

## ESTUDO COMPARATIVO DA SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE BIOMPHALARIA GLABRATA DE BELO HORIZONTE (MG), À INFECÇÃO COM SCHISTOSOMA MANSONI E A MOLUSCICIDAS (1)

Cecília Pereira de SOUZA (2), Maria de Lourdes Lima de AZEVEDO (3),  
Marisa de Souza RODRIGUES (2) e José Pedro PEREIRA (2)

### R E S U M O

O objetivo do estudo foi verificar se haveria diferenças intraespecíficas marcantes entre populações de *Biomphalaria glabrata* que habitam criadouros próximos. Foram estudadas 12 populações, procedentes do Município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Parte dos descendentes desses moluscos foram infectados com duas cepas de *Schistosoma mansoni*; "LE", de origem local e "SJ", procedente de São José dos Campos, São Paulo. Outra parte foi usada em ensaios biológicos com os moluscicidas bayluscide (niclosamida) e pentaclorofenol. Os resultados mostraram que existem diferenças na suscetibilidade dos moluscos às duas cepas de *S. mansoni*. As taxas de infecção com a cepa "LE" variaram de 27,0 a 94,0% e com "SJ", de 9,0 a 61,0%. Houve diferença na duração do período de adaptação dos caramujos às condições de laboratório. Não houve diferença estatisticamente significante na suscetibilidade desses moluscos ao bayluscide e pentaclorofenol. Não houve indicação de desenvolvimento de resistência nos moluscos apesar do bayluscide ter sido usado intermitentemente nessa área durante os últimos 20 anos.

### I N T R O D U Ç Ã O

Os moluscos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* têm sido estudados sobre inúmeros aspectos devido principalmente à sua importância epidemiológica. As diferenças intraespecíficas existentes entre populações de moluscos necessitam de estudos mais detalhados pois os resultados obtidos com determinada população, nem sempre podem ser generalizados. Diferenças intraespecíficas na suscetibilidade de populações de *Biomphalaria glabrata* à infecção com *S. mansoni* foram observadas por PARAENSE & CORRÊA<sup>2</sup>.

No presente trabalho foi feito um estudo comparativo sobre a suscetibilidade de 12 po-

pulações de *B. glabrata* procedentes do Município de Belo Horizonte. Foi testada a suscetibilidade dessas populações à infecção com duas cepas de *S. mansoni* e a dois moluscicidas. Paralelamente foram feitas observações sobre o desenvolvimento desses moluscos em condições de laboratório. O objetivo principal do estudo foi verificar se haveria diferenças intraespecíficas acentuadas entre populações de *B. glabrata* que habitam criadouros próximos. Variações na suscetibilidade à infecção com *S. mansoni* já haviam sido observadas em nosso laboratório, ao utilizarmos algumas dessas populações para manutenção do ciclo do trematódeo.

- (1) Trabalho parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Proc. 2222-8158/78)
- (2) Do Centro de Pesquisas "René Rachou" da Fundação Oswaldo Cruz, C.P.1743, 30000 Belo Horizonte, MG, Brasil
- (3) Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Brasil)

## MATERIAL E MÉTODOS

Caramujos *Biomphalaria glabrata* foram coletados em 12 criadouros situados na periferia de Belo Horizonte (Tabelas IA e IB) e levados para o laboratório. Cerca de 20 moluscos foram examinados por esmagamento ou exposição à luz, se a amostra era pequena, para verificar se estavam naturalmente infectados com *S. mansoni*. Outra parte foi dividida em grupos de 25 exemplares e colocada em dois aquários para criação. Os aquários continham cerca de 4 litros de água, terra esterilizada mais carbonato de cálcio e sistema de água corrente. Como alimento foi oferecido alface fresca e aquariol (ra-

ção para peixe). Foi utilizada água de torneira previamente desclorada com solução a 2% de tiosulfato de sódio para a criação e ensaios biológicos além de água desclorada mediante fervura e água destilada para as infecções.

O período de permanência de cada população no laboratório foi registrado.

