

**UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO**  
**ESCOLA DE CIÊNCIAS DE SAÚDE E MEIO AMBIENTE**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**COCCÍDIOS DE GASTRÓPODES TERRESTRES E DULCÍCOLAS:  
UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**MARIANA BORGES RODRIGUES**

**2014**

**UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO  
ESCOLA DE CIÊNCIAS DE SAÚDE E MEIO AMBIENTE  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**COCCÍDIOS DE GASTRÓPODES TERRESTRES E DULCÍCOLAS: UMA  
AVALIAÇÃO PRELIMINAR NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**MARIANA BORGES RODRIGUES**

*Sob a orientação do Professor*

**Dr. Bruno Pereira Berto**

*e co-orientação de*

**Dr<sup>a</sup>. Solange Viana Paschoal Blanco Brandolini**

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas, apresentado à Universidade Castelo Branco como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura e Bacharel em Ciências Biológicas.

**Rio de Janeiro, RJ**

**Junho de 2014**

**UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO**  
**ESCOLA DE CIÊNCIAS DE SAÚDE E MEIO AMBIENTE**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MARIANA BORGES RODRIGUES**

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas, apresentado à Universidade Castelo Branco como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura e Bacharel em Ciências Biológicas.

Analisado e aprovado com Grau: .....

Rio de Janeiro, 11 de junho de 2014.

---

Prof. Bruno Pereira Berto, D.Sc.

---

Prof<sup>a</sup>. Solange Viana Paschoal Blanco Brandolini, D.Sc.

---

Prof. Paulo Renato Totino, D.Sc.

## FICHA CATALOGRÁFICA

RODRIGUES, Mariana Borges

Coccídios de gastrópodes terrestres e dulcícolas: uma avaliação preliminar no estado do Rio de Janeiro. 2014

Universidade Castelo Branco. Curso de Ciências Biológicas. 2014  
XLV + 45p

Trabalho de Conclusão de Curso: Licenciatura e Bacharel em Ciências Biológicas

- |                          |                      |
|--------------------------|----------------------|
| 1. Coccídios             | 2. <i>Barroussia</i> |
| 3. <i>Pfeifferinella</i> | 4. <i>Klossia</i>    |

I. Universidade Castelo Branco – Curso de Graduação em Ciências Biológicas.

II. Título.

CDC

## **DEDICATÓRIA**

*Ao meu Deus que me proporcionou esta vitória, por trazer a existência um sonho impossível, pela sua misericórdia e força nos momentos de fraqueza, pela sua fidelidade.*

*Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado e jamais deixaram de me incentivar e acreditar em mim, pelas palavras amigas e pelas orações.*

*A minha irmã e meus familiares pelos conselhos e apoio.*

*Aos meus queridos amigos que me motivaram, me ouviram, e todos que oraram e acreditaram em mim.*

*“Agora, pois, o Senhor use convosco de beneficência e fidelidade; e também eu vos farei este bem, porquanto fizestes isto.” 2 Samuel 2:6*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, sem o qual nada disso seria possível.

Agradeço a Universidade Castelo Branco pelo conhecimento adquirido, trilhos que proporcionaram a realização do meu sonho e a continuidade da minha carreira profissional.

Ao Prof. Dr. Bruno Pereira Berto (Departamento de Biologia Animal - DBA, Instituto de Biologia - IB, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ), por todo apoio, consideração e empenho durante a elaboração deste trabalho.

A minha co-orientadora Prof. Dr. Solange Viana Paschoal Blanco Brandolini (DBA, IB, UFRRJ), pela consideração, atenção e pela oportunidade.

Ao professor Carlos Wilson Gomes Lopes (Departamento de Parasitologia Animal - DPA, Instituto de Veterinária - IV, UFRRJ) pela atenção e pela oportunidade.

Agradeço ao todos os professores da Universidade Castelo Branco pelo exemplo, tempo e atenção dedicados durante o período de curso, especialmente a Patrick Menezes Lourenço, Paulo Renato Totino, Sonia Cristina de Souza Pantoja e Rosalina Ribeiro Coelho (Curso de Ciências Biológicas, Universidade Castelo Branco).

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”*

*Charles Chaplin*

## RESUMO

Os coccídios, protozoários da classe Eucoccidiorida, são parasitas intracelulares obrigatórios que podem apresentar ciclo monoxeno ou heteroxeno. Os invertebrados podem ser hospedeiros definitivos ou vetores de uma grande diversidade de coccídios. Os moluscos já foram descritos parasitados pelos gêneros de coccídios *Aggregata* Frenzel, 1885, *Pseudoklossia* Léger e Duboscq, 1915, *Pfeifferinella* Schneider, 1875, *Barroussia* Schneider 1885 e *Klossia* Schneider 1875, sendo apenas estes três últimos associados a gastrópodes. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença destes em gastrópodes terrestres e dulcícolas de algumas localidades do estado do Rio de Janeiro, como o Maciço do Mendanha, Ilha da Marambaia e Seropédica. Foi utilizado o método de Sheather para exame das fezes e excretas dos gastrópodes coletados, com posterior visualização e identificação dos oocistos. Dentre os exames realizados nos gastrópodes coletados, a presença de oocistos de espécies que são improváveis parasitas de invertebrados, provavelmente representem contaminação do ambiente onde os moluscos foram coletados, o que pode resultar em diagnósticos equivocados. Foram encontrados também oocistos similares a *Klossia* sp., que necessitam de confirmação.

**Palavras-chave:** coccídios, oocistos, *Pfeifferinella*, *Barroussia*, *Klossia*

## ABSTRACT

Coccidia, which are protozoa of the Eucoccidiorida class, are obligate intracellular parasites that have monoxen or heteroxen cycles. Invertebrates can be definitive hosts or vectors of a wide variety of coccidia. Molluscs were described as hosts of the genera *Aggregata* Frenzel, 1885, *Pseudoklossia* Léger, Duboscq, 1915, *Pfeifferinella* Schneider, 1875, *Barroussia* Schneider 1885 and *Klossia* Schneider 1875, being the last three associated with gastropods. The aim of this study was verify the presence of these in some terrestrial and aquatic gastropods in some localities of the State of Rio de Janeiro, like Maciço do Mendanha, Marambaia Island and Seropédica. The method of Sheather was used for examination of feces and excretions of the collected gastropods, with subsequent visualization and identification of oocysts. Among the exams conducted in gastropods, were observed oocysts of coccidia of vertebrates, which should be resulted of contamination. Oocysts with similar morphology to *Klossia* sp. were observed, however this identification needs to be confirmed.

**Keywords:** coccidia, oocysts, *Pfeifferinella*, *Barroussia*, *Klossia*

## LISTA DE TABELAS

**Tabela I:** Características para identificação dos oocistos de coccídios de gastrópodes. 36

**Tabela II.** Resultados dos exames coproparasitológicos realizados em gastrópodes coletados em diferentes localidades do Estado do Rio de Janeiro, como o Maciço do Mendanha, Ilha da Marambaia e Seropédica no período de agosto de 2013 até junho de 2014. 37

## LISTA DE FIGURAS

- Figura I.** Vista lateral direita de *Pomaceae* sp. (espécie dulcícola) com características morfológicas e detalhe em destaque (sifão) de espécime macho após a retirada da concha. De acordo com Costa; Rocha (2006)..... 18
- Figura II.** Vista lateral direita de caramujo terrestre, *Helix aspersa* com características morfológicas. De acordo com Costa; Rocha (2006)..... 19
- Figura III.** Desenho de um oocisto esporulado (Apicomplexa: Eucoccidiorida: Eimeriidae) detalhando as principais estruturas que devem ser observadas, medidas e caracterizadas: (ow) diâmetro menor do oocisto; (ol) diâmetro maior do oocisto; (pg) grânulo polar; (or) resíduo do oocisto; parede do oocisto (row) áspera ou (sow) lisa; micrópila na (mil) camada interna ou (mol) externa; (mc) capuz polar; (sw) diâmetro menor do esporocisto; (sl) diâmetro maior do esporocisto; (sb) corpo de Stieda; (ssb) corpo de substieda; (psb) corpo de parastieda; resíduo do esporocisto (csr) compacto ou (dsr) difuso; (sp) esporozoíta; corpo refrátil do esporozoíta (prb) posterior e (arb) anterior; (n) núcleo do esporozoíta; e (str) estrias no esporozoíta. De acordo com Berto et al. (2014) ..... 21
- Figura IV.** Desenho de um oocisto e esporocistos esporulados de *Barroussia bulini*. 1. Oocisto não esporulado; 2-5. Esporocistos esporulados com um esporozoíta; 4-5. Esporocistos esporulados revestidos por uma membrana externa. De acordo com Triffit; Buckley (1932)..... 23
- Figura V.** Desenho das formas evolutivas de *Pfeifeirinella impudica*: 1. Merozoíta; 2-3. Macrogametócitos em crescimento; 4. Macrogametócito maduro com o

processo fertilizador, no qual dois microgametas localizam-se e podem adentrar. 5. Microgametas formados em um microgametócito; 6. Fertilização no macrogameta; 7. Oocisto com oito esporozoítas. De acordo com Léger; Hollande (1912)..... 24

**Figura VI.** Desenhos do ciclo de vida de *Pfeifferinella gugleri*. 1. Oocistos esporulados contendo esporozoítos e com resíduo com vacúolo; 2. Macrogameta na célula hospedeira. Observa-se núcleo com 3 nucléolos e um vacúolo em forma de meia-lua contendo um corpo-formador-de-parede no interior; 3. Merozoito. De acordo com Wacha (1980)..... 26

**Figura VII.** Fotomicrografias dos estágios do ciclo de vida de *Pfeifferinella gugleri*: 5-6. Oocistos esporulado ligeiramente oblíquos; 7. Meronte com corpo residual (seta) e merozoítos; 8. Microgametócito com o corpo residual (seta) e microgametas com núcleos de pontilhados; 9. Dois macrogametas. Observa-se um vacúolo em forma de meia-lua (setas vertical e oblíqua) e um corpo-formador-de-parede no interior; Observa-se a divisão e diferenciação (seta horizontal) nuclear; 10. Macrogameta. Observa-se o núcleo com nucléolo (seta vertical), e o material que forma um vacúolo em forma de meia-lua (seta oblíqua). De acordo com Wacha (1980)..... 27

**Figura VIII.** Fotomicrografias de *Pfeifferinella gugleri* de *Mesodon roemeri*. (Abreviações: MI, micrópila; OR, resíduo do oocisto; OW, parede do oocisto, SZ, esporozoítos; VA, vacúolo). De acordo com McAllister (2013)..... 28

**Figura IX.** Desenho das principais fases evolutivas de *Klossia helicina*, a qual ocorrem nas células renais de caramujos terrestres. a. Parte de uma secção renal mostrando células epiteliais normais contendo concreções (C) e células epiteliais ampliadas contendo o parasita (K) em vários estágios; b. oocisto contendo esporoblastos; c. oocisto com esporocistos maduro; d. esporocisto demonstrando os quatro esporozoítos e resíduo. De acordo com Wenyon (1923)..... 29

**Figura X.** Secções renais coradas de uma *Succinea* sp. parasitada por *Klossia*

*helicina*. a. Oocisto imaturo em fuso de fertilização (em cima) e cinco macrogamontes, sendo três com nucléolo e núcleo da célula hospedeira alargada; b. Dois gamontes imaturos com núcleos das células hospedeiras hipertrofiadas; c. Dois macrogametas maduros; d. Dois oocistos com esporoblastos com quatro núcleos (em cima) ou dois núcleos (abaixo). De acordo com Leibenguth (1971) ..... 30

**Figura XI.** Possíveis oocistos de *Klossia* sp. recuperados das excretas de caramujos *Bulinus* sp. em Campo Grande, Rio de Janeiro. A-C. Oocistos com esporocistos não completamente desenvolvidos. D-E. Oocistos com parede rompida, contendo esporocistos com quatro esporozoítas e resíduo. Escala: 10  $\mu$ m..... 39

