



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Curso de Especialização em Malacologia de Vetores

Larvas de nematódeos de interesse em Saúde Pública e Medicina Veterinária associadas a *Achatina fulica* na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro, RJ

Aluno: Paulo Sergio Rodrigues

Orientadora: Dra. Silvana Thiengo

Rio de Janeiro

Fevereiro/2020

PAULO SERGIO RODRIGUES

Larvas de nematódeos de interesse em Saúde Pública e Medicina Veterinária associadas a *Achatina fulica* na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro, RJ

Monografia submetida como requisito parcial para obtenção do grau de especialista em Malacologia, Curso de Especialização em Malacologia de Vetores, pelo Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

Rio de Janeiro

Data: ___/___/___

Assinatura do Aluno

Assinatura do Orientador

Assinatura do 2º Orientador (opcional)

Rodrigues, Paulo Sergio.

Larvas de nematódeos de interesse em Saúde Pública e Medicina Veterinária associadas a *Achatina fulica* na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro, RJ / Paulo Sergio Rodrigues. - Rio de Janeiro, 2020.
44 f.

Monografia (Especialização) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Malacologia de Vetores, 2020.

Orientadora: Silvana Aparecida Rogel Carvalho Thiengo.

Bibliografia: f. 39-44

1. Gastrópodes terrestres. 2. Helmintofauna. 3. Parasitoses. 4. Angiostrongilíases. 5. Levantamento. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS por me dar forças nas horas difíceis e tornar possível cada passo da minha jornada.

À minha orientadora Dra. Silvana Thiengo, por continuar conduzindo a minha carreira e, também, por continuar compartilhando sua grande experiência profissional.

À Dra. Monica Fernandez, por me ajudar nas atividades de campo, sempre me passando sua visão de como planejar e realizar um trabalho eficiente e rápido.

À Dra. Suzete Gomes que sempre arruma um tempo para me direcionar e dar suas preciosas dicas de escrita.

À Dra. Langia Montresor, Msc Elizangela Feitosa, Msc Arielly Souza e Msc Aline Mattos por toda ajuda, paciência e preciosas dicas, sempre solícitas e disponíveis.

Aos colegas de laboratório, Marta Chagas, Cleonice Silva, Ana Ramos, Sr. Paulo Cesar, Nayra Siqueira, Carolina Marchi, Juci Souza, Jessica Correia, Kevin Barbosa, Flavia Rangel, Thamires Canuto, Mariana Lima, Joana Pontes, Alexandre Bonfim, Lucas Lima, Matheus Inácio e Eduardo Cinilha, por todos os momentos, na convivência, na ajuda, na troca de experiência.

Ao Dr. Arnaldo Maldonado e todo o pessoal do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, por ceder seus equipamentos, transferir seus valiosos conhecimentos, troca de idéias e pelo ótimo relacionamento.

Aos meus colegas de curso, Camilla Araujo, Gamaliel Amorim, Karina Leal e Walter Valente pelo ótimo convívio durante todo o curso, pela amizade e por todos os momentos que passamos e os que ainda virão. Sinto-me honrado e com muita sorte por ter conhecido vocês, pessoas de coração tão bom.

Sempre aos meus amores, esposa e filhos, pelo carinho e compreensão, pelas ausências, por aceitarem com satisfação e acompanharem o meu ritmo, privando-se de muita coisa nessa luta e, assim, podermos chegar até aqui.

“Todo lugar é comum, até JESUS passar por ele. ”

RESUMO

Moluscos terrestres invasores têm gerado prejuízos econômicos para a agricultura, problemas ambientais e à saúde humana em várias partes do mundo, incluindo o Brasil. Podem ainda atuar como transmissores de nematódeos como *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis*, que podem causar em humanos, a meningite eosinofílica e a angiostrongilíase abdominal, respectivamente. O objetivo principal desse estudo foi avaliar a ocorrência do caracol africano *Achatina fulica* infectado com larvas de *Angiostrongylus* spp. em municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro, visando a subsidiar medidas de controle e prevenção dessas parasitoses. A análise parasitológica de outros moluscos encontrados em simpatria com *A. fulica* foi também realizada. As coletas de moluscos foram feitas nos 16 municípios dessa Mesorregião entre 2016 e 2018. O exame parasitológico dos moluscos foi realizado através da técnica de digestão artificial. Um total de 630 moluscos de 17 espécies foram coletados, sendo: *A. fulica*, *Sarasinula linguaeformis*, *Bradybaena similaris*, *Subulina octona*, *Leptinaria unilamellata*, *Bulimulus tenuissimus*, *Deroceras laeve*, *Succinea meridionalis*, *Streptartemon cookeanus*, *Allopeas micra*, *Ovachlamys fulgens*, *Megalobulimus ovatus*, *Beckianum beckianum*, *Drymaeus* sp., *Latipes erinaceus*, *Tamayoa banghaasi* e *Streptaxis contusus*. Foram analisados 452 moluscos, desses 353 foram *Achatina fulica*. Os índices de infecção para larvas de Metastrongyloidea foram: *A. fulica* (94%); *B. similaris* (2%) e *Latipes erinaceus* (4%). Espécimes de *A. fulica* infectados com *Angiostrongylus* spp. foram encontrados em Carmo, Comendador Levy Gasparian, Cordeiro, Nova Friburgo, Santa Maria Madalena, Sapucaia, Sumidouro e Três Rios. Em Metastrongyloidea estão incluídas outras espécies de interesse em saúde pública e em medicina veterinária como *Angiostrongylus vasorum* e *Aelurostrongylus abstrusus*, sendo que essa última foi encontrada em 44% dos municípios, fortemente associada com *A. fulica*. Outras larvas encontradas foram *Strongyluris* spp., *Caenorhabditis briggsae* e *Rhabditis* sp. A próxima etapa deste estudo será a análise morfológica detalhada e a continuidade da análise molecular das amostras armazenadas. Os resultados reforçam a importância da pesquisa da malacofauna e da helmintofauna associadas e fornecem subsídios ao controle e à prevenção de parasitoses, além de, seguramente, contribuir para o conhecimento de nossa biodiversidade.

Palavras-chave: Gastrópodes terrestres, helmintofauna, levantamento, parasitoses Angiostrongilíases.

ABSTRACT

Invading terrestrial molluscs have generated economic losses for agriculture, environmental problems and human health in several parts of the world, including Brazil. They can also act as transmitters for nematodes such as *Angiostrongylus cantonensis* and *Angiostrongylus costaricensis*, which cause eosinophilic meningitis and abdominal angiostrongyliasis, respectively. The main objective of this study was to evaluate the occurrence of the African snail *Achatina fulica* infected with *Angiostrongylus* spp larvae in the Mesoregion Centro Fluminense of the state of Rio de Janeiro, aiming to subsidize measures to control and prevent parasitosis transmitted by them. Parasitological analyses of other molluscs collected together with *A. fulica* were also performed. Collections of molluscs were carried out in the 16 municipalities of this Mesoregion between 2016 and 2018. The parasitological examination of the molluscs was carried out using the artificial digestion technique. A total of 630 molluscs were collected: *A. fulica*, *Sarasinula linguaeformis*, *Bradybaena similaris*, *Subulina octona*, *Leptinaria unilamellata*, *Bulimulus tenuissimus*, *Deroceras laeve*, *Succinea meridionalis*, *Streptartemon cookeanus*, *Allopeas micra*, *Ovachlamis fulgens*, *Megalobulimus ovatus*, *Beckianum beckianum*, *Drimaesus* sp., *Latipes erinaceus*, *Tamayoa banghaasi* and *Streptaxis contusus*. In total, parasitological analyses were done on 452 molluscs, of which 353 were *A. fulica*. The infection rates for Metastrongyloidea larvae were: *A. fulica* (94%); *B. similaris* (2%) and *Latipes erinaceus* (4%). Specimens of *A. fulica* infected with *Angiostrongylus* spp. were found in the following municipalities: Carmo, Comendador Levy Gasparian, Cordeiro, Nova Friburgo, Santa Maria Madalena, Sapucaia, Sumidouro and Três Rios. Metastrongyloidea includes other species of medical-veterinary interest such as *Angiostrongylus vasorum* and *Aelurostrongylus abstrusus*. This latter was found in 44% of the municipalities, with a strong association with *A. fulica*. Other larvae found were *Strongyluris* spp., *Caenorhabditis briggsae* and *Rhabditis* sp. The next step of this study will be the detailed morphological analysis and the continuity of the molecular analysis of the stored samples. The results reinforce the importance of researching malacofauna and associated helminths, as they provide subsidies for the control and prevention of parasites. In addition this kind of survey surely contributes to the knowledge of our biodiversity.

