

## Atração miraxonal exercida por *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* e *Physa* sp, sobre miracídios de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH\*

Luiz A. Magalhães\*\*, Eliana M. Zanotti-Magalhães\*\*, José F. de Carvalho \*\*\*, Marina Faraone\*\*\*\*

MAGALHÃES, L. A. et al. Atração miraxonal exercida por *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* e *Physa* sp, sobre miracídios de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 25: 23-7, 1991. Utilizando-se um artefato de vidro composto de duas câmaras unidas por um canal, testamos a atração miraxonal exercida por *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* e *Physa* sp, sobre larvas de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH. Os moluscos, ou suas águas de condicionamento (SCW), foram colocados aleatoriamente em uma das câmaras, contendo o restante do artefato somente água deionizada. Dez miracídios foram depositados no centro do canal. O comportamento dos miracídios foi observado por 15 min. Foram feitas dez replicações de cada experimento, utilizando-se espécimens de moluscos e miracídios diferentes. Verificou-se que todos os moluscos e suas SCW exerceram atração miraxonal, sendo que *Physa* sp atraiu mais que *Lymnaea columella*. Foi isolado um único exemplar de *B. straminea* que exerceu efeito repulsivo sobre os miracídios de *S. mansoni*.

Descritores: *Biomphalaria*, fisiologia. *Lymnaea*, fisiologia. *Schistosoma mansoni*, fisiologia. Atividade motora.

### Introdução

Após os trabalhos de Kloetzel<sup>4,5</sup> (1958,1960), Etges e col.<sup>6</sup> (1963) e Brasio e col.<sup>1</sup> (1985), ficou confirmada a existência de atração exercida por moluscos vetores sobre miracídios de *Schistosoma mansoni*.

Foi verificado que os moluscos *Helisoma anceps* e *Bulinus* sp, não vetores de *S. mansoni* (Etges e col.<sup>6</sup>, 1963), e girinos de *Hyla fuscovaria* (Brasio e col.<sup>1</sup>, 1985) não exerciam atração miraxonal sobre larvas deste trematódeo.

A atração do miracídio exercida pelos hospedeiros intermediários faz-se mediante a ação de substâncias emanadas pelo caramujo na água. A água contendo essas substâncias, convencionou-se chamar de SCW, "snail conditioned water" (Chernin<sup>2</sup>, 1972). Brasio e col.<sup>1</sup> (1985) constataram a ação miraxonal de várias substâncias contidas na SCW e na hemolinfa de moluscos planorbídeos.

No presente trabalho pesquisamos a atração miraxonal exercida por *Biomphalaria straminea* e por sua SCW sobre miracídios de *S. mansoni* da linhagem BH (Paraense e col.<sup>8</sup>, 1963). Testamos também a possível atração miraxonal de *Lymnaea columella* e *Physa* sp (moluscos não vetores de *S. mansoni*) e de suas SCW sobre miracídios do mesmo trematódeo.

A pesquisa de atração miraxonal em moluscos não vetores do *S. mansoni* tem interesse em saúde pública, uma vez que os miracídios deste trematódeo poderão ser desviados de seus hospedeiros invertebrados em focos onde subsistam espécies de moluscos resistentes à infecção.

### Material e Método

Os moluscos utilizados no experimento foram exemplares adultos obtidos do moluscário do Departamento de Parasitologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Os exemplares de *B. straminea* eram descendentes de moluscos capturados no campo em Picos, Piauí. Os exemplares de *L. columella* e *Physa* sp eram descendentes de moluscos capturados na região de Campinas, SP.

Para a observação do comportamento dos miracídios, utilizou-se um artefato de vidro composto de duas câmaras circulares com 30mm de diâmetro e 20mm de profundidade, unidas por um canal de 40mm de comprimento, 11mm de largura e 10mm de profundidade (Brasio e col.<sup>1</sup>, 1985). Os experimentos foram realizados colo-

\* Realizado com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - Processo nº 405937/88).

\*\* Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) - Caixa Postal 6109 - 13081 Campinas, SP - Brasil. Pesquisadores do CNPq.

\*\*\* Departamento de Estatística do Instituto de Matemática e Ciências da Computação da UNICAMP.

\*\*\*\* Departamento de Parasitologia da UNICAMP Estagiária.

**Tabela 1.** Número de miracídeos de *S. mansoni* nas câmaras A (molusco) e B (água) e no canal C (contendo 10 miracídeos) após 15 min de observação, quando expostos a ação de uma das espécies de moluscos: *B. straminea*, *Lymnaea columella* ou *Physa* sp, na luz e na penumbra.