## SUMÁRIO

<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	15
<b>II. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	17
II.I. OS GASTRÓPODES NO BRASIL.....	17
II.II. OS COCCÍDIOS.....	20
<b>II.II.I. Gênero <i>Barroussia</i> Schneider 1885.....</b>	21
<b>II.II.II. Gênero <i>Pfeifferinella</i> Schneider, 1875.....</b>	24
<b>II.II.III. Gênero <i>Klossia</i> Schneider, 1875.....</b>	26
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	32
III.I. GERAL.....	32
III.II. ESPECÍFICO.....	32
<b>IV. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	33
IV.I. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	33
IV.II. COLETA DE CARAMUJOS E ACONDICIONAMENTO EM LABORATÓRIO.....	33
<b>IV.II.I. Caramujos dulcícolas.....</b>	34
<b>IV.II.II. Caramujos terrestres.....</b>	34
IV.III IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES.....	35
IV.IV. PROCESSAMENTO LABORATORIAL.....	35
IV.V. DESCARTE.....	36
<b>V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	37
V.I. ESPÉCIMES DE GASTRÓPODES COLETADOS.....	37
V.II. PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE OOCISTOS.....	37
V.III. OBSERVAÇÕES NOS EXAMES FECAIS.....	38
<b>VI. CONCLUSÃO.....</b>	42
<b>VII. REFERÊNCIAS.....</b>	43

## I. INTRODUÇÃO

Os invertebrados gastrópodes se destacam na parasitologia como organismos que devido as suas características comportamentais e fisiológicas servem como hospedeiros intermediários, vetores mecânicos ou hospedeiros definitivos para diferentes tipos de parasitas. Os gastrópodes mostram significativa importância econômica, por atuarem com hospedeiros de diversos parasitos, incluindo o trematódeo digenético *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758, causador de significativas perdas econômicas no setor pecuário e na saúde pública (ARROYO et al., 1981). Ressalta-se, neste mesmo sentido, o trematódeo digenético *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, causador da esquistossomose mansônica, o qual possui como hospedeiro intermediário caramujos dulcícolas do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 (RAPADO et al., 2013; GRENFELL et al., 2013).

Os parasitas denominados coccídios possuem uma grande variedade de hospedeiros invertebrados e vertebrados, incluindo parasitas humanos como *Cystoisospora belli* Schneider, 1881, *Sarcocystis* spp., *Cryptosporidium* spp., *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 e *Cyclospora cayetanensis* Ortega, Gilman e Sterling, 1994.

Invertebrados podem ser hospedeiros definitivos ou vetores de uma grande diversidade de coccídios, tais como *Adelea* Schneider, 1875, *Adelina* Hesse, 1911, *Klossia* Schneider, 1875 e *Legerella* Mesnil, 1900 etc. os quais possuem ciclo monoxeno, hemogregarinas *Dactylosoma* Labbé, 1894, *Babesiosoma* Jakowska e Nigrelli, 1956, *Haemogregarina* Danilewsky, 1885, *Desseria* Siddall, 1995, *Cyrlia* Lainson, 1981, *Hepatozoon* Miller, 1908, *Hemolivia* Petit, Landau, Baccam e Lainson, 1990 e *Karyolossus* Labbé, 1894, que possuem ciclo heteroxeno (UPTON, 2000; BARTA et al., 2012; BERTO et al., 2014), e também descrita por Triffit e Buckley em 1932, *Barroussia bulini*, espécie descrita em caramujos pulmonados que resulto em marcante mortalidade destes.

Os moluscos já foram descritos parasitados pelos gêneros de coccídios *Aggregata* Frenzel, 1885, *Pseudoklossia* Léger e Duboscq, 1915, *Pfeifferinella* Schneider, 1875, *Barroussia* Schneider 1885 e *Klossia* Schneider 1875, sendo apenas estes três últimos associados a gastrópodes. Eles pertencem ao Filo Apicomplexa, Subclasse Coccidiasina e

Ordem Eucoccidiorida. *Klossia* spp. são coccídios adelídeos pertencentes a Subordem Adeleorina, Família Adeleidae, no entanto a localização sistemática de *Pfeifferinella* spp. e *Barroussia* spp. não é consensual.

A maioria, das descrições e relatos de coccídios de gastrópodes, data do início do século 20, apesar de alguns trabalhos científicos mais recentes verificarem e confirmarem algumas espécies de coccídios em gastrópodes na América do Norte. No Brasil, estes coccídios nunca foram descritos ou relatados (WENYON, 1926; BERTO et al., 2010).

Neste trabalho portanto, estes três gêneros de coccídios de gastrópodes são revisados e pesquisados em algumas localidades do estado do Rio de Janeiro, e, por isso, torna-se primariamente relevante, pois estes coccídios são minimamente relatados na literatura científica. A maioria, das descrições e relatos de coccídios de gastrópodes, data do início do século 20, apesar de alguns trabalhos científicos mais recentes verificarem e confirmarem algumas espécies de coccídios em gastrópodes na América do Norte. No Brasil, estes coccídios nunca foram descritos ou relatados (WENYON, 1926; BERTO et al., 2010).

## II. REVISÃO DE LITERATURA

### II.1. OS GASTRÓPODES NO BRASIL

Os invertebrados são animais que se adaptaram aos mais diversos ambientes do planeta Terra, representando cerca de cem mil espécies descritas que ocupam ambientes terrestres, marinhos e dulcícolas, sendo estes últimos em maioria bentônicos (BOFFI, 1979).

A classe dos gastrópodes é caracterizada por animais divididos em cabeça, pé, massa visceral e pela concha calcária para proteção, a qual é secretada pelo manto. Todas as espécies são univalvas e nesta estão os únicos representantes terrestres do filo. Na cabeça há tentáculos e olhos, nos pés há uma glândula produtora de muco que auxilia na movimentação, são hermafroditas, capazes de se reproduzir através de autofecundação.

De acordo com levantamentos sistemáticos, as espécies identificadas no Brasil com maior representatividade são *Littorina ziczac* Gmelin, 1791, *Thais haemastoma* Linnaeus, 1767 e *Pugilina morio* Linnaeus, 1758, que são marinhas. (PARANHOS & PINTO, 1998).

Caramujos dulcícolas podem ser facilmente encontrados submersos aderidos a pedras ou plantas, sendo as espécies do gênero *Physa* Draparnaud, 1801 as mais comuns no Brasil. São observados com frequência mesmo em ambientes poluídos e com pouca movimentação, sendo assim consideradas como espécies resistentes (PARAENSE, 1981b).

As espécies do gênero *Pomacea* Perry, 1810 são os maiores gastrópodes dulcícolas encontrados no país (VIDIGAL et al., 2005), apesar de haver controvérsias na sua identificação (PARAENSE, 1981b; THIENGO, 1995; THIENGO, 2003). Foi documentado o declínio das populações deste gênero em geral pela presença de *Melanoides tuberculatus* Müller, 1774, (THIENGO et al., 1998; FERNANDEZ et al., 2001).

A família *Hydrobiidae* Stimpson, 1865, também composta por gastrópodes de água doce, apresenta mais de 300 gêneros (VIDIGAL et al., 2005), sendo popularmente conhecidos como caracóis-de-lama.

Foram documentadas algumas espécies de gastrópodes dulcícolas invasoras na América do Sul, como *M. tuberculatus*, e espécies da família Thiriadae (DARRIGRAN & EZCURRA, 2000; CALLIL & MANSUR, 2002; FERNANDEZ et al., 2003). *Melanoides tuberculatus* foi identificada no Brasil primeiramente no estado de São Paulo. Esta espécie tem origem afro-asiática e foi introduzida na América Latina na década de 60. É encontrada em vários estados brasileiros (VAZ et al., 1986; FERNANDEZ et al., 2003), tanto em ambientes de águas limpas quanto poluídas.

Em estudo realizado em Minas Gerais e Espírito Santo, *M. tuberculatus*, entre outras espécies das famílias Planorbidae, Hydrobiidae, Thiaridae, Physidae, e Ampullariidae, que também foram identificadas, porém *M. tuberculatus* e *Physa* sp. mostraram-se predominantes em relação a *Biomphalaria* sp. A diminuição deste último se deu devido à presença dos primeiramente citados e, assim, a maior frequência relativa do *M. tuberculatus* mostra uma vantagem adaptativa (VIDIGAL et al., 2005).

Espécimes de *M. tuberculatus* foram utilizados em estudos cujo objetivo foi o controle de *Biomphalaria* sp. (PAULINY & PAULINI, 1971; MILWARD et al., 1978). A introdução destes animais mostrou influência nas populações de outros moluscos, como *Pomacea lineata* Spix, 1827, além do impacto nos habitats (FERNANDEZ et al., 2003).

Os gastrópodes terrestres tem sofrido uma significativa diminuição com o passar dos anos devido a diversos fatores, como mudanças climáticas que alteram as ofertas de alimentos. Estes animais tendem a mostrar intensa dependência de umidade, principalmente quando se trata de características comportamentais com hábito reprodutivo. Com relação à fauna de gastrópodes terrestres no Brasil, há poucos estudos gerais de levantamento.

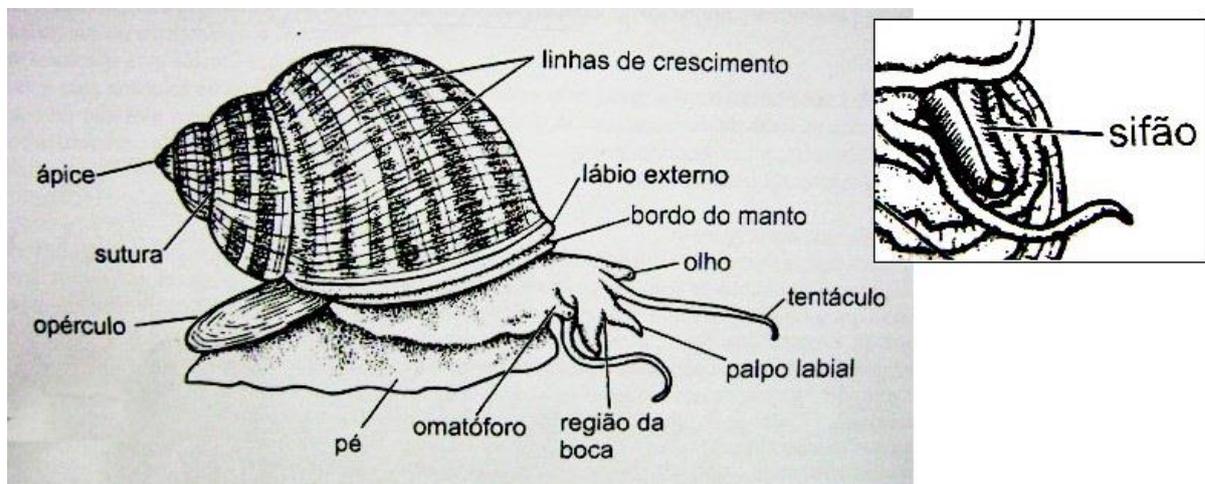
Foi constatado que na região oeste do Estado do Rio de Janeiro, especificamente em Ilha Grande, onde se registra a ocorrência de 21 espécies de gastrópodes terrestres (MACIEL et al., 1984), há dominância de espécies herbívoras generalistas da família Subulinidae e malacófagas (SANTOS & MONTEIRO, 2001).

Dentre as espécies no Brasil, boa parte apresenta interesse econômico já que são encontradas em plantações, muitas vezes sendo consideradas pragas agrícolas. Dentre estas pode-se citar *Achatina fulica* Bowdich, 1822, que além de grande valência ecológica, possui diversas vantagens adaptativas em relação aos caramujos nativos. *Achatina fulica* pode gerar até 400 ovos por postura. Um animal adulto realiza em média 5 a 6 posturas por ano (TOMIYAMA; MIYASHITA, 1992), enquanto que espécies nativas como *Megalobulimus* sp.