### Infecção experimental dos moluscos com *S. mansoni*

Cerca de 200 caramujos descendentes de cada população com diâmetro variando de 4 a 25 mm, foram infectados experimentalmente

TABELA IA

Suscetibilidade de populações de *Biomphalaria glabrata* do Município de Belo Horizonte à infecção com duas cepas de *Schistosoma mansoni*

Local de procedência	N.º de moluscos infectados	Período prepatente (dias)	% de mortalidade	N.º de moluscos positivos	% de infecção	Cepa de <i>S. mansoni</i>
Matadouro (*)	100	36-73	13,0	27	27,0	LE
	100	46-78	32,0	9	9,0	SJ
Barreiro de Cima	100	36-40	40,0	40	40,0	LE
	100	35-93	34,0	22	22,0	SJ
Água Branca	100	40-52	4,0	88	88,0	LE
	100	35-78	36,0	47	47,0	SJ
Fazenda Rancho Novo	100	37-52	21,0	55	55,0	LE
	100	44-105	21,0	44	44,0	SJ
Pampulha	100	34-82	21,0	33	33,0	LE
(Cor. Baraúna)	90	35-76	25,5	33	36,5	SJ
Pampulha	100	35-61	31,0	42	42,0	LE
(Cor. Mergulhão)	100	35-97	49,0	30	30,0	SJ

(\*) População menos suscetível à infecção com as duas cepas de *S. mansoni*

TABELA IB

Suscetibilidade de populações de *Biomphalaria glabrata* do Município de Belo Horizonte à infecção com duas cepas de *Schistosoma mansoni*

Local de procedência	N.º de moluscos infectados	Período prepatente (dias)	% de mortalidade	N.º de moluscos positivos	% de infecção	Cepa de <i>S. mansoni</i>
Marieta Brochado	100	34-61	7,0	60	60,0	LE
(Cor. São José)	100	34-70	24,0	28	28,0	SJ
Alípio de Melo (**)	100	34-41	5,0	94	94,0	LE
(Cor. São José)	100	34-91	12,0	61	61,0	SJ
Ressaca	100	34-41	9,0	91	91,0	LE
	100	35-105	30,0	37	37,0	SJ
Pampulha	100	34-61	41,0	49	49,0	LE
(Cor. AABB)	100	34-91	40,0	43	43,0	SJ
Horto	100	34-41	13,0	52	52,0	LE
	100	34-70	22,0	43	43,0	SJ
Pampulha	100	36-87	34,0	59	59,0	LE
(Cor. do Muniz)	100	37-77	25,0	34	34,0	SJ

(\*\*) População mais suscetível à infecção com as duas cepas de *S. mansoni*

com miracídeos de duas cepas de *S. mansoni*. Foi feita infecção em massa de 90 a 100 exemplares de cada população com 20 miracídeos por molusco. Para controle foram infectados caramujos mantidos em laboratório há mais de 15 anos, descendentes de exemplares coletados no Barreiro de Cima, Belo Horizonte (MG), também com 20 miracídeos por moluscos.

As cepas de *S. mansoni* utilizadas foram a "LE", proveniente de indivíduo que se infectou em Belo Horizonte e mantida em laboratório há mais de 10 anos e a "SJ", obtida de *B. tenagophila* procedente de São José dos Campos (SP) e mantida em laboratório, em *B. glabrata*, por mais de 5 anos. A obtenção dos miracídeos de ambas as cepas e a infecção dos moluscos foi feita segundo técnica descrita anteriormente<sup>10</sup>. Após 30 dias de infecção, os caramujos passaram a ser examinados semanalmente em microscópio estereoscópico, depois de exposição individual durante cerca de 30 minutos à luz artificial. Os exemplares positivos foram separados e os negativos permaneceram em observação até não ser encontrado nenhum exemplar eliminando cercárias por duas semanas consecutivas (60 a 115 dias). Os experimentos nos quais ocorreu mortalidade superior a 50,0% foram repetidos.

