



CONEPE 2019

**VI CONGRESSO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO**

educação, ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável



**INSTITUTO
FEDERAL
Fluminense**
Campus
Campos Guarus

ISSN 2525-975X

ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS E HISTOPATOLÓGICAS EM BIOMPHALARIA GLABRATA INDUZIDAS POR HETERORRHADITIS BACTERIOPHORA: UMA PERSPECTIVA BIOSUSTENTÁVEL AO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE

Willian Teles Alves-Leite^{1*}; Leticia Chagas¹, Camila Sampaio¹, Ludimila Santos Amaral², Vinícius Menezes Tunholi-Alves

¹Universidade Estácio de Sá; ²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

* jiim.teles@gmail.com

Resumo

Heterorhabditis bacteriophora é um nematoide entomopatogênico (NEP), amplamente utilizado no controle biológico de numerosos organismos. A espécie de *Biomphalaria glabrata* são os principais hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil, com isso, este estudo relata a suscetibilidade de *B. glabrata* a juvenis infectantes de *H. bacteriophora* em condições experimentais. Foram formados seis grupos: três grupos controle e três grupos infectados, expostos a cargas variáveis do nematóide por 21 dias. O experimento foi realizado em duplicata, utilizando um total de 240 moluscos. Significativas alterações em *B. glabrata* foram observadas em resposta à infecção por *H. bacteriophora*, vista pelos parâmetros reprodutivos reduzidos como consequência da infecção. Os resultados indicam a ocorrência de castração parasitária em *B. glabrata*, devido à depleção do galactogênio no organismo parasitado. Embora, a infecção não tenha causado letalidade na população de moluscos expostos, houve comprometimento do desempenho reprodutivo dos mesmos, sugerindo sua aplicabilidade em programas no controle biológico.

Palavras-chave: Nematóide entomopatogênico, Controle biológico, Castração parasitária.

1. Introdução

Dentre as doenças parasitárias de importância em saúde pública, a Esquistossomose é aquela que assume maior importância, por apresentar áreas endêmicas em várias regiões do mundo inclusive no Brasil. Entretanto, para que a mesma possa se estabelecer como uma endemia, é necessário um conjunto de elementos, sendo a falta de saneamento básico e a presença de moluscos dulcícolas, fatores de risco ligadas à sua transmissão [1].

O molusco *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), está comumente associado à alta morbidade da esquistossomose, doença infecto-parasitária causada por *Schistosoma mansoni* [2]. Dessa maneira, esses moluscos assumem papel de destaque no ecossistema de transmissão dessa parasitose, configurando alvos potenciais ao seu controle. Ao longo de anos, esse controle populacional de moluscos foi marcado pela utilização agentes químicos, como a niclosamida [3]. Todavia, esses compostos geram grandes impactos ambientais, apresentando baixa seletividade, indícios crescentes de resistência a tais compostos e impactos ao meio ambiente, tais como a contaminação do solo e lençóis freáticos [4], [5].

No intuito de substituir essas metodologias com utilização de substâncias químicas que são prejudiciais tanto a saúde animal quando a humana, torna-se necessário a busca de novas metodologias visando um controle seletivo e biosustentável. Dentre elas, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs), que segundo alguns autores [6], inicialmente foram utilizados para o controle populacional de carrapatos devido sua importância no impacto econômico na

agropecuária e transmissão de doenças ao homem, no qual com resultados bastante promissores no controle biológico [6].

No entanto, são escassas as investigações a respeito da patogenicidade de NEPs em moluscos, limitando o entendimento dessa interface. Assim, o presente trabalho apresenta como objetivo avaliar o grau de susceptibilidade de *B. glabrata* a infecção por *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976), buscando entender melhor esse sistema de relação parasito-hospedeiro, com foco sobre a biologia reprodutiva do hospedeiro, determinando as alterações em número total de ovos, eclodibilidade e viabilidade, bem como as alterações histopatológicas em *Biomphalaria glabrata* frente a exposição ao NEP *Heterorhabditis bacteriophora*, como alternativa no controle da esquistossomose.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Para a realização do estudo foram utilizadas gerações de *B. glabrata* mantidas no laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (Fiocruz/IOC). Os nematoides foram doados pelo Laboratório de controle microbiano de carrapatos da UFRRJ.

