

Moluscos do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 na Região Amazônica: primeiro relato de *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 no estado do 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^{1,2}, Roberta Lima Caldeira³, Márcio Roberto Teixeira Nunes⁴, Martin Johannes Enk¹

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

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

³ Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, Grupo de Pesquisa em Helminologia e Malacologia Médica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

⁴ Instituto Evandro Chagas, Centro de Inovações Tecnológicas, Ananindeua, Pará, Brasil

RESUMO

INTRODUÇÃO: No estado do Pará, Região Norte do Brasil, há relatos da existência de *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria straminea*, *Biomphalaria schrammi* e *Biomphalaria kuhniana*. **OBJETIVO:** Relatar a primeira ocorrência de *Biomphalaria occidentalis* no Pará. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Cinco moluscos foram coletados, examinados quanto à presença de cercárias de *Schistosoma mansoni* e as taxonomias morfológica e molecular foram realizadas. **RESULTADOS:** Nenhum espécime parasitado por larva de trematódeo foi detectado. Foi identificada a espécie *Biomphalaria occidentalis*, sendo o primeiro registro no Pará. **CONCLUSÃO:** O resultado obtido contribuiu para melhorar o conhecimento sobre a dispersão e a diversidade de moluscos *Biomphalaria* na Região Amazônica.

Palavras-chave: *Biomphalaria*; Moluscos; Reação em Cadeia da Polimerase; Polimorfismo de Fragmento de Restrição; Esquistossomose; Taxonomia.

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.

Correspondência / 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

INTRODUÇÃO

O gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 inclui moluscos que podem transmitir *Schistosoma mansoni*, o agente etiológico da esquistossomose no Brasil. Entre as 11 espécies e uma subespécie do gênero *Biomphalaria* que ocorrem no país, três são consideradas hospedeiras intermediárias de *S. mansoni*: *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) e *Biomphalaria straminea* (Dunker 1848). No Estado do Pará, as espécies *B. glabrata*, *B. straminea*, *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864) e *Biomphalaria kuhniana* (Clessin, 1883) já foram relatadas¹.

A determinação de espécies do gênero *Biomphalaria* é baseada na comparação de caracteres morfológicos de conchas, do sistema excretor e de órgãos reprodutivos²; no entanto, há dificuldades na determinação, devido ao tamanho das amostras, processos de fixação inadequados e semelhanças interespecíficas³. Essas semelhanças culminaram no agrupamento de algumas espécies do gênero *Biomphalaria* em dois complexos: 1) *B. straminea* composto por *B. straminea*, *Biomphalaria intermedia* (Paraense & Deslandes, 1962) e *B. kuhniana*; e 2) *B. tenagophila* contendo *B. tenagophila*, *Biomphalaria tenagophila guaibensis* Paraense, 1984, e *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981^{4,5,6,7}. As espécies do complexo *B. tenagophila* são indistinguíveis da morfologia da concha e da maioria dos órgãos do sistema genital. E apenas *B. tenagophila* é suscetível à infecção por *S. mansoni*; portanto, a identificação dessas espécies é importante para estudos epidemiológicos da esquistossomose⁷, e o conhecimento da distribuição geográfica dessas espécies permite melhor distribuição de recursos e políticas adequadas para o controle do molusco⁸. A taxonomia molecular tem sido utilizada como ferramenta auxiliar para a morfologia quando não é suficiente para a identificação das espécies.

O presente trabalho teve como objetivo relatar a primeira ocorrência de *B. occidentalis* no estado do Pará, região norte do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Levantamentos malacológicos foram realizados em maio de 2017, no município de Afuá, Mesorregião Marajó, no Estado do Pará, latitude 00°09'20,1"S e longitude 50°23'02,9"W.

Cinco espécimes foram coletados, utilizando-se pinças e redes em fossas de esgoto no perímetro urbano com período de coleta de 30 min. Nenhuma outra espécie de molusco ou vegetação foi observada nas valas de esgoto durante esse período. As características do ambiente, onde os espécimes foram coletados, foram favoráveis à ocorrência e dispersão de moluscos. Um receptor do Sistema de Posicionamento Global (GPS) GPSMAP® 76CS da Garmin foi usado para registrar as leituras das coordenadas geográficas e todos os pontos de coleta foram anotados e georreferenciados.

