

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-graduação em Parasitologia

Lara Ribeiro de Almeida

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE HELMINTOS
RECUPERADOS DE PEQUENOS MAMÍFEROS E MOLUSCOS E ESTUDO DAS
LESÕES NOS ROEDORES INFECTADOS: ÊNFASE EM DOIS PARQUES
URBANOS DE BELO HORIZONTE**

Belo Horizonte

2021

Lara Ribeiro de Almeida

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE HELMINTOS
RECUPERADOS DE PEQUENOS MAMÍFEROS E MOLUSCOS E ESTUDO DAS
LESÕES NOS ROEDORES INFECTADOS: ÊNFASE EM DOIS PARQUES
URBANOS DE BELO HORIZONTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Parasitologia da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção
do título de Doutora em Parasitologia.

Orientador: Professor Dr. Walter dos Santos Lima

Coorientadora: Professora Dra. Cintia Aparecida
de Jesus Pereira

Belo Horizonte

2021

043

Almeida, Lara Ribeiro de.

Identificação morfológica e molecular de helmintos recuperados de pequenos mamíferos e moluscos e estudo das lesões provocadas nos roedores infectados: ênfase em dois parques urbanos [manuscrito] / Lara Ribeiro de Almeida. – 2021.

215 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Professor Dr. Walter dos Santos Lima. Coorientadora: Professora Dra. Cintia Aparecida de Jesus Pereira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Helmintos. 3. Roedores. 4. *Angiostrongylus cantonensis*.
I. Lima, Walter dos Santos. II. Pereira, Cintia Aparecida de Jesus. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



Universidade Federal de Minas Gerais



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Parasitologia

ATA DE DEFESA DE TESE - DOUTORADO

Lara Ribeiro de Almeida

323/2021/11
entrada
1º/2017
2017716159

Às quatorze horas do dia 05 de outubro do ano de 2021, reuniu-se, por videoconferência, sala <https://meet.google.com/yqb-dmzh-bnt>, a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: **“Identificação morfológica e molecular de helmintos recuperados de pequenos mamíferos e moluscos e estudo das lesões provocadas nos roedores infectados: Ênfase em dois parques urbanos”**, área de concentração: **Helmintologia**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, **Dr. Walter dos Santos Lima**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, assou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do (a) candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do (a) candidato (a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dr. Walter dos Santos Lima	UFMG	Aprovada
Dr. Arnaldo Maldonado Junior	FIOCRUZ- RJ	Aprovada
Dr. Marcos Pezzi Guimarães	UFMG	Aprovada
Dra. Roselene Ecco	UFMG	Aprovada
Dr. Stefan Michael Geiger	UFMG	Aprovada
Dra. Cíntia Aparecida de Jesus Pereira	UFMG	Aprovada

Expedição do resultado final.

CONSIDERAÇÕES GERAIS – SOBRE TESE APRESENTADA PELO (A) O (A) CANDIDATO (A):

Exigências	
Recomendações	Acrescentar ao documento final da tese as correções sugeridas pelos membros da banca
Sugestões	

Pelas indicações, o (a) candidato(a) foi considerado(a): Aprovada
O resultado final foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 05 de outubro de 2021.

Dr. Walter dos Santos Lima 
(Orientador)

Dr. Arnaldo Maldonado Junior 

Dr. Marcos Pezzi Guimarães 

Dra. Roselene Ecco 

Dr. Stefan Michael Geiger 

Dra. Cíntia Aparecida de Jesus Pereira 
(Coorientadora)

Ata-COVID19- período isolamento social
Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador


Protá. Héli da Monteiro de Andrade
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Parasitologia
ICB-UFMG - Port: 7104-04/10/2021
SIAPE nº 2167747

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Pesquisa/CNPq e bolsa de doutorado (2017/2021), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Projeto aprovado no Sistema de autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, com o número 12989-2 e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG protocolo 306/2017.

Apresentou, como colaboradores, a Profa. Dra. Giliane de Souza Trindade (Laboratório de Vírus do ICB- UFMG), a Profa. Dra. Roselene Ecco (Laboratório de Histopatologia do Setor de Patologia da Escola de Veterinária da UFMG), o Prof. Dr. Adriano Paglia (Departamento de Biologia Geral - ICB/UFMG), a Profa. Dra. Teofânia Heloísa Amorim Vidigal (Laboratório de Malacologia e Sistemática Molecular do ICB-UFMG) e a Fundação de Parques da Prefeitura de Belo Horizonte – MG.

Ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, em nome da coordenadora Daniela Castanheira Bartholomeu, pela oportunidade e apoio na realização deste trabalho.

Dedico esse trabalho à minha mãe, Solange, pelo investimento em meus estudos e por sempre acreditar nos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Marcos Pezzi Guimarães por me abrir as portas da parasitologia e ao Hudson Andrade dos Santos pelos primeiros ensinamentos.

Ao meu orientador professor Walter dos Santos Lima, por acreditar no meu trabalho e dedicação e por me dar a oportunidade de desenvolver esse lindo projeto.

À minha coorientadora Cintia Aparecida de Jesus Pereira, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À professora Roselene Ecco, pela forma de ensino tanto em sala de aula, quando fui sua aluna durante a graduação no curso de Medicina Veterinária, quanto durante a parceria nos projetos com animais silvestres. Obrigada pela oportunidade de aprendizado na área de patologia, extremamente importante para meu crescimento como pesquisadora, como veterinária e como pessoa. Você é um grande exemplo.

À professora Giliane Trindade por sempre confiar no meu trabalho e por ter me dado esse presente que foi o convite para participar das capturas de pequenos mamíferos nos parques, que virou minha tese. Você é um dos meus maiores exemplos como mulher, professora e pesquisadora. Obrigada por tudo.

Ao professor Adriano Paglia por todas as colaborações e oportunidades de aprendizado.

Aos amigos do laboratório de Helminologia Veterinária por toda a ajuda e companheirismo.

Aos meus colegas e amigos do Departamento de Parasitologia, em especial a Celi, pelas conversas, conselhos e caronas; a Andreia por todos esses anos de amizade que me fazem enfrentar com muita fé todas as dificuldades e a Andreina que veio de longe para tornar meus dias no doutorado mais fáceis. Amo vocês.

À minha tia, irmã e amiga Lu, por todo amor carinho e cuidado, pela ajuda nesse período difícil da pandemia e por tudo que você representa na minha vida.

À Sumara e à Sibebe, secretárias da Pós-graduação do Departamento de Parasitologia, pela ajuda e cuidado com todos os alunos.

“... Às vezes, até penso que quem sabe mesmo é o povo, ou as pessoas que não sabem nada. Mas cada um se vira com o pouco que sabe para ganhar a vida. Se todos os sábios do mundo desaparecessem amanhã, não fariam muita falta. Se o povo acabasse, isso sim seria um desastre. Os sábios morreriam de fome e de sede. Trate de aprender tudo o que puder. Saber demais não ocupa lugar. Ignorância, sim. A sabedoria anda solta por aí, para a gente aprender o que quiser. Ela está menos nos livros que nos fazimentos, por isso se diz que quem sabe, faz; quem não sabe, ensina. Se o mundo fosse acabar outra vez, num dilúvio, que faria o novo Noé da barca, para salvar a humanidade? Escolha você entre duas soluções. A primeira seria pegar dez sábios de cada profissão, formados em universidades, e levá-los para uma morraria deserta com seus livros e instrumentos de trabalho. A segunda seria catar na feira uns mil feirantes com suas mercadorias e carregar para o mato. Quem salvaria a humanidade?”

Darcy Ribeiro

RESUMO

Os pequenos mamíferos silvestres de uma maneira geral, são altamente adaptáveis e estão amplamente distribuídos mundialmente. Esses animais podem ser hospedeiros definitivos ou intermediários de numerosas espécies de helmintos parasitos como trematódeos, cestódeos, nematódeos e Acanthocephala. Algumas dessas espécies podem apresentar potencial zoonótico e, o compartilhamento desses parasitos com os humanos e seus animais domésticos, pode causar doenças. Além disso, moluscos terrestres também habitam os parques urbanos e podem atuar como hospedeiros intermediários de diferentes espécies de helmintos que tem os pequenos mamíferos como hospedeiros definitivos, sendo que, algumas dessas espécies podem apresentar potencial zoonótico. No presente estudo, foram realizadas capturas de pequenos mamíferos no Parque Municipal das Mangabeiras e no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, no período de abril de 2018 a março de 2019. Após a captura os animais foram sedados para coleta de sangue intravenosa, seguido da eutanásia dos roedores e necropsia e individualização dos órgãos para recuperação dos helmintos. Foram capturadas duas espécies de roedores silvestres: *Cerradomys subflavus* (n = 38) e *Necomys lasiurus* (n = 39), a espécie exótica *Rattus rattus* (n = 39), duas espécies de gambás: *Didelphis albiventris* (n = 12) e *Didelphis aurita* (n = 6) e uma espécie de cuíca *Marmosops incanus* (n = 5). De diferentes espécimes de pequenos mamíferos foram recuperados exemplares adultos de *Litomosoides sigmodontis* (cavidade abdominal), as espécies *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) e estrobilócercos de *Hydatigera taeniaeformis* (fígado), *Angiostrongylus cantonensis* (artérias pulmonares), a espécie *Physaloptera bispiculata* (estômago), o gênero *Pterigodermatites* (*Paucipectines*), e as espécies *Nippostrongylus brasiliensis*, *Guerrerostrongylus gomesae* e *Hymenolepis diminuta* (intestino delgado) e os gêneros *Trichuris* e *Syphacia* (intestino grosso). De um gambá (*D. albiventris*) foram recuperados a espécie *Rhopalias coronatus* (intestino delgado) e as espécies *Aspidodera raillieti* e *Cruzia tentaculata* (intestino grosso). Foram identificadas três espécies que apresentam potencial zoonótico no Parque Municipal Jacques Cousteau, *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*), *Hydatigera taeniaeformis* e *Hymenolepis diminuta*, e a espécie *Hymenolepis diminuta* no Parque Municipal das Mangabeiras. Durante a captura de pequenos mamíferos, foram coletados três *Achatina fulica* e um *Megalobulimus* sp. nos transectos utilizados para captura de pequenos mamíferos. Dos quatro exemplares coletados, de um *A. fulica* foram recuperadas larvas de terceiro estágio de *Metastrongylidae*, usadas na infecção de um modelo

experimental, para recuperação de adultos e análise molecular e filogenética. Os resultados confirmam que a espécie de *Angiostrongylus* recuperada das artérias pulmonares dos *R. rattus* e do *A. fulica* do Parque Jacques Cousteau pertencem a mesma espécie, o *Angiostrongylus cantonensis*. Foram utilizados camundongos BALB/c (*Mus musculus*) e ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) para infecção experimental por *Angiostrongylus cantonensis*, para avaliação histopatológica das lesões causadas pela espécie. Os resultados obtidos deste estudo demonstram a importância da pesquisa realizada em fragmentos de matas dentro dos centros urbanos e do monitoramento dos animais que habitam esses locais, devido a capacidade dessas espécies de hospedar agentes com potencial zoonótico, aumentando o risco de transmissão de doenças para a população humana. Uma atenção especial deve ser dada as espécies sinantrópicas e de animais domésticos pela maior proximidade desses animais com a população do entorno desses parques.

Palavras-chave: Helmintos, potencial zoonótico, roedores, *Angiostrongylus cantonensis*, fauna urbana.

ABSTRACT

Small mammals in general are extremely adaptable and are widely distributed worldwide. These animals can be definitive hosts or intermediate hosts of numerous species of helminth parasites such as trematodes, cestodes and nematodes. Some of these species may have zoonotic potential and, the sharing these parasites with humans and their domestic animals, can cause diseases often associated with morbidity. In addition, terrestrial molluscs also inhabit urban parks and can act as intermediate hosts of different helminth species that have small mammals as definitive hosts, and some of these species may have zoonotic potential. In the present study, small mammals were captured in the Parque Municipal das Mangabeiras and Parque Municipal Jacques Cousteau located in the municipality of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, from April 2018 to March 2019. After capture, the animals were sedated to collect intravenous blood, followed by euthanasia of the rodents, necropsy and individualization of the organs to recover helminths. Two species of wild rodents were captured: *Cerradomys subflavus* (n = 38) and *Necomys lasiurus* (n = 39), the exotic *Rattus rattus* species (n = 39), two opossum species: *Didelphis albiventris* (n = 12) e *Didelphis aurita* (n = 6) and one cuica species *Marmosops incanus* (n = 5). From different specimens of small mammals, adult specimens of *Litomosoides sigmodontis* (abdominal cavity), the species *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) and strobilocerco of *Hydatigera taeniaeformis* (liver), *Angiostrongylus cantonensis* (pulmonary arteries), the species *Physaloptera bispicuta*, (stomach), the species *Nippostrongylus brasiliensis*, *Guerrerostrongylus gomesae* and *Hymenolepis diminuta* (small intestine) and the genera *Trichuris* and *Syphacia* (large intestine) were recovered. From an opossum (*D. albiventris*) the species *Rhopalias coronatus* parasitizing the small intestine and the species *Aspidodera raillieti* and *Cruzia tentaculata* parasitizing the large intestine were recovered. Three species with zoonotic potential were identified in the Jacques Cousteau Municipal Park, *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*), *Hydatigera taeniaeformis* and *Hymenolepis diminuta*, and the species *Hymenolepis diminuta* in the Mangabeiras Municipal Park. During the capture of small mammals, snails found on the trails were also collected. From a specimen of *Achatina fulica*, third metastrongylid larvae stage were recovered, and used to infect an experimental model to recovery adult helminths for molecular and phylogenetic analysis. The results confirm that the species of *Angiostrongylus* recovered from the pulmonary arteries of *R. rattus* and the specimen of *A. fulica* from Parque Jacques Cousteau belong to the same species, *Angiostrongylus cantonensis*. BALB / c mice (*Mus*

musculus) and Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used for experimental infection of *Angiostrongylus cantonensis*, for histopathological evaluation of the lesions caused by the species. The results demonstrate the importance of research carried out in forest fragments within urban centers and of monitoring the animals that inhabit these places, due to the ability of these species to host agents with zoonotic potential, increasing the risk of disease transmission to the human population. Special attention should be given to synanthropic species and domestic animals due to the greater proximity of these animals to the population surrounding these parks.

Key words: Helminths, zoonotic potential, rodents, *Angiostrongylus cantonensis*, urban fauna.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01.** Vista panorâmica do Parque Municipal das Mangabeiras mostrando divisa com os bairros e a área de mineração. Fonte: Google Earth 45
- FIGURA 02.** Vista panorâmica do Parque Municipal Jacques Cousteau mostrando área de terraplanagem com construção de prédios e divisa com os bairros. Fonte: Google Earth..... 46
- FIGURA 03.** Mapa do Parque Municipal Jacques Cousteau, demonstrando as estações de coleta dos dois transectos, referenciadas por GPG..... 47
- FIGURA 04.** Mapa do Parque Municipal das Mangabeiras, demonstrando as estações de coleta dos três transectos, referenciadas por GPG..... 47
- FIGURA 05.** Distribuição das armadilhas nas trilhas. (a) Armadilha tipo gaiola com isca suspensa no estrato médio da mata. (b) Armadilha tipo gaiola com isca suspensa no chão. (c) Armadilha do tipo Sherman no estrato médio da mata. (d) Armadilha do tipo Sherman no chão 48
- FIGURA 06.** Paisagem dos roedores utilizando pesola, com o animal ainda dentro do saco de pano 49
- FIGURA 07.** Coleta de sangue intravenosa dos animais sedados. (a) Coleta de sangue intracardíaca de um roedor. (b) Coleta de sangue da veia femoral de um gambá 50
- FIGURA 08.** Brinco numerado preso à orelha de um gambá (*Didelphis aurita*) 50
- FIGURA 09.** Pequenos mamíferos capturados no Parque Municipal das Mangabeiras: (a) roedor, cuíca (b) (*Marmosops incanus*) e (c) gambá (*Didelphis albiventris*) 59
- FIGURA 10.** Pequenos mamíferos capturados no Parque Municipal Jacques Cousteau: (a) *Rattus rattus* e (b) gambá (*Didelphis albiventris*) 61
- FIGURA 11.** Ovos de *Capillaria hepatica*. (a) Ovo recuperado do fígado de um roedor infectado. (b) Em maior aumento é possível observar os dois opérculos (seta fina) e a casca dupla apresentando miniporos (seta grossa) 66
- FIGURA 12.** Lesões macroscópicas do fígado de roedores infectados. (a) Algumas áreas circulares milimétricas e áreas lineares amareladas. (b) Áreas coalescentes extensas e amareladas envolvendo quase todo o órgão..... 68

FIGURA 13. Lesões macroscópicas do fígado de roedores observadas em microscópio estereoscópio apresentando áreas branco-amareladas circulares e lineares levemente proeminentes..... 68

FIGURA 14. Lesões microscópicas por *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) em fígado de roedores. (a) Múltiplas áreas multifocais a coalescentes de perda do parênquima com substituição por ovos (seta) e helmintos adultos (ponta de seta) envoltos por células inflamatórias (200µm). (b) Secções de conjuntos de ovos (ponta de seta) envoltos por infiltrado inflamatório (seta) (100µm). (c) Secções de parasitos adultos em cortes transversais distribuídos no parênquima hepático (100µm). (d) Corte transversal de uma fêmea adulta (seta) envolta por infiltrado inflamatório (ponta de seta) e ovos (seta vermelha) (50µm) (e) Em maior aumento, secção de uma fêmea adulta evidenciando cutícula fina (C), ovário (O) e intestino com epitélio colunar vacuolizado (I) (20µm). (f) Em maior aumento ovos com dois opérculos (setas) com cápsula espessa e eosinofílica ou fracamente corada (20µm). Hematoxilina e eosina..... 69

FIGURA 15. Ciclo biológico de *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) (Freitas, 1982 modificado). 1. Ingestão de ovos infectantes pelo hospedeiro, geralmente um roedor. 2. Desenvolvimento de adultos no fígado e liberação de ovos pelas fêmeas que não são excretados pelas fezes e permanecem no parênquima hepático. 3. Morte do hospedeiro. 4. Decomposição do hospedeiro e liberação de ovos não infectantes no ambiente. 5. Predação do hospedeiro por um carnívoro ou onívoro. 6. Eliminação de ovos não infectantes através das fezes do predador. 7. Desenvolvimento do ovo infectante no ambiente. 8. Ingestão acidental de ovos pelo ser humano e desenvolvimento de adultos no fígado 71

FIGURA 16. Exemplar adulto de *Litomosoides sigmodontis* solto na cavidade abdominal de um roedor 76

FIGURA 17. Espécimes adultos de *Litomosoides sigmodontis*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando a capsula bucal (CB), o esôfago (E) e a abertura da vulva (V). (b) Extremidade posterior do macho evidenciando os dois espículos, o grande (EG) e o pequeno (EP). (c) Vista lateral da extremidade posterior do macho evidenciando a calha do espículo maior (CL) e a abertura da cloaca. (d) Vista ventral da extremidade posterior do macho evidenciando o espículo pequeno e quatro papilas pós-cloacais (PPC)..... 77

FIGURA 18. Microfilária de *Litomosoides sigmodontis* em esfregaço sanguíneo de um roedor evidenciando a bainha (seta). Panótico rápido 78

FIGURA 19. Microscopia eletrônica de varredura de um espécime adulto macho de *Litomosoides sigmodontis*. (a) Extremidade posterior evidenciando quatro papilas pós-cloacais (PPC). (b) Vista dorsal da extremidade posterior evidenciando a cauda enrolada. (c) Vista ventral da extremidade posterior evidenciando a cloaca (CO), uma papila adcloacal e duas papilas pós-cloacais (PPC) 79

- FIGURA 20.** Espécimes adultos de *Physaloptera bispiculata*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando o dente tripartite na margem interna de cada lábio. (b) Extremidade anterior do macho evidenciando o esôfago muscular (EM), o esôfago glandular (EG), a papila cervical (PC) e o poro excretor (PE). (c) Vista lateral da vulva da fêmea (V). (d) Vista lateral da extremidade posterior da fêmea evidenciando o ânus (A)..... 84
- FIGURA 21.** Extremidade posterior de espécimes machos de *Physaloptera bispiculata* em vista ventral. (a) Expansão cuticular evidenciando quatro papilas penducular (PP). (b) Abertura da cloaca evidenciando três papilas anterior a cloaca (Pa) e dois pares imediatamente atrás da cloaca (Pp). (c) Três pares de papila equidistantes entre si, medindo a linha média entre a cloaca e a ponta da cauda. (d) Os dois espículos (ES)..... 85
- FIGURA 22.** Espécime macho de *Physaloptera bispiculata* visto em microscopia eletrônica de varredura. (a) Extremidade anterior evidenciando os dois lábios com os dentes tripartite semicircular na margem interna compostos de três pontas desiguais (D); quatro papilas simetricamente situadas em uma cavidade (P); dois anfídeos centrais (A); quatro poros na base dos dentes tripartite e mais dois poros anterior aos anfídeos (*) e dentes menores ao longo da borda interna de cada lábio (seta pequena) (300µm). (b) Vista dorsal da cauda evidenciando a expansão cuticular (200µm). (c) Vista ventral da cauda evidenciando quatro papilas pedunculares (seta grossa) e três papilas anteriores a cloaca (seta fina) (50 µm). (d) Duas papilas em detalhe (setas) vistas em maior aumento (20 µm). 86
- FIGURA 23.** Espécimes adultos de *Nippostrongylus brasiliensis*. (a) Espécime fêmea adulta. (b) Espécime macho adulto. (c) Extremidade anterior da fêmea evidenciando a expansão cuticular (EC) e o poro excretor (PE). (d) Extremidade posterior da fêmea evidenciando os ovos no útero (O), a abertura da vulva (V) e do ânus (A). (e) Extremidade posterior do macho em vista lateral evidenciando o início dos espículos (setas) e o gubernáculo (GU). (f) Extremidade posterior do macho em vista ventral evidenciando os raios da bolsa copuladora..... 91
- FIGURA 24.** (a) Larva de quarto estágio de *Nippostrongylus brasiliensis* recuperada do pulmão de um roedor infectado. (b) Ovo de *Nippostrongylus brasiliensis* recuperado das fezes de um roedor infectado..... 92
- FIGURA 25.** Lesões macroscópicas nos pulmões de roedores infectados, evidenciando pontos nas bordas dos lobos pulmonares (setas) 92
- FIGURA 26.** Lesões microscópicas por *Nippostrongylus brasiliensis* nos pulmões de roedores infectados. Cortes transversais (seta) e longitudinais (ponta de seta) de larvas de quarto estágio (L4) (50µm). Hematoxilina e eosina..... 93

FIGURA 27. Lesões microscópicas por *Nippostrongylus brasiliensis* nos pulmões de roedores infectados. (a) Área de infiltrado inflamatório com macrófagos com pigmento (seta) próximos a uma L4 (ponta de seta) (20µm). (b) Corte transversal de duas L4 no interior de alvéolos evidenciando a cutícula fina (C), o intestino (I) e órgão reprodutor (R) (20µm). Hematoxilina e eosina 94

FIGURA 28. Espécimes adultos de *Guerrerostrongylus gomesae*. (a) Espécime macho adulto. (b) Espécime fêmea adulta. (c) Extremidade anterior do macho evidenciando a vesícula cefálica (VC), o anel nervoso (NA), o esôfago (E) e o poro excretor (PE). (d) Extremidade posterior da fêmea em vista ventral. (e) Extremidade posterior da fêmea evidenciando a vulva (V) e o ânus (A)..... 98

FIGURA 29. Espécime adulto de *Guerrerostrongylus gomesae*. (a) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando os raios bursais (2-8). (b) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando o gubernáculo (G), os espículos (E) e a abertura da cloaca (C). (c) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando o raio 7 se originando do raio dorsal, dividido próximo ao meio do comprimento em dois ramos, bifurcado em dois pequenos ramos na parte distal..... 99

FIGURA 30. Espécimes adultos de *Aspidodera raillieti*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando as ranhuras na cutícula (cordões cefálicos) (R). (b) Extremidade anterior da fêmea evidenciando o anel nervoso (AN), o poro excretor (PE) e o esôfago com um bulbo posterior (BE). (c) Vulva pouco saliente da fêmea (V) no terço médio próxima a extremidade anterior do corpo e útero com a presença de ovos (O). (d) Extremidade posterior da fêmea em vista lateral evidenciando o ânus (A) e a cauda afilada 103

FIGURA 31. Espécimes adultos de *Aspidodera raillieti*. (a) Extremidade posterior do macho evidenciando os espículos (E), o gubernáculo (G) e a ventosa (VE). (b) Extremidade posterior do macho evidenciando em maior aumento a ventosa (VE), as quatro papilas ad-ventosa (PV), duas papilas pré-cloacais (PEC) e a cloaca (C). (c) Extremidade posterior do macho evidenciando a ventosa (VE), a cloaca (C), uma papila pré-cloacal (PEC) e uma papila pós-cloacal (PPC). (d) Extremidade posterior do macho evidenciando quatro papilas pós-cloacais (PPC) 104

