

BÁRBARA CAMILO RAJÃO COSTA

***Cosmocerca minasensis* n. sp. (Nematoda:
Cosmocercidae) parasita do intestino grosso de *Scinax
longilineus* (B. Lutz, 1968) (Anura: Hylidae).**

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Parasitologia**

Belo Horizonte, junho de 2006.

BÁRBARA CAMILO RAJÃO COSTA

***Cosmocerca minasensis* n. sp. (Nematoda:
Cosmocercidae) parasita do intestino grosso de *Scinax
longilineus* (B. Lutz, 1968) (Anura: Hylidae).**

**Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Parasitologia do
Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Minas
Gerais como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Ciências.**

Orientador: Prof. Marcos Pezzi Guimarães

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas**

**Departamento de Parasitologia
Belo Horizonte, junho de 2006.**

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS...

O meu especial agradecimento à vida, por sua perfeição, beleza e mistério que desafia e intriga as mentes e os corações dos homens... E os homens, de tão admirados, inventam a ciência... infinito caminho em busca do saber, em busca da grande revelação, em busca de “Deus”....

Ao meu pai Antônio e à minha mãe Mary que, por mais distantes que estejam fisicamente, mais sinto que sou parte deles no meu coração... Obrigada por todo apoio e por me presentear com a minha vida, uma eterna aventura...

À minha irmã, Joana, flor da minha vida e minha fiel companheira, nós somos os opostos que se complementam, nem tenho palavras para expressar o valor da sua presença em minha vida, é algo metafísico, cármico e espiritual. Obrigada pelo anjo que está chegando para iluminar os nossos caminhos, Juju...

Às minhas fiéis amigas peludas Fê e Beth, obrigada por fazerem da minha vida uma eterna brincadeira... Fê, onde quer que você esteja, saiba que te amo e me espere...

À minha vovó Lena, mulher de fibra coragem e força, minha guerreira, obrigada pelos cuidados, pelos conselhos e pelas orações. À Teta, obrigada pelo seu amor, pelas lembranças da minha infância e por sempre acreditar no poder da sua flor....

Ao meu avô Afonso pelas risadas e por me ensinar o valor do que é simples na vida, ao meu vô Dão, ausente agora, mas sempre presente nas minhas recordações, nos meus sonhos e nas minhas orações, obrigada pela proteção espiritual que vêm me dando, me espere, que nos reencontraremos...

Às minhas amigas Ana Letícia, Carolzinha, Kaká, Lú, Leila, Jéssica, Andréa, Paty, Silvinha e Claudinha, obrigada por compartilharem comigo a minha vida, por me fazerem rir, chorar, lutar e sentir, amo todas vocês....

Ao meu amigo Andrey, pessoa inigualável e inesquecível, sei que tenho andado distante mas sempre penso em você, te amo também, espero que nunca se esqueça disso...

Ao Pezzi, obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, pela amizade e pela confiança em mim, esta dissertação é o fruto do nosso trabalho, nosso mais valioso presente....

À Maria, ao Hudson e à Amália, obrigada pela prestimosa ajuda, paciência e amizade...

À Su, obrigada por tudo que você fez por mim, por todas as preocupações, amor e carinho...

Aos amigos do Soleá, minha segunda família, amo vocês....

Ao Conrado, à Lú Nascimento e ao Ronald, companheiros da PUC, obrigada pela primeira e por todas as outras oportunidades de trabalho que virão....

Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, obrigada pela oportunidade, e à Capes, obrigada pelo financiamento do meu projeto.

Ao Prof. Múcio e ao CEMEL obrigada pelas fotos da microscopia óptica e da varredura.

ÍNDICE

	Página
RESUMO -----	10
ABSTRACT -----	11
1.0. INTRODUÇÃO -----	12
2.0. REVISÃO DA LITERATURA -----	15
3.0. OBJETIVOS -----	23
3.1. OBJETIVO GERAL-----	24
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	24
4.0. MATERIAL E MÉTODOS -----	25
5.0. RESULTADOS -----	28
5.1. HELMINTOS ENCONTRADOS-----	29
5.2. DESCRIÇÃO GERAL, DOS HOLÓTIPOS E PARÁTIPOS DE <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	29
5.3. IDENTIFICAÇÃO GENÉRICA DE <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	36
5.4. IDENTIFICAÇÃO ESPECÍFICA DE MACHOS E FÊMEAS DE <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	37
5.5. ANÁLISE QUANTITATIVA DO PARASITISMO DE <i>Cosmocerca minasensis</i> EM <i>Scinax longilineus</i> -----	37
5.6. HISTOLOGIA DO INTESTINO GROSSO DE <i>Scinax longilineus</i> -----	38
5.7. HISTOPATOLOGIA DO INTESTINO GROSSO PARASITADO POR <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	38
5.8. CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES INFLAMATÓRIAS -----	39
5.9. EXAME MACROSCÓPICO DO INTESTINO GROSSO DE <i>Scinax longilineus</i> -----	39
6.0. DISCUSSÃO -----	43
6.1. HELMINTOS ENCONTRADOS-----	44
6.2. DESCRIÇÃO-----	44
6.3. IDENTIFICAÇÃO GENÉRICA DE <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	45
6.4. IDENTIFICAÇÃO ESPECÍFICA DE MACHOS E FÊMEAS DE <i>Cosmocerca minasensis</i> -----	45
6.5. HISTOPATOLOGIA DO INTESTINO GROSSO PARASITADO POR <i>Cosmocerca minasensis</i> E INTERAÇÃO PARASITO / HOSPEDEIRO -----	46
7.0. CONCLUSÕES -----	48
8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	50
LISTA DE TABELAS -----	6
LISTA DE FIGURAS -----	7
LISTA DE ABREVIATURAS -----	9

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Discriminação dos 27 exemplares de <i>Cosmocerca minasensis</i> encontrados no intestino grosso de 23 anuros da espécie <i>Scinax longilineus</i> parasitados.	35
Tabela 2	Morfometria dos caracteres taxonômicos de 5 machos e 8 fêmeas (parátipos) de <i>Cosmocerca minasensis</i> (mm) – médias e amplitudes das variáveis.	35
Tabela 3	Diferenciação morfológica entre <i>Cosmocerca minasensis</i> e <i>Cosmocerca longispicula</i> .	37
Tabela 4	Freqüência, intensidade média da infecção e relação macho/fêmea para <i>Cosmocerca minasensis</i> obtidos da necropsia de 60 <i>Scinax longilineus</i> .	37

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Desenho em câmara-clara da extremidade anterior de <i>Cosmocerca minasensis</i> , mostrando as papilas na boca e a ausência de estruturas fixadoras. A: 400x.	30
Figura 2	Fotomicrografia de <i>Cosmocerca minasensis</i> . Extremidade anterior com detalhe da cavidade bucal, faringe e esôfago. A: 200x.	30
Figura 3	Fotomicrografia de <i>Cosmocerca minasensis</i> . Extremidade anterior mostrando o esôfago muscular oxiuróide. A: 100x.	31
Figura 4	Fotomicrografia de <i>Cosmocerca minasensis</i> . Extremidade anterior evidenciando as válvulas quitinizadas do bulbo. A: 200x.	31
Figura 5	Fotomicrografia de fêmea de <i>Cosmocerca minasensis</i> evidenciando ovos larvados e em fase de mórula no útero. A: 200x.	32
Figura 6	Desenho em câmara-clara da metade anterior de uma fêmea de <i>Cosmocerca minasensis</i> , mostrando ovos larvados no útero, parte do sistema reprodutor feminino, bulbo, anel nervoso e poro excretor. A: 200x..	32
Figura 7	Fotomicrografia de uma fêmea de <i>Cosmocerca minasensis</i> evidenciando a vulva. A: 400x.	33
Figura 8	Fotomicrografia de <i>Cosmocerca minasensis</i> . Extremidade posterior de um macho, evidenciando o gubernáculo, os espículos e a cauda. A: 200x.	33
Figura 9	Eletromicrografia de varredura da cauda de um macho de <i>Cosmocerca minasensis</i> , evidenciando 2 papilas pré-cloacais, 2 papilas pós-cloacais e plectanas. A: 3000x.	34
Figura 10	Fotomicrografia de <i>Cosmocerca minasensis</i> . Extremidade posterior de um macho evidenciando as plectanas. A: 400x.	34
Figura 11	Fotomicrografia do intestino grosso de <i>Scinax longilineus</i> do grupo não - parasitado. Enterócitos, células caliciformes e camada serosa. Coloração H.E. A: 200x.	40
Figura 12	Fotomicrografia do intestino grosso de <i>Scinax longilineus</i> com hiperplasia das células caliciformes. A: 200x.	40

- Figura 13** Fotomicrografia do intestino grosso de *Scinax longilineus*. **41**
Alterações histopatológicas das vilosidades intestinais inflamadas: dilatação, início de fibrose e hiperplasia de macrófagos decorrentes da infecção por *Cosmocerca minasensis*. Coloração H.E. A: 400x.
- Figura 14** Fotomicrografia do intestino grosso de *Scinax longilineus*. **42**
Hiperplasia e organização dos macrófagos em grupos condensados na base das vilosidades inflamadas. Coloração H.E. A: 200x.

LISTA DE ABREVIATURAS

n.sp	Nova espécie
Fig.	Figura
A:	Aumento
E:	Escala
Mm	Milímetro
µm	Micrômetro
H.E	Hematoxilina-Eosina
N	Número de indivíduos
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
CEMEL	Centro de Microscopia Eletrônica

RESUMO

Foi realizado um levantamento da helmintofauna intestinal de uma subpopulação de 60 anuros da espécie *Scinax longilineus*, coletada no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Os dados obtidos mostraram que esses animais estavam parasitados com apenas uma espécie de nematoda do gênero *Cosmocerca*, comumente encontrado nos anfíbios. A observação de alguns caracteres morfológicos dos helmintos, como o fenótipo e quantidade das plectanas, a posição do anel nervoso e vulva, as dimensões dos ovos larvados e, principalmente, o tamanho dos espículos permitiram concluir que estes parasitos fazem parte de uma nova espécie de cosmocercídeo. Esta nova espécie foi denominada *Cosmocerca minasensis*. A análise histopatológica das lâminas dos intestinos parasitados, quando comparadas com os cortes do grupo controle, mostrou que *C. minasensis* é uma espécie pouco patogênica para os hospedeiros anuros. No estrato epitelial do intestino grosso observou-se hiperplasia das células caliciformes, atrofia e dilatação das vilosidades. A lâmina própria estava fibrosada e apresentava uma maior população de macrófagos, que se organizaram em grupos condensados. Os capilares sanguíneos da mucosa intestinal encontraram-se menos numerosos e anastomosados. Estas modificações teciduais relatadas para os intestinos parasitados foram classificadas como leves, estando o infiltrado inflamatório restrito à camada mucosa.

ABSTRACT

In Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, was performed a survey of the helminthes' intestinal fauna of a sub population of 60 anuran from *Scinax longilineus* specie, collected at Mangabeiras Park, located at the mentioned city. Collected data shows that these animals held only one parasite specie of Nematode from the *Cosmocerca* genus, commonly found in Amphibious. Some helminthes morphological features observation, like phenotype and plectanas number, nervous ring and vulva position, larvaded eggs dimension and, mainly, spicule size, allowed the conclusion that mentioned parasite were part of a new specie of cosmocercideo. This specie was named *Cosmocerca minasensis*. Histopathologycal analysis of laminas with intestines holding parasite, when compared with cuts from control group, showed that *C. minasensis* is responsible for a low pathogenic effects to anuran hosts. Inflammatory alteration consequent from presence of parasite were caliciform cells' hiperplasia followed by villi's atrophy and dilatation, hiperplasia and macrophages condensed group organization at lesioned villi's base, the beggining of the owned lamina thickness and fibroses process, anastomose of blood vassals and diminishing mucous vascularization higher celularization of serosa. This related to infected intestinal tissue modification was classified as light, being the inflammatory infiltration restricted to mucous layer.