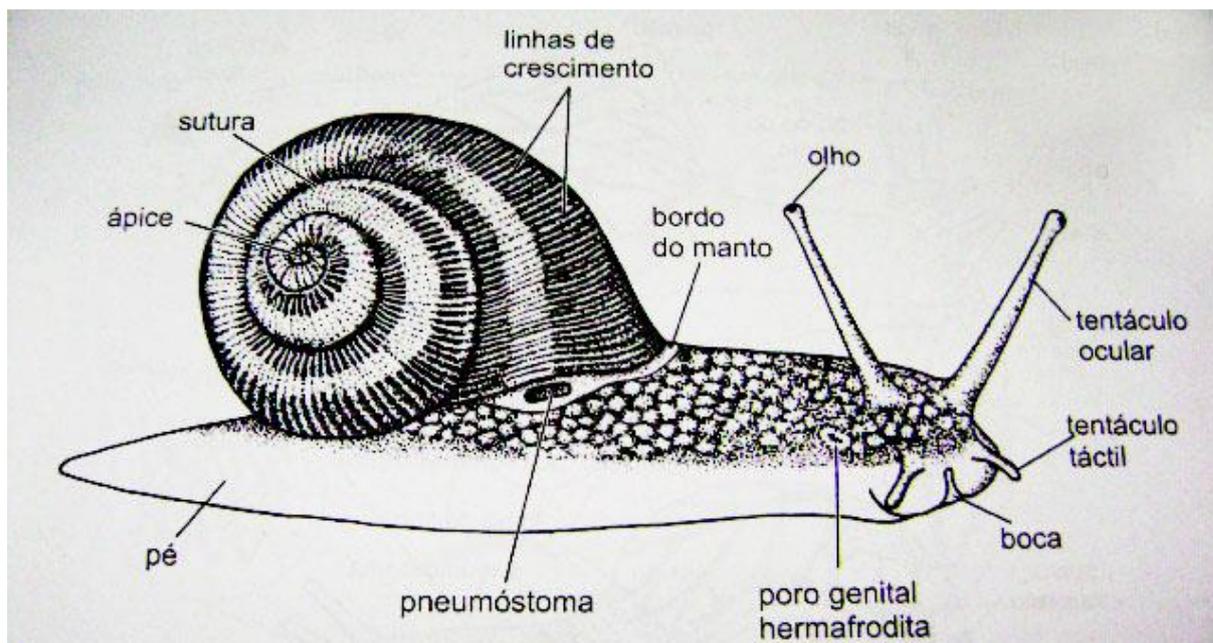
Miller, 1878 produz um número menor de ovos por ovoposição (cerca de 1 a 7 ovos) e o tempo estimado para sua maturidade é de 284 a 473 dias (PLENS, 2007).

Também facilmente encontrado em hortas no Rio de Janeiro, principalmente nos períodos de menor temperatura e maior humidade relativa do ar, como no amanhecer e entardecer (THOMÉ & LOPES, 1973; RAUT & PANIGRAHI, 1988), está *Bradybaena similaris* Férussac, 1821. Esta espécie é originária da Ásia e dispersou-se mundialmente pelo comércio de plantas. No Brasil é encontrado desde o Amapá até o Rio Grande do Sul (OLIVEIRA et al., 1981; OLIVEIRA et al., 1992).

Gastrópodes são considerados importantes hospedeiros de parasitas. Além de *Biomphalaria* spp., que são hospedeiros intermediários de *S. mansoni*, algumas espécies das famílias Hydrobiidae e Pomatiopsidae são hospedeiras intermediárias de trematódeos parasitas pertencentes ao gênero *Paragonimus* Braun, 1899; *M. tuberculatus*, espécie exótica, atua como hospedeiro intermediário dos trematódeos *Paragonimus westermani* Kerbert, 1878, *Clonorchis sinensis* Cobbold, 1875 e *Centrocestus formosanus* Nishigori, 1974 (VIDIGAL et al., 2005).



**Figura I:** Vista lateral direita de Pomaceae sp. (espécie dulcícola) com características morfológicas e detalhe em destaque (sifão) de espécime macho após a retirada da concha. Fonte: Costa; Rocha (2006)



**Figura II:** Vista lateral direita de caramujo terrestre, *Helix aspersa* com características morfológicas. Fonte: Costa; Rocha (2006)

## II.II. OS COCCÍDIOS

O termo coccídio, refere-se a protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, Subclasse Coccidiasina e Ordem Eucoccidiorida, no qual uma das características principais é o parasitismo intracelulares obrigatórios com ciclos biológicos alternados entre reprodução sexuada (cujo resultados são oocistos) e assexuada (BERTO et al., 2014).

De acordo com Levine (1985), além de parasitar diferentes espécies de vertebrados, coccídios podem também ser identificados como parasitas de invertebrados. O primeiro caso de coccídio de invertebrado foi documentado por Kloss, em espécies de moluscos pulmonados (FRITSCH, 1987).

Os coccídios são identificados e classificados frequentemente pelos oocistos, que são geralmente formas exógenas observadas nas fezes ou urina de seus hospedeiros. Entre as principais características morfológicas e morfométricas dos oocistos de coccídios estão: diâmetro menor e maior do oocisto; grânulo polar e/ou resíduo do oocisto; parede do oocisto; micrópila e/ou capuz polar; diâmetro menor e maior do esporocisto; corpos de Stieda,

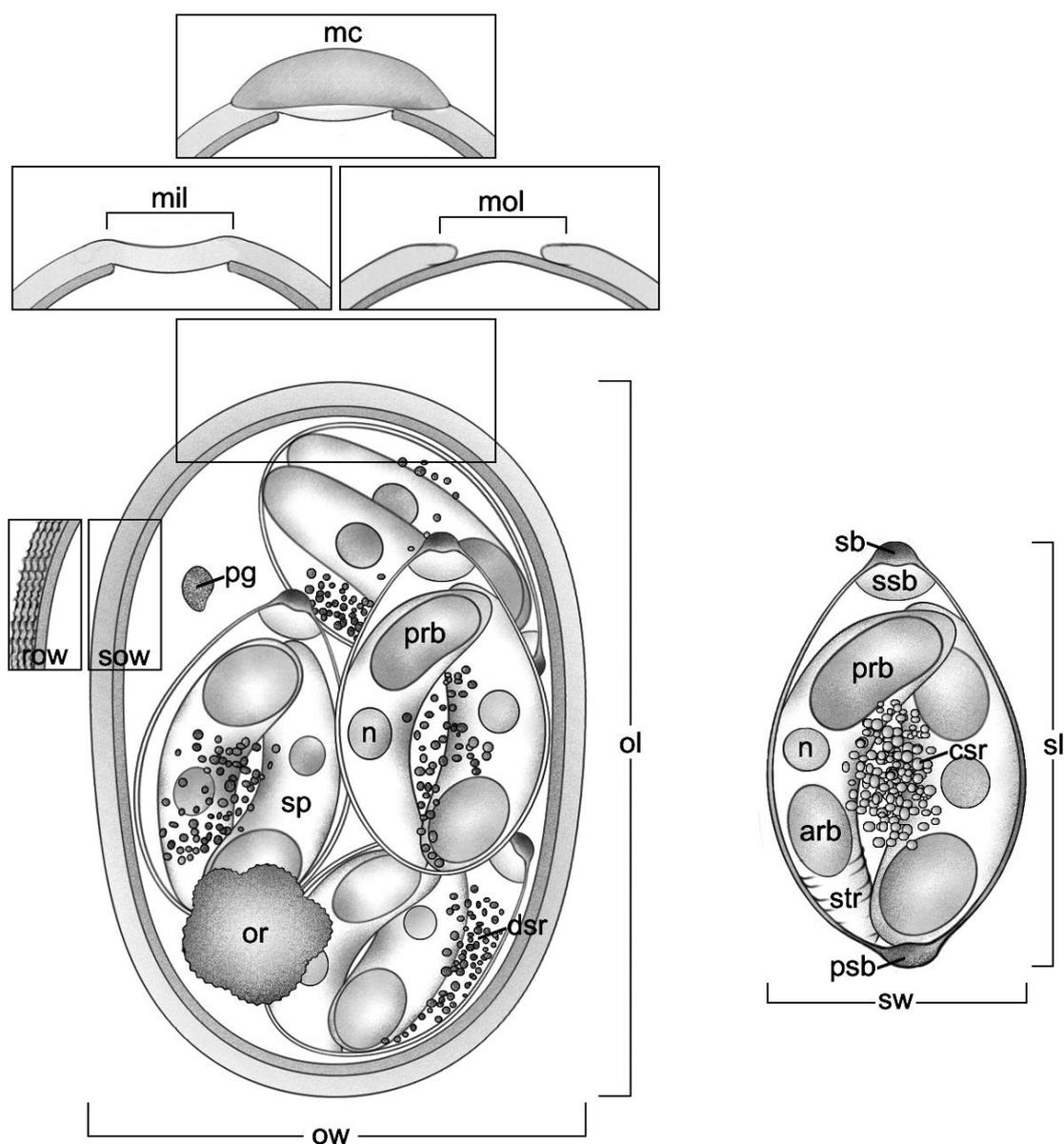
substieda e parastieda; resíduo do esporocisto; corpo refrátil, núcleo e estrias no esporozoíta (Figura III) (BERTO et al., 2014).

Até o presente momento os coccídios de invertebrados, nos quais se faz possível a recuperação e identificação de oocistos a partir da biomassa e/ou fezes/urina, pertencem aos seguintes gêneros: *Eimeria* Schneider, 1875, *Barroussia*, *Adelea*, *Adelina*, *Pseudoklossia* Leger & Duboscq, 1915, *Klossia*, *Pfeifferinella* (BERTO et. al., 2014). Como alguns espécimes de *Adelea*, *Adelina* e *Barroussia* foram descritos equivocadamente de hospedeiros vertebrados, pois se aproveitam do hábito alimentar de vertebrados que predam seus hospedeiros invertebrados liberando seus oocistos presos na biomassa, e, portanto, são considerados pseudoparasitas dos vertebrados (BERTO et. al., 2010).

Dentre os gêneros que já foram descritos em gastrópodes e, portanto, mostram maior relevância, estão *Klossia*, *Pfeifferinella* e *Barroussia*, que foram revisados neste trabalho (BERTO et al., 2010).

### **II.II.I. Gênero *Barroussia* Schneider 1885**

O gênero *Barroussia* possui, como principal característica, esporocistos separados por uma sutura linear entre os dois lados contendo um esporozoíta, sendo todas as espécies pertencentes a este gênero parasitas de invertebrados (WENYON, 1926; LEVINE, 1983; DUSZYNSKI et al., 1999).



**Figura III.** Desenho de um oocisto esporulado (Apicomplexa: Eucoccidiorida: Eimeriidae) detalhando as principais estruturas que devem ser observadas, medidas e caracterizadas: (ow) diâmetro menor do oocisto; (ol) diâmetro maior do oocisto; (pg) grânulo polar; (or) resíduo do oocisto; parede do oocisto (row) áspera ou (sow) lisa; micrópila na (mil) camada interna ou (mol) externa; (mc) capuz polar; (sw) diâmetro menor do esporocisto; (sl) diâmetro maior do esporocisto; (sb) corpo de Stieda; (ssb) corpo de substieda; (psb) corpo de parastieda; resíduo do esporocisto (csr) compacto ou (dsr) difuso; (sp) esporozoíta; corpo refrátil do esporozoíta (prb) posterior e (arb) anterior; (n) núcleo do esporozoíta; e (str) estrias no esporozoíta. Fonte: Berto et al. (2014).