FIGURA 32. Espécimes adultos de *Cruzia tentaculata*. (a) Extremidade anterior (EA) do macho evidenciando o esôfago terminando em um bulbo (ES). (b) Extremidade anterior com duas fileiras duplas de dentes recorrentes (D). (c) Extremidade posterior do macho evidenciando os espículos (E) e gubernáculo (G). (d) Fêmea evidenciando a vulva pouco saliente (V), vagina (VA) e útero com a presença de ovos (O). (e) Extremidade posterior do macho evidenciando os três pares de papilas cloacais e um par de papilas pós-cloacais. (f) Extremidade posterior da fêmea evidenciando o ânus (A) e a cauda afilada..... 108

FIGURA 33. Estrobilocerco comprimido recuperado de um cisto no fígado de roedores..... 111

FIGURA 34. Espécime de Estrobilocerco de <i>Hydatigera taeniaeformis</i> . (a) Excólex evidenciando o rostelo bem desenvolvido, armado com duas fileiras de ganchos (seta grossa) e duas ventosas (seta fina). (b) Excólex evidenciando quatro ventosas redondas e proeminentes (setas). (c) Rostelo evidenciando ganchos maiores na primeira fileira (seta grossa) e ganchos menores na segunda fileira (seta fina).	112
FIGURA 35. Cistos brancos de Estrobilocerco de <i>Hydatigera taeniaeformis</i> de diferentes tamanhos.....	114
FIGURA 36. Lesões macroscópicas no fígado de roedores. Cisto branco que sobressai do parênquima hepático (seta) (a). Estrobilocerco sendo recuperado de um cisto no fígado	114
FIGURA 37. Fígado de roedores com hidatidose. (a) Cisto em corte longitudinal contendo o estrobilocerco de <i>Hydatigera taeniaeformis</i> em seu interior (200µm). (b) Estrobilocerco em corte longitudinal evidenciando a musculatura dentro do parênquima que separa a região cortical da medular (ponta de seta) e corpúsculos calcários basofílicos na região mais periférica do parênquima (seta) (100µm). (c) Maior aumento evidenciando o tegumento (seta) e o rostelo (ponta de seta) (20µm). (d) Parede do cisto composta por tecido conjuntivo fibroso (TCF) e ao redor infiltrado histiolinfoplasmocitário (IH) no parênquima hepático (PH) (50µm). Hematoxilina e eosina	115
FIGURA 38. Ciclo biológico de <i>Hydatigera taeniaeformis</i> (Freitas, 1982 modificado). 1. Presença do cestódeo adulto no intestino delgado do hospedeiro definitivo. 2. Eliminação das proglotes terminais grávidas pelo hospedeiro definitivo. 3. Ingestão de ovos pelo hospedeiro intermediário. 4. Migração das larvas do intestino para o fígado do hospedeiro intermediário. 5. Ingestão do fígado contendo o cisto com o estrobilocerco pelo hospedeiro definitivo. 6. Ingestão acidental pelos humanos dos ovos de <i>H. taeniaeformis</i> desenvolvendo o cisto com o estrobilocerco no fígado. 7. Ingestão acidental pelos humanos do estrobilocerco de <i>H. taeniaeformis</i> desenvolvendo o helminto adulto no intestino delgado.....	118
FIGURA 39. Espécime de <i>Hymenolepis diminuta</i> . (a) Excólex evidenciando o rostelo sem ganchos e três ventosas (V). (b) Proglote madura evidenciando o poro genital lateral (PGL), o testículo próximo ao poro (TE), a vesícula seminal externa (VSE) e o ovário em desenvolvimento (DO). (c) superfície livre do tegumento coberta por microtriches (setas). (d) Proglotes grávidas	121
FIGURA 40. Espécime de <i>Hymenolepis diminuta</i> com proglote grávida em maior aumento evidenciando os ovos com a oncosfera com ganchos	122

- FIGURA 41.** Ciclo biológico de *Hymenolepis diminuta* (Freitas, 1982 modificado). 1. Presença do cestódeo adulto no intestino delgado do hospedeiro definitivo. 2. Eliminação das proglotes terminais grávidas pelo hospedeiro definitivo. 3. Desintegração das proglotes no ambiente e liberação dos ovos. 4. Ingestão dos ovos pelo hospedeiro intermediário (coleóptero). 5. Migração das larvas do intestino para a hemocele do hospedeiro intermediário e desenvolvimento da larva cisticercoide. 6. Ingestão do hospedeiro intermediário, contendo a larva cisticercoide, pelo hospedeiro definitivo. 7. Ingestão acidental pelos humanos do hospedeiro intermediário, contendo a larva cisticercoide de *H. diminuta*, desenvolvendo o helminto adulto no intestino..... 125
- FIGURA 42.** Espécime de *Rhopalias coronatus*. Adulto de corpo inteiro evidenciando as probóscidas retráteis (PR), a ventosa oral (VO), a faringe (F), o acetábulo (A) a bolsa do cirro (C), o ovário (O), o testículo anterior (TA), o testículo posterior (TP) e os folículos vitelínicos ocupando toda a região pós-testicular (FV). Imagem em microscópio estereoscópio em 16X 128
- FIGURA 43.** Espécime de *Rhopalias coronatus*. Maior aumento evidenciando: (a) a ventosa oral (VO); (b) a bolsa do cirro grande e claviforme (C); (c) o ovário esférico e pré-testicular (O); (d) os dois testículos de bordas irregulares, testículo anterior (TA) e testículo posterior (TP) um atrás do outro posteriores ao ovário 129
- FIGURA 44.** Espécimes adultos de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) Extremidade anterior evidenciando o esôfago (E) e o poro excretor (PE). (b) Extremidade posterior da fêmea evidenciando a vulva (V) e o ânus (A). (c) Vista lateral da bolsa copuladora evidenciando os dois espículos (ES). (d) Vista ventral da bolsa copuladora, com os raios ventroventral (VV) e lateroventral (LV) emergindo do mesmo tronco, raios laterais divididos em ventrolateral (AL) mediolateral (ML) e posterolateral (PL), raio externodorsal (ED) e dorsal (D). (e) Vista lateral da bolsa copuladora evidenciando o gubernáculo (GB) 160
- FIGURA 45.** Desenhos de *A. cantonensis*. (a) Extremidade anterior do macho. (b) Vista ventral da extremidade posterior do macho, evidenciando a bolsa copuladora. (c) Extremidade posterior do macho em vista lateral evidenciando os espículos e o gubernáculo. (d) Extremidade posterior da fêmea 161
- FIGURA 46.** Larvas de primeiro (L1), segundo (L2) e terceiro (L3) estádios de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) L1 evidenciando um apêndice unguiforme na cauda. (b) L2 evidenciando dois bastões quitinosos (Bq) e ânus (A). (c) L3 evidenciando dois bastões quitinosos (Bq), esôfago (E) e ânus (A)..... 162
- FIGURA 47.** Microscopia eletrônica de varredura de um espécime adulto macho de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) Extremidade posterior evidenciando o espículo. (b) Extremidade posterior em maior aumento evidenciando a cloaca (C) e um raio da bolsa copuladora (R) 163

FIGURA 48. Lesões macroscópicas no pulmão de roedores. Áreas consolidadas esbranquiçadas e áreas com petéquias na superfície pulmonar (a). Exemplares adultos de *Angiostrongylus cantonensis* emergindo das artérias pulmonares (seta) (b). Fêmea adulta de *A. cantonensis* emergindo do coração (seta) (c). Fêmea adulta visualizada no interior de uma artéria pulmonar (seta) (d) 166

FIGURA 49. Lesões microscópicas no pulmão de roedores. (a) Arquitetura pulmonar totalmente alterada com áreas de perda total do parênquima, e substituição por células inflamatórias associadas a larvas e ovos (setas) (200µm). (b) Ovos (ponta de seta) e larvas (seta) em maior aumento (20 µm). (c) Artéria bronquiolar com espessamento da túnica íntima, além de hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas da túnica média (seta) e no lúmen secções em cortes transversais de nematódeos machos adultos (pontas de seta) (100µm). (d) Em maior aumento, um nematódeo macho adulto apresentando morfologicamente cutícula delgada(c), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), testículos (t) e intestino com células epiteliais cúbicas, núcleo e citoplasma amplos (i) (50 µm). (e) Deposição de material intensamente basofílico granular e amorfo (mineralização distrófica) (ponta de seta) associada a parasitos e ovos degenerados (seta) (100µm). (f) Espessamento da túnica íntima, além de hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas da túnica média de uma artéria (seta) (50 µm). Hematoxilina e eosina 167

FIGURA 50. Lesões microscópicas no encéfalo de roedores. (a) Cerebelo com adultos jovens de *A. cantonensis* no espaço subaracnóide das leptomeninges (setas grossas) com inflamação leve a moderada próxima aos helmintos (setas finas) (100µm). (b) Adulto jovem em detalhes evidenciando cutícula lisa (c), cordão lateral (cl), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), testículo (t) e intestino (i) (50 µm). Hematoxilina e eosina 168

FIGURA 51. Mapa do Parque Municipal Jacques Cousteau demonstrando as estações de coleta do transecto referenciadas por GPG, onde os espécimes de *R. rattus* infectados por *A. cantonensis* foram capturados 169

FIGURA 52. Exemplares de moluscos da espécie *Achatina fulica* (a) e do gênero *Megalobulimus* (b) encontrados no Parque Municipal Jacques Cousteau..... 171

FIGURA 53. Reconstituição filogenética bayesiana, baseada no gene CO1. Valores nos nós são as probabilidades bayesianas posteriores..... 172

FIGURA 54. Sinais clínicos apresentados pelo camundongo BR02-1 evidenciando baixo escore corporal, postura de “cão sentado” e incoordenação..... 178

FIGURA 55. Lesões macroscópicas no encéfalo de ratas experimentalmente infectadas. (a) Presença de exemplares de adultos jovens de *A. cantonensis* nas leptomeninges da região do cerebelo (seta) do animal R04-1. (b) Presença de exemplares de adultos jovens de *A. cantonensis* nas leptomeninges da região do hemisfério cerebral direito (seta) do animal R05-1. (c) Comparação entre os encéfalos dos animais, da esquerda para a direita, R05-1, R04-1 e Controle, onde podemos observar hiperemia moderada nos animais R05-1 e R04-1 em comparação com a ausência no controle não infectado..... 179

FIGURA 56. Lesões macroscópicas no pulmão da rata R04-2 experimentalmente infectada. (a) Presença de nódulos esbranquiçados e firmes a palpação nos lobos caudal direito e caudal esquerdo (setas). (b) Nódulo esbranquiçado em detalhe (seta espessa) e exemplares adultos de *A. cantonensis* emergindo de uma artéria pulmonar próxima ao nódulo (seta fina) 180

FIGURA 57. Lesões macroscópicas no pulmão da rata R05-2 experimentalmente infectada. (a) Presença de nódulo esbranquiçado e firme a palpação comprimindo o parênquima do lobo caudal esquerdo do pulmão e aderido à pleura (seta). (b) Pulmão com áreas de hemorragia, evidenciando o nódulo no lobo caudal esquerdo (seta)..... 181

FIGURA 58. Lesões microscópicas no pulmão da rata R01 experimentalmente infectada. (a) Parênquima pulmonar substituído por múltiplas formações nodulares com ovos (setas vermelhas) e larvas (setas pretas) de nematódeos em cortes longitudinais e transversais, associados a numerosas células inflamatórias (setas grossas) 10X. (b) Em maior aumento as larvas eram enoveladas e continham grânulos basofílico (setas finas pretas) e extremidades afiladas (setas finas vermelhas) e os ovos embrionados tinham a casca delgada eosinofílica (setas grossas) 20X. Hematoxilina e eosina 181

FIGURA 59. Lesões microscópicas no encéfalo dos camundongos BR01-1 e BR02-1 experimentalmente infectados. (a) Presença de larvas (setas pretas) na meninge (m) de um dos hemisférios cerebrais (hc), associadas a hiperemia (asterisco) e infiltrado inflamatório (setas vermelhas) 10X. (b) Presença de duas larvas (setas) na região de transição do hipocampo e substância branca do cérebro adjacente ao ventrículo lateral (H) associadas a áreas de hemorragia (asteriscos) 10X. (c) Em detalhe, local de hemorragia e macrófagos com pigmento amarronzado (hemossiderina) (setas) 40X. (d) Em detalhe, morfológicamente as larvas eram envoltas por cutícula delgada e lisa (c), musculatura celomariana (m) e hipoderme (h), cavidade celomática (cc), intestino com uma única camada de epitélio cúbico com núcleo único (i) e órgão reprodutor (or). Hematoxilina e eosina 182

FIGURA 60. Lesões microscópicas no encéfalo das ratas R04-1 e R05-1 experimentalmente infectadas. (a) Em maior aumento, morfologicamente as larvas eram envoltas por cutícula lisa (c), hipoderme delgada (h), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), cordão lateral (cl), testículo (t), intestino (i) com camada única e epitélio cúbico com núcleo único (seta vermelha) 40X. Em maior aumento, foram observadas gotas eosinofílicas no lúmen do intestino (setas grossas) sugestiva de hemoglobina. Hematoxilina e eosina 183

FIGURA 61. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. Arquitetura pulmonar com áreas de perda total do parênquima (PP), substituição por células inflamatórias associadas a larvas e ovos íntegros embrionados e ovos degenerados em cortes longitudinais e transversais (*). Artéria (A) com espessamento da túnica íntima (IT). Brônquio (B) com hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes (GC) e presença de muco (M) e larva (L) 20X. Hematoxilina e eosina 183

FIGURA 62. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. (a) Artéria pulmonar (A) com presença de 15 cortes transversais e longitudinais de adultos de *A. cantonensis* 10X. (b) Artéria pulmonar com proliferação da túnica íntima (IT) e hipertrofia e hiperplasia da camada muscular (ML), evidenciando no lúmen em cortes transversais, um exemplar macho (M) com musculatura celomariana (CM), cordões laterais (SC), testículos (TE) e intestino (I) e um exemplar fêmea (F) com cutícula espessa (C), cavidade celomática (CC), intestino (I) e útero (U) com ovos embrionados (E) (c). Os adultos jovens em cortes longitudinais foram caracterizados por cutícula lisa (CC), musculatura celomariana (CM), cavidade celomática (CC), testículo (TE) e intestino (I) 20X. Hematoxilina e eosina..... 184

FIGURA 63. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. (a) Áreas multifocais a coalescentes constituídas por restos de larvas e ovos (setas pretas) envoltos por macrófagos epitelioides, e células multinucleadas (setas vermelhas), áreas de mineralização (asteriscos pretos) e tecido conjuntivo fibroso (asteriscos vermelhos) 20X. (b) No folículo linfóide (FL) associado ao brônquio constatou-se hiperplasia e plasmocitose com algumas células Mott (setas) 40X. Hematoxilina e eosina 184

LISTA DE TABELAS

TABELA 01. Primers e condições de amplificação utilizados para o PCR dos helmintos recuperados	56
TABELA 02. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal das Mangabeiras no período de abril de 2018 a março de 2019.....	58
TABELA 03. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal Jacques Cousteau no período de abril de 2018 a março de 2019.....	60
TABELA 04. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019.....	63
TABELA 05. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019, que não foi possível realizar a identificação das espécies.....	63
TABELA 06. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019.....	64
TABELA 07. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019, que não foi possível realizar a identificação das espécies.....	65
TABELA 08. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para quatro sequências consenso de em média 437 pares de bases para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de <i>Litomosoides sigmodontis</i> encontradas no presente trabalho.....	75
TABELA 09. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para uma sequência consenso de 644 pares de bases para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de <i>Hydatigera taeniaeformis</i> encontradas no presente trabalho.....	113
TABELA 10. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para duas sequências consenso de 596 pb e 603 pb para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de <i>Hymenolepis diminuta</i> encontradas no presente trabalho.....	123
TABELA 11. Números de acesso de sequências do gene MT-CO1 de nematódeos recuperadas a partir do GenBank e seus respectivos hospedeiros, sítios de infecção, origem geográfica e referências.....	153
TABELA 12. Similaridades resultantes da análise pelo BLAST-N para uma sequência de 431 pares de bases para COI e 630 pares de base para ITS-2 obtida pelo sequenciamento das amostras de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> encontradas no presente estudo	159

TABELA 13. Presença de larvas de terceiro estágio de metastrongídeos em moluscos coletados no Parque Municipal Jacques Cousteau nos meses de outubro e novembro de 2019.....	170
TABELA 14. Informações da infecção dos modelos experimentais Wistar e BALB/c com larvas de terceiro estágio de <i>A. cantonensis</i>	173

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal das Mangabeiras no período de abril de 2018 a março de 2019.....	59
GRÁFICO 02. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal Jacques Cousteau no período de abril de 2018 a março de 2019.....	61

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	28
2. JUSTIFICATIVA	32
3. OBJETIVO GERAL	34
4. DIVISÃO DO TRABALHO EM CAPÍTULOS	34
CAPÍTULO I: Captura de pequenos mamíferos para coleta e identificação de helmintos parasitos no Parque Municipal das Mangabeiras e no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte - Minas Gerais.....	35
5. INTRODUÇÃO	36
5.1. Pequenos mamíferos em parques urbanos.....	36
5.2. Diversidade de helmintos em pequenos mamíferos	38
5.3. Importância de roedores na transmissão de helmintos com potencial zoonótico e caracterização das principais zoonoses.....	41
6. OBJETIVO GERAL DO PRIMEIRO CAPÍTULO	43
7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO PRIMEIRO CAPÍTULO	43
8. MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
8.1. Áreas de estudo	44
8.2. Captura de pequenos mamíferos	46
8.3. Recuperação em necropsias, fixação e identificação morfológica de helmintos dos animais eutanasiados.....	51
8.4. Extração de DNA, amplificação por reação de PCR e sequenciamento para identificação molecular dos helmintos coletados.....	53
8.5. Análise histopatológica	57
9. RESULTADOS	58
9.1. Captura de pequenos mamíferos	58
9.2. Obtenção de helmintos de pequenos mamíferos	62
9.3. Descrições morfológicas, moleculares e patológicas das espécies de helmintos encontradas em roedores do Parque Municipal das Mangabeiras e Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais.....	66

10. DISCUSSÃO.....	131
11. CONCLUSÃO.....	138
CAPÍTULO II: Achados taxonômicos, moleculares e patológicos do ciclo natural e ciclo experimental de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> recuperado de <i>Rattus rattus</i> e <i>Achatina fulica</i> no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais.....	
	139
12. INTRODUÇÃO	140
12.1. Características gerais da espécie <i>Angiostrongylus cantonensis</i> ..	140
12.2. Ciclo biológico de <i>A. cantonensis</i>	141
12.3. Hospedeiros definitivos e intermediários de <i>A. cantonensis</i>	144
12.4. Expansão do <i>Achatina fulica</i> e sua importância como hospedeiro intermediário de <i>A. cantonensis</i>	146
12.5. Meningoencefalite eosinofílica.....	147
13. OBJETIVO GERAL DO SEGUNDO CAPÍTULO.....	149
14. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO SEGUNDO CAPÍTULO.....	149
15. MATERIAIS E MÉTODOS	150
15.1. Coleta e identificação de moluscos terrestres do Parque Municipal Jacques Cousteau e recuperação de larvas de metastrongilídeos.....	150
15.2. Identificação morfológica das larvas de terceiro estágio de metastrongilídeos e infecção experimental do modelo laboratorial Wistar.....	151
15.3. Análise filogenética	152
15.4. Infecção de moluscos com larvas de primeiro estágio de <i>Angiostrongylus</i> sp.	154
15.5. Recuperação de larvas de <i>Angiostrongylus</i> sp. em <i>Biomphalaria glabrata</i>	154
15.6. Infecção de roedores com larvas de terceiro estágio recuperadas de <i>B. glabrata</i>	154
15.7. Delineamento experimental do segundo capítulo.....	156
16. RESULTADOS	157

16.1. Descrição morfológica, molecular e patológica de helmintos do gênero <i>Angiostrongylus</i> recuperados de roedores do Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais e estações de coleta do transecto referenciadas por GPG, onde os espécimes de <i>R. rattus</i> infectados foram capturados	157
16.2 Coleta de moluscos terrestres no Parque Municipal Jacques Cousteau e recuperação de larvas de metastrongilídeos	170
16.3 Análise filogenética	171
16.4. Ciclo experimental de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> : aspectos clínicos e descrições macroscópicas e microscópicas das lesões em modelos experimentais.....	173
17. DISCUSSÃO.....	185
18. CONCLUSÃO.....	190
19. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	191

1. INTRODUÇÃO GERAL

Morand *et al.* (2006) classificam os pequenos mamíferos não apenas pelo tamanho, mas também por uma abordagem taxonômica. Portanto, incluíram em suas considerações roedores e marsupiais, considerados o grupo ecológico mais diversificado de mamíferos das florestas neotropicais, com mais de 190 espécies atualmente reconhecidas no Brasil (Paglia *et al.*, 2012). Esse grupo de mamíferos apresenta espécies que são hospedeiras definitivas ou intermediárias de helmintos parasitos das classes Cestoda e Trematoda, e dos filos Nematoda e Acanthocephala. Alguns desses helmintos podem apresentar potencial zoonótico e, o compartilhamento desses parasitos com os humanos e seus animais domésticos, pode aumentar o risco de doenças zoonóticas na população humana, como por exemplo, a angiostrongilíase (Mills, 2006; Morant *et al.*, 2006). Um dos cenários em que os humanos podem se envolver acidentalmente na cadeia epidemiológica de algumas dessas helmintoses, são em áreas onde a urbanização ocorre de forma mais acelerada, principalmente nas regiões mais pobres do planeta. Conseqüentemente, a urbanização favorece a formação de fragmentos florestais, que nas cidades, são áreas de vegetações naturais interrompidas por barreiras antrópicas, com redução do fluxo de animais e da interação entre as espécies. (Harrison, 1991; Bordes *et al.*, 2015). Esses fragmentos urbanos são caracterizados por grande pressão antrópica e um contínuo processo de avanço humano sobre as áreas florestais, provocando mudanças nos habitats naturais, afetando diretamente a estrutura das comunidades de animais e plantas, levando diversas espécies a se tornarem sinantrópicas e a um declínio da biodiversidade, já que muitos animais silvestres são incapazes de se adaptar as alterações geradas (Soulé & Wilcox, 1980; Bradley & Altizer, 2006; Mackenstedt *et al.*, 2015). Na cidade de Belo Horizonte no estado de Minas Gerais, Brasil esses fragmentos florestais são representados por diversos parques urbanos municipais espalhados pela cidade, no qual são utilizados pela população como áreas de recreação e prática de esportes. A fauna e flora que compõem os parques variam de acordo com a pressão antrópica exercida em cada um deles.

Muitas das espécies de animais silvestres que se adaptam ao ambiente urbano podem ocorrer em densidades mais altas nesses locais, do que em áreas menos perturbadas, devido aos recursos abundantes que não são propensos a flutuações sazonais, como restos de matéria orgânica e alimentos oferecidos por pessoas, que dão suporte a essas populações. Além disso, as construções oferecem abrigos para fêmeas e filhotes e geralmente os principais predadores dessas espécies não ocorrem nesses ambientes (Bradley & Altizer, 2006). Desta forma, algumas

espécies de pequenos mamíferos mais generalistas podem ser beneficiadas pelas alterações ambientais, adaptando-se às condições adversas, sendo capazes de tolerar um amplo conjunto de condições ambientais e usar uma grande variedade de recursos, permitindo que se tornem abundantes localmente (Vieira & Monteiro-Filho, 2003; Pardini et al., 2005; Verberk, 2011). Assim, essas comunidades podem se tornar restritas a um pequeno número de espécies oportunistas cuja densidade populacional pode aumentar significativamente devido à ausência de pressões competitivas (Ruedas et al., 2004; Carroll et al., 2005; Mills, 2006). A diversidade de espécies de pequenos mamíferos nos parques urbanos de Belo Horizonte, a densidade populacional das espécies mais generalistas e a presença de espécies sinantrópicas podem variar de acordo com a preservação e tamanho das matas que compõem os parques, além da presença ou não de corredores que ligam essas matas a outras regiões florestadas.

A alta densidade populacional desses animais pode aumentar o contato entre indivíduos de uma mesma espécie e entre as diferentes espécies, favorecendo a transmissão de parasitos transmitidos por contato direto ou oral – fecal. O aumento na suplementação alimentar também pode levar a uma melhora da condição do hospedeiro, com possível aumento da imunidade frente à infecção, diminuindo o impacto dos parasitos na sobrevivência e reprodução, o que pode também levar a um aumento na taxa de natalidade com aumento da abundância de hospedeiros juvenis suscetíveis. Todas essas variações ecológicas e de comportamento que ocorrem nas populações podem favorecer a transmissão de doenças entre os pequenos mamíferos, podendo favorecer também um maior contato dessas populações com animais domésticos e humanos, aumentando os riscos de transmissão de agentes com potencial zoonótico. Aparentemente, essa redução que ocorre na biodiversidade de fragmentos florestais no ambiente urbano e as mudanças de comportamento da fauna nesses fragmentos, pode influenciar na transmissão de parasitos e outros patógenos (Bradley & Altizer, 2006; Suzán et al., 2011; Bordes et al., 2015; Mackenstedt et al., 2015).