1. Introdução

A espécie *Scinax longilineus* foi descrita por Lutz (1968), com base em um único exemplar fêmea coletado em Morro de São Domingos, Poços de Caldas, Minas Gerais (Carvalho JR., 2001). Frost (1985) afirma que este anfíbio pode ser encontrado nas regiões montanhosas do sudeste do Brasil. Entretanto, os registros da literatura mostram que sua ocorrência se restringe ao estado de Minas Gerais, onde já foi observado na região metropolitana de Belo Horizonte, em Ouro Preto e Poços de Caldas (Carvalho JR., 2001).

Scinax longilineus é um anuro raro de se encontrar na natureza. Muitos estudos ainda precisam ser feitos para se compreender vários aspectos da biologia destes animais. Sabe-se que o seu período reprodutivo é prolongado, com picos registrados durante a estação seca (abril – agosto). Os machos iniciam a vocalização antes do anoitecer, sendo mais ativos cerca de quatro horas após o ocaso. O amplexo é axilar. O número de fêmeas é superior ao de machos. As desovas são depositadas na vegetação marginal, próximas às superfícies dos remansos, onde o fluxo de água é mais lento. A quantidade média de ovos depositados é 291 por fêmea, os quais são amarronzados (Carvalho JR., 2001). As fêmeas são maiores e mais pesadas que os machos. O peso médio registrado para fêmeas e machos é, respectivamente, 5,30 gramas, e 1,99 gramas. Já o comprimento rostro – anal é de 42,33 milímetros para fêmeas e de 31,30 milímetros para machos (Carvalho JR., 2001).



Na região sul de Belo Horizonte está situado o Parque das Mangabeiras (19° 55' 57" S e 43° 56' 32" N). Esta área de proteção ambiental possui características geofísicas e biológicas que permitem o desenvolvimento e manutenção de grande biodiversidade. O clima tropical de altitude, com relevo serrano, associado a áreas de mata e disponibilidade de água nos córregos e riachos que irrigam o parque, permitem

a ocorrência de uma variada anurofauna (Carvalho JR., 2001). Deste local obteve-se uma população composta por 60 *S. longilineus*, da qual foi realizado, durante o ano de 2003, o primeiro levantamento dos helmintos parasitos intestinais. Os resultados prévios deste levantamento mostraram que os híldeos hospedeiros estavam parasitados por apenas uma espécie de nematoda, a qual pertence a um novo táxon do gênero *Cosmocerca* Diesing, 1861. Até então, a literatura especializada não possuía nenhum trabalho sobre os parasitos deste anuro, e nem dispunha de informações sobre as características biológicas da interação de *S. longilineus* com os seus helmintos intestinais.

Segundo Martinez & Maggenti (1989) são conhecidas, aproximadamente, 25 espécies para o gênero, o qual, juntamente com *Aplectana* Railliet & Henry, 1916; *Raillietnema* Travassos, 1927 e *Oxysomatium* Railliet & Henry, 1913 compõe a família Cosmocercidae (Serra-Freire, 1990). Estes parasitos são cosmopolitas e comumente encontrados na helmintofauna dos anfíbios (Navarro *et al.*, 1988). Das espécies descritas para o Novo Mundo, *Cosmocerca brasiliensis* Travassos, 1925; *Cosmocerca parva* Travassos, 1925; *Cosmocerca freitasi* Silva, 1954; *Cosmocerca rara* Freitas & Vicente, 1966; *Cosmocerca travassosi* Rodrigues & Fabio, 1970 e *Cosmocerca cruzi* Rodrigues & Fabio, 1970 foram identificadas em hospedeiros brasileiros (Fabio, 1981).

Apesar de ainda não se conhecer completamente a biologia destes helmintos, sabe-se que apresentam ciclo de vida direto e são monoxênicos. Habitam o intestino grosso dos animais, onde vivem livres na luz. Goldberg e Bursey (2002) propõem que os ovos das espécies de *Cosmocerca* desenvolvem-se no ambiente externo, havendo neste local o amadurecimento larval até o terceiro estágio infectante. Esta, ao deixar o ovo, pode ser ingerida pelo hospedeiro anfíbio ou realizar a penetração cutânea no mesmo. Independente do modo de infecção, o local de predileção é o intestino, para onde os vermes migrarão e atingirão a maturidade sexual.

IG



2. Revisão da Literatura

Na pesquisa bibliográfica efetuada não foram encontradas publicações sobre a patogenia das espécies de parasitos do gênero *Cosmocerca*, e nem artigos sobre diversidade da helmintofauna intestinal de *Scinax longilineus*.

Os primeiros trabalhos sobre os nematodas de anfíbios realizados no Brasil datam da primeira metade do século XIX e foram desenvolvidos, em sua maioria, por cientistas estrangeiros, principalmente por Natterer. Dentre os pesquisadores brasileiros, Lauro Travassos foi o primeiro a divulgar dados referentes a estes parasitos, em 1917. Desde então outras publicações vêm sendo feitas sobre este tema, as quais vêm contribuindo para o engrandecimento dos conhecimentos sobre a riqueza da helmintofauna dos anuros neotropicais (Serra-Freire 1990).

Em seu trabalho “Ensaio monographico da Família Cosmocercidae” Travassos (1931) fornece um breve histórico sobre esta família. Nos anos anteriores a 1916 ela não existia como um táxon individualizado, de tal forma que os parasitos que hoje estão nela incluídos, estavam distribuídos em gêneros da família Oxyuridae. Railliet & Henry (1916) (in Travassos, 1931) iniciam uma nova organização de Oxyuridae. Os objetivos destas mudanças eram evitar o estabelecimento de novos gêneros que deveriam desaparecer em virtude das regras de nomenclatura, e facilitar a determinação das espécies, desenvolvendo uma chave para o grupo. Nesta chave foram estabelecidas

cinco seções para os gêneros. Estas seções baseavam-se no número e tamanho relativo dos espículos e na presença ou ausência de gubernáculo. Vinte e duas sub-seções foram também determinadas e se baseavam na posição da vulva, sendo compendiados 22 gêneros. Um grupo a parte, constituído por formas de machos desconhecidos, apresentavam quatro gêneros. Deste total de 26 gêneros, três eram novos e não foram caracterizados, sendo apenas citadas as espécies-tipo de cada um. *Haplacis* tipo *sylvestrii* era a espécie-tipo do primeiro, *Paracis* tipo *longicollis* era a espécie-tipo do segundo, e *Ananconus* tipo *commutatus* era a espécie-tipo do terceiro. Entretanto, em uma segunda publicação, Railliet & Henry (in Travassos, 1931) corrigem alguns erros da primeira, referentes às espécies-tipo dos três gêneros de machos desconhecidos. *Ananconus*, por sua espécie-tipo é sinonímia de *Cosmocerca*, e *Oxysomatium* passou para o terceiro grupo. Os autores criaram um novo gênero *Aplecta*, para os parasitos sem plectanas e que tinham sido incluídos no gênero *Cosmocerca*. Mais tarde, o gênero *Aplecta* foi redenominado, passando a ser chamado de *Aplectana*. Um outro gênero, *Spironoura*, foi determinado, totalizando 27 gêneros. No mesmo ano, Railliet (in Travassos, 1931) resume um trabalho de Hall (in Travassos, 1931) sobre nematodas de roedores, propondo uma nova chave geral, a qual era constituída por 8 super-famílias. No entanto, esta chave carecia de caracteres para diversos grupos, o que levou Travassos, em 1919 (in Travassos, 1931), a estabelecer estes caracteres.

De acordo com estas modificações, diversos gêneros foram retirados de Oxyuroidea. *Ozalaimus*, *Carnoyia* = *Hystriognathus*, *Atractis*, *Labiduris*, *Aorurus*, *Heth* passaram para Rhabdiasoidea; *Spiroxys* para Spiruroidea; *Pseudonymus* e *Isakis* ficaram dependendo de melhores estudos, assim como *Haplacis* e *Amblionema*; e *Paracis* é idêntico a *Tachygonetria*. Por outro lado os Oxyuridae foram acrescidos de helmintos tidos como Ascaroidea, de bulbo esofagiano posterior.

Artigas (1929) (in Travassos, 1931) faz considerações sobre os nematodas de invertebrados, reunindo nos Oxyuridae todos os parasitos com bulbo esofagiano posterior e que fossem dióicos na fase parasitária.

Travassos (1930) (in Travassos, 1931) publica outro trabalho sobre as modificações que vinha sofrendo os Oxyuridae. Neste artigo ele define que existem relações de parentesco evolutivo entre os Oxyuroidea e os Rhabdiasoidea, e considera duas ordens: a Rhabdiasata e Oxyurata. Ele define para os Oxyurata duas super-famílias: Oxyuroidea, para os machos mono-espiculados, e Subuluroidea para os machos

bi-espiculados. Sendo assim, a família Cosmocercidae, que já tinha sido definida por Railliet em 1916 (in Travassos, 1931), passou a fazer parte dos Subuluroidea, com os seguintes gêneros: *Cosmocerca*, *Aplectana*, *Oxysomatium* e *Schrankia*, definidos por Travassos em 1925 (in Travassos, 1931).

Em trabalho mais atual, Serra-Freire (1990) define, para a família Cosmocercidae, quatro gêneros: *Aplectana*, *Cosmocerca*, *Oxysomatium* e *Raillietnema*, todos eles parasitos de anfíbios e répteis.

Sobre as espécies do gênero *Cosmocerca* já descritas, os seguintes trabalhos foram encontrados na literatura:

Diesing (1861) (in Travassos, 1931) identificou adultos de *Cosmocerca commutata* no intestino grosso de *Bufo viridis*.

Railliet & Henry (1916) (in Travassos, 1931) estabeleceram a espécie *Cosmocerca trispinosa* parasita do intestino e pulmões de *Triturus alpestris* da Europa.

Railliet & Henry (1916) (in Travassos, 1931) redescobriram a espécie *Cosmocerca ornata* identificada por Dujardin (1845) (in Travassos, 1931) como *Oxyuris ornata*, encontrada no intestino grosso de *Rana esculenta*, *Rana temporaria* e *Bufo viridis*.

Railliet & Henry (1916) (in Travassos, 1931) encontraram larvas de *Cosmocerca longicauda* nos pulmões e adultos no intestino de *Triturus alpestris* e *Triturus cristatus*.

Travassos (1925) (in Travassos, 1931) descreveu a espécie *Cosmocerca parva* coletada do intestino grosso de *Helosia nasus*.

Travassos (1925) (in Travassos, 1931) descreveu *Cosmocerca brasiliensis* obtida do trato intestinal de *Bufo crucifer*, *Eleutherodactylus gollmeri*, *Eleutherodactylus miliaris* e *Hyla faber*.

Travassos (1931) identificou apenas exemplares machos de *Cosmocerca minuscula* no intestino grosso de *Rana temporaria*.

Lent & Freitas (1948) descreveram *Cosmocerca chilensis* encontrada no reto de *Rhinoderma darwini* de Rio Bueno, Chile. Pelas dimensões do espículo a espécie aproxima-se de *Cosmocerca parva*, diferenciando-se desta pelo aspecto da cauda do macho e pelas dimensões totais. Neste mesmo trabalho, estes autores também descreveram *Cosmocerca uruguayensis*. Este parasito foi coletado do intestino de

Ceratophrys americana, obtida de Montevideo, Uruguai. Não foi especificado em qual porção do intestino *Cosmocerca uruguayensis* foi encontrada. As dimensões dos espículos a aproxima de *Cosmocerca brasiliensis* mas o número e posição das plectanas, o aspecto da cauda dos machos e as dimensões totais as diferenciam.

