

## SUSCETIBILIDADE DE *AUSTRALORBIS TENAGOPHILUS* À INFECÇÃO POR *SCHISTOSOMA MANSONI*

Marcello de Vasconcellos COELHO (1)

### RESUMO

*A. tenagophilus* procedentes dos Estados de São Paulo, Guanabara, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, expostos a miracídios de *S. mansoni*, acusaram, 35 dias depois, a produção de cercárias ou de esporocistos secundários em 0,5% dos moluscos sobreviventes, ao mesmo tempo que *A. glabratus* e *A. stramineus* usados como controle deram 80% e 5,5% de exemplares infectados, respectivamente.

Cortes histológicos seriados, da região céfalo-podal de *A. tenagophilus*, sacrificados 36 e 72 horas após a exposição aos miracídios, revelaram a existência de granulomas em torno de 88,7% e 93,0% dos esporocistos primários, respectivamente, que exibiam além disso fenômenos líticos ou histólise adiantada.

Cortes de 14 exemplares de *A. tenagophilus* infectados sete vezes consecutivas com 100 miracídios, num espaço de 46 dias, e sacrificados 2 dias mais tarde, revelaram um total de 581 esporocistos na região céfalo-podal, dos quais 570 apresentavam processos líticos e, apenas 4, esporocistos localizados em órgãos profundos, dos quais um só íntegro. Na glândula digestiva e no ovotéstis não se encontrou nenhuma forma larvária. Nas mesmas condições de experiência todos os exemplares de *A. glabratus* tinham esses órgãos parasitados.

Os resultados obtidos, não obstante comprovarem a suscetibilidade de *A. tenagophilus* à infecção experimental pelo *S. mansoni*, revelam sua grande resistência ao parasitismo.

### INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior<sup>3</sup>, estudando o desenvolvimento das formas larvárias de *S. mansoni* em *A. tenagophilus* do Rio de Janeiro (Brasil), foi possível verificar a grande resistência apresentada pelos tecidos do hospedeiro aos esporocistos do trematódeo, provocando geralmente sua lise em algumas horas, com reabsorção dos tecidos parasitários.

Trabalhos posteriores, realizados em outros Estados do país<sup>7, 10</sup>, demonstraram a existência de focos ativos de esquistossomose nos quais essa espécie de planorbídeo é responsabilizada pela transmissão da helmintose, sendo mesmo verificadas coletas de caramu-

jos com índices naturais de infecção realmente elevados.

A aparente contradição entre os achados referidos e nossos dados experimentais, concordantes com os de COUTINHO<sup>5</sup>, nos animaram a retomar o problema, estudando-o mais detalhadamente.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados *A. tenagophilus* coletados nos Municípios de Santos, Santo André, São Bernardo, Pindamonhangaba, Aparecida,

(1) Instituto Nacional de Endemias Rurais, Centro de Pesquisas de Belo Horizonte. Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

São Paulo e Taubaté, do Estado de São Paulo; de Niterói, São Gonçalo e Cabo Frio, do Estado do Rio; de Itajubá, do Estado de Minas Gerais; de Guaíba, do Estado do Rio Grande do Sul; e de criadouros em Jacarepaguá e Acari, no Estado da Guanabara. Os caramujos, trazidos para o laboratório, eram criados de acôrdo com as técnicas rotineiras, sendo seus descendentes submetidos às várias experiências aqui conduzidas. As infecções foram realizadas separadamente ou em conjunto, utilizando-se miracídios de fezes de portador humano, isolados após concentração, por sedimentação em água de bica e exposição à luz solar. Os caramujos permaneciam seis horas em contato com a água contendo miracídios, após o que eram transportados para aquários, onde permaneciam até serem sacrificados.

O material destinado a estudo histológico era fixado em Bouin, incluído em parafina, sendo realizados cortes seriados, os quais

eram corados pela hematoxilina-eosina. Como contrôle para as diversas experiências de infecção foram utilizados *A. glabratus* do Município de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, e *A. stramineus* do Município de Olinda, Estado de Pernambuco.

#### RESULTADOS

*Experiência 1* — Foram infectados individualmente, com 10 a 20 miracídios por caramujo, 1.433 *A. tenagophilus* procedentes de 14 municípios dos Estados de São Paulo, Rio, Guanabara, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Decorridos 35 dias foram examinados após exposição à luz solar, separados aqueles que eliminaram cercárias, sendo os restantes esmagados e dissecados à lupa, a fim de se verificar a existência de formas imaturas do trematódeo. Os resultados estão no quadro I.

