



INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM *Lymnaea columella* POR *Fasciola hepatica*

AMARAL, Hugo Leonardo da Cunha¹; PEPE, Michele Soares¹; BERNE, Maria Elisabeth Aires¹

¹Depto. de Microbiologia e Parasitologia - Campus Universitário UFPel – hugolca@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os moluscos do gênero *Lymnaea* (Orbigny, 1835) são os hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica*, sendo responsáveis pela transmissão desse trematódeo no Brasil *L. viatrix* e *L. columella*. Tais espécies são encontradas na natureza em habitat distintos, estando *L. columella* presente em águas de pouca profundidade, tendo preferência por margens de lagoas, pequenos açudes com vegetação e canais de água limpa. Diferentemente, *L. viatrix* é geralmente encontrada em locais muito úmidos, fora da água, sobre superfícies lodosas com ou sem vegetação (Müller, 1993).

A fasciolose é uma doença parasitária que tem como principal agente etiológico *F. hepatica* (Linnaeus, 1758), tendo como principais hospedeiros ovinos e bovinos. Apresenta ampla distribuição geográfica em regiões de criação de ovinos, com altas taxas de mortalidade na fasciolose aguda. Em bovinos os prejuízos advindos desta parasitose são de difícil avaliação, pois a doença se apresenta de forma crônica, ocorrendo diminuição no crescimento, perda na produção de leite e no ganho de peso. Além disso, essa parasitose tem importância em saúde pública, pois é uma zoonose, com descrição de casos humanos em diversas partes do mundo, embora o número de casos registrados não represente a realidade da doença.

Diante do exposto, objetivou-se estimar a susceptibilidade de populações de *Lymnaea columella*, provenientes da região sul do Rio Grande do Sul à *Fasciola hepatica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente foram realizadas coletas de moluscos *L. columella* em 14 municípios da região sul do Rio Grande do Sul. Os moluscos coletados no seu habitat natural foram levados ao laboratório, mantidos em recipientes com água desclorada e alimentados com alfaca. Diariamente as populações eram examinadas para verificar a presença de posturas e quando presentes eram transferidas para novo recipiente, para obtenção da geração F1, livre de infecção. Para realizar a infecção dos moluscos, formas adultas de *F. hepatica* foram obtidas de fígados bovinos parasitados, no momento do abate em frigorífico. Destas, foram retirados ovos que foram incubados por 15 dias a 27°C e 80% de umidade relativa. Após este período os ovos foram expostos à luz artificial por cerca de duas horas para obtenção dos miracídios. A infecção dos moluscos foi realizada através da exposição de dois ou três miracídios de *F. hepatica* a um exemplar de *L. columella*, em placas de cultivo celular, sendo o volume total do orifício preenchido com água

destilada. Também foram realizadas duas infecções em massa, nas quais os moluscos são expostos a uma grande quantidade de miracídios. O tempo de exposição dos moluscos aos miracídios foi de aproximadamente quatro horas. Após o intervalo de no mínimo 30 dias da infecção, os moluscos foram expostos à luz incandescente por 40 a 50 minutos para liberação de cercárias. Após 60 dias os moluscos foram sacrificados, para observação de formas evolutivas do parasito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 14 coletas realizadas, somente foram encontrados exemplares de *L. columella* na Barragem Chasqueiro, no município de Arroio Grande. Os estudos foram iniciados com colônias de *L. columella* anteriormente estabelecidas no laboratório e provenientes do Campus da UFPel, no município de Capão do Leão.

Foram realizadas 17 infecções experimentais em 407 exemplares de *L. columella*, sendo 397 provenientes da colônia do laboratório e 10 da colônia da Barragem Chasqueiro (Tabela 1).

Dentre todos os moluscos avaliados, somente 14 mostraram-se infectados e sendo todos da colônia do laboratório. Desse total, três apresentaram rédias, cercárias e metacercárias e os demais apenas rédias jovens (Figura 1).

Nenhum molusco infectado liberou cercárias pelo método de exposição à luz.

Tabela 1: Número de moluscos positivos em infecções experimentais de *Lymnaea columella* com miracídios de *Fasciola hepatica*.

Infecção	Número de moluscos	Número de miracídios por molusco	Tempo de exposição (h)	Período de infecção (dias)	Número de moluscos infectados
1	55	3	4	35	0
2	10	2	3:30	47	0
3	34	3	3:30	47	0
4	15	3	3	35	0
5	7	Em massa	3	25	0
6	26	3	3:30	35	0
7	14	3	4	35	3
8	14	3	4	32	2
9	8	Em massa	4	28	0
10	15	3	4	41	0
11	10	3	4	45	0
12	15	3	4	44	0
13	15	3	4	60	8
14	15	3	4	40	0
15	34	3	4	40	1
16	48	3	4	70	0
17	72	2	4	50	0
TOTAL	407	-	-	-	14



Figura 1: (1A) Rédia com cercárias em seu interior (seta vermelha), cercárias liberadas (seta preta) e (1B) metacercárias observadas em um único molusco da espécie *Lymnaea columella*.