Silva (1954) identificou e descreveu a espécie *Cosmocerca freitasi*, obtida do intestino grosso de *Hyla fuscovaria*. Os hospedeiros foram coletados em Itaguaí, no estado do Rio de Janeiro. As fêmeas de *Cosmocerca freitasi* diferenciam-se das fêmeas de *Cosmocerca australis* e *Cosmocerca propinqua*, até então descritas, pela posição da vulva. Os machos de *Cosmocerca freitasi* seriam semelhantes aos machos de *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca minuscula*, *Cosmocerca japonica* e *Cosmocerca limnodynastes* pelo número de plectanas, se diferenciando de *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca minuscula* e *Cosmocerca limnodynastes* pelo número de papilas caudais, e de *Cosmocerca japonica* pelo tamanho dos espículos.

Rodrigues & Fabio (1970) coletaram do trato intestinal de *Hyla faber* um exemplar macho, e o identificaram como *Cosmocerca travassosi*. O comprimento dos espículos de *Cosmocerca travassosi* a diferencia da maioria das outras espécies descritas para *Cosmocerca* sp. A forma da extremidade caudal dos machos, o número e disposição das papilas caudais e o número e forma das plectanas distinguem-na de *Cosmocerca banyulensis*. *Cosmocerca uruguayensis*, por sua vez apresenta diferentes comprimentos do esôfago, bulbo e espículos, distância do ânus à extremidade posterior e distinto número de plectanas. *Cosmocerca brasiliensis* apresenta diferenças no tamanho do esôfago e bulbo e no número de plectanas.

Pinto *et al.* (1970) relataram a ocorrência de um exemplar macho de *Cosmocerca rara* em um novo hospedeiro, *Bufo crucifer* de Manguinhos, Rio de Janeiro. Mas destacaram o grande número de papilas caudais e quantidade de plectanas do exemplar, caracteres estes distintos dos encontrados em outros parasitos descritos como *Cosmocerca rara*.

Dyer & Altig (1976) redescreveram *Cosmocerca brasiliensis* com base em exemplares coletados de várias espécies de anfíbios equatorianos. A morfologia e dimensões das fêmeas dos parasitos do Equador se mostram semelhantes aos exemplares brasileiros de *Cosmocerca brasiliensis*. Os machos, entretanto, são diferentes quanto ao comprimento dos espículos e de outros caracteres corporais.

Fabio (1981) analisou as séries tipo de *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca freitasi* e *Aplectana lopesi*. Ela observou que as fêmeas de *Cosmocerca freitasi* diferem em muitos aspectos das outras fêmeas de *Cosmocerca* e que são indistinguíveis das fêmeas de *Aplectana lopesi*. Os machos de *Cosmocerca freitasi* são idênticos aos machos de *Cosmocerca parva*, e concluiu que *Cosmocerca freitasi* Silva, 1954 é sinonímia de *Cosmocerca parva* Travassos, 1925.

Baker & Vaucher (1984) encontraram três espécies de *Cosmocerca* em anfíbios do Paraguai. *Cosmocerca parva* em *Hyla fuscovaria*, *Bufo paracnemis*, *Leptodactylus chaquensis* e *Leptodactylus elenae*; *Cosmocerca ornata* em *Leptodactylus bufonis*, *Leptodactylus podicipinus* e *Leptodactylus mystacinus*, *Cosmocerca podicipinus* em *Leptodactylus podicipinus*, *Leptodactylus fuscus*, *Leptodactylus elenae* e *Leptodactylus chaquensis*. Este encontro de *Cosmocerca ornata* em *Leptodactylus bufonis* constitui-se no primeiro relato desta espécie em anuros do Novo Mundo, o que pode indicar uma distribuição relacionada à separação continental ocorrida entre a América do Sul e o Velho Mundo.

Baker & Green (1988) examinaram três espécies de anfíbios nativos da Nova Zelândia, encontrando e descrevendo duas novas espécies, *Cosmocerca australis* em *Leiopelma hochsteter* e *Cosmocerca archeyi* em *Leiopelma archeyi*. Estas espécies se diferenciam das suas congêneras encontradas em outras partes do mundo pela morfologia caudal dos machos e das fêmeas.

Navarro *et al.* (1988) coletaram do trato intestinal de *Rana temporaria*, *Rana ibérica* e *Rana perezi* da península ibérica, espécimes de *Cosmocerca ornata*. A morfologia da região caudal dos machos e a quantidade de plectanas, cinco pares, permitiu a identificação dos parasitos.

Martinez & Maggenti (1989) descreveram *Cosmocerca panamaensis* obtida de *Dendrobates pumilio* do Panamá. *Cosmocerca panamaensis* é a primeira espécie encontrada no intestino delgado de seu hospedeiro. Os machos apresentam 3 pares de papilas tuberculadas circundando a cloaca, que os diferenciam de outros machos das outras espécies de *Cosmocerca*.

Moravec & Kaiser (1994) descreveram *Cosmocerca longispicula* coletada de um dendrobatídeo das Antilhas Francesas. Os machos de *Cosmocerca longispicula*

diferenciam-se dos machos de outras espécies por apresentam os maiores espículos.

Barton & Richads (1996) realizaram um levantamento da helmintofauna intestinal de 53 anuros machos da espécie *Litoria genimaculata* da Austrália. Neste trabalho encontraram seis espécies de helmintos, dentre elas *Cosmocerca* sp.. A ausência de machos de *Cosmocerca* dificultou a identificação específica dos parasitos.

Mordeglia & Digiani (1998) registraram o primeiro encontro de *Cosmocerca parva* em anuros da Argentina, e em *Bufo granulosus*. Este parasito foi originalmente descrito em *Helosia nasus* de Angra dos Reis, Rio de Janeiro, sendo depois encontrado em *Leptodactylus chaquensis*, *Leptodactylus elenae*, *Hyla fuscovaria* e *Bufo paracnemis* do Paraguai.

Puga & Torres (1999) determinaram a prevalência e intensidade média da infecção por *Cosmocerca* sp. em *Eupsophus roseus* (Anura: Leptodactylidae) do Chile, encontrando, respectivamente, 46% e $2,1 \pm 1,3$.

Vashetko & Siddikov (1999) analisaram 272 anuros da espécie *Bufo viridis* de vários biótopos do Uzbequistão. *Cosmocerca commutata* foi encontrada em anfíbios coletados de todos os locais estudados. A carga parasitária variou de 1 a 109 indivíduos. *Cosmocerca ornata* também foi coletada de exemplares de todos os biótopos avaliados, totalizando 79 hospedeiros parasitados. Os vermes adultos foram encontrados no reto e as larvas em vários órgãos e tecidos, principalmente na boca. *Cosmocerca timophejevoi* foi coletada do intestino grosso de 39 hospedeiros em todas as estações do ano, mas não em todos os biótopos estudados.

Azimov & Ikramov (2001) encontraram *Cosmocerca ornata*, *Cosmocerca commutata* e *Cosmocerca timophejevoi* em *Bufo viridis* e *Rana ridibunda* do Uzbequistão.

Galli *et al.* (2001) analisaram a comunidade parasitária de 58 anuros da espécie *Bufo bufo* coletados na região norte da Itália, e encontraram 5 espécies de nematodas. *Cosmocerca ornata* foi observada no reto dos hospedeiros, juntamente com *Neyrapterectana schneideri*.

Boquimpani – Freitas *et al.* (2001) coletaram 17 anfíbios da espécie *Proceratophrys appendiculata* em Ilha Grande, Rio de Janeiro. Nestes animais encontraram 5

espécies de helmintos no trato gastrointestinal, dentre elas, *Cosmocerca brasiliensis*. Este parasito apresentou uma prevalência de 29,4% e uma intensidade média que variou de 1.2 ± 0.4 .

Bursey *et al.* (2001) avaliaram os helmintos gastrointestinais de 682 anuros distribuídos em 51 espécies do Peru, e encontraram, *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca brasiliensis* e *Cosmocerca podicipinus*, dentre outras. *Cosmocerca brasiliensis* apresentou a maior prevalência, 24%, sendo o helminto mais encontrado nos hospedeiros analisados.

Goldberg *et al.* (2002) analisaram a comunidade helmíntica de 44 anfíbios de 7 espécies distintas, coletados em Trinidad e Tobago. Dentre os parasitos encontrados, registraram a presença de *Cosmocerca parva* e *Cosmocerca brasiliensis*. *Colosthetus trinitatis*, *Leptodactylus fuscus* e *Leptodactylus macrosternum* foram notificados como novos hospedeiros para *Cosmocerca brasiliensis*; *Eleutherodactylus turpinorum*, *Leptodactylus macrosternum* e *Leptodactylus nesiotus* foram os novos hospedeiros encontrados para *Cosmocerca parva*. Tobago foi identificada como uma nova localidade onde se pode encontrar espécies de *Cosmocerca*. Já Trinidad foi descrita como uma nova localidade para *Cosmocerca parva*.

Goldberg & Bursey (2002) analisaram a comunidade helmíntica de 216 anuros distribuídos em 10 espécies, coletados na Ilha Honshu, Japão. Dentre os parasitos obtidos, encontraram *Cosmocerca japonica*. Esta apresentou uma prevalência de 3%, estando parasitando o intestino grosso de *Rana nigromaculata*.

Gonçalves *et al.* (2002) estudaram 28 amostras de helmintos obtidos de anfíbios, répteis, aves e mamíferos do Amazonas e que estavam depositados na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz. Dentre estes, identificaram no intestino grosso de *Bufo typhonius* 4 espécimes pertencentes ao gênero *Cosmocerca*. As más condições de preservação do material dificultou a identificação específica.

Bursey & Goldberg (2004) analisaram os parasitos do trato gastrointestinal de 64 lagartos. Trinta e nove da espécie *Prionodactylus eigernmani* obtidos do Amazonas e Rondônia, e 25 da espécie *Prionodactylus oshaughnessyi* oriundos do Acre e Equador. Dos helmintos encontrados, identificaram e descreveram *Cosmocerca vrcibradici* n. sp..

3. Objetivos

3.1. OBJETIVO GERAL

Descrever a morfologia de *Cosmocerca minasensis* n. sp. e analisar a frequência, a patologia e aspectos biológicos da relação deste parasito com *Scinax longilineus*, seu hospedeiro.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter a morfometria e micrometria dos exemplares estudados;
- Formular desenhos em câmara-clara dos parasitos;
- Obter micrografias da microscopia eletrônica de varredura e óptica;
- Determinar uma nomenclatura para a nova espécie;
- Determinar os holótipos e parátipos masculinos e femininos da nova espécie.
- Conhecer a histologia do intestino grosso de *S. longilineus*;

- Analisar a morfologia dos intestinos parasitados;
- Descrever e classificar as alterações inflamatórias encontradas.

4. Material e Métodos

Sessenta espécimes de *Scinax longilineus* (7 fêmeas e 53 machos) foram coletados no Parque das Mangabeiras (19° 55' 57" S e 43° 56' 32" N) durante os meses de dezembro de 1990 a junho de 1991. Os anfíbios foram capturados manualmente durante a noite, sendo acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados. Desta maneira foram transportados para o laboratório de herpetologia do Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. No laboratório foram sacrificados em éter, medidos, pesados, sexados e necropsiados. Na porção ventral do corpo dos anuros fez-se, com uma tesoura, uma incisão longitudinal, desde a base da faringe até a cloaca. Os tecidos abdominais e mesentéricos foram

dissecados até se atingir o trato intestinal, o qual foi separado da cavidade abdominal por um corte em ambas as extremidades dos órgãos. As vísceras foram acondicionadas em frascos de plástico contendo uma solução de formalina a 10%, até o ano de 2003. Neste ano, os intestinos delgado e grosso foram retirados destes recipientes, colocados em placas de petri com formalina a 10% e levados ao microscópio estereoscópico para a dissecação dos mesmos. Com um bisturi cortou-se os intestinos no plano longitudinal. O material fecal e as paredes intestinais foram analisados para a procura dos helmintos. Não foram realizados outros testes parasitológicos e nem a raspagem da mucosa. Os parasitos encontrados foram coletados com estilete e acondicionados em frascos de vidro contendo solução de formalina a 10%. Os vermes foram identificados no laboratório de helmintologia do departamento de parasitologia do ICB – UFMG.