Além disso, moluscos terrestres também habitam os parques urbanos e podem atuar como hospedeiros intermediários de diferentes espécies de helmintos que tem os pequenos mamíferos como hospedeiros definitivos, sendo que algumas dessas espécies podem apresentar potencial zoonótico. (MS, 2008; Ohlweiler et al., 2010). Por outro lado, espécies de gastrópodes são consideradas bons bioindicadores de saúde ambiental devido à sua capacidade de dispersão relativa inferior, associada à dependência de microclima estável, preferências de habitat relativamente restritas, alta sensibilidade às condições ambientais, tamanho corporal pequeno e posição na cadeia alimentar (Altaf et al., 2017; Nicolai & Ansart, 2017; Rangel et al., 2021).

Recentemente, os caramujos passaram a ser usados também como modelos ecológicos para estimar o estresse antrópico em áreas urbanas, no qual ocorre a presença de espécies invasivas, importantes pragas urbanas, que podem competir com as espécies nativas por recursos e participar do ciclo biológico de diferentes espécies de helmintos que podem causar doença em animais e humanos (Altaf et al., 2017; Dreves et al., 2017).

Assim como as espécies invasivas de moluscos, os pequenos mamíferos geralmente estão presentes nesses ambientes em grande densidade populacional e muitas vezes, em contato próximo com a população de animais domésticos que transitam nesses fragmentos, com a população humana que habita o entorno ou com os visitantes. Esses animais são hospedeiros definitivos e intermediários de numerosas espécies de helmintos. Essa riqueza de espécies pode estar associada a fatores como a dieta dos hospedeiros, a especificidade dos helmintos em relação aos diferentes hospedeiros, as condições micro ambientais e a abundância de hospedeiros definitivos e intermediários (Krasnov et al., 2006). Desta forma, os estudos dos helmintos de pequenos mamíferos, são de grande interesse e têm sido utilizados como indicadores de alterações ambientais, associações ecológicas antigas e as relações de evolução e coexistência de diversas comunidades, já que mudanças ambientais podem alterar os parâmetros epidemiológicos dessas espécies (Bush et al., 2001).

Diante do exposto, a identificação das espécies de helmintos que parasitam os pequenos mamíferos e seus possíveis hospedeiros intermediários nos parques urbanos são importantes para o conhecimento da biodiversidade parasitária desses animais nesses ambientes. A taxonomia integrativa pode ser uma ferramenta aliada nessa identificação, já que utiliza marcadores moleculares de DNA, caracteres ecológicos, morfológicos e patológicos, a fim de auxiliar na identificação da biodiversidade global, que precisa ser estudada por meio de perspectivas múltiplas e complementares (Dayrat, 2005; Janssen et al., 2017; Vidigal et al., 2017; Sheth & Thaker et al., 2017; Lenarczyk et al., 2020).

Os principais recursos utilizados na taxonomia integrativa são o uso da microscopia de luz e da microscopia eletrônica de varredura, que padroniza e permite a correta identificação taxonômica dessas espécies através das estruturas morfológicas e morfométrica (Anderson et al., 2009; Janssen et al., 2017; Lenarczyk et al., 2020); as análises moleculares e filogenéticas, que são ferramentas complementares para a identificação e correta classificação desses helmintos (Janssen et al., 2017; ; Sheth & Thaker et al., 2017); a investigação da patologia macroscópica e a histopatologia associada às endoparasitoses, afim de identificar as lesões nos

diferentes tecidos, assim como a identificação de parasitos em cortes histológicos, que representa um desafio, pois é necessário estar familiarizado com os tipos de parasitos mais prováveis para o hospedeiro em questão e no tecido sob estudo, mas que representa uma ferramenta auxiliar quando usado junto com a identificação taxonômica e molecular (Alcaraz & Eberhard, 2006). Sendo assim, todas essas ferramentas são fundamentais para estudar a biodiversidade desses parasitos, suas relações com as outras espécies, as possíveis lesões causadas nos hospedeiros e a presença de espécies que apresentam potencial zoonótico e podem representar um risco à população humana que habita o entorno desses fragmentos urbanos e compartilham de alguma forma recursos com a fauna que habita esses locais.

Portanto, esse trabalho se dedica a, através da captura de pequenos mamíferos e moluscos em parques urbanos com diferentes composições na cidade de Belo Horizonte e do uso da taxonomia integrativa para identificar os helmintos que parasitam esses animais, avaliar se ocorrem espécies que poderiam ser compartilhadas pelos animais domésticos e população humana através do uso comum desses espaços com os animais silvestres. Desta forma, ao identificar esses parasitos com potencial zoonótico, comunicar as autoridades de Saúde Pública quanto a presença dessas espécies, e auxiliar nas medidas de controle e educação em saúde para a população, na tentativa de minimizar os riscos de infecção para a população humana e de seus animais domésticos.

2. JUSTIFICATIVA

Os pequenos mamíferos de uma maneira geral, são animais bem adaptáveis as mais variadas circunstâncias, como por exemplo a fragmentação de habitats, mudanças na composição do ambiente e alimentação antrópica e estão amplamente distribuídos em todo planeta. Com a redução cada vez maior de seus territórios naturais, estes animais são pressionados a habitarem áreas cada vez menores e tal realidade cria uma pressão populacional em suas comunidades, impulsionando o deslocamento de espécimes em busca de outros territórios e alimento, que passa a se tornar escasso. Essas alterações nas paisagens podem levar a um aumento do contato desses animais com as pessoas e seus animais domésticos e com isso modificações na transmissão de patógenos zoonóticos que podem ocasionar surtos de doenças nas populações humanas, com a emergência de agentes zoonóticos de origem da vida silvestre, zoonoses que representam a ameaça mais significativa e crescente à saúde global de todas as doenças infecciosas emergentes.

Para muitas das zoonoses parasitárias, os animais silvestres representam fonte potencial de infecção para humanos e seus animais domésticos, sendo os parasitos de origem de animais silvestres em particular, a maioria dos patógenos emergentes zoonóticos de humanos. Além disso, vários helmintos que parasitam esses animais têm moluscos terrestres e aquáticos como hospedeiros intermediários, no qual as espécies invasoras têm um papel importante no ciclo de vida desses helmintos nos ambientes urbanos. Com a dissolução de barreiras ecológicas, importantes no controle natural das doenças, principalmente nos ambientes urbanos, os pequenos mamíferos e os moluscos podem agir como reservatórios e/ou amplificadores dessas zoonoses. Desta forma, quando a biodiversidade é perdida e a composição das espécies é alterada, processos ecológicos são interrompidos e problemas relacionados a saúde das populações começam a surgir, levando a necessidade do entendimento das interconexões entre as espécies envolvidas e a complexidade das relações entre hospedeiros e agentes.

Frente a real possibilidade do risco de transmissão de helmintos parasitos entre animais silvestres, domésticos e os seres humanos, pesquisas que estudem a helmintofauna de pequenos mamíferos principalmente em parques urbanos, objetivo principal desse trabalho, tornam-se importante para o meio científico e para sociedade através de dados relevantes para saúde pública. Ainda são escassos os estudos sobre a fauna parasitária que acometem animais silvestres no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, e como os parques urbanos da cidade apresentam alta pressão antrópica, com presença de roedores e moluscos exóticos e animais

domésticos no seu interior, o ciclo biológico de espécies com potencial zoonótico podem estar ocorrendo nesses locais, com riscos de transmissão desses agentes para a população humana, já que o compartilhamento dos espaços e recursos entre as populações é cada vez mais frequente.

3. OBJETIVO GERAL

Realizar a identificação morfológica e molecular dos helmintos recuperados de pequenos mamíferos e moluscos capturados no Parque Municipal das Mangabeiras e no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte - Minas Gerais e avaliar as lesões nos roedores infectados.

4. DIVISÃO DO TRABALHO EM CAPÍTULOS

Capítulo I: Captura de pequenos mamíferos para coleta e identificação de helmintos parasitos no Parque Municipal das Mangabeiras e no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte - Minas Gerais.

Capítulo II: Achados taxonômicos, moleculares e patológicos do ciclo natural e ciclo experimental de *Angiostrongylus cantonensis* recuperado de *Rattus rattus* e *Achatina fulica* no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte - Minas Gerais.

CAPÍTULO I

**CAPTURA DE PEQUENOS MAMÍFEROS PARA COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE
HELMINTOS PARASITOS NO PARQUE MUNICIPAL DAS MANGABEIRAS E NO
PARQUE MUNICIPAL JACQUES COUSTEAU EM BELO HORIZONTE - MINAS
GERAIS.**

5. INTRODUÇÃO

5.1. Pequenos mamíferos em parques urbanos

Roedores e marsupiais juntos, formam o grupo mais rico de mamíferos do Brasil, estão distribuídos em todos os biomas, inclusive na Mata Atlântica, e podem ser usados para análise de qualidade ambiental (Grazzini et al., 2021). As espécies de pequenos mamíferos são um componente importante das dietas de predadores e executam serviços vitais do ecossistema, particularmente na dispersão e germinação de sementes e esporos (Morand et al., 2006). Além desses fatores e da importância numérica, os marsupiais e pequenos roedores também são bons indicadores tanto de alterações locais do habitat, como alterações da paisagem (Pardini & Umetsu, 2006). Sendo assim, os pequenos mamíferos são especialmente adequados para o estudo das consequências das alterações ambientais, já que são abundantes, relativamente fáceis de capturar e compreende o grupo ecologicamente mais diverso de mamíferos neotropicais (Bonvicino et al., 2008). Além disso, as espécies de pequenos mamíferos apresentam respostas específicas distintas à fragmentação do habitat, particularmente na Mata Atlântica brasileira (Olifiers, 2002; Pardini et al., 2005)

Se encontram dentro desse grupo os roedores que representam cerca de 40% de todas as espécies de mamíferos vivos, compreendendo cerca de 2.500 espécies divididas em 34 famílias (Lacher et al., 2016). No entanto, o acesso a grandes conjuntos de dados de espécies e avanços na metodologia filogenética e técnicas moleculares levam a revisões taxonômicas frequentes, e o número de espécies cientificamente reconhecidas está em fluxo constante (Wilson & Reeder, 2005; Chiquito et al., 2014; Burgin et al., 2018; Chiquito & Percequillo, 2019). No Brasil, os roedores são representados por cerca de 257 espécies em nove famílias e, no total, representam aproximadamente 34% de todos os mamíferos brasileiros (Paglia et al., 2012; Percequillo et al., 2017; Abreu- Jr. et al., 2020). Os principais roedores que compõem os pequenos mamíferos estão na superfamília Muroidea que está dividida em seis famílias, 19 subfamílias, 310 gêneros e em torno de 1.600 espécies (Patton et al., 2015). A família Cricetidae Rochebrune 1883, que faz parte dessa superfamília, engloba 55% das espécies de roedores sul-americanos, representando em torno de 22% das espécies de mamíferos, sendo a família mais diversificada de roedores do Brasil. Nessa família está a subfamília Sigmondotinae Wagner, 1843 que compreende a maioria dos cricetídeos da América do Sul com aproximadamente 84 gêneros e quase 380, espécies que costumam estar presentes nos fragmentos de mata que representam os parques urbanos no Brasil.

Da mesma forma, mamíferos da família Didelphidae Gray 1821, também compõem esse grupo. Essa família é composta por 19 gêneros recentes e 95 espécies atualmente reconhecidas, das quais todas, exceto quatro espécies, ocorrem na América do Sul (Gardner, 2007). O Brasil é o país com maior número de espécies dessa família, com a descrição, até o momento, de 62 espécies (Faria et al., 2019), cerca de 60% das espécies de marsupiais de todo continente (Paglia et al., 2012; Faria et al., 2019), onde se distribuem em todos os biomas como Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pantanal e Campos do Sul. Duas espécies de marsupiais apresentam importância nos estudos de pequenos mamíferos em fragmentos de mata, o *Didelphis albiventris* Lund, 1840 e *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826. *Didelphis albiventris* habita o tipo de floresta aberta e decídua do nordeste do Brasil até o meio da Argentina, incluindo áreas de chuva baixa e irregular, como os habitats da Caatinga e do Deserto do Monte (Cerqueira, 1984). É substituído nas florestas mais úmidas do Atlântico e Araucárias por *D. aurita*, ocorrendo simpatria das duas espécies em áreas perturbadas por humanos, como os parques urbanos (Gardner, 2007).

Essas florestas urbanas, no qual são encontradas diferentes espécies de pequenos mamíferos, enfrentam muitos desafios à sua integridade ecológica, já que geralmente são pequenas, estão rodeadas por uma matriz de desenvolvimento urbano e estão isoladas de outras florestas, apesar de que algumas áreas fragmentadas podem ter conexões de mata com outras áreas (Collinge, 2009; Soutan et al., 2021). Além disso, uma característica intrínseca das pequenas florestas é que seu interior costuma estar próximo às bordas florestais, expondo o habitat interior e a vida selvagem a uma variedade de ameaças (Murcia, 1995). Essas ameaças incluem a poluição de suas bacias hidrográficas, a colonização de espécies invasivas e a redução das populações de pequenos mamíferos por predadores domésticos não nativos, como gatos (*Felis catus*) e cães (*Canis familiaris*) (Pickett et al., 2001).

Conseqüentemente, o aumento do isolamento em fragmentos de habitat remanescentes e o aumento da predação nesses habitats fragmentados podem tornar as populações de vida selvagem em ambientes urbanos mais suscetíveis a extinções locais. Entretanto, apesar dos potenciais efeitos prejudiciais da urbanização sobre a vida selvagem, os parques urbanos e outros espaços verdes podem desempenhar um papel importante na proteção da vida selvagem nativa em paisagens urbanas, sendo que os pequenos mamíferos geralmente podem ser capazes de persistir nessas áreas, especialmente em habitats residuais, como espaços verdes remanescentes e parques. Desta forma, comunidades de pequenos mamíferos, podem se tornar restritas a um pequeno número de espécies generalistas, cuja densidade populacional pode

aumentar significativamente devido à ausência de pressões competitivas, além de favorecer a presença de espécies exóticas sinantrópicas (Ruedas et al., 2004; Carroll et al., 2005; Mills, 2006; Gonçalves et al., 2016).

Sendo assim, a existência de inúmeros outros animais e plantas e o equilíbrio de ecossistemas dependem também da presença de pequenos mamíferos, que devem ser um dos principais alvos do esforço de conservação (Morand et al., 2006). Por outro lado, muitas espécies destes animais são hospedeiros de vários parasitos e reservatórios de algumas doenças que atingem seres humanos. Essa dualidade, sendo um componente importante da biodiversidade, por um lado, e um fator negativo para a saúde humana, por outro, são fatores que levam a diferentes estudos dedicados aos pequenos mamíferos em todo o mundo, como por exemplo, levantamentos da helmintofauna desses animais (Morand et al., 2006).

5.2. Diversidade de helmintos em pequenos mamíferos

Os helmintos são parasitos entozoários com uma grande diversidade de espécies, sendo o grupo considerado um excelente modelo de estudo da interação parasito-hospedeiro em ecossistemas naturais e antropizados e bons indicadores de mudanças ambientais, dados alguns fatores como, o seu imenso potencial de dispersão entre as espécies e ambientes e sua história evolutiva (Poulin, 1996; Brandão, 2007; Cardoso et al., 2019). Os estudos da diversidade e da fauna de parasitos baseiam-se, principalmente, na importância destes como agentes de doenças, influenciando na saúde dos hospedeiros, como também na competição, migração, reprodução e especiação desses animais, assim como no equilíbrio dos ecossistemas e dos ambientes naturais e domésticos (Brooks & Hoberg, 2000; Cirino et al., 2020; Cardoso et al., 2021). Embora no caso de pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos, diversos levantamentos helmintológicos já tenham sido realizados (Gomes et al., 2003; Pinto et al., 2011; Costa et al., 2019; Cirino et al., 2020), explorar a fauna parasitaria de roedores em diferentes ambientes é necessário, principalmente para a detecção de possíveis reservatórios de helmintos com potencial zoonótico e para a prevenção das consequências de possíveis transmissões zoonóticas para a população humana.

Os helmintos parasitos de importância para mamíferos e para a saúde pública estão presentes nos Filos Nematoda, Acanthocephala e Platyhelminthes dividido em duas classes, Cestoda e Trematoda. Espécies do filo Nematoda são encontradas em todo o mundo e nos mais

diferentes ambientes, possuindo pelo menos 30.000 espécies, em cerca de 2.271 gêneros e 256 famílias (Anderson, 2000; Feliu et al., 2006). Segundo Morand *et al.*, (2006) dentre os hospedeiros mamíferos, os pequenos mamíferos são o grupo que exibem a maior diversidade de nematódeos, em relação a outros filos de helmintos, albergando espécimes de ordens como Rhabditida, Ascaridida, Oxyurida, Spirurida e Trichurida. Corroborando este fato, diferentes estudos registraram uma maior riqueza de nematódeos parasitando roedores e marsupiais, como por exemplo as espécies *Aspidodera raillieti* Travassos, 1913; *Cruzia tentaculata* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1917; *Physaloptera bispiculata* Vaz & Pereira, 1935; *Turgida turgida* Rudolphi, 1819; *Gongylonemoides marsupialis* Vaz & Pereira, 1934; *Spirura guanensis* (Ortlepp, 1924) Chitwood, 1938 e *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919) Vaz, 1934; *Stilestrongylus eta* Travassos, 1937; *Stilestrongylus freitasi* Durette-Desset, 1968; *Protospirura numidica criceticola* Quentin, Karimi & Rodrigues De Almeida, 1968; *Trichuris navonae* Robles, 2011; *Pterigodermatites (Paucipectines) zygodontomys* Quentin 1967; *Syphacia (Syphacia) alata* Quentin 1968; *Didelphonema longispiculata* (Hill, 1939) Wolfgang, 1953; *Viannaia conspicua* Travassos, 1914; *Viannaia pusilla* Travassos, 1914; *Heterostrongylus heterostrongylus* Travassos, 1925 (Gomes et al., 2003; Costa Neto et al., 2016; Costa et al., 2019; Cirino et al., 2020)

Em relação a classe Cestoda, foram classificadas cerca de 5.200 espécies em 680 gêneros, 72 famílias e 15 ordens, sendo que cerca de 3.100 espécies, 380 gêneros e 18 famílias pertencem à ordem Cyclophyllidea (Georgiev et al., 2006). Os cestódeos além de diversos são parasitos frequentes de pequenos mamíferos, que, sendo como hospedeiros definitivos ou intermediários, é um grupo que forneceu oportunidades significativas para os cestódeos divergirem no espaço e no tempo e coevolúrem com seus hospedeiros (Morand et al., 2006). Membros de seis famílias da ordem Cyclophyllidea foram registrados nos pequenos mamíferos como hospedeiros definitivos. Um deles, o Catenotaeniidae, possui uma gama de hospedeiros inteiramente restrita a roedores. As famílias Hymenolepididae e Anoplocephalidae são representadas por considerável diversidade nesses animais, contendo em torno de 45 e 25 gêneros, respectivamente, com faixas de hospedeiros restritas a pequenas ordens de mamíferos (Morand et al., 2006). A fauna de cestódeos parasitando pequenos mamíferos é relativamente bem estudada. Como por exemplo Vaucher, (1971) examinou oito espécies de Soricidae na Europa e recuperou 28 espécies de cestódeos parasitando esses animais. Em um estudo realizado em duas aldeias maias de Yucatán no México, dezenove espécies de helmintos recuperados de diferentes espécies de roedores foram identificadas, incluindo Cestoda das

famílias Davaineidae, Hymenolepididae e Taeniidae. (Panti-May et al., 2018). No Brasil já foram relatados pequenos mamíferos parasitados por *Methevotaenia bivittata* (Janicki, 1904) Akhumian 1946; *Rodentolepis akodontis* Rêgo, 1967; *Raillietina (Raillietina) trinitatae* (Camero & Reesal, 1951) Baer & Sandais, 1956 e *Raillietina (Raillietina) guaricanae* César & Luz, 1993 (César & Luz, 1993; Cirino et al., 2020).

No que se refere aos trematódeos, essa classe é composta por parasitos obrigatórios que podem ser encontrados em todos os grupos de vertebrados em todo o mundo. A classe possui cerca de 20.000 espécies descritas, a maioria pertencente à subclasse Digenea, que apresenta no seu ciclo biológico uma fase de reprodução sexuada nos hospedeiros definitivos (vertebrados) e uma fase de reprodução assexuada nos hospedeiros intermediários (moluscos) (Littlewood et al., 2006). Os ciclos de vida desses parasitos podem envolver até cinco estágios larvais (miracídeos, esporocistos, rédias, cercárias e metacercárias) e vários hospedeiros, sendo que os ciclos podem ser complexos e poucos são completamente conhecidos (Cribb et al., 2003). Cerca de 37 famílias de trematódeos digenéticos são encontradas em pequenos mamíferos no mundo. No Brasil, foram relatadas espécies como *Chiostichorchis lobatotestis* Sey & Thatcher; *Rhopalias coronatus* (Rudolphi, 1819) Stiles & Hassall 1898; *Duboisiiella proloba* Baer, 1938; *Brachylaima advena* Dujardin, 1843 parasitando os pequenos mamíferos.

Dentre os helmintos mais citados na literatura parasitando as espécies de roedores sinantrópicos, os pequenos mamíferos mais abundantes em parques urbanos, estão os representantes pertencentes aos filos Nematoda, Acanthocephala, e as classes Cestoda e Trematoda. No levantamento feito por Vicente *et al.* (1997) são listadas oito espécies de nematódeos parasitos de *Rattus rattus* registrados no Brasil, sendo elas: *Eucoleus gastricus* (Baylis, 1926) Lopez-Neyra, 1947; *Heterakis spumosa* Schneider, 1886; *Gongylonema neoplasticum* Fibiger & Ditlevsen, 1914; *Heteroxynema muris* Vaz & Pereira, 1934; *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914) Travassos & Darriba, 1929; *Protospirura muris* (Gmelin, 1790) Seurat, 1915; *Syphacia obvelata* (Rud., 1802) Seurat, 1916 e *Trichosomoides crassicallda* (Bellinghan, 1845) Railliet, 1895. Em estudos mais recentes, que buscam conhecer a helmintofauna desses roedores, como o realizado por Araujo *et al.* (2014) no estado de Rio Grande do Sul, foram analisados 30 espécimes da espécie *Rattus rattus* e nestes foram encontradas duas espécies de nematódeos, *Aspiculuris tetraptera* e *Syphacia obvelata*, e uma espécie de cestódeo, *Hymenolepis diminuta*. As espécies *S. obvelata* e *H. diminuta* são consideradas espécies com potencial zoonótico.

5.3. Importância de roedores na transmissão de helmintos com potencial zoonótico e caracterização das principais zoonoses

As doenças zoonóticas, especialmente as associadas a roedores e outros animais selvagens, representam ameaças significativas à saúde humana, sendo que, esses animais constituem o principal reservatório para várias espécies de parasitos com potencial zoonótico (Seifollahi et al., 2016; Tijjani et al., 2020). Em relação as helmintíases, 20% da população latino-americana é afetada, sendo consideradas doenças negligenciadas, com aproximadamente 3.800 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo (Acuña et al., 2003; Zonta et al., 2007). Em dados mais recentes, de acordo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças parasitárias resultaram em 48,4 milhões de casos e 59.724 mortes anuais, e estima-se que 48% dessas doenças parasitárias foram transmitidas por alimentos (Torgerson et al., 2015). Várias dessas helmintíases apresentam potencial zoonótico e têm roedores como hospedeiros definitivos ou intermediários, como os cestódeos dos gêneros *Hymenolepis* Weinland, 1858 e *Rodentolepis* Spassky, 1954 e da espécie *Hydatigera taeniaeformis* Batsch, 1786 e os nematódeos das espécies *Angiostrongylus cantonensis* Chen, 1935, *Angiostrongylus costaricensis* Morera e Céspedes, 1971 e *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) Bancroft, 1893 (Paramasvaran et al., 2009; Fitte et al., 2017; Tijjani et al., 2020).