<i>B. straminea</i>						<i>Lymnaea columella</i>						<i>Physa</i> sp					
luz			penum.			luz			penum.			luz			penum.		
A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B
8	1	1	10	0	0	7	1	2	8	0	2	8	0	2	10	0	0
9	0	1	7	2	1	8	0	2	6	1	3	9	0	1	9	0	1
10	0	0	7	1	2	7	1	2	7	0	3	8	0	2	9	0	1
9	0	1	9	1	0	6	0	4	7	0	3	8	0	2	7	0	3
9	0	1	8	1	1	5	0	5	7	0	3	7	0	3	8	0	2
7	0	3	9	0	1	6	0	4	9	0	1	8	0	2	10	0	0
6	0	4	10	0	0	6	0	4	9	0	1	6	0	4	8	1	1
8	1	1	8	0	2	8	0	2	8	0	2	7	0	3	9	0	1
7	0	3	8	0	2	6	0	4	5	0	5	8	0	2	10	0	0
7	0	3	8	1	1	6	0	4	5	0	5	8	0	2	8	0	2

**Tabela 2.** Número de miracídeos de *S. mansoni* nas câmaras A (SCW) e B (água) e no canal C (contendo 10 miracídeos) após 15 minutos de observação, quando expostos a ação da SCW de uma das espécies de moluscos: *B. straminea*, *Lymnaea columella* ou *Physa* sp, na luz e na penumbra.

<i>B. straminea</i>						<i>Lymnaea columella</i>						<i>Physa</i> sp					
luz			penum.			luz			penum.			luz			penum.		
A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B
9	1	0	9	0	1	6	0	4	7	3	0	8	2	0	8	0	2
8	2	0	9	0	1	7	0	3	6	2	2	9	0	1	9	1	0
7	2	1	9	1	0	6	2	2	6	0	4	8	0	2	8	0	2
8	0	2	10	0	0	6	3	1	6	2	2	8	2	0	8	1	1
8	1	1	7	3	0	6	2	2	7	1	2	7	0	3	7	2	1
8	2	0	8	0	2	7	0	3	6	0	4	6	1	3	9	1	0
7	1	2	7	0	3	7	0	3	7	0	3	7	3	0	10	0	0
9	0	1	9	0	1	7	1	2	6	3	1	8	0	2	8	2	0
8	2	0	8	1	1	7	1	4	8	1	1	9	1	0	7	2	1
7	3	0	7	1	2	6	0	4	7	2	1	8	2	0	7	2	1

cando-se um molusco ou a SCW correspondente, aleatoriamente, em uma das câmaras. A SCW foi obtida de um "pool" de moluscos, segundo Cherrin<sup>2</sup> (1972). Os miracídeos de *S. mansoni* da linhagem BH, em número de 10, foram depositados no centro do canal. A outra câmara foi preenchida com água deionizada. Durante 15 min. observou-se o comportamento das larvas em lupa estereoscópica com lente frontal redutora (X 0.5). O experimento foi repetido 10 vezes com iluminação abundante, homogênea dispersa e, em número igual de vezes, na penumbra. Em cada replicação foram utilizados diferentes espécimens de moluscos e de larvas. A fim de comprovar a neutralidade da água utilizada quanto ao aspecto de atração miraxonal e também testar a eficiência do artefato, verificamos o comportamento dos miracídeos quando as duas câmaras continham somente água deionizada.

Utilizamos para análise o modelo de regressão logística multivariada devido a Cox<sup>3</sup> (1970). Com o modelo, buscamos estudar as probabilidades p (A), p (B) e p (C) das larvas passarem a câmara A ou B, ou permanecerem no canal. Cada combinação dos fatores estudados: iluminação, tipo (molusco ou SCW) e espécie (*L. columella*, *Physa* sp ou *B. straminea*) forma uma população, com valores dessas probabilidades, que devem ser comparadas entre as populações.

Os cálculos foram feitos com o sistema SAS, em micro-computador compatível com IBM PC-XT, sob DOS 3.2.

## Resultados

Os dados numéricos do experimento estão contidos nas Tabelas de 1 a 5.

**Tabela 3.** Número de miracídios de *S. mansoni* presentes nas câmaras A e B e no canal C, após 15 min de observação, quando expostos simultaneamente a ação do molusco *Lymnaea columella* (câmara A) e *Physa* sp (câmara B) ou as suas SCW, na luz e na penumbra.

