

# Moluscos del género *Biomphalaria* Preston, 1910 en la Región Amazónica: primer relato de *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 en el estado de Pará, Brasil

## Mollusks of the genus *Biomphalaria* Preston, 1910 in Amazon Region: first report of *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 in Pará State, Brazil

Christiane de Oliveira Goveia<sup>1,2</sup>, Roberta Lima Caldeira<sup>3</sup>, Márcio Roberto Teixeira Nunes<sup>4</sup>, Martin Johannes Enk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Evandro Chagas, Seção de Parasitologia, Laboratório de Parasitoses Intestinais, Esquistossomose e Malacologia, Ananindeua, Pará, Brasil

<sup>2</sup> Universidade do Estado do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Belém, Pará, Brasil

<sup>3</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, Grupo de Pesquisa em Helmintologia e Malacologia Médica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

<sup>4</sup> Instituto Evandro Chagas, Centro de Inovações Tecnológicas, Ananindeua, Pará, Brasil

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** En el estado de Pará, Región Norte de Brasil, hay relatos de la existencia de *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria straminea*, *Biomphalaria schrammi* y *Biomphalaria kuhniana*. **OBJETIVO:** Relatar la primera aparición de *Biomphalaria occidentalis* en Pará. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se recolectaron cinco moluscos, se examinó la presencia de cercarias *Schistosoma mansoni* y se realizaron las taxonomías morfológicas y moleculares. **RESULTADOS:** no se detectaron muestras parasitadas por larvas de trematodos. Se identificó la especie *Biomphalaria occidentalis*, siendo el primer registro en Pará. **CONCLUSIÓN:** El resultado obtenido contribuyó a mejorar el conocimiento sobre la dispersión y la diversidad de moluscos *Biomphalaria* en la Región Amazónica.

**Palabras clave:** *Biomphalaria*; Moluscos; Reacción en cadena de la Polimerasa; Polimorfismo de Fragmento de Restricción; Esquistosomiasis; Taxonomía.

### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** In Pará State, Northern Region of Brazil, there are reports of the occurrence of *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria straminea*, *Biomphalaria schrammi*, and *Biomphalaria kuhniana*. **OBJECTIVE:** To report the first existence of *Biomphalaria occidentalis* in Pará State. **MATERIALS AND METHODS:** Five mollusks were collected, examined for the presence of *Schistosoma mansoni* cercariae, and morphological and molecular taxonomies were performed. **RESULTS:** No specimens parasitized by trematode larvae were detected. *Biomphalaria occidentalis* was identified, being the first record in Pará State. **CONCLUSION:** The result obtained contributed to improve the knowledge about the dispersion and diversity of the *Biomphalaria* mollusks in Amazon Region.

**Keywords:** *Biomphalaria*; Mollusks; Polymerase Chain Reaction; Restriction Fragment Length Polymorphism; Schistosomiasis; Taxonomy.

### Correspondencia / Correspondence:

Christiane de Oliveira Goveia  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Seção de Parasitologia, Laboratório de Parasitoses Intestinais, Esquistossomose e Malacologia  
Rodovia BR-316 km 7, s/n. Bairro: Levilândia. CEP: 67030-000 – Ananindeua, Pará, Brasil – Tel.: +55 (91) 3214-2103  
E-mail: christianegoveia@iec.gov.br

## INTRODUCCIÓN

El género *Biomphalaria* Preston, 1910 incluye moluscos que pueden transmitir *Schistosoma mansoni*, el agente etiológico de la esquistosomiasis en Brasil. Entre las 11 especies y una subespecie del género *Biomphalaria* que existen en el país, tres se consideran huéspedes intermedios de *S. mansoni*: *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) y *Biomphalaria straminea* (Dunker 1848). En el estado de Pará, las especies *B. glabrata*, *B. straminea*, *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864) y *Biomphalaria kuhniana* (Clessin, 1883) ya han sido relatadas<sup>1</sup>.

