

Pesquisa de trematódeos digenéticos em *Heleobia* spp. (Mollusca: Hydrobiidae) em área de ocorrência da Ehrlichiose monocítica equina, no Rio Grande do Sul, Brasil

Research of trematodes digenetics from Heleobia spp. (Mollusca: Hydrobiidae) in area of occurrence of equine monocytic ehrlichiosis, in Rio Grande do Sul, Brazil

Helen Silveira Coimbra^{1*}, Luiz Filipe Damé Schuch¹, Gertrud Muller²,
Carolina Lambrech Gonçalves¹, Cristina Zambrano¹, Marta Elaine Bastos Oyarzabal³,
Luciana de Souza Prestes¹, Mário Carlos Araujo Meireles¹

RESUMO: A ehrlichiose monocítica equina (EME) na região Sul do Rio Grande do Sul tem demonstrado ser importante nas criações de cavalos Crioulos. A enfermidade foi relatada e diagnosticada como causa de diarreia, prejuízos com tratamentos e com a morte de equinos não estabulados, sendo apontada como um fator limitante na criação de equinos em algumas regiões. O modo de transmissão pela via oral, intermediada por trematódeos em ambientes aquáticos, tem sido sustentado. Caracóis dulciaquícolas estão envolvidos como hospedeiros intermediários de trematódeos albergadores de *Neorickettsia risticii*. Um total de 16.846 caracóis *Heleobia* foi coletado nos municípios de Arroio Grande, Rio Grande, Palmares do Sul e Santa Vitória do Palmar, 92,2% dos quais foram encontrados nas raízes de aguapés (*Eichornea* spp.). A frequência de trematódeos presentes nos caracóis variou de 2,3 a 12,8% nas propriedades coletadas. Foram encontrados três tipos de cercárias, morfotipo 1, morfotipo 2 e morfotipo 3, e dois morfotipos de metacercárias nos caracóis. Um total de 357 insetos da ordem *Odonata* foi coletado, fases de metacercárias foram encontradas no tegumento da subordem *Anisoptera* com frequência de 5,3%. Mais estudos são necessários para identificar as fases larvais encontradas, bem como para conhecer o hospedeiro definitivo, identificar o parasito adulto e a relação de seu ciclo de vida com a ocorrência da ehrlichiose monocítica equina.

PALAVRAS-CHAVE: trematódeos; *Heleobia* spp.; *Neorickettsia risticii*.

ABSTRACT: The equine monocytic ehrlichiosis in the region South of the Rio Grande do Sul has demonstrated to be important in the creations of Crioulo horses. It has been reported as cause of diarrhea in equine not surround and as cause of losses with treatments and death of the animals, being pointed as a limited factor in the range breeding in some regions. The way of transmission for the oral way, intermediated for trematodes in aquatic environments, has been supported. Freshwater snails are involved as intermediate hosts of trematodes and harbor of the *Neorickettsia risticii*. A total of 16,846 *Heleobia* snails had been collected in the cities of Arroio Grande, Rio Grande, Palmares do Sul and Santa Vitoria do Palmar, 92.2% of which had been found in the roots of aquatics plants (*Eichornea* spp.). The frequency of trematodes present in the snails varied of 2.3 to 12.8% in the collected regions. Three types of cercariae were found, morphology type 1, morphology type 2 and morphology type 3, and two morphologic type of metacercariae of the snails. A total of 357 insects of the *Odonata* order were collected, stages of metacercariae had been found in the tissues of suborder *Anisoptera* with 5.3% of frequency. More studies are necessary for identification of the joined larval phases, as well as knowing the host definitive and identifying the adult parasite and the relation of its cycle of life with the occurrence of equine monocytic ehrlichiosis.

KEYWORDS: trematodes; *Heleobia* spp.; *Neorickettsia risticii*.

¹Faculdade de Veterinária; Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - Pelotas (RS), Brasil

²Instituto de Biologia; UFPEL - Pelotas (RS), Brasil.

³Faculdade de Veterinária; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Porto Alegre (RS), Brasil.

