

***Achatina fulica* BOWDICH (1822) UM NOVO HOSPEDEIRO DE ESPÉCIES DE *Cryptosporidium* (APICOMPLEXA, CRYPTOSPORIDIIDAE)**

CINTHIA L. SCHIFFLER¹, FRANCIMAR F. GOMES², NICOLE B. EDERLI³ FRANCISCO CARLOS R. DE OLIVEIRA²

ABSTRACT:- SCHIFFLER, C.L.; GOMES, F.F.; EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R. [*Achatina fulica* Bowdich (1822) a New Host of *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) Species]. *Achatina fulica* Bowdich (1822) um novo hospedeiro de espécies de *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 273-276, 2008. Laboratório de Sanidade Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br.

With the objective of isolate *Cryptosporidium* spp. in *Achatina fulica*'s feces, 50 mollusks were collected in nine neighborhoods of the municipal of Campos dos Goytacazes, RJ to the observation of oocysts in feces. The snails were put in individuals containers and fed with water and green vegetables *ad libitum* until be collected a gram of feces per animal. The samples were conditioned in tubes with formalin 10% and later smear of feces were made and dyed by Ziehl-Neelsen modified technique. Of the 50 samples examined, 26 (52%) were positive for the presence of oocysts of *Cryptosporidium* spp. The morphology and morphometry of the oocysts showed that are a great morphologic variability. Considering the obtained results, the mollusk *Achatina fulica* is a host of *Cryptosporidium* species and can participate in the epidemic chain of the cryptosporidiosis.

KEY WORDS: Criptosporidiose, fezes, mollusks, oocysts.

RESUMO

Com o objetivo de isolar *Cryptosporidium* spp. em fezes *Achatina fulica*, 50 moluscos foram coletados em nove bairros do município de Campos dos Goytacazes - RJ, para observação de oocistos nas fezes. Os caramujos foram colocados em criatórios individuais e alimentados com água e verduras *ad libitum* até a obtenção de um grama de fezes por animal. As amostras foram acondicionadas em tubos contendo formol 10% e depois foram confeccionados esfregaços fecais que foram corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Das 50 amostras examinadas, 26 (52%) foram positivas para a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. A morfologia e morfometria dos oocistos mostraram uma grande variabilidade morfológica. No entanto, não se pode deter-

minar as espécies diagnosticadas ou se essas são espécies específicas do molusco. Considerando os resultados obtidos, o molusco *Achatina fulica* é hospedeiro de espécies de *Cryptosporidium* e pode participar da cadeia epidemiológica da criptosporidiose.

PALAVRAS-CHAVE: Criptosporidiose, fezes, moluscos, oocistos.

INTRODUÇÃO

O molusco *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca, Gastropoda) é uma espécie terrestre que se difundiu por quase todo território brasileiro (VASCONCELOS; PILE, 2001). O encontro desse animal em vida livre no Brasil é considerado um risco por se tratar de uma espécie envolvida na transmissão dos nematóides *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis*, causadores da meningoencefalite eosinofílica e da angiostrongilíase abdominal, respectivamente (GRAEFF-TEIXEIRA, 2007).

Durante alguns anos coccídeos do gênero *Cryptosporidium* foram considerados altamente específicos aos seus hospedeiros. Apesar de existirem mais de 20 espécies descritas em diferentes hospedeiros existem controvérsias com relação à validade da maioria delas, já que estudos envolvendo transmissão

¹ Curso de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

² Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, UENF, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br – bolsista CNPq.

³ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 07. Seropédica, CEP 23.890-000 RJ. - Bolsista CAPES.

cruzada indicam que oocistos de *C. parvum* são infectantes para diferentes espécies (O'DONOGHUE et al., 1987).

Os moluscos têm destaque em saúde pública por serem responsáveis pela transmissão de uma grande variedade de enfermidades. O fato da espécie *A. fulica* viver em contato direto com o solo e preferencialmente em locais úmidos e poluídos (RUIZ; FRENKEL, 1980; VASCONCELOS; PILE, 2001) torna esses caramujos prováveis transmissores de criptosporidiose na qualidade de vetor biológico ou paratênico.

