



Vol IV — N.º 3 — pp 51-60

14—7—1955

M. S



D. N. S.

SERVIÇO NACIONAL DE MALÁRIA
Diretor: Dr. MANOEL FERREIRA

PUBLICAÇÕES AVULSAS DO

INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES

Recife (Pe.)

BRASIL

COMPORTAMENTO DAS FORMAS LARVÁRIAS DE SCHISTOSOMA MANSONI EM AUSTRALORBIS GLABRATUS (MOLLUSCA PLANORBIDAE), SUJEITOS À ESTIVAÇÃO. (*)

Frederico Simões Barbosa

Marcello Vasconcellos Coelho

INTRODUÇÃO

Em áreas, como o nordeste do Brasil, em que, no verão, muitas coleções d'agua desaparecem, os moluscos aquáticos têm necessidade, para sua própria subsistência, de permanecer vários meses fora da água. Nestas circunstâncias, ficam retraídos dentro da casca, secretando, muitas vezes, uma substância mucosa em sua abertura que os protege contra a excessiva perda d'agua. A esta condição fisiológica dos moluscos aquáticos costuma-se chamar dessecação ou estivação.

Vários autores têm observado que caramujos infestados com Trematoda do genero *Schistosoma*, quando em dessecação, morrem mais rapidamente do que caramujos sãos (Cort, 1920; Barlow, 1935; Brumpt, 1941; McMullen, 1951; Barbosa & Coelho, 1953; Olivier, Barbosa & Coelho, 1954). Barlow (1935) e Brumpt (1941) verificaram, em planorbídeos sujeitos à estivação, a ação nociva que esta condição exerce sobre os esporocistos e as cercárias de esquistosomas humanos. Barbosa & Coelho (1953) observaram que *A. glabratus*, eliminando cercárias de *Schistosoma mansoni*, quando sujeitos à

(*) Trabalho apresentado à VII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Recife, entre 4 e 9 de Julho de 1955.

dessecação, por mais de 22 dias, morrem ou sobrevivem livres da infestação. Os esporocistos secundários e as cercárias de *Schistosoma mansoni*, em caramujos dessecados, segundo os mesmos autores, degeneram e morrem produzindo, muitas vezes, destruição intensa na glândula digestiva dos moluscos. A cura de *A. glabratus*, contudo, foi apenas observada, pelos citados autores, em um pequeno número de exemplares. Olivier, Barbosa & Coelho (1954) verificaram que *A. glabratus* infestados, quando conseguem sobreviver aos 30 primeiros dias de estivação, podem permanecer vivos durante vários meses. Acreditam que esta grande sobrevida só seria possível em virtude da cura dos caramujos, nos primeiros dias de dessecação conforme já haviam observado os citados autores (Barbosa & Coelho, 1953).

No presente trabalho procurou-se verificar a frequência em que êste fenômeno de cura ocorre, assim como o comportamento das formas larvárias iniciais de *S. mansoni*, em *A. glabratus* sujeitos à dessecação.

COMPORTAMENTO DOS ESPOROCISTOS PRIMÁRIOS

Foram realizadas duas experiências a fim de observar o comportamento dos esporocistos primários em caramujos sujeitos a estivação.

Experiência 1 -- Nesta experiência usaram-se 1650 *A. glabratus*, sendo 1250 procedentes do município de Recife e 400 do município de Paulista. Os caramujos, com cerca de dois cms. de diâmetro, foram infestados em grupos de 100, com 10 miracídeos provenientes de portador humano e 5 cc de água por caramujo. Após a infestação, foram colocados em aquários, medindo 80 x 40 x 40 cms., plantados com *Elodea* e algas do gênero *Spyrogira*, sendo colocados 200 caramujos em cada aquário. Usou-se, durante todo o tempo, como alimento o preparado artificial de Standen (1951). Nestes aquários permaneceram por tempo variável sendo retirados grupos de 40, 200, 50, 200, 200, 200, 250 e 100 caramujos, com 3, 5, 8, 10, 15, 20, 25 e 30 dias respectivamente. Os 410 caramujos restantes permaneceram nos aquários, durante 30 dias, quando foram examinados por esmagamento e dissecação à lupa, servindo êste grupo de controle. Após retirados da água os caramujos, em todos os grupos, foram colocados para dessecar, durante 25 dias, de acordo com a técnica usada por Barbosa (1953). Passados os 25 dias fora da água, os caramujos sobreviventes foram re-colocados nos mesmos aquários, sendo examinados, então, em conjunto, após exposição à luz solar, todos os dias. Ao aparecerem as primeiras cercárias de *Schistosoma mansoni*, foram sacrificados e examinados por dissecação à lupa.