*Autor correspondente: coimbrahs@gmail.com

Recebido em: 12/12/2011. Aceito em: 30/04/2013

INTRODUÇÃO

A Ehrlichiose monocítica equina (EME) é uma doença infecciosa não contagiosa causada pela *Neorickettsia risticii*. A diarreia é a principal forma clínica e ocorre em 30% dos casos (RIKIHISA, 1998). A enfermidade para o Rio Grande do Sul tem demonstrado ser importante nas criações de cavalos Crioulos, em razão de prejuízos com tratamentos e morte de animais, e foi apontada como um fator limitante na criação em algumas regiões (DUTRA *et al.*, 2001; COIMBRA, 2003). Desde 1999, nas épocas de verão, em propriedades localizadas próximas a lagoas de água doce, a EME foi diagnosticada (DUTRA *et al.*, 2001; COIMBRA, 2003; COIMBRA, 2010).

Para o entendimento do modo de transmissão da EME, estudos com vários vetores foram realizados e, atualmente, o modo de transmissão pela via oral, intermediado por trematódeos digenéticos em ambientes aquáticos, tem sido sustentado (BARLOUGH *et al.*, 1998; RIKIHISA, 1998; KANTER *et al.*, 2000; PUSTERLA *et al.*, 2000; COIMBRA *et al.*, 2005).

Os trematódeos digenéticos têm um ciclo de vida complexo envolvendo dois a quatro hospedeiros. Em todos os ciclos conhecidos, o primeiro hospedeiro é um molusco, geralmente um caracol. Com poucas exceções, o hospedeiro definitivo, que contém o adulto, é um animal vertebrado (THATCHER, 1993).

No município de Arroio Grande, RS, em propriedade localizada próxima à Lagoa Mirim, onde casos de EME foram confirmados, caracóis do gênero *Heleobia* foram identificados como positivos para *N. risticii*. Três espécies foram identificadas nessa região, *H. piscium*, *H. parchappei* e *H. davisi* (COIMBRA *et al.*, 2005).

Os caracóis *Heleobia* spp. pertencem ao filo *Mollusca*, classe *Gastropoda*, subclasse *Prosobranchia* e família *Hydrobiidae*, e estão presentes em várias regiões da planície costeira, do Rio Grande do Sul (SILVA, 1993; LANZER, 2001; SILVA; VEITENHEIMER-MENDES, 2004). São encontrados abundantemente nas raízes de macrófitas aquáticas que estão presentes em arroios, rios, lagoas, canais de irrigação e de drenagem nas propriedades.

De acordo com FLORES; BRUGNI (2006), caracóis do gênero *Heleobia* estão envolvidos como hospedeiros intermediários de trematódeos digenéticos; a espécie *Catantropis hatcheri* n. sp. (Digenea: Notocodylidae) foi encontrada parasitando *Heleobiahatcheri*. COIMBRA *et al.* (2005) encontraram cercárias do tipo *Parapleurolophocercouscercariae* parasitando caracóis *H. piscium*, infectadas com o DNA da *N. risticii*.

BARLOUGH *et al.* (1998) estudaram caracóis da família *Pleuroceridae* do gênero *Juga* como vetores de trematódeos portadores de *N. risticii*. PUSTERLA *et al.* (2000) reproduziram experimentalmente a EME em equinos inoculando fases de esporocistos e cercárias coletadas de caracóis da espécie *Juga yrekaensis*. KANTER *et al.* (2000) e MOTT *et al.* (2002) identificaram *N. risticii* em cercárias virguladas, *Xiphidiocercariae*,

albergadas em caramujos do gênero *Elimia*, incluindo as espécies *E. livescense* e *E. virginica*. As cercárias desse tipo são características de trematódeos digenéticos, que utilizam como segundo hospedeiro intermediário um inseto.

Em pesquisa com insetos aquáticos, CHAE *et al.* (2000) e MOTT *et al.* (2002) encontraram as fases de metacercárias infectadas com *N. risticii*, sugerindo que a riquetsia tenha sido transmitida durante os estágios de desenvolvimento do trematódeo.