A himenolepiase é uma parasitose mundial causada por cestódeos dos gêneros *Hymenolepis* e *Rodentolepis* (Hymenolepidae: Cyclophyllidae). O ciclo de vida desses parasitas envolve seres humanos, ratos e camundongos como hospedeiros definitivos e artrópodes como hospedeiros intermediários (Acha & Szyfres, 1986; Llop et al., 2001; Hernández Mazariegos, 2016). Estima-se que 20 milhões de pessoas no mundo sejam parasitadas (Incani et al., 2003; Rossomando et al., 2008) e ambas as parasitoses compartilham algumas características epidemiológicas, como maior prevalência em crianças de áreas marginalizadas, com alta densidade populacional, com maus hábitos de higiene e condições sanitárias (Martinez-Barbosa et al., 2012). Já a espécie *Hydatigera taeniaeformis* (sin. *Taenia taeniaeformis*) é um cestódeo que parasita o intestino delgado de gatos domésticos e vários felídeos selvagens (Abuladze, 1964). Os hospedeiros intermediários são roedores, mas também podem ser lagomorfos, insetívoros e esporadicamente, até os humanos (Bowman et al., 2002). No que se refere aos trematódeos, diversos roedores, como do gênero *Nectomys* Peters, 1861 (Muroidea: Sigmodontinae) (D'Andrea et al., 2000) no Brasil e das espécies *Mastomys huberti* Wroughton, 1908 (Muroidea: Murinae) e *Arvicanthis niloticus* Geoffrey, 1803 (Muroidea: Murinae) e do gênero *Mastomys* no Senegal (Duplantien e Sène, 2007; Catalano et

al., 2020) são considerados como possíveis reservatórios naturais de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. No caso do *Nectomys* sp. o parasitismo pode ocorrer devido aos seus hábitos semi-aquáticos, o que o expõem à infecção. Esses animais estão distribuídos em uma grande área ao longo de cursos de água, incluindo a maioria das áreas endêmicas de esquistossomose (D' Andrea et al., 2000).

As espécies de *Angiostrongylus* parasitam artérias pulmonares, mesentéricas e o coração de vários mamíferos como roedores, felídeos e canídeos domésticos e silvestres, inclusive humanos (Maldonado et al., 2012). Algumas apresentam importância em saúde pública, devido ao seu potencial zoonótico, como o *A. costaricensis*, agente etiológico da angiostrongilíase abdominal nas Américas, encontrado desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. Outra espécie é o *A. cantonensis*, agente etiológico da meningoencefalite eosinofílica, na Ásia e sul do Pacífico, com relatos na América do Sul, incluindo o Brasil (Caldeira et al., 2007; Lima et al., 2009; Espírito-Santo et al., 2013; Morassutti et al., 2014). *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*), outra espécie de nematódeo com potencial zoonótico, tem distribuição mundial e principal hospedeiro, roedores da superfamília Muroidea, mas já foi documentado em inúmeras outras espécies de mamíferos, incluindo casos humanos (Fuehrer et al., 2011; Fuehrer, 2014ab). Os adultos desse nematódeo parasitam o fígado e depositam seus ovos no parênquima hepático, causando a capilarirose hepática.

Nesse contexto, roedores, principalmente os sinantrópicos, agem como sentinelas de doenças zoonóticas, sendo necessários estudos da fauna helmintológica destes animais em áreas urbanas, onde ocorre grande contato com humanos e seus animais domésticos, a fim de adotar medidas que minimizem os riscos de transmissão dessas e de outras doenças.

6. OBJETIVO GERAL DO PRIMEIRO CAPÍTULO

Realizar a captura de pequenos mamíferos no Parque Municipal das Mangabeiras e Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte – Minas Gerais para coleta de amostras biológicas, eutanásia e necropsia para coleta e identificação de helmintos que parasitam esses animais.

7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO PRIMEIRO CAPÍTULO

- Realizar a captura de pequenos mamíferos nos dois parques alvo do estudo.
- Realizar a coleta de sangue dos pequenos mamíferos para confecção de esfregaços sanguíneos para verificar a presença de microfilárias e realizar a identificação morfológica.
- Realizar necropsias para coleta de parasitos dos pequenos mamíferos eutanasiados nos dois parques alvo do estudo.
- Identificar morfológica e molecularmente os exemplares de helmintos adultos, obtidos através da necropsia, que parasitam os pequenos mamíferos dos dois parques alvo do estudo.
- Avaliar as lesões causadas pelos helmintos recuperados dos pequenos mamíferos.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

8.1. Áreas de estudo

Este estudo foi conduzido em dois parques urbanos, da cidade de Belo Horizonte- Minas gerais, que apresentam características distintas. Um dos parques escolhido foi o Parque Municipal das Mangabeiras, situado à latitude 19°56'43''S e longitude 43°54'42''W, sendo uma área arborizada de 236 ha, localizada ao sul de Belo Horizonte. O entorno abrange uma parte da Serra do Curral, área de mineração de ferro, áreas residenciais representadas pelos bairros Serra, Mangabeiras e Vila Marçola e áreas de vegetação nativa, como o Parque Estadual Mata da Baleia. O local abriga vegetações de Mata Atlântica e Cerrado. A temperatura média anual é 26° C e existem duas estações, a seca, que ocorre de abril a setembro, e a chuvosa, de outubro a março (Alves-Costa, 1998). O local também possui 25 nascentes que formam um curso d'água do Córrego da Serra (Hemetrio, 2007). Neste parque, foram registradas 167 espécies de plantas, 222 de animais, possuindo o registro de 16 espécies de mamíferos, como quatis (*Nasua nasua*), esquilos caxinguelê (*Sciurus ingrami*) e micos-estrela (*Callithrix penicillata*), 168 espécies de aves, 19 de anfíbios e 20 de répteis (Alves-Costa, 1998). Não há registro de mamíferos de grande porte habitando o local (Câmara e Lessa, 1994). O Parque das Mangabeiras foi inaugurado em 13 de maio de 1982 e desde então serve como área de lazer para a população. Tal parque, é considerado um dos maiores parques urbanos do Brasil, recebendo muitos visitantes por dia, o que lhe proporciona um considerável impacto ambiental, devido à pressão antrópica no seu interior e seu entorno, o que se reflete na sua fauna e flora (Figura 1). Apesar dos consideráveis impactos antrópicos o Parque das Mangabeiras apresenta uma grande área de mata preservada e conexões com outras áreas de mata da região metropolitana de Belo Horizonte, o que permite a dispersão e introdução de espécies.



Figura 01. Vista panorâmica do Parque Municipal das Mangabeiras mostrando divisa com os bairros e a área de mineração. Fonte: Google Earth.

O outro parque selecionado para este estudo, foi o Parque Municipal Jacques Cousteau que ocupa uma área aproximada de 335 mil metros quadrados, sendo localizado na região Oeste, no bairro Betânia, situado à latitude $19^{\circ}58'26''S$ e longitude $43^{\circ}59'22''W$. O parque foi criado em 1971 e implantado em 1999. Antes disso, o local funcionou como depósito de lixo da cidade e, posteriormente, como horto para a produção de mudas de árvores e plantas ornamentais a serem utilizadas no paisagismo de Belo Horizonte. A vegetação predominante é de porte arbóreo, existindo ainda espécies ornamentais e frutíferas (mangueiras, jabuticabeiras e bananeiras) com nascentes e cursos d'água perenes. A fauna é composta por anfíbios, répteis, aves, como sabiás (*Turdus sp.*), frangos d'água (*Porphyrio martinicus*), saracuras (*Aramides saracura*), e mamíferos, como mico-estrela (*Callithrix penicillata*), esquilo-caxinguelê (*Sciurus ingrami*) e gambás (*Didelphis spp.*). Como opções de lazer, o parque oferece brinquedos e trilha ecológica, além de espaços para contemplação, áreas de convivência e academia a céu aberto (Prefeitura de Belo Horizonte, 2019) (Figura 2). Diferente do Parque das Mangabeiras, o Jacques Cousteau está todo inserido dentro do bairro e não apresenta áreas de conexão com outras matas, sendo as populações de animais restritas ao local. Desta forma, o estudo pretende avaliar se há diferença na composição da fauna de pequenos mamíferos que

habitam os dois parques, um mais preservado e outro mais antropizado, dentro da mesma cidade, além da diversidade de helmintos que parasitam essas espécies nos diferentes parques.

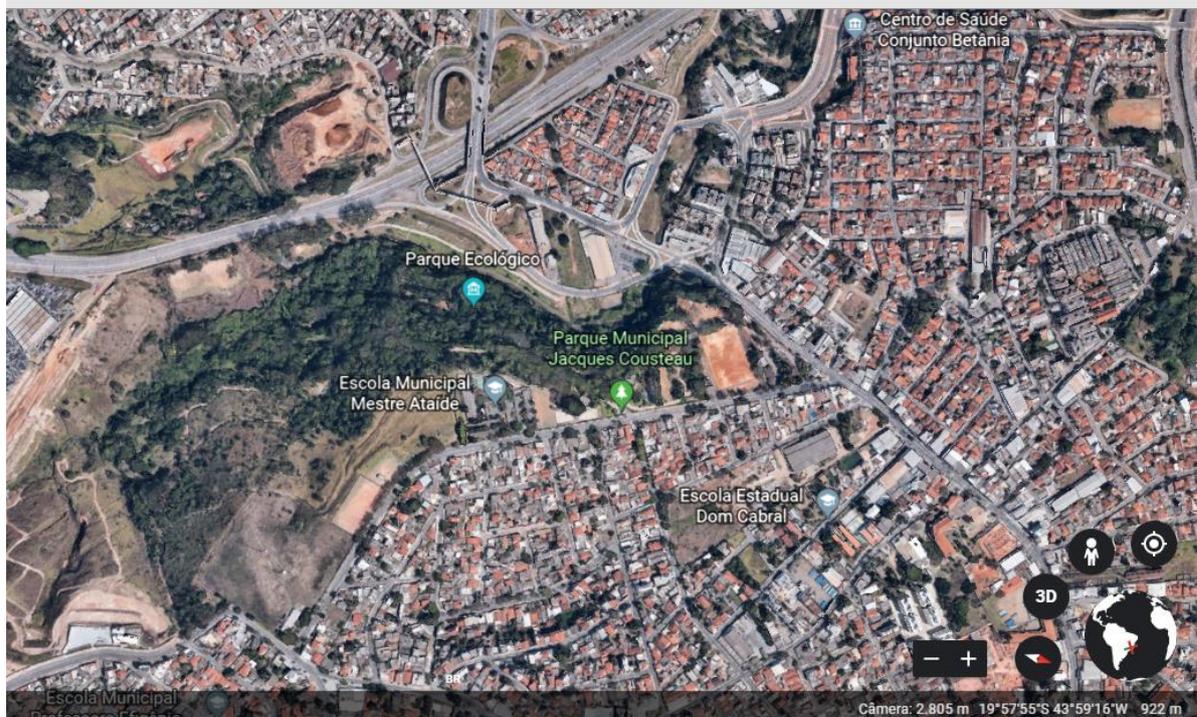


Figura 02. Vista panorâmica do Parque Municipal Jacques Cousteau mostrando área de terraplanagem com construção de prédios e divisa com os bairros. Fonte: Google Earth.

8.2. Captura de pequenos mamíferos

As capturas de pequenos mamíferos foram realizadas no Parque Municipal das Mangabeiras (PMM) e no Parque Municipal Jacques Cousteau (PMJC) em Belo Horizonte, no período de abril de 2018 a março de 2019, mediante Licença Permanente emitida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, número 12989-2 e Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG protocolo 306/2017.

Para isso, foram estabelecidos dois transectos (duas trilhas) de amostragem no PMJC, um em área de fragmentos de vegetação nativa (mata), próxima a trilha principal e áreas de lazer do parque, e um em área de forragens variadas próxima a áreas de vegetação (Figura 03), e três no PMM, um em área de fragmentos de vegetação nativa (mata), outro em área de cerrado e outro na área mais antropizada do parque próximo à Vila Marçola (Figura 04). Cada transecto tinha 15 estações de coleta distantes 20 metros uma da outra.

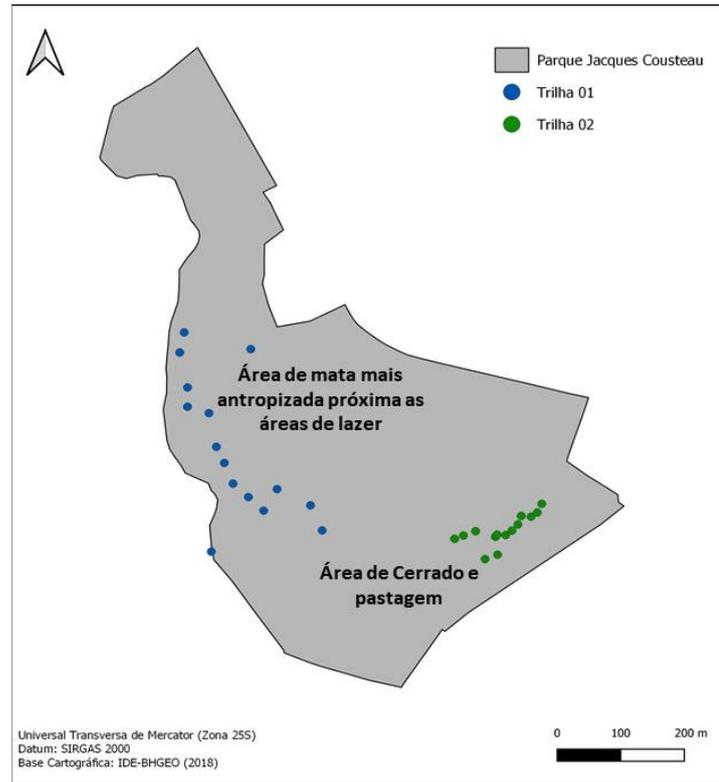


Figura 03. Mapa do Parque Municipal Jacques Cousteau, demonstrando as estações de coleta dos dois transectos, referenciadas por GPG.

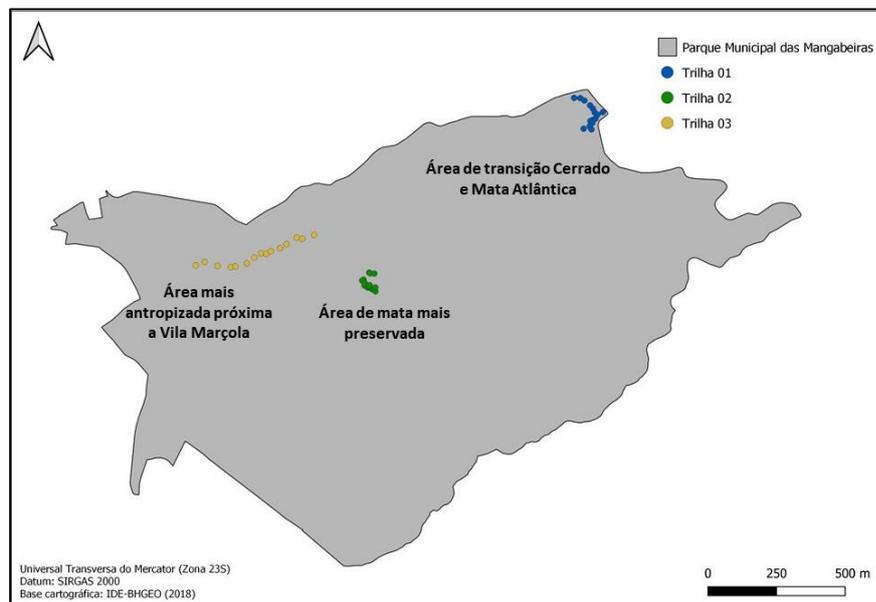


Figura 04. Mapa do Parque Municipal das Mangabeiras, demonstrando as estações de coleta dos três transectos, referenciadas por GPG.

Cada estação tinha duas armadilhas, sendo uma do tipo Sherman (dimensões: 8 X 8 X 26cm), específica para a coleta de roedores e marsupiais de pequeno porte e outra do tipo gaiola com isca suspensa (42 X 20 X 20 cm), para captura de animais maiores como gambás (*Didelphis* sp.), totalizando 30 armadilhas em cada transecto e um total de 60 armadilhas no PMJC e 90 no PMM. Nas áreas próximas de construções e nas áreas de forragens ambas as armadilhas foram colocadas no chão. Na área de mata nativa em cada ponto foi colocada uma armadilha no chão e outra no estrato médio da mata (Figura 05), para captura tanto das espécies arbóreas como espécies que se deslocam pelo solo. Cada transecto foi percorrido uma vez por dia, logo pela manhã entre 8:00 e 9:00 horas. A isca utilizada foi uma mistura de sardinha, amendoim, banana e farelo de milho. As armadilhas foram iscadas no primeiro dia e trocada a cada dois dias, ou quando necessário. Durante cada campanha de captura, as armadilhas ficaram abertas e iscadas por cinco dias consecutivos. Em cada parque, as coletas foram realizadas bimensalmente, totalizando seis campanhas em cada, no período de um ano.



Figura 05. Distribuição das armadilhas nas trilhas. (a) Armadilha tipo gaiola com isca suspensa no estrato médio da mata. (b) Armadilha tipo gaiola com isca suspensa no chão. (c) Armadilha do tipo Sherman no estrato médio da mata. (d) Armadilha do tipo Sherman no chão.

Após a captura, os pequenos mamíferos coletados foram transferidos para sacos de pano identificados e transportados para a sala de procedimentos. Inicialmente, os animais foram pesados (o peso do saco de pano deve ser previamente conhecido para descontar e saber o peso real do animal) (Figura 06). Após a pesagem e contenção de cada animal, esses foram submetidos a sedação através da injeção intraperitoneal do anestésico para roedores e intramuscular para marsupiais:

- 10mg/Kg de cloridrato de xilazina 2% associado a 100mg/Kg de cloridrato de cetamina para roedores;
- 0.35mg/Kg de Midazolam associado a 25mg/Kg de cloridrato de cetamina para marsupiais.



Figura 06. Pesagem dos roedores utilizando pesola, com o animal ainda dentro do saco de pano.

Uma vez sedado, foi realizada a coleta de sangue intravenosa, sendo que, para os roedores que seriam eutanasiados, foi realizada a coleta intracardíaca e para os marsupiais que não foram eutanasiados foi realizada a coleta pelas veias da cauda ou pela veia femoral (Figura 07). O sangue coletado foi utilizado para confecção de esfregaços sanguíneos. Logo após, foram anotadas informações como sexo, peso, condição reprodutiva, local de captura e identificação

dos animais. Durante a coleta, os gambás e outros animais que seriam soltos, foram marcados para uma eventual recaptura com brincos numerados presos à orelha (Figura 08). Após a captura e marcação, esses animais foram colocados novamente nas gaiolas para retorno da sedação, alimentados com frutas e soltos no mesmo local de coleta. Os roedores foram eutanasiados, com exceção das fêmeas prenhas, identificadas através da palpação abdominal, com sobre dose de anestésico geral (Propofol 10mg/Kg) via intracardíaca. Optou-se por só eutanasiar os marsupiais quando a espécie fosse ser utilizada para compor a coleção de mamíferos do Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG.

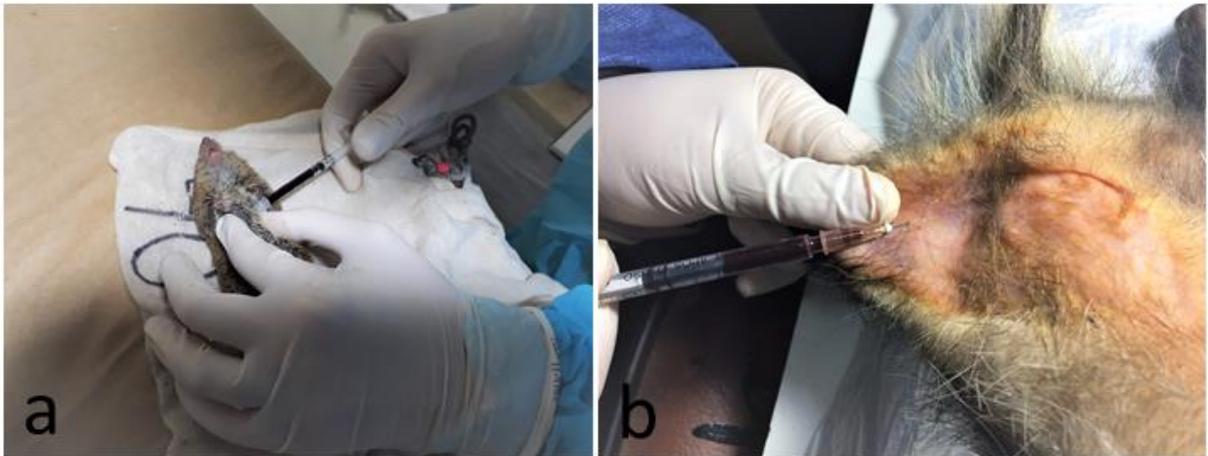


Figura 07. Coleta de sangue intravenosa dos animais sedados. (a) Coleta de sangue intracardíaca de um roedor. (b) Coleta de sangue da veia femoral de um gambá.



Figura 08. Brinco numerado preso à orelha de um gambá (*Didelphis aurita*).

Após a eutanásia, foi realizada a necropsia e individualização dos órgãos para recuperação dos helmintos no Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A identificação das espécies de pequenos mamíferos capturados foi realizada pelo Laboratório de Ecologia e Conservação do Departamento de Biologia Geral do ICB-UFMG.

8.3. Recuperação em necropsias, fixação e identificação morfológica de helmintos dos animais eutanasiados

A necropsia consistiu na abertura da cavidade abdominal e inspeção visual, à procura de helmintos ou qualquer anormalidade sugestiva de parasitismo, na superfície dos órgãos e nas cavidades abdominal e torácica. Após inspeção, as vísceras foram retiradas do cadáver e transferidas para uma placa de Petri para serem individualmente avaliadas (Silva, 1995).

Após análise da superfície dos órgãos em busca de parasitos e de lesões provocadas por eles, foi realizada a abertura com tesoura da traqueia, vasos pulmonares, brônquios e coração com o auxílio de microscópio estereoscópico para facilitar a visualização de possíveis helmintos presentes nesses órgãos. O fígado, foi seccionado com uma pinça dente de rato em um pirex com solução salina 0,85% para facilitar a remoção de helmintos e evitar o rompimento dos mesmos. Os órgãos do sistema digestivo (intestino delgado, intestino grosso e estômago) foram separados, evitando a mistura de conteúdo das diferentes partes, e em seguida, realizou-se a abertura com tesoura para análise do conteúdo. Após a abertura, a mucosa desses órgãos foi raspada com auxílio de tesoura, para a remoção de parasitos que se encontravam encistados ou aderidos. Em seguida, o conteúdo de cada órgão do sistema digestivo foi lavado em tamis e transferido para um pirex e, logo após, transferido aos poucos para uma placa de petri, para a coleta dos helmintos, com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Travassos, 1950). Para identificação dos ovos de helmintos recuperados, foi coletado fezes direto do intestino dos animais necropsiados. Logo após a coleta foi realizado o método de centrífugo-sedimentação pela formalina-éter, no qual, 2 gramas de fezes foram misturadas em um frasco com 10ml de água. Esse conteúdo foi filtrado através de gaze dobrada duas vezes em tubo Falcon de 15ml. Foi acrescentado ao filtrado 2ml de formol a 10% e 3ml de acetato de etila. O conteúdo foi agitado vigorosamente e centrifugado (500x g/1min). Logo após, o sobrenadante foi descartado mantendo 2ml do sedimento para avaliação em microscópio (De Carli, 2007). Os nematódeos

coletados dos diferentes órgãos foram fixados em formol 10% a quente (80°C) e logo após diafanizados em lactofenol de Amann e colocados entre lâmina e lamínula de vidro com lactofenol, para observação e identificação em microscópio óptico (Silva, 1995). Já os cestódeos e trematódeos coletados do conteúdo do sistema digestivo, foram comprimidos entre placas de vidro, fixados com formol 10% a frio, posteriormente corados com aceto-carmim, desidratados em uma sequência de álcool em tempos variáveis, diafanizados em creosoto e montados em lâminas com bálsamo do Canadá (Amato et al., 1991). Foram selecionados para identificação morfológica exemplares intactos e em melhores condições de fixação. As imagens dos parasitos foram capturadas com câmera digital (AxioCamERc 5s, Carl Zeiss) acoplada ao microscópio e a morfometria realizada através do programa Axio Vision Rel. 4.8. As medidas foram realizadas em milímetros, exceto quando indicado de outra forma. Para cada característica, o intervalo é fornecido primeiro, seguido da média e do coeficiente de variação.