La determinación de las especies del género *Biomphalaria* se basa en la comparación de los caracteres morfológicos de las conchas, del sistema excretor y de los órganos reproductores<sup>2</sup>; sin embargo, existen dificultades para determinar, debido al tamaño de la muestra, procesos de fijación inadecuados y similitudes interespecíficas<sup>3</sup>. Estas semejanzas culminaron en la agrupación de algunas especies del género *Biomphalaria* en dos complejos: 1) *B. straminea* compuesta por *B. straminea*, *Biomphalaria intermedia* (Paraense & Deslandes, 1962) y *B. kuhniana*; y 2) *B. tenagophila* que contiene *B. tenagophila*, *Biomphalaria tenagophila guaibensis* Paraense, 1984 y *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981<sup>4,5,6,7</sup>. Las especies del complejo *B. tenagophila* son indistinguibles de la morfología de la concha y de la mayoría de los órganos del sistema genital. Y solo *B. tenagophila* es susceptible a la infección por *S. mansoni*; por lo tanto, la identificación de estas especies es importante para los estudios epidemiológicos de la esquistosomiasis<sup>7</sup>, y el conocimiento de la distribución geográfica de estas especies permite una mejor distribución de recursos y políticas apropiadas para el control del molusco<sup>8</sup>. La taxonomía molecular se ha utilizado como herramienta auxiliar para la morfología cuando no es suficiente para la identificación de las especies.

El presente estudio tuvo como objetivo informar la primera aparición de *B. occidentalis* en el estado de Pará, Región Norte de Brasil.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios malacológicas se llevaron a cabo en mayo de 2017, en el municipio de Afuá, Mesorregión de Marajó, en el Estado de Pará, latitud 00°09'20.1"S y longitud 50°23'02.9"W.

Se recolectaron cinco especímenes, usando pinzas y redes en pozos de aguas residuales en el perímetro urbano con un período de recolección de 30 min. No se observaron otras especies de moluscos o vegetación en las zanjas de alcantarillado durante este período. Las características del ambiente, donde se recolectaron las muestras, fueron favorables a la aparición y dispersión de moluscos. Se utilizó un receptor del Sistema de Posicionamiento Global (GPS) GPSMAP® 76CS de Garmin para registrar las lecturas de las coordenadas geográficas y se anotaron y georreferenciaron todos los puntos de recolección.

Los moluscos obtenidos se colocaron en una gasa empapada en agua, se insertaron en bolsas de plástico debidamente identificadas, se almacenaron y se transportaron al Laboratorio de Parásitos Intestinales, Esquistosomiasis y Malacología (LPIEM) de la Sección de Parasitología (SAPAR) del Instituto Evandro Chagas (IEC). Las cinco muestras se midieron individualmente y se envasaron en recipientes de vidrio con 20 mL de agua de clorada, se expusieron a luz artificial (lámpara incandescente de 60 W) durante 30 min y luego se examinaron en un estereomicroscopio para verificar la presencia de cercarias de *S. mansoni*<sup>9</sup>. Posteriormente, los moluscos se sacrificaron, se fijaron<sup>10,11</sup> y el pie de cada muestra se retiró para la extracción de ADN por el Kit de Purificación de ADN Wizard modificado (Promega).

Los moluscos se identificaron morfológicamente comparando los caracteres de la concha y los órganos reproductores masculino y femenino, de acuerdo con Paraense<sup>2,4,5</sup>.

La identificación molecular fue realizada por el Laboratorio de Helmintología y Malacología Médica, Instituto René Rachou/Fiocruz, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa y el polimorfismo de longitud del fragmento de restricción (PCR-RFLP) de la región del espaciador interno transcrito (ITS) de los genes ribosómicos de ARN, donde todo ITS se amplificó con cebadores ETTS2 (5' TAACAAGGTTCCCGTAGGTGAA 3') y ETTS1 (5' TGCTTAAGTTCAGCGGGGT 3') anclados, respectivamente, en los extremidades conservadas de los genes ribosómicos 18S y 28S<sup>12</sup>. Luego, este fragmento se escindió con las enzimas de restricción Ddel y AluI<sup>7,13</sup>.