PUSTERLA *et al.* (2003) encontraram trematódeos *Lecithodendrium* sp. e *Acanthatrium* sp. parasitando baço e intestino de morcegos e andorinhas em área enzoótica para EME no norte da Califórnia. Tanto as andorinhas quanto os morcegos parasitados foram positivos para o DNA de *N. risticii* por PCR, sugerindo que a infecção por *N. risticii* ocorreu veiculada pelo trematódeo. GIBSON *et al.* (2005) encontraram DNA de *N. risticii* em trematódeos da espécie *Acanthatrium oregonense* que parasitavam o intestino de morcegos (*Eptesicus fuscus*) em região endêmica no estado da Pensilvânia, USA.

Este trabalho teve como objetivo identificar os trematódeos possíveis vetores de *N. risticii*, por meio da pesquisa em hospedeiros intermediários, caracóis do gênero *Heleobia* e insetos.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de 2006 a 2009, foram realizadas 16 coletas de caracóis do gênero *Heleobia* e de insetos (libélulas) como possíveis hospedeiros intermediários de trematódeos. As coletas foram realizadas em terras baixas da encosta sudeste do Rio Grande do Sul, em propriedades dos municípios de Arroio Grande, Rio Grande, Santa Vitória do Palmar e Palmares do Sul. Das coletas realizadas no período de estudo, 13 (treze) ocorreram em Arroio Grande e 3 (três) em propriedades dos municípios de Rio Grande e Palmares do Sul (2008) e Santa Vitória do Palmar (2009), conforme a notificação de doença clínica de casos de diarreia em cavalos, compatível com EME. Em Arroio Grande, porém, das 13 coletas, 8 foram realizadas (2006 a 2007) em duas localidades denominadas como propriedade 1 e propriedade 2 com o objetivo de verificar variação na presença de trematódeos no caracóis *Heleobia* spp. conforme a época do ano. As outras 5 coletas foram feitas na mesma localidade conforme a ocorrência clínica de cavalos com diarreia.

Em cada propriedade, foram estabelecidos três pontos de coletas de 3 metros lineares cada. Em todas as coletas de caracóis, diferentes substratos foram recolhidos – plantas aquáticas (aguapé – *Eichornea* spp. e erva-de-bicho – *Polygonum* spp.) e sedimento presente nos canais de irrigação, ou arroio. A amostragem das raízes das plantas (substratos) foi realizada utilizando uma peneira de 22 cm de diâmetro por 9,5 cm de profundidade. O sedimento de cada ponto foi coletado em até ¾ de balde de 5 litros de capacidade. Para a retirada dos caracóis, as raízes e o

sedimento foram lavados vigorosamente em balde com água do local e passados em peneira, sendo os caracóis retirados manualmente e acondicionados em recipientes plásticos com água do local. No laboratório, foram contados e separados em placas de petri contendo água destilada para observação e recuperação de cercárias e metacercárias. Alguns caracóis foram dissecados para verificar a frequência de parasitismo pelos trematódeos. As cercárias e metacercárias oriundas dos caracóis foram coletadas em água destilada e mantidas sob 4°C.

De novembro de 2007 a março de 2009, incluíram-se na pesquisa coletas de insetos (libélulas). Os insetos foram capturados com uso de puçá e mantidos em recipiente com álcool 70% e depois dissecados para verificar a presença de metacercárias em seu tegumento. Os insetos capturados foram enviados para identificação e classificação ao departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas. Os caracóis foram enviados para o Laboratório de Malacologia do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para identificação, de acordo com Polígrafo não publicado, "Moluscos Límnicos do Rio Grande do Sul: Reconhecendo gêneros de Gastropoda", informação *in litteris* de VEITENHEIMER-MENDES; SILVA (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas coletas realizadas no período de um ano (2006 a 2007), em Arroio Grande, nas duas propriedades foram coletados 7.630 caracóis *Heleobia* spp., e a maior densidade dos gastrópodes foi observada nas raízes de aguapés onde 92,2% (7.037) dos caracóis foram encontrados; no sedimento, encontraram-se 6,2% (477) e nas raízes de erva-de-bicho, 1,5% (116).