Alguns exemplares machos de nematódeos recuperados foram preparados para microscopia eletrônica de varredura convencional (MEV), como previamente descrito por Lopes *et al.* (2013). Os espécimes foram fixados em solução de formol 10% e levados ao Centro de Microscopia da UFMG (CM – UFMG), onde foi realizada a fixação secundária. Os exemplares foram lavados três vezes em tampão cacodilato de sódio 0,1 M por 10 minutos e pós fixado em tetróxido de ósmio aquoso (OsO₄) 1% por uma hora na presença do mesmo tampão, lavado três vezes em água destilada por 10 minutos, inserido em solução ácido tânico a 1%, diluído em água destilada por 20 minutos, desidratados progressivamente em etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 90% e absoluto), durante 30 minutos em cada um. Posteriormente, as amostras foram secas, em ponto crítico líquido de CO₂, montadas em esferas metálicas, revestidas com camada de ouro de 10 nm de espessura. As fotografias para análise das estruturas dos helmintos foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura FEG Quanta 200 – FEI. Desenhos foram realizados no Laboratório de Ilustração Científica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

As identificações dos helmintos foram realizadas a partir das chaves de identificação de Yamaguti (1959), Yamaguti (1961), Travassos *et al.* (1969), Vicente *et al.* (1997) e Anderson *et al.* (2009), além de artigos com descrições específicas para cada família, gênero ou espécie em questão. Para o cálculo da prevalência média da infecção por espécie parasitada, foram considerados o total de animais eutanasiados de cada espécie hospedeira do helminto descrito. Para o cálculo da prevalência média da infecção entre as espécies capturadas no mesmo parque, foram considerados o total de animais eutanasiados de todas as espécies parasitadas pelo

helminto descrito. Para helmintos descritos em uma espécie hospedeira capturada em mais de um transecto, foi realizado o cálculo de prevalência média para cada transecto.

8.4. Extração de DNA, amplificação por reação de PCR e sequenciamento para identificação molecular dos helmintos coletados

O DNA foi extraído a partir de um exemplar adulto de helmintos de cada espécie encontrada, recuperados de diferentes hospedeiros. Durante as necropsias dos roedores, os helmintos recuperados foram lavados com solução salina 0,85%, e observados em microscópio estereoscópico, para limpeza de material exógeno aparente. Posteriormente, cada espécime foi individualizado, em um tubo de 1.5 mL, devidamente identificado, contendo álcool absoluto, para posterior extração de DNA genômico no Laboratório de Malacologia e Sistemática Molecular do ICB-UFMG. Os exemplares foram colocados em água destilada, 24 horas antes da extração, para a remoção do álcool. Após esse período, foram realizadas mais duas lavagens com água destilada e a secagem em termobloco a 56° C, por cinco minutos.

O DNA genômico foi isolado a partir dos espécimes adultos, utilizando o *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega), seguindo o protocolo do fabricante. Os helmintos foram mecanicamente macerados com auxílio de um pistilo, em 200µl de solução de lise e adicionado 4µl de proteinase K para incubação a 56 °C durante duas horas. Posteriormente, foram adicionados 80µl de solução de precipitação proteica, seguido de agitação vigorosa da suspensão com auxílio do vortex por 10 segundos e em seguida a centrifugação a 14000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo contendo 200µl de isopropanol à temperatura ambiente, para precipitação do DNA. Em seguida foi homogeneizado por inversão durante 20 minutos e centrifugado a 14000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* de DNA lavado com 300µl de etanol 70%, em seguida homogeneizado por inversão por cinco minutos e centrifugados por 10 minutos. Após a evaporação total do etanol, o *pellet* foi tratado com 25µl de solução de re-hidratação de DNA, incubado a 65 °C por uma hora e armazenado a -20 °C até o uso.

A reação em cadeia de polimerase (PCR) foi realizada, para produzir ampliações do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (CO1) e sequências da região espaçadora transcrita interna dois do DNA ribossomal (ITS-2). Esses genes foram selecionados devido ao amplo uso nos estudos de identificação das espécies de helmintos abordadas nesse trabalho.

Para produzir ampliações do CO1, foi utilizado um coquetel de iniciadores com volume final de 20µl contendo: 9.96µl de água deionizada; 1.6µL de cada iniciador; 2,0µl de tampão de reação; 2,0µl de MgCl (mM); 1.6µl de dNTPs (PROMEGA) (µM); 0,24µl de Taq DNA polimerase (Platinum) (U/µl) e 1,0µl do DNA extraído (20ng/ µl). Para produzir ampliações do ITS-2 foi utilizado o mesmo Kit e volume final contendo: 8.96µl de água deionizada; 1.6µL de cada iniciador; 2,0µl de tampão de reação; 2,0µl de MgCl (mM); 1.6µl de dNTPs (PROMEGA) (µM); 0,24µl de Taq DNA polimerase (Platinum) (U/µl); 1,0µl de DMSO e 1,0µl do DNA extraído (20ng/ µl). As amostras foram colocadas em termociclador Mastercycler 384 (EPPENDORF) com as condições de amplificação variando de acordo com a espécie (Tabela 01).

Para detecção dos produtos amplificados, foi utilizado o método de eletroforese em gel de agarose 1%. 1µl do DNA de cada amostra foi corado com 1µl de azul de bromofenol e 1µl de gel red e aplicados no gel deixando correr por, pelo menos, 40 minutos até uma hora. Para visualização em luz ultravioleta, o gel foi colocado em um transluminador. Os produtos de PCR foram purificados, utilizando o protocolo PEG 20% (Ptilenoglicol) de purificação de acordo com o protocolo a seguir: foram transferidos os produtos de PCR para tubos de 500µl, sendo adicionado o mesmo volume de solução PEG 20% e em seguida a suspensão foi agitada vigorosamente com auxílio de vortex. Logo após os tubos foram deixados em banho maria a 37 °C por 15 minutos. Em seguida, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 13000 rpm. O sobrenadante foi descartado e adicionado 125µl de etanol 80% gelado. A solução foi centrifugada por cinco minutos a 13000 rpm retirando cuidadosamente o sobrenadante. Foi adicionado novamente 125µl de etanol 80% gelado e o processo repetido. O pellet formado foi deixado secar na estufa a 37 °C até não restar vestígios de etanol no tubo. Após evaporação do etanol, o pellet foi ressuscitado em 20µl água milliQ. Em seguida o DNA das amostras foi quantificado utilizando o NanoDrop Lite Spectrophotometer e armazenado a -20 °C até o uso.

As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando-se 20ng de produto de PCR purificado, 5 pmol dos mesmos primers e 2,25µL do Kit de Sequenciamento de Ciclo BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems), em 10µL de volume final. Os produtos de PCR marcados com BigDye foram precipitados com isopropanol seguindo o protocolo do fabricante e o sequenciamento foi realizado utilizando-se o ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems). A leitura do sequenciamento foi realizada na plataforma de sequenciamento Sanger do René Rachou/Fiocruz-MG. Os cromatogramas das sequências consenso foram analisados, editados e tiveram os contigs montados no programa Geneious® 9.1.2. Em seguida,

as sequências foram conferidas na plataforma NCBI, utilizando-se a ferramenta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Após a obtenção das sequências, foi utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgard, 2004) implementado no MEGA7 (Kumar et al., 2016), considerando a tradução para aminoácidos para COI e ITS-2.

Tabela 01. Primers e condições de amplificação utilizados para o PCR dos helmintos recuperados.

Primer	Programa de PCR	Referências
COI-F: 5'- TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG -3'	40 ciclos: Desnaturação inicial: 94°C por 5 minutos Desnaturação: 94°C por 30 segundos Anelamento: 55°C por 30 segundos Extensão: 72°C por 1 minuto Extensão final: 72°C por 5 minutos	Primer: Bowles et al., 1993 Programa de PCR: Eamsobhana et al., 2010
COI-R: 5'- TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT -3'		
ITS-2 F: 5'- ACG TCT GGT TCA GGG TTG TT -3'	39 ciclos: Desnaturação inicial: 94°C por 90 segundos Desnaturação: 94°C por 50 segundos Anelamento: 58°C por 1 minuto Extensão: 72°C por 90 segundos Extensão final: 72°C por 10 minutos	Primer: Gasser et al., 1993 Programa de PCR: Caldeira et al., 2003
ITS-2 R: TTA GTT TCT TTT CCT CCG CT -3'		
Dice1F: 5'- ATT AAC CCT CAC TAA ATT WCN TTR GAT CAT AAG - 3'	35 ciclos: Desnaturação inicial: 94°C por 2 minutos Desnaturação: 94°C por 30 segundos Anelamento: 50°C por 30 segundos Extensão: 72°C por 1 minuto Extensão final: 72°C por 10 minutos	Primer: Niels van Steenkiste et al., 2014 Programa de PCR: Moszczynska et al., 2009
Dice11R: 5'- TAA TAC GAC TCA CTA TAG CWG WAC HAA ATT THC GAT C - 3'		

8.5. Análise histopatológica

A análise histopatológica foi realizada no Laboratório de Histopatologia do Setor de Patologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, para avaliar as alterações causadas pelos helmintos. Para a análise, foram coletados fragmentos dos órgãos de 2cm por 2cm, durante as necropsias dos roedores e acondicionados, rapidamente, em frascos de boca larga, devidamente identificados, contendo solução de formol tamponado, a 10%, e conservados em temperatura ambiente, por 48 horas.

Após esse período, as amostras foram clivadas e processadas rotineiramente para histopatologia, sendo desidratadas, em séries crescentes de etanol, diafanizadas em xilol, incluídas em parafina, para a obtenção de cortes seriados de 4 μ m de espessura, coradas pela hematoxilina e eosina, e avaliadas em microscopia de luz clara. Imagens histopatológicas, contendo os parasitos, foram realizadas, utilizando o fotomicroscópio (Leica DFC 500) (Avelar et al., 2013).

9. RESULTADOS

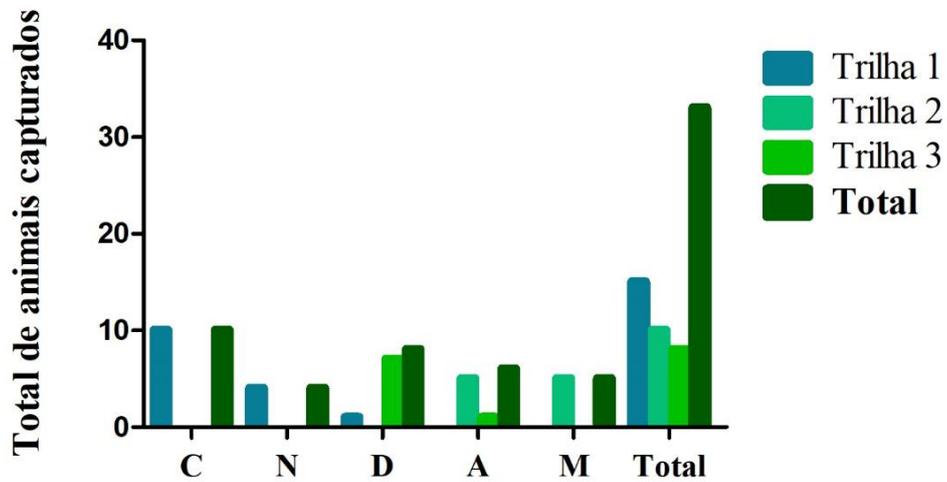
9.1. Captura de pequenos mamíferos

Foram capturados no PMM, duas espécies de roedores, *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae) e *Necomys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), duas espécies de gambás, *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Didelphimorphia: Didelphidae) e *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826 (Didelphimorphia: Didelphidae) e uma espécie de cuíca, *Marmosops incanus* Lund, 1841 (Didelphimorphia: Didelphidae) representando os pequenos mamíferos (Figura 09). Também foram capturadas aves das espécies *Zonotrichia capensis* Muller, 1776, *Embernagra longicauda* Strickland, 1844 e *Emberizoides herbicola* Vieillot, 1817; micos estrela, *Callithrix penicillata* Geoffroy, 1812 e teiús *Tupinambis* sp. (Daudin, 1802) *Salvator Duméril & Bibron*, 1839, que foram soltos no momento da captura. As coletas dos roedores foram mais frequentes na trilha 1, área de transição Cerrado e Mata Atlântica. Quanto a captura de cuícas e gambás, foram mais frequentes nas áreas de mata fechada, sendo que os indivíduos da espécie *D. albiventris* estavam mais presentes na trilha 3, área mais antropizada que faz divisa com a Vila Marçola. A espécie mais abundante capturada foi *C. subflavus* (n = 10). Entretanto o número de indivíduos capturados é bem próximo entre as espécies de marsupiais e roedores (Tabela 02 e gráfico 01).

Tabela 02. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal das Mangabeiras no período de abril de 2018 a março de 2019.

Parque Municipal das Mangabeiras				
Espécie	Trilha 1	Trilha 2	Trilha 3	Total
<i>Cerradomys subflavus</i>	10	0	0	10
<i>Necomys lasiurus</i>	4	0	0	4
<i>Didelphis albiventris</i>	1	0	7	8
<i>Didelphis aurita</i>	0	5	1	6
<i>Marmosops incanus</i>	0	5	0	5
Total	15	10	08	33

Gráfico 01. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal das Mangabeiras no período de abril de 2018 a março de 2019.



Espécies capturadas

Legenda: C – *Cerradomys subflavus*; N – *Necromys lasiurus*; D - *Didelphis albiventris*; A - *Didelphis aurita*; M - *Marmosops incanus*.

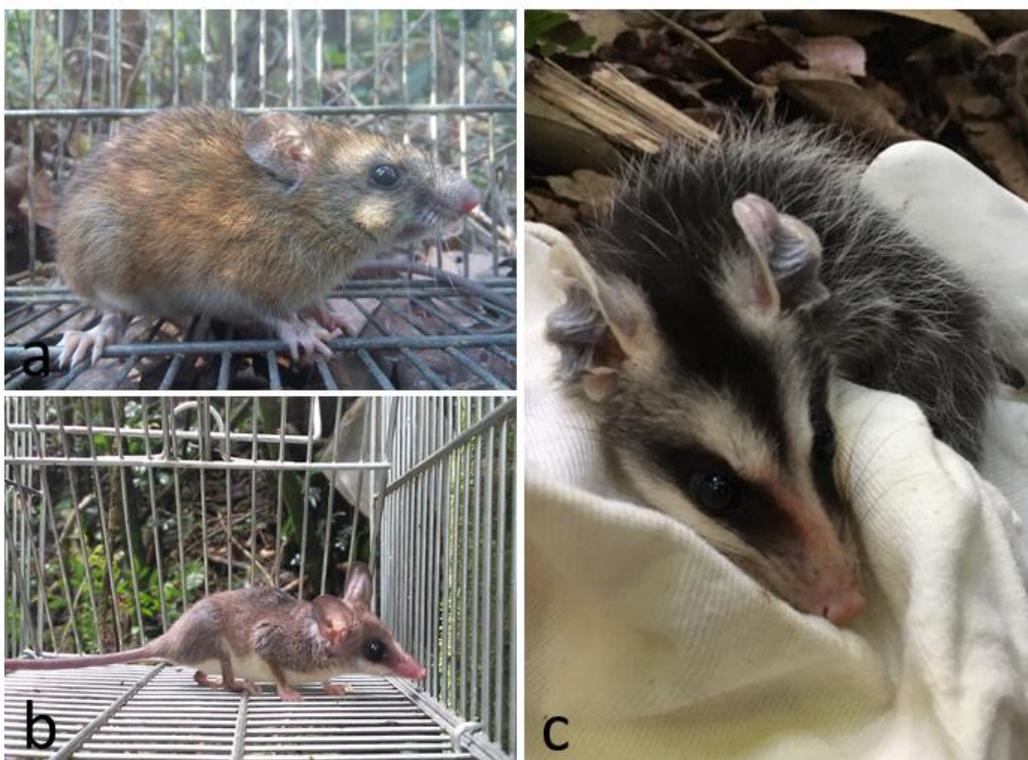


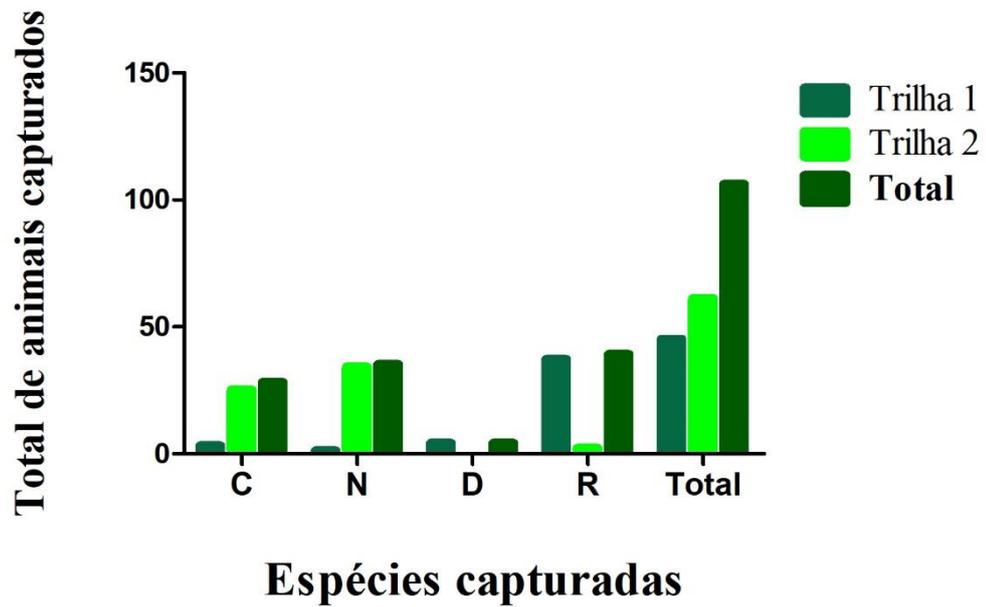
Figura 09. Pequenos mamíferos capturados no Parque Municipal das Mangabeiras: (a) roedor, (b) cuíca (*Marmosops incanus*) e (c) gambá (*Didelphis albiventris*).

Em relação ao PMJC, foram capturadas duas espécies de roedores silvestres, *Cerradomys subflavus* e *Necromys lasiurus*, uma espécie de roedor exótico, *Rattus rattus* e uma espécie de gambá, *Didelphis albiventris*, representando os pequenos mamíferos (Figura 10). Também foram capturadas aves, *Saltator similis* D'Orbigny & Lafresnaye, 1837 e *Turdus leucomelas* Vieillot, 1818. As capturas dos roedores silvestres foram mais frequentes na trilha 2, área com vegetação de Cerrado e pastagem. Já a captura de ratos (n = 37), foi mais frequente na trilha 1 parte mais antropizada e próxima as áreas de lazer do parque. A espécie mais abundante capturada foi *Rattus rattus* (n = 39), sendo mais baixo o número de espécies considerando as capturadas no Parque das Mangabeiras. (Tabela 03 e gráfico 02). As espécies *Cerradomys subflavus*, *Necromys lasiurus* e *Didelphis albiventris* foram capturas nos dois parques.

Tabela 03. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal Jacques Cousteau no período de abril de 2018 a março de 2019.

Parque Municipal Jacques Cousteau			
Espécie	Trilha 1	Trilha2	Total
<i>Cerradomys subflavus</i>	3	25	28
<i>Necromys lasiurus</i>	1	34	35
<i>Didelphis albiventris</i>	4	0	4
<i>Rattus rattus</i>	37	2	39
Total	45	61	106

Gráfico 02. Número de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal Jacques Cousteau no período de abril de 2018 a março de 2019



Legenda: C – *Cerradomys subflavus*; N – *Necromys lasiurus*; D - *Didelphis albiventris*; R - *Rattus rattus*.

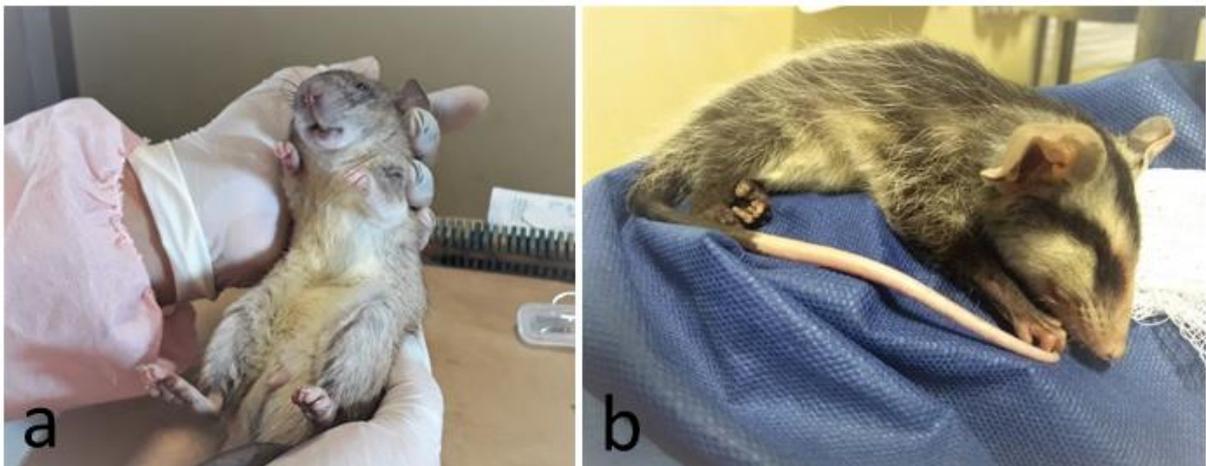


Figura 10. Pequenos mamíferos capturados no Parque Municipal Jacques Cousteau: (a) *Rattus rattus* e (b) gambá (*Didelphis albiventris*).

9.2. Obtenção de helmintos de pequenos mamíferos

Dos 33 animais capturados no PMM, 13 roedores foram eutanasiados, nove *Cerradomys subflavus* e quatro *Necomys lasiurus*; um gambá *Didelphis albiventris* foi a óbito durante os procedimentos de coleta de amostras e duas cuícas *Marmosops incanus* foram eutanasiadas para compor a coleção de mamíferos do Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG. Foram coletados helmintos das espécies *Cerradomys subflavus*, *Necomys lasiurus* e *Didelphis albiventris*, sendo que sete *Cerradomys subflavus* e as duas cuícas estavam negativos. A maioria dos helmintos coletados pertenceu ao filo Nematoda. Nos esfregaços sanguíneos foram observadas microfilárias em apenas um espécime macho, da espécie *Necomys lasiurus*, capturado na trilha 1, sendo que deste animal também foram recuperados exemplares adultos de filarídeos na cavidade abdominal.

Quanto ao PMJC, dos 106 animais capturados, 94 roedores foram eutanasiados, 24 *Cerradomys subflavus*, 34 *Necomys lasiurus* e 36 *Rattus rattus*. Foram coletados helmintos das três espécies identificadas. A maioria dos helmintos coletados desses roedores pertenceu ao filo Nematoda. Foram recuperados exemplares adultos de *Angiostrongylus* sp. das artérias pulmonares de 13 ratos (*Rattus rattus*), nove machos e quatro fêmeas, capturados na trilha 1 do parque. Os resultados referentes a esse gênero serão apresentados e discutidos no capítulo dois. Nos esfregaços sanguíneos, foram observadas microfilárias em oito animais: sete da espécie *Necomys lasiurus* (uma fêmea e seis machos) e dois da espécie *Cerradomys subflavus* (uma fêmea e um macho) todos capturados na trilha 2, sendo que, desses animais também foram recuperados exemplares adultos de filarídeos na cavidade abdominal.

Tabela 04. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019.

NÚMERO DE PEQUENOS MAMÍFEROS PARASITADOS					
PARASITOS RECUPERADOS/ PREVALÊNCIA POR ESPÉCIE (%)	Trilha 1	Trilha 1	Trilha 3	TOTAL	PREVALÊNCIA ENTRE ESPÉCIES PARASITADAS
	<i>Cerradomys subflavus</i>	<i>Necromys lasiurus</i>	<i>Didelphis albiventris</i>		
INTESTINO DELGADO					
<i>Guerrerostrongylus gomesae</i>	1 (11,1%)	0	0	1	11,1%
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1 (11,1%)	1 (25%)	0	2	15,4%
<i>Rhopalias coronatus</i>	0	0	1 (100%)	1	100%
INTESTINO GROSSO					
<i>Aspidodera railieti</i>	0	0	1 (100%)	1	100%
<i>Cruzia tentaculata</i>	0	0	1 (100%)	1	100%
CAVIDADE ABDOMINAL					
<i>Litomosoides sigmodontis</i>	0	1 (25%)	0	1	25%

Tabela 05. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019, que não foi possível realizar a identificação das espécies.

NÚMERO DE PEQUENOS MAMÍFEROS PARASITADOS					
PARASITOS RECUPERADOS/ PREVALÊNCIA POR ESPÉCIE (%)	Trilha 1	Trilha 1	Trilha 3	TOTAL	PREVALÊNCIA ENTRE ESPÉCIES PARASITADAS
	<i>Cerradomys subflavus</i>	<i>Necromys lasiurus</i>	<i>Didelphis albiventris</i>		
INTESTINO DELGADO					
<i>Pterygodermatites (Paucipectines) sp.</i>	2 (22,2%)	3 (75%)	0	5	38,5%
INTESTINO GROSSO					
<i>Trichuris sp.</i>	1 (11,1%)	0	1 (100%)	2	20%
<i>Syphacia sp.</i>	1 (11,1%)	0	0	1	11,1%

Tabela 06. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019.