QUADRO I

Infecção experimental de *A. tenagophilus* por *S. mansoni* — Infecção por exposição a 10-20 miracídios por caramujo. Exames pela observação de cercárias eliminadas e por esmagamento e dissecação à lupa, 35 dias após a exposição aos miracídios.

Município — Estado	Caramujos expostos	Resultados após 35 dias		
		Sobreviventes	Infectados	
			Total	%
Santos — São Paulo .....	100	85	3	3,5
Santo André — São Paulo .....	200	164	1	0,6
São Bernardo — São Paulo .....	100	78	—	—
Pindamonhangaba — São Paulo .....	200	134	—	—
Aparecida — São Paulo .....	100	63	—	—
Taubaté — São Paulo .....	100	34	—	—
São Paulo — São Paulo .....	100	86	—	—
Jacarepaguá — Guanabara .....	100	53	—	—
Acaraí — Guanabara .....	90	59	—	—
Niterói — Rio de Janeiro .....	68	33	1	3,0
São Gonçalo — Rio de Janeiro .....	50	46	—	—
Cabo Frio — Rio de Janeiro .....	100	78	—	—
Itajubá — Minas Gerais .....	25	21	—	—
Guaíba — Rio Grande do Sul .....	100	85	—	—
<b>Total .....</b>	<b>1.433</b>	<b>1.019</b>	<b>5</b>	<b>0,5</b>

*Nota* — Contrôle: De um total de 195 *A. glabratus* de Belo Horizonte, expostos, 155 sobreviveram 35 dias, sendo que 80% estavam infectados; de um total de 50 *A. stramineus* expostos, 36 sobreviveram, 5,5% dos quais positivos para *S. mansoni*.

Foram utilizados como controle 195 *A. glabratus* de Belo Horizonte, Minas Gerais, e 50 *A. stramineus* do Município de Olinda, Pernambuco, expostos nas mesmas condições a um mesmo número de miracídios. Sobre-

mujo. Nestes, eram contados os esporocistos presentes e classificados em duas categorias, conforme apresentassem processo de lise, com reação celular envolvente ou se encontrassem íntegros (Resultados no quadro II).

QUADRO II

Evolução de miracídios de *S. mansoni* em *A. tenagophilus* do Estado de São Paulo, experimentalmente infectados. Resultados do exame de cortes seriados da região céfalo-podal.

Procedência dos caramujos	Tempo decorrido entre a exposição aos miracídios e o sacrifício dos caramujos							
	36 horas				72 horas			
	Total de caramujos	Esporocistos observados			Total de caramujos	Esporocistos observados		
		Total	Íntegros (%)	Alterados (%)		Total	Íntegros (%)	Alterados (%)
Santos .....	2	24	50,0	50,0	6	29	13,8	86,2
São Paulo .....	3	15	20,0	80,0	4	25	8,0	92,0
Santo André .....	2	95	4,2	95,8	2	20	—	100,0
São Bernardo .....	3	41	7,3	92,7	4	22	22,7	77,3
Pindamonhangaba .	...	...	...	...	7	77	3,9	96,1
Aparecida .....	5	112	13,4	86,6	4	45	2,2	97,8
Taubaté .....	3	67	4,5	95,5	4	38	7,9	92,1
Total .....	18	354	11,3	88,7	31	256	7,0	93,0

viveram após 35 dias 155 *A. glabratus* e 36 *A. stramineus*, constatando-se a infecção em 80% e 5,5% de caramujos, respectivamente.

*Experiência 2* — A fim de se observar o desenvolvimento dos miracídios e esporocistos de *S. mansoni* nos tecidos de *A. tenagophilus*, foram expostos 50 exemplares, individualmente, a 100 miracídios. Os caramujos provinham de sete municípios do Estado de São Paulo, onde têm sido assinalados casos autóctones de esquistossomose. Decorridos 36 e 72 horas, foram sacrificados 18 e 31 caramujos, respectivamente, havendo sido desprezado um exemplar morto nas primeiras horas após a infecção. Dos exemplares sacrificados foi retirada a região céfalo-podal, fixada em Bouin, e cortada em série, sendo examinados 300 cortes de cada cara-

Observou-se, ainda, o aspecto dos esporocistos íntegros, principalmente quanto ao crescimento e à multiplicação das células germinativas. Neste sentido é importante assinalar, sobretudo nas infecções com 72 horas de progressão, o pequeno desenvolvimento das formas larvais (Fig. 4), quando comparadas com formas semelhantes, evoluindo em *A. glabratus*. Observou-se, ainda, que a maioria dos esporocistos apresentava alterações degenerativas, com processos de histólise já acentuados, e estava envolvida por granuloma, formado principalmente por amebócitos (Figs. 1, 2 e 3).