Em todos os substratos coletados, foram identificadas espécies de *H. robusta* (SILVA; VEITENHEIMER-MENDES, 2004) e *H. piscium* já identificados na região (COIMBRA, 2003; COIMBRA et al., 2005) (Fig. 1) nas formas jovens e adultas. A espécie *H. piscium* foi encontrada nas duas propriedades, enquanto a *H. robusta* somente na propriedade 1. Fatores bióticos e abióticos, como a salinidade, a temperatura da água e a presença de substrato, podem interferir tanto na presença quanto na densidade populacional de determinadas espécies de *Heleobia* (FRANCESCO; ISLA, 2004).

Dentre os 7 gêneros de Hydrobiidae representados no continente sul-americano, *Heleobia* é o que representa maior diversidade e distribuição com 71 espécies (HERSHELER; THOMPSON, 1992). No município de Arroio Grande, já foram identificados *H. piscium*, *H. parchappei* e *H. davisi* em raízes de aguapés por COIMBRA et al. (2005).

Na avaliação de frequências estacionais para presença de trematódeos nos caracóis nas duas propriedades de Arroio Grande estudadas no período de 2006 a 2007, foram encontradas na propriedade 1 as maiores quantidades de cercárias nos caracóis

no verão, com frequência de 19,35%; no outono, 10,25%; no inverno, 5%; e na primavera, 17,33% (Fig. 2). Na propriedade 2, em razão do manejo nos canais de irrigação e uso de produtos químicos na limpeza dos canais com a retirada de toda a vegetação, em dois momentos não se obtiveram caracóis nos substratos estudados. Assim, na propriedade 2, as frequências puderam ser observadas nas estações nas quais foi possível coletar caracóis para pesquisa das cercárias. Dessa forma, no outono, foi encontrada uma frequência de 11,11% e no inverno, 0%. Não houve emissão ou presença de cercárias nos caracóis coletados (Fig. 2).

De novembro de 2007 a março de 2009, foram coletados um total de 9.216 caracóis *Heleobia* e um total de 357 insetos da ordem Odonata, classificados nas subordens



Figura 1. *Heleobia robusta* (esquerda) e *Heleobia piscium* (direita) encontrados nas raízes de aguapés, canais de irrigação das propriedades de estudo.

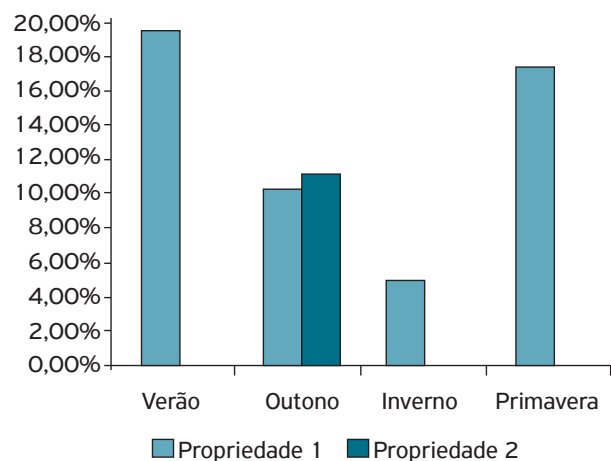


Figura 2. Taxa de parasitismo em caracóis *Heleobia* spp. coletados em Arroio Grande no período de um ano.

Anisoptera (320) e Zygoptera (37). Nos insetos dissecados, foi verificada a fase de metacercária somente na subordem Anisoptera, com frequência de 5,3% (17/320). Nos insetos, a metacercária pode apresentar diferentes estágios de maturidade (BODDEKE, 1960), o que pode ser observado nas diferentes formas que foram encontradas (Fig. 3 A, B e C). Libélulas da subordem *Anisoptera* foram citadas como segundo hospedeiro intermediário do *Prosthogonimus ovatus*, um trematódeo digenético parasito de aves, e metacercárias foram encontradas em diferentes fases de desenvolvimento no tegumento do inseto (BODDEKE, 1960). Essa espécie *Prosthogonimus ovatus* foi encontrada como parasita de três espécies de aves aquáticas na região Sul do Brasil (MONTEIRO *et al.*, 2007) e como parasita de passeriforme na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil (MASCARENHAS, 2008).