PARASITOS RECUPERADOS/ PREVALÊNCIA POR ESPÉCIE (%)	NÚMERO DE PEQUENOS MAMÍFEROS PARASITADOS						TOTAL	PREVALÊNCIA ENTRE ESPÉCIES PARASITADAS
	Trilha 1	Trilha 2	Trilha 1	Trilha 2	Trilha 1	Trilha 2		
	<i>R. rattus</i>	<i>R. rattus</i>	<i>N. lasiurus</i>	<i>N. lasiurus</i>	<i>C. subflavus</i>	<i>C. subflavus</i>		
FÍGADO								
Estrobilocercos de <i>Hydatigera</i> <i>taeniaefformis</i>	12 (33,3%)	0	0	1	0	0	13	18,6%
<i>Calodium</i> <i>hepaticum</i> (sin. <i>Capillaria</i> <i>hepatica</i>)	6 (18,75%)	1 (50%)	0	12 (35,3%)	0	6 (25%)	25	26,6%
PULMÃO								
<i>Angiostrongylus</i> sp.	13 (36,1%)	0	0	0	0	0	13	36,1%
L4 de <i>Nippostrongylus</i> <i>brasiliensis</i>	10 (27,8%)	0	0	0	0	0	10	27,8%
ESTÔMAGO								
<i>Physaloptera</i> <i>bispiculata</i>	1 (2,8%)	0	0	13 (38,2%)	0	2 (8,3%)	16	17%
INTESTINO DELGADO								
<i>Nippostrongylus</i> <i>brasiliensis</i>	21 (58,3%)	0	0	18 (52,9%)	1 (50%)	8 (36,4%)	48	51,1%
<i>Hymenolepis</i> <i>diminuta</i>	4 (12,5%)	1 (50%)	0	10 (29,4%)	0	2 (8,3%)	17	18,1%
CAVIDADE ABDOMINAL								
<i>Litomosoides</i> <i>sigmodontis</i>	0	0	0	8 (23,5%)	0	3 (12,5%)	11	19%

Tabela 07. Parasitos recuperados de roedores oriundos do Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais no período de abril de 2018 a março de 2019, que não foi possível realizar a identificação das espécies.

NÚMERO DE PEQUENOS MAMÍFEROS PARASITADOS							
PARASITOS RECUPERADOS/ PREVALÊNCIA POR ESPÉCIE (%)	Trilha 1	Trilha 2	Trilha 2	Trilha 1	Trilha 2	TOTAL	PREVALÊNCIA ENTRE ESPÉCIES PARASITADAS
	<i>Rattus rattus</i>	<i>Rattus rattus</i>	<i>Necomys lasiurus</i>	<i>Cerradomys subflavus</i>	<i>Cerradomys subflavus</i>		
INTESTINO DELGADO							
<i>Pterygodermatites (Paucipectines) sp.</i>	2 (5,6%)	0	27 (79,4%)	0	2 (8,3%)	31	33%
INTESTINO GROSSO							
<i>Trichuris sp.</i>	2 (5,9%)	1 (50%)	11 (32,4%)	1 (50%)	8 (36,4%)	23	24,5%

9.3. Descrições morfológicas, moleculares e patológicas das espécies de helmintos encontradas em roedores do Parque Municipal das Mangabeiras e Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais

Calodium hepaticum (sin. *Capillaria hepatica*) (Bancroft, 1893) Moravec, 1982
(Trichinellina: Capillaridae)

(Figuras: 11 a 14)

Hospedeiro: *Necromys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do mato; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz; *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae), nome comum: rato de telhado.

Sítio de infecção: Fígado

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W)

Espécimes: 25 ovos

Geral: Ovos em forma de barril com opérculos polares, estrias e numerosos miniporos na casca externa. Comprimento 45,72 – 56,73 ($51,26 \pm 3,04$) μm e 27,75 – 30,72 ($28,81 \pm 0,9$) μm .

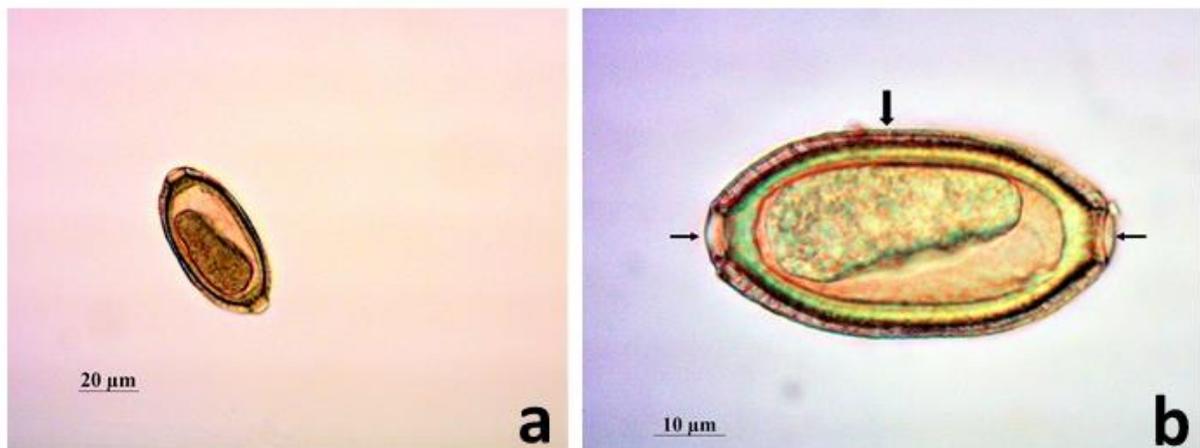


Figura 11. Ovos de *Capillaria hepatica*. (a) Ovo recuperado do fígado de um roedor infectado. (b) Em maior aumento é possível observar os dois opérculos (seta fina) e a casca dupla apresentando miniporos (seta grossa).

Lesões macroscópicas e microscópicas provocadas por *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*):

Macroscopicamente, no fígado dos roedores infectados, foram observadas áreas multifocais a coalescentes, irregulares, brancas ou amarelas, estrias ou pequenos nódulos na superfície externa e se aprofundando no parênquima hepático. As lesões foram variáveis nos animais com relação a distribuição. Alguns tinham apenas algumas áreas irregulares e outros áreas extensas envolvendo mais de 80% do órgão. O fígado estava firme a palpação e amarelado. Da incisão dessas áreas visualizou-se partes de helmintos cilíndricos brancos e delgados.

Na histopatologia, havia múltiplas áreas multifocais a coalescentes de perda do parênquima com substituição por numerosos ovos bioperculados com cápsula espessa e eosinofílica ou fracamente corada medindo em média 51,63 μm de comprimento e 26 μm de largura. Estes ovos eram envoltos por macrófagos epitelioides, neutrófilos e células gigantes multinucleadas. Também foram observadas áreas com parasitos degenerados caracterizados por fragmentos e material eosinofílico envoltos por macrófagos e células gigantes. Um animal possuía 11 secções de parasitas adultos em cortes transversais com cutícula fina, hipoderme, musculatura platimiariana, cavidade celomática, ovário e intestino com epitélio colunar vacuolizado. Possuíam em média 109 μm de diâmetro. Estes achados foram compatíveis com *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*).

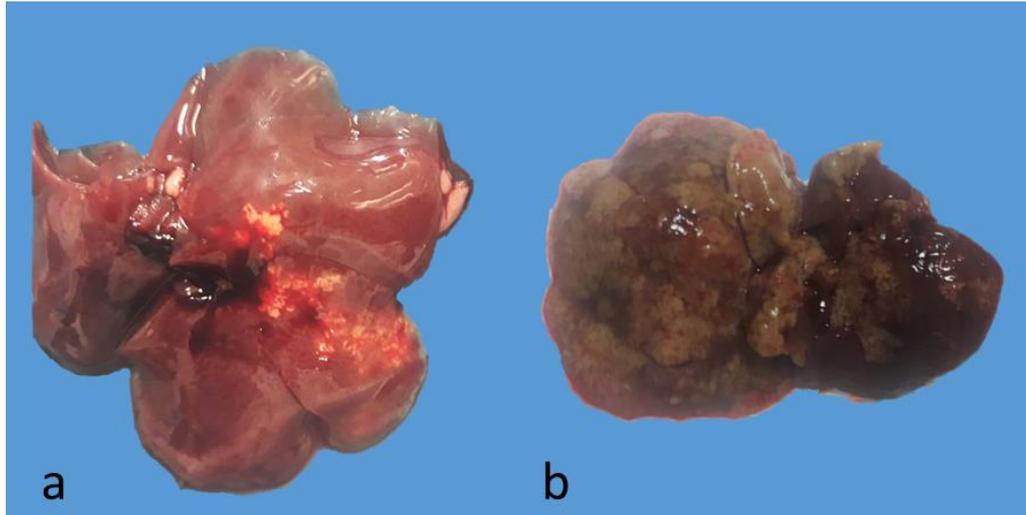


Figura 12. Lesões macroscópicas do fígado de roedores infectados. (a) Algumas áreas circulares milimétricas e áreas lineares amareladas. (b) Áreas coalescentes extensas e amareladas envolvendo quase todo o órgão.

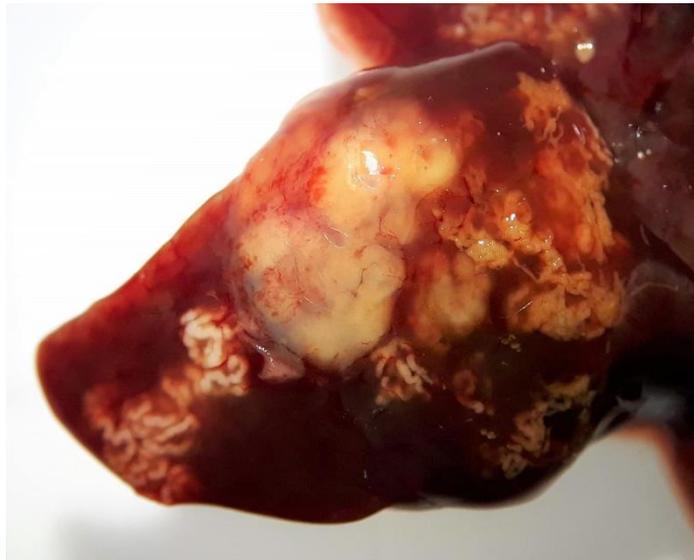


Figura 13. Lesões macroscópicas do fígado de roedores observadas em microscópio estereoscópio apresentando áreas branco-amareladas circulares e lineares levemente proeminentes.

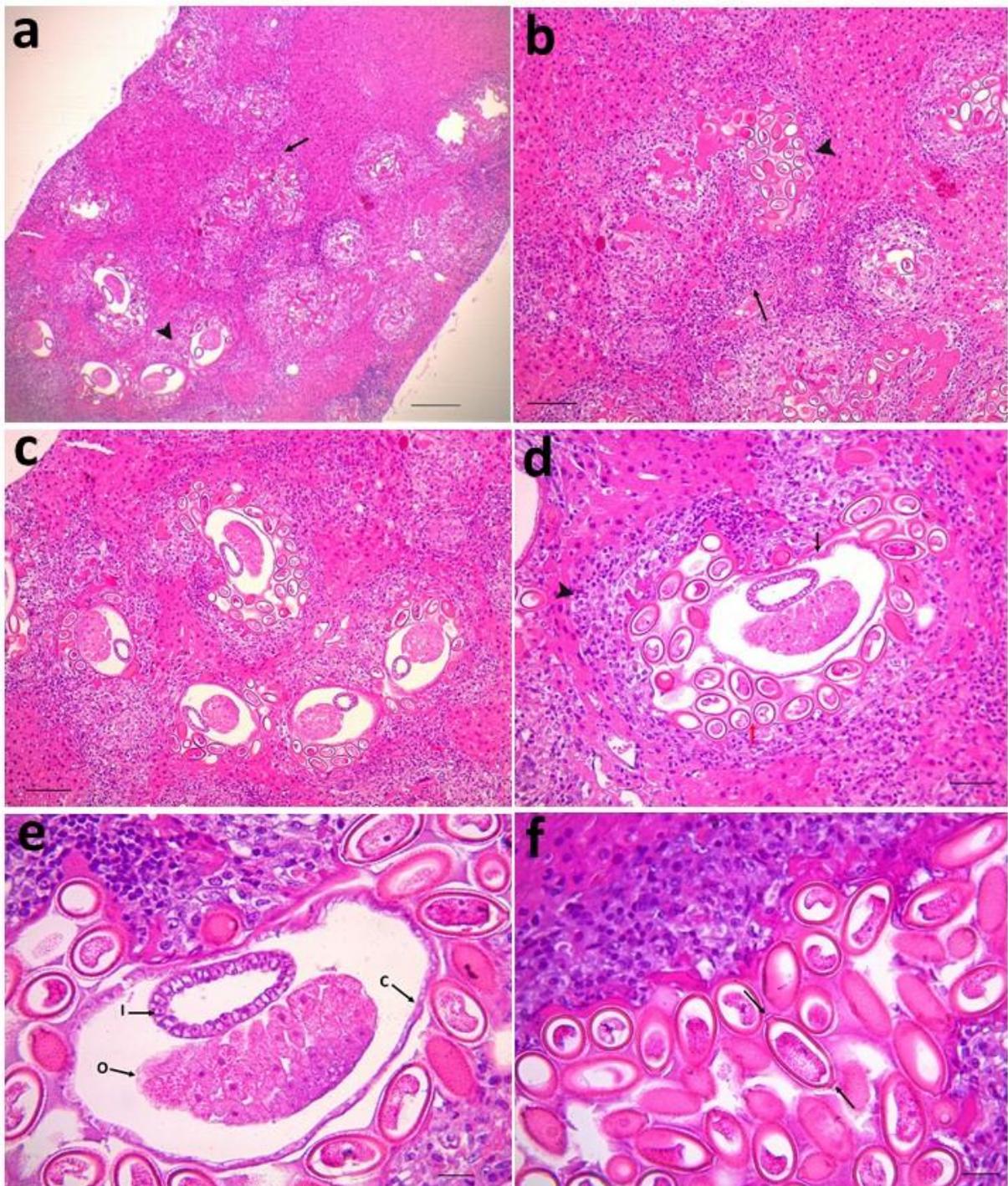


Figura 14. Lesões microscópicas por *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) em fígado de roedores. (a) Múltiplas áreas multifocais a coalescentes de perda do parênquima com substituição por ovos (seta) e helmintos adultos (ponta de seta) envolvidos por células inflamatórias (200 μ m). (b) Secções de conjuntos de ovos (ponta de seta) envolvidos por infiltrado inflamatório (seta) (100 μ m). (c) Secções de parasitos adultos em cortes transversais distribuídos no parênquima hepático (100 μ m). (d) Corte transversal de uma fêmea adulta (seta) envolta por infiltrado inflamatório (ponta de seta) e ovos (seta vermelha) (50 μ m) (e) Em maior aumento, secção de uma fêmea adulta evidenciando cutícula fina (C), ovário (O) e intestino com epitélio colunar vacuolizado (I) (20 μ m). (f) Em maior aumento ovos com dois opérculos (setas) com cápsula espessa e eosinofílica ou fracamente corada (20 μ m). Hematoxilina e eosina.

Comentários:

Calodium hepaticum (sin. *Capillaria hepatica*) (Bancroft, 1893) Moravec, 1982 é um nematódeo da subordem Trichinellina e da família Capillaridae. Em 1982, Moravec classificou essa espécie no gênero *Calodium*, entretanto o nome *Calodium hepaticum* é menos utilizado e a maioria dos autores mantiveram o nome *Capillaria hepatica*. Outros sinônimos são *Trichocephalus hepaticus* Bancroft, 1893 e *Hepaticola hepatica* Hall, 1916 (Fuehrer et al., 2011; Fuehrer, 2014). A taxonomia da família Capillaridae é controversa e pendente. Recentemente, estudos filogenéticos moleculares revelaram que a família Capillaridae pode ser claramente separada da família Trichuridae (Guardone et al., 2013). Sendo assim, o gênero *Capillaria* consiste em um grupo complexo de parasitos de carnívoros e roedores, sendo três espécies de importância zoonótica, *Capillaria philippinensis* (sin *Paracapillaria philippinensis*), *Capillaria aerophila* (sin *Eucoleus aerophila*.) e *C. hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*).

Os principais hospedeiros desse parasito são roedores da superfamília Muroidea (Schmidt, 2001). Entretanto, há casos documentados em que essa espécie parasita o fígado de mais de 180 espécies de mamíferos em mais de 60 países na Europa; América do Norte, Central e do Sul; Ásia; África e Oceania (Fuehrer, 2014; Sazmand et al., 2021). Em relação aos roedores, mais de 90 espécies de pelo menos 44 gêneros da superfamília Muroidea (Murinae, Arvicolinae, Neotominae, Cricetinae, Sigmodontinae, Gerbilinae e Cricetomyinae) são conhecidos como hospedeiros desse parasito, incluindo os roedores sinantrópicos *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus* (Reperant & Deplazes, 2005; Fuehrer, 2014; Sazmand et al., 2021), sendo *R. norvegicus* a espécie com maior prevalência em todo o mundo. Na Europa, América do Norte, América do Sul e Ásia, vários estudos relataram prevalências acima de 50% (Fuehrer, 2014).

O ciclo de vida de *C. hepaticum* é direto e com alta afinidade pelo fígado. Após a ingestão de ovos embrionados, as larvas eclodem na região do ceco do intestino e chegam ao fígado pelo sistema da veia porta. Os adultos se desenvolvem e as fêmeas colocam os ovos no parênquima hepático após o acasalamento. A expectativa de vida dos helmintos adultos é curta. Os ovos se desenvolvem no fígado do hospedeiro, mas não são liberados nas fezes, sendo liberados no meio ambiente apenas com a morte e decomposição do hospedeiro, ou pela eliminação nas fezes de carnívoros ou onívoros que predam os hospedeiros infectados, determinando que os ovos não embrionados transitem de modo inócuo pelo tubo digestivo do

predador. Dependendo das condições ambientais de umidade e temperatura os ovos embrionam em cinco a oito semanas. Estudos em laboratório revelaram que os ovos embrionados são viáveis por 25 meses (Juncker-Voss et al., 2000). O ciclo de vida continua quando os ovos embrionados são ingeridos por um hospedeiro mamífero (Fuehrer et al., 2011; Soares et al., 2011; Fuehrer, 2014; Quilla & Paller, 2020).

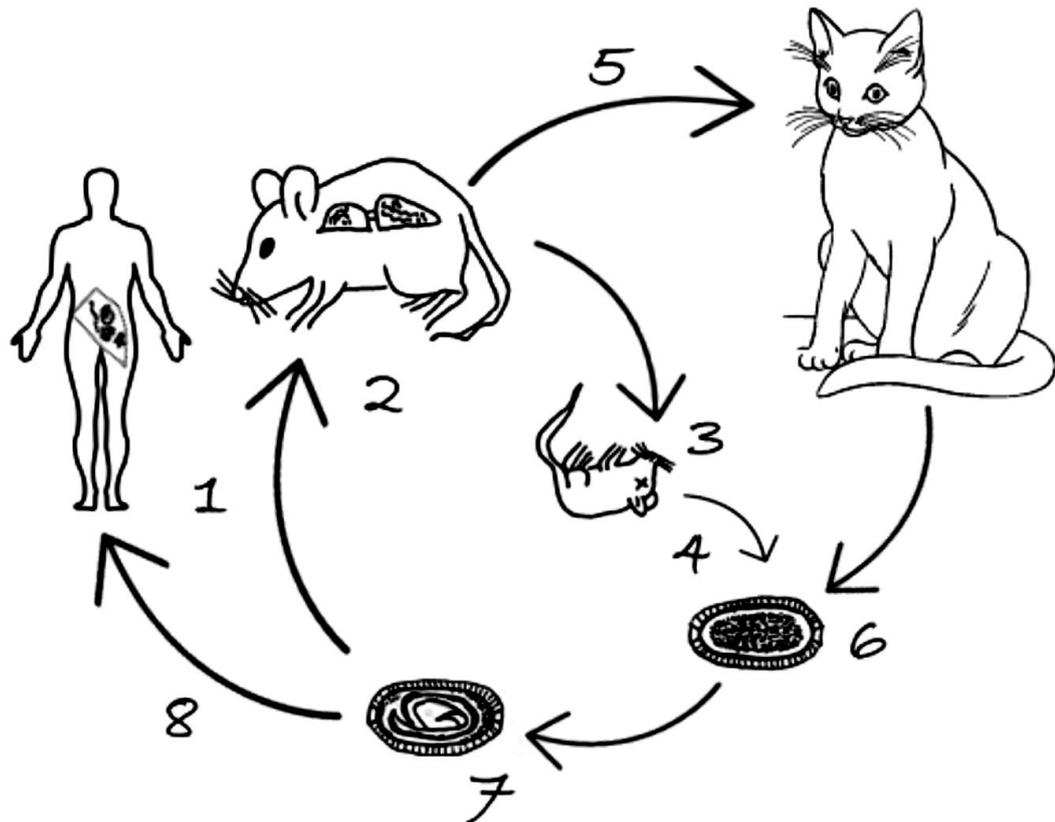


Figura 15. Ciclo biológico de *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) (Freitas, 1982 modificado). 1. Ingestão de ovos infectantes pelo hospedeiro, geralmente um roedor. 2. Desenvolvimento de adultos no fígado e liberação de ovos pelas fêmeas que não são excretados pelas fezes e permanecem no parênquima hepático. 3. Morte do hospedeiro. 4. Decomposição do hospedeiro e liberação de ovos não infectantes no ambiente. 5. Predação do hospedeiro por um carnívoro ou onívoro. 6. Eliminação de ovos não infectantes através das fezes do predador. 7. Desenvolvimento do ovo infectante no ambiente. 8. Ingestão acidental de ovos pelo ser humano e desenvolvimento de adultos no fígado.

As lesões observadas no fígado dos mamíferos parasitados demonstram que tanto os helmintos adultos quanto seus ovos causam inflamação crônica focal no fígado (Quilla & Paller, 2020; Sazmand et al., 2021). As fêmeas de *C. hepaticum*, após a reprodução, podem produzir milhões de ovos no parênquima hepático. Esses ovos são embrionados e se desenvolvem no estágio de oito células, apresentando forma de limão, com cascas duplas estriadas e opérculos em cada extremidade (Fuehrer, 2014; Hong et al., 2016; Dubey et al., 2018). Conseqüentemente, os adultos e ovos produzem inflamação focal crônica, acompanhada da presença de células inflamatórias como eosinófilos, macrófagos e células gigantes multinucleadas. Esse processo inflamatório pode persistir até a formação de calcificação ou encapsulamento, podendo levar à fibrose septal. Especula-se que o desenvolvimento de fibrose no fígado é promovido pela liberação lenta e contínua de produtos desintegrados de lesões parasitárias encapsuladas, que por sua vez ativam as células de Kupffer, levando à síntese subsequente de tecido conjuntivo fibroso excessivo (Li et al., 2010; Dubey et al., 2018). Essa fibrose pode progredir para cirrose em um tempo relativamente curto. Sendo assim, devido a tais características, ratos com capilaríase hepática foram escolhidos como modelos experimentais para testar farmacos com propriedades antifibróticas, como pentoxifilina, cloreto de gadolínio e vitamina A (De Souza et al., 2000).

Os primeiros relatos da infecção em humanos são antigos, sendo relatado em 1924 um caso de infecção em um soldado britânico na Índia durante a Segunda Guerra Mundial, (Cochrane et al., 1957; Mowlavi et al., 2014) e até 2019, quase 200 casos humanos foram relatados em todo o mundo (Kazemi et al., 2015; Wang et al., 2019). Sawamura *et al.* em 1999, relatou três casos de *C. hepaticum* em crianças com idade entre 19 e 36 meses no Brasil, sendo que uma característica tríade de apresentação foi notada, que incluiu, febre persistente, hepatomegalia e eosinofilia. A doença progrediu aumentando os sintomas e as crianças passaram a apresentar dor, colúria, icterícia, perda de peso, febre e suores noturnos, que só resolveram após a administração de tratamentos antiparasitários. Geralmente, os pacientes acometidos, apresentam sintomas de febre prolongada e dor abdominal, com hepatomegalia e eosinofilia (Cabada et al., 2014), juntamente com linfadenopatia abdominal. Além disso, a hipergamaglobulinemia e os níveis elevados de desidrogenase láctica, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase também são observados na maioria dos pacientes (Fuehrer et al., 2011). Manifestações clínicas de casos leves são susceptíveis de produzir sinais e sintomas semelhantes a outras patologias. Portanto, a detecção de casos graves é mais fácil (Da Rocha et al., 2015). Outra forma da doença relatada em humanos, são as infecções espúrias

associadas ao consumo de animais de caça e solo contaminado, onde os ovos não embrionados e não infectantes são ingeridos, passam pelo sistema digestivo e pode ser encontrado no diagnóstico de fezes (Fuehrer et al., 2011).

Condições higiênicas insalubres e precárias e a presença de roedores e animais domésticos, aumentam o risco de infecções por *C. hepaticum* em humanos. O contato frequente com animais e populações de ratos foram relatados por vários autores (Silverman et al., 1973; Choe et al., 1993; Camargo et al., 2010). Além disso, a ingestão de animais selvagens e o consumo de fígado cru principalmente por grupos indígenas no Brasil, pode causar infecções espúrias em humanos (Soares et al., 2011; Rocha et al., 2015). Diante do exposto, a detecção do ciclo de *C. hepaticum* em áreas com populações de roedores e animais domésticos no ambiente urbano é necessário para adoção de controle e manejo dessas populações, reduzindo assim o risco de infecção para a população humana em contato com esses animais.