### Ensaio biológicos

Foram utilizados 180 exemplares descendentes de cada população, com 8 - 23 mm de diâmetro. Os moluscos foram expostos durante 24 horas, a concentrações de 0,1 a 0,8 ppm de pentaclorofenol e 0,01 a 0,08 ppm de bayluscide (niclosamida, em pó). Os ensaios com os dois produtos foram feitos paralelamente, utilizando 20 exemplares por concentração. Para controle da suscetibilidade foram feitos ensaios paralelos com pentaclorofenol sobre caramujos do laboratório, descendentes de exemplares coletados na Pampulha há mais de 10 anos além de controle com água. A temperatura da água foi registrada no início e final de cada ensaio.

Os dados relativos à taxa de mortalidade dos moluscos por ação dos moluscicidas, foram lançados em escala log-probita e os valores das concentrações letais,  $CL_{50}$  e  $CL_{90}$  foram determinados através de gráficos.

## RESULTADOS

Dentre as 12 populações coletadas, quatro estavam naturalmente infectadas com *S. mansoni*. As taxas de infecção natural foram de 1,0% para os caramujos de Água Branca, de 45,0% para os da Fazenda Rancho Novo (estrada de Santa Luzia), de 30,0% para os de Marieta Brochado e de 55,0% para os da Ressaca.

O período necessário para cada população dar origem a cerca de 400 descendentes, nas condições experimentais variou de 17 a 42 meses. As populações dos córregos AABB (Associação Atlética do Banco do Brasil) e São José (Alípio de Melo) permaneceram cerca de 1 ano e meio (17 a 18 meses) em laboratório. Seis populações permaneceram em laboratório cerca de 2 anos (21 a 27 meses), como a do Matadouro, córrego do Muniz, Mergulhão, Ressaca, São José (Marieta Brochado) e Água Branca. A população do Horto permaneceu em laboratório durante 32 meses; as populações do Barreiro de Cima, Fazenda Rancho Novo e córrego Baraúna ficaram durante 3 anos e meio (42 meses) no laboratório.

### Suscetibilidade à infecção experimental com *S. mansoni*

As populações testadas mostraram-se bastante suscetíveis à infecção com a cepa LE. O período prepatente variou de 34 a 87 dias. As taxas de infecção variaram de 27,0 a 94,0% (Tabelas IA e IB). Dentre as 12 populações testadas sete (58,0%) apresentaram taxas de infecção superior a 50,0% (Fig. 1). A mortalidade dos caramujos expostos variou de 4,0 a 41,0% (Fig. 1). Nos grupos de controle, as taxas de infecção variaram de 53,8 a 93,0% e a mortalidade de 3,3 a 26,4%.

A suscetibilidade dos moluscos à cepa SJ foi menor. O período prepatente variou de 34 a 105 dias. As taxas de infecção variaram de 9,0 a 61,0% (Tabelas IA e IB). Apenas uma população apresentou taxa de infecção superior a 50,0% (Fig. 1). A mortalidade dos moluscos expostos à cepa SJ variou de 12,0 a 49,0% (Fig. 1). Nos grupos de controle, as taxas de infecção variaram de 55 a 77,0% e a mortalidade de 4,0 a 50,0%. Houve relação inversa entre a mortalidade e a suscetibilidade à infecção dos moluscos. Quanto maior foi a suscetibilidade tanto menor foi a mortalidade (Fig. 1).