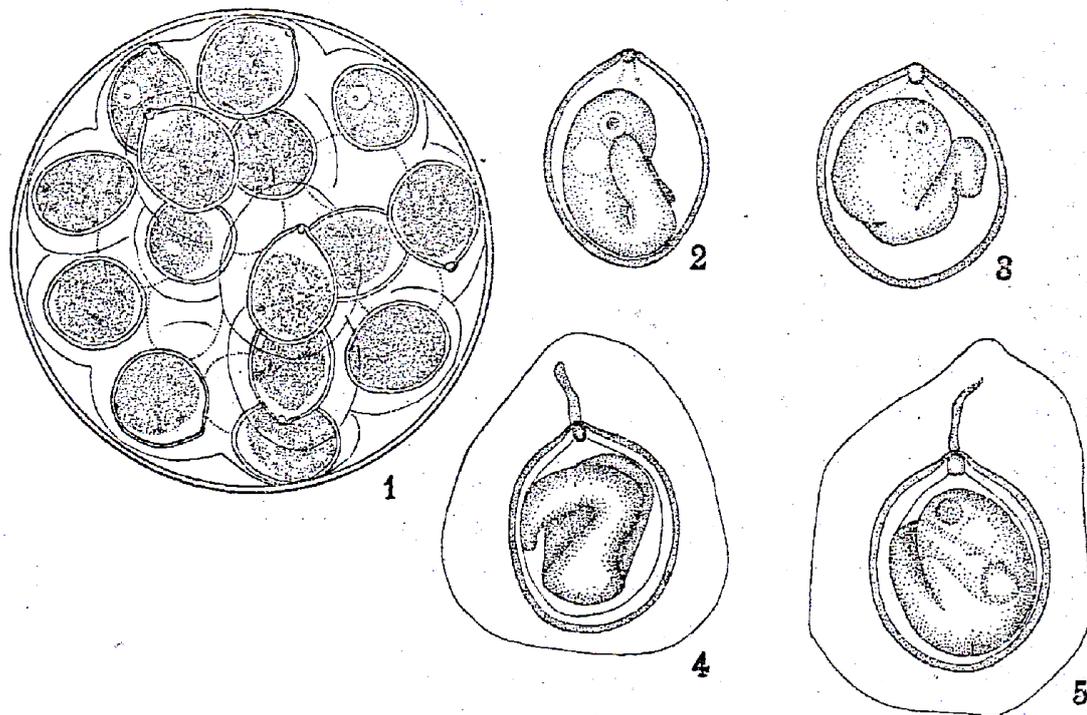
A primeira espécie deste gênero foi visualizada na década de 80 por Butschili anteriormente à descrição definitiva do gênero. Esta espécie foi nomeada como *Eimeria schneideri* Butschili, 1882, porém, mais tarde, foi redescrita como *Barroussia schneideri* (Bütschili, 1882) Schellack e Reichenow, 1913.

O gênero *Barroussia* foi proposto por Aimé Schneider, em 1885, para o parasita do escorpião *Nepa cinerea* Linnaeus, 1758. Ele foi denominado como *Barroussia ornata* Schneider, 1885. A segunda espécie descrita foi *B. legeri* (Léger, 1897) Schellack e Reichenow, 1913 no miriápode *Lithobius impressus* Koch, 1841 (WENYON, 1926; LEVINE, 1983).

O gênero *Echinospira* Léger, 1897 foi proposto para *Echinospira labbei* Léger, 1897 parasita de *Lithobius mutabilis* L. Koch 1862. Mais tarde o gênero foi considerado sinonímia de *Barroussia* e a espécie, então, re-descrita por Levine como *Barroussia labbei* (Léger, 1897) Levine, 1980 (LEVINE, 1980).

*Barroussia alpina* Léger, 1898, *Barroussia ventricosa*, 1898, *Barroussia spiralis* Averintzew, 1909 e *Barroussia belostomatis* Carini (1942) foram subsequentemente descritos de insetos e miriápodes (LEVINE, 1983; AVERINTZEW, 1909; CARINI, 1942)

Em gastrópodes, apenas uma espécie foi descrita quando parasitava o caramujo planorbídeo *Bulinus tropicus* Krauss, 1848, na África. *Barroussia bulini* Triffit e Buckley, 1932 foi descrita e responsabilizada pela doença e 50% de mortalidade em cinco semanas de um grande número de caramujos desta espécie. Os tecidos e órgãos destes caramujos mortos foram esmagados entre lâmina e lamínula e observados em microscopia, na qual se observou uma grande quantidade de oocistos. Inicialmente, estes oocistos não estavam esporulados (Figura IV.1); entretanto, após 14 a 20 dias os esporozoítas estavam completamente formados no esporocisto (Figura IV.2-5). Os oocistos foram esféricos a subsféricos, medindo de 70 a 112 µm de diâmetro, com dupla parede de espessura de 0,8 a 1,0 µm e sem micrópila, resíduo ou grânulo polar. Continha de 18 a 42 esporocistos revestidos por uma membrana externa e medindo de 16,6 a 19 µm por 12,3 a 16 µm, nos quais, neste trabalho, não foi identificada sutura longitudinal, apesar de ser uma característica marcante do gênero *Barroussia*. Os esporozoítas foram observados em número de 30 a 37, medindo cerca de 6 a 9 µm de diâmetro (TRIFFIT; BUCKLEY, 1932).



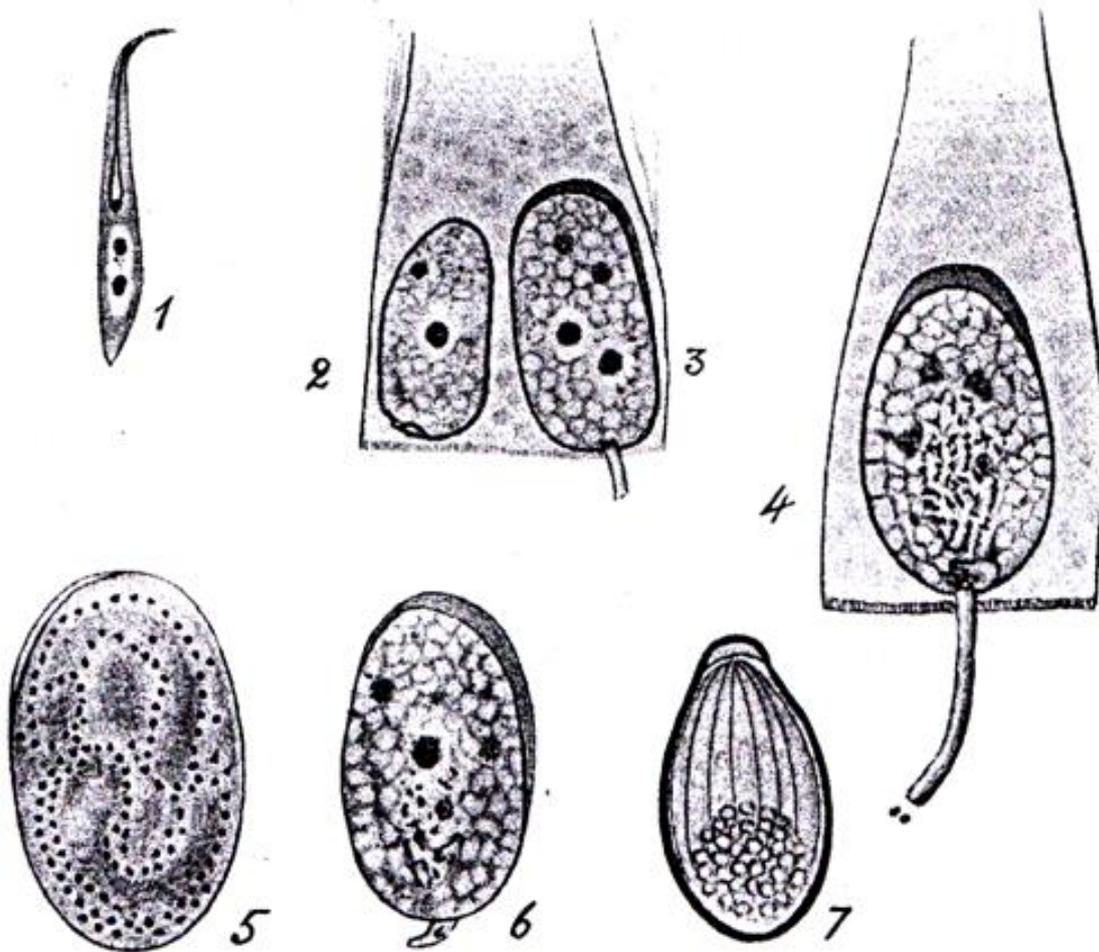
**Figura IV.** Desenho de um oocisto e esporocistos esporulados de *Barroussia bulini*. 1. Oocisto não esporulado; 2-5. Esporocistos esporulados com um esporozoíta; 4-5. Esporocistos esporulados revestidos por uma membrana externa. Fonte: Triffit; Buckley (1932).

### II.II.II. Gênero *Pfeifferinella* Schneider, 1875

Este gênero é caracterizado por oocistos sem esporocistos e contendo oito esporozoítas livres e um grande resíduo. Uma micrópila convexa geralmente está presente em uma extremidade do oocisto (WENYON, 1926).

As espécies têm estágios de desenvolvimento dentro da glândula digestiva dos gastrópodes e os oocistos são eliminados nas fezes. Este gênero também é caracterizado pela formação no macrogameta de um "tubo vaginal", que é um processo citoplasmático pelo qual os microgametas entram (Figura V.4) (LÉGER; HOLLANDE, 1912; DUSZYNSKI et al., 1999; McALLISTER, 2013).

Em algumas espécies, este "tubo vaginal" fica estendido temporariamente nos oocistos. Assim Levine (1985) separou estas espécies no gênero *Alveocystis* Bel'tenev, 1980 com base na presença do "tubo vaginal", porém Duszynski et al. (1999) rejeitam esta classificação, considerando sinónimas as espécies descritas como *Alveocystis*.



**Figura V.** Desenho das formas evolutivas de *Pfeifeirinella impudica*: 1. Merozoíta; 2-3. Macrogametócitos em crescimento; 4. Macrogametócito maduro com o processo fertilizador, no qual dois microgametas localizam-se e podem adentrar. 5. Microgametas formados em um microgametócito; 6. Fertilização no macrogameta; 7. Oocisto com oito esporozoítas. De acordo com Léger; Hollande (1912).

O gênero *Pfeifeirinella* Von Wasielowski, 1904 foi descrito para a espécie *Pfeifeirinella elipsoides* Von Wasielowski, 1904, a partir do conteúdo do intestino e glândula

digestiva do caramujo dulcícola *Planorbarius corneus* Linnaeus, 1758. Posteriormente a segunda espécie do gênero, *Pfeifeirinella impudica* Léger e Hollande, 1912, foi encontrada no glândula digestiva do molusco *Limax marginatus* Muller, 1774.

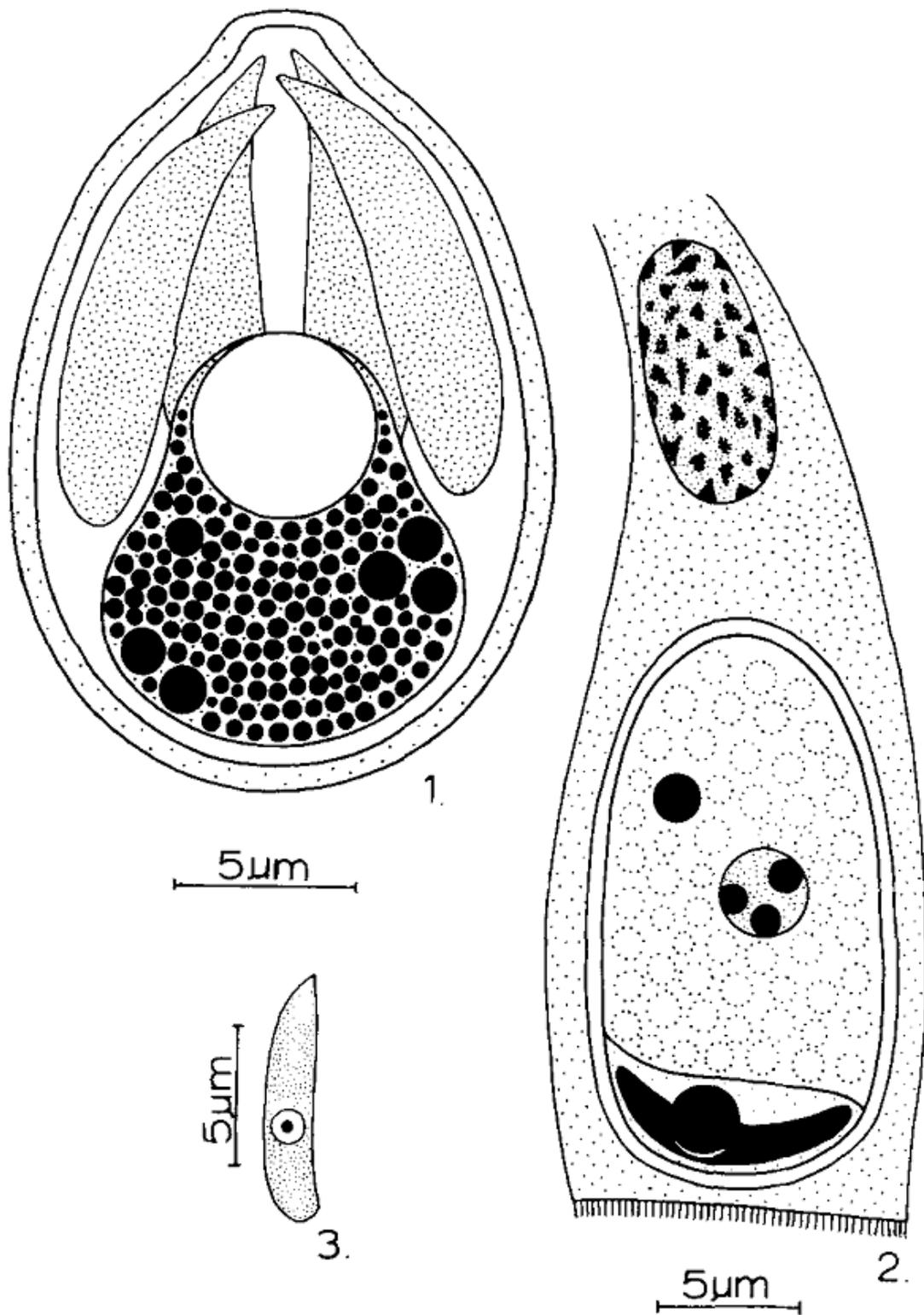
A terceira espécie do gênero foi *Pfeifeirinella gugleri* Wacha, 1981, a qual também parasitava a glândula digestiva de um molusco, *Triodopsis albolabris* Say, 1816, em Iowa, USA. Os estágios encontrados, os seus diâmetros maior e menor e as suas características principais foram (Figuras VI e VII): oocistos (21 x 14.5 µm) ovóides, com micrópila e resíduo do oocisto; Merontes (20 x 15 µm) com 24 a 32 merozoítas; Microgametócitos (15 x 11,5 µm), com muitos microgametas; Macrogametas (20 x 10.5 µm) com 1 a 5 e 1 a 2 nucléolos (WACHA, 1980).