***Litomosoides sigmodontis* Chandler, 1931 (Spirurida: Onchocercidae)**

(Figuras: 16 a 19)

Hospedeiro: *Necromys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do mato; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz.

Sítio de infecção: Cavidade abdominal (peritoneal)

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W) e Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)

Espécimes: 7 machos, 4 fêmeas e 14 microfilárias

Geral: Nematódeo delgado, cilíndrico e afilando na extremidade anterior, terminando em uma cauda cônica, alongada e delgada posteriormente. Cutícula lisa com estrias transversais finas. Abertura oral simples. Esôfago muscular. Fêmeas duas vezes maiores que os machos.

Macho: Comprimento 18 – 23,11 (20,20 ± 1,76) mm. Largura máxima 0,13 – 0,15 (0,14 ± 0,007) mm. Esôfago com 0,46 – 0,61 (0,52 ± 0,08) mm de comprimento. Cavidade bucal 17,61 – 21,45 (19,54 ± 1,07) µm. Cauda arredonda na extremidade. Abertura da cloaca a 0,17 – 0,23 (0,20 ± 0,02) mm da ponta da cauda. Quatro pares de papilas pós-cloacais bem desenvolvidas. Primeiro par de papilas próximo a cloaca. Espículos desiguais. Espículo menor em forma de calha em mais da metade de seu comprimento. Porção terminal membranosa e delicada. Comprimento total 0,08 – 0,11 (0,10 ± 0,01). Espículo longo com a parte proximal em forma de calha e quitinizada seguida de uma quebra aparente, que continua em uma parte parcialmente quitinosa e parcialmente membranosa, terminando em um filamento delicado. Comprimento total 0,28 – 0,33 (0,31 ± 0,02).

Fêmea: Comprimento 57,9 – 68,97 (61,96 ± 4,89) mm. Largura máxima 0,22 – 0,30 (0,27 ± 0,04) mm. Esôfago com 0,61 – 0,67 (0,64 ± 0,03) mm de comprimento. Cavidade bucal 17,79 – 22,14 (20,25 ± 2,09) µm. Vulva situada a 1,37 – 1,93 (1,54 ± 0,26) mm da extremidade anterior. Abertura da vulva muscular em forma de bulbo. Ânus a 0,34 – 0,58 (0,48 ± 0,11) mm da ponta da cauda. Cauda delgada e arredondada na ponta.

Microfilárias: Comprimento 67,41 – 85,65 (75,01 ± 5,19) µm. Largura máxima 2,29 – 5,05 (3,27 ± 0,85) µm. Presença de um corpúsculo refrativo, localizado sob a bainha e no comprimento médio, visível nas microfilárias de sangue em lâminas coradas com panótico rápido (corpúsculo basofílico).

Identificação molecular:

Foram obtidos fragmentos de em média 437 pares de bases (pb) como produto da amplificação usando o iniciador para o gene COI. Ao realizar a busca de similaridades no programa BLAST-N, o sequenciamento do espécime apresentou grande similaridade com sequências já depositadas de *Litomosoides sigmodontis* para o gene COI (Tabela 04).

Tabela 08. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para quatro sequências consenso de em média 437 pares de bases para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de *Litomosoides sigmodontis* encontradas no presente trabalho.

Amostra	Similaridade	Região	Nº de acesso	E- value	Score máximo	Identidade
JC75, JC89, JC93, JC97	<i>Litomosoides sigmodontis</i>	Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	AP017689.1	1e-153	555	387/430 (90%)



Figura 16. Exemplar adulto de *Litomosoides sigmodontis* solto na cavidade abdominal de um roedor.

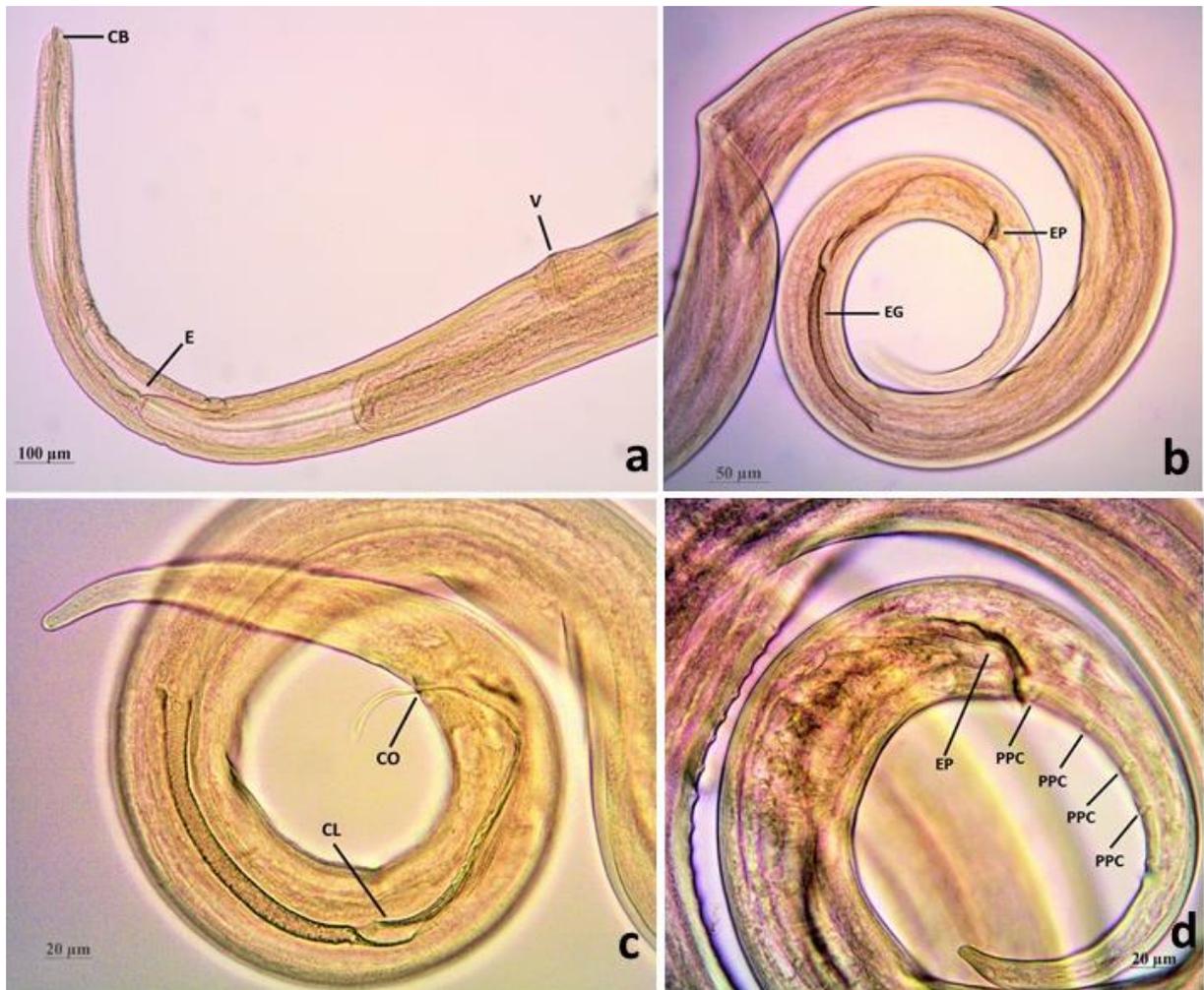


Figura 17. Espécimes adultos de *Litomosoides sigmodontis*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando a capsula bucal (CB), o esôfago (E) e a abertura da vulva (V). (b) Extremidade posterior do macho evidenciando os dois espículos, o grande (EG) e o pequeno (EP). (c) Vista lateral da extremidade posterior do macho evidenciando a calha do espículo maior (CL) e a abertura da cloaca. (d) Vista ventral da extremidade posterior do macho evidenciando o espículo pequeno e quatro papilas pós-cloacais (PPC).

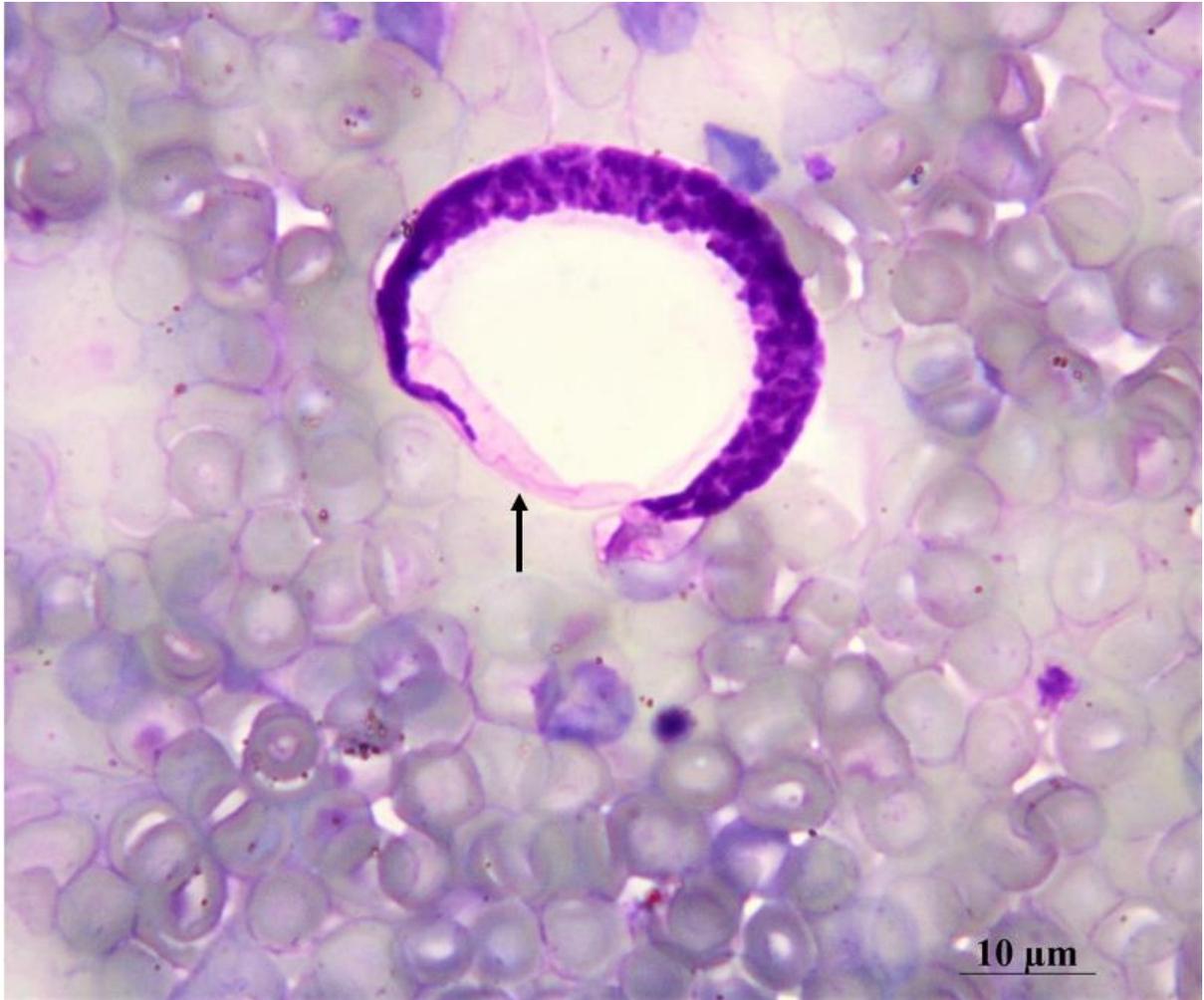


Figura 18. Microfilária de *Litomosoides sigmodontis* em esfregaço sanguíneo de um roedor evidenciando a bainha (seta). Panótico rápido.

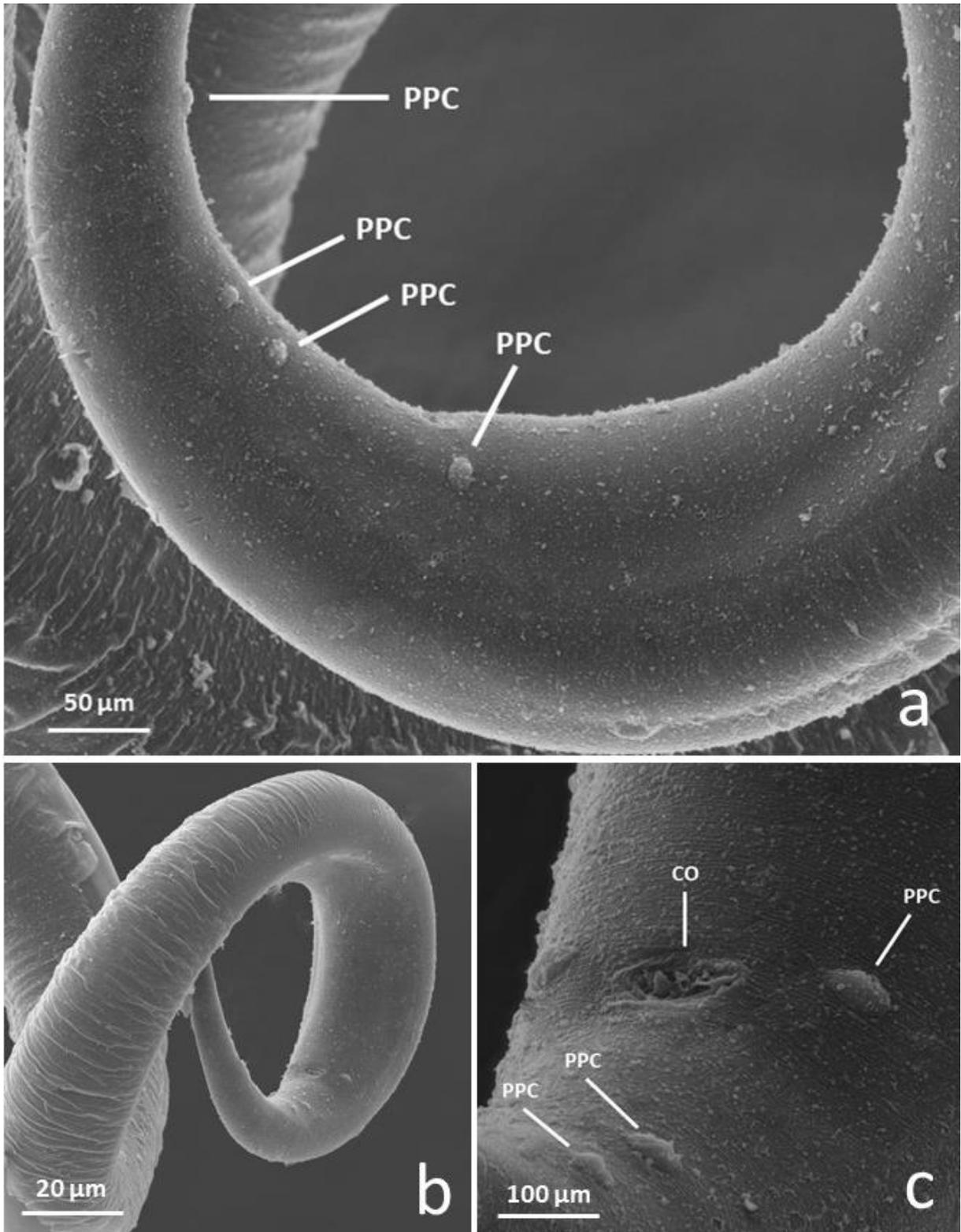


Figura 19. Microscopia eletrônica de varredura de um espécime adulto macho de *Litomosoides sigmodontis*. (a) Extremidade posterior evidenciando quatro papilas pós-cloacais (PPC). (b) Vista dorsal da extremidade posterior evidenciando a cauda enrolada. (c) Vista ventral da extremidade posterior evidenciando a cloaca (CO), uma papila adcloacal e duas papilas pós-cloacais (PPC).

Comentários:

Espécies do gênero *Litomosoides* Chandler, 1931 pertencem a família Onchocercidae e são nematódeos filarioides que parasitam as cavidades torácica e abdominal de grupos filogeneticamente distintos de pequenos mamíferos voadores e terrestres (Brant et al., 2000; Risch et al., 2020). Os hospedeiros descritos estão distribuídos nas ordens Chiroptera, Rodentia ou Marsupialia, com quatro famílias de morcegos parasitadas com cerca de 17 espécies de *Litomosoides* sp., cinco famílias de roedores com aproximadamente 17 espécies e uma família de marsupiais com duas espécies, sendo que uma espécie encontrada em um grupo não ocorre nos outros (Brant et al., 2000; Notarnicola et al., 2002). Esses nematódeos têm uma ampla distribuição nas regiões Neotropicais e Neártica Meridional, com a maioria das espécies ocorrendo em mamíferos da América do Sul, sendo bem estudadas tanto do ponto de vista experimental, quanto morfológico. Com isso, a distribuição desses nematódeos por meio de uma ampla gama de mamíferos taxonomicamente distantes e em diferentes regiões, pode fornecer uma oportunidade para examinar as associações parasito-hospedeiro através de uma perspectiva filogenética.

A espécie *Litomosoides sigmodontis* foi descrita em 1931 parasitando o roedor *Sigmodon hispidus* (Muridae: Sigmodontinae) capturado em Houston no Texas, sendo designado como espécie-tipo do novo gênero *Litomosoides* (Chandler, 1931; Bain et al., 1989). Três anos depois, *L. sigmodontis* foi erroneamente sinonimizada com *Litomosoides carinii* Travassos, 1919, devido a semelhanças em sua morfologia (Vaz, 1934). Porém, estudos posteriores estabeleceram que *L. sigmodontis* e *L. carinii* são de fato duas espécies separadas e os nomes foram corrigidos (Bain et al., 1989; Martin, 2014).

A transmissão de *L. sigmodontis* para o hospedeiro definitivo ocorre através do ácaro hematófago *Ornithonyssus bacoti*, que ingere as microfilárias, presentes na corrente sanguínea de animais infectados, e as transmite para outros animais durante as próximas alimentações. As microfilárias migram através da pele e do sistema linfático, entram na circulação sanguínea pulmonar e alcançam a cavidade pleural na primeira semana pós-infecção (pi) (Karadjian et al., 2017; Kilarski et al., 2019), onde mudam para seu quarto estágio larval (L4) entre 8 e 12 dias pi, antes de passar para o estágio adulto nos dias 25 a 30 pi. Em roedores suscetíveis, os parasitos machos e fêmeas se desenvolvem totalmente, e as fêmeas começam a liberar microfilárias no estágio de transmissão dos dias 50 a 55 pi em diante, que migram para o sangue e circulam na corrente sanguínea. Uma infecção totalmente desenvolvida (patente) é definida por ter níveis

detectáveis de microfilárias na corrente sanguínea, ponto em que o hospedeiro pode transmitir a infecção (Hoffmann et al., 2000).

Na infecção de *Sigmodon hispidus*, quando as cargas parasitárias atingem aproximadamente 400 helmintos adultos, a cavidade abdominal (peritoneal) do roedor também fica parasitada. No entanto, adultos às vezes podem ser encontrados no peritônio de ratos contendo menos de 400 espécimes adultos. Já na infecção de *Meriones unguiculatus*, os adultos de *L. sigmodontis* estão localizados preferencialmente nas cavidades pleurais, sendo que também podem ser encontrados na cavidade peritoneal e no saco pericárdico. Esses animais podem apresentar hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, hipertrofia pleural, nódulos papilares pleurais, edema pleural, dilatação linfática, espessamento alveolar, alterações histológicas nos bronquíolos, consistentes com alterações asmáticas, e miocardite dispersa. A gravidade da alteração patológica é muitas vezes proporcional à carga parasitária (Morris et al., 2013).

O interesse no gênero aumentou porque a espécie *Litomosoides sigmodontis*, ao contrário de outros nematódeos filarioides, completa seu desenvolvimento em animais de laboratório (Petit et al., 1992). Portanto, é um modelo útil para estudar filarioses humanas, por apresentar características parasitológicas e imunológicas que mimetizam essas infecções (Martin et al., 2000; Simonsen et al., 2011), que são transmitidas por vetores e são endêmicas em todo o mundo, nas regiões tropicais e subtropicais (Risch et al., 2020). Além do hospedeiro natural *S. hispidus*, os hospedeiros experimentais incluem *Meriones unguiculatus* (Schneider et al., 1968), ratos albinos (*Rattus norvegicus*) (Ramakrishnan et al., 1961) *Mastomys nataliensis* (Pringle & King, 1968) e camundongos *Mus musculus* (Hawking et al., 1947; Patra & Basu 1970; Petit et al., 1992). Os ratos, em particular, apresentam uma variedade de respostas à infecção por *L. sigmodontis* e podem exibir um fenótipo mais resistente ou suscetível, dependendo do modelo experimental (Petit et al., 1992). Já o camundongo BALB / c espelha a infecção em humanos com filariose linfática, onde apenas uma proporção dos pacientes desenvolve microfilaremia. Esta é uma das razões pelas quais este modelo de camundongo se tornou amplamente usado para pesquisas sobre filarias (Risch et al., 2020). Portanto, o uso de diferentes modelos experimentais de roedores permite a investigação sobre a biologia dos parasitos, respostas imunes dirigidas por filarioses, morbidade associada e estratégias de tratamento de espécies que atingem a população humana como *Onchocerca volvulus*, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia* spp., *Loa loa* e *Mansonella* spp., causando oncocercose (cegueira dos rios), filariose linfática (linfedema e hidrocele), loíase (verme ocular) e mansonelíase, respectivamente.

***Physaloptera bispiculata* Vaz & Pereira, 1935 (Spirurida: Physalopteridae)**
(Figuras: 21 a 22)

Hospedeiro: *Necromys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do mato; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz; *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae); nome comum: rato de telhado.

Sítio de infecção: Estômago

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W)

Espécimes: 4 machos, 1 fêmea e 17 ovos

Geral: Corpo robusto, arredondado, alongado com finas estriações cuticulares que afinam gradualmente na extremidade anterior. Fêmeas mais robustas que os machos. Cutícula dilatada na região cervical, que se estende desde as margens posteriores dos lábios formando um colar em volta deles. Abertura bucal com dois grandes lábios laterais achatados na face interna e sem divisão. Cada lábio com um dente tripartite semicircular na margem interna compostos de três pontas desiguais com dois arredondados e um pontiagudo. Quatro poros na base dos dentes tripartite. Cada lábio com duas papilas simetricamente situadas em uma cavidade e um anfídeo central. Ornamentando cada um destes lábios, três áreas porosas cuticulares diferindo da cutícula adjacente. Dentes menores ao longo da borda interna de cada lábio. Duas papilas laterocervicais assimétricas localizadas na junção da região da cutícula dilatada com o resto do corpo. Poro excretor localizado ventralmente a uma curta distância das papilas cervicais. Anel nervoso circular na porção final do esôfago muscular.

Macho: Comprimento 17,69 – 20,28 ($19,15 \pm 1,21$) mm. Largura máxima 0,74 – 0,9 ($0,82 \pm 0,11$) mm. Esôfago muscular com 0,45 – 0,5 ($0,47 \pm 0,02$) mm de comprimento. Esôfago total 2,1 – 4,48 ($3,56 \pm 1,05$) mm de comprimento. Papilas cervicais 0,59 – 0,85 ($0,69 \pm 0,12$) da extremidade anterior. Anel nervoso e poro excretor 0,31 – 0,4 ($0,35 \pm 0,04$) mm 0,72 – 1,49 ($1,0 \pm 0,36$) mm da extremidade anterior, respectivamente. Extremidade posterior dobrada ventralmente. Cutícula frouxa na região anterior à cloaca, com 2 pregas ventrolaterais longitudinais. Entre essas estruturas e a cloaca existe uma prega cuticular transversal profunda. 21 papilas caudais em forma de botão. Três situadas em uma fileira transversal anterior à abertura cloacal. A do meio é maior e mais próximo da cloaca. Cinco pares de papilas pósterio-

ventrais localizadas da seguinte forma: 2 pares imediatamente atrás da cloaca, 3 pares equidistantes entre si, medindo a linha média entre a cloaca e a ponta da cauda. Quatro papilas pedunculares externolaterais em cada lado da cloaca. Espículos desiguais com 0,44 mm de comprimento o maior e 0,36 mm de comprimento o menor.