Keywords:

Terrestrial gastropods, Angiostrongyliasis, Parasitosis, Survey, Helminth fauna.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição de <i>Achatina fulica</i> no Brasil. Fonte: Thiengo et al., 2013.....	2
Figura 2 - Ciclo biológico de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> adaptado. Fonte: CDC-Estados Unidos.....	3
Figura 3 - Mesorregiões do estado do Rio de Janeiro. Fonte: IBGE, 2010.	6
Figura 4 - Local de Estudo. Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro.	8
Figura 5 - Coleta realizada em área urbana, terreno baldio com lixo, muitas bananeiras e mamoeiros. Localidade: Tiradentes no município de Nova Friburgo, RJ.	9
Figura 6 - Coleta realizada em terreno com muito entulho e plantação de aipim, os quais servem de criadouro para os moluscos. Localidade: Tapera - Trajano de Moraes, RJ....	9
Figura 7 - Exemplares de <i>Achatina fulica</i> em terrários, antes de serem submetidos ao exame parasitológico.	10
Figura 8 - Amostras de moluscos já processadas pela técnica de digestão artificial e colocadas em aparelho de Baermann para sedimentação.	11
Figura 9 - Moluscos encontrados (A) <i>Achatina fulica</i> . (B) <i>Deroceras laeve</i> . (C) <i>Streptartemon cookeanus</i> . (D) <i>Subulina octona</i> em áreas urbanas da Mesorregião Centro Fluminense.	14
Figura 10 - Moluscos encontrados em áreas urbanas da Mesorregião Centro Fluminense. (E) <i>Bradybaena similaris</i> . (F) <i>Bulimulus tenuissimus</i> . (G) <i>Leptinaria unilamellata</i> . (H) <i>Sarasinula linguaeformis</i>	15
Figura 11 – Percentual de formas larvais de nematódeos encontradas em <i>A. fulica</i> na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro.....	17
Figura 12 - <i>Rhaditis</i> sp.: extremidade anterior com primórdio da cápsula bucal (CB), sistema digestivo assinalando pseudobulbo (PB), istmo (IT) e bulbo (BL), fêmea com extremidade posterior da larva com o ânus (AN) e cauda longa e afilada (CD) (Fig. 3A) e morfotipo macho recuperado de <i>A. fulica</i> , com o detalhe do véu bursal.	18
Figura 13 – <i>Strongyluris</i> sp.: extremidade anterior demonstrando esofago bulbiforme (EB), cápsula bucal (CB) anel nervoso (ANR) e extremidade posterior com o ânus (AN) e cauda curvada dorsoventralmente.	19

- Figura 14 - Larva L3 de *Metastrongyloidea*: visão geral (Fig. 9A), extremidade anterior com primórdio da cápsula bucal (CB) (Fig. 9B), primórdio genital situado no terço médio do corpo da larva L3 (PG) (Fig. 9C), extremidade posterior com o ânus (AN) e nitída presença de apêndice (AP) (Fig. 9D). Foto: OLIVEIRA *et al.*, 2010. 20
- Figura 15 - *Aelurostrongylus abstrusus*; A - Detalhe da porção posterior: botão característico no final da cauda (BT); B - Larva inteira, anus (AN), esôfago (ES), capsula bucal (CB). 21
- Figura 16 - Larva de nematódeo não identificado coletado em espécime de *A.fulica*. Apresenta membrana caudal bem definida, esôfago em forma de bulbo. 22
- Figura 17 - Larva de nematódeo não identificado pela morfologia obtido de um espécime de *A. fulica*. 22
- Figura 18 - Larva de nematódeo encontrado em *A. fulica*, não identificado pela morfologia. (AN) anus; (PG) poro genital; (CB) capsula bucal; (PB) Pseudobulbo; (BL) Bulbo; (IT) Istmo. 23
- Figura 19 – Distribuição de *Metastrongyloidea* em *A. fulica*, *Bradybaena similaris* e *Latipes erinaceus* na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro. 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Moluscos coletados e identificados por família nos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro.	13
Tabela 2 - Larvas de nematódeos encontradas em exemplares de <i>A. fulica</i> provenientes dos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro, no período de novembro de 2016 a outubro de 2018.....	16
Tabela 3 – Medidas obtidas de larvas de <i>Metastrongylidae</i> (n=30) e de <i>Aelurostrongylus</i> (n=20), encontrados em <i>A. fulica</i> valores em (µm).	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL.....	5
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
4. METODOLOGIA.....	6
4.1. Local de Estudo.....	6
4.2. Acondicionamento	10
4.3. Identificação e Fixação	10
4.4. Estudo Parasitológico.....	11
5. RESULTADOS.....	12
5.1. Formas Larvais de Nematodeos Identificadas:	18
5.2. Formas Larvais Não Identificadas:	22
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÕES	27
8. REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

O estudo da relação entre os moluscos e helmintos de importância na Medicina Veterinária e na Saúde Pública constitui uma das linhas de pesquisa desenvolvidas no Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz, que tem sua estrutura fundamentada em Ensino, Pesquisa, Serviço de Referência e Coleção de Moluscos, esta última com um acervo de mais de 10.000 lotes.

O caracol exótico invasor *Achatina (Lissachatina) fulica* Bowdich, 1822 foi introduzido no Brasil para fins comerciais na alimentação humana, no final da década de 1980 (RODRIGUES *et al.*, 2016). É nativo do leste da África, com distribuição original ocorrendo entre Natal (África do Sul) e Somália. *Achatina fulica* está entre as 100 piores espécies exóticas invasoras do mundo (LOWE *et al.*, 2000) e, atualmente, está registrada em todos os estados do Brasil, exceto no Rio Grande do Sul (THIENGO *et al.*, 2013) (Figura 1), estando associada a prejuízos econômicos, problemas ambientais e à saúde humana (FISCHER & COSTA, 2010; THIENGO & FERNANDEZ, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2016).

Achatina fulica ocorre geralmente em densas populações nas áreas urbanas e atua como hospedeiro intermediário de nematódeos de importância médica como, *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) agente etiológico da meningite eosinofílica em humanos. Já a espécie congênere *Angiostrongylus costaricensis* Morera e Céspedes, 1971, agente etiológico da angiostrongilíase abdominal, esta já comprovada experimentalmente sendo capaz de utilizar *A. fulica* como hospedeiro intermediário (CARVALHO *et al.*, 2013), mas ainda não observado naturalmente. *Angiostrongylus cantonensis* é endêmico no sudeste asiático e ilhas do Pacífico, porém, nos últimos anos têm ocorrido registros de casos humanos da doença ou de moluscos e roedores infectados pelo nematódeo no Japão, Austrália, Egito, Madagascar, Estados Unidos, Caribe e, a partir da década de 2000, no Brasil (KLIKS & PALUMBO, 1992; PROCIV *et al.*, 2000; LINDO *et al.*, 2002; RACCURT *et al.*, 2003; CALDEIRA *et al.*, 2007; MALDONADO *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2012; SIMÕES *et al.*, 2011, MORASSUTTI *et al.*, 2014; CUNHA, 2017).

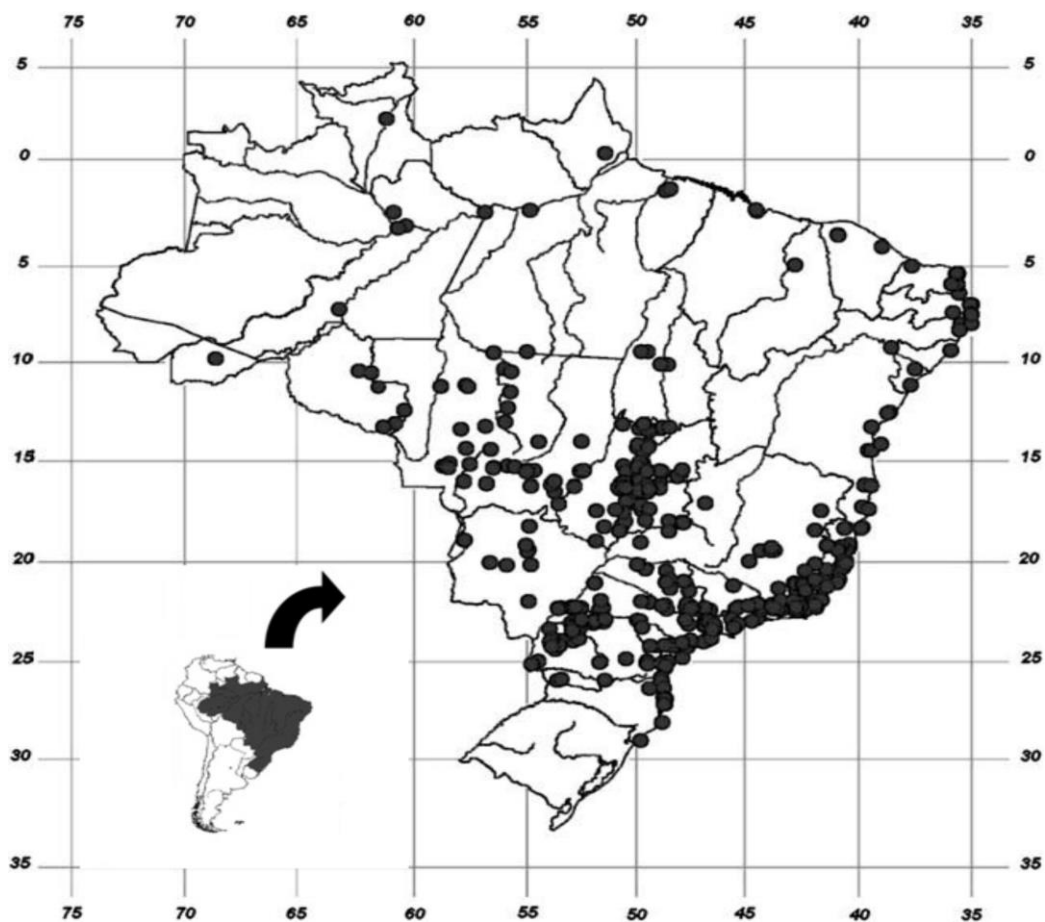
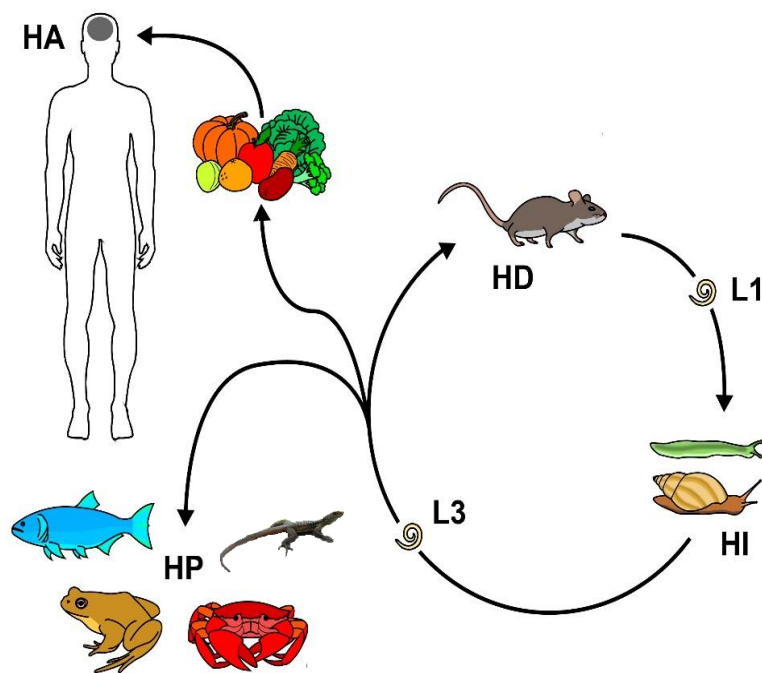


Figura 1 - Distribuição de *Achatina fulica* no Brasil. Fonte: Thiengo *et al.*, 2013.