Recentemente, McAllister (2013) relatou esta mesma espécie do caramujo *Mesodon roemeri* Pfeiffer, 1848 no Texas, também nos EUA. Os oocistos de *P. gugleri* neste estudo (Figura VIII) foram ovóides, medindo 20.2 por 15.2 µm, com parede medindo 0,5 de espessura; grânulo polar ausente, mas com micrópila e resíduo do oocisto. Espozorozítas medindo 12.0 por 2.8 µm.

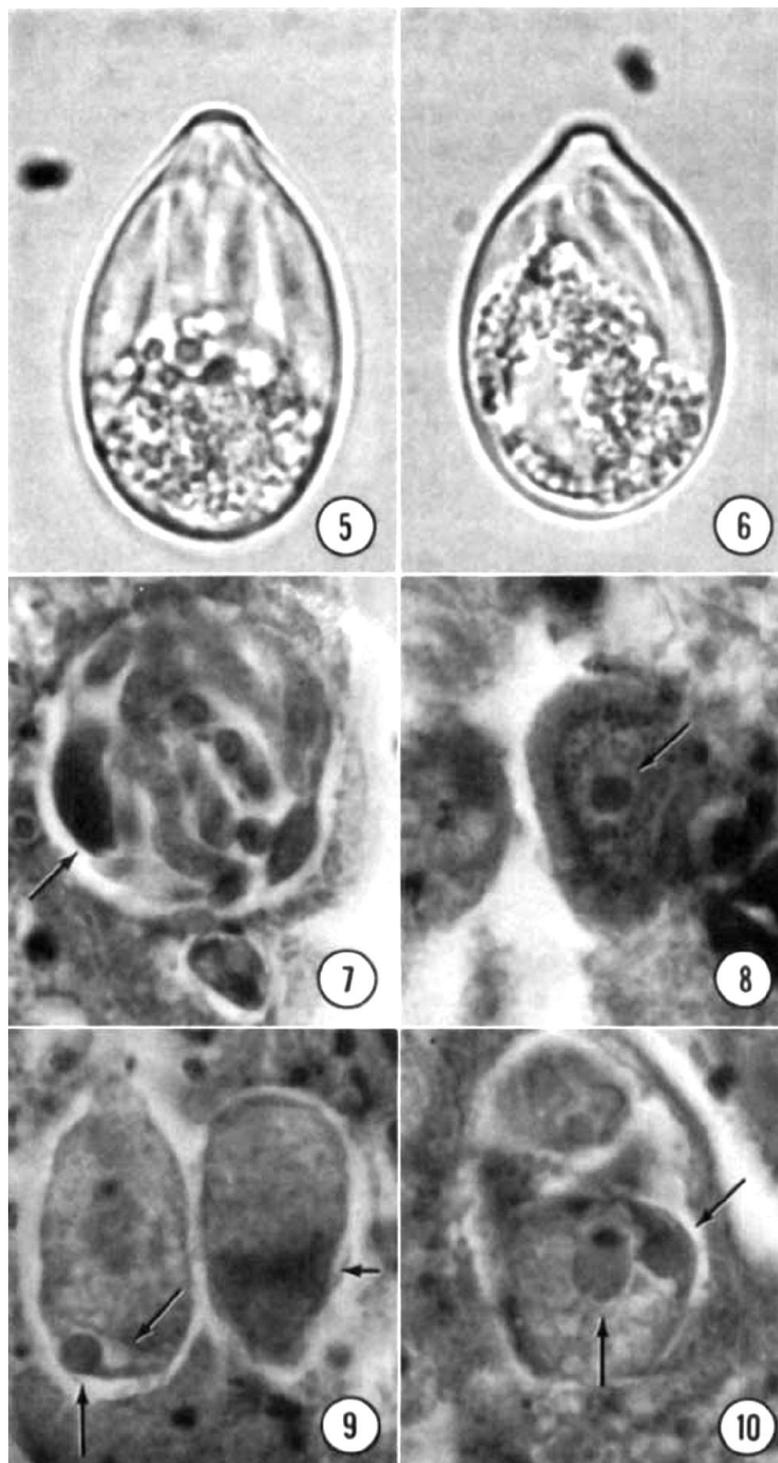
### **II.II.III. Gênero *Klossia* Schneider, 1875**

Como coccídio pertencente à subordem Adelorina, é considerado um protozoário primitivo, com ciclo monoxeno em invertebrados (BERTO et al., 2014). O primeiro coccídio deste gênero foi descrito com excelência por Kloss em 1855, a partir do epitélio renal de um molusco terrestre, material estudado por Schneider em 1875, que o nomeou *Klossia helicina* Schneider, 1875 (WENYON, 1826).

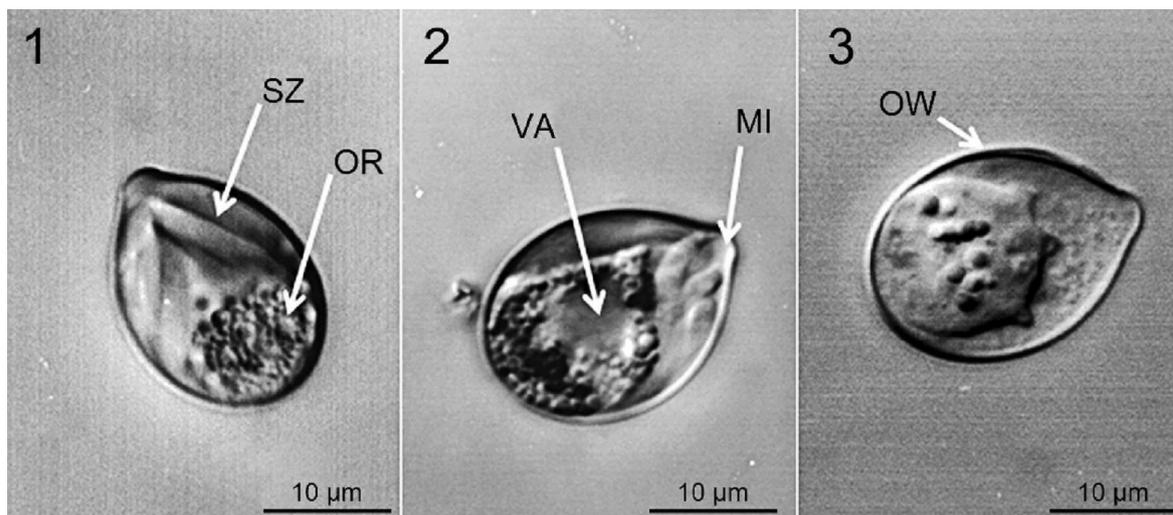
Schneider descreveu o parasita a partir do epitélio renal do gastrópode *Helix aspersa* Linnaeus, 1758, esse coccídio foi encontrado em aproximadamente cinco espécimes de *H. aspersa* e *Succinea* spp. Nabih em 1938 descreveu a segunda espécie do gênero, *Klossia lucci* Nabih, 1938 também em moluscos pulmonados, a partir do epitélio renal de lesmas das espécies dos gêneros *Arion* Férussac, 1819 e *Limax* Linnaeus, 1758 (FRITSCHÉ, 1987).



**Figura VI.** Desenhos do ciclo de vida de *Pfeifferinella gugleri*. 1. Oocistos esporulados contendo esporozoítos e com resíduo com vacúolo; 2. Macrogameta na célula hospedeira. Observa-se núcleo com 3 nucléolos e um vacúolo em forma de meia-lua contendo um corpo-formador-de-parede no interior; 3. Merozoito. Fonte: Wacha (1980).



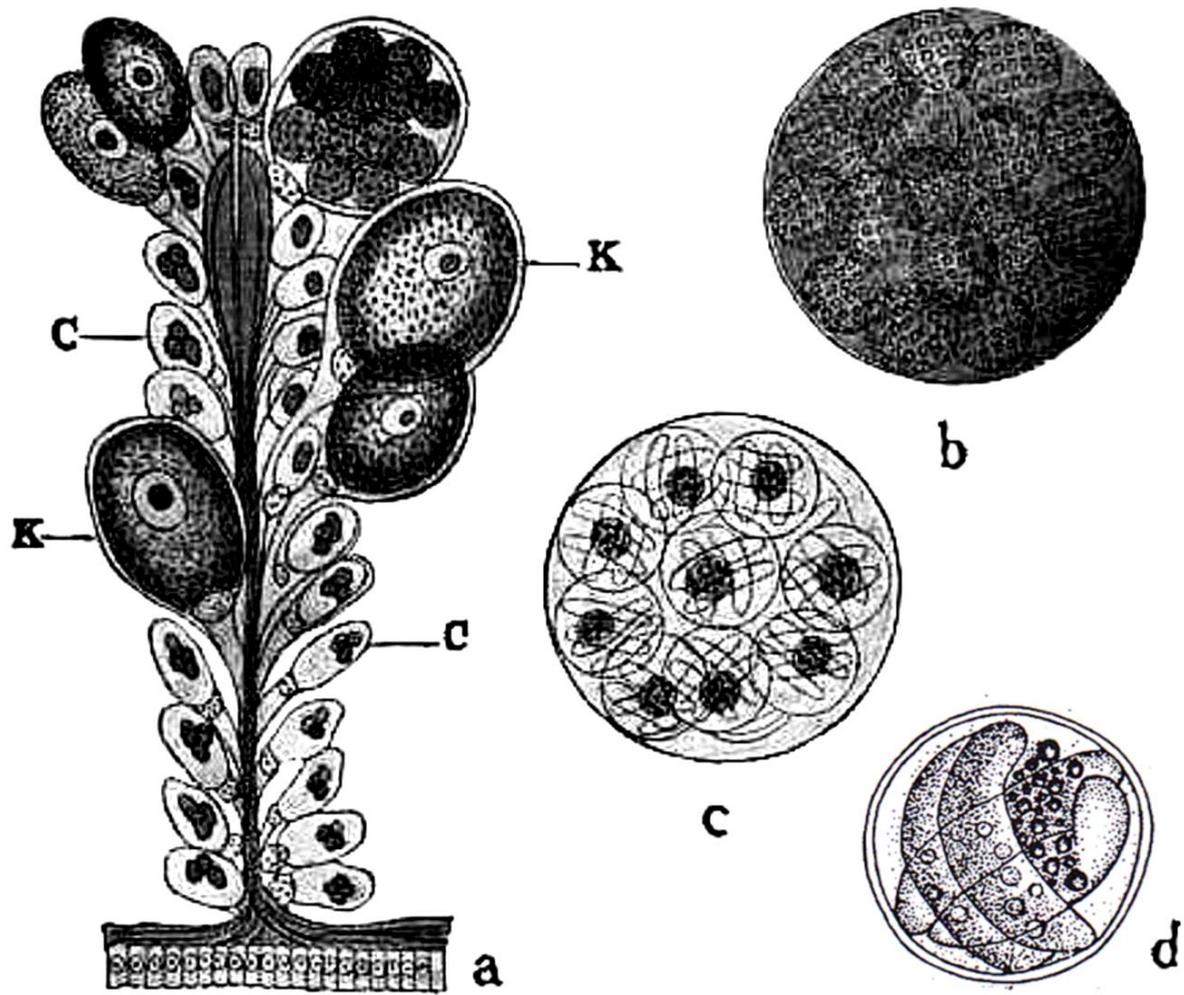
**Figura VII.** Fotomicrografias dos estágios do ciclo de vida de *Pfeifferinella gugleri*: 5-6. Oocistos esporulados ligeiramente oblíquos; 7. Meronte com corpo residual (seta) e merozoítos; 8. Microgametócito com o corpo residual (seta) e microgametas com núcleos de pontilhados; 9. Dois macrogametas. Observa-se um vacúolo em forma de meia-lua (setas vertical e oblíqua) e um corpo-formador-de-parede no interior; Observa-se a divisão e diferenciação (seta horizontal) nuclear; 10. Macrogameta. Observa-se o núcleo com nucléolo (seta vertical), e o material que forma um vacúolo em forma de meia-lua (seta oblíqua). Fonte Wacha (1980).