Uma amostragem de 1.671 caracóis foi dissecada, sendo encontrada uma frequência de cercárias entre 2,3 e 12,8%. Em *Heleobia* spp. oriundos de Arroio Grande, a frequência foi de 6,47% (63/973), de Rio Grande foi 12,83% (24/187), de Palmares do Sul foi zero (foram encontradas só as fases de metacercárias) e de Santa Vitória do Palmar, 4,72% (18/381) (Tabela). COIMBRA *et al.* (2005) encontraram em Arroio Grande uma frequência de 16,6% de trematódeos parasitando caracóis *Heleobia* spp.

Ambas as espécies de *Heleobia* encontradas albergavam fases de rédias e cercárias. Para verificar a emissão de cercárias

pelos caracóis, foram observadas diariamente 10 placas contendo 50 caracóis cada. Nos primeiros 5 dias de observação, a emissão de aproximadamente 200 cercárias foi verificada a cada 24 horas, em pelo menos 3 placas e persistente por até 17 dias, principalmente no período noturno. Foram encontrados 3 tipos de cercárias, classificadas como morfotipo 1, morfotipo 2 e morfotipo 3.

As cercárias classificadas como morfotipo 1 apresentavam características de corpo em forma elíptica, intensamente pigmentado. Constatou-se presença de três ocelos fortemente pigmentados posicionados logo abaixo da ventosa oral, sendo os laterais mais facilmente observáveis que o ocelo central, uma vez que se destacavam por apresentarem uma faixa sem pigmento com suas faces internas. Observou-se ausência de acetábulo. Outro aspecto desse morfotipo é que se encista rapidamente no meio externo em metacercária fortemente pigmentada com características compatíveis com as cercárias do morfotipo 1, como a presença de ocelos fortemente pigmentados (Fig. 4). Essas metacercárias foram denominadas de metacercárias morfotipo 1 (Fig. 5). O conjunto de caracteres possíveis de serem observados indica que essa cercária originará trematódeos digenéticos das famílias Notocotylidae ou Pronocephalidae de acordo com SCHELL (1970) e FRANDSEN; CHRISTENSEN (1984). Os moluscos, hospedeiros intermediários, caracterizam-se por serem



Figura 3. Metacercárias encontradas no tegumento das libélulas dissecadas. Aumento de 200x. Zoom digital.

Tabela. Taxa de parasitismo das fases de cercárias e metacercárias encontradas nos caracóis *Heleobia* spp. coletados em Rio Grande, Arroio Grande, Palmares do Sul e Santa Vitória do Palmar de 2006 a 2009.

Locais	Nº de caracóis dissecados	Fase de cercária		Fase de metacercária	
		Nº de caracóis parasitados	Taxa de parasitismo (%)	Nº de caracóis parasitados	Taxa de parasitismo (%)
Arroio Grande	973	63	6,47	16	1,64
Rio Grande	187	24	12,83	10	5,34
Palmares do Sul	130	0	-	3	2,3
Santa Vitória do Palmar	381	18	4,72	5	1,3
Total	1671	105	6,26	34	2,03

gastrópodes operculados, como no presente caso exemplares de *Heleobia* spp.

As cercárias do morfotipo 2 apresentavam as características de corpo pigmentado, sem manchas oclares e com presença de estilete na porção oral. As medidas encontradas foram de 0,24 mm em comprimento total, 0,10 mm comprimento de cauda e 0,14 mm de corpo (Fig. 6A e B). Nas placas que apresentavam as cercárias morfotipo 2, foi verificado que não encistavam, ou seja, não foi observada nenhuma estrutura com características de metacercária no ambiente externo (placa de petri). O observado foi que, após um período (acima de quatro horas), essas cercárias perdiam totalmente a motilidade e a vitalidade. É provável que as cercárias de morfotipo 2 pertençam a uma espécie de trematódeo que necessite mais de um hospedeiro intermediário para formar a fase infectante de metacercária. Ainda, foram encontradas metacercárias presentes no interior de *Heleobia* spp., com frequência de 2,03% (34/1671) (Tabela). Essas metacercárias foram classificadas como morfotipo 2 (Fig. 7). Essas características reafirmam uma possibilidade de esse trematódeo necessitar de um segundo hospedeiro intermediário.

