação de Mackerras (1961) dando a tais formas o nome de *Haemogregarina* "sensu lato". Existiriam, todavia, segundo Miyata (1977), vinte e sete espécies de *Haemogregarina* de anuros.

Uma outra tática seria aquela sugerida por Roudabush & Coatney (1937) atribuindo ao parasita o nome da espécie do hospedeiro. Assim agindo, restaria apenas saber se, realmente, existiria uma especificidade parasitária entre estes protozoários.

Convém lembrar a opinião de Costa et alii (1971) sobre a importância de divulgar quaisquer informações sobre a biologia de hemogregarinas, a fim de que se possa, no futuro, obter um melhor conhecimento sobre a sistemática do grupo.

As formas encontradas em *Bufo paracnemis* coincidem, em muitos aspectos, com as formas observadas por Souza & Filho (1974) em sangue de *Bufo crucifer*.

Ademais, nas hemácias de *Bufo paracnemis* nunca foram vistas formas com as extremidades dobradas como descritas em outros hospedeiros por outros autores (v. g. Cunha & Muniz 1928). Os eritrócitos não manifestavam alterações morfológicas, salvo naqueles casos contendo duas cápsulas ou quando a única forma capsulada era de dimensões hipertrofiadas.

Não provocando alterações nucleares, a hemogregarina em questão corresponde ao tipo hepatozóico proposto por Pessoa (1967).

Em raras oportunidades, foram vistas formas capsuladas livres no plasma, devidas, provavelmente, ao rompimento da membrana da hemácia por ocasião da confecção dos esfregaços. Scorza et alii (1956) interpretam, no entanto, estas cápsulas livres como gametócitos que teriam, quando jovens, abandonado as hemácias.

REFERÊNCIAS

- COSTA, S.C.G.; PEREIRA, N.M.; GOMES, D.C. 1971. Sobre uma Hemogregarina encontrada em *Geochelone denticulata* (L.) do Amapá (Protozoa, Sporozoa) *Atas Soc.Biol. Rio de Janeiro*, **14**(5-6):113-115.
- CUNHA, A.M. & MUNIZ, J. 1928. Sobre o ciclo endógeno da *Haemogregarina leptodactyli* Lésage 1980 (karyolysis?). *Mems Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **20**(2):307-321.
- KATTAR, M.R. & PAZ, I.M. 1980. Hemoparasitas de *Bufo marinus* (Amphibia, Anura) em João Pessoa, Estado da Paraíba. *Revta Nordest.Biol.* **3**(especial):227
- LEVINE, N.D. 1982. Some corrections in Haemogregarine (Apicomplexa Protozoa) Nomenclature. *J.Protozool.*, Utica, **29**(4) : 601-603.
- MACKERRAS, M.J. 1961. The Haematozoa of Australian Reptiles. *Aust.J.Zool.*, Melbourne, **9**(1):61-122.

- MIYATA, A. 1977 *Haemogregarina shirikenimari* n. sp. (Protozoa: Haemogregarinidae) detected from *Triturus pyrrhogaster ensicauda* (Hallowell, 1860) (Amphibia: Salamandridae) in Okinawa Island. **Trop.Med.** 19(2):105-111.
- PESSOA, S.B. 1967 Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. I: Hemogregarinas de algumas espécies de serpentes da família Colubridae. **Revta bras.Biol.**, Rio de Janeiro, 27(1):33-46.
- ROUDABUSH, R.L. & COATNEY, G.R. 1937 On some blood Protozoa of reptiles and amphibians. **Trans.Am.Microsc.Soc.**, Lancaster 56:291-297.
- SCORZA, J.V.; BOYER, C.D.; AROCHA, L.I. 1956. Estudo sobre hemoparasitos de *Bufo marinus* L. da Venezuela. **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 54(2):373-385.
- SOUZA, M.A. & BORRIELLO F^o, A. 1974. Uma nova *Haemogregarina* no sangue de *Bufo crucifer* Wied, 1821 do Brasil. **Mems Inst.Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 72(3-4):275-282.