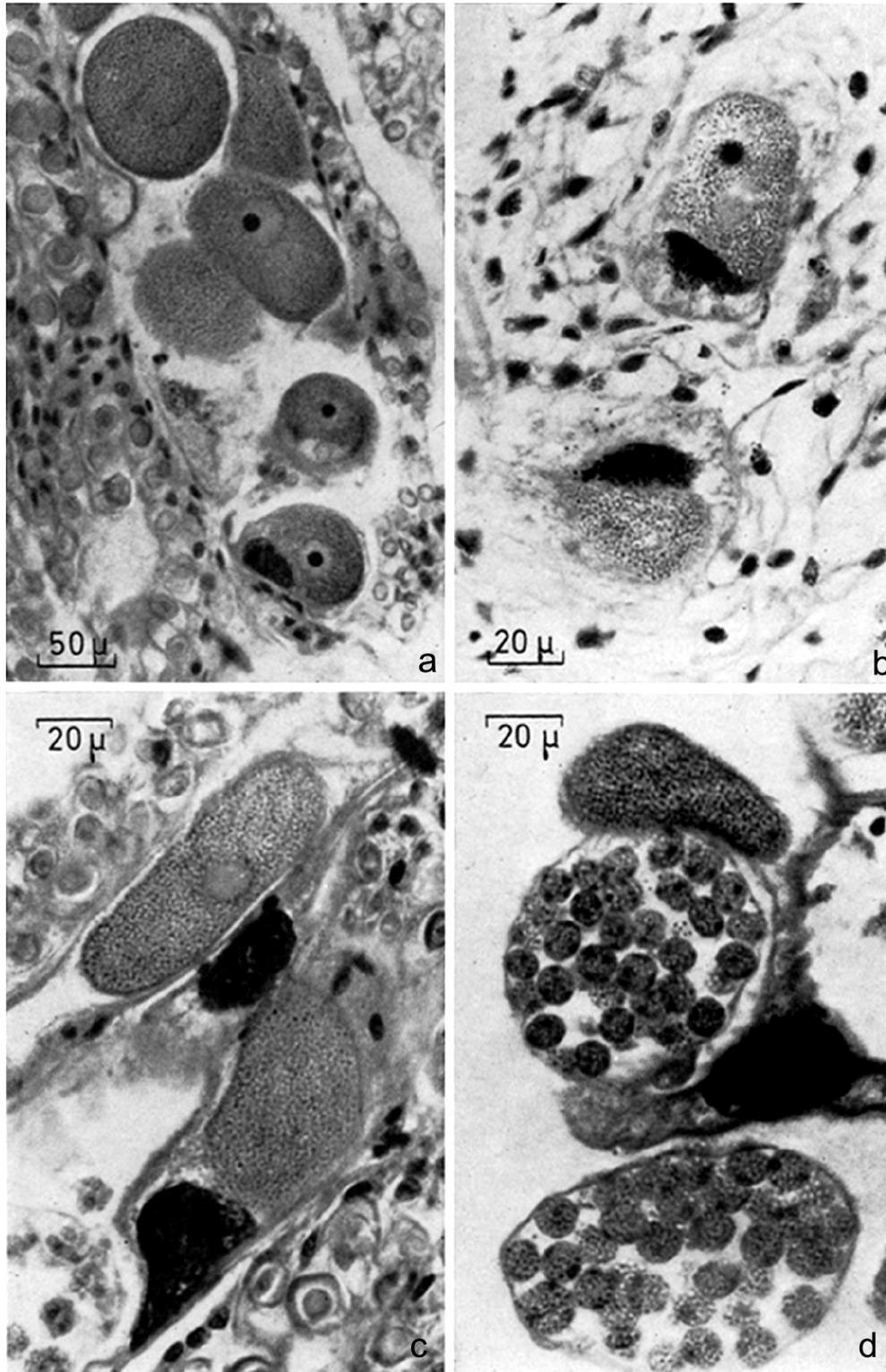
**Figura VIII.** Fotomicrografias de *Pfeifferinella gugleri* de *Mesodon roemeri*. (Abreviações: MI, micrópila; OR, resíduo do oocisto; OW, parede do oocisto, SZ, esporozoítos; VA, vacúolo). Fonte: McAllister (2013).

As formas endógenas de *Klossia* são observadas parasitando as células epiteliais renais, até a formação de oocistos que podem ser liberados junto com a urina. Da mesma forma que os outros gêneros da família Adeleidae, *Klossia* spp. possuem um processo de desenvolvimento na qual se formam um extenso corpo residual. Os esporoblastos desenvolvem-se em esporocistos esféricos, contendo quatro esporozoítos. Dentro do esporocisto, estes esporozoítos após um período de evolução são torcidos em torno dos outros (Figura IX) (WENYON, 1826).

Algumas das fases endógenas de *K. helicina* foram bem caracterizadas e fotomicrografadas por Leibenguth (1972) (Figura X). Estas formas são muito semelhantes ao coccídio *Adelea ovata* Schneider, 1875, porém ocorrem nas células do epitélio renal com oocistos variando de 40 a 180 micrometros. O número de esporocistos, também sub-esféricos, variam bastante de acordo com o tamanho dos oocistos (WENYON, 1926).



**Figura IX.** Desenho das principais fases evolutivas de *Klossia helicina*, as quais ocorrem nas células renais de caramujos terrestres. a. Parte de uma secção renal mostrando células epiteliais normais contendo concreções (C) e células epiteliais ampliadas contendo o parasita (K) em vários estágios; b. oocisto contendo esporoblastos; c. oocisto com esporocistos maduro; d. esporocisto demonstrando os quatro esporozoítos e resíduo. Fonte: Wenyon (1923).



**Figura X.** Secções renais coradas de *Succinea* sp. parasitada por *Klossia helicina*. a. Oocisto imaturo em fusão de fertilização (em cima) e cinco macrogamontes, sendo três com nucléolo e núcleo da célula hospedeira alargada; b. Dois gamontes imaturos com núcleos das células hospedeiras hipertrofiadas; c. Dois macrogametas maduros; d. Dois oocistos com esporoblastos com quatro núcleos (em cima) ou dois núcleos (abaixo). Fonte: Leibenguth (1972).

### **III. OBJETIVOS**

#### **III.I. GERAL**

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a presença destes em alguns gastrópodes terrestres e dulcícolas de algumas localidades do estado do Rio de Janeiro.

#### **III.II. ESPECÍFICO**

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- (1) Coletar gastrópodes terrestres e dulcícolas em determinadas localidades do estado do Rio de Janeiro;
- (2) Realizar exames laboratoriais visando verificar a presença destes parasitas em gastrópodes brasileiros.
- (3) Identificar os principais gêneros de coccídios parasitas gastrópodes terrestres e dulcícolas através de um levantamento bibliográfico;
- (4) Diferenciar estes gêneros de acordo com as características de suas formas exógenas: os oocistos;

## IV. MATERIAL E MÉTODOS

### IV.I. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

Este trabalho fundamenta-se no levantamento e revisão de três gêneros de coccídios em alguns gastrópodes encontrados no estado do Rio de Janeiro. A pesquisa se deu primeiramente no levantamento de publicações relacionadas à distribuição e prevalência de gastrópodes na região do Maciço do Mendanha, Ilha da Marambaia e Seropédica para que as coletas de caramujos fossem situadas.

Paralelamente, foi feito um levantamento de parasitas com ciclos monoxenos e heteroxenos em invertebrados e em gastrópodes especificamente, posteriormente enfatizando os coccídios.

Os gêneros *Klossia*, *Pfeifferinella*, *Barroussia* foram revisados durante este estudo através de publicações relacionadas aos gêneros, detalhamentos de ciclos biológicos, publicações descritivas e de revisão sistemática destes e de gêneros relacionados, parasitas de invertebrados e pseudoparasitas de vertebrados.

Esta revisão torna-se, assim, relevante, pois estes parasitos foram descritos no final do século 19 e início do século 20, sendo muito pouco ou em nada estudados nas últimas décadas.

### IV.II. COLETA DE CARAMUJOS E ACONDICIONAMENTO EM LABORATÓRIO

Os caramujos foram coletados manualmente considerando as características comportamentais de gastrópodes terrestres e dulcícolas, o hábito alimentar, a necessidade de umidade, e a afinidade a temperaturas ligeiramente mais elevadas ou não tiveram papel

fundamental para identificação dos prováveis habitats destes animais na região, facilitando a coleta de espécimes a serem estudados.

As coletas foram realizadas em algumas localidades dos municípios do Rio de Janeiro (Maciço do Mendanha e Campo Grande), Seropédica (*Campus* UFRRJ) e Mangaratiba (Ilha da Marambaia).

#### **IV.II.I. Caramujos dulcícolas**

Os caramujos dulcícolas foram coletados e mantidos juntamente com uma parte da água do local onde foram encontrados pelo período no qual foram examinados. Foram mantidos em aquários de seis litros e alimentados com alface. A metade da água destes aquários foi substituída esporadicamente por água mineral para manter o ambiente adequado para a sobrevivência destes animais em laboratório. Após a realização dos exames necessários os espécimes foram devolvidos ao seus respectivos locais de origem.

#### **IV.II.II. Caramujos terrestres**

Os caramujos terrestres foram mantidos em laboratório em recipientes com fundo coberto com terra esterilizada e umedecida duas vezes por semana, quando estes apresentavam tamanho significativo e por este motivo permitem a melhor visualização de suas fezes favorecendo a coleta. Os caramujos menores como *Bulimulus* spp. foram mantidos em recipiente similar, mas utilizando papel filtro para manter a umidade do ambiente, permitindo assim a melhor visualização e conseqüentemente o processamento laboratorial. Ambos os recipientes foram cobertos por um tecido fino preso que permitiu a respiração dos animais e o isolamento de insetos. Foram alimentados com alface, pepino e/ou cenoura.

#### IV.III. IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES

Os espécimes de gastrópodes coletados e examinados durante a realização deste trabalho foram identificados pela Dr. Solange Viana Paschoal Blanco Brandolini (Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro), a qual é bióloga, parasitologista com ênfase em parasitos de gastrópodes.

#### IV.IV. PROCESSAMENTO LABORATORIAL

O processamento laboratorial deu-se primeiramente através do método de Sheater. As amostras de fezes dos caramujos dulcícolas foram colocadas em tubo de ensaio completando 13ml e homogêneas, caso de espécimes terrestres, a amostra foi completada com água destilada.