Os moluscos obtidos foram acondicionados em gaze embebida em água, inseridos em sacos plásticos devidamente identificados, armazenados e transportados para o Laboratório de Parasitas Intestinais, Esquistossomose

e Malacologia (LPIEM) da Seção de Parasitologia (SAPAR) do Instituto Evandro Chagas (IEC). Os cinco espécimes foram medidos e embalados individualmente em recipientes de vidro com 20 mL de água deionada, expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 60 W) por 30 min e, em seguida, examinados sob um estereomicroscópio para verificar a presença de cercárias de *S. mansoni*⁹. Posteriormente, os moluscos foram sacrificados, fixados^{10,11} e o pé de cada espécime foi removido para extração de DNA pelo Kit de Purificação de DNA Wizard Genomic modificado (Promega).

Os moluscos foram identificados morfológicamente por comparação dos caracteres da concha e dos órgãos reprodutores masculino e feminino, de acordo com Paraense^{2,4,5}.

A identificação molecular foi realizada pelo Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica, Instituto René Rachou/Fiocruz, usando reação em cadeia da polimerase e polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (PCR-RFLP) da região do espaçador interno transcrito (ITS) dos genes ribossômicos do RNA, onde todo ITS foi amplificado com os primers ETTS2 (5' TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAA 3') e ETTS1 (5' TGCTTAAGTTCAGCGGGGT 3') ancorados, respectivamente, nas extremidades conservadas dos genes ribossômicos 18S e 28S¹². Em seguida, foi realizada a clivagem desse fragmento com as enzimas de restrição DdeI e AluI^{7,13}.

RESULTADOS

Todas as amostras examinadas quanto à presença de cercárias de *S. mansoni* foram negativas para o parasita e para outras larvas de trematódeos.

Todos os moluscos foram identificados morfológicamente como *B. occidentalis* (Figura 1).

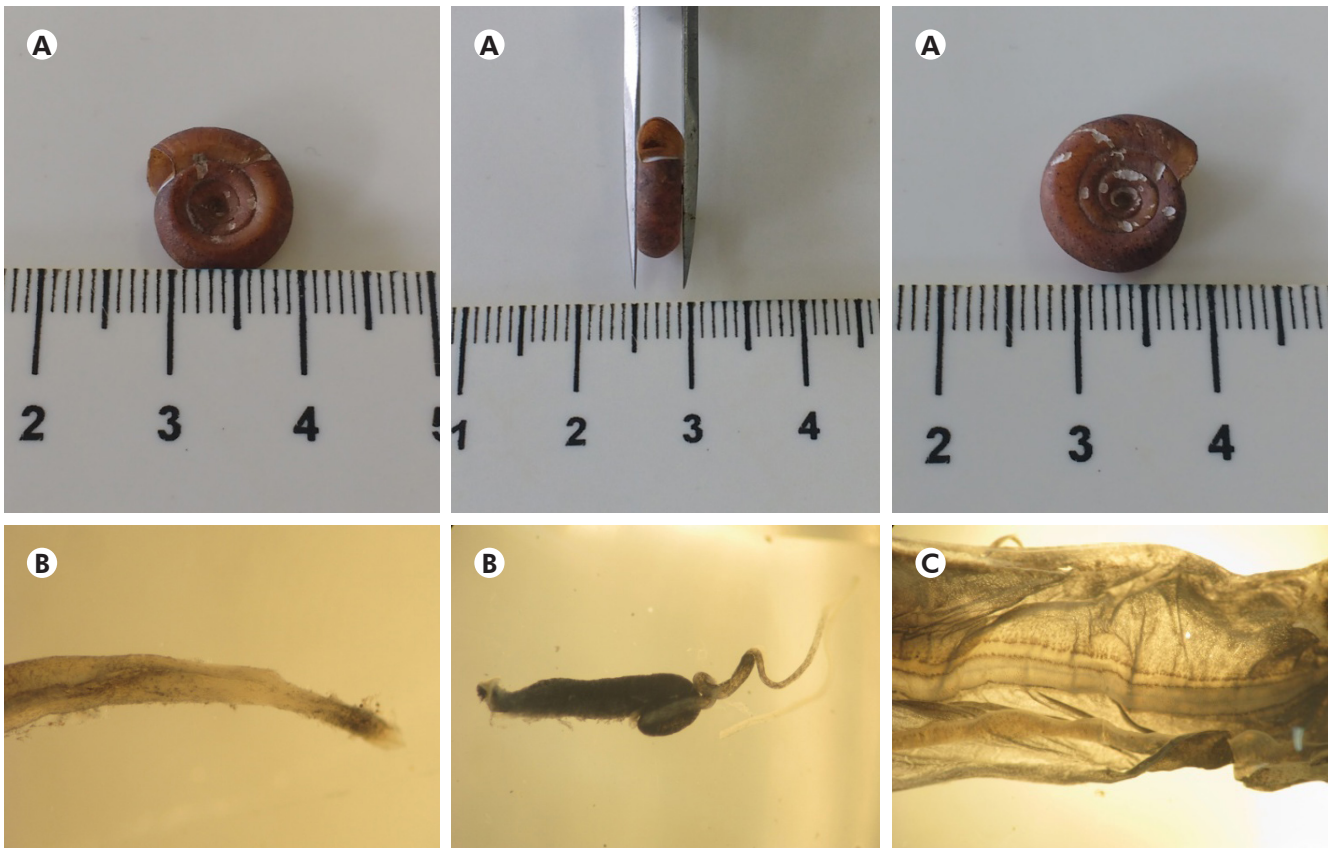
Os resultados moleculares que mostram os perfis de restrição obtidos pela digestão da região ITS do DNA ribossômico com DdeI foram comparados com o padrão de perfis de DNA obtidos no tecido dos moluscos *Biomphalaria* e *Helisoma* da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz/CMM) (Figura 2).