O presente trabalho teve como objetivo detectar oocistos de *Cryptosporidium* spp. em fezes de moluscos *A. fulica*, no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, determinando o possível papel desses animais na cadeia epidemiológica da criptosporidiose.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos, do Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Para realização do mesmo, foram coletados, com auxílio do Centro de Controle de Zoonoses e Vigilância Ambiental (CCZ), 50 exemplares do molusco *A. fulica*, em nove bairros do município de Campos dos Goytacazes, RJ (Tabela 1). Os espécimes foram coletados em residências onde havia proliferação desses moluscos, onde em sua maioria se caracterizavam por locais desprovidos de saneamento básico e com presença de lixo, umidade e fezes de outros animais.

Os animais coletados foram encaminhados ao LSA, onde foram lavados em água corrente e distribuídos individualmente em viveiros de plástico com 60 cm de largura por 40 cm de altura, onde foram mantidos vivos com alimentação a base de verduras lavadas em água corrente e água *ad libitum*, até liberarem quantidade suficiente de fezes.

Foi utilizado um grama de fezes por animal. Estas foram armazenadas em tubos cônicos contendo 7 ml de formalina

Tabela 1. Distribuição de amostras de moluscos (*Achatina fulica* Bowdich, 1822) (Mollusca: Gastropoda) e ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em amostras de fezes examinados por bairros/localidades, no município de Campos dos Goytacazes, RJ, em 2006.

Bairros/Localidades	n ¹	Higiene local	Diagnóstico		Ocorrência (%)
			Positivo	Negativo	
Donana	3	Bom	2	1	66,6
Parque Saraiva	8	Ruim	7	1	87,5
Parque São Domingos	3	Bom	0	3	0
Parque Alvorada	7	Bom	2	5	28,57
Parque Calabouço	9	Ruim	5	4	55,55
Parque Santa Rosa	3	Ruim	1	2	33,33
Parque Rosário	7	Ruim	5	2	71,42
Centro	7	Ruim	2	5	28,57
Outros	3	Bom	2	1	66,66
Total	50		26	24	52

¹ Número de amostras.

10% e submetidas à técnica de concentração de Ritchie modificada (ALLEN; RIDLEY, 1970). Com o sedimento, foram realizados esfregaços fecais e estes foram corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada (HENRIKSEN; POHLENZ, 1981). Após o preparo e montagem das lamina, estas foram observadas em microscópio óptico comum, com objetiva de 100 (imersão) para a presença de oocistos. Estes foram submetidos à análise morfométrica (Diâmetro Maior – DM e diâmetro menor – dm) utilizando-se microscópio óptico Zeiss - Axiostar Plus com câmera digital Canon - PowerShot A640 para captura de imagens e Software Zeiss AxionVision Sample Images para análise de imagens. Os dados obtidos foram submetidos a análise descritiva e suas médias comparadas utilizando o teste *t* de Student. Para verificar a associação entre as medidas utilizou-se a regressão linear e para análise do fator de risco, usou-se o teste de Qui-Quadrado (χ^2) e o teste de Fisher (Fisher Exact test) com intervalo de confiança de 95 %. Todos os cálculos foram feitos utilizando-se o programa Graph Pad Instat, Copyright 1192-2000, Graf Pad Software v3- 05 for Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 50 amostras de fezes examinadas, foram observados oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 26 (52%) (Figura 1). Tal fato pode estar relacionado à falta de saneamento básico nos locais de coleta do molusco, associado ao estreito convívio com diferentes espécies animais e suas excretas. No entanto, os moluscos também foram coletados em locais dotados de saneamento básico, como o bairro do Centro (Tabela 1), onde duas (28,57 %) das sete amostras foram positivas, o que indica que a dispersão tanto do molusco como de espécies de *Cryptosporidium* não estão associadas somente às condições de saneamento básico ruim.