Na quinta e na nona infecção, realizadas com sete e oito exemplares de *L. columella* respectivamente, foi utilizado o método de infecção em massa. Com a utilização deste método, observou-se a morte de todos os moluscos, antes mesmo de completarem o tempo mínimo para a verificação da infecção, 30 dias. Estes resultados também foram observados em experimentos realizados por Leon-Dancel (1970) e Gomes et al. (1974). Já Souza et al. (2002), utilizando mesma metodologia observaram 41,1% de mortalidade, isto sugere que a alta taxa de infecção pode ter ocasionado à morte de todos os moluscos em ambos os experimentos.

Nas infecções sete, oito, 13 e 15, quando foram utilizados três miracídios por molusco, houve infecções, mostrando que este método foi mais eficiente, uma vez que não inviabilizou o desenvolvimento dos moluscos até a sua fase adulta. Os moluscos mostraram-se infectados somente após 35, 32, 60 e 40 dias, respectivamente à realização das infecções. Resultados semelhantes foram obtidos por Leon-Dancel (1970), o qual assinalou a ocorrência de rédias e metacercárias com 30, 57 e 60 dias após a infecção experimental. Estes períodos entre o aparecimento das diversas formas intermediárias de *F. hepatica* no hospedeiro intermediário, provavelmente dependem das condições de manutenção dos moluscos pós-infecção, como o controle da temperatura, qualidade da água, umidade e disponibilidade de alimento.

Em relação às infecções dois e 17, onde cada molusco foi exposto a dois miracídios, a morte dos últimos espécimes ocorreu no 47º e 50º dia pós-infecção, respectivamente. Embora com um número aproximadamente sete vezes maior de moluscos utilizados na segunda infecção, os resultados obtidos não mostraram diferença quanto ao período de sobrevivência.

O número de infecções realizadas com *L. columella* da Barragem do Chasqueiro foi pequena, devido esta colônia ter apresentado dificuldades de reprodução em condições artificiais, portanto com número de moluscos insuficiente para a avaliação da susceptibilidade e manutenção da colônia no laboratório.

Somente 3,4% dos moluscos estavam infectados por *F. hepatica*, sendo uma porcentagem baixa quando comparada com Barros et al. (2002) e Cucher et. al. (2006) que obtiveram 78% e 17,5% dos moluscos infectados,

respectivamente. Isto provavelmente ocorreu devido à cepa de *L. columella* utilizada nas infecções ser pouco susceptível a esse trematódeo.

CONCLUSÃO

Somente as colônias de *Lymnaea columella*, provenientes do Campus da UFPel e estabelecidas no laboratório mostraram-se suscetíveis a infecção por *Fasciola hepatica*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barros, J. S.; Pile, E. A. M.; Vasconcelos, M. C.; Santos, J. A. A.; Lessa, C. Infecção experimental de *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 com *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v.39,n.3,p.121-123, 2002.**

Cucher, M. A.; Carnevale, S.; Prepelitchi, L.; Labbé, J. H.; Wisniveski-Colli, C. PCR diagnosis of *Fasciola hepatica* in field-collected *Lymnaea columella* and *Lymnaea viatrix* snails. **Veterinary Parasitology, v. 137, n 1-2, p. 74-82, 2006.**

Gomes, P. A. C.; Nuernberg, S.; Pimentel, M. N.; Oliveira, G. P.; Rezende, H. E. B.; Araújo, J. L. B.; Mello, R. P.; Infecção experimental de *Lymnaea columella* (Say, 1817), com *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), de ocorrência no Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de Janeiro, 4(1): 35-38, 1974.**

Leon-Dancel, D.; Life history of *Lymnaea columella* and its experimental infection with *Fasciola hepatica*. **L. J. Agric. Univ. Puerto Rico, 54(2): 297- 305, 1970.**

Müller, G. 1993 **Biologia de *Lymnaea viatrix* (Orbigny, 1835) em condições de laboratório.** Pelotas. UFPel, 1993. 75 p. Tese para concurso Professor Titular, 1993.

Souza, C. P.; Magalhães, K. G.; Passos, L. K. J.; Santos, G. C. P.; Ribeiro, F.; Katz, N. Aspects of the Maintenance of the Life Cycle of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea columella* in Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 97(3): 407- 410, 2002.**