As cercárias de morfotipo 3 foram encontradas em duas das coletas realizadas e em pequena quantidade quando comparado com os outros morfotipos, o que não permitiu a coleta de mais dados. O morfotipo 3 apresentou características como cauda bifida, de 0,105 mm de cauda e de 0,15 de corpo, e um comprimento total de 0,255 mm (Fig. 8).

Diversos tipos de cercárias de trematódeos foram descritos no Brasil por diferentes autores desde o início do século passado. Entre as larvas mais comumente encontradas, destacam-se as cercárias de cauda bifurcada (entre as quais



Figura 4. Cercária morfotipo 1. Aumento de 40x. Zoom digital.

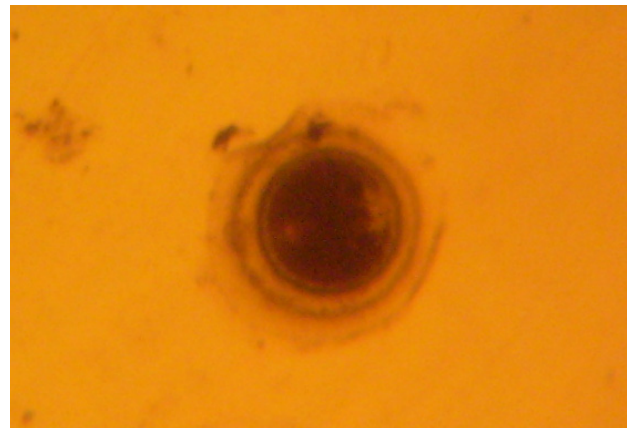


Figura 5. Metacercária morfotipo 1, encontrada presa no fundo da placa. Aumento 40x. Zoom digital

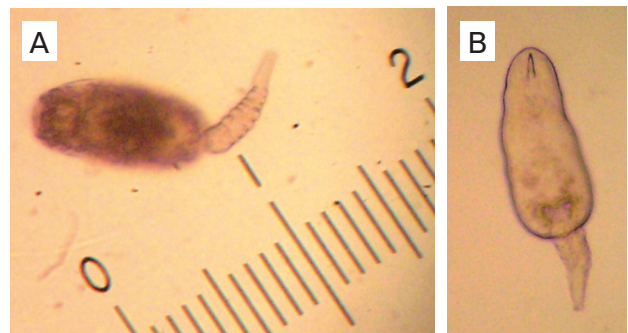


Figura 6. Cercária morfotipo 2. Aumento 10x. Zoom digital

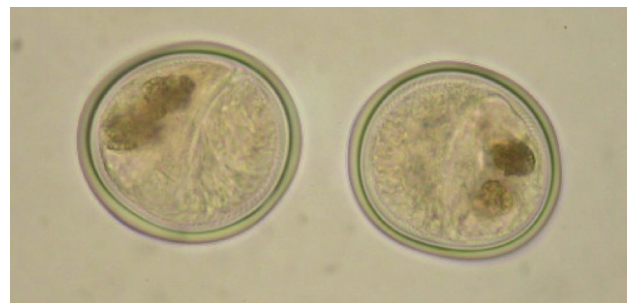


Figura 7. Metacercária morfotipo 2, encontrada nos tecidos e interior da concha dos *Heleobia* spp. Aumento 200x.



Figura 8. Cercária morfotipo 3. Aumento 40x. Zoom digital.

está incluída a de *Schistosoma mansoni*) e de cauda simples (como a de *Fasciola hepatica*) que apresentam importância médico-veterinária. Uma gama de formas diferentes pode ser encontrada em moluscos. Para algumas dessas larvas, os hospedeiros definitivos já são conhecidos, mas para a grande maioria ainda não foi possível fazer a identificação, pois os adultos são parasitos de peixes, anfíbios, répteis, aves ou mamíferos, alguns ainda desconhecidos para a ciência (MELO, 2007).