Quinze helmintos, seis machos e nove fêmeas, foram escolhidos aleatoriamente para a análise morfométrica. Foram montados entre lâmina e lamínula com uma gota de lactofenol para diafanização e observados ao M.O. Os caracteres taxonômicos importantes para a identificação, segundo o proposto por Serra-Freire (1990), foram medidos com ocular micrométrica e os dados obtidos foram tabulados. A média dos valores encontrados foi comparada com os dados existentes para as outras espécies do gênero. Com o intuito de se obter dados da topografia externa dos helmintos, outros três exemplares adicionais, dois machos e uma fêmea, foram preparados para a microscopia eletrônica de varredura. Os vermes foram colocados em placas de Petri com formalina a 10% e levados ao microscópio estereoscópico para a limpeza dos mesmos com pincel. A desidratação dos espécimes foi feita com etanol preparado em soluções de concentrações crescentes (álcool 50^o, 60^o, 70^o, 80^o, 90^o e 100^o). As amostras permaneceram durante 15 minutos em cada concentração, e foram expostas duas vezes ao álcool absoluto. A secagem foi realizada à base de gás carbônico, através do aparelho de ponto crítico do CEMEL – UFMG. Os parasitos foram metalizados, recebendo uma cobertura de ouro de 200 Å de espessura, sendo então fotografados no microscópio eletrônico de varredura do CEMEL. A metodologia para o preparo das amostras para a microscopia eletrônica de varredura foi retirada de Haddad *et al.* (1989). Foram também realizados desenhos em câmara clara dos helmintos e de suas estruturas. Dos 15 helmintos preparados para a análise morfométrica, dois, um macho e uma fêmea, que apresentavam a maior parte das informações morfológicas de importância taxonômica registradas, foram escolhidos como os holótipos masculinos e femininos da nova espécie. Os 13 parasitos restantes

(5 machos e 8 fêmeas) foram determinados como os parátipos masculinos e femininos. Os espécimes estão depositados na coleção helmintológica do departamento de parasitologia do ICB – UFMG, sob o número 589.

O levantamento da helmintofauna dos 60 anuros capturados no Parque das Mangabeiras durante o ano de 2003, mostrou que 23 anfíbios apresentavam parasitos no intestino grosso. Estes animais foram considerados como o grupo parasitado. Os 37 anuros restantes, por não apresentarem helmintos no trato intestinal foram identificados como o grupo não – parasitado. Foram selecionados aleatoriamente 23 indivíduos do grupo não – parasitado, juntamente com os 23 anuros do grupo parasitado. Destes animais foram confeccionadas lâminas histológicas com fragmentos da porção terminal do intestino grosso, ponto de referência de coleta, uma vez que este foi o local onde os parasitos se encontravam. As peças foram desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol, emblocadas em parafina para serem cortadas no micrótomo. Foi estabelecida a espessura de 5 µm para os cortes. Estes foram corados com Hematoxilina-Eosina (H.E) para a análise histopatológica. Com o intuito de se realizar uma análise seriada dos focos de inflamação porventura encontrados, foram confeccionadas 5 lâminas para cada fragmento intestinal,. As lesões foram classificadas em ausente, leve e moderada de acordo com a intensidade do infiltrado inflamatório observado nos cortes.

Foram calculadas a intensidade média (im) dos parasitos e a frequência (f) do aparecimento dos helmintos em seus hospedeiros anuros, de acordo com o proposto por Bush et al. (1997):

im = nº total de indivíduos de uma sp. de parasito em uma amostra

nº total de hospedeiros infectados com a sp. de parasito

f = nº de hospedeiros infectados com uma sp. de parasito

nº de hospedeiros examinados

5. Resultados

5.1. HELMINTOS ENCONTRADOS

Encontrou-se 27 nematodas no intestino grosso de 23 dos 60 anuros analisados (Tabela1).

5.2. DESCRIÇÃO GERAL, DOS HOLÓTIPOS E PARÁTIPOS DE *Cosmocerca minasensis*

Cosmocerca minasensis são nematodas de coloração branco-leitosa, boca trilabiada, com uma armadura quitinizada em cada um dos lábios, seis papilas circulares e sem estruturas de fixação (**Fig.1**). Apresentam uma cavidade bucal em forma de V e uma faringe (**Fig. 2**). O esôfago muscular é tipicamente oxiuróide, formado anteriormente por um corpus retilíneo e não muito longo e um istmo reduzido, que delimita o início do bulbo (**Fig.3**). Este é posterior e ornado com três válvulas quitinizadas bem diferenciadas do restante do órgão (**Fig.4**). Em uma posição pré-bulbar encontra-se um poro excretor. Entre o poro excretor e o bulbo encontra-se o anel nervoso circundando o esôfago muscular (**Fig. 4 e 6**). O intestino é simples, sem divertículos e nem cecos. As fêmeas são opistodelfas, apresentando grande quantidade de ovos larvados no útero, como também alguns em fase de mórula (**Fig.4 e 6**). Não foram observadas larvas livres no útero. A vulva está presente na porção mediana do corpo (**Fig.7**). Os machos apresentam dois espículos longos e subiguais, os quais são sustentados por um gubernáculo bem quitinizado e com formato navicular (**Fig.8**), além de 2 papilas pré e 2 pós-cloacais (**Fig. 9**) e 7 pares de plectanas ventrais (**Fig.9 e 10**).

Holótipo masculino: Comprimento do corpo 3.01 mm. Largura 0.37 mm. Comprimento total do esôfago 0.40 mm. Comprimento do bulbo 0.07 mm. Poro excretor à extremidade anterior 0.38 mm. Anel nervoso à extremidade anterior 0.33 mm. Comprimento do gubernáculo 0.16 mm. Comprimento dos espículos 0.32 mm o menor e 0.33 mm o maior. Cauda 0.21 mm. Papilas caudais 2 pós – cloacais e 2 pré – cloacais. Plectanas 7 pares. Faringe 0.04 mm.

Holótipo feminino: Comprimento do corpo 5.65 mm. Largura 0.35 mm. Comprimento total do esôfago 0.63 mm. Comprimento do bulbo 0.12 mm. Poro excretor à extremidade anterior 0.42 mm. Anel nervoso à extremidade anterior 0.48 mm. Comprimento do ovo larvado 0.06 mm. Largura do ovo larvado 0.04 mm. Faringe 0.04 mm.

Parátipos (5 machos, 7 fêmeas grávidas e 1 sem ovos): as medidas dos parátipos masculinos e femininos de *Cosmocerca minasensis* estão mostradas na Tabela 2.

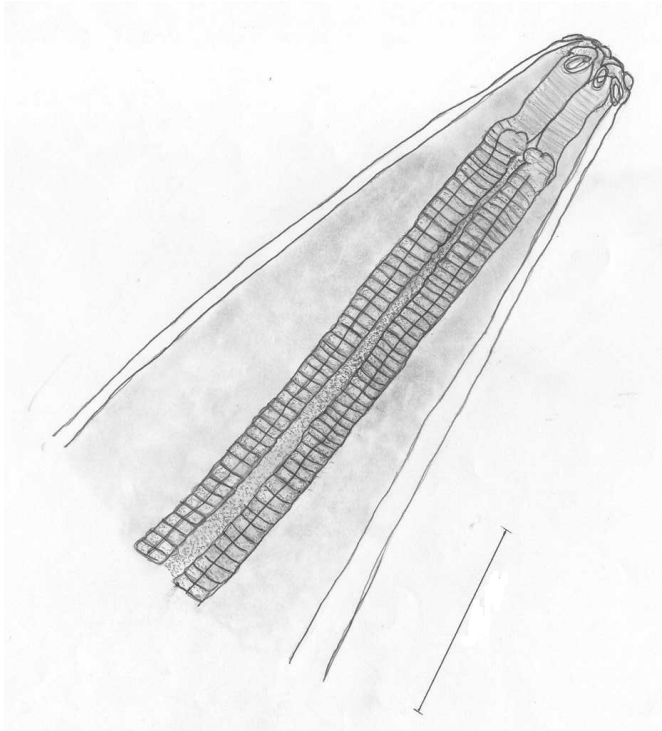


Figura 1: Desenho em câmara-clara da extremidade anterior de *Cosmocerca minasensis*, mostrando as papilas na boca (▶). A: 400X. E: 10 μ m.

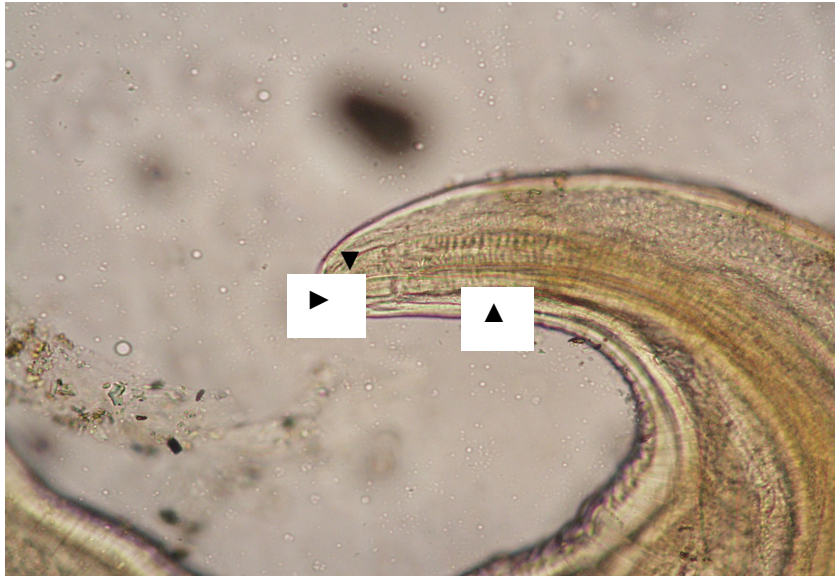


Figura 2: Fotomicrografia de *Cosmocerca minasensis*. Extremidade anterior com detalhe da cavidade bucal (▶), faringe (▼) e esôfago(▲). A: 200X.



Figura 3: Fotomicrografia de *Cosmocerca minasensis*. Extremidade anterior mostrando o esôfago muscular oxiuróide (↑). A: 100X.

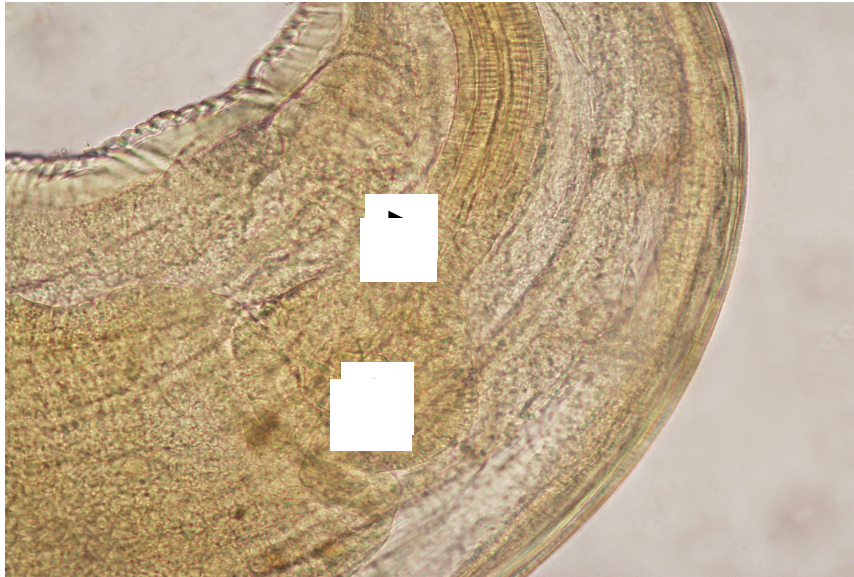


Figura 4: Fotomicrografia de *Cosmocerca minasensis*. Extremidade anterior evidenciando as válvulas quitinizadas do bulbo (▲) e o anel nervoso (▶). A: 200X.