Fêmea: Comprimento 24,97 mm. Largura máxima 1,28 mm. Esôfago muscular com 0,51 mm de comprimento. Esôfago total 4,81 mm. Papilas cervicais 1,28 mm da extremidade anterior. Anel nervoso e poro excretor 0,3 mm e 1,1 mm da extremidade anterior, respectivamente. Vulva a 10,28 da extremidade anterior, posterior ao esôfago. Extremidade posterior cônica e romba. O ânus está localizado próximo à extremidade posterior. Cauda com 0,56 mm de comprimento. Ovos elípticos com 40,99 – 46,03 ($43,2 \pm 1,51$) μm de comprimento e 24,45 – 28,18 ($26,09 \pm 2,4$) μm de largura.

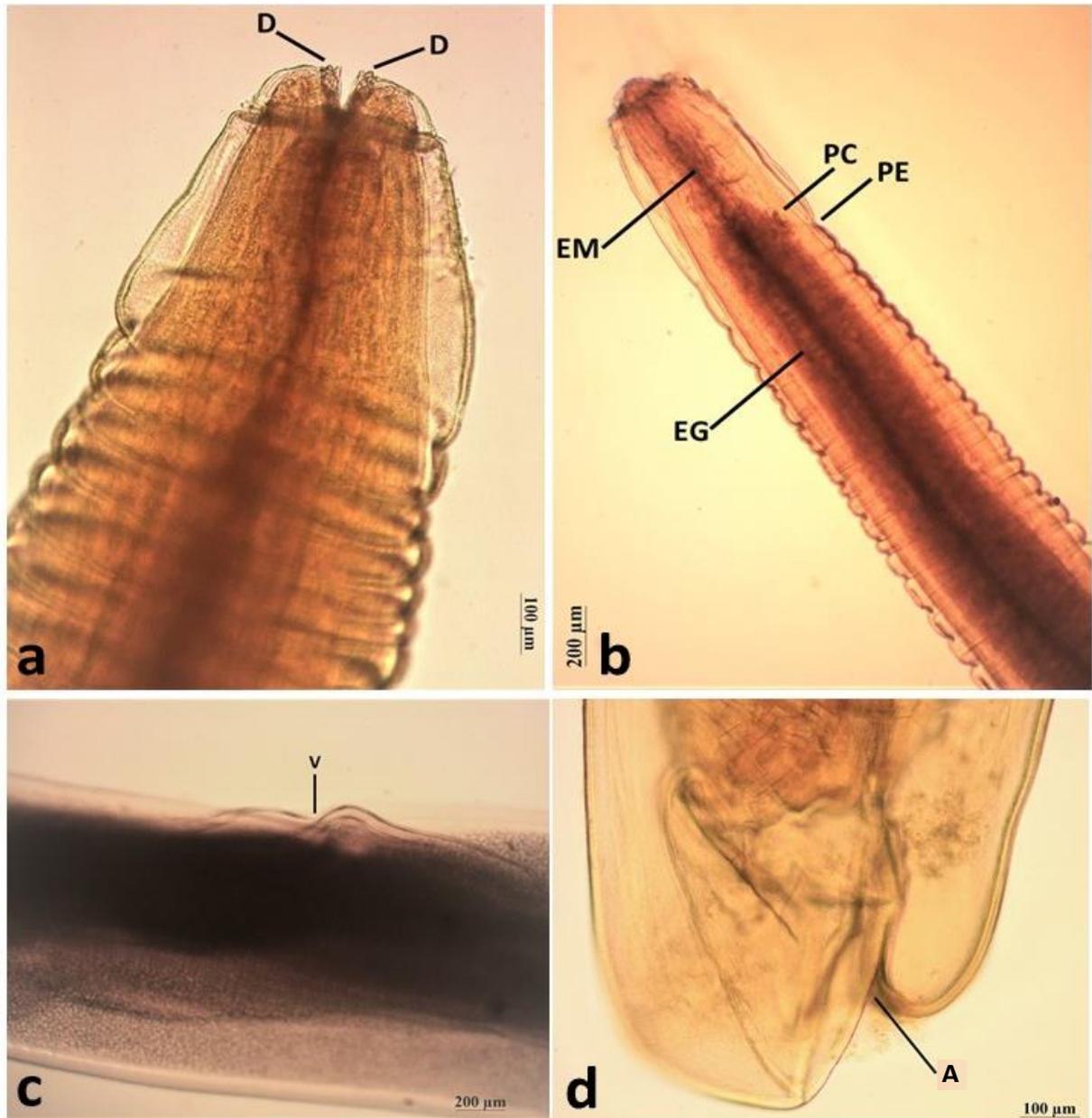


Figura 20. Espécimes adultos de *Physaloptera bispiculata*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando o dente tripartite na margem interna de cada lábio. (b) Extremidade anterior do macho evidenciando o esôfago muscular (EM), o esôfago glandular (EG), a papila cervical (PC) e o poro excretor (PE). (c) Vista lateral da vulva da fêmea (V). (d) Vista lateral da extremidade posterior da fêmea evidenciando o ânus (A).

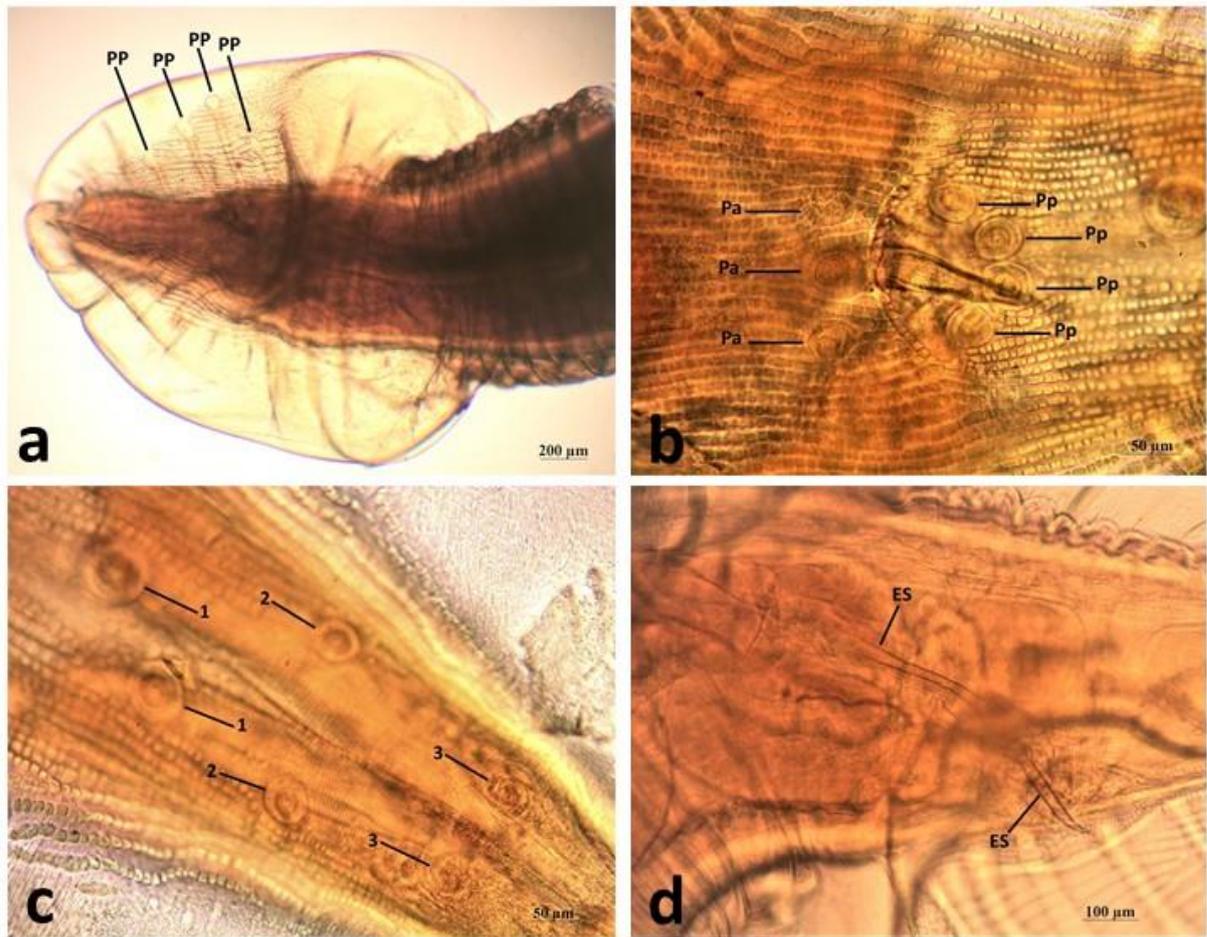


Figura 21. Extremidade posterior de espécimes machos de *Physaloptera bispiculata* em vista ventral. (a) Expansão cuticular evidenciando quatro papilas penducular (PP). (b) Abertura da cloaca evidenciando três papilas anterior a cloaca (Pa) e dois pares imediatamente atrás da cloaca (Pp). (c) Três pares de papila equidistantes entre si, medindo a linha média entre a cloaca e a ponta da cauda. (d) Os dois espículos (ES).

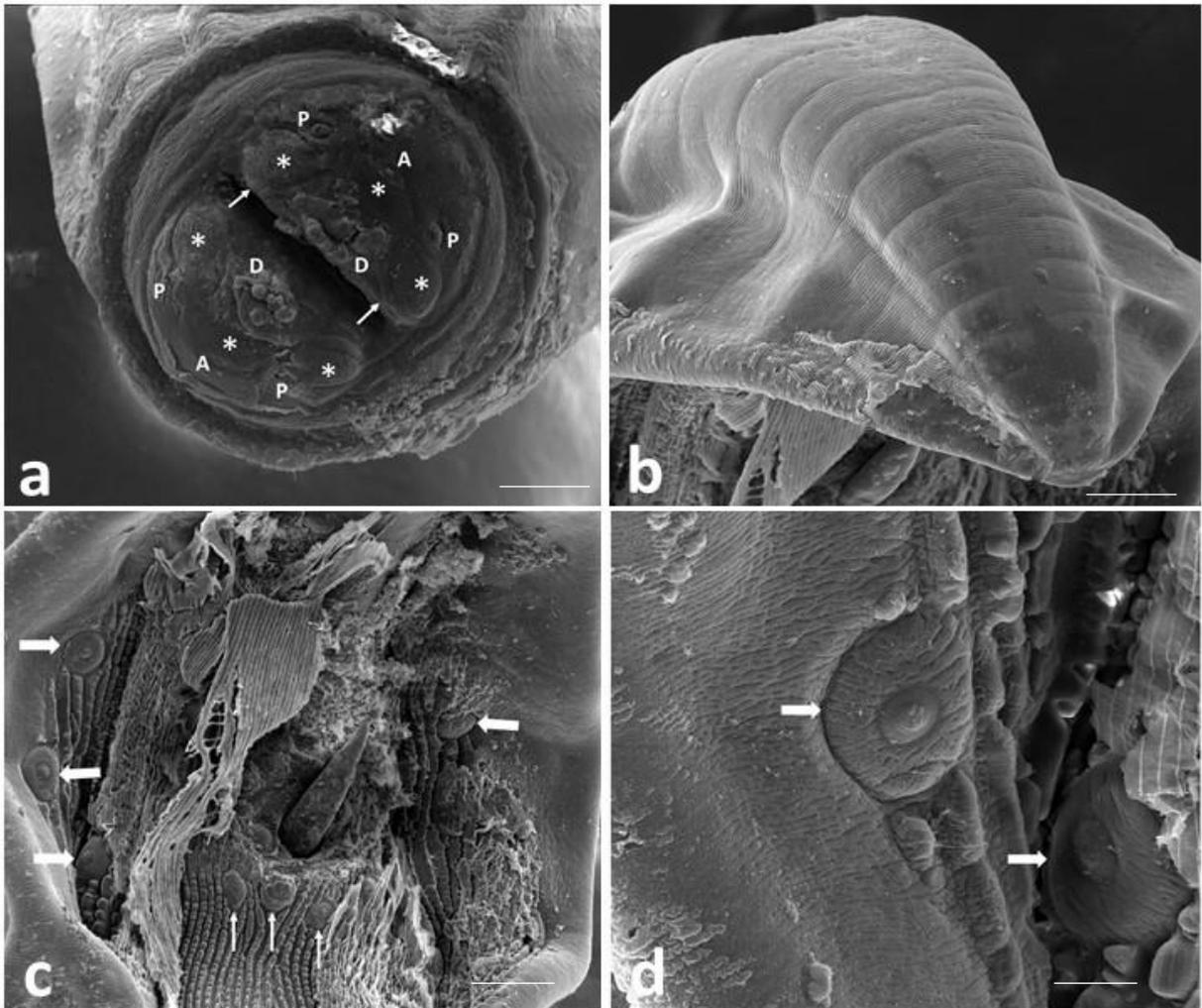


Figura 22. Espécime macho de *Physaloptera bispiculata* visto em microscopia eletrônica de varredura. (a) Extremidade anterior evidenciando os dois lábios com os dentes tripartite semicircular na margem interna compostos de três pontas desiguais (D); quatro papilas simetricamente situadas em uma cavidade (P); dois anfídeos centrais (A); quatro poros na base dos dentes tripartite e mais dois poros anterior aos anfídeos (*) e dentes menores ao longo da borda interna de cada lábio (seta pequena) (300 μ m). (b) Vista dorsal da cauda evidenciando a expansão cuticular (200 μ m). (c) Vista ventral da cauda evidenciando quatro papilas pedunculares (seta grossa) e três papilas anteriores a cloaca (seta fina) (50 μ m). (d) Duas papilas em detalhe (setas) vistas em maior aumento (20 μ m).

Comentários:

Os nematódeos do gênero *Physaloptera* Rudolphi, 1819 pertencem a família Physalopteridae Railliet, 1893, estão globalmente distribuídos e mais de 100 espécies são conhecidas (Pereira et al., 2014; São Luiz et al., 2015). Espécies desse gênero infectam anfíbios, répteis, aves e mamíferos e seu ciclo de vida envolve insetos, incluindo besouros, baratas e grilos, como hospedeiros intermediários (Goldberg & Bursey, 2002; Anderson et al., 2009; Maldonado Jr. et al., 2019).

A espécie *Physaloptera bispiculata* Vaz & Pereira, 1935 foi descrita parasitando o estômago do roedor *Nectomys squamipes* Brants, 1827 em São Paulo, Brasil. Além disso, também foi encontrada em *Sigmodon hispidus* Say & Ord, 1825, *Cynomys ludovicianus* Ord, 1815 e *Ondatra zibethicus* Linnaeus, 1766 por Morgan (1941). Seurat (1917) descreveu *Physaloptera getula* parasitando o estômago de *Mus rattus* do Marrocos, África, sem incluir nenhum desenho, e Seurat (1937) identificou *P. getula* em *Meriones shawi* Durvemoy, 1842 na África. Morgan (1943) afirmou que a descrição original de *P. getula* era confusa e incompleta e que Seurat (1937) não a esclareceu. Discutiu a validade de *P. bispiculata* e observou semelhança entre *P. getula*, propondo que *P. bispiculata* deveria ser sinônimo de *P. getula* (Mafra & Lanfredi, 1998). Yamaguti (1961) listou *P. bispiculata* como uma espécie válida, mas manteve *P. getula* dos mesmos hospedeiros listados por Morgan (1943). Vicente *et al.* (1982) identificou *P. getula* como um parasita de *N. squamipes* da Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. Gomes & Vicente (1984) compararam um espécime coletado em *N. squamipes* em Sumidouro, Rio de Janeiro, com material do tipo *P. bispiculata*. Esses autores concordaram com Morgan (1943) sobre a sinonímia de *P. bispiculata* e identificaram seu material como *P. getula*. Finalmente, as imagens de *P. bispiculata* obtidas por Mafra & Lanfredi (1998) permitiu analisar as estruturas que foram utilizadas para a descrição desta espécie e adicionar uma descrição detalhada de novos caracteres taxonômicos, concluindo que *P. bispiculata* deve ser considerada uma espécie válida.

No ciclo biológico das espécies do gênero *Physaloptera*, os ovos larvados são eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo e ingeridos pelos hospedeiros intermediários. No intestino ocorre a eclosão das larvas de primeiro estágio que encistam e na parede externa do intestino, mudam para larvas de segundo estágio, após 11 a 16 dias da infecção. Após 12 dias, ocorre a muda para larvas de terceiro estágio infectante. Os hospedeiros vertebrados ingerem os hospedeiros intermediários e as larvas liberadas se desenvolvem em adultos com 56 a 85

dias pós infecção (Stunkard, 1953). Os helmintos adultos são hematófagos e se aderem à mucosa gástrica provocando erosões, levando a gastrite catarral ou hemorrágica e anemia. Além disso, podem ser observados nos hospedeiros vertebrados, devido ao parasitismo, infecção secundária, inapetência, vômitos e emagrecimento (Urquhart et al., 1998; Fortes, 2004).

***Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914) Lane, 1923 (Strongylida:
Heligmonellidae)**

(Figuras: 23 a 27)

Hospedeiro: *Necromys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do mato; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz; *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae), nome comum: rato de telhado

Sítio de infecção: Intestino delgado

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W)

Espécimes: 10 machos, 9 fêmeas, 12 larvas de quarto estágio e 18 ovos

Geral: Nematódeo pequeno. Esôfago em forma de cone ou ligeiramente sinuoso. Extremidade cefálica com expansão cuticular. Cutícula com 14 cristas longitudinais atrás da expansão cuticular, estrias transversais evidentes nessas cristas. Boca simples.

Macho: Comprimento 2,7 – 3,9 ($3,2 \pm 0,33$) mm. Largura máxima 0,07 – 0,12 ($0,08 \pm 0,03$) mm. Esôfago 0,23 – 0,49 ($0,38 \pm 0,08$) mm de comprimento. Comprimento e largura da expansão cefálica 0,06 – 0,07 ($0,065 \pm 0,005$) mm e 0,03 – 0,05 ($0,036 \pm 0,007$) mm respectivamente. Poro excretor 0,23 – 0,28 ($0,26 \pm 0,02$) mm da extremidade anterior. Bolsa copuladora com pequeno lobo dorsal e dois grandes lobos laterais assimétricos; lobo direito mais longo que o esquerdo e fortemente encurvado. Lado esquerdo: raios ventroventral, lateroventral, externolateral e mediolateral longos, finos e gradualmente diminuindo; raio posterolateral espesso e curvado com ponta cônica; lado direito: raio ventroventral curto e delgado; raio lateroventral moderadamente longo, fino e estreito; raios externo e mediolaterais grossos e contíguos exceto na porção distal; raio posterolateral curto e delgado; raios externodorsais curtos, delicados e originando-se assimetricamente do tronco comum com o raio dorsal; raio dorsal bifurcado na porção distal e cada dividido em ramo externo menor com ponta simples e ramo interno com ponta bifurcada ou raramente trifurcada. Espículos de cor amarelada, filiformes e sub simétricos. Comprimento 0,5 – 0,6 ($0,5 \pm 0,16$) mm. Gubernáculo 0,034 – 0,049 ($0,038 \pm 0,006$) mm.

Fêmea: Comprimento 3,3 – 4,98 ($4,1 \pm 0,57$) mm. Largura máxima 0,1 – 0,15 ($0,11 \pm 0,02$) mm. Esôfago 0,21 – 0,55 ($0,38 \pm 0,1$) mm de comprimento. Comprimento e largura da expansão cefálica 0,06 – 0,08 ($0,07 \pm 0,01$) mm e 0,02 – 0,04 ($0,04 \pm 0,01$) mm respectivamente. Poro excretor 0,23 – 0,29 ($0,26 \pm 0,02$) mm da extremidade anterior. Corpo terminando em uma cauda cônica curta, vagina muscular, ovijetor bem desenvolvido, vulva perto do ânus e ambos perto da extremidade posterior do corpo. Ovos de casca fina com 47,71 – 65,04 ($55,47 \pm 5,99$) μm de comprimento e 26,93 – 37,14 ($31,77 \pm 3,25$) μm de largura.

Larvas de quarto estágio nos pulmões: Comprimento 0,7 – 0,9 ($0,8 \pm 0,07$) μm . Largura máxima 27,21 – 49,16 ($36,27 \pm 6,26$) μm .

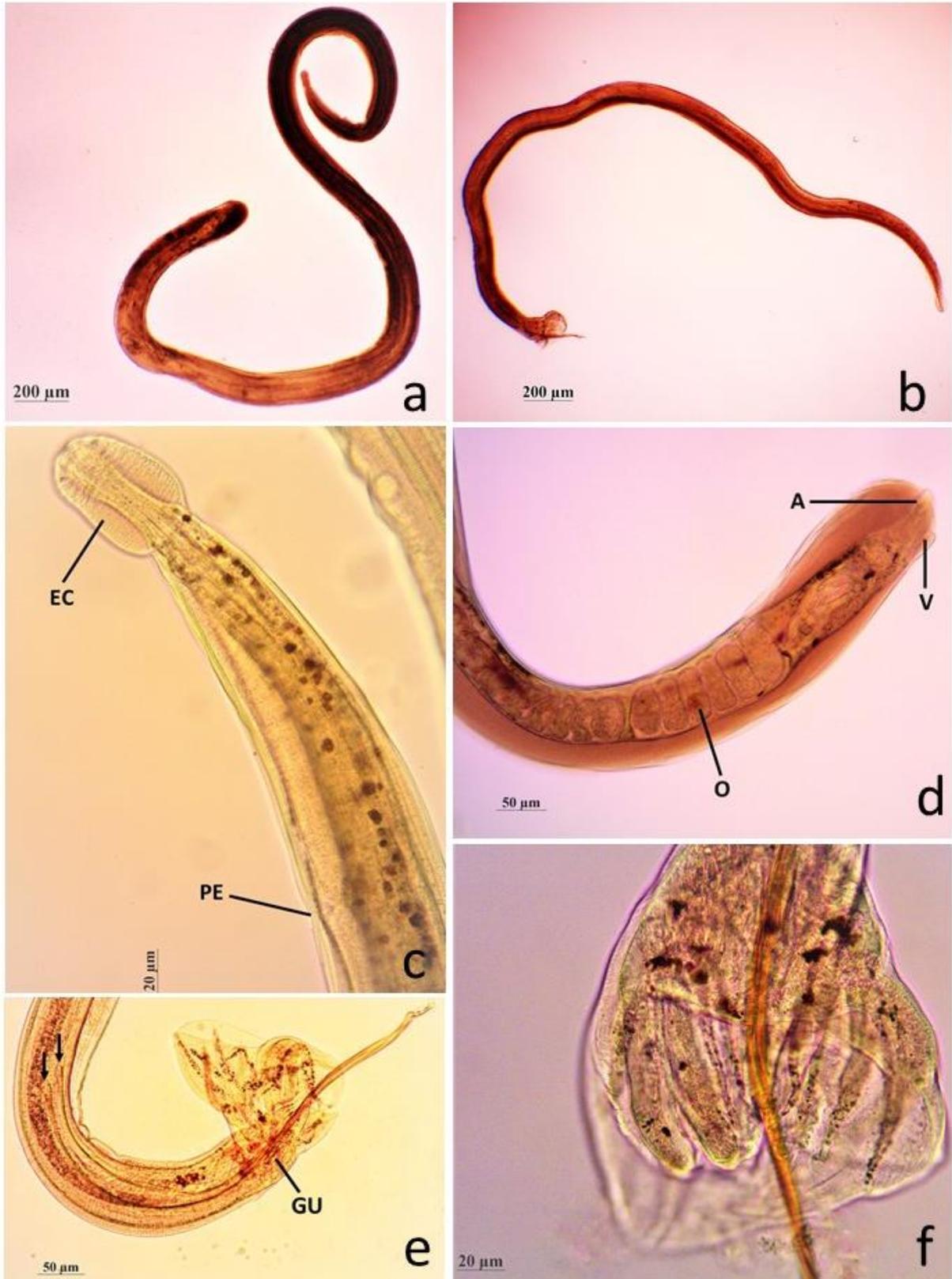


Figura 23. Espécimes adultos de *Nippostrongylus brasiliensis*. (a) Espécime fêmea adulta. (b) Espécime macho adulto. (c) Extremidade anterior da fêmea evidenciando a expansão cuticular (EC) e o poro excretor (PE). (d) Extremidade posterior da fêmea evidenciando os ovos no útero (O), a abertura da vulva (V) e do ânus (A). (e) Extremidade posterior do macho em vista lateral evidenciando o início dos espículos (setas) e o gubernáculo (GU). (f) Extremidade posterior do macho em vista ventral evidenciando os raios da bolsa copuladora.



Figura 24. (a) Larva de quarto estágio de *Nippostrongylus brasiliensis* recuperada do pulmão de um roedor infectado. (b) Ovo de *Nippostrongylus brasiliensis* recuperado das fezes de um roedor infectado.

Lesões macroscópicas e microscópicas provocadas por *Nippostrongylus brasiliensis*:

Macroscopicamente, no pulmão dos roedores infectados havia áreas pequenas, escuras e arredondadas nas bordas dos lobos pulmonares (Figura 25). No interior do parênquima no qual se encontrava as áreas escuras, havia exemplares de helmintos cilíndricos com cerca de 0,8 µm de comprimento identificados como larvas de quarto estágio (L4) de *Nippostrongylus brasiliensis*.