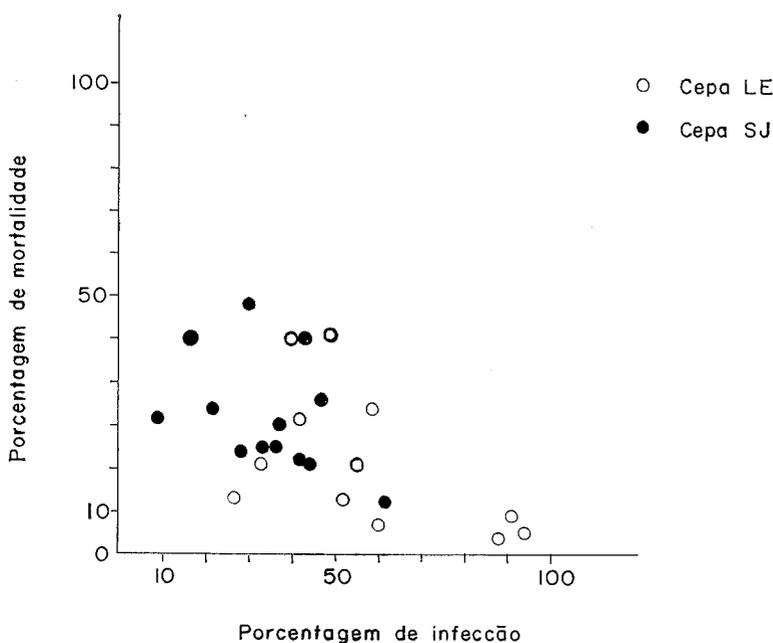


Fig. 1 — Relação inversa entre mortalidade e suscetibilidade de populações de *B. glabrata* de Belo Horizonte, infectadas com duas cepas de *S. mansoni*

### Suscetibilidade a moluscicidas

As concentrações letais  $CL_{50}$  e  $CL_{90}$  obtidas para cada população, com o pentaclorofenol e bayluscide, são apresentadas na Tabela II. Nos ensaios biológicos realizados em temperaturas médias mais baixas (21,6, 22,2 e 23,4°C), as concentrações letais foram mais elevadas, o que é normal em ensaios biológicos. As variações observadas foram insignificantes do ponto de vista estatístico. A suscetibilidade dos caramujos

dos grupos de controle, ao pentaclorofenol foi igual ou menor do que a dos grupos experimentais. Nos controles só com água, a mortalidade não ultrapassou a 5,0%.

### DISCUSSÃO

A necessidade de se conhecer melhor as características de populações de *B. glabrata* de uma mesma região, que constantemente são utilizadas em experimentos em laboratório e

TABELA II  
Suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* do Município de Belo Horizonte a dois moluscicidas

Local de procedência	N.º de caramujos testados	Diâmetro (mm)	Temperatura média durante exposição (Cº)	Produtos testados e		Concentrações letais (ppm)	
				Pentaclorofenol $CL_{50}$	$CL_{90}$	Bayluscide $CL_{50}$	$CL_{90}$
Matadouro	160	10-20	21,6	0,23	0,80	0,050	0,120
Barreiro de Cima	160	11-20	26,5	0,09	0,15	0,026	0,048
Água Branca	160	10-20	25,2	0,13	0,38	0,033	0,058
Fazenda Rancho Novo	160	10-18	25,6	0,12	0,19	0,040	0,062
Pampulha (Cor. Baraúna)	160	10-23	23,8	0,20	0,40	0,042	0,070
Pampulha (Cor. Mergulhão)	160	10-20	23,4	0,20	0,60	0,040	0,090
Marieta Brochado (Cor. São José)	160	12-23	25,4	0,30	0,60	0,040	0,070
Alípio de Melo (Cor. São José)	160	10-20	22,2	0,14	0,37	0,060	0,160
Ressaca	160	10-20	25,0	0,20	0,40	0,050	0,100
Pampulha (Cor. AABB)	160	10-20	23,7	0,21	0,55	0,038	0,070
Horto	160	08-16	25,4	0,14	0,38	0,019	0,039
Pampulha (Cor. do Muniz)	160	10-20	25,4	0,09	0,20	0,032	0,045

que apesar de combatidas, vem fazendo a manutenção natural do ciclo do *S. mansoni* em Belo Horizonte durante vários anos, objetivou esse estudo.

Diferenças intraespecíficas na suscetibilidade à infecção por *S. mansoni*, foram observadas por PARAENSE & CORRÊA<sup>2</sup>, em 23 populações de *B. glabrata* de regiões diferentes, após infecção experimental com uma cepa de *S. mansoni*. A existência de uma cepa desse trematódeo mais adaptada à *B. tenagophila* do vale do Rio Paraíba em São Paulo, também foi detectada por PARAENSE & CORRÊA<sup>3,4</sup>.