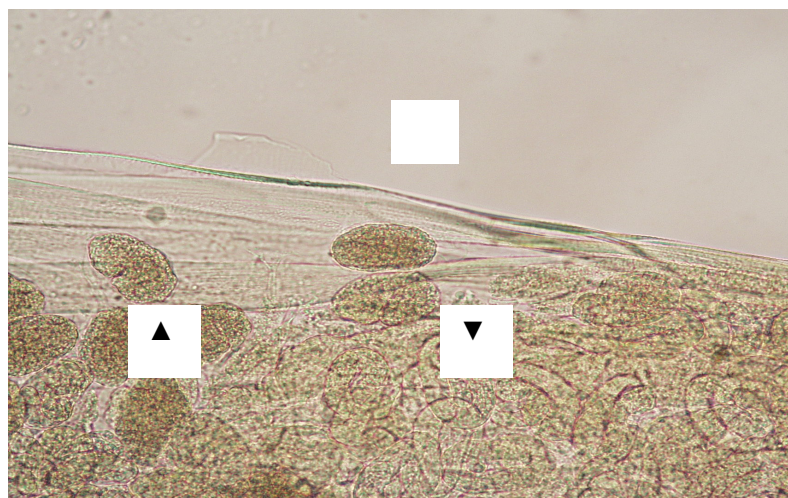


Figura 5: Fotomicrografia de fêmea de *Cosmocerca minasensis*, evidenciando ovos larvados (▼) e em fase de mórula (▲) no útero. A: 200X

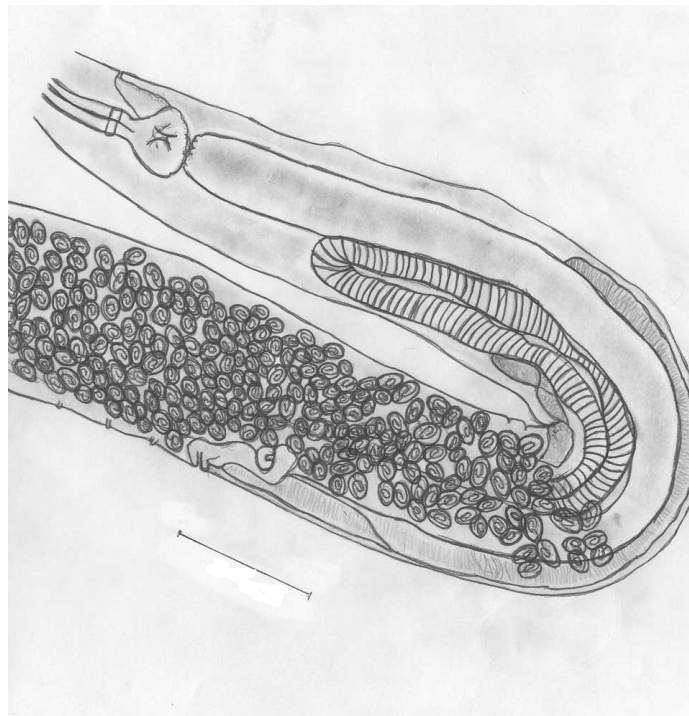


Figura 6: Desenho em
Cosmocerca
no útero, parte do
excretor (↓). A: 200X.

câmara-clara da metade anterior do corpo de fêmea de
minasensis, mostrando a disposição dos ovos larvados (▲)
sistema reprodutor feminino, bulbo, anel nervoso (▲) e poro
E: 30µm.

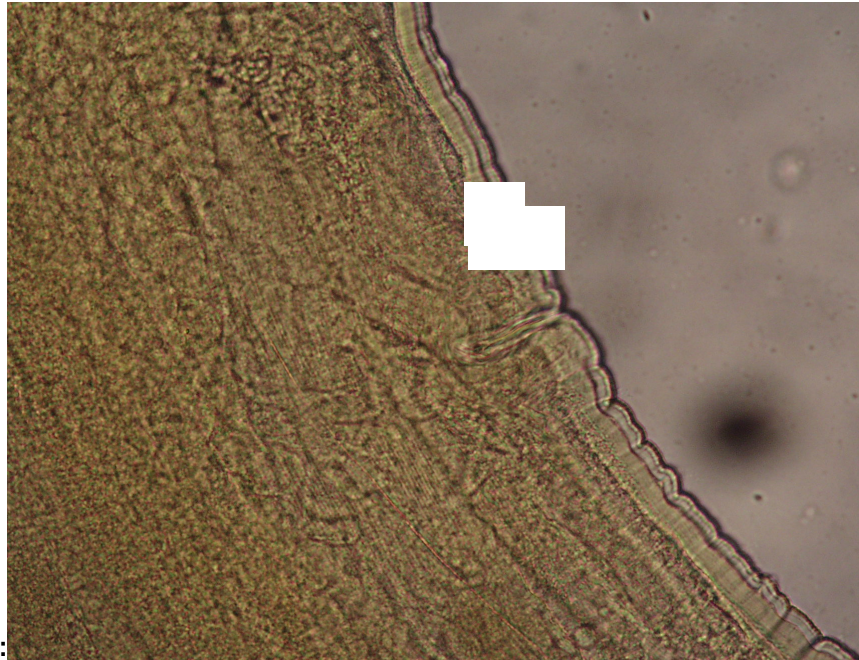


Figura 7: Fotomicrografia de uma fêmea de *Cosmocerca minasensis*, evidenciando a vulva : 400X.



Figura 8: Fotomicrografia de *Cosmocerca minasensis*. Extremidade posterior de um macho, evidenciando o gubernáculo (▶), os espículos (▼) e a cauda (▶). A: 200X.

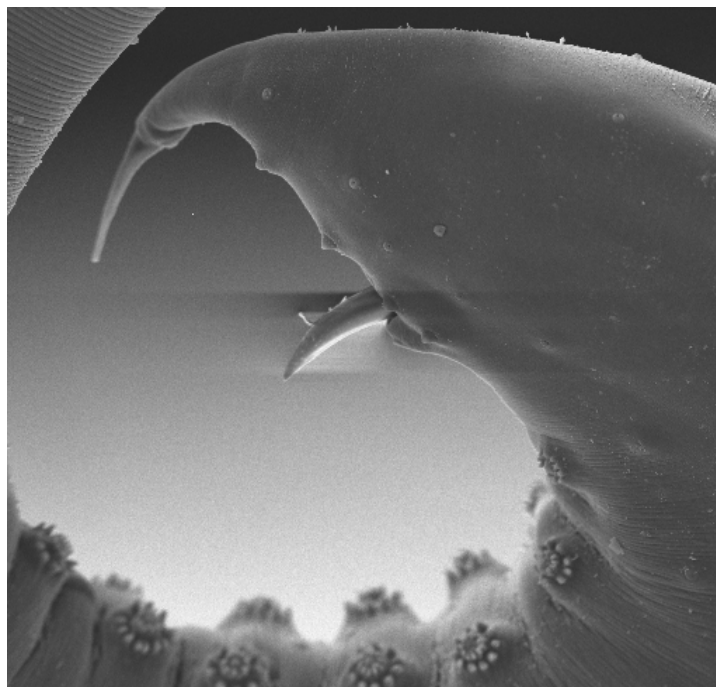


Figura 9: Eletromicrografia de varredura da cauda de um macho de *Cosmocerca minasensis*, evidenciando 2 papilas pré-cloacais (▲), 2 papilas pós-cloacais (▶) e plectanas (▼). A: 3.000X.

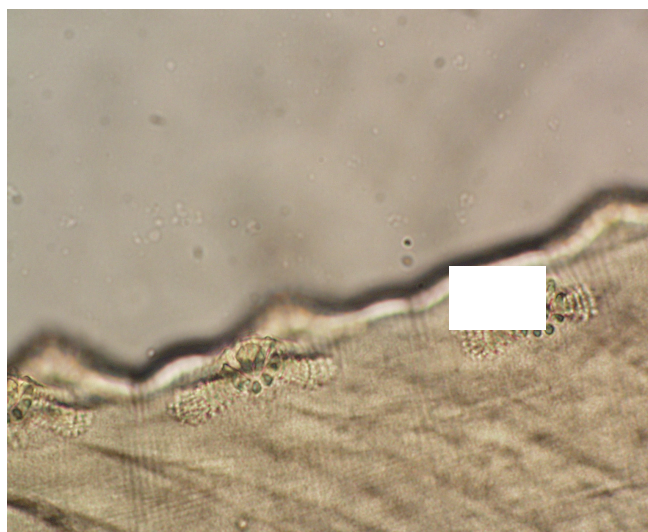


Figura 10: Fotomicrografia de *Cosmocerca minasensis*. Extremidade posterior de um macho evidenciando as plectanas (▼). A: 400X.

Tabela 1: Discriminação dos 27 exemplares de *Cosmocerca minasensis* encontrados no intestino grosso de 23 anuros da espécie *Scinax longilineus* parasitados.

Identificação dos hospedeiros	Número de <i>C. minasensis</i> encontrados	Identificação dos hospedeiros	Número de <i>C. minasensis</i> encontrados
SI 16	1	SI 49	1
SI 18	2	SI 52	1
SI 19	2	SI 57	1
SI 20	1	SI 71	2
SI 21	2	SI 90	1
SI 31	1	SI 91	2
SI 38	1	SI 105	1
SI 39	1	SI 110	2
SI 41	1	SI 118	2

SI 47	1	SI 120	1
-------	---	--------	---

Tabela 2: Morfometria dos caracteres taxonômicos de 5 machos e 8 fêmeas (parátipos) de *Cosmocerca minasensis* (mm) – médias e amplitudes das variáveis.

Caracteres Taxonômicos	Machos (n = 6)		Fêmeas (n = 9)	
	média	amplitude	média	amplitude
Comprimento total	3.02	(2.69 - 3.43)	4,15	(2.56 - 5.29)
Largura	0.28	(0.24 - 0.31)	0.37	(0.26 - 0.51)
Comprimento esôfago (c/ bulbo)	0.38	(0.35 - 0.42)	0.54	(0.34 - 0.61)
Comprimento do bulbo	0.07	(0.05 - 0.08)	0.11	(0.10 - 0.12)
Poros excretor à ext. anterior	0.34	(0.29 - 0.38)	0.39	(0.32 - 0.45)
Anel nervoso à ext. anterior	0.28	(0.27 - 0.29)	0.46	(0.41 - 0.50)
Comprimento do gubernáculo	0.16	(0.14 - 0,17)	-	
Comprimento dos espículos	0.27 e 0.29 e 0.29 – 0.32)	(0,26 - 0.29)	-	
Vulva à ext. anterior	-		2.25	(1.95 - 2.82)
Comprimento do ovo	-		0.06	(0.6 - 0.07)
Largura do ovo	-		0.04	(0.03 - 0.05)
Cauda	0.19	(0.18 - 0.22)	0.34	(0,25 - 0.35)
Faringe	0.03	(0.02 - 0.)	0.04	(0.03 - 0.04)

Baseado nestas características concluiu-se que os parasitos pertencem ao gênero *Cosmocerca*, constituindo-se de uma nova espécie, denominada *Cosmocerca minasensis*. Esta nova espécie apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Classe Nematoda

Ordem: Cosmocercoida Railliet, 1916

Família: Cosmocercidae Railliet, 1916

Subfamília: Cosmocercinae Railliet, 1916

Gênero: *Cosmocerca* Diesing, 1861

Espécie: *Cosmocerca minasensis* n. sp.