## RESULTADOS

Todas las muestras examinadas con relación a la presencia de cercarias de *S. mansoni* fueron negativas para el parásito y para otras larvas de trematodos.

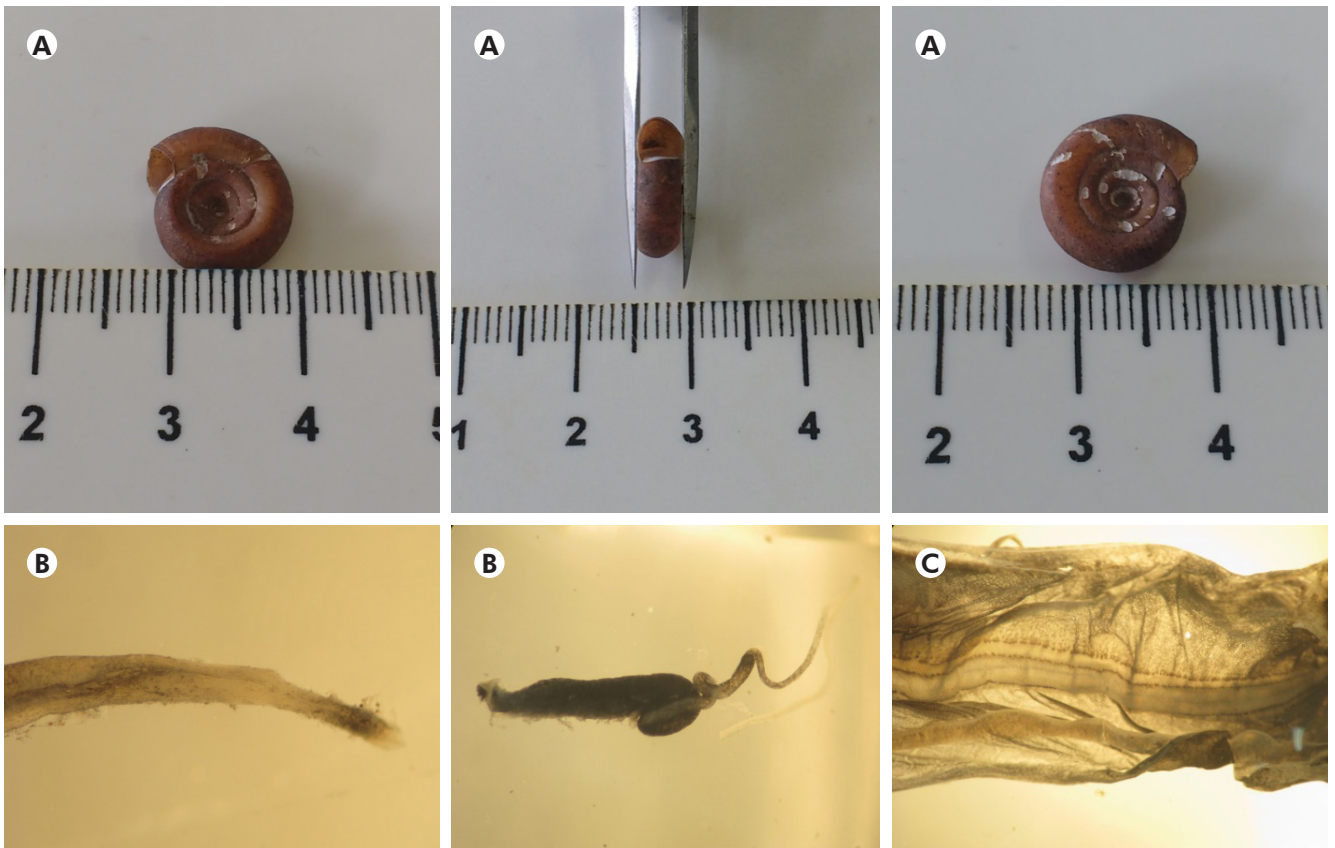
Todos los moluscos fueron identificados morfológicamente como *B. occidentalis* (Figura 1).