Com os resultados encontrados, podemos concluir que os caracóis do gênero *Heleobia* e insetos da ordem Odonata, subordem Anisoptera, são hospedeiros intermediários de trematódeos por apresentarem pelo menos três

morfotipos distintos de cercárias (caracóis) e fases de metacercárias (caracóis e insetos) nas localidades estudadas. As maiores frequências de caracóis parasitados ou emitindo trematódeos nos períodos mais quentes do ano sugerem uma relação na sazonalidade e endemicidade de ocorrência da EME, uma vez que os cavalos criados em áreas de alagados apresentam maior contato com o ambiente potencialmente infectado pelos trematódeos que podem conter a *N. risticii*. No entanto, mais estudos são necessários para a identificação das fases larvais encontradas, bem como para conhecer o hospedeiro definitivo e identificar o parasito adulto e a relação de seu ciclo de vida com a ocorrência da ehrlichiose monocítica equina.

REFERÊNCIAS

- BARLOUGH, J.E.; REUBEL, G.H.; MADIGAN, J.E.; VREDEVOE, L.K.; MILLER, P.E.; RIKIHISA, Y. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: *Juga* spp) from northern California. *Applied and Environmental Microbiology*, v.64, n.8, p.2888-2893, 1998.
- BODDEKE, R. The life history of *Prosthogonimus ovatus* Rudolphi II the intermediate hosts. *Tropical and Geographical Medicine*, v.12, p.363-377, 1960.
- CHAE, J.; PUSTERLA, N.; JOHNSON, E.; DEROCK, E.; LAWER, S.P.; MADIGAN, J.E. Infection of aquatic insects with trematode metacercariae carrying *Ehrlichia risticii*, the cause of Potomac horse fever. *Journal Medical Entomology*, v.37, n.4, p.619-625, 2000.
- COIMBRA, H.S. Eriquiose monocítica equina no Rio Grande do Sul: Aspectos clínicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos. 2003. 40f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Veterinária Preventiva) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.
- COIMBRA, H.S.; SCHUCH, L.F.D.; VEITEINHEMER-MENDES, M.C.A.; MEIRELES, M.C.A. *Neorickettsia* (*Ehrlichia*) *risticii* no Sul do Brasil: *Heleobia* spp (Mollusca: Hydrobiidae) e *Parapleurolophocercouscercariae* (Trematoda: Digenea) como possíveis vetores. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, n.3, p.325-329, 2005.
- COIMBRA, H.S. Ocorrência clínica da Eriquiose monocítica equina e pesquisa de formas jovens de trematódeos em *Heleobia* spp (Mollusca: Hydrobiidae) em terras baixas da encosta Sudeste do Rio Grande do Sul. 2010. 48f. Tese (Doutorado em Ciências – Área de Veterinária Preventiva, Sanidade Animal) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- DUTRA, F.; SCHUCH, L.F.D.; DELUCCHI, E.; CURCIO, B.R.; COIMBRA, H.S.; RAFFI, M.B.; DELLAGOSTIN, O.; RIET-CORREA, F. Equine monocytic Ehrlichiosis (Potomac horse fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v.13, n.5, p.433-437, 2001.
- FLORES, V.; BRUGNI, N. *Catantropis hatcheri* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Heleobia hatchery* (Prosobranchia: Hydrobiidae) and notes on its life-cycle in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*, v.63, n.2, p.111-118, 2006.
- FRANCESCO, C.G De; ISLA, F.I. The life cycle and growth of *heleobia australis* (D'orbigny, 1835) and *h. conexa* (Gaillard, 1974) (gastropoda: rissoidae) in mar Chiquita coastal lagoon (Argentina). *Journal of Molluscan Studies*, v.70, p.173-178, 2004.
- FRANSEN, F.; CHRISTENSEN, N.O. An introductory guide to the identification of cercariae from African freshwater snails with special reference to cercariae of trematodes species of medical and veterinary importance. *Acta Tropica*, v.41, n.2, p.181-202, 1984.
- GIBSON, K.E.; RIKIHISA, Y.; ZHANG, C.; MARTIN, C. *Neorickettsia risticii* is vertically transmitted in the trematode *Acanthatrium oregonense* and horizontally transmitted to bats. *Environmental Microbiology*, v.7, n.2, p.203-212, 2005.
- HERSHELER, R.; THONPSON, F.G. A review of the aquatic gastropod subfamily *Cochliopinae* (Prosobranchia:Hydrobiidae). *Malacological Review*, Ann Arbor, v.5, p.1-140, 1992. Suplemento 1.
- KANTER, M.; MOTT, J.; OHASHI, N.; FRIED, B.; REED, S.; LIN, Y.C.; RIKIHISA, Y. Analysis of 16S rRNA and 51-kilodalton antigen gene and transmission in mice of *Ehrlichia risticii* in virgulate trematodes from *Elimia livescens* snails in Ohio. *Journal of Clinical Microbiology*, v.38, n.8, p.3349-3358, 2000.
- LANZER, R. Distribuição, fatores históricos e dispersão de moluscos límnicos em lagoas do sul do Brasil. *Biociências*, Porto Alegre, v.9, n.2, p.63-84, 2001.