5.3. IDENTIFICAÇÃO GENÉRICA DE *Cosmocerca minasensis*

Segundo Serra-Freire (1990) a Família Cosmocercidae apresenta 4 gêneros, *Aplectana*, *Raillietnema*, *Cosmocerca* e *Oxysomatium*. Os machos de *Cosmocerca minasensis* podem ser identificados diretamente pela Chave de Gêneros proposta pela autora, como se segue:

“Chave para a Identificação dos Gêneros da Família Cosmocercidae”

- 1- Machos com 2 espículos iguais, gubernáculo ausente----- *Oxysomatium*
Machos com 2 espículos iguais, gubernáculo presente----- 2
- 2- Plectanas presentes-----
Cosmocerca
Plectanas ausentes-----3
- 3- Fêmeas com grande número de ovos de pequeno tamanho----- *Aplectana*
Fêmeas com pequeno número de ovos de grande tamanho----- *Raillietnema*

5.4. IDENTIFICAÇÃO ESPECÍFICA DOS MACHOS E FÊMEAS DE *Cosmocerca minasensis*

O tamanho dos espículos e quantidade das plectanas dos machos de *C. minasensis* os diferenciam de todos os outros machos descritos, aproximando-os apenas de *C. longispicula*. Os caracteres morfológicos que separam estas duas espécies estão listados na Tabela 3.

5.5. ANÁLISE QUANTITATIVA DO PARASITISMO DE *Cosmocerca minasensis* EM *Scinax longilineus*

Quantificou-se a intensidade média dos parasitos, a frequência do aparecimento de *C. minasensis* nos hospedeiros anuros e a proporção de machos e fêmeas encontrados na população de helmintos analisada. Estes dados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 3: Diferenciação morfológica entre *Cosmocerca minasensis* e *Cosmocerca longispicula*.

	<i>Cosmocerca minasensis</i>	<i>Cosmocerca longispicula</i>
Comprimento total ♂	3,03 mm	2,38 mm
Comprimento total ♀	5,20 mm	2,97 mm
Posição do anel nervoso	Final do esôfago	Meio do esôfago
Dimensões dos ovos larvados	0,06 mm x 0,04 mm	0,07 mm x 0,08 mm
Larvas livres no útero	Não	Sim

Tabela 4: Frequência, intensidade média de infecção e relação macho/fêmea para *Cosmocerca minasensis* obtidos da necrópsia de 60 *Scinax longilineus*

Número de anuros examinados	60
Número de animais com <i>Cosmocerca minasensis</i>	23
Frequência	38.33%
Total de parasitos	27
Intensidade média	1.17
Quantidade de parasitos ♂	8
Quantidade de parasitos ♀	19

5.6. HISTOLOGIA DO INTESTINO GROSSO DE *Scinax longilineus*

O intestino de *S. longilineus* apresenta quatro camadas teciduais: mucosa, submucosa, muscular e serosa (**Fig.11**).

A mucosa é formada pelo epitélio e lâmina própria que se projetam em direção à luz sob a forma de pequenas vilosidades. O estrato epitelial contém células colunares de citoplasma acidófilo e granuloso, com um núcleo oval, basofílico e basal, como também células caliciformes dispostas entre os elementos colunares. Podem ser observados, neste local, vacúolos contendo inclusões acidófilas e restos celulares que parecem estar direcionados para a borda epitelial, para onde podem extravasar o seu conteúdo. Alguns macrófagos também foram encontrados entre as células epiteliais.

O tecido conjuntivo da lâmina própria contém fibras colágenas acidófilas, núcleos fusiformes e basófilos de fibroblastos e macrófagos. Estes podem ter o núcleo estrelado ou ovalado, grande, claro e com grânulos e inclusões presentes no citoplasma. De uma maneira geral, os macrófagos podem ficar livres no interstício ou no interior de vesículas, as quais também foram encontradas no limite epitélio – lâmina própria. Capilares sanguíneos contendo hemácias nucleadas também são próprios deste estrato.

A camada submucosa é fina, pouco celularizada e com uma maior quantidade de fibras colágenas e fibroblastos. Alguns capilares sanguíneos foram encontrados, mas em menor quantidade do que os da lâmina própria.

O estrato muscular é composto por fibras circulares e longitudinais.

Já a serosa possui vasos sanguíneos e linfáticos, os quais ora apresentam-se vazios e ora com núcleos celulares não identificados.

5.7. HISTOPATOLOGIA DO INTESTINO GROSSO PARASITADO POR *Cosmocerca minasensis*

A principal alteração inflamatória observada nos intestinos parasitados foi a hiperplasia das células caliciformes seguida da atrofia e dilatação das vilosidades (**Fig.12**). As vesículas epiteliais contendo inclusões acidófilas e/ ou restos celulares tornaram-se mais numerosas, como também a quantidade de macrófagos estava aumentada neste local.

A camada mucosa mostrou-se mais espessa e com um maior número de macrófagos residentes. Estes apresentaram-se livres e na forma de grupos condensados (**Fig.13 e 14**), que se situaram próximos à base das vilosidades inflamadas. Os capilares sanguíneos tornaram-se anastomosados, finos e alongados. O início de um processo de fibrose (**Fig.13**) foi também encontrado, o que pode ter levado ao espessamento deste estrato tecidual.

A serosa estava mais espessa e celularizada, com um acréscimo no número de elementos nucleares que não puderam ser identificados.

5.8. CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES INFLAMATÓRIAS

Em todos os anuros parasitados foram observados infiltrados inflamatórios na mucosa intestinal, que foram classificados como leves, estando constituídos por macrófagos.

5.9. EXAME MACROSCÓPICO DO INTESTINO GROSSO DE *Scinax longilineus*

O exame macroscópico realizado durante a necrópsia dos anfíbios analisados revelou a presença de grande quantidade de muco na luz do intestino grosso dos animais parasitados. Este achado não foi observado nos animais não - parasitados

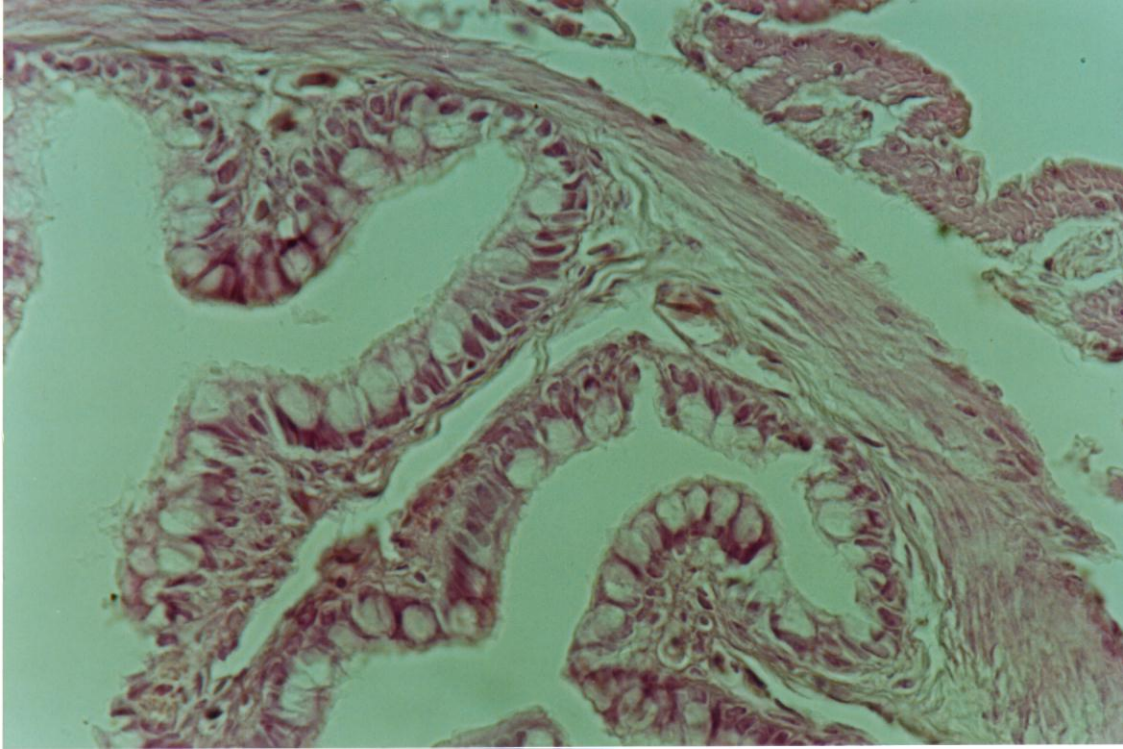


Figura 11: Fotomicrografia do intestino grosso de *Scinax ionexilis* não - parasitado. Enterócitos (▶), células caliciformes (▼), e camada serosa (◄). Coloração H.E. A: 200X

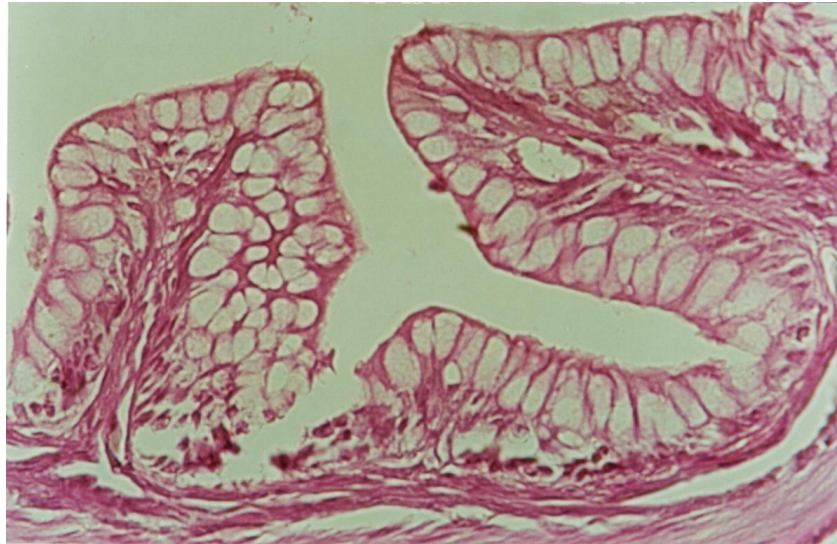


Figura 12: Fotomicrografia de intestino grosso de *Scinax longilineus* parasitado por *Cosmocerca minasensis*, com hiperplasia das células caliciformes (◄). Coloração H.E. A: 200X

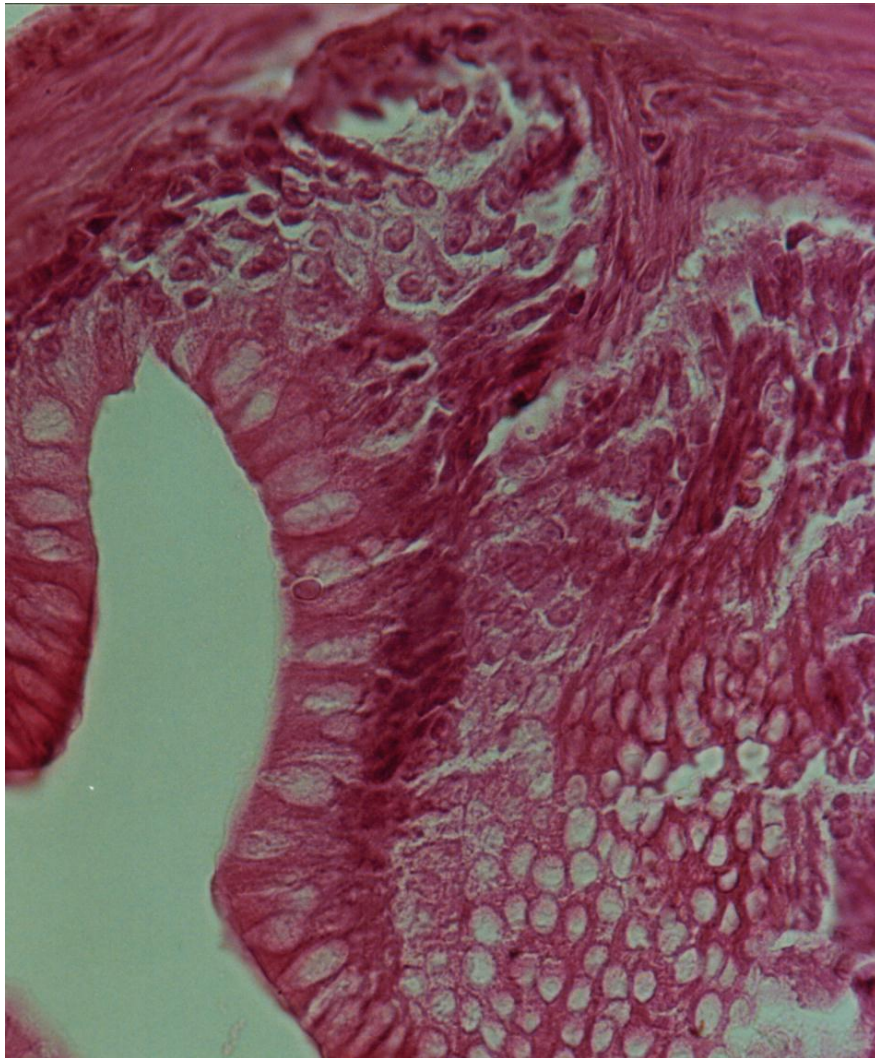


Figura 13: Fotomicrografia do intestino grosso de *Scinax longilineus*. Alterações histopatológicas das vilosidades intestinais inflamadas: dilatação, início de fibrose (◀) e hiperplasia de macrófagos (▶) decorrentes da infecção por *Cosmocerca minasensis*. Coloração H.E. A: 400X