Após esta etapa, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2.000 rotações por minuto (RPM) para que os oocistos ficassem retidos no fundo da amostra por serem mais densos que a água, e o sobrenadante descartado.

As amostras então foram completadas até 13 ml com solução saturada de sacarose (325ml de água destilada para 500g de sacarose) e centrifugadas novamente por 10 minutos a 2.000 RPM.

Pelos oocistos serem menos densos que a solução saturada, após a centrifugação, sobem para a superfície do tubo enquanto o restante do material fica no fundo, então os tubos foram completados delicadamente até a borda com solução saturada onde foi colocada uma lamínula durante 15 minutos para a aderência dos possíveis oocistos, após este período as lâminas foram montadas e examinadas em microscópio óptico. Caso algum parasita fosse encontrado este era identificado e o restante do material descartado.

Com o decorrer da pesquisa e os exames realizados em laboratório, houve dificuldade de visualização de oocistos exclusivamente nas fezes de gastrópodes. Em função da possibilidade de parasitas renais eliminarem oocistos através das excretas conduziu-se um segundo procedimento para coleta de amostras: procedeu-se com a troca semanal do recinto

onde os caramujos terrestres estavam mantidos. No recinto utilizado, contendo o papel filtro umedecido com excretas e fezes dos caramujos, foi adicionada a solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), mantendo-se em temperatura ambiente, com contato com oxigênio atmosférico. Esta solução foi examinada duas vezes no intervalo de 7 a 10 dias, para a visualização de possíveis formas parasitárias esporuladas de acordo com o método descrito por Duszynski e Wilber (1997).

As amostras homogeneizadas foram centrifugadas por 10 minutos a 2.000 RPM em dicromato de potássio, após o procedimento o sobrenadante foi descartado e as amostras completadas com solução saturada de açúcar e centrifugada novamente, da mesma maneira as amostras foram completadas até a borda com solução saturada onde foi colocada uma lamínula pelo período de 15 minutos para a aderência dos oocistos nesta.

Foram realizados cerca de 3 exames para cada animal, no período de agosto de 2013 até junho de 2014

#### IV.V. DESCARTE

Os espécimes examinados que sobreviveram o período em laboratório foram devolvidos aos locais de origem, os demais foram incinerados junto com os demais materiais biológicos do Departamento de Biologia Animal do Instituto de Biologia da UFRRJ.

## V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### V.I. ESPÉCIMES DE GASTRÓPODES COLETADOS

Durante o período de estudo foram coletados 144 caramujos, de oito espécies diferentes, dentre elas quatro de caramujos dulcícolas (*Melanooides* sp., *Pomacea* sp., *Physa* sp. e *Biomphalaria* sp.) e quatro de caramujos terrestres (*Achatina fulica*, *Bradybaena similaris*, *Bulimulus tenuissimus* d'Orbigny, 1835. e *Subulina octona*) (Tabela I).

Os gastrópodes coletados são herbívoros e, por este motivo, foram encontrados próximo a vegetações, muitas vezes aderidos a estas, também em locais protegidos do sol com umidade, como embaixo de pedras, sendo mais facilmente vistos próximo a períodos chuvosos. Foi observado durante as coletas que *Melanooides* sp. foram mais facilmente encontrados em dias ensolarados enquanto *Physa* sp., *Biomphalaria* sp., *Pomacea* sp. e *B. tenuissimus*. em dias chuvosos.

### V.II. PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE OOCISTOS

A revisão de literatura embasou que os coccídios de gastrópodes detectáveis e identificáveis em amostras de fezes/urina pertencem aos gêneros *Klossia*, *Pfeifferinella* e *Barroussia*. As formas de diagnóstico são os oocistos que podem ser diferenciados e identificados conforme a morfologia dos oocistos. As principais características morfológicas de diferenciação e identificação dos gêneros e espécies estão demonstradas na Tabela I.

**Tabela I.** Características para identificação dos oocistos de coccídios de gastrópodes.

Gêneros	Características							Referências
	Oocistos				Esporocistos			
	Dimensões	Forma	Parede	Micrópila	Número por oocisto	Forma	Número de esporozoítos	
<i>Klossia</i>	40 a 180 µm	Subesférico	-	-	muito variável (até 160)	esféricos	4	Wenyon (1923)
<i>Pfeifferinella</i>	14,5 a 21 µm	Ovóide	lisa	Presente	ausente	-	8	Wacha (1980)
<i>Barroussia</i>	16 a 40 por 15 µm	subesférico a elipsóide	dupla ou tripla	Ausente	4 até 30	duas valvas (sutura longitudinal)	1	Wenyon (1923)

### V.III. OBSERVAÇÕES NOS EXAMES FECAIS

Nos exames realizados, em espécimes terrestre foi observada a presença de helmintos, tanto em forma de ovos quanto de larvas (Tabela II). Já nos exames em caramujos dulcícolas quanto a oocistos de coccídios, foram observados oocistos de *Isospora* sp. no primeiro exame feito nos espécimes de *Pomacea* sp., provavelmente oriundo de uma contaminação por fezes de pássaros, já que os caramujos foram mantidos com parte da água do ambiente em que foram coletados, e de *Physa* sp. também houve resultado positivo para nematoides.

**Tabela II:** Resultados dos exames coproparasitológicos realizados em gastrópodes coletados em diferentes localidades do Estado do Rio de Janeiro, no período de agosto de 2013 até junho de 2014.

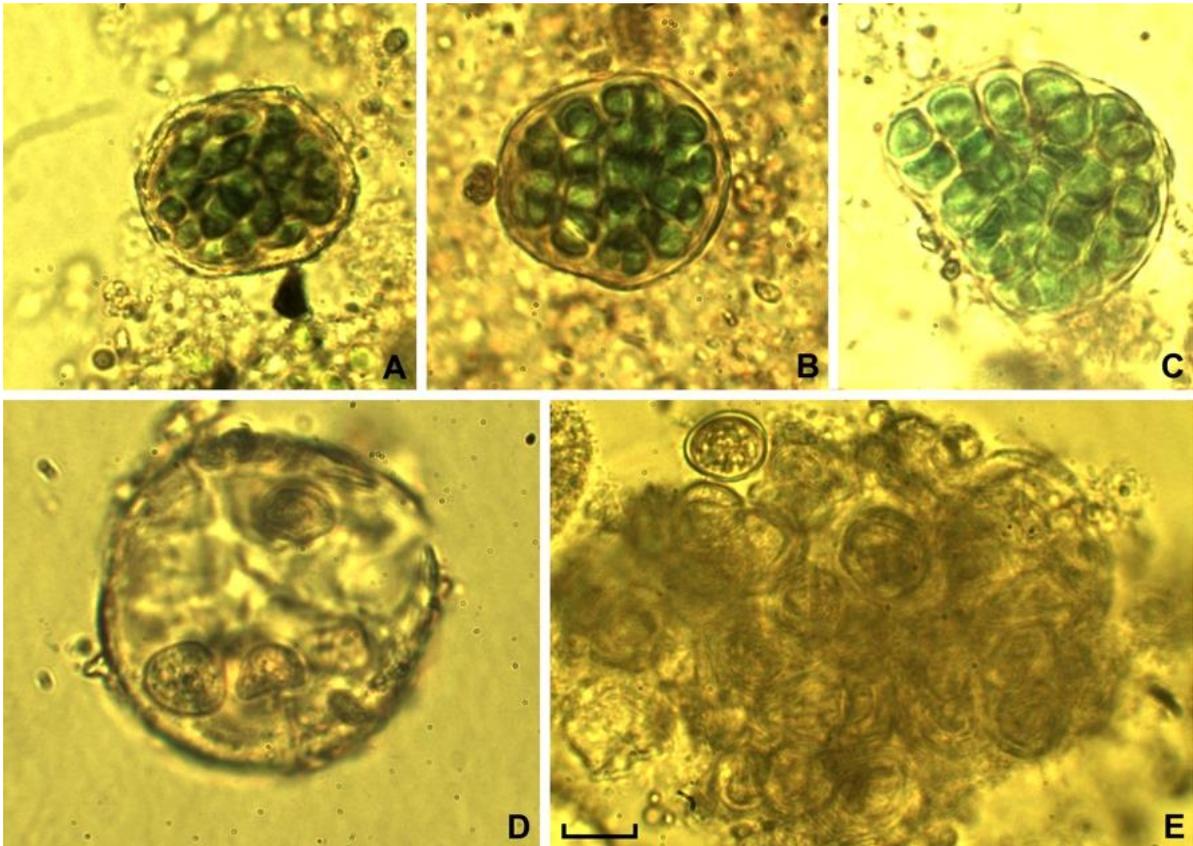
<b>Identificação</b>	<b>Quantidade<sup>a</sup></b>	<b>Localidade</b>	<b>Resultado</b>
<i>Achatina fulica</i>	2	Maciço do Mendanha, Rio de Janeiro	Positivo (ovos e larvas de nematóides) <sup>b</sup>
<i>Achatina fulica</i>	5	Ilha da Marambaia, Mangaratiba	Negativo
<i>Biomphalaria</i> sp.	3	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Bradybaena similaris</i>	32	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Bradybaena similaris</i>	1	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Bulimulus tenuissimus</i>	1	Campo Grande, Rio de Janeiro	Positivo (ovos de nematóides) <sup>b</sup>
<i>Bulimulus tenuissimus</i>	4	Campo Grande, Rio de Janeiro	Positivo (oocisto) <sup>c</sup>
<i>Bulimulus tenuissimus</i>	3	Campo Grande, Rio de Janeiro	Negativo
<i>Bulimulus tenuissimus</i>	6	Campo Grande, Rio de Janeiro	Negativo
<i>Melanooides</i> sp.	11	Ilha da Marambaia, Mangaratiba	Negativo
<i>Melanooides</i> sp.	8	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Melanooides</i> sp.	10	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Pomacea</i> sp.	6	Campus UFRRJ, Seropédica	Positivo (oocisto) <sup>b</sup>
<i>Physa</i> sp.	46	Campus UFRRJ, Seropédica	Positivo (ovos de nematóides) <sup>b</sup>
<i>Physa</i> sp.	3	Campus UFRRJ, Seropédica	Negativo
<i>Subulina octona</i>	3	Campus UFRRJ, Mendanha	Negativo
<b>Total</b>	<b>144</b>		

<sup>a</sup>Número de caramujos mantido no mesmo recinto; <sup>b</sup>provável contaminação; <sup>c</sup>provável espécime de *Klossia* sp.

Estes resultados reforçam a importância da cautela em identificações em gastrópodes, uma vez que estes animais habitam no solo ou água facilmente contaminada com parasitos de outros hospedeiros. Neste sentido, vale ressaltar que *Isospora rara* Schneider, 1881 descrito de *Limax cinereoniger*, espécie-tipo do gênero *Isospora*, foi uma descrição equivocada de uma *Isospora* de pássaro que deve ter sido ingerida acidentalmente pelo caramujo e liberada em suas fezes, semelhante a esta relatada neste trabalho.

Formas semelhantes àquelas descritas para oocistos do gênero *Klossia*, foram observadas na segunda coleta de *B. tenuissimus*. de Campo Grande, Rio de Janeiro (Figura XI). Estes possíveis oocistos foram sub-esféricos a irregulares, medindo aproximadamente 20 a 40  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Parede do oocisto fina e delgada, e dependendo do estágio de desenvolvimento dos esporocistos estava íntegra, tensionada ou rompida. Os esporocistos variaram muito em tamanho dependendo de seus estágios de desenvolvimento, porém quando totalmente desenvolvidos foram elipsóides e mediram cerca de 10 por 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro em média. Os esporozoítas foram dificilmente observados devido a uma grande quantidade de resíduo dentro do esporocisto, porém em alguns foi possível contar quatro esporozoítas dentro de cada esporocisto.

Devido a escassez de trabalho sobre *Klossia*, e a ausência de fotomicrografias ou desenho recentes de oocistos deste gênero, não é possível confirmar e certificar esta identificação utilizando apenas a morfologia dos oocistos e esporocistos. Entretanto os rins dos espécimes positivos para estes possíveis oocistos estão sendo histologicamente processados em um estudo paralelo para complementação e certificação do parasitismo por *Klossia* sp. em caramujos *B. tenuissimus*. no Brasil.