O ciclo biológico natural de *A. cantonensis* envolve várias espécies de roedores como hospedeiros definitivos, diferentes espécies de moluscos como hospedeiros intermediários, e anfíbios, planárias, crustáceos, répteis e peixes como hospedeiros paratênicos (ACHA & SZYFRES, 1986; GUERRINO *et al.*, 2017) (Figura 2).



Angiostrongylus cantonensis

HD - Hospedeiro definitivo / HI - Hospedeiro intermediário / HP - Hospedeiro paratênico / HA - Hospedeiro acidental

Figura 2 - Ciclo biológico de *Angiostrongylus cantonensis* adaptado. Fonte: CDC-Estados Unidos

A infecção humana por *A. cantonensis* é acidental, podendo ocorrer através da ingestão dos hospedeiros intermediários ou paratênicos crus ou mal cozidos, e também das hortaliças contaminadas com a larva de terceiro estágio (L₃), infectante para o vertebrado (ACHA & SZYFRES, 1986; MALDONADO *et al.*, 2012).

Segundo o Centro de Prevenção e Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC/EUA) houve registro de quase 3.000 casos humanos de meningite eosinofílica em todo o mundo, distribuídos em mais de 30 países, incluindo o Brasil (WANG *et al.*, 2008).

Vários autores têm associado a expansão da meningite eosinofílica à dispersão de *A. fulica*, em vários países (PROCIV *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2014), o que vem sendo também observado no Brasil, com 35 casos de meningite eosinofílica confirmados e registrados nos estados do Espírito Santo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo, e quase 100 casos suspeitos, com um óbito. (CALDEIRA *et al.*, 2007; THIENGO *et al.*, 2008; 2010; LIMA *et al.*, 2009, ESPÍRITO SANTO *et al.*, 2013,

MORASSUTTI *et al.*, 2014, CUNHA, 2015). Além disto, o nematódeo *A. cantonensis*, já está notificado para 12 dos 26 estados brasileiros (RAMOS-DE-SOUZA *et al.*, 2018).

Para a angiostrongiliase abdominal, no Brasil, a maioria dos casos dessa doença em humanos ocorre na Região Sul, com aproximadamente 100 notificações. Os estados onde há registro de angiostrongilose abdominal são: Minas Gerais, Espírito Santo, Paraná, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Distrito Federal (GRAEFF-TEIXEIRA *et al.*, 1993; ZUCCARO *et al.*, 1998).

O gênero *Angiostrongylus* possui atualmente 23 espécies descritas no mundo, sendo que destas, nove ocorrem nas Américas e pelo menos três ocorrem no Brasil e possuem importância em Medicina Veterinária e em Saúde Pública (VALENTE *et al.*, 2018): *A. cantonensis*, *A. costaricensis* e *A. vasorum*, este último parasito cardiopulmonar de canídeos (BARCANTE *et al.*, 2003; RAMOS-DE-SOUZA *et al.*, 2018).

A identificação das larvas de *Angiostrongylus* spp. não é uma tarefa simples, devido à grande semelhança morfológica entre elas (ASH *et al.*, 1970).

Atualmente, devido à introdução e a grande expansão de *A. fulica* no Brasil, o Laboratório de Malacologia, enquanto Referência Nacional para Esquistossomose – Malacologia, tem também atendido às Secretarias Municipais de Saúde de diversos estados do país, principalmente do Estado do Rio de Janeiro, através da identificação de amostras de moluscos coletados no campo e da pesquisa de larvas de nematódeos de importância médica associados. Em face da grande demanda por informações sobre este molusco, sempre que solicitado, o Laboratório de Malacologia também participa de reuniões técnicas em diferentes órgãos de saúde, e ambientais auxiliando na elaboração de medidas de controle e de material educativo/informativo (ZANOL *et al.*, 2010; THIENGO *et al.*, 2008; 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Neste estudo são apresentados os resultados do levantamento da malacofauna terrestre e helmintofauna associada, com ênfase no molusco invasor *A. fulica* na Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro, visando a contribuir para o conhecimento sobre moluscos de interesse em Medicina Veterinária e em Saúde Pública,

fornecendo subsídios tanto para o controle de moluscos na mesorregião estudada, como também na profilaxia dos nematódeos que podem ser transmitidos por esses agentes.

2. OBJETIVO GERAL

- Levantar a ocorrência de *Achatina (Lissachatina) fulica* Bowdich, 1822 infectada com nematódeos de importância na Medicina Veterinária e em Saúde Pública, com ênfase em *Angiostrongylus* spp. na Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar coletas de moluscos terrestres com ênfase em *A. fulica* na Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro;
- ✓ Conhecer através da identificação, os moluscos associados a *A. fulica* na Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro, através de análises morfológicas e conquiliológicas;
- ✓ Identificar as larvas de nematódeos de interesse médico-veterinário encontradas em *A. fulica*, através de análises morfo-moleculares;

4. METODOLOGIA

4.1. Local de Estudo

De acordo com o Censo Demográfico de 2010 realizado pelo IBGE, seis Mesorregiões de Governo compõem o Estado do Rio de Janeiro: Mesorregião Baixadas, Centro Fluminense, Metropolitana, Noroeste Fluminense, Norte Fluminense e Sul Fluminense (Figura 3). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro tem 451.357 habitantes (IBGE/2010), e a quinta área em densidade populacional do estado do Rio de Janeiro (Censo, 2010).

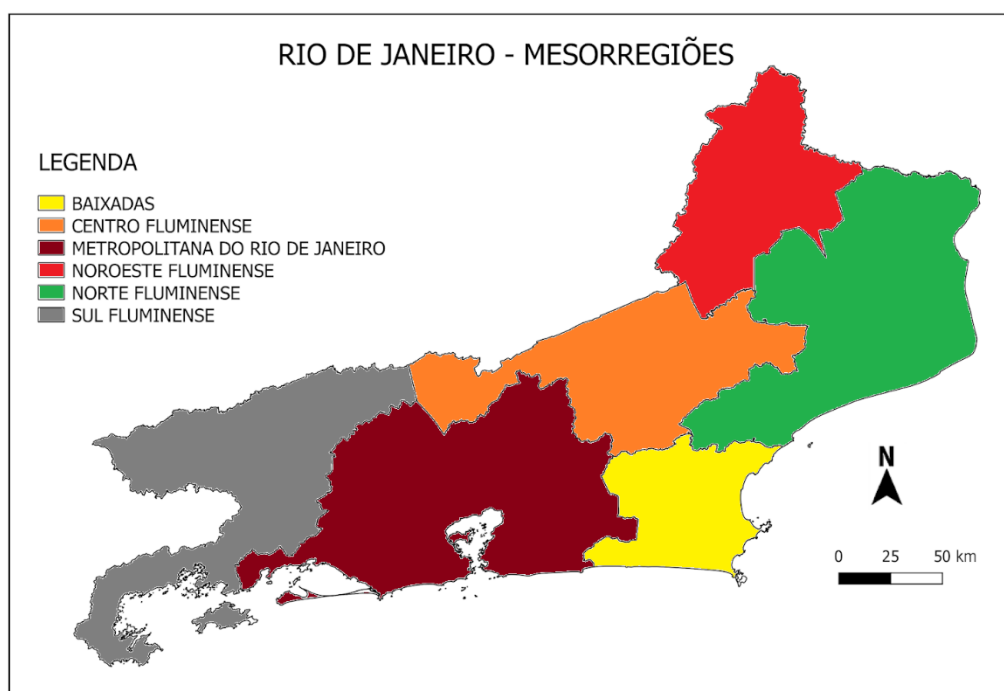


Figura 3 - Mesorregiões do estado do Rio de Janeiro. Fonte: IBGE, 2010.

No período de Jan/2016 a Out/2018 foram efetuadas coletas de moluscos (Licença para coleta dos moluscos: SISBIO 14.551) nos dezesseis municípios que compõem a Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro: Areal, Bom Jardim, Cantagalo, Carmo, Comendador Levy Gasparian, Cordeiro, Duas Barras, Macuco, Nova Friburgo, Paraíba do Sul, Santa Maria Madalena, São Sebastião do Alto, Sapucaia, Sumidouro, Trajano de Moraes e Três Rios (Figura 4).

Foi realizado pelo menos uma coleta em cada um dos 58 Distritos dos dezesseis municípios investigados, totalizando 65 pontos de coleta. Todos esses pontos foram georreferenciados, com o uso do aplicativo GPS Essentials Versão 4.4.25 (Michael Schollmeyer, 2015) *Free Software* para Android. As figuras 5 e 6 estão relacionadas a alguns dos ambientes estudados.