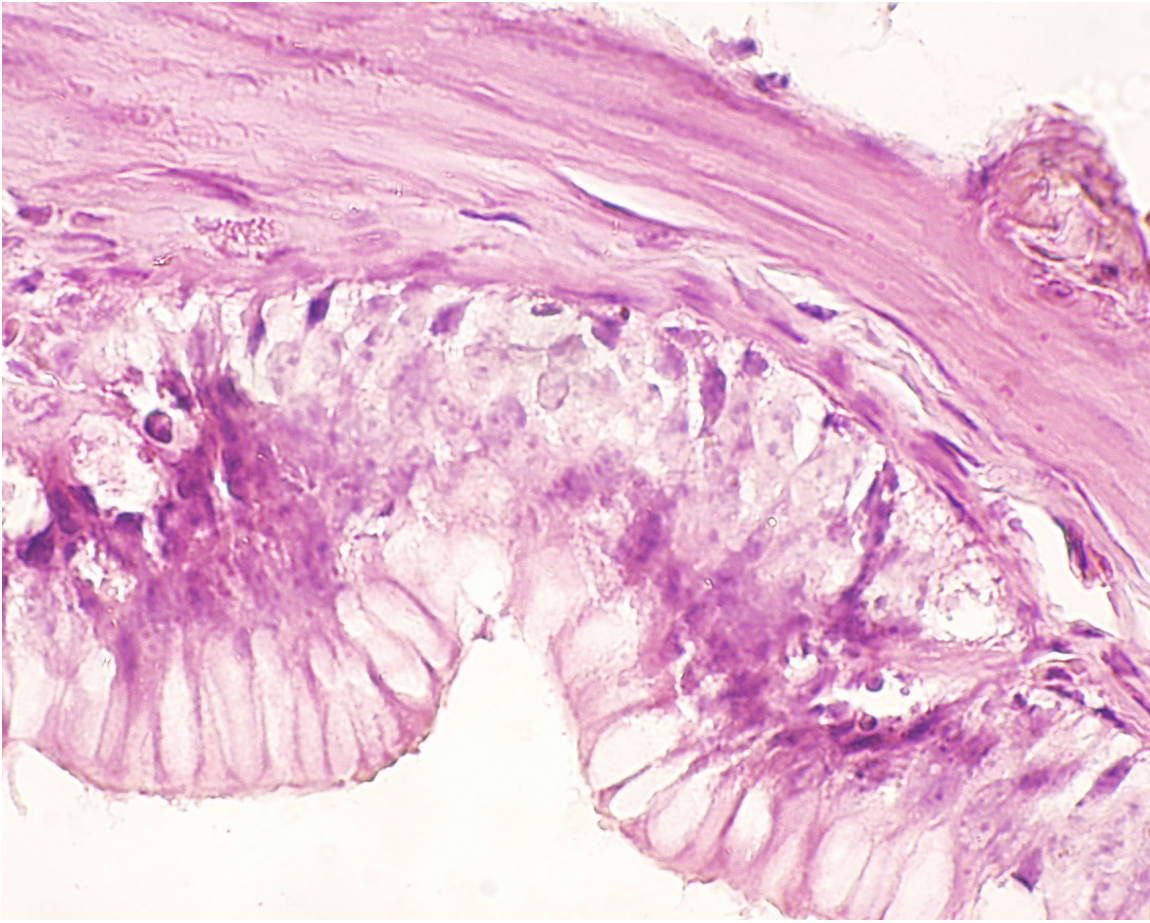


Figura 14: Fotomicrografia do intestino grosso de *Scinax longilineus*. Hiperplasia e organização dos macrófagos em grupos condensados (►) na base das vilosidades inflamadas. Coloração H.E. A: 400X

6. Discussão

6.1. HELMINTOS ENCONTRADOS

A fauna de helmintos intestinais da sub-população de *Scinax longilineus* analisada é composta por apenas uma espécie de parasito: *Cosmocerca minasensis* n. sp.. Esta baixa presença parasitária observada em anuros foi também citada por Aho (1990). Segundo este autor, “a comunidade helmíntica de anfíbios e répteis é altamente variável, depauperada e com características estruturais não-interativas”. Entretanto, Tinsley (1995) afirma que os anfíbios anuros apresentam uma rica fauna parasitária, sendo eles excelentes modelos biológicos no ensino da parasitologia.

6.2. DESCRIÇÃO

Os exemplares de *C. minasensis* apresentam as características gerais encontradas nos nematodas do gênero *Cosmocerca*. Boca trilabiada com lábios pequenos, apresentando, cada um, uma armadura quitinizada em forma de V. O poro excretor é pré-bulbar e o esôfago é tipicamente oxiuróide, com pequena faringe anterior e um bulbo posterior com válvulas quitinizadas. Os machos apresentam no terço posterior da face ventral uma série de plectanas (Serra-Freire, 1990). A peculiaridade morfológica de *C. minasensis* reside no tamanho de seus espículos, muito maiores que a maioria das outras espécies do gênero. Esta característica aproxima *C. minasensis* de *C. longispicula*.

Sobre este tema existe uma discussão na literatura, levantada por Moravec e Kaiser (1994). Estes autores descreveram *C. longispicula* que, como o próprio nome diz possui espículos avantajados. Com base nesta observação discordaram do item presente na chave de identificação genérica proposta por Skrjabin *et al.* (1961) e Yamaguti (1961). Nesta chave é estabelecido que “os helmintos do gênero *Cosmocerca* sempre apresentam espículos muito pequenos, fracamente esclerotizados e usualmente rudimentares, podendo até serem menores que o gubernáculo”, e sugeriram a seguinte ementa: “dois espículos presentes, podendo ou não serem fracamente esclerotizados ou rudimentares”. Este item deveria ser realmente modificado, pois permitiria a inclusão de parasitos com espículos reduzidos, como também de exemplares com espículos com maior grau de desenvolvimento, como os são os de *C. minasensis* e *C. longispicula*. Martinez e Maggenti (1989) registraram para *C. parva* o menor espículo encontrado, cujo comprimento foi de 0,02

mm. Travassos (1931) relata que os órgãos reprodutores de *C. commutata* eram até então os maiores, com aproximadamente 0,24 mm de comprimento.

6.3. IDENTIFICAÇÃO GENÉRICA DE *Cosmocerca minasensis*

A chave de identificação genérica proposta por Serra-Freire (1990) é uma ferramenta útil e pode ser considerada uma referência para o reconhecimento dos machos de *Cosmocerca* sp. Quando da análise dos pré-requisitos nela descritos para os quatro gêneros da família Cosmocercidae, a presença das plectanas confirma a inclusão dos parasitos machos que as possuem dentro do gênero *Cosmocerca*. A posse destas estruturas, sob um ponto de vista evolutivo, pode ser considerada uma auto-apomorfia do grupo, pois apenas são encontradas nestes nematodas.

Entretanto, são necessárias pesquisas bibliográficas adicionais para se conseguir, com certeza, a identificação genérica das fêmeas. A chave de Serra-Freire (1990) carece de informações concisas sobre os caracteres morfológicos femininos que tenham importância taxonômica. Se apenas essa chave fosse utilizada para esse fim, poderia se ter uma interpretação equivocada sobre a verdadeira posição sistemática das fêmeas de *Cosmocerca* sp.. Isto ocorreria porque assim como as fêmeas de *Aplectana*, as de *Cosmocerca* também apresentam grande número de ovos pequenos no útero. Talvez essa dificuldade de determinação genérica tenha sido a causa da discussão sobre a taxonomia de *C. freitasi* Silva, 1954 abordada no trabalho de Fabio (1981). Esta autora, ao reavaliar os exemplares machos e fêmeas que Silva (1954) estabeleceu como pertencentes à espécie *C. freitasi*, observou que as fêmeas da referida espécie eram indistinguíveis das fêmeas de *Aplectana lopesi*. E que os machos de *C. freitasi* eram idênticos aos de *C. parva*, quanto ao número de plectanas, tamanho relativo dos espículos e gubernáculo. Desta forma, propôs que *C. freitasi* Silva, 1954 é sinonímia de *C. parva* Travassos, 1925 e atribuiu à *Aplectana lopesi* Silva, 1954 as fêmeas referidas na descrição original de *C. freitasi*.

A opistodelfia das fêmeas de *C. minasensis* a diferencia das fêmeas dos outros gêneros da família Cosmocercidae. A quantidade de lábios e a presença de válvulas quitinizadas no bulbo a separam de *Aplectana* sp. As fêmeas de *Oxysomatium* sp., diferentemente das de *C. minasensis*, possuem ovos embrionados no útero.

6.4. IDENTIFICAÇÃO ESPECÍFICA DOS MACHOS E FÊMEAS DE *Cosmocerca minasensis*

Segundo Fabio (1981) o número de plectanas, o tamanho dos espículos, o tamanho do gubernáculo e o número de papilas caudais são os caracteres utilizados para a separação das espécies de *Cosmocerca* sp..

O comprimento dos espículos (0,03 mm) e o número de plectanas (7 pares) de *C. minasensis* a diferenciam de todas as espécies brasileiras, aproximando-a apenas de *C. longispicula*. *C. brasiliensis* possui espículos de 0,15 a 0,20 mm e 9 a 11 pares de plectanas. *C. cruzi* apresenta 5 pares de plectanas e espículos que medem 0,07 mm. Os espículos de *C. rara* medem 0,20 mm e esta apresenta 6 pares de plectanas. Já *C. travassosi* com 5 pares de plectanas mais 1 ímpar têm espículos que medem 0,17 mm (Serra-Freire, 1990). *C. longispicula*, com espículos de 0,3 mm também apresenta 7 pares de plectanas (Moravec e Kaiser, 1994), como o observado em *C. minasensis*. Entretanto os exemplares machos e fêmeas de *C. minasensis* são diferentes de *C. longispicula* quanto ao comprimento total dos parasitos, posição do anel nervoso, tamanho dos ovos larvados e presença ou ausência de larvas livres no útero (Tabela 3).

As medidas morfométricas obtidas dos exemplares fêmeas de *C. minasensis* foram comparadas com os dados disponíveis para as fêmeas de *C. brasiliensis*, *C. parva* e *C. freitasi*. *C. minasensis* é a menor das espécies. Apresenta divergências morfológicas das suas congêneras quanto a posição da vulva, anel nervoso e poro excretor, como também em relação ao comprimento do esôfago e ao tamanho dos ovos larvados.

6.5. HISTOPATOLOGIA DO INTESTINO GROSSO PARASITADO POR *Cosmocerca minasensis* E INTERAÇÃO PARASITO / HOSPEDEIRO

O epitélio do intestino grosso de *S. longilineus* é o primeiro local a entrar em contato com *C. minasensis*. O movimento dos parasitos na luz intestinal em busca de alimento proporciona a aproximação deles da parede do intestino. O atrito gerado pelo friccionamento das plectanas dos machos e das armaduras labiais quitinizadas de machos e fêmeas causam uma escoriação mecânica na mucosa, que se torna sensibilizada.