Os resultados desta experiência são apresentados na Tabela 1. Observa-se que, em todos os grupos, a exceção do último, foi possível obter caramujos infestados, mesmo após 25 dias de dessecação. O tempo decorrido desde a reposição dos caramujos nos aquários, até o aparecimento das primeiras cercárias, foi inversamente proporcional ao tempo de permanência no aquário após a infestação, antes de serem colocados para dessecar. Estes dois períodos de tempo, quando somados, dão em média 31 dias. Em nenhum dos caramujos de

TABELA I
 COMPORTAMENTO DOS ESPOROCISTOS PRIMÁRIOS DE S. MANSONI, EM A. GLABRATUS SUJEITOS
 À DESSECAÇÃO, DURANTE 25 DIAS EXPERIÊNCIA I

GRUPO N°	CARAMUJOS		N° ACUA DIAS APOS A INFES- TACAO	EM DESSECAÇÃO [25 DIAS]		APÓS DIA DA ELIMI- NAÇÃO	REPOSIÇÃO N'AGUA		CONTROLE (30 DIAS N'ACUA)			
	PROCEDÊNCIA	TOTAL		N°MORTOS	%		N°	%	N°	%	N°	%
1	PAULISTA	40	3	3	7.5	28	34	27	79.4	64	41	64.1
2	RECIFE	200	5	61	30.5	27	37	13	35.7	100	70	70.0
3	PAULISTA	50	8	6	12.0	20	39	27	69.2	37	25	67.6
4	RECIFE	200	10	33	16.5	22	38	17	44.7	268	128	47.8
		200	15	31	15.5	15	77	3	3.9			
		200	20	32	16.0	11	56	6	10.7			
		250	25	39	15.6	6	93	5	5.4			
5	PAULISTA	100	30	70	70.0	--	27	0	0.0	37	25	67.6

último grupo, que permaneceram 30 dias nua antes da estivação, foi observada eliminação de cercárias após a reposição nos aquários. Examinados durante 30 dias e em seguida sacrificados e examinados à lupa, não apresentaram restos de esporocistos ou cercárias que indicassem infestação anterior, recentemente extinta.

Experiência 2 — Nesta experiência procurou-se determinar o tempo de sobrevivência dos esporocistos primários, em caramujos submetidos à estivação por períodos mais prolongados. Assim, foram infestados 650 *A. glabratus*, procedentes dos municípios de Paulista e Recife, usando-se a mesma técnica da experiência anterior. Dêstes, 270 foram colocados em aquários plantados, em laboratório, onde permaneceram durante 30 dias sendo, em seguida, examinados para infestação por *Schistosoma mansoni*, por dissecação à lupa. Este grupo serviu de testemunho para infestação. Os restantes 380, depois de permanecerem durante 3 dias, após a infestação, em aquários, no laboratório, foram retirados da água e colocados para dessecar, de acordo com a técnica já referida. Permaneceram em dessecação por tempo variável, sendo retirados grupos de 40, 80, 80, 40, 40 e 100 caramujos com 25, 30, 50, 70, 90 e 120 dias respectivamente. Em seguida eram recolocados nos aquários e examinados, após exposição à luz, duas vezes por semana, até o aparecimento de cercárias, quando eram esmagados e examinados por dissecação à lupa.

Os resultados desta experiência são apresentados na Tabela 2. Observa-se que os esporocistos primários podem permanecer íntegros, produzindo posteriormente cercárias, durante pelo menos 90 dias. A grande mortalidade havida no grupo de 120 dias, em virtude de um acidente com a água do aquário, prejudicou os resultados, neste grupo.

COMPORTAMENTO DOS ESPOROCISTOS SECUNDÁRIOS E DAS CERCÁRIAS

Experiência 3 — Nesta experiência foram observados 4 grupos de *A. glabratus*, procedentes do município de Paulista e eliminando cercárias de *Schistosoma mansoni*. Estes, com 14, 197, 97 e 94 caramujos foram colocados para dessecar, durante 21, 30, 45 e 60 dias, respectivamente. Após este tempo, foram os caramujos retirados e examinados por dissecação à lupa. Foi examinado assim um total de 122 *A. glabratus*, sobreviventes à dessecação, não tendo sido observados em nenhum deles esporocistos ou cercárias de *S. mansoni* (Tabela 3). Em alguns moluscos dessecados apenas durante 21 dias, foi possível observar-se a existência de restos de esporocistos, não se encontrando, contudo, cercárias íntegras ou outras formas do parasito reconhecíveis. Nos caramujos dos outros grupos não foi possível evidenciar qualquer modificação que demonstrasse existência da infestação extinta. Observou-se ainda, que aproximadamente dois terços dos caramujos infestados sucumbiu, durante os dias de dessecação.