Los resultados moleculares que muestran los perfiles de restricción obtenidos por la digestión de la región ITS del ADN ribosómico con Ddel fueron comparados con el patrón de perfiles de ADN obtenidos del tejido de los moluscos *Biomphalaria* y *Helisoma* de la Colección de Malacología Médica (Fiocruz/CMM) (Figura 2).

Para diferenciar las especies, el amplicón, previamente obtenido de aproximadamente 1.200 pares de bases, fue sometido a una nueva RFLP utilizando la enzima de restricción AluI<sup>7</sup>, haciendo posible definir la especie como *B. occidentalis* por técnica molecular (Figura 3).

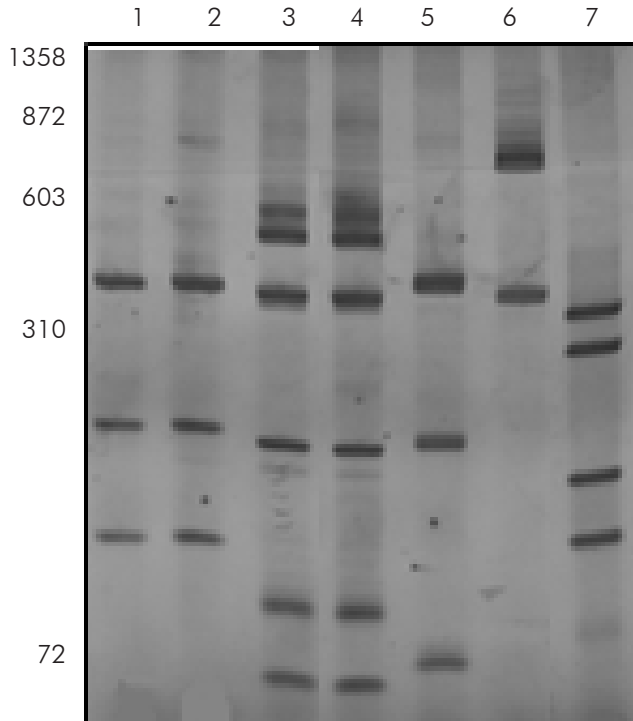
## DISCUSIÓN

La distribución geográfica de los moluscos planorbidae en Brasil no es bien conocida debido a la gran extensión territorial y a la falta de recursos humanos y económicos; sin embargo, el número de estudios destinados a comprender mejor la fauna malacológica en algunas regiones aumentó<sup>14,15</sup>.



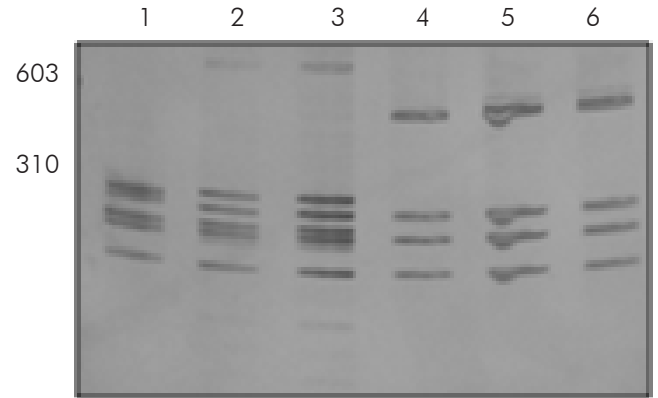
A: Concha; B: Sistema reproductivo; C: Manto con tubo renal.