Em estudo feito em Viçosa, MG por Heller et al. (2004) em dois mananciais de abastecimento, em fezes de animais e humanos de comunidades carentes, além de 13 amostras de alface, foi observado que os dois mananciais examinados estavam positivos para a ocorrência de espécies de *Cryptosporidium*, ressaltando que o manancial mais poluído apresentou densidade maior do parasito. Observou-se também que as hortaliças examinadas foram negativas para oocistos, diferindo dos resultados obtidos por Silva et al. (2005), que verificaram a presença de 30% de oocistos de *Cryptosporidium* sp. em 40 amostras de alface, alimento comum do molusco, foco da pesquisa. O autor descreveu ainda que fezes humanas e de animais apresentaram densidades consideráveis de oocistos, demonstrando que as condições precárias de saneamento contribuem para a disseminação do parasita.

De acordo com Gomez-Couso et al. (2006) que pesquisaram oocistos em tecidos de mexilhões, encontrados 29,3 % de positividade para oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 184 amostras. Em trabalho anterior do mesmo autor, foi observado que em 241 amostras de tecidos de moluscos aquáticos, 83 (34,4%) foram positivas para oocistos de *Cryptosporidium* spp. (GOMEZ –COUSO et al., 2003). Embora *A. fulica*

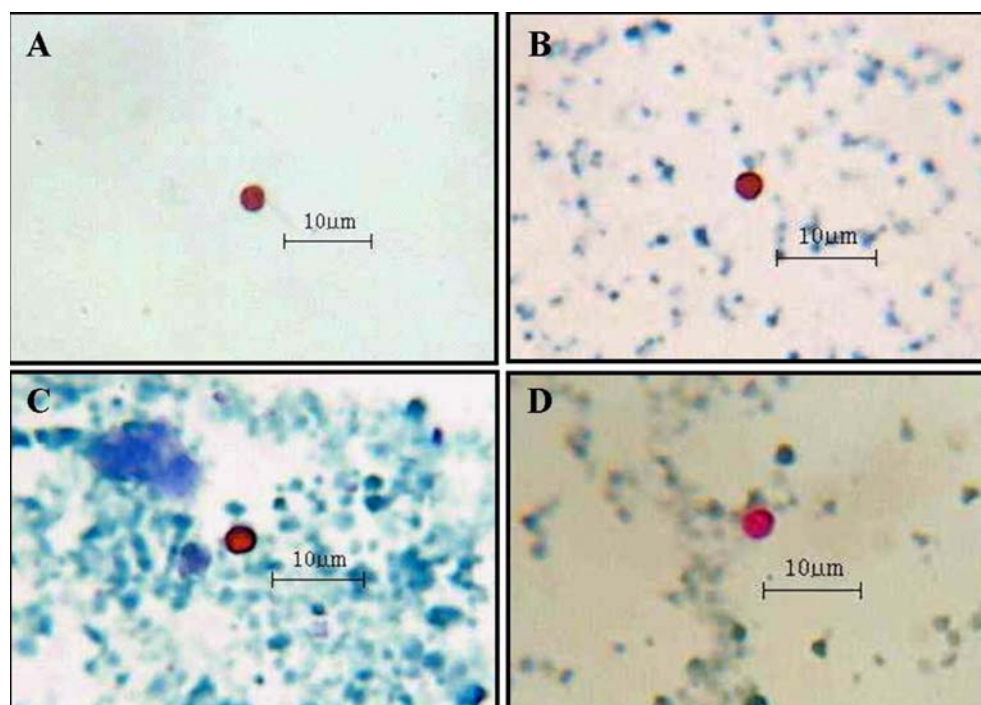


Figura 1. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. em fezes de *Achatina fulica*. (A e B) oocistos pequenos; (C e D) oocistos maiores. Coloração pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

não seja um molusco filtrador, ele tem um importante papel na cadeia epidemiológica da criptosporidiose, pois o encontro de oocistos do parasito em suas fezes indica que os mesmos podem contaminar as verduras e o ambiente.

O percentual de positividade encontrado nesse trabalho demonstra alta contaminação ambiental, corroborando com os resultados de Xiao et al. (1998), que demonstraram que a presença de oocistos em ostras indica contaminação da água pelo parasita. Foi observado ainda que os locais com maior índice de positividade apresentam pouca infraestrutura sanitária (Tabela 1), contribuindo para a presença do parasita no molusco em pauta, como demonstrado na Tabela 2, onde a higiene local foi fator de risco quanto à presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de *A. fulica*.