**Figura XI.** Possíveis oocistos de *Klossia* sp. recuperados das excretas de caramujos *B. tenuissimus* em Campo Grande, Rio de Janeiro. A-C. Oocistos com esporocistos não completamente desenvolvidos. D-E. Oocistos com parede rompida, contendo esporocistos com quatro esporozoítas e resíduo. Escala: 10  $\mu$ m.

Em Minnesota e Washington, USA, Fritsche (1987) realizou um dos únicos estudos de levantamento de coccídios em gastrópodes. Neste estudo, oocistos foram recuperados de amostras fecais de 89 de 543 (16 %) caramujos das famílias Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae e Succineidae. Oocistos identificados como *Pfeiferinella ellipsoides* foram

recuperados a partir de 21 de 101 (21%) *Stagnicola elodes*, 2 de 94 (2%) *Physa gyrina* e 4 de 67 (6%) *Aplexa hypnorum*. Oocistos identificados como *Pfeiferinella gugleri* foram recuperados de 8 de 41 (20%) *Oxyloma retusa*, e oocisto não identificados foram recuperados de 54 de 100 (54%) *Helisoma trivolvis*.

No estudo atual, nenhum oocisto de *Pfeiferinella* sp. foi observado, apesar de ter-se coletado caramujos de mesmas famílias coletadas por Fritsche (1987). Caso seja confirmada a identificação de *Klossia* sp. nos quatro caramujos *B. tenuissimus* a prevalência deste estudo seria de 3% (4/144), que é ainda bastante aquém daquela obtida por Fritsche (1987), além de referir-se a outro gênero de coccídio.

## VI. CONCLUSÃO

Após a obtenção destes resultados pode-se concluir que:

(1) Gastrópodes terrestres e dulcícolas são facilmente observados em habitats e com condições ambientais propícias no Estado do Rio de Janeiro;

(2) Mesmo sendo os gastrópodes animais suscetíveis ao parasitismo por *Pfeifferinella* spp. no Novo Mundo, este parasita não foi observado no caramujos coletados neste trabalho;

(3) Oocistos semelhantes a *Klossia* sp. foram observados, porém precisam ser confirmados;

(4) Oocistos de gêneros de coccídios improváveis de serem parasitas de gastrópodes observados nas fezes destes, ressalta a possibilidade de contaminações que podem promover diagnósticos e/ou identificações equivocadas.

## VII. REFERÊNCIAS

ARROYO, R. M. J.; MOLINA S.; TROPER L.; AMADOR A. Fascioliasis hepática humana en Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* 2(1):35-57, 1981.

AVERINTZEW, S. On the coccidia in the intestine of *Cerebratulus* sp. (Preliminary communication). *Trudy Imperator. St.Petersburg. Obshch. Estestvoispytal., V.1, Protok. Zased.*, 39:320-329, 1909.

BARTA, J. R.; OGEDENGBE, J. D.; MARTIN, D. S.; SMITH T. G. Phylogenetic position of the adeleorinid coccidia (Myzozoa, Apicomplexa, Coccidia, Eucoccidiorida, Adeleorina) inferred using 18S rDNA sequences. *J Eukaryot Microbiol*; 59(2): 171-180. PMID:22313415. 2012 <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2011.00607>>

BERTO, B. P.; MCINTOSH, D.; LOPES, C. W. G. .Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [online]., vol.23, n.1, pp. 1-15. ISSN 1984-2961. 2014 <<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014001>>

BOFFI, A.V. Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico. Hucitec. 128p. São Paulo, 1979.

BERTO, B. P.; LOPES, B. B.; FILHO, W. L. T.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Coccídios de invertebrados associados ao hábito alimentar de vertebrados: uma revisão breve dos gêneros *Adelea*, *Adelina* e *Barroussia*, *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(1):33-41, Rio de Janeiro, 2010.

CALLIL, C. T. & MANSUR, M. C. D. Corbiculidae in the Pantanal: history of invasion in southeast and central South America and biometrical data. *Amazoniana-limnologia et Oecologia Regionalis Systemae Fluminis Amazonas*, 17: 153-167, 2002.

CARINI, A. Sobre uma *Barrouxia* parasito do tubo intestinal de hemípteros do gênero *Belostoma*. *Arq. Biol. São Paulo*, 26:212-215, 1942.

COSTA C. S. R; ROCHA R. M. Invertebrados – manual de aulas práticas 2ª Edição. Ribeirão Preto, Holos, 2006.

DARRIGRAN, G.; EZCURRA DE DRAGO, I. Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The Nautilus*, 114: 69-73. 2000

DUSZYNSKI, D.W. Couch L. & Upton S.J. The Coccidian Genus *Barroussia*, 1999.  
<<http://biology.unm.edu/biology/coccidia>>.

DUSZYNSKI, D.; WILBER, P. A guideline for the preparation of species description in the eimeriidae. Harold W. Manter Laboratory of Parasitology, 4-1-1997.

FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C.; BOAVENTURA, M. F. Gastrópodes límnicos do Campus de Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34: 279-282, 2001

FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C. & SIMONE, L. R. Distribution of the introduced freshwater snail *Melanooides tuberculatus* (Gastropoda: Thiariidae) in Brazil. *The Nautilus*, 117: 78-82, 2003.

FRITSCH T. R.; Studies on the Coccidian Parasites (Apicomplexa: Eimeriidae and Pfeifferinellidae) of Pulmonate Gastropods, *J. Protozool.*, 34(1), pp. 75-78, 1987

GRENFELL, R.; MARTINS, W.; MORAES, V. S.; ARAUJO, N.; OLIVEIRA, E.; FONSECA, C.; COELHO, P. M. Z.; The schistosomula tegument antigen as a potential candidate for the early serological diagnosis of schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo* , v. 55, n. 2, Apr. 2013 .

LÉGER, L.; HOLLANDE, A. C. L a reproduction sexuée chez les coccidies monosporés du genre *Pfeifferinella* (note préliminaire). *Arch. Zool. Exp. Gén., Sér. 5*, 9 (Notes et Rev.): i-viii. 1912

LEIBENGUTH, F. Mikrospektrophotometrische Untersuchungen zur Kernhypertrophie nach Infektion mit *Klossia helicina*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 39, n. 3, p. 211-220, 1972.

LEVINE, N. D. *Erhardorina* n. g., *Ascogregarina polynesiensis* n.sp., *Eimeria golemanskii* n.sp., *Isospora tamariscini* n.sp., *Gregarina kazumii* n. nom., new combinations and emendations in the names of apicomplexan protozoa. *J. Protozool.*, 32:359-363, 1985.

LEVINE, N. D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J. Parasitol.*, 66:830-834, 1980.

LEVINE, N. D. The genera *Barrouxia*, *Defretinella*, and *Goussia* of the coccidian family Barrouxiidae (Protozoa: Apicomplexa). *J. Protozool.*, 30:542-547, 1983.

MACIEL, N. C.; ARAÚJO, D.S.; MAGNANINI, A. Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (Ilha Grande, Angra dos Reis, Brasil). *FBCN* 19: 126-148. 1984

MCALLISTER, C. T. *Pfeifferinella gugleri* (Apicomplexa: Pfeifferinellidae) from Roemer's Snail *Mesodon roemeri* (Gastropoda: Polygyridae) in North Central Texas U.S.A. *Comp Parasitol*; 80(1): 120-122, 2013. <[http:// dx.doi.org/10.1654/4580.1](http://dx.doi.org/10.1654/4580.1)>

MILWARD-DE-ANDRADE, R.; CARVALHO, O. S.; GUIMARÃES, C. T. Alguns dados biológicos de *Pomacea haustum* (Reeve, 1856), predador-competidor de hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 12: 78-89, 1978.

OLIVEIRA, M. P.; REZENDE, G. J. R.; CASTRO, G. A. *Catálogo dos moluscos da Universidade Federal de Juiz de Fora*. Juiz de Fora, MG: Ed. Da Universidade Federal de Juiz de Fora, 1981.

OLIVEIRA, M. P.; SÁ, R. C. S.; BESSA, E. C. A. *Moluscos catálogo*. Juiz de Fora, MG: Ed. da Universidade Federal de Juiz de Fora, 1992.

PARAENSE, W. L. Gastropoda. In: Hurlbert, G. R. & Santos, N. D. (Ed) *Aquatic Biota of Tropical South América*, part. 2: Anarthropoda. Califórnia, San Diego State University. pp.200-207, 1981b

PARANHOS, A. D. N.; PINTO, S. L.; Informações preliminares sobre o zooplâncton e gastrópodes coletados no litoral do estado do Piauí- Brasil. *Taxonomia*, Dept. de Biologia – CCN, UFP, 1998.

PAULINY, H. M.; PAULINI, E. Observações de laboratório sobre o controle biológico de *Biomphalaria glabrata* pela *Pomacea* sp. (*Ampullaria*). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 23:135-149, 1971.

PLENS, C. R., *Análise do processo de formação de um sambaqui fluvial Cláudia Regina Plens*, São Paulo, 2007.

RAPADO, L. N.; LOPES, P. O. M.; YAMAGUCHI, L. F.; KAKANO E. Brief communication ovicidal effect of piperaceae species on *Biomphalaria glabrata* *Schistosoma mansoni* Host, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2013.

RAUT, S. K.; PANIGRAHI, A. Egg-nesting in the garden slug *Laevicaulis alte* (Férussac) (Gastropoda: Soleolifera). *Malacological Review*, 21, 101-107, 1988.

SANTOS, S. N.; MONTEIRO, O. P., *Composição de gastrópodes terrestres em duas áreas do Centro de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Sustentado (CEADS), Vila Dois Rios, Ilha Grande, RJ*, 2001.

THIENGO, S. C. O. gênero Pomacea. In: Barbosa, F. S. (Org.) Tópicos em Malacologia Médica, Brasil: Editora Fiocruz, 314 pp, 1995.

THIENGO, S. C. Helminhos de interesse médico-veterinário transmitidas por moluscos no Brasil. Rio de Janeiro, RJ: Resumos XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia: 72-73, 2003.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A.; BOAVENTURA, M. F.; Storti, M. A. A survey of gastropods in the Microrregião Serrana of Rio de Janeiro, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 93: 233-234, 1998.

THOMÉ, J. W.; LOPES, V. L. R. Aulas práticas de zoologia, I. Dissecção de um molusco gastrópode desprovido de concha. *Iheringia, série Divulgação* (3), 34-45, 1973.

TOMIYAMA, K.; MIYASHITA, K.; Variation of egg clutches in the Giant African snail, *Achatina fulica* (Ferussac) (Stylomatophora; Achatinidae). *Venus*, 51(4):293-301, 1992.

TRIFFIT, M. J.; BUCKLEY, J. J. C. On a new parasitic protozoon associated with a sickness in a bilharzian intermediate host. *J. Helminthol.*, 10:45-52, 1932.

UPTON, S.J.; WHITAKER, B. R. New species of *Isospora* (Apicomplexa, Eimeriidae) from the troupial and white-edged oriole (*Icterus* spp.) (Aves, Passeriformes, Icteridae). *Acta Parasitol* 2000; 45: 67-70, 2000

VAZ, J. F.; TELES, H. M. S.; CORRÊA, M. A. & LEITE, S. P. S. Ocorrência no Brasil de *Thiara* (Melanoides) turbeculata primeiro hospedeiro intermediário do *Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875) (Trematoda: Platyhelminthes). *Revista de Saúde Pública*, 20: 318-322, 1986.

VIDIGAL T. H. D. A.; MARQUES M. M. G. S. M.; LIMA H. P.; BARBOSA F. A. R. Gastrópodes e bivalves límnicos do trecho médio da bacia do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil, Instituto de ciências biológicas – UFMG, Belo horizonte, 2005.

WACHA, R. S. On the taxonomic status of the Family Pfeifferinellidae (Coccidia), with a description of *Pfeifferinella gugleri* sp. n. *Journal of Protozoology* 27:368–371, 1980.

WENYON, C. M. *Protozoology - A manual for Medical men, Veterinarians and Zoologists*. New York: William, Wood and Company, 1926. 1396p.

WENYON, C. M. *Protozoology - A manual for Medical men, Veterinarians and Zoologists*. Vol. 2. New York: William, Wood and Company, 1926. 1396p.