**Figura 1** – *Biomphalaria* sp. de Afuá, Pará, Brasil



Columna 1: *Biomphalaria* sp. de Afuá, Pará; Columna 2: *B. occidentalis* de Belo Horizonte, Minas Gerais; Columna 3 y 4: *Helisoma* sp. de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul; Columna 5: *B. glabrata* de Belo Horizonte, Minas Gerais; Columna 6: *B. tenagophila* de Sabará, Minas Gerais; Columna 7: *Biomphalaria peregrina* de Coromandel, Minas Gerais. Los números a la izquierda del gel son el valor en pares de bases (bp) de los marcadores de tamaño molecular Phi X 174/HaeIII.

**Figura 2** – Gel de poliacrilamida teñido con plata (6%) mostrando perfiles de restricción obtenidos por digestión de la región ITS del ADN ribosómico con DdeI



Columna 1: *B. tenagophila* de Sabará, Minas Gerais; Columnas 2 y 3: *B. t. guaibensis* de Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul; Columna 4: *Biomphalaria* sp. de Afuá, Pará; Columnas 5 y 6: *B. occidentalis* de Belo Horizonte, Minas Gerais. Los números a la izquierda del gel son el valor en pares de bases (bp) de los marcadores de tamaño molecular Phi X 174/HaeIII.

**Figura 3** – Gel de poliacrilamida teñido con plata (6%) mostrando perfiles de restricción obtenidos por digestión de la región ITS del ADN ribosómico con AluI

El presente estudio es el primer informe de *B. occidentalis* en el estado de Pará. En Brasil, esta especie ya se ha encontrado en los estados de Acre, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, Santa Catarina, São Paulo, y hay informes de conchas en Amazonas<sup>1,4,16</sup>.

Los moluscos de agua dulce *B. occidentalis*, *B. tenagophila* y *B. t. guaibensis* son morfológicamente similares, agrupados en el complejo *B.*

*tenagophila*. A pesar de la similitud morfológica entre especies del complejo, solo *B. tenagophila* es susceptible a *S. mansoni*, varios estudios han reforzado a *B. occidentalis* como especies refractarias<sup>17,18,19</sup>; por lo tanto, la distinción de estas especies es importante para establecer áreas vulnerables al riesgo de esquistosomiasis.

Los estudios sobre la fauna planorbidae en todas las áreas de Brasil, especialmente en las regiones menos investigadas, deben estar motivados a conocer la distribución geográfica de los moluscos de *Biomphalaria*, con el objetivo de una mejor distribución de los recursos y una vigilancia adecuada para su control.

## CONCLUSIÓN

Este estudio presenta el primer registro de *B. occidentalis* en el municipio de Afuá, Estado de Pará.

Además, fue ampliado el conocimiento sobre la dispersión y la diversidad de los moluscos del género *Biomphalaria* en la Amazonía brasileña.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Carlos Faria, Carlos Júnior, Edilson Silva, Fernando Siqueira y Fabíola Cardoso del LPIEM/SAPAR/IEC; y a Amanda Araújo, del CMM, del Instituto René Rachou/Fiocruz, por el apoyo técnico.

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores contribuyeron para la ideación del estudio, análisis e interpretación de los datos y la redacción del manuscrito, aprobando la versión final para publicación. Se declaran responsables por el contenido del artículo, garantizando su precisión e integridad.

## APOYO FINANCIERO

Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilancia en Salud, Ministerio de Salud (IEC/SVS/MS).