Nessa pesquisa comprovou-se que o molusco estudado pode albergar diferentes espécies de *Cryptosporidium* o que inclui esse molusco na cadeia epidemiológica da criptosporidiose. A identificação de algumas espécies do gênero *Cryp-*

Tabela 2. Risco Relativo da presença de *Cryptosporidium* spp. em fezes de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca: Gastropoda) em relação as condições de higiene local.

Higiene local	Resultados			χ^2	Valor de P ^a	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) ^b
	Positiva	Negativa	Total				
Boa	4 (8%)	13 (26%)	17 (34%)	-	0,0066 ^a	0,3529	0,1449 a
Ruim	22 (44%)	11 (22%)	33 (66%)				
Total	26 (52%)	24 (48%)	50 (100%)				

^aTeste de Fisher; ^bCom aproximação de Katz.

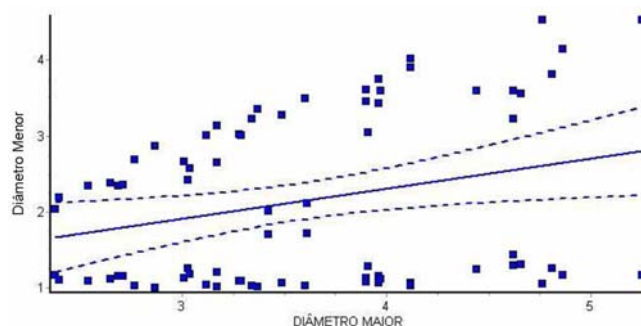


Figura 2. Regressão linear do diâmetro maior sobre o diâmetro menor para 39 oocistos de *Cryptosporidium* spp. Considerado significativo onde $Y = 0,7259 + 0,3948X$, $R^2 = 0,07$ e $r = 0,27$

tosporidium pode ser realizada com base na morfometria dos oocistos, no entanto, a maioria das espécies só pode ser determinada com base na biologia molecular.

Observou-se na Figura 2 uma dispersão dos pontos ao longo da linha da reta de regressão, onde o valor de R^2 sugere haver mais de duas formas de oocistos isolados nas fezes de *A. fulica*. Os resultados da morfometria dos oocistos estão demonstrados na Tabela 3. Esses oocistos têm formatos compatíveis com a maioria das espécies isoladas em animais e no homem (Tabela 4), exceto para o *C. andersoni* e *C. muris* que são maiores e têm o sítio de desenvolvimento no estômago de ruminantes (abomaso) e roedores, respectivamente (MONIS et al., 2003). No entanto, a maioria dos oocistos medidos são de tamanhos compatíveis com espécies encontradas em cão, gato e no homem e de formato subsférico dado pelo índice morfométrico (IM) (Tabela 3) e $r = 0,27$ (Figura 2).

Como foi observado que na maioria dos locais onde o

Tabela 3. Medidas médias de 39 oocistos de *Cryptosporidium* spp. observados em fezes de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca: Gastropoda) em Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

Medidas	<i>Cryptosporidium</i> spp.		IM ¹
	Diâmetros		
	Maior	Menor	
Média	3,58	3,12	1,15
Desvio Padrão	0,76	0,67	0,16
Valor Máximo	5,25	4,53	1,71
Valor Mínimo	2,38	2,01	1

¹ Índice morfométrico (razão do diâmetro maior sobre o menor).

Tabela 4. Medidas de oocistos de espécies de *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) e respectivos hospedeiros.

Espécies	Hospedeiros	Diâmetros	
		Maior	Menor
<i>C. canis</i>	Cão	3,7-5,9	3,7-5,9
<i>C. hominis</i>	Homem	4,4-5,9	4,4-5,9
<i>C. felis</i>	Gato	3,2-5,1	3,0-4,0
<i>C. parvum</i>	Rato	4,5-5,4	4,2-5,0
<i>C. muris</i>	Rato	6,6-7,9	5,3-6,5
<i>C. wrairi</i>	Porco	4,8-5,6	4,0-5,0
<i>C. andersoni</i>	Bovino	6,0-8,1	5,0-6,5
<i>C. meleagridis</i>	Peru	4,5-6,0	4,2-5,3
<i>C. baileyi</i>	Galinha	5,6-6,3	4,5-4,8

Fonte : Adaptado de MONIS et al. (2003).

molusco foi encontrado comumente há presença de animais como cães, gatos e roedores, bem como suas fezes. Assim, podemos inferir que *A. fulica* seja hospedeiro paratênico ou definitivo de espécies de *Cryptosporidium*, porém a confirmação dessa hipótese deverá ser realizada utilizando-se métodos moleculares de diagnóstico.