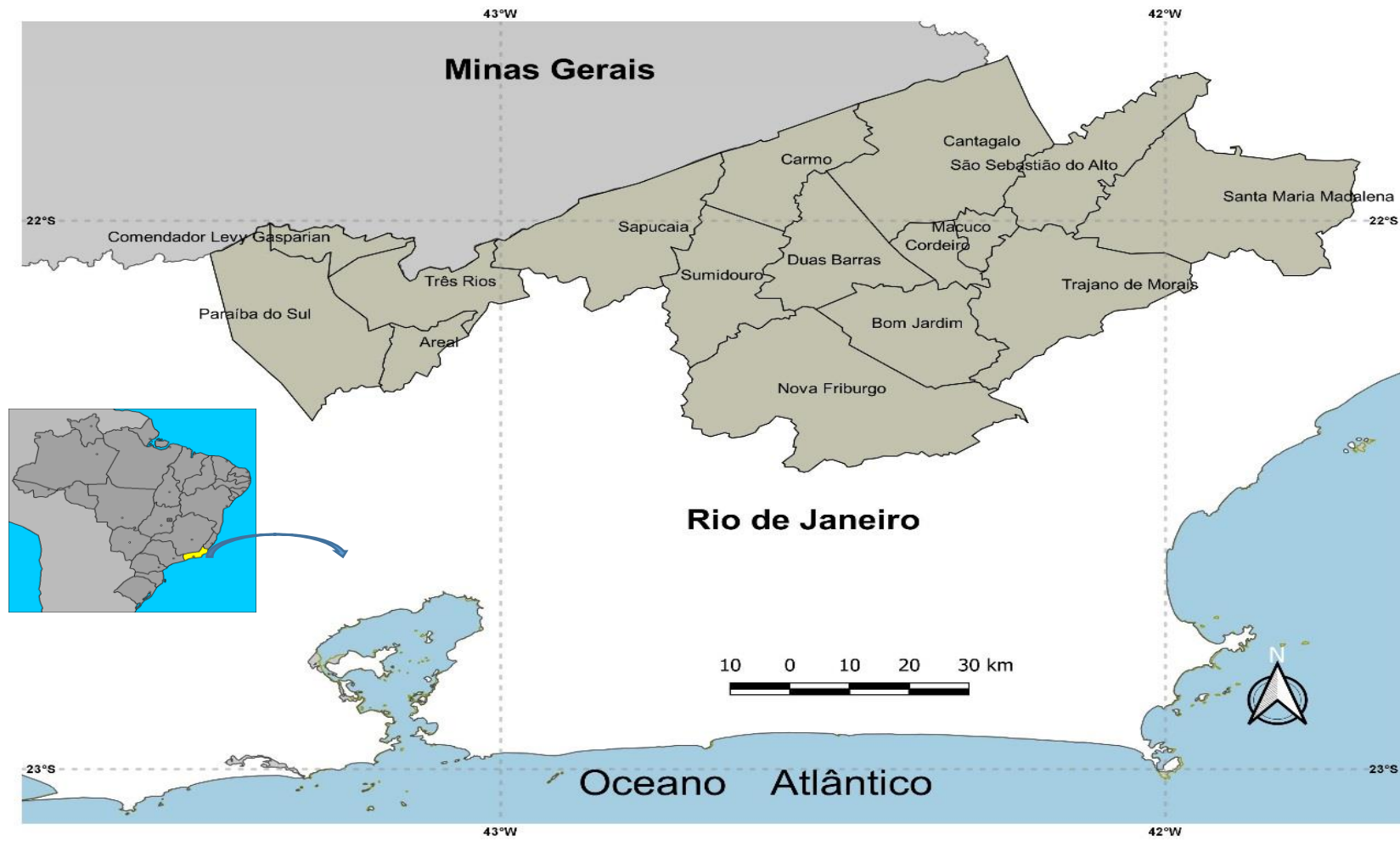


Figura 4 – Local de Estudo. Mesoregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro.



Figura 5 - Coleta realizada em área urbana, terreno baldio com lixo, muitas bananeiras e mamoeiros. Localidade: Tiradentes no município de Nova Friburgo, RJ. Foto: Paulo Rodrigues



Figura 6: Coleta realizada em terreno com plantação de aipim e muito entulho, os quais servem de criadouro para os moluscos. Localidade: Tapera - Trajano de Moraes, RJ. Foto: Paulo Rodrigues

4.2. Acondicionamento

Os moluscos foram coletados com auxílio de ancinhos e pinças, colocados em potes plásticos, devidamente etiquetados, e transportados até o Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, onde foram acomodados em terrários com terra autoclavada até o processamento para o estudo morfológico e parasitológico (Figura 7).



Figura 7 - Exemplos de *Achatina fulica* em terrários, antes de serem submetidos ao exame parasitológico.

Foto: Acervo LABMAL

Antes de serem processados para o estudo parasitológico, um total de 1 a 5 exemplares dos moluscos identificados de cada espécie encontrada por município, foi depositado na Coleção de Moluscos do Instituto Oswaldo Cruz (CMIOC).

4.3. Identificação e Fixação

Os moluscos foram identificados pela morfologia através da conchiliologia e de dissecções, principalmente do sistema reprodutor (SALGADO *et al.*, 2003; SIMONE, 2006). Para a morfologia, os exemplares foram distendidos em água e fixados em álcool etílico 70%. Foram obtidas fotos de cada uma das espécies encontradas, utilizando câmera Cannon – Power Shot G11 para exemplares vivos. As fotografias das conchas foram feitas na lupa Leica M205C.

4.4. Estudo Parasitológico

Para o exame parasitológico os moluscos foram processados individualmente através da técnica de digestão artificial (GRAEFF-TEIXEIRA e MORERA 1995). A massa cefalopediosa de cada molusco foi fragmentada e digerida em solução de ácido clorídrico a 0,7% por 6 horas. As amostras foram digeridas individualmente, colocadas no aparelho de Baermann-Moraes para sedimentação “*overnight*”, sendo recolhidos, no dia seguinte, 10 ml do produto da digestão (Figura 8). As amostras foram então centrifugadas por 8 minutos a 1500 RPM, para concentração das larvas e posterior exame no microscópio estereoscópio com aumento de 20X.



Figura 8 – Amostras de moluscos já processadas pela técnica de digestão artificial e colocadas em aparelho de Baermann para sedimentação. Foto: Paulo Rodrigues

As larvas encontradas foram observadas no microscópio ótico de campo claro (aumento de 40X, 100X, 200X). Os helmintos foram inicialmente identificados em níveis taxonômicos superiores (ex.: Superfamília) com base em características da morfologia, sendo armazenados a -18°C em Solução Salina Fosfatada Tamponada (PBS).

Posteriormente será realizada identificação específica através da análise de sequências da região da Citocromo Oxidase I do DNA mitocondrial. Para análise morfológica, uma quantidade entre 5 e 30 nematódeos foi fixada em solução AFA (2% ácido acético glacial, 3% formaldeído e 95% etanol) e acondicionada em microtubos de 1,5 mL.

As larvas restantes foram posteriormente clarificadas em lactofenol, montadas em lâminas e examinadas sob microscópio ótico de campo claro para morfometria e desenho com o auxílio de uma “câmara lucida”.

Os registros fotográficos e medidas foram feitos com o auxílio microscópio ótico Zeiss Observer Z1 acoplado de uma câmera digital Zeiss Axio Cam HRC e processadas pelo AxioVision Rel. 4.7 software.

5. RESULTADOS

Uma vez identificados, um a cinco exemplares de cada espécie de molusco foram depositados na Coleção de Moluscos do Instituto Oswaldo Cruz (CMIOC): CMIOC 11283-11296, CMIOC 11382-11393, CMIOC 11399-11413.

Foi coletado um total de 630 gastrópodes nos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro (Tabela 1).

Destacamos que, dentre as 17 espécies pertencentes a 11 diferentes famílias, dez são exóticas: *A. fulica*, *Allopeas micra* (d’Orbigny, 1835), *Beckianum beckianum* (Pfeiffer, 1846), *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821), *Deroceras laeve* (Muller, 1774), *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921), *Leptinaria unilamellata* (d’Orbigny, 1835), *Ovachlamys fulgens* (Gude, 1900), *Sarasinula linguaeformis* (Semper, 1885) e *Tamayoa bangaasi* (Thiele, 1927) (Tabela 1).

Tabela 1 - Moluscos coletados e identificados por família em 14 dos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

Família	Achatinidae	Agriolimacidae	Bradybaenidae	Bulimulidae	Helicarionidae	Megalobulimidae	Scolodontidae	Streptaxidae	Succineidae	Subulinidae	Veronicellidae
Município	<i>Achatina fulica</i> (E)	<i>Deroceras laeve</i> (E)	<i>Bradybaena similaris</i> (E)	<i>Bulimulus tenuissimus</i> <i>Drymaeus</i> sp.	<i>Ovachlamys fulgens</i> (E)	<i>Megalobulimus ovatus</i>	<i>Tamayoa banghaasi</i> (E)	<i>Streptaxis contusus</i> <i>Streptartemon cookeanus</i>	<i>Succinea</i> sp.	<i>Lepinaria unilamellata</i> (E) <i>Subulina octona</i> <i>Beckianum beckianum</i> (E) <i>Alopeas micra</i> (E)	<i>Sarasinula linguiformis</i> (E) <i>Latipes erinaceus</i> (E)
Areal				X						X	
Bom Jardim			X	X	X					X X X	X
Cantagalo	X			X X		X			X	X X	
Carmo	X			X			X			X	X
Com. Levy Gasparian	X	X									X
Cordeiro	X									X	X
Macuco	X										X
Nova Friburgo	X	X	X	X X	X	X		X		X	X X
Paraíba do Sul	X			X			X	X		X	X X
Santa Maria Madalena	X	X	X			X		X		X X X	
Sapucaia	X	X	X	X			X		X	X X X X	X
Sumidouro	X	X	X	X					X	X	X X
Trajano de Moraes	X	X	X	X						X X	X
Tres Rios	X		X							X	X

Obs* (E) = Espécies exóticas; (X) = Presença da espécie no município

Achatina fulica foi a espécie mais presente, (encontrada em 12 dos 16 municípios amostrados). A segunda espécie mais presente foi *S. linguaeformis* (9 municípios) e apesar de não se ter certeza da sua origem adotaremos, nesse estudo, como espécie exótica. *B. tenuissimus* também foi bem presente (9 municípios). As outras duas espécies mais encontradas foram *S. octona* (8 municípios) e *D. laeve* (6 municípios). As figuras 9 e 10 estão relacionadas às espécies encontradas.