<i>Lymnaea columella</i> (A)				Canal (C)				<i>Physa</i> sp (B)			
Molusco		SCW		Molusco		SCW		Molusco		SCW	
luz	penum.	luz	penum.	luz	penum.	luz	penum.	luz	penum.	luz	penum.
2	1	1	1	0	2	1	0	8	7	8	9
5	1	3	1	0	1	0	3	5	8	7	6
2	0	3	2	0	1	0	0	8	9	7	8
2	0	1	2	0	0	2	0	8	10	7	8
1	0	0	3	0	1	1	0	9	9	9	7
2	2	1	0	0	0	1	1	8	8	8	9
1	3	0	2	0	0	1	1	9	7	9	7
3	3	2	0	0	0	1	1	7	7	7	9
2	2	1	3	0	1	3	0	8	7	6	7
3	0	0	1	0	1	1	1	7	9	9	9

**Tabela 4.** Número de miracídios de *S. mansoni* presentes nas câmaras A e B e no canal C, após 15 min de observação, quando todo o aparelho continha somente água dechlorada, na luz e na penumbra.

Câmara A		Canal C		Câmara B	
luz	penum.	luz	penum.	luz	penum.
2	0	7	9	1	1
1	0	6	10	3	0
1	1	7	8	2	1
1	0	8	10	1	0
1	2	6	7	3	1
1	0	9	10	0	0
3	0	7	9	0	1
2	0	7	9	1	1
0	0	9	9	1	1
0	1	8	9	2	0

No decorrer do experimento com exemplares de *B. straminea*, observou-se que um exemplar exercia uma ação repulsiva sobre os miracídios. Em cerca de 3 min. todos os miracídios dirigiram-se a câmara oposta. Este exemplar foi então separado para a realização de um experimento isolado. Foram feitas 10 observações com o mesmo molusco, e com mi-

**Tabela 5.** Número de miracídios de *S. mansoni* presentes nas câmaras A e B e no canal C, após 15 min de observação, quando expostos a ação de um único exemplar de *B. straminea* refratário (câmara A). Experimento realizado na luz.

<i>B. straminea</i> (A)	Canal C	Câmara B
0	0	10
0	1	9
1	1	8
0	1	9
0	2	8
2	0	8
2	0	8
2	0	8
2	1	7
1	2	7

racídios diferentes, sob a luz (Tabela 5). O exemplar morreu dias após a realização do experimento, não tendo sido possível obter descendentes.

A Tabela 6 mostra que não houve interação entre os fatores, isto é, eventuais diferenças entre as probabilidades, se existirem, são constantes para quaisquer pares populacionais. Além disso,

Tabela 6. Estudo da interação entre os fatores.

Fonte	GL	Qui-quadrado	Prob.
Intercept	2	328,10	0,0000
Molusco	4	22,94	0,0001
Tipo	2	3,78	0,1513
Molusco Tipo	4	0,30	0,9901
Luz	2	3,61	0,1643
Molusco Luz	4	1,07	0,8991
Tipo Luz	2	4,23	0,1206
Molusco Tipo Luz	4	1,49	0,8277

Tabela 7. Comparação entre as câmaras A e B.

Efeito	Estimativa	Param.	Desvio Padrão	Qui-quadrado	Prob.
Intercept	1	0,4476	0,0209	458,16	0,0000
Luz	2	-0,0333	0,0208	2,57	0,1086
Tipo	3	0,0275	0,0207	1,76	0,1852
Molusco	4	-0,1083	0,0311	12,14	0,0005
	5	0,0305	0,0291	1,10	0,2946

dos efeitos principais apenas o Molusco revelou-se significativo: existe diferença entre as probabilidades por espécies de moluscos. Não houve diferença na atração entre o molusco e sua SCW. A iluminação tampouco teve efeito.

Finalmente, comparando-se apenas as câmaras A e B (deixando-se o canal C), para ver se, realmente  $P(A) > P(B)$ , obtivemos o resultado constante da Tabela 7.

Vê-se que apenas a primeira comparação de molusco foi significativa ( $p = 0,0005$ ): esta corresponde a *L. columella* versus *B. straminea*. Não há diferença na atração entre *B. straminea* e *Physa* sp.

## Discussão e Conclusões

Ao contrário de Etges e col.<sup>6</sup> (1963), verificouse que moluscos não vetores de *S. mansoni* (*L. columella* e *Physa* sp) atraíram miracídios deste trematódeo. A presença de moluscos não vetores, que atraem miracídios de *S. mansoni* em um foco,

é uma condição que certamente interferirá no ciclo do trematódeo. Os miracídios poderão ser atraídos por moluscos nos quais não terão condições de se desenvolver.