2.2. Metodologia

Todo o experimento foi conduzido em duplicata utilizando um “n” total de 240 moluscos [7]. Para a infecção, foram utilizadas placas de 24 furos previamente preenchidas com 300 juvenis infectantes e 2500 μ L de água destilada, seguindo metodologia [8]. Em sequência, os moluscos foram separados em seis grupos: 3 grupos controles, formados por moluscos não infectados, e três grupos tratados, consistindo de moluscos que foram expostos ao nematoide.

A dissecação e coleta de tecidos para análises histopatológicas foi realizada de acordo com metodologia [9]. Três moluscos de cada grupo experimental foram dissecados e transferidos para fixador Duboscq-Brasil [10]. Os tecidos foram processados seguindo metodologia [11], e em seguida, secções de (5 μ m) foram coradas com hematoxilina-eosina e observadas sob microscopia de luz. As imagens foram capturadas por camera digital MRc5 AxioCam e processadas com o software Axiovision.

As análises reprodutivas foram determinadas a partir da remoção de placas de poliestireno dos aquários e o número de massas e ovos depositados foram contados sob microscópio estereoscópico em dias alternados até três semanas após a infecção. Após a contagem, as placas foram numeradas individualmente e colocadas em novos aquários livres. Em seguida, as massas de ovos foram observadas para a determinação de sua eclodibilidade. A viabilidade dos ovos foi expressa em porcentagem, e o número de ovos eclodidos dividido pelo número de ovos

postos em cada grupo experimental, multiplicado por 100 [12].

3. Resultados e Discussão

Alterações na atividade reprodutiva de *B. glabrata* frente a exposição por *H. bacteriophora* foram observadas ao longo das três semanas de estudo, diferindo significativamente do padrão apresentado pelo grupo controle. A infecção induziu redução no número de massas ovíferas em relação a moluscos não infectados ($18,67 \pm 1,68$), com os menores valores registrados na terceira semana de exposição ($7,75 \pm 1,45$).

Mesma tendência foi observada para o número total de ovos, com redução verificada logo na primeira semana de estudo ($209,3 \pm 15,9$). Tais valores representam um decréscimo de 56,36%, diferindo dos valores apresentados pelo grupo controle ($479,2 \pm 14,59$). Na segunda semana de exposição, a redução foi de 54,52%. Enquanto que na terceira semana, a redução oscilou próximo a 58%.

Em relação a taxa de eclodibilidade, a exposição por *H. bacteriophora* também induziu variações importantes, sendo significativamente menor em relação a moluscos controle. Na primeira semana de exposição, o valor médio de eclodibilidade oscilou próximo a 61,42% ($128,02 \pm 23,52$), representando um decréscimo de 38,75% em relação ao número total de ovos postos. Já para o grupo controle, a taxa de eclodibilidade oscilou próxima a 95%, com valores médios de ($446,8 \pm 25,64$) na primeira semana de exposição; ($423,3 \pm 10,05$) na segunda semana de infecção e ($515,8 \pm 16,16$) na terceira semana de estudo.

Os resultados histopatológicos revelaram a presença do NEP em um corte transversal próximo a câmara palial de *B. glabrata*, indicando a sua susceptibilidade. Apesar da ausência de um infiltrado inflamatório, os resultados apontam para uma alteração na reserva funcional do molusco e a formação de ovócitos. Na glândula digestiva a ocorrência do aumento de áreas interacinares, presença de material amorfo, expressiva perda do epitélio e ainda vacuolizações, além da perda da caracterização do epitélio cúbico. Já no ovotestis houve um comprometimento direto, que se fez principalmente na parte feminina do sistema reprodutor hermafrodita pela diminuição de ovócitos e pela própria deformidade apresentada nos resultados histopatológicos.

A exposição resultou em alterações significativas na biologia reprodutiva do hospedeiro, caracterizada pelo decréscimo no número de ovos postos, massas ovíferas, bem como na diminuição da taxa de eclodibilidade dos embriões. Na esfera reprodutiva, o fenômeno da castração parasitária tem sido comumente mencionado. Esse processo é caracterizado por uma supressão nos parâmetros reprodutivos, tendo sua causa associada a dois possíveis mecanismos [13]: a) direto, quando se observa danos em estruturas gonadais do hospedeiro decorrentes a ação espoliativa imposta por estádios parasitários; b) indireto, caracterizado por depleção nas concentrações de reservas energéticas do organismo parasitado.