Figura 9 - Moluscos encontrados (A) *Achatina fulica*. (B) *Deroceras laeve*. (C) *Streptartemon cookeanus*. (D) *Subulina octona* em áreas urbanas da Mesorregião Centro Fluminense. Fotos: Paulo Rodrigues



Figura 10 - Moluscos encontrados em áreas urbanas da Mesorregião Centro Fluminense. (E) *Bradybaena similaris*. (F) *Bulimulus tenuissimus*. (G) *Leptinaria unilamellata*. (H) *Sarasinula linguaeformis*. Fotos: Paulo Rodrigues

Nos municípios de Duas Barras e São Sebastião do Alto, nenhum molusco foi coletado. *Drymaeus* sp. (Albers, 1850), *Streptaxis contusus* (Férussac, 1821), *Ovachlamys fulgens* (Gude, 1900), *Tamayoa banghaasi* (Thiele, 1927), *Beckianum beckianum* (Pfeiffer, 1846) foram encontrados em áreas urbanas, mas em pequeno número (1 a 3 exemplares).

Foram analisados parasitologicamente 452 moluscos, sendo que 353 eram *A. fulica*. Foram encontradas sete diferentes formas larvais parasitando esses moluscos e, conforme indicado na Tabela 2, em todas as amostras positivas de *A. fulica* foi observada co-infecção por duas formas larvais diferentes.

Tabela 2 - Larvas de nematódeos encontradas em exemplares de *A. fulica* provenientes dos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro, no período de novembro de 2016 a outubro de 2018.

Município	<i>A. fulica</i>		Nematódeos										
	Analisados	Positivos	Metastroyloidea		<i>Rhabditis</i> sp.		<i>Strongyluris</i> spp.		<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>		ND	Infecções Dupla	
			n	%	n	%	n	%	n	%			n
Areal													
Bom Jardim													
Cantagalo	23	12		0%		0%	1	8%		0%	12	100%	1
Carmo	48	24	1	4%				0%	13	54%	20	83%	10
Com. Levy Gasparian	16	10	3	30%				0%	8	80%	3	30%	2
Cordeiro	10	2	1	50%		0%					2	100%	1
Duas Barras													
Macuco	12	1			1	100%					1	100%	1
Nova Friburgo	27	18	1	6%		0%	10	56%		0%	15	83%	8
Paraíba do Sul	24	18			4	22%		0%	3	17%	11	61%	5
Santa Maria Madalena	57	31	3	10%		0%	6	19%	4	13%	20	65%	8
São Sebastião do Alto													
Sapucaia	21	10	1	10%		0%	3	30%	1	10%	6	60%	1
Sumidouro	39	24	2	8%	4	17%					22	92%	5
Trajano de Moraes	50	26			3	12%	2	8%	2	8%	22	85%	3
Tres Rios	26	16	3	19%			3	19%	2	13%	12	75%	3
Total	353	192	15	8%	12	6%	25		33	17%	146	76%	48

ND – Não Determinado

A Figura 11 representa o percentual de formas larvais encontradas considerando apenas *A. fulica*. O maior índice de infecção ocorreu no município de Paraíba do Sul, com 75% e o menor no município de Macuco, com 8%.

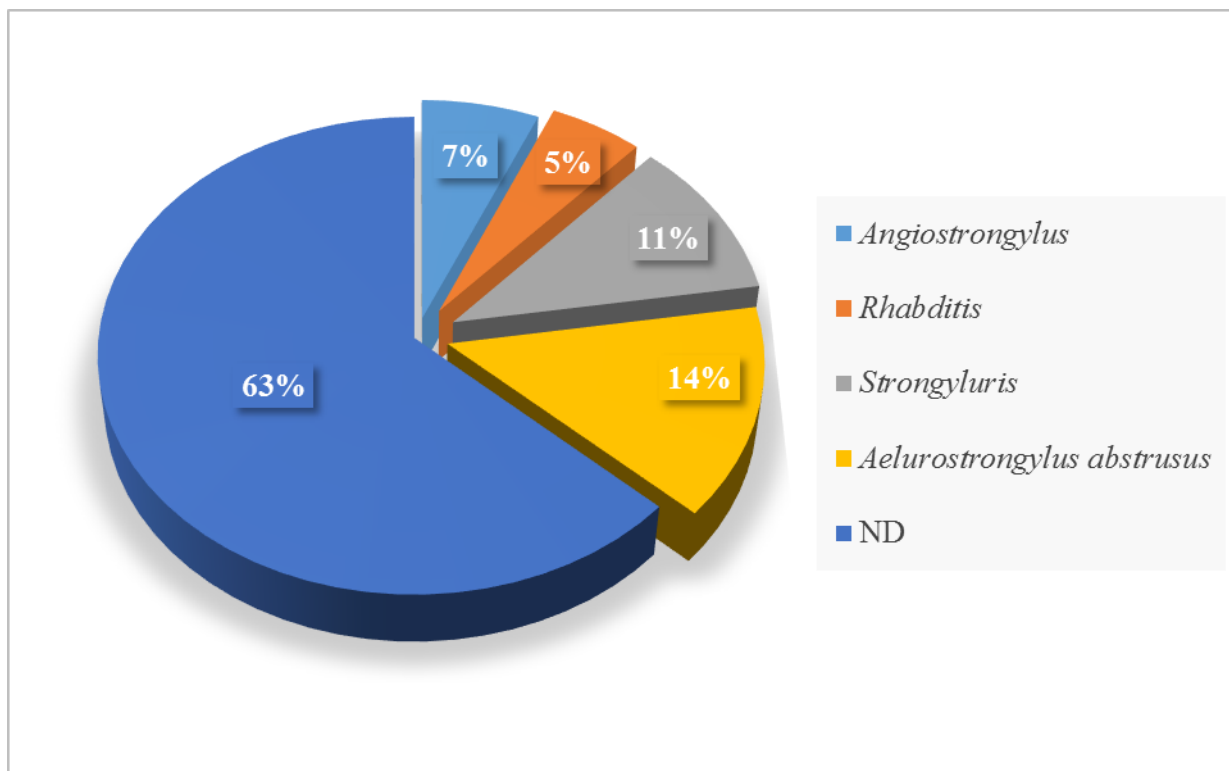


Figura 11 – Percentual de formas larvais de nematódeos encontradas em *A. fulica* na Mesorregião Centro Fluminense do Estado do Rio de Janeiro.

O registro das co-infecções ocorreu em 25% dos exemplares de *A. fulica* positivos. Acreditamos que análises mais detalhadas (molecular e/ou morfométrica) destas larvas, ainda em andamento, poderão elevar este número. Considerando as outras espécies de moluscos analisados (*B. similaris*, *B. tenuissimus*, *D. laeve*, *L. erinaceus* e *S. linguaeformis*), observamos que a co-infecção ocorreu com baixa frequência. Dentre os espécimes positivos, 3% apresentaram dupla infecção, contra os 25% em *A. fulica*.

Moluscos coletados que não apresentaram resultados positivos para nematódeos estavam em simpatria com o molusco invasor *A. fulica* (*Streptartemon cookeanus* (Baker, 1914), *Subulina octona* (Brugüière, 1789), e *Tamayoa bangaasi*). Além de *A. fulica*, exemplares de *B. similaris* e *Latipes erinaceus* estavam positivos para *Angiostrongylus* sp.

A maior parte das larvas de nematódeos não puderam ser determinadas pela morfologia (63%), sendo necessária uma posterior análise molecular para determinação das espécies.

5.1. Formas Larvais Identificadas:

- *Rhabditis* sp.:

Classe: Chromadoria.

Ordem: Rhabditida.

Superfamília: Rhabditoidea.

Família: Rhabdiasidae.

Gênero: *Rhabditis* Dujardin, 1844

Habitat: Vida livre

Larva encontrada em *A. fulica*, apresentando esôfago rhabditiforme, dividido em três estruturas distintas (pseudobulbo, istmo e bulbo, cauda afilada para os exemplares fêmeas e véu bursal para os exemplares machos (Figura 12).

Encontrada em 25% dos municípios estudados.



Figura 12 - *Rhabditis* sp.: extremidade anterior com primórdio da cápsula bucal (CB), sistema digestivo assinalando pseudobulbo (PB), istmo (IT) e bulbo (BL), fêmea com extremidade posterior da larva com o ânus (AN) e (A) cauda longa e afilada (CD) e morfotipo macho recuperado de *A. fulica*, com o detalhe do véu bursal.
Foto: Paulo Rodrigues

- *Strongyluris* sp.

Classe: Chromadorea

Superfamília: Heterakoidea

Família: Heterakidae

Subfamília: Heterakinae

Gênero: *Strongyluris* Mueller, 1854

Larva obtida de *A. fulica* apresentando esôfago oxiuriforme, anel nervoso anterior ao bulbo esofágico, cutícula estriada, faringe relativamente longa e cauda curvada dorsoventralmente.

Habitat: Intestino delgado de lacertídeos.

Encontrada em 38% dos municípios estudados.