É interessante assinalar que *B. straminea* atraiu fortemente miracídios de *S. mansoni* de linhagem mantida na natureza, por outra espécie de vetor. Brasio e col.<sup>1</sup> (1985) observaram haver certo grau de especificidade na atração miraxonal exercida por moluscos *B. tenagophila* sobre miracídios de *S. mansoni* da linhagem SJ.

Quanto ao efeito iluminação, Brasio e col.<sup>1</sup> (1985) verificaram que miracídios da linhagem BH de *S. mansoni* apresentaram maior atração pelos moluscos vetores na presença da luz, e que miracídios da linhagem SJ apresentaram maior atividade na penumbra. No presente experimento não houve efeito da iluminação.

O fato de ter sido observado um exemplar de *B. straminea* com efeito refratário sobre miracídios de *S. mansoni*, sugere que este exemplar deveria conter, em sua hemolinfa ou em suas secreções, substâncias repulsivas aos miracídios. Pode-se especular que, além do componente genético condicionante da susceptibilidade à infecção (Newton<sup>7</sup>, 1953; Richards e col.<sup>9</sup>, 1972), os moluscos poderiam possuir também outros fatores, como a emanção de substâncias repulsivas aos miracídios que dificultariam ou impediriam sua infecção.

Houve atração miraxonal exercida por *B. straminea*, *Lymnaea columella* e *Physa* sp e pelas SCW destes moluscos. *Physa* sp atraiu mais do que *Lymnaea columella* quando estes moluscos foram utilizados no mesmo experimento, em câmaras diferentes. *B. straminea* atraiu mais do que *L. columella*. Não houve diferença significativa entre a atração miraxonal exercida por *B. straminea* e *Physa* sp. Não houve efeito de iluminação.

MAGALHÃES, L.A. et al. [The miraxonal attraction exercised by *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* and *Physa* sp over miracidia of *Schistosoma mansoni*]. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 25: 23-7, 1991. The attraction exercised over *Schistosoma mansoni* miracidia by *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* and *Physa* sp using a specially designed apparatus consisting of two circular glass chambers joined by an open channel were studied. The molluscs or their snail-conditioned water (SCW) was placed in one of the chambers (randomly chosen). In the channel ten miracidia was deposited and the count of miracidia in each of the three compartments (the two chambers and the channel) was recorded during fifteen minutes. Ten replications of each experiment with different specimens of molluscs and miracidia were made. Statistical and ad-hoc exploratory data analysis showed that: a) the three species of molluscs and their SCW attract the miracidia; b) *Physa* sp attract more miracidia

then *L. columella*. There was an isolated single *B. straminea* specimen that had a repulsive effect to the miracidia.

**Keywords:** *Biomphalaria*, physiology. *Lymnaea*, physiology. *Schistosoma mansoni*, physiology. Motor activity.

### Referências Bibliográficas

1. BRASIO, B.C.; MAGALHÃES, L.A.; MILLER, J.; CARVALHO, J.F. Atração de miracídios de *Schistosoma mansoni* por hospedeiros invertebrados: comportamento de miracídios frente a girinos de *Hyla fuscovaria*. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 19: 18-27, 1985.
2. CHERNIN, E. Penetrative activity of *Schistosoma mansoni* miracidia stimulated by exposure to snail conditioned water. *J. Parasit.*, 58: 209-12, 1972.
3. COX, P.F. *The analysis of binary data*. London, Methuen, 1970.
4. KLOETZEL, K. Observações sobre o tropismo do miracídio do *Schistosoma mansoni* pelo molusco *Australorbis glabratus*. *Rev. bras. Biol.*, 18: 223-32, 1958.
5. KLOETZEL, K. Novas observações sobre o tropismo do miracídio de *Schistosoma mansoni* pelo molusco *Australorbis glabratus*. *Rev. Inst. Med. trop.* S. Paulo, 2: 341-46, 1960.
6. ETGES, F.J.; CASTER, O.S.; WEBBE, G. Behavioral and developmental physiology of schistosoma larval as related to their molluscan host. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 266: 480-96, 1963.
7. NEWTON, W.L. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Exper. Parasit.*, 2: 242-57, 1953.
8. PARAENSE, W.L. & CORRÊA, L.R. Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoni* no Brasil. *Cienc. e Cult.*, 15(3): 245-6, 1963.
9. RICHARDS, C.S. & MERRIT, J.W. Genetic factors in the susceptibility of juvenile *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 21: 425-34, 1972.

Recebido para publicação em 12/6/1990  
Aprovado para publicação em 8/11/1990