A reação inata dos hospedeiros anuros contra esta primeira sensibilização se dá no sentido de proteger a parede intestinal contra novas agressões abrasivas. Esta proteção é adquirida pela potencialização da síntese da camada de mucina pelas células caliciformes. Para que essas células possam responder a esta nova demanda orgânica elas se proliferam, o que ocasiona a hiperplasia delas. Este acréscimo da produção de muco foi também confirmado durante a necrópsia dos animais parasitados, quando se observou expressiva quantidade desta substância na luz do intestino grosso. Wakelin (1997) também relata a ocorrência de hiperplasia das células caliciformes no parasitismo de roedores por *Nippostrongylus brasiliensis*. Assim como *C. minasensis*, este helminto vive na luz intestinal, ocupando um nicho denominado pelo autor de paramucoso. Além de isolar a parede intestinal, a camada de muco apresenta em sua constituição química uma família de peptídeos denominados defensinas. Estas moléculas podem ser encontradas em animais e plantas e possuem um amplo espectro de ação na destruição de patógenos. Elas podem atuar como agentes antimicrobianos, antiparasitários e antivirais (Alberts *et al.*, 2004).

Os mecanismos da imunidade da mucosa dos anfíbios anuros contra parasitos gastrointestinais ainda não são bem conhecidos, não tendo sido encontrados, na literatura, trabalhos que discutam este tema.

A superfície celular dos macrófagos apresenta grande diversidade de receptores. Entre estes encontram-se os “toll – like receptors” (receptores TLRs), responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares repetitivos e comuns a grupos de parasitos. A ligação de epitopos antigênicos de *C. minasensis* com os receptores TLRs dos macrófagos iniciariam uma cascata de sinais intracelulares que estimularia a expressão de moléculas pró-inflamatórias, como também auxiliaria na fagocitose, processamento e apresentação dos antígenos (Alberts *et al.*, 2004).

A população de macrófagos assim ativada se multiplicaria, recrutando novas células para os locais de lesão. Nestes locais elas passariam a se organizar em agrupamentos condensados. A presença de macrófagos nos focos reativos seria essencial para a fagocitose dos antígenos de *C. minasensis*, o que eliminaria os prováveis agentes sensibilizantes da mucosa.

As vias de reparação tecidual das lesões inflamatórias encontradas no intestino grosso parasitado levariam a um espessamento da camada mucosa. Este espessamento decorre da maior deposição de colágeno pelos fibroblastos.

7. Conclusões

- Foi identificada uma nova espécie do gênero *Cosmocerca*, parasitando o anuro *Scinax longilineus*, que foi denominada *Cosmocerca minasensis*.
- A única espécie de helminto parasita do trato intestinal de *S. longilineus*, capturadas no parque das Mangabeiras, é *C. minasensis*.
- *C. minasensis* é um helminto pouco patogênico para *S. longilineus*.
- A infecção de *S. longilineus* por *C. minasensis* apresenta baixa carga parasitária e é pouco frequente.
- A população de *C. minasensis* parasitando o intestino grosso de *S. longilineus* apresenta pelo menos o dobro de fêmeas.
- *C. minasensis* é a segunda espécie descrita para o gênero que apresenta o comprimento dos espículos superior à média encontrada para as outras espécies.
- A chave de Serra – Freire (1990) facilita a identificação taxonômica de parasitos machos do gênero *Cosmocerca*.

8. Referências Bibliográficas

Aho, J.M. Helminth communities of amphibians and reptiles: Comparative approaches to understanding patterns and processes. In: Parasites communities: Patterns and processes, G.W.Esch, A.O.Bush, and J.M.Aho (eds.). Chapman and Hall, New York, p.157-195, 1990.

Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K; Walter, P. Biologia molecular da célula. Porto Alegre. ARTMED EDITORA S.A. 4ª ed. 2004.

Azimov, D.A. & Ikramov, E.F. Fauna and ecology of nematodes of amphibians in Uzbekistan. RUSS J NEMATOL, v.9, n.2, p.143-168, 2001.

Baker, M.R. & Green, D.M. Helminth parasites of native frogs (Leiopalmatidae) from New Zeland. CAN J ZOOL, v.66, p.707-713, 1988.

Baker, M.R. & Vaucher, C. Parasitic helminths from Paraguay VI: *Cosmocerca* Diesing, 1861 (Nematoda: Cosmocercidae) from frogs. REV SUISSE ZOOL, v.91, n.4, p.925-934, 1984.

Barton, D.P. & Richards, S.J. Helminth infracommunities in *Litoria genimaculata* (Amphibia: Anura) from Birthday Creek, an Upland Rainforest Stream in Northern Queensland, AUS INT J PARASITOL, v.26, n.12, p.1381 – 1385, 1996.

Boquimpani-Freitas, L.; Vrcibradic, D.; Vicente, J.J.; Bursey, C.R.; Rocha, C.F.D. & Van Sluys, M. Helminths of the horned leaf frog, *Proceratophrys appendiculata*, from southeastern BRAZ J HELMINTHOL, v.75, p.233-236, 2001.

Bursey, C.R. & Goldberg, S.R. *Cosmocerca vrcibradci* n. sp. (Ascaridida: Cosmocercidae) *Oswaldocruzia vittii* n. sp. (Strongylidae: Molineoidea) and other helminths from *Prionodactylus eigenmanni* and *P. oshaughnessyi* (Sauria: Gymnophthalmidae) from Brazil and Ecuador. J PARASITOL, v.90, n.1, p.140-145, 2004.

Bursey, C.R.; Goldberg, S.R.; Parmelee, J.R. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazónico, Peru. COMP PARASITOL, v.68, n.1, p.21-35, 2001.

Bush, A. O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M.; Shostak, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. J PARASITOL, v.83, n.4, p.575-583, 1997.

Carvalho JR., R. R. Biologia Reprodutiva De *Scinax longilineus* (B.Lutz, 1968) (Anura; Hylidae) No Parque Das Mangabeiras, Município De Belo Horizonte, Minas Gerais. Rio de Janeiro: UFRJ. 79p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2001.

Dyer, W.G. & Altig, R. Redescription of *Cosmocerca brasiliensis* Travassos, 1925 (Nematoda: Cosmocercidae) from Ecuadorian frogs. J PARASITOL, v.62, n.2, p.262-264, 1976.

Fabio, S.P. Considerações sobre *Cosmocerca parva* Travassos, 1925 e *Cosmocerca freitasi* Silva, 1954 (Nematoda: Subuluroidea). REV BRAS BIOL, V.41, n.1, p.25-27, 1981.

Frost, D.R. Amphibian species of the world. A taxonomic and geographical reference. Lawrence: Allen Press. 732p, 1985.

Galli, P.; Crosa, G.; Gentili, A.; Santagostino, M. New geographical records of parasitic nematodes from *Bufo bufo* in Italy. PARASSITOLOGIA (ROME), v.43, p.147-149, 2001.

Goldberg, S.R. & Bursey, C.R. Helminths of 10 Species of Anurans from Honshu Island, JPN COMP PARASITOL, v.69, n.2, p.162-176, 2002.

Goldberg, S.R.; Bursey, C.R.; Trujillo, J.D.; Kaiser, H. Intestinal helminths of seven frog species from Trinidad and Tobago. CARIBB J SCI, v.38, n.1-2, p.147-150, 2002.

Gonçalves, A.Q.; Vicente, J.J.; Pinto, R.M. Nematodes of Amazonian vertebrates deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute with new records. REV BRAS ZOOL, v.19, n.2, p.453 – 465, 2002.

Haddad, A.; Sesso, A.; Silveira, M.; Barth, O.M.; Machado, R.D.; Souto-Padrón, T. Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, vol.1, 1989.

Lent, H. & Freitas, J.F.I. Uma coleção de nematodeos parasitos de vertebrados do Museu de História Natural de Montevideo. MEM INST OSWALDO CRUZ, v.46, n.1, p.1-71, 1948.

Martinez, S.A. & Maggenti, A.R. *Cosmocerca panamaensis* sp. n. (Nematoda: Cosmocercidae) from the Panamanian Poison-arrow Frog, *Dendrobates pumilio* Schmidt, 1857, with a Discussion of Prodelphy, the Type Species and Family Authorship in *Cosmocerca* Diesing, 1861. PROC HELMINTHOL SOC WASH, v.56, n.2, p.97-103, 1989.

Moravec, F. & Kaiser, H. (1995). Helminth parasites from West Indian Frogs, with Descriptions of Two New Species. *CARIBB J SCI*, v.31, n.3-4, p.252-268, 1995.

Moravec, F. & Kaiser, H. Description of *Cosmocerca longispicula* sp. nov. (Nematoda: Cosmocercidae), a parasite of a dendrobatidae frog from Martinique, *FR ANTILLES PARASITOL RES*, v.80, p.29-32, 1994.

Mordeglia, C. & Digiani, M.C. *Cosmocerca parva* Travassos, 1925 (Nematoda: Cosmocercidae) in toads from Argentina. *MEM INST OSWALDO CRUZ*, v.93, n.6, p.737-738, 1998.

Navarro, P.; Izquierdo, S.; Pérez-Soler, P.; Hornero, M.J.; Lluch, J. Contribución al conocimiento de la helminto fauna de los herpetos ibéricos. VIII. Nematoda: Ascaridida Skrjabin et Schultz, 1940 de *Rana* spp. *REV IBER PARASITOL*, v.48, n.2, p.167-173, 1988.

Pinto, M.P.; Fabio, S.P.; Noronha, D. Ocorrência de *Cosmocerca rara* Freitas & Vicente, 1966, em novo hospedeiro (Nematoda: Oxyuroidea). *ATAS SOC BIOL RIO J*, v.14, n.3 e 4, 1970.

Puga, S. & Torres, P. Helminths parasites of *Eupsophus roseus* (Anura: Leptodactylidae) from northern Chile. *MEM INST OSWALDO CRUZ*, v.94, n.6, p.725-726, 1999.

Rodrigues, H.O. & Fabio, S.P. Contribuição ao estudo do gênero *Cosmocerca* Diesing, 1861 (Nematoda: Oxyuroidea). *ATAS SOC BIOL RIO J*, v.14, n.1 e 2, 1970.

Serra Freire, D.C.G.M. Nematóides do Brasil. Parte II – Anfíbios. *REV BRAS ZOOL*, v.7, n.4, p.549-626, 1990.

Silva, A.A.J. Nova espécie do gênero *Cosmocerca* Diesing, 1861. *REV BRAS BIOL*, v.14, n.2, p.163-165, 1954.

Skrjabin, K.I.; Shikhobalova, N.P.; Lagodovskaya, E.A. Essentials of nematology. X. Oxyurata of animals and man, part 2 (in russian). Publising

House of the USSR Academy of Science, Moscow. 1961. Apud Moravec, F. & Kaiser, H. Description of *Cosmocerca longispicula* sp. nov. (Nematoda: Cosmocercidae), a parasite of a dendrobatidae frog from Martinique, French Antilles. PARASITOL RES, v.80, p.29-32, 1994.

Tinsley, R.C. Parasitic disease in amphibians: control by the regulation of worm burdens. PARASITOL, v.111, p.153-178, 1995.

Travassos, L. "Pesquisas helmintológicas realizadas em Hamburgo." IX. Ensaio monographico da familia Cosmocercidae Travassos, 1925. MEM INST OSWALDO CRUZ, v.25, n.3, p.237-298, 1931.

Vashetko, E.V. & Siddikov, B.H. The effect of the ecology of toads on the distribution of helminths. TROP J ZOOL, v.23, p.107-110, 1999.

Wakelin, D. Immune responses to intestinal parasites: protection, pathology and prophylaxis. PARASSITOLOGIA (ROME), v.39, p.269-274, 1997.

Yamaguti, S. The nematodes of vertebrates, parts I,II. Systema helminthum III. Interscience, New York London. 1961.