



CICLO DA ERLICHIOSE MONOCÍTICA EQUINA ENVOLVENDO TREMATÓDEOS ALBERGADOS EM CARACÓIS DO GÊNERO *HELEOBIA* E INOCULADOS EM ANAS *PLATYRHYNCHOS DOMESTICUS*

COIMBRA, Helen Silveira¹; SCHUCH, Luiz Filipe Damé²; GONÇALVES, Carolina Lambrecht³; ZAMBRANO, Cristina⁴; OYARZABAL, Marta Elaine Bastos⁵; PRESTES, Luciana Souza¹; MOTTA, Fernanda Voigt²; MEIRELES, Mário Carlos Araújo²

¹Programa de Pós-Graduação em Veterinária, coimbrahs@yahoo.com.br

²Laboratório de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária-UFPel, lsfschuc@ufpel.tche.br

³Graduanda em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC, Carolina_lamg@yahoo.com.br

⁴Veterinária Autônoma, czambrano@bol.com.br

⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, FV, UFRGS, marta_oyarzabal@yahoo.com.br

1.INTRODUÇÃO

A Ehrlichiose monocítica equina (EME) é uma doença causada pela *Neorickettsia risticii* que tem as células monocíticas de equinos como células alvo (RIKIHISA, 1998). A enfermidade vem sendo diagnosticada no Sul do Rio Grande do Sul e tem como característica a ocorrência em regiões alagadiças e nas épocas do ano com temperaturas elevadas (DUTRA et al., 2001; COIMBRA et al., 2006). Os sinais clínicos caracterizam-se principalmente pelo desenvolvimento de diarreia e desidratação, em muitos casos com evolução aguda e grave levando os animais a morte (RIKIHISA, 1998).

A transmissão ocorre por via oral sendo o agente etiológico veiculado por vetores aquáticos, os quais carregam a *N. risticii*. Dessa forma o agente pode estar relacionado às fases de vida do trematódeo, que para o fechamento de seu ciclo necessita de hospedeiros intermediários, que desenvolvem as fases imaturas e de hospedeiro definitivo, que desenvolve o parasita adulto. A *N. risticii* já foi identificada nas fases de cercárias e metacercárias presentes nos hospedeiros intermediários compreendendo moluscos e ou insetos e um hospedeiro definitivo, um animal vertebrado, como aves e mamíferos (BARLOUGH et al., 1998; KANTER et al., 2000; PUSTERLA et al., 2000).

No Rio Grande do Sul em propriedades criadoras de cavalos crioulos com casos confirmados de EME, a *N. risticii* foi identificada em cercárias presentes em caracóis abundantemente encontrados em plantas aquáticas e amplamente distribuídos na região costeira do Rio Grande do Sul (COIMBRA et al., 2005).

Este trabalho é parte de um estudo que almeja ampliar o conhecimento do ciclo biológico da EME e tem como objetivo avaliar a densidade e taxonomia dos caracóis do Gênero *Heleobia* e observar a presença de trematódeos albergados por eles assim como,

* Este trabalho é parte da Tese de Doutorado da primeira autora.

relatar o estudo experimental realizado em aves da espécie *Anas platyrhynchos domesticus* inoculados com os trematódeos extraídos de vetores locais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas 12 coletas, sendo feita a amostragem dos caracóis a partir de plantas aquáticas, aguapé (*Eichornea* spp) e erva-de-bicho (*Polygonum* spp), e de sedimento presentes nos canais de irrigação.

As raízes das plantas e o sedimento foram lavados vigorosamente e passados em peneira para retirada dos caracóis, que em seguida foram colocados em frascos com água do local. No laboratório (LDI/DVP/UFPel) os moluscos foram contados e separados em placas de petri contendo água destilada para a observação de trematódeos (fases de cercárias e metacercárias). Alguns caracóis foram dissecados para pesquisa da frequência de trematódeos (fases de rédias, cercárias e metacercárias) presentes.

Para o estudo do ciclo do trematódeo três aves da espécie *A. platyrhynchos domesticus* foram apreendidas em propriedades isoladas do foco de contaminação da EME. Foram selecionadas aves saudáveis, dois machos e uma fêmea, de uma mesma propriedade sem sinais de contaminação. As três aves foram mantidas em cativeiro e monitoradas diariamente pelo auxílio de profissionais especializados.

A inoculação procedeu-se por meio de pipetas estéreis utilizadas de forma individual, as quais continham trematódeos que se encontravam em distintas fases do ciclo conforme a tabela 1. Após, realizou-se diariamente a coleta das fezes destes animais para a observação de possíveis ovos de trematódeos adultos através da técnica de Dennis-Stone.

Tabela 1: Identificação das aves infectadas e do material experimental inoculado.

Ave	Sexo	Material inoculado
Número 1	Macho	Metacercária
Número 2	Fêmea	Cercária
Número 3	Macho	Água, controle negativo

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados aproximadamente 12641 caracóis do gênero *Heleobia* no período de dezembro a março de 2006 a 2008. A maior densidade dos gastrópodes foi observada nas raízes de aguapés onde 92,21% dos caracóis foram encontrados, no sedimento 6,2% e 1,48% nas raízes da erva-de-bicho. Foram identificadas espécies de *H. robusta* e *H. piscium*.