*Experiência 3* — Em 20 *A. tenagophilus*, procedentes dos Municípios de Santo André e Pindamonhangaba, Estado de São Paulo, foram feitas infecções maciças, expondo-se

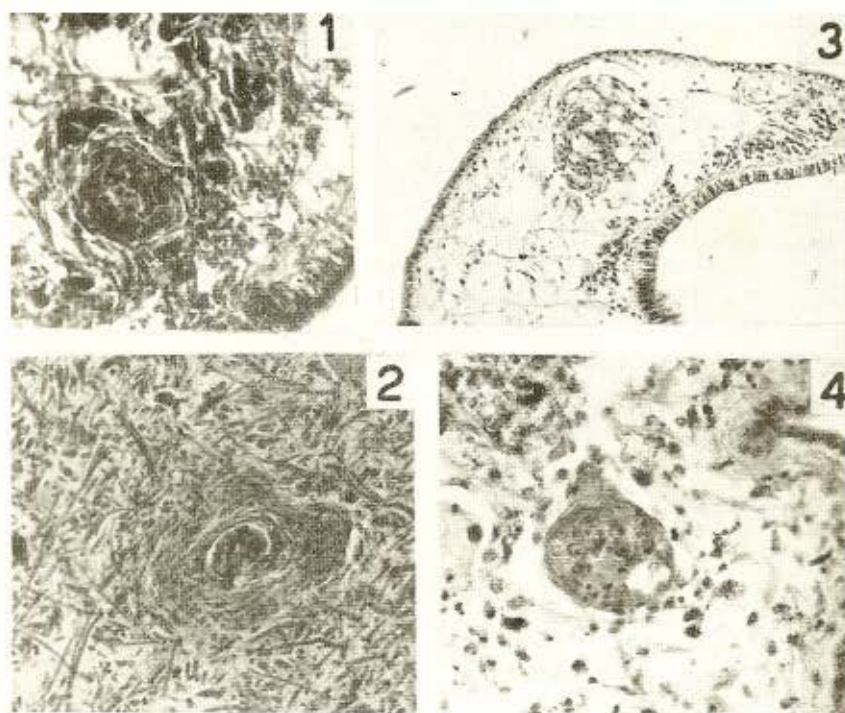


Fig. 1 — Esporocisto primário nos tecidos do velum de *A. tenagophilus*, 36 horas após a infecção. Notar o discreto granuloma formado por amebócitos alongados (430×). Fig. 2 — Granuloma em torno de esporocisto primário, formado por várias fileiras concêntricas de amebócitos, nos tecidos musculares do pé de *A. tenagophilus*, 72 horas após a penetração dos miracídios. Células da larva apresentando fenômenos ilícitos (200×). Fig. 3 — Fagocitose, por amebócitos, de restos de esporocisto primário, na antena de *A. tenagophilus*, 72 horas após a penetração das larvas (200×). Fig. 4 — Esporocisto primário íntegro, 72 horas após a penetração na região ocular. Notar o pequeno desenvolvimento da larva (430×). *A. tenagophilus*.

QUADRO III

Observação de esporocistos em cortes seriados de toda a massa corporal de *A. tenagophilus*, expostos por sete vezes consecutivas a 100 miracídios de *S. mansoni* 2, 5, 13, 21, 28, 35 e 46 dias antes de serem sacrificados.

Procedência dos caramujos	Total de caramujos	Esporocistos observados					
		Região céfalo-podal			Órgãos internos		
		Total	Íntegros	Alterados	Total	Íntegros	Alterados
Santo André .....	9	354	8	346	2*	1	1
Pindamonhangaba .....	5	227	3	224	2**	—	2
Total .....	14	581	11	570	4	1	3

\* Localizados no rim e no manto, altura do coração.