Com as alterações histológicas somadas ao dano tecidual, foi observado concomitantemente um comprometimento do status energético do hospedeiro, evidenciado pelo decréscimo nas quantidades de galactogênio estocados na glândula de albúmen, localizada anexa ao sistema reprodutor, e que é importante para o desenvolvimento inicial do embrião, constituindo o fluido perivitelínico, que supre toda a demanda utilizada, especialmente na fase inicial do seu desenvolvimento mitótico. Fato este que induz uma série de alterações na fisiologia reprodutiva que foi caracterizada pela queda na postura de ovos, redução do número total de massas

ovígeras e decréscimo na viabilidade embrionária que foi determinada exatamente por uma queda na eclodibilidade do mesmo.

4. Conclusões

A exposição experimental ao nematoide *H. bacteriophora* ocasionou mudanças histológicas importantes na glândula digestiva e ovotestis de *B. glabrata*, marcadas pela perda da estrutura epitelial e comprometimento na reserva funcional. Esses dados, somados as alterações na biologia reprodutiva de moluscos expostos nos permite tendenciar um possível método no controle biosustentável da esquistossomose por comprometer diretamente a dinâmica populacional do hospedeiro intermediário.

Agradecimentos

FAPERJ e CNPq.

Referências

- [1] CARVALHO, M.S.; ZEQUIM, M.A., 2003. **Doenças Infecto-contagiosas Relacionadas as Carências Habitacionais na Cidade de Londrina – Paraná (Brasil)**. Scripta Nova. Vol. VII, núm. 146(113).
- [2] MINISTERIO DA SAUDE, 2014. **Vigilância da esquistossomose mansoni: Diretrizes técnicas**. Ed.14, pág.13-16.
- [3] Machado, P.A., 1982. **The Brazilian program for schistosomiasis control**. Am. J. Trop. Med. Hyg. 31, 76–86.
- [4] Pieri, O.S., 1995. **Perspectivas no controle ambiental dos moluscos vetores da schistosomiasis**. In: Barbosa, F.S. (Ed.), Tópicos em Malacologia Médica. Fiocruz, Rio de Janeiro, pp. 239–252.
- [5] Sarquiz, O., Pieri, O.S., Cunha, R.A., Juberg, P., 1998. **Effects of Bayluscide WP70 on the kinetic behavior of Biomphalaria straminea in laboratory conditions**. Mem Inst Oswaldo Cruz 93, 239–241.
- [6] Veríssimo, C. J., 2015. **Controle de carrapatos nas pastagens**. Nova Odessa, São Paulo, Ed. 2, pág. 69-72.
- [7] MORLEY, N. J.; MORRITT, D., 2006. **The effects of the slug biological control agent, Phasmarhabditis hermaphrodita (Nematoda), on non-target aquatic molluscs**. Journal of Invertebrate Pathology, v.92, p.112–114.
- [8] Tunholi, V.M., Tunholi-Alves, V.M.; Monteiro, C.M.O., Silva, L.C., Dolinsk, C., Castro, R.N., Bittencourt, V.R.E.P., Pinheiro, J., Martins, I.V.F., 2017. **Biological, biochemical 568 and histological features of Bradybaena similaris (Gastropoda: Pulmonata) infected by Heterorhabditis indica (Rhabditida: Heterorhabditidae) strain LPP1**. Exp Parasitol 179, 28-35.
- [9] Tunholi, V.M., Monteiro, C.O., Silva, L.C., Dolinski, C.M., Dos Santos, M.A.J., 561 Rodrigues, M.L.A., Bittencourt, V.R.E.P., Pinheiro, J., Tunholi-Alves, V.M., 2014. **Physiological alterations in Bradybaena similaris (Stylommatophora: bradybaenidae) 563 induced by the entomopathogenic nematode Heterorhabditis indica (Rhabditida: 564 heterorhabditidae) strain LPP1**. Exp Parasitol 139, 12–18.
- [10] Fernandes, M.C., 1949. **Métodos Escolhidos de Técnica Microscópica**. second ed. 432 Imprensa Nacional, Rio de Janeiro.
- [11] Humason, G.L., 1979. **Animal Tissue Techniques**. fourth ed. W.H. Freeman, San Francisco, USA.
- [12] Tunholi-Alves, V.M., Tunholi, V.M., Lustrino, D., Amaral, L.S., Thiengo, S.C., Pinheiro, J., 2011. **Changes in the reproductive biology of Biomphalaria glabrata experimentally infected with the nematode Angiostrongylus cantonensis**. J Invertebr Pathol 108, 220-223.
- [13] Baudoin, M., 1975. **Host castration as a parasitic strategy**. Evolution 29, 335–352.