## REFERENCIAS

- Carvalho OS, Passos LKJ, Mendonça CLGF, Cardoso CM, Caldeira RL. Moluscos brasileiros de importância médica. Série esquistossomose; 16. Belo Horizonte: Fiocruz, Centro de Pesquisas René Rachou; 2014. 92 p.
- Paraense WL. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. Arq Mus Nac RJ. 1975 nov;55:105-28.
- Caldeira RL, Teodoro TM, Jannotti-Passos LK, Lira-Moreira PM, Goveia CO, Carvalho OS. Characterization of South American snails of the genus *Biomphalaria* (Basommatophora: Planorbidae) and *Schistosoma mansoni* (Platyhelminthes: Trematoda) in molluscs by PCR-RFLP. Biomed Res Int. 2016;2016:1045391.
- Paraense WL. *Biomphalaria occidentalis* sp.n. from South America (Mollusca Basommatophora Pulmonata). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1981 Apr-Jun;76(2):199-211.
- Paraense WL. *Biomphalaria tenagophila guaibensis* ssp. n. from southern Brazil and Uruguay (Pulmonata: Planorbidae). I. Morphology. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984 Oct-Dec;79(4):465-9.
- Paraense WL. *Biomphalaria kuhniiana* (Clessin, 1883), planorbid mollusc from South America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988 Jan-Mar;83(1):1-12.
- Spatz L, Vidigal THDA, Caldeira RL, Dias Neto E, Cappa SMG, Carvalho OS. Study of *Biomphalaria tenagophila tenagophila*, *B. t. guaibensis* and *B. occidentalis* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA intergenic spacer regions. J Molluscan Stud. 1999 May;65(2):143-9.
- Guimarães RJPS, Freitas CC, Dutra LV, Felgueiras CA, Moura ACM, Amaral RS, et al. Spatial distribution of *Biomphalaria* mollusks at São Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil, using geostatistical procedures. Acta Trop. 2009 Mar;109(3):181-6.
- Smithers SR, Terry RJ. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. Parasitology. 1965 Nov;55(4):695-700.
- Deslandes N. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. Rev Serv Espec Saude Publica. 1951;4:371-82.
- Paraense WL. A natural population of *Helisoma duryi* in Brazil. Malacologia. 1976 Jan;15(2):369-76.
- Kane RA, Rollinson D. Repetitive sequences in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheei*. Mol Biochem Parasitol. 1994 Jan;63(1):153-6.
- Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000 Jan-Feb;95(1):57-66.
- Nogueira RA, Lira MGS, Miranda GS, Rodrigues JGM, Gomes GCC, Silva-Souza N. Distribution of mollusks that transmit schistosomiasis in the endemic municipality of São Bento, Maranhão, Brazil. Rev Patol Trop. 2016;45(3):295-304.
- Lopes TA, Nobushige SYL, Silva APS, Goveia CO, Enk MJ, Sampaio I, et al. Distribution and identification of the genus *Biomphalaria* Preston (1910): important insights into the epidemiology of schistosomiasis in the Amazon region. Rev Biol 2017;17(2):31-7.

- 16 Paraense WL. A survey of planorbid mollusks in the Amazonian region of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1983 Jul-Sep;78(3):343-61.
- 17 Paraense WL, Corrêa LR. Unsusceptibility of *Biomphalaria occidentalis* to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1982 Jan-Mar;77(1):55-8.
- 18 Coimbra Jr CEA, Engel LA. Suscetibilidade de *Biomphalaria occidentalis* do Acre e Mato Grosso à infecção pelo *Schistosoma mansoni* e sua implicação na epidemiologia da esquistossomose na Amazônia Ocidental, Brasil. Acta Amaz. 1982 dez;12(4):795-9.
- 19 Fernandez MA, Thiengo SC. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* and *Biomphalaria occidentalis* from Manso Dam, Mato Grosso, Brazil to infection with three strains of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Oct;101 Suppl 1:235-7.

Recibido en / Received: 26/10/2018  
Aceptado en / Accepted: 6/12/2018

Se refiere al doi: 10.5123/S2176-62232018000400007, publicado originalmente en inglés.

**Traducido por:** Lota Moncada

Cómo citar este artículo / How to cite this article:

Gouveia CO, Caldeira RL, Nunes MRT, Enk MJ. Moluscos del género *Biomphalaria* Preston, 1910 en la Región Amazónica: primer relato de *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 en el estado de Pará, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude. 2018 out-dez;9(4):1-5. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232018000400007>