Ambas as espécies de *Heleobia* encontradas albergavam trematódeos em fases de rédias e cercarias. A maior frequência foi verificada no período de verão, concordando com uma frequência de 16,66% encontrada no verão de 2002, em Arroio Grande por

Coimbra et al. (2005).

Foram observados dois tipos de cercárias, ainda não caracterizadas morfológicamente e taxonomicamente, sendo denominadas para fins de diferenciação como morfotipo 1 as cercárias grandes de corpo fortemente pigmentado com um par de ocelos fortemente pigmentados (características observadas no aumento de 20x), e morfotipo 2 as cercárias pequenas com corpo sem pigmentação (característica melhor identificada com aumento de 40x). As fases de metacercárias foram encontradas no fundo das placas que continham os caracóis e dentro dos tecidos dos caracóis, sendo caracterizados dois tipos de metacercárias. As que encistaram no meio foram denominadas como metacercárias do tipo 1, e as encontradas no interior dos caracóis como metacercárias do tipo 2. A frequência das fases de metacercárias nos caracóis dissecados foi de 2,3% e 5,34% de metacercárias do tipo 2.

Os parasitas emitidos pelos caracóis foram conservados, para manter suas características inalteradas á fins práticos e inoculados em duas das três aves. A ave número 3 foi preservada do processo de inoculação tornando-se o controle negativo do experimento.

Após 54 d.p.i., os animais inoculados não apresentaram emissão de ovos de trematódeos. Os animais continuam a ser monitorados.

4. CONCLUSÃO

No Rio Grande do Sul, a enfermidade necessita de um maior estudo para elucidar qual hospedeiro definitivo está envolvido com o ciclo evolutivo da *N. risticii*.

O presente estudo apresenta conclusões preliminares, sendo necessário ser concluído para a avaliação dos resultados. Dessa forma a compreensão da biologia e ecologia dos reservatórios naturais do agente bem como a relação com a forma de transmissão da ehrlichiose monocítica equina pode permitir a introdução de métodos de controle eficazes nas áreas de risco.

5.REFERÊNCIAS

BARLOUGH J.E.; REUBEL G.H.; MADIGAN J.E.; VREDEVOE L.K; MILLER P.E.; RIKIHISA Y. Detection of *Ehrlichia risticii*, the Agent of Potomac Horse Fever, in Freshwater Stream Snails (Pleuroceridae: Juga spp) from Northern California. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, p. 2888-2893. 1998

CHAE J.; PUSTERLA N.; JOHNSON E.; DEROCK E.; LAWER S.P; MADIGAN J.E. Infection of aquatic insects with Trematode metacercariae carrying *Ehrlichia risticii*, the cause of Potomac horse fever. Journal Medical Entomology, v. 37(4), p. 619-625. 2000.

COIMBRA H.S.; SCHUCH L.F.D.; VEITEINHEMER-MENDES M.C.A.; MEIRELES M.C.A. *Neorickettsia (Ehrlichia) risticii* no Sul do Brasil: *Heleobia* spp (Mollusca: Hydrobilidae) e Parapleurolophocercous cercariae (Trematoda: Digenea) como possíveis vetores.

Arquivos do Instituto Biológico. v. 72, n. 3, p. 325-329. 2005.

DUTRA F.; SCHUCH L.F.D.; DELUCCHI E.; CURCIO B.R.; COIMBRA H.S.; RAFFI M.B.; DELLAGOSTIN O.; RIET-CORREA F. Equine monocytic Ehrlichiosis (Potomac Horse Fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 13, p. 433-437. 2001.

GIBSON K.E.; RIKIHISA Y.; ZHANG C.; MARTIN C. *Neorickettsia risticii* is vertically transmitted in the trematode *Acanthatrium oregonense* and horizontally transmitted to bats. *Environmental Microbiology*. v. 7, p. 203-212. 2005.

KANTER M.; MOTT J.; OHASHI N.; FRIED B.; REED S.; LIN Y.C.; RIKIHISA Y. Analysis of 16S rRNA and 51-Kilodalton Antigen gene and Transmission in Mice of *Ehrlichia risticii* in Virgulate Trematodes from *Elimia Livescens* snails in Ohio. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, p. 3349-3358. 2000.

PUSTERLA N.; MADIGAN J.E.; CHAE J.-S.; DEROCK E.; JOHNSON E.; PUSTERLA J.B. Helminthic Transmission and Isolation of *Ehrlichia risticii*, the Causative Agent of Potomac Horse Fever, by Using Trematode Stages from Freshwater Stream Snails. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, p. 1293-1297. 2000.

PUSTERLA N.; JOHNSON E.M.; CHAE J.S.; MADIGAN J.E. Digenetic trematodes, *Acanthatrium* sp. And *Lecithodendrium* sp., as vectors of *Neorickettsia risticii*, the agent Potomac horse fever. *Journal Helminthology*. v. 77, p. 335-339. 2003.

RIKIHISA Y. Rickettsial diseases. In: Reed S. M. & Bayly W. M. *Equine Internal Medicine*. Philadelphia, USA, W.B. Saunders Company, 1st edition. p.112-123. 1998.