Para diferenciar as espécies, o amplicon, previamente obtido de aproximadamente 1.200 pares de bases, foi submetido a uma nova RFLP utilizando a enzima de restrição AluI⁷, sendo possível definir a espécie como *B. occidentalis* por técnica molecular (Figura 3).

DISCUSSÃO

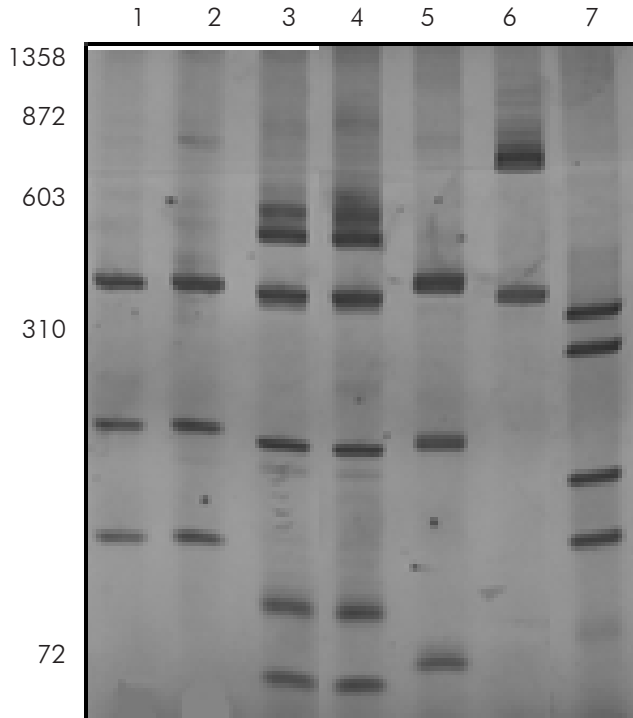
A distribuição geográfica dos moluscos planórbidos no Brasil não é devidamente conhecida, em razão da grande extensão territorial e da falta de recursos humanos e econômicos; no entanto, o número de estudos com o objetivo de conhecer melhor a fauna malacológica em algumas regiões aumentou^{14,15}.

O presente estudo é o primeiro relato de *B. occidentalis* no Estado do Pará. No Brasil, essa espécie já foi encontrada nos estados do Acre, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, Santa Catarina, São Paulo, e existem relatos de conchas no Amazonas^{1,4,16}.



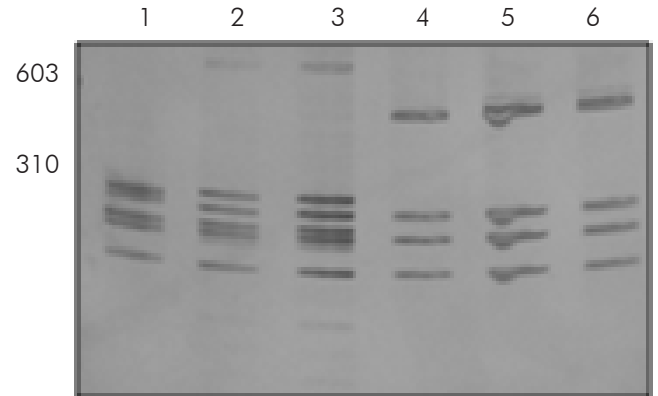
A: Concha; B: Sistema reprodutivo; C: Manto com tubo renal.