No presente trabalho, tomou-se como amostra para o estudo comparativo da suscetibilidade, 12 populações de *B. glabrata* de Belo Horizonte, e duas cepas de *S. mansoni*, sendo uma mais adaptada à *B. tenagophila*. Os resultados obtidos foram semelhantes aos registrados por PARAENSE & CORRÊA<sup>1</sup>. Houve diferença intraespecífica na suscetibilidade dos moluscos à infecção com as duas cepas de *S. mansoni*. A análise das variáveis, duração do período prepatente, porcentagem de infecção e de mortalidade dos moluscos infectados com as duas cepas

LE

de *S. mansoni*, relação —, permitiu detectar

SJ

algumas diferenças no comportamento planorbídico mediante a infecção com cada linhagem do trematódeo. O início do período prepatente foi praticamente igual nas duas cepas, pois, nove populações eliminaram cercárias na mesma época mas sua duração foi maior com a cepa "SJ" (Tabelas IA e IB). A porcentagem de infecção com a cepa "SJ" foi menor, ao passo que a mortalidade foi mais elevada (Fig. 1). Esses dados, permitiram verificar que existe menor adaptação da cepa de São Paulo, de *S. mansoni* às populações de *B. glabrata* de Belo Hori-

zonte. Observou-se ainda certo paralelismo entre a resposta à infecção com as duas cepas, isto é, a população mais suscetível à cepa "LE" foi mais sensível (em menor escala) também para a "SJ", assim como a mais resistente para a "LE", foi menos suscetível para a "SJ" (Tabelas IA e IB). Apenas uma população, procedente do córrego Baraúna, apresentou taxa de infecção um pouco maior com a cepa "SJ" do que com a "LE".

Observou-se também, que a população coletada atualmente no Barreiro de Cima foi menos suscetível à cepa "LE" do que a do controle, mantida em laboratório há mais de 15 anos e que é utilizada para a manutenção do ciclo do *S. mansoni*, das cepas LE e SJ.

Quanto à suscetibilidade aos dois moluscidas, as concentrações letais obtidas nesse estudo foram confrontadas com os dados registrados anteriormente nesse laboratório por SOUZA & PAULINI<sup>7,8,9</sup>, utilizando *B. glabrata* descendente de caramujos coletados em Amaralina (Bahia). Observou-se que houve oscilação natural nos resultados devido principalmente às diferenças de temperatura durante a realização dos ensaios. As variações das concentrações letais não foram significantes do ponto de vista estatístico. Os resultados ora obtidos, foram comparáveis aos registrados anteriormente (Quadro I). Como alguns desses criadouros, há cerca de 20 anos vem sendo periodicamente tratados com bayluscide, esses resultados vem demonstrar que aparentemente não houve desenvolvimento de resistência nos moluscos submetidos a esse produto, o que está de acordo com as observações de BARNISH & PRENTICE<sup>1</sup> em *B. glabrata* de Santa Lúcia (Índias Ocidentais). A repopulação que tem sido observada nos criadouros, é devida portanto, a outros fatores.

#### Q U A D R O I

Concentrações letais obtidas anteriormente para *Biomphalaria glabrata*, com os produtos pentaclorofenol e bayluscide

Autores e ano	Procedência dos moluscos	Diâmetro (mm)	Temperatura média (°C)	Produtos	Concentrações letais (ppm)	
					CL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub>
Souza & Paulini (1966)	Laboratório	14-24	24 ± 2	Bayluscide	0,055	0,100
	Laboratório	12-24	24 ± 2	PCF	0,40	0,70
Souza & Paulini (1968)	Laboratório	12-25	22 ± 2	Bayluscide	0,065	0,120
	Laboratório	12-25	22 ± 2	PCF	0,30	0,90
Souza & Paulini (1969)	Laboratório	15-22	27 ± 1	PCF	0,19	0,54

Observaram-se diferenças intraespecíficas também na capacidade de adaptação dos moluscos às condições de laboratório, o que foi demonstrado pela variação do tempo gasto para se obter o número necessário de descendentes. Variações na coloração e tamanho das conchas foram observadas principalmente em três populações. A procedente do Horto apresentou conchas bem pigmentadas e de menor tamanho, não ultrapassando a 25 mm de diâmetro. Os caramujos coletados no córrego São José, nos criadouros próximos aos conjuntos habitacionais Alípio de Melo e Marieta Brochado destacaram-se pelo maior tamanho das conchas (30 a 36 mm) e coloração castanho mais claro.