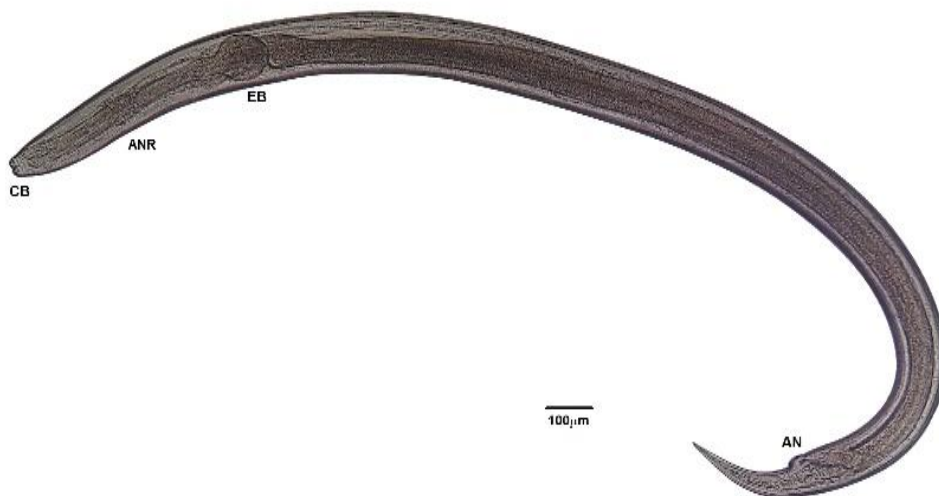


Figura 13 – *Strongyluris* sp.: extremidade anterior demonstrando esôfago bulbiforme (EB), cápsula bucal (CB) anel nervoso (ANR) e extremidade posterior com o ânus (AN) e cauda curvada dorsoventralmente. Foto: Paulo Rodrigues

- *Angiostrongylus* sp.

Classe Secernentea

Ordem Strongylida

Superfamília Metastrongyloidea

Família Angiostrongylidae

Gênero: *Angiostrongylus* Kamenski, 1905

Larva com esôfago filariforme, presença de primórdio genital localizado no terço médio do corpo, apêndice pontiagudo no final da cauda, reentrância na parte posterior da cauda.

Encontrada em 50% dos municípios estudados.

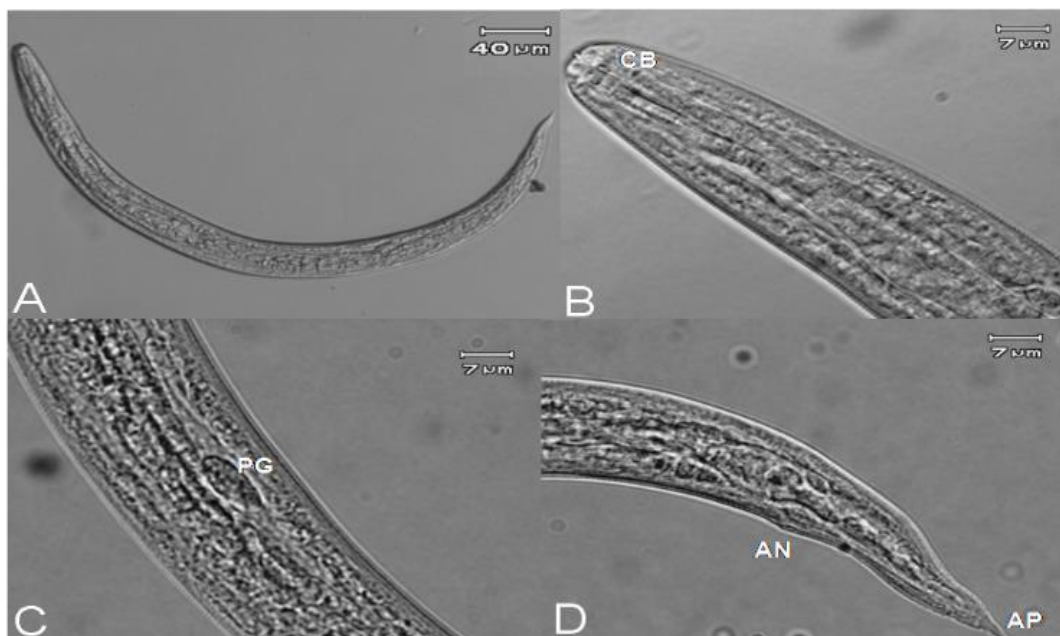


Figura 14 - Larva L₃ de Metastrongyloidea: (A) visão geral, (B) extremidade anterior com primórdio da cápsula bucal (CB), (C) primórdio genital situado no terço médio do corpo da larva L₃ (PG), (D) extremidade posterior com o ânus (AN) e nitída presença de apêndice (AP). Foto: OLIVEIRA *et al.*, 2010.

Espécie: *Aelurostrongylus abstrusus* Railliet, 1898

Classe: Chromadorea

Ordem: Strongylida

Superfamília: Metastrongyloidea

Família: Angiostrongilidae

Genero: *Aelurostrongylus* Cameron, 1927

Larva com esôfago filariforme de tamanho longo, cauda com presença de botão na extremidade.

Habitat: Alvéolo pulmonar de Felídeos

Encontrada em 44% dos municípios estudados.

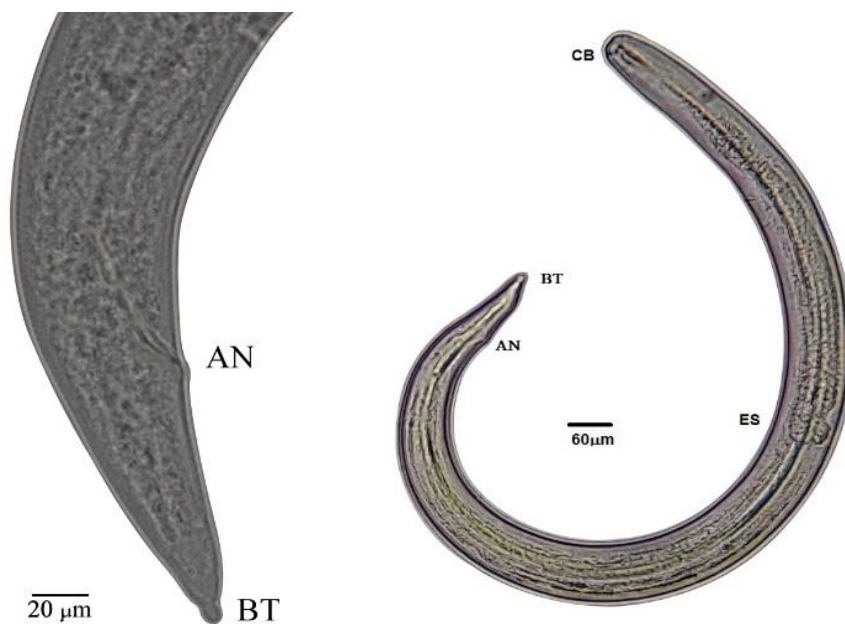


Figura 15 - *Aelurostrongylus abstrusus*; A - Detalhe da porção posterior: botão característico no final da cauda (BT); B - Larva inteira, anus (AN), esôfago (ES), capsula bucal (CB).

Foto: Paulo Rodrigues

5.2. Formas Larvais de Nematódeos Não Identificadas Pela Morfologia:

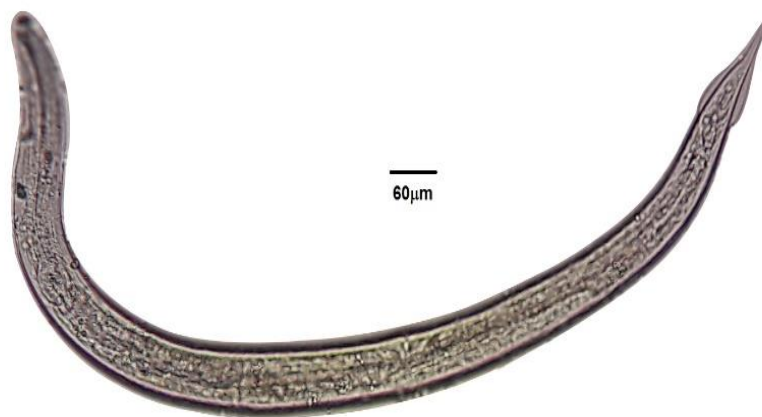


Figura 16 - Larva de nematódeo não identificado coletado de um espécime de *A.fulica*. Apresenta membrana caudal bem definida, esôfago em forma de bulbo. Foto: Paulo Rodrigues



Figura 17 - Larva de nematódeo não identificado pela morfologia obtido de um espécime de *A.fulica*. Foto: Paulo Rodrigues



Figura 18 - Larva de nematódeo encontrado em *A. fulica*, não identificado pela morfologia. (AN) anus; (PG) poro genital; (CB) capsula bucal; (PB) Pseudobulbo; (BL) Bulbo; (IT) Istmo.

Foto: Paulo Rodrigues

A morfometria de larvas de Angiostrongylidae (n=30) e de *Aelurostrongylus* (n=20) revelou resultados compatíveis com *A. cantonensis* e *Aelurostrongylus abstrusus*, respectivamente (Tabela 3).

As larvas provenientes de moluscos naturalmente infectados possuem pequenas variações influenciada pelo ambiente e também por possuírem grande semelhança entre os estádios larvais das diferentes espécies congêneres, o que dificulta a identificação das espécies pela morfologia. Dessa forma, o uso de outras técnicas como, por exemplo, o sequenciamento de DNA é necessário para a identificação.

Tabela 3 – Medidas obtidas de larvas de Metastrongylidae (n=30) e de *Aelurostrongylus* (n=20), encontrados em *A. fulica* valores em (μm).