TABELA II
RESISTÊNCIA DOS ESPOROCISTOS PRIMÁRIOS DE S MANSONI, EM A CLABRATUS SUJEITOS A ESTIVACÃO
EXP. 2

CRUPOS	CARAMUJOS		N'ÁGUA (DIAS APÓS A INFES- TAÇÃO)	FORA D'ÁGUA		APÓS REPOSIÇÃO DIA DA 1ª ELIMI- NAÇÃO	N'ÁGUA			CONTROLE (30 DIAS N'ÁGUA)		
	PROCEDÊNCIA	TOTAL		N° DIAS	% MORTOS		N°	CARAMUJOS SACRIFICADOS		TOTAL	POSITIVOS	
								N°	%		N°	%
1	PAULISTA	40	25	7.5	28	34	27	794	64	41	64.1	
		80	30	27.5	27	48	36	75.0	50	35	70.0	
		80	50	78.8	28	14	12	85.7				
3	PAULISTA	40	70	42.5	26	6	4	66.7	13	11	84.6	
		40	90	42.5	24	16	9	56.3				
4	PAULISTA	100	120	70.0	—	12	0	0.0	85	34	40.0	

TABELA III
 A° GLABRATUS INFESTADOS POR S MANSONI, ELIMINANDO
 CERCARIAS, CONSERVADOS FORA D'AGUA EXP. 3

GRUPO N°	DIAS DE DESSECAÇÃO	TOTAL DE CARAMUJOS	SOBREVIVENTES [TODOS CURADOS]	
			N°	%
1	21	14	6	42.9
2	30	197	61	31.0
3	45	97	28	28.9
4	60	94	27	28.7
TOTAL	—	402	127	30.3

Experiência 4 — Nesta última experiência procurou-se determinar a época, durante o primeiro mês de dessecação, em que se dá a maior mortalidade, nos caramujos infestados. Para isto usou-se um total de 60 *A. glabratus* infestados, que foram colocados para dessecar, de acôrdo com a mesma técnica. Foi usado também um grupo controle de igual número de caramujos sãos, da mesma procedência e tamanho e colocados em idênticas condições.

Diariamente, eram verificadas as mortes nos dois grupos, tomando-se como critério de morte a parada dos movimentos cardíacos e o odor fétido que apresentam os caramujos mortos.

Os resultados desta experiência são apresentados na Tabela 4. Observa-se que a maior mortalidade se dá, nos caramujos infestados, entre o 9.º e 23.º dias, havendo, após este tempo, menor número de mortes. No grupo controle a mortalidade até 30 dias é insignificante.

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

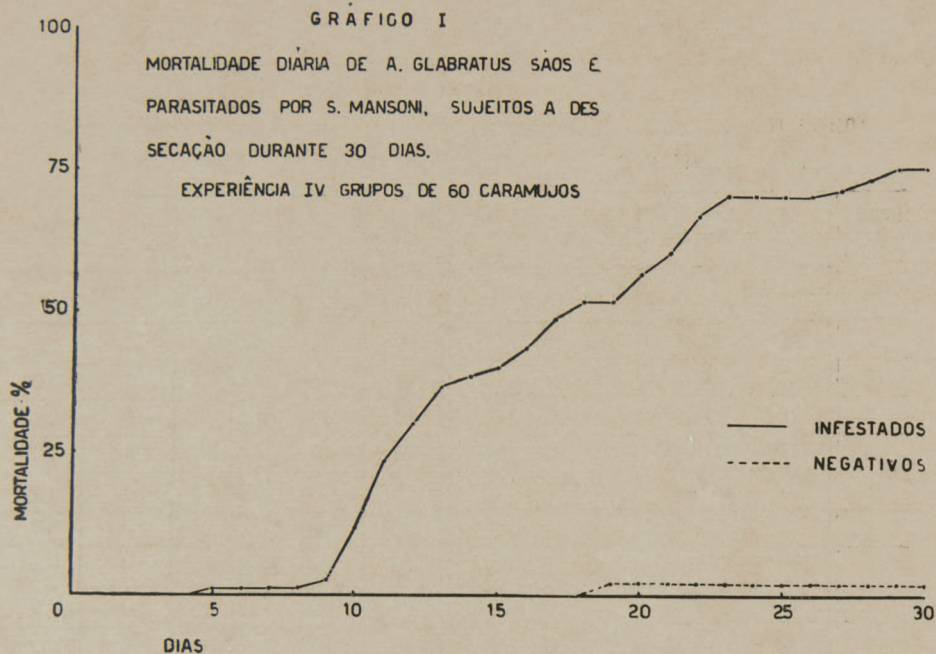
Quando *A. glabratus*, infestados por *S. mansoni*, são submetidos a estivação, durante cerca de 25 dias, dois fenômenos podem ocorrer:

1) Se as formas larvárias já atingiram a fase de esporocistos secundários, havendo eliminação de cercárias, há degeneração e morte dos esporocistos, o que acarreta em cerca de 2/3 dos casos a morte dos caramujos. Os sobreviventes (cerca de 1/3) apresentam-se livres da infestação. Assim na Experiência 3,

TABELA IV
MORTALIDADE DIARIA DE A GLABRATUS INFESTADOS POR S MAN-
SONI SUBMETIDOS A DESSECAÇÃO POR 30 DIAS EXP 4

DIAS de DESSE- CAÇÃO	INFESTADOS		NÃO INFESTADOS		DIAS de DESSE- CAÇÃO	INFESTADOS		NÃO INFESTADOS	
	NºMORTOS	%	NºMORTOS	%		NºMORTOS	%	NºMORTOS	%
1	0	0.0	0	0.0	16	26	43.4	0	0.0
2	0	0.0	0	0.0	17	29	48.4	0	0.0
3	0	0.0	0	0.0	18	31	51.7	0	0.0
4	0	0.0	0	0.0	19	31	51.7	1	1.7
5	1	1.7	0	0.0	20	34	56.7	1	1.7
6	1	1.7	0	0.0	21	36	60.0	1	1.7
7	1	1.7	0	0.0	22	40	66.6	1	1.7
8	1	1.7	0	0.0	23	42	70.0	1	1.7
9	2	3.3	0	0.0	24	42	70.0	1	1.7
10	7	11.6	0	0.0	25	42	70.0	1	1.7
11	14	23.3	0	0.0	26	42	70.0	1	1.7
12	18	30.0	0	0.0	27	43	71.7	1	1.7
13	22	36.7	0	0.0	28	44	73.3	1	1.7
14	23	38.4	0	0.0	29	45	75.0	1	1.7
15	24	40.0	0	0.0	30	45	75.0	1	1.7

de um total de 402 caramujos infestados, eliminando cercárias, submetidos a estivação durante 21-60 dias, apenas 122 permaneceram vivos e se apresentavam em sua totalidade curados (Tabela 3). A maior mortalidade entre os caramujos infestados se observa entre o 9.º e 23.º dias após o início da dessecação (Experiência 4, Tabela 4 e Gráfico). Barbosa e Coelho (1953) observaram que, durante este tempo, os esporocistos degeneram e morrem, provocando a construção de vastas áreas de tecido glandular, no hepato-pâncreas, em alguns caramujos observados. É provável que só permaneçam vivos aqueles moluscos em que estas lesões são menos intensas, como consequência, talvez, da presença de menor número de formas parasitárias. Caramujos não infestados, quando submetidos ao mesmo tempo de dessecação, tem mortalidade desprezível (1.7% aos 30 dias, Tabela 4). Olivier, Barbosa & Coelho, (1954) observaram que caramujos infestados que permanecem vivos, após os 30 primeiros dias de estivação, passam a se comportar como caramujos não infestados, no que se refere à mortalidade. Estes fatos parecem sugerir a possibi-



lidade de um aproveitamento, pelo molusco, dos restos parasitários do Trematoda.

2) Nos casos em que as formas infestantes, no molusco, são esporocistos primários, consequentes, portanto, à infestação recente, produz-se apenas, durante a estivação, uma parada no desenvolvimento destes esporocistos. Com a volta dos caramujos ao habitat aquático, continua o desenvolvimento dos Trematoda até o aparecimento de cercárias. O tempo necessário a este desenvolvimento depende do espaço de tempo compreendido entre a infestação dos caramujos e o início da estivação, sendo inversamente proporcional a este. Desta forma, o tempo de permanência na água, antes e após a dessecação, desde a infestação até ao aparecimento de cercárias, é o mesmo que se observa em caramujos não sujeitos a estivação, ou seja cerca de 31 dias (Tabela 1). A parada do desenvolvimento dos esporocistos primários, como consequência da estivação dos moluscos, dá-se tanto nos primeiros dias após a infestação, quanto em caramujos já infestados há vários dias, já, portanto, com esporocistos secundários formados, dentro dos esporocistos primários (Tabela 1). Nos tecidos superficiais do caramujo, os esporocistos podem permanecer sem se desenvolver, durante vários dias. Na experiência 2 foram observados esporocistos continuaram seu desenvolvimento após 90 dias de estivação dos caramujos (Tabela 2). Após a volta dos caramujos a água, com