\*\* Localizados no manto (região renal).



os caramujos individualmente a 100 miracídios, por sete vezes consecutivas, 2, 5, 13, 21, 28, 35 e 46 dias antes de serem sacrificados, perfazendo-se o total de 700 miracídios por caramujo. Após sacrificados os 14 sobreviventes, foram fixados em Bouin e feitos cortes seriados de toda a massa corporal. Os resultados quantitativos estão reunidos no quadro III.

Um exame dessa tabela vem revelar que, de um total de 585 esporocistos observados, 581 se localizavam na região céfalo-podal e apenas 4 em órgãos mais profundos. Os 11 esporocistos localizados na porção anterior e que não apresentavam processos líticos, se encontravam em fase inicial de desenvolvimento, não apresentando ainda a septação que antecede a formação dos esporocistos secundários. O mesmo aspecto foi observado no único esporocisto íntegro localizado na região renal, em um dos caramujos de Santo André. Em nenhum dos 14 exemplares foram observadas formas larvais na glândula digestiva ou no ovotéstis.

Vinte *A. glabratus*, infectados nas mesmas condições, dos quais 13 sobreviveram, apresentaram em 100% dos casos esporocistos secundários e cercárias formadas naqueles órgãos (Fig. 5), ao lado de dezenas de esporocistos primários íntegros na região céfalo-podal.



Fig. 5 — Glândula digestiva de *A. glabratus*, apresentando numerosos esporocistos secundários, com cercárias formadas, 48 dias após a penetração dos miracídios (100×).

#### COMENTARIOS E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos vêm demonstrar a grande resistência às infecções experimentais por *S. mansoni* apresentada por *A. tenagophilus* de vários municípios brasileiros. É interessante salientar que os presentes achados estão de acordo com os dados experimentais de COUTINHO<sup>5</sup> em São Paulo, e com nossas<sup>2</sup> anteriores observações em *A. tenagophilus* do Rio de Janeiro. Estão, ainda, de acordo com as observações de campo de ANDRADE & MARTINS<sup>1</sup>, de DEANE & col.<sup>6</sup> e as de PARAENSE & DESLANDES<sup>7</sup>, em foco endêmico de esquistossomose no Município de Santos, São Paulo, onde estes últimos autores encontraram a taxa de infecção de 0,1%, em 11.524 caramujos examinados.

O processo de destruição das larvas, logo após penetrarem nos tecidos do caramujo, são idênticos, nas várias amostras das populações estudadas, aos anteriormente descritos por nós em *A. tenagophilus* do Rio de Janeiro, Guanabara e, em suas linhas gerais, correspondem aos processos reacionais observados em outras espécies de planorbídeos por NEWTON<sup>8</sup>, BROOKS<sup>2</sup> e COELHO & BARBOSA<sup>4</sup>, entre outros.

A infecção de *A. stramineus* do Município de Olinda, Pernambuco, no percentual de 5,5% dos caramujos (experiência 1), utilizando-se a mesma amostra de miracídios de Belo Horizonte, parece indicar ser esta espécie mais suscetível às infecções por *S. mansoni* que *A. tenagophilus*. De fato, a grande resistência desta última espécie ficou evidenciada na experiência 3, quando caramujos expostos a 700 miracídios, em dias sucessivos, puderam destruir a maioria das larvas do trematódeo, apresentando-se o pequeno número de esporocistos ainda íntegros com desenvolvimento acentuadamente retardado. Um único esporocisto primário foi observado com aspecto normal, em órgão mais profundo, o que, embora nos possa conduzir à suspeita de que continuaria sua evolução até a eliminação de cercárias, poderia também ser um daqueles casos de reação tardia, já descrito em publicação anterior<sup>3</sup>.

Por outro lado, ficou bem evidenciada a suscetibilidade de algumas populações de *A.*

*tenagophilus* às infecções por *S. mansoni*, confirmando-se assim os achados dos autores citados anteriormente. Ficam, no entanto, por explicar os resultados de infecções naturais, com índices elevados, nesta mesma espécie, nos focos endêmicos do vale do Paraíba do Sul<sup>10</sup> e em Niterói<sup>7</sup>. É possível que nesses focos exista maior adaptação entre o trematódeo e seu hospedeiro, condicionando maior suscetibilidade à amostra local de *S. mansoni*. Outra possibilidade seria a presença de cercárias semelhantes às de *S. mansoni*, o que poderia conduzir a confusões de diagnóstico específico. A primeira das possibilidades seria fato novo no Brasil, onde não têm sido verificadas diferenças regionais no trematódeo, no que respeita à infectividade para os planorbídeos brasileiros, apesar de realizadas numerosas experiências de infecção de *A. glabratus* de várias regiões do país, com *S. mansoni* de várias procedências. Desta forma, achamos que esse importante problema está a merecer mais amplas investigações, sobretudo nos focos endêmicos citados.