- MASCARENHAS, C.S. Helminto e Atropodofauna de *Paroariacoronata* (Miller, 1776) (Passeriformes – *Emberizidae*). 2008. 40f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2008.
- MELO, A.L. Formas larvais de trematódeos em moluscos límnicos. In: _____. *Vigilância e controle e moluscos de importância epidemiológica*. Diretrizes técnicas: Programa de vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). 2a ed. Série A: normas e manuais técnicos. Brasília, DF: Editora do Ministério da Saúde (MS), 2007. p.71-80.
- MONTEIRO, C.M.; AMATO, J.F.R.; AMATO, S.B. *Prosthogonimus ovatus* (Rudolphi) (*Digenea, Prosthogonimidae*) em três espécies de aves aquáticas da região Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.24, p.253-257, 2007.
- MOTT, J.; MURAMATSU, Y.; SEATON, E.; MARTIN, C.; REED, S.; RIKIHISA, Y. Molecular analysis of *Neorickettsia risticii* in adult aquatic insects in Pennsylvania, in horses infected by ingestion of insects, and isolated in cell culture. *Journal of Clinical Microbiology*, v.40, n.2, p.690-693, 2002.
- PUSTERLA, N.; JOHNSON, E.M.; CHAE, J.S.; MADIGAN, J.E. Digenetic trematodes, *Acanthatrium* sp. and *Lecithodendrium* sp., as vectors of *Neorickettsia risticii*, the agent Potomac horse fever. *Journal Helminthology*, v.77, n.4, p.335-339, 2003.
- PUSTERLA, N.; MADIGAN, J.E.; CHAE, J.-S.; DEROCK, E.; JOHNSON, E.; PUSTERLA, J.B. Helminthic transmission and isolation of *Ehrlichia risticii*, the causative agent of Potomac horse fever, by using trematode stages from freshwater stream snails. *Journal of Clinical Microbiology*, v.38, n.3, p.1293-1297, 2000.
- RIKIHISA, Y. Rickettsial diseases. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. *Equine Internal Medicine*. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company, 1998, p.112-123.
- SHELL, S.C. How to know the trematodes. Dubuque: W.M. C. Brown Co. Publishers, 1970. 355p.
- SILVA, M.C.P.; VEITENHEIMER-MENDES, I.L. Nova espécie de *Heleobia* (Rissooidea, Hydrobiidae) para a Planície Costeira do sul do Brasil. *Iheringia – Série Zoologia*, Porto Alegre, v.94, n.1, p.89-94, 2004.
- SILVA, M.C.P. Dados morfológicos de *Heleobia parchappei* (Orbigny, 1835) (Prosobranchia, Hydrobiidae, Littoridininae). *Iheringia – Série Zoologia*, Porto Alegre, v.75, p.81-87, 1993.
- THATCHER, V.E. Trematódeos Neotropicais. Amazonas, Brasil: Editora INPA, 1993. 553p.
- VEITENHEIMER-MENDES, I.L.; SILVA, M.C.P. Polígrafo Moluscos Límnicos do Rio Grande do Sul: Reconhecendo gêneros Gastropodas. *Manuscrito não publicado*, recurso de aulas práticas do curso de Ciências Biológicas e Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 6p, 2004.