tinuaram seu desenvolvimento, normalmente, até a eliminação de cercárias. Este fato é de grande importância na epidemiologia da esquistossomose, pois desta forma podem os caramujos, nas áreas sujeitas à seca anual, levar a infestação de uma estação chuvosa, até a estação seguinte. Assim se explica o aparecimento de caramujos infestados, em criadouros destas áreas, poucos dias após as chuvas, antes que haja tempo para que nova infestação se processe. Outra consequência desta observação é a possibilidade do prolongamento do ciclo larvário do *S. mansoni*. Stirewalt (1954) observou que em *A. glabratus* mantidos em temperatura baixa, entre 22 e 24.º C, havia menor possibilidade de infestação por *S. mansoni* para os moluscos, assim como, nos caramujos que se infestavam, foi maior o tempo compreendido entre a penetração do miracídio e a primeira eliminação de cercárias; este tempo, de 23 dias entre 26 e 28.º C era prolongado para 49 dias. Quando os caramujos são sujeitos à estivação, observa-se que este tempo pode se prolongar até 107 dias pelo menos (Tabela 2), nada levando a acreditar que este tempo não possa ser mais prolongado. Estes achados vem demonstrar, ainda, a grande importância que têm certas condições fisiológicas do molusco hospedeiro, no desenvolvimento das formas larvárias do Trematoda.

— SUMMARY —

The behavior of the larval stages of *Schistosoma mansoni* in the snail *Australorbis glabratus* kept out of water was studied.

1. Evidence is presented to demonstrate that the death of fully developed infections of *S. mansoni* in *A. glabratus* kept out of water for more than 21 days is a general phenomenon: out of 402 infected snails submitted to desiccation from 21 to 60 days, 122 survived free of infection. (Exp 3, Table 3).

2. It is known that when the snails are kept out of water deaths among snails with fully developed infections with *S. mansoni* are more frequent than among uninfected snails. Experiment 2 (Table 4, Fig. 1) shows that the larger number of deaths occurs between the ninth and twenty-third days after the snails are removed from the water.

3. On the other hand if snails are removed from the water during the first 25 days after exposure to infection and, therefore, before the infections are fully developed, both the snails and their schistosome infections may survive out of water for 90 days or more. It is apparent that during the period out of water the *S. mansoni* stops developing. When the snail is returned to the water development of the schistosome infection is resumed and fully developed infections may result. If one adds the time interval from the penetration of the miracidia until the snails are removed from the water to the time interval between replacement in the water and the escape of the first cercariae one gets an average time of about 31 days. (Exp 1 and 2; Tables 1 and 2). This corresponds to the average length of time usu-

ally required for development of *S. mansoni* in *A. glabratus* when the snail is kept in water continuously. These experiments suggest the possibility that, under field conditions, infected snails may be able to survive the dry season with their infections intact provided that the infections are not mature when the water disappears.

4. Comments are made about the epidemiological significance of these findings.

BIBLIOGRAFIA

- BARBOSA, F. S. — 1953 — A propósito da remessa de planorbídeos dessecados, especialmente *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 2 (7): 99-102.
- BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. — 1953 — Ação da dessecação sobre as fases larvárias intra-caramujo de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*. 2 (11): 159-162.
- BARLOW, C. H. — 1935 — Further studies of the revival, after drying, of the snails hosts of the human schistosomes of Egypt. *Am. J. Hyg.*, 22. 376-391.
- BRUMPT, E. — 1941 — Observations biologiques diverses concernant *Planorbis (Australorbis) glabratus* hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni* *Ann. de Parasitol.*, XVIII.: 9-45.
- CORT, W. W. — 1920 — On the resistance to dessication of the intermediate host of *Schistosoma japonicum* Katsurada. *J. Parasitol.*, 6. 84-88.
- McMULLER, D. B. et. al. — 1951 — Seasonal studies of *Schistosoma japonicum* in the intermediate host. *Oncomelania nosophora*. *Am. J. Hyg.* 54: 416-430.
- OLIVIER, L., BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. — 1954 — The influence of infection with *Schistosoma mansoni* on survival of *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães* 3(5): 63-71.
- STANDEN, O. D. — 1951 — Some observations upon the maintenance of *Australorbis glabratus* in the laboratory. *Ann Trop. Med. & Parasitol.* 45 (1): 80-83.
- STIREWALT, M. A. — 1954 — Effect of snail maintenance temperatures on development of *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasitol.* 3 (6): 504-516.