#### SUMMARY

##### *Susceptibility of Australorbis tenagophilus to Schistosoma mansoni infection.*

The exposition to miracidia of *S. mansoni*, of 1,433 *A. tenagophilus* (from 14 districts of the States of São Paulo, Guanabara, Rio de Janeiro, Minas Gerais and Rio Grande do Sul, Brazil) revealed that, after 35 days, cercariae and secondary sporocysts could be found in 0.5% of the 1,019 surviving specimens. The percentage of infection among 195 *A. glabratus* and 50 *A. stramineus* used as controls was of 80% and 5.5%, respectively.

The examination of a series of histological sections from the cephalo-podal region of 49 *A. tenagophilus* (from 7 districts of the State of São Paulo and killed 36 and 72 hours after having been exposed to the miracidia) revealed the existence of granulomas around, respectively, 88.7% and 93.0% of the primary sporocysts observed, which were either undergoing a lithic process or were in an advanced degree of histolysis.

The examination of histological sections from the whole body mass of 14 *A. tenagophilus* (from 2 districts of the State of São Paulo and which had been infected with 100 miracidia 7 consecutive times in a period of 46 days and killed two days after the last infection) showed the presence of 581 primary sporocysts (of which 570 presented lithic process) in the cephalo-podal region and of only 4 sporocysts in the inner organs, of which only a primary one, located in the renal region, was uninjured.

None of the snails examined presented larval forms of the trematode in the digestive gland or in the ovotestis. All the 13 *A. glabratus* infected in the same way presented secondary sporocysts in the digestive gland and primary sporocysts in the cephalo-podal region.

The results obtained show, despite the well known susceptibility of *A. tenagophilus*, the great resistance of this planorbid to *S. mansoni* infection.

#### REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, R. M. de & MARTINS, R. S. — Contribuição para o conhecimento dos criadouros de planorbídeos no Distrito Federal. II. Resultado geral das pesquisas efetuadas para a localização de focos de transmissão da esquistossomose mansoni. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. 8:379-385, 1956.
2. BROOKS, C. P. — A comparative study of *Schistosoma mansoni* in *Tropicorbis havanensis* and *Australorbis glabratus*. J. Parasitol. 39:159-165, 1953.
3. COELHO, M. V. — Aspectos do desenvolvimento das formas larvais de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis nigricans*. Rev. brasil. Biol. 17:325-337, 1957.
4. COELHO, M. V. & BARBOSA, F. S. — Qualidades de vetor dos hospedeiros de *S. mansoni* no Nordeste do Brasil. III. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *Tropicorbis centimetralis*. Publ. avulsas Inst. Aggeu Magalhães 5:21-29, 1956.
5. COUTINHO, J. O. — Nota sobre a infestação experimental do *Australorbis nigricans* (Spix) do Município de São Paulo, pelo *Schistosoma mansoni*. Arq. Fac. Hig. & Saúde públ. Univ. São Paulo 10:61-64, 1956.

6. DEANE, L. M.; MARTINS, R. S. & LOBO, M. B. — Um foco ativo de esquistossomose mansônica em Jacarepaguá, D. Federal. Apresentado na Associação Paulista de Medicina. Cópia datilografada, 5 p., 1953.
7. MARTINS, R. S. — Focos ativos de esquistossomose em Niterói, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop.* 9:361-364, 1957.
8. NEWTON, W. L. — The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.* 38:362-366, 1952.
9. PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. — *Australorbis nigricans* as the transmitter of schistosomiasis in Santos, State of São Paulo. *Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop.* 8:235-245, 1956.
10. PIZA, J. de T.; RAMOS, A. da S.; BRANDÃO, C. S. H.; FIGUEIREDO, C. G. & CARMARGO, L. S. V. de — Vale do Paraíba, foco endêmico de esquistossomose... *Arq. Hig. & Saúde públ.* 25:35-40, 1960.

---

Recebido para publicação em 26 março 1962.