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



Coluna 1: *Biomphalaria* sp. de Afuá, Pará; Coluna 2: *B. occidentalis* de Belo Horizonte, Minas Gerais; Coluna 3 e 4: *Helisoma* sp. de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul; Coluna 5: *B. glabrata* de Belo Horizonte, Minas Gerais; Coluna 6: *B. tenagophila* de Sabará, Minas Gerais; Coluna 7: *Biomphalaria peregrina* de Coromandel, Minas Gerais. Os números à esquerda do gel são o valor em pares de bases (bp) dos marcadores de tamanho molecular Phi X 174/HaeIII.

Figura 2 – Gel de poliácridamida corado com prata (6%) mostrando perfis de restrição obtidos por digestão da região ITS do DNA ribossômico com DdeI



Coluna 1: *B. tenagophila* de Sabará, Minas Gerais; Colunas 2 e 3: *B. t. guaibensis* de Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul; Coluna 4: *Biomphalaria* sp. de Afuá, Pará; Colunas 5 e 6: *B. occidentalis* de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os números à esquerda do gel são o valor em pares de bases (bp) dos marcadores de tamanho molecular Phi X 174/HaeIII.

Figura 3 – Gel de poliácridamida corado com prata (6%) mostrando perfis de restrição obtidos por digestão da região ITS do DNA ribossômico com AluI

Osmoluscos de água doce *B. occidentalis*, *B. tenagophila* e *B. t. guaibensis* são morfologicamente semelhantes, agrupados no complexo *B. tenagophila*. Apesar da semelhança morfológica entre as espécies do complexo, apenas *B. tenagophila* é suscetível a *S. mansoni*, vários estudos reforçaram *B. occidentalis* como espécies refratárias^{17,18,19}; portanto, a distinção dessas espécies é importante para estabelecer áreas vulneráveis ao risco de ocorrência da esquistossomose.

Estudos sobre a fauna planorbídica, em todas as áreas do Brasil, principalmente em regiões menos investigadas, devem ser motivados pelo objetivo de se conhecer a distribuição geográfica dos moluscos *Biomphalaria*, visando melhor distribuição de recursos e vigilância adequada para seu controle.

CONCLUSÃO

Este estudo apresenta o primeiro registro de *B. occidentalis* no município de Afuá, Estado do Pará.

Além disso, foi ampliado o conhecimento sobre a dispersão e diversidade dos moluscos do gênero *Biomphalaria* na Amazônia brasileira.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Carlos Faria, Carlos Júnior, Edilson Silva, Fernando Siqueira e Fabíola Cardoso do

LPIEM/SAPAR/IEC; e Amanda Araújo, do CMM, do Instituto René Rachou/Fiocruz, pelo apoio técnico.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram para a idealização do estudo, análise e interpretação dos dados e redação do manuscrito, aprovando a versão final para publicação. Eles se declaram responsáveis pelo conteúdo do artigo, garantindo sua precisão e integridade.

APOIO FINANCEIRO

Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde (IEC/SVS/MS).



REFERÊNCIAS

- 1 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.
- 2 Paraense WL. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. Arq Mus Nac RJ. 1975 nov;55:105-28.
- 3 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.
- 4 Paraense WL. *Biomphalaria occidentalis* sp.n. from South America (Mollusca Basommatophora Pulmonata). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1981 Apr-Jun;76(2):199-211.
- 5 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.
- 6 Paraense WL. *Biomphalaria kuhniiana* (Clessin, 1883), planorbid mollusc from South America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988 Jan-Mar;83(1):1-12.
- 7 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.
- 8 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.
- 9 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.
- 10 Deslandes N. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. Rev Serv Espec Saude Publica. 1951;4:371-82.
- 11 Paraense WL. A natural population of *Helisoma duryi* in Brazil. Malacologia. 1976 Jan;15(2):369-76.
- 12 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.
- 13 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.
- 14 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.
- 15 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.

Recebido em / Received: 26/10/2018
Aceito em / Accepted: 6/12/2018

Se refere ao doi: 10.5123/S2176-62232018000400007, publicado originalmente em inglês.

Traduzido por: Patrícia Campelo Haick

Como citar este artigo / How to cite this article:

Goveia CO, Caldeira RL, Nunes MRT, Enk MJ. Moluscos do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 na Região Amazônica: primeiro relato de *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 no estado do Pará, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude. 2018 out-dez;9(4):1-5. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232018000400007>