Caracter Morfométrico	Metastrongylidae	<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>
Tamanho total	454 (488-420)	460 (356-564)
Largura	25 (24-26)	29 (21-38)
Esofago	112 (100-125)	148 (142-155)
Poros Excretor-Boca	85 (78-92)	90 (82-99)
Primórdio-Cauda	117 (110-125)	182 (152-212)
Terminação cauda	pontiaguda	botão

O mapa (Figura 19) mostra os municípios com a presença de nematódeos da superfamília Metastrongyloidea em *A. fulica*, *B. similaris* e *L. erinaceus*.

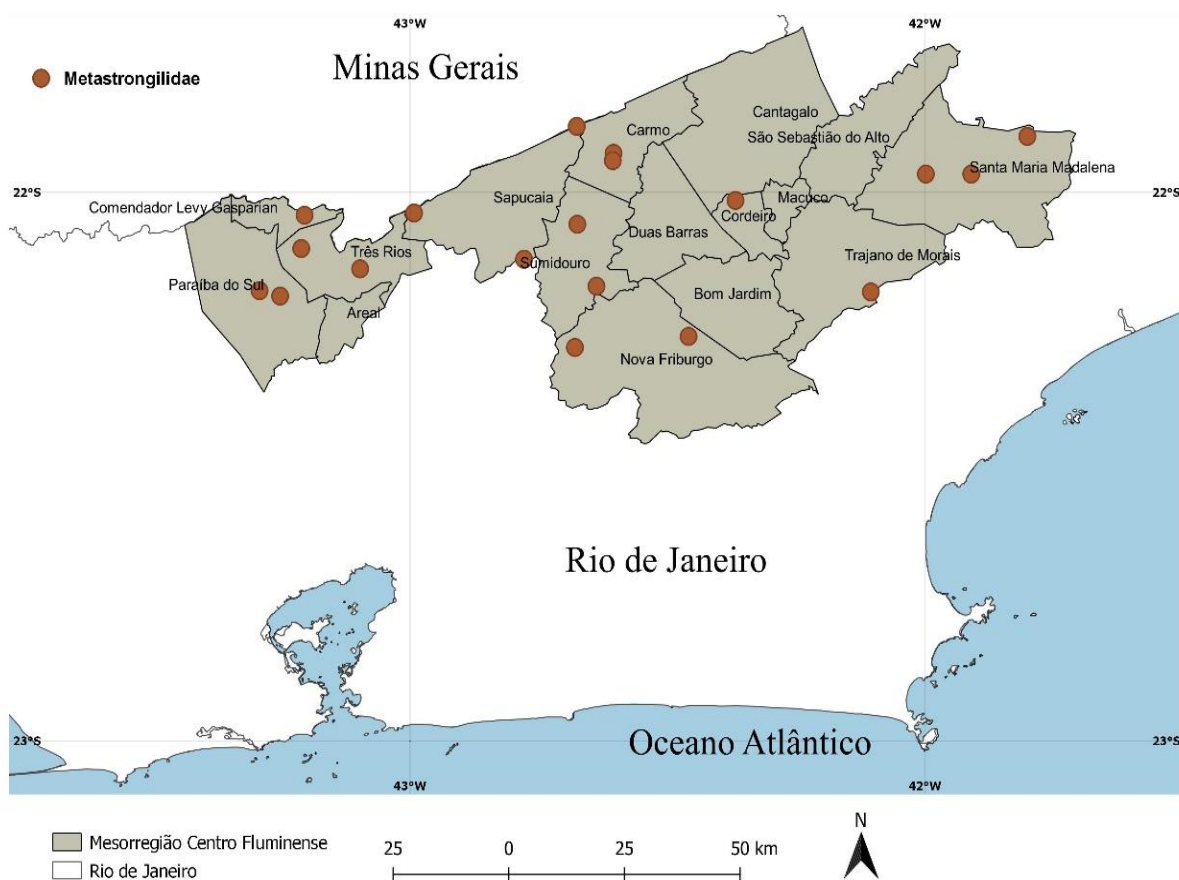


Figura 19 – Distribuição de Metastrongyloidea em *Achatina fulica*, *Bradybaena similaris* e *Latipes erinaceus* na Mesorregião Centro Fluminense, Rio de Janeiro.

Criado por: Paulo Rodrigues

Uma das características de *A. abstrusus* é um botão no final da cauda, enquanto que para *A. cantonensis* a cauda é pontiaguda. Os dados da morfometria associados a estas características das larvas sugerem a identificação destas espécies. A confirmação dessas identificações somente será possível após a realização das análises moleculares.

6. DISCUSSÃO

Segundo Thiengo e colaboradores (2007), em uma revisão da invasão e distribuição de *A. fulica*, ficou demonstrado que o Brasil estava passando por uma fase explosiva da invasão e expansão dessa espécie. A ocorrência da espécie foi registrada em 23 estados naquela época e, passada mais de uma década, não houve diminuição da distribuição, mesmo após de várias ações de controle.

Oliveira *et al.* (2010) reportaram que, em 2005, *A. fulica* estava presente em 14 municípios do estado de Goiás, em 2009 esse número subiu para 83, mostrando a rápida dispersão do molusco.

Em 2017 Guerrino e colaboradores relataram a ocorrência de *A. cantonensis* em vários municípios da Baixada Santista obtidos em *A. fulica*. Os autores inclusive mostram variações na morfologia do parasito.

Considerando o estado do Rio de Janeiro, de acordo com Zanol *et al.*, (2010), *A. fulica* ocorre em 83 municípios. No presente trabalho foi registrada a ocorrência de *A. fulica* em 12 dos 16 municípios da Mesorregião Centro Fluminense, todos parasitados por larvas de nematódeos e, destes municípios, nove tiveram a ocorrência de Metastrongilídeos. O presente estudo traz o primeiro registro dessa espécie de molusco no município de Macuco.

Thiengo *et al.* (2008) registraram a presença de *A. abstrusus* no estado do Rio de Janeiro nos municípios de Campos dos Goytacazes, Duque de Caxias, Mangaratiba, Maricá, Niterói, Rio de Janeiro e São Gonçalo, sendo neste último, o primeiro registro em *A. fulica*. O presente trabalho registra a ocorrência do nematódeo em mais sete municípios: Carmo, Comendador Levy Gasparian, Paraíba do Sul, Santa Maria Madalena, Sapucaia, Trajano de Moraes e Três Rios.

Segundo Traversa & Di Cesare (2014), as mudanças climática tem o potencial de favorecer o desenvolvimento de *A. abstrusus*, aumentando a ocorrência em felinos na Europa podendo também causar modificações no comportamento e no ciclo biológico de moluscos transmissores.

Bechara *et al.*, (2018) encontraram larvas de Metastrongyloidea, em um estudo realizado na Zona Oeste do município do Rio de Janeiro associadas à *A. fulica*. No presente trabalho, a maior parte dos metastrongilídeos foi obtida neste mesmo molusco.

A maioria das espécies de moluscos encontradas associadas a *A. fulica* é exótica, bem conhecidas e já foram registradas causando prejuízos para a agricultura ou como hospedeiros intermediários de nematódeos de importância médica (RODRIGUES *et al.*, 2016; RAMOS-DE-SOUZA *et al.*, 2018).

Kim *et al.*, (2014) fizeram um estudo extensivo sobre os moluscos que atuam como transmissores da meningite eosinofílica no Hawaii, demonstrando a importância dos moluscos, principalmente das espécies exóticas, na transmissão de parasitoses. No presente estudo foi observado que, assim como em outros países, as espécies exóticas encontradas são as que oferecem mais risco de transmitir parasitoses de interesse médico ou veterinário, como é o caso de *A. fulica* e *B. similaris*, duas espécies amplamente distribuídas no Brasil e encontradas em grande abundância em ambientes sinantrópicos.

Strongyluris sp. teve o primeiro registro em Caiçara, Crissiumal, Santa Rosa (RS) e Uberlândia (MG), em diferentes espécies de moluscos (THIENGO,1995). No estado do Rio de Janeiro, BERTO & BOGÉA (2007) relataram *Strongyluris* sp. no município do Rio de Janeiro, e Franco-Acuña *et al.* (2008) reportaram no município de Mesquita, ambos no molusco *A. fulica*. No presente trabalho registramos *Strongyluris* spp. em 6 municípios dessa Mesorregião: Cantagalo, Nova Friburgo, Santa Maria Madalena, Sapucaia, Trajano de Moraes e Três Rios.

Otite parasitária por nematódeos do gênero *Rhabditis* já foi registrada em rebanhos bovinos no Brasil (MARTINS *et al.*, 1971; BARBOSA *et al.*, 2016). Entretanto não há registro no Rio de Janeiro. No presente trabalho foram encontradas larvas de *Rhabditis* em *A. fulica*, o que pode servir de alerta para a ocorrência de casos de parasitoses por este nematódeo.

A maior parte das espécies encontradas, nematódeos e moluscos, está sendo pela primeira vez registrada nos municípios investigados. Esses resultados serão divulgados em outro trabalho já em andamento.

7. CONCLUSÕES

A ocorrência de *A. fulica* foi registrada em mais da metade dos municípios investigados (12/16) do presente estudo. Embora seja uma espécie exótica invasora, destacamos que se encontra bem adaptada, participando do ciclo biológico de pelo menos sete diferentes formas larvais nos municípios investigados.

Foram registrados 7 moluscos em simpatria com *A. fulica*: *Deroceras laeve*, *Streptartemon cookeanus*, *Subulina octona*, *Bradybaena similaris*, *Bulimulus tenuissimus*, *Leptinaria unilamellata* e *Sarasinula linguaeformis*.

Além de *A. fulica*, *Bradybaena similaris* e *Latipes erinaceus* também foram encontradas parasitadas por larvas de *Angiostrongylus* spp.

Enfatizamos a ocorrência de *A. abstrusus* em 44% dos municípios estudados da Mesorregião Centro Fluminense, sendo que observamos forte associação entre *A. fulica* e este parasito.