Concluindo, esse estudo possibilitou verificar que existem variações intraespecíficas em populações de *B. glabrata* que vivem em criadouros próximos. Foram observadas diferenças acentuadas na suscetibilidade desses planorbídeos à infecção com duas cepas de *S. mansoni* e na capacidade de adaptação às condições de laboratório.

Quanto à suscetibilidade aos dois moluscicidas, verificou-se que as diferenças intraespecíficas não foram acentuadas. Esse fato é importante para o controle químico de criadouros com taxa elevada de moluscos infectados com *S. mansoni*, cuja suscetibilidade a moluscicidas, segundo estudos efetuados por PAULINI & PELLEGRINO<sup>5,6</sup> é maior. Verificou-se ainda a ausência, até o momento, de desenvolvimento de resistência em *B. glabrata* submetida a tratamentos periódicos por vários anos, com o bayluscide.

#### SUMMARY

**Comparative study on susceptibilities of *Biomphalaria glabrata* populations of Belo Horizonte (Minas Gerais State, Brazil) to infection with *Schistosoma mansoni* and to molluscicides**

The objective of study was to detect intra-specific differences among 12 *Biomphalaria glabrata* populations, from the suburban areas of Belo Horizonte. The populations were colonized in laboratory and their descendents were partly infected with two strains of *Schistosoma mansoni*: "LE" (Belo Horizonte strain) and "SJ" (São José dos Campos strain), partly tes-

ted with Bayluscide (Niclosamide) and with Pentachlorophenol. The results have shown significant differences to infection with the two strains of parasite, showing infection rates from 24 to 94% with "LE", and 9-16% to "SJ". Some differences were observed in the periods of adaptation of the snail populations to laboratory conditions. On the other hand there was no significant difference in their susceptibilities toward the two molluscicides. There was no indication of any resistance to molluscicides, although Bayluscide has been used intermittently and suggestions are presented.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Ernest Paulini, pela leitura do trabalho e sugestões apresentadas,

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BARNISH, G. & PRENTICE, M. A. — Lack of resistance of the snail *Biomphalaria glabrata* after nine years of exposure to Bayluscide. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75: 106-107, 1981.
2. PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. — Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5: 15-22, 1963a.
3. PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. — Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoni* no Brasil. XV Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1963b.
4. PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. — Observations on two biological races of *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 76: 287-291, 1981.
5. PAULINI, E. & PELLEGRINO, J. — Observações sobre a biologia do *Australorbis glabratus*. I — Influência da infestação pelo *Schistosoma mansoni* sobre a suscetibilidade ao pentaclorofenato de sódio. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 551-554, 1956.
6. PAULINI, E. & PELLEGRINO, J. — Influence of the infection with *Schistosoma mansoni* on the susceptibility of *Australorbis glabratus* to copper sulphate. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 51: 283-284, 1957.
7. SOUZA, C. P. & PAULINI, E. — Influência do pH nos ensaios biológicos com PCF e Bayluscide. III Simpósio de Bioquímica de Planorbídeos, 71-77, 1966.
8. SOUZA, C. P. & PAULINI, E. — Influência de material orgânico em suspensão sobre a toxidez de alguns moluscicidas. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 20: 155-160, 1968.

---

SOUZA, C. P. de; AZEVEDO, M. de L. L. de; RODRIGUES, M. de S. & PEREIRA, J. P. — Estudo comparativo da suscetibilidade de populações de *Biomphalaria glabrata* de Belo Horizonte (MG), à infecção com *Schistosoma mansoni* e a moluscicidas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 24:342-348, 1982.

---

9. SOUZA, C. P. & PAULINI, E. — Absorção de moluscicida pelo carbonato de cálcio. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 20: 799-818, 1969.

influem na manutenção do *Schistosoma mansoni* em laboratório. *Rev. Brasil. Pesq. Med. Biol.* 12: 411-419, 1979.

10. SOUZA, C. P.; DIAS, E. P.; AZEVEDO, M. L. L. & PAULINI, E. — Observações sobre alguns fatores que

---

Recebido para publicação em 7/12/1981.