CONCLUSÕES

Achatina fulica é um potencial hospedeiro de *Cryptosporidium* spp., sendo esse o primeiro relato do protozoário nessa espécie, determinando que esse molusco pode atuar na transmissão dessa parasitose. No entanto, não se pode afirmar que esses sejam hospedeiros definitivos ou paratênicos. Pelos resultados dessa pesquisa, não foi possível determinar quais são as espécies de *Cryptosporidium* presentes nas fezes de *A. fulica*, no entanto, pode-se verificar a ocorrência de oocistos de mais de uma espécie, segundo a análise da dispersão dos pontos ao longo da reta de regressão. Além disso, a higiene local foi considerada um fator de risco para a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes dos moluscos examinados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, A.V.H.; RIDLEY, D.S. Further observations on the formol ether concentration technique parasites. *Journal of Clinical Pathology*, v. 23, n. 6, p. 545-546, 1970.
- GÓMEZ-COUSO, H.; FREIRE-SANTOS, F.; MARTÍNEZ-URTAZA, J.; GARCÍA- MARTÍN, O.; ARES-MAZÁS, M.E. Contamination of bivalve molluscs by *Cryptosporidium* oocysts: the need for new quality control standards. *International Journal of Food Microbiology*, p. 87, n. 1-2, p. 97-105, 2003.
- GÓMEZ-COUSO, H.; MENDEZ-HERMINDA, F.; CASTRO-HERMINDA, J.A.; ARESMAZAS, E. *Cryptosporidium* contamination in harvesting areas of bivalve molluscs. *Journal of Food Protection*, v. 69, n. 1, p. 185-190, 2006.
- GRAEFF-TEIXEIRA, C. Expansion of *Achatina fulica* in Brazil and potential increased risk for angiostrongyliasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 101, n. 8, p. 743-744, 2007.
- HELLER, L.; BASTOS, R.K.X.; VIEIRA, M.B.C.M.; BEVILACQUA, P.D.; BRITO, L.L.A.; MOTA, S.M.M.; OLIVEIRA, A.A.; MACHADO, P.M.; SALVADOR, D.P.; CARDOSO, A. B. Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 13, n. 2, p. 79-92, 2004.
- HENRIKSEN, S.A.; PONLENZ, J.F.L. Staining of *Cryptosporidia* by a Modified Ziehl-Neelsen Technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.22, n. 3-4, p. 594-596, 1981.
- MONIS, P.T.; THOMPSON, R.C.A. *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? *Infection, Genetics and Evolution*, v. 3, n. 4, p. 233 – 244, 2003.
- O'DONOGHUE, P.J.; THAM, V.L.; SARAN, W.G.; PAULL, K.L.; McDERMOTT, S. *Cryptosporidium* infections in birds and mammals and attempted cross-transmission studies. *Veterinary Parasitology*, v. 26, n. 1-2, p. 1-11, 1987.
- RUIZ, A.; FRENKEL, J.K. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 29, n. 6, p. 1161-1166, 1980.
- SILVA, C.G.M.; ANDRADE, S.A.C.; STAMFORD, T.L.M. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. *Ciência e Saúde Coletiva*, v. 10, supl. 1, p. 63-69, 2005.
- VASCONCELLOS, MC.; PILE, E. Ocorrência de *Achatina fulica* no Vale do Paraíba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 35, n. 6, p. 582-584, 2001.
- XIAO, L.; SULAIMAN, I.; FAYER, R.; LAL, A.A. Species and strain-specific typing of *Cryptosporidium* parasites in clinical and environmental samples. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93, n. 5, p. 687-692, 1998.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.