Os resultados permitiram elaborar um mapa com a distribuição de *A. fulica*, *Bradybaena similaris* e *Latipes erinaceus* infectados por nematódeos de interesse médico-veterinário na Mesorregião Centro Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

Concluindo, diante dos dados obtidos, enfatizamos a necessidade de continuidade destes estudos, visando a contribuir para a promoção da saúde humana, assim como para o conhecimento de nossa biodiversidade e da vigilância epidemiológica de moluscos de importância para a Saúde Pública e Medicina Veterinária que estão fortemente associados à dispersão de tais helmintíases no Brasil.

8. REFERÊNCIAS

ACHA, Pedro N.; SZYFRES, Boris. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre ya los animales. **Publicación científica**, v. 354, 1986.

ALHO, CLEBER JR. Oxyurata de lagartos do Planalto Central: sobre o gênero *Strongyluris* Mueller, 1894 com descrição de duas espécies novas. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 29, p. 65-74, 1969.

ASH, Lawrence R. *et al.* Diagnostic morphology of the third-stage larvae of *Angiostrongylus cantonensis*, *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus*, and *Anafilaroides rostratus* (Nematoda: Metastrongyloidea). **J Parasitol**, v. 56, n. 2, p. 249-53, 1970.

BARBOSA, José Diomedes *et al.* Detecção e tratamento de otite por *Rhabditis blumi* em bovinos da região Norte do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 605-610, 2016.

BARCANTE, Thales Augusto *et al.* *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitology research*, v. 91, n. 6, p. 471-475, 2003.

BECHARA, André H. *et al.* *Achatina fulica* infected by *Angiostrongylus cantonensis* on beaches, in the west zone of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, 2018.

BERTO, Bruno Berto; BOGÉA, Tami Bogéa. Ocurrence of nematode larvae in *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Gastropoda: Achatinidae) snails in Vargem Pequena, Rio de Janeiro, Brazil. **Revista de patología tropical**, v. 36, n. 2, p. 171-178, 2007.

CALDEIRA, Roberta Lima *et al.* First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935)(Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 887-889, 2007.

CAMPOS DMB, ARAUJO JLB, VIEIRA MMC, DAMASCENO F, BARBOSA AP. Um caso de parasitismo por *Rhabditis* sp. em criança natural de Goiânia, Goiás, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 35(5): 519-522 2002.

CARVALHO, Omar dos Santos *et al.* *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca: Gastropoda) como hospedeiro intermediário potencial do *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes 1971. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 743-745, 2003.

CARVALHO, Omar dos Santos *et al.* *Angiostrongylus cantonensis* (Nematode: Metastrongyloidea) in molluscs from harbour areas in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 6, p. 740-746, 2012.

COLELLA, Vito *et al.* Feline lungworms unlock a novel mode of parasite transmission. **Scientific reports**, v. 5, p. 13105, 2015.

COURA, José Rodrigues. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. In: *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Guanabara Koogan, p. 131-140, 2013.

CUNHA, Mayara Caldas Ramos. Meningite eosinofílica: relato de caso. **RBAC**, v. 49, n. 2, p. 213-15, 2017.

ESPÍRITO-SANTO, Maria Cristina Carvalho do *et al.* The first case of *Angiostrongylus cantonensis* eosinophilic meningitis diagnosed in the city of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 129-132, 2013.

FLOMER, O. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Mol Mar Biol Biotech**, v. 3, p. 294-299, 1994.

FRANCO-ACUÑA, D. O. *et al.* Nematode cysts and larvae found in *Achatina fulica* Bowdich, 1822. **Journal of invertebrate pathology**, v. 100, n. 2, p. 106-110, 2009.

GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos; MORERA, P. Método de digestão de moluscos em ácido clorídrico para isolamento de larvas de metastrongilídeos. **Biociências**, v. 3, n. 1, p. 85-89, 1995.

GUERINO, Laura Rocha *et al.* Prevalence and distribution of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda, Angiostrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca, Gastropoda) in Baixada Santista, São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 1, p. 92-98, 2017.

KLIKS, Michael M.; PALUMBO, Nicholas E. Eosinophilic meningitis beyond the Pacific Basin: the global dispersal of a peridomestic zoonosis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the nematode lungworm of rats. **Social science & medicine**, v. 34, n. 2, p. 199-212, 1992.

LIMA, Ana Rosa Melo Correa *et al.* Alicata disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 67, n. 4, p. 1093-1096, 2009.

LINDO, John F. *et al.* Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after an outbreak of human eosinophilic meningitis, Jamaica. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 324, 2002.

LOWE, Sarah *et al.* **100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database**. Auckland, New Zealand: Invasive Species Specialist Group, 2000.

MALDONADO JÚNIOR, Arnaldo *et al.* First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 7, p. 938-941, 2010.

MARTINS JRW, NUNES LA, RIBEIRAL LA, ROSA CEE & NUNES VA. Nota sobre a ocorrência de Rhabditidae (Nematodea, Rhabditida) relacionadas com otite em bovinos na região geoeconômica de Brasília- DF. **Ciência e Cultura**, (23), 248-249, 1971.

MORASSUTTI, Alessandra Loureiro *et al.* Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*: an emergent disease in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 109 (4): 399-407, 2014.

NABAIS, Joana *et al.* Aelurostrongilose felina: uma parasitose de cortar a respiração. **Veterinary Medicine**, p. 51-56, 2013.

OLIVEIRA, Ana Paula Martins *et al.* *Achatina fulica* como hospedeiro intermediário de nematódeos de interesse médico-veterinário em Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, 39 (. 3): 199-210, 2010.

OLIVEIRA, Ana PM *et al.* *Angiostrongylus cantonensis* infection in molluscs in the municipality of São Gonçalo, a metropolitan area of Rio de Janeiro, Brazil: role of the invasive species *Achatina fulica* in parasite transmission dynamics. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 6, p. 739-744, 2015.

PROCIV, Paul; SPRATT, David M.; CARLISLE, Melissa S. Neuro-angiostrongyliasis: unresolved issues. **International journal for parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1295-1303, 2000.

RACCURT, Christian P.; BLAISE, Jacques; DURETTE-DESSET, Marie-Claude. Présence d'*Angiostrongylus cantonensis* en Haïti. **Tropical Medicine & International Health**, v. 8, n. 5, p. 423-426, 2003.

RAMOS-DE-SOUZA, Jucicleide *et al.* First records of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongyloidea) in Sergipe State, Northeastern Brazil, including new global records of natural intermediate hosts. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, 2018.

RODRIGUES P.S., FERNANDEZ, M.A., THIENGO, S. C., SALGADO N. C., GOMES, S.R. Terrestrial molluscs associated to the invasive African snail *Achatina fulica* Bowdich, 1822 in urban areas of Rio de Janeiro State. *Tentacle*, The Newsletter of the IUCN/SSC **Mollusc Specialist Group, Hawaii**, ISSN 0958-5079, Ed.24, march, 2016.

SALGADO, Norma Campos; DOS SANTOS COELHO, Arnaldo C. Moluscos terrestres do Brasil (Gastrópodes operculados ou não, exclusive Veronicellidae, Milacidae e Limacidae). **Revista de Biología Tropical**, v. 51, n. 3, p. 149-189, 2003.

SIMÕES, Raquel O. *et al.* Endemic angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 7, p. 1331, 2011.

SOUZA, Wagner Amaral *et al.* Otite parasitária causada por nematóides rhabditiformes. **Rev. Cientif. Elect. Med. Vet**, v. 6, n. 11, 2008.

TEIXEIRA, Carlos Graeff *et al.* On the diversity of mollusc intermediate hosts of *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971 in southern Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, p. 487-489, 1993.

THIENGO, Silvana C. RESEARCH NOTE Presence of *Strongyluris*-like Larvae (Nematoda) in some Terrestrial Molluscs in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 90, n. 5, p. 619-620, 1995.

THIENGO, Silvana C. *et al.* Rapid spread of an invasive snail in South America: the giant African snail, *Achatina fulica*, in Brasil. **Biological Invasions**, v. 9, n. 6, p. 693-702, 2007.

THIENGO, Silvana C. *et al.* First record of a nematode Metastrongyloidea (*Aelurostrongylus abstrusus* larvae) in *Achatina* (Lissachatina) *fulica* (Mollusca, Achatinidae) in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 1, p. 34-39, 2008.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A. *Achatina fulica*: um problema de saúde pública. **O caramujo gigante africano *Achatina fulica* no Brasil**. Curitiba: Champagnat, 2010.

THIENGO, S. C. *et al.* The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. **Acta tropica**, v. 115, n. 3, p. 194-199, 2010.

THIENGO, S. C. *et al.* *Angiostrongylus cantonensis* and rat lungworm disease in Brazil. **Hawai'i Journal of Medicine & Public Health**, v. 72, n. 6 Suppl 2, p. 18, 2013.

TRAVERSA, Donato; DI CESARE, Angela. Cardio-pulmonary parasitic nematodes affecting cats in Europe: unraveling the past, depicting the present, and predicting the future. *Frontiers in veterinary science*, v. 1, p. 11, 2014.

VALENTE, Romina *et al.* *Angiostrongylus* spp. in the Americas: geographical and chronological distribution of definitive hosts versus disease reports. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 3, p. 143-152, 2018.

WALLACE, Gordon D.; ROSEN, Leon. **Techniques for recovering and identifying larvae of *Angiostrongylus cantonensis* from molluscs**. *Malacologia* v. 7, p. 427-438, 1969.

WANG, Qiao-Ping *et al.* Human angiostrongyliasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 8, n. 10, p. 621-630, 2008.

ZUCCARO, Ana Maria; ZANI, Roberto; AYMORÉ, Ierecê Lins. Angiostrongilíase abdominal: relato de possível caso autóctone do Rio de Janeiro. **Arq. gastroenterol**, v. 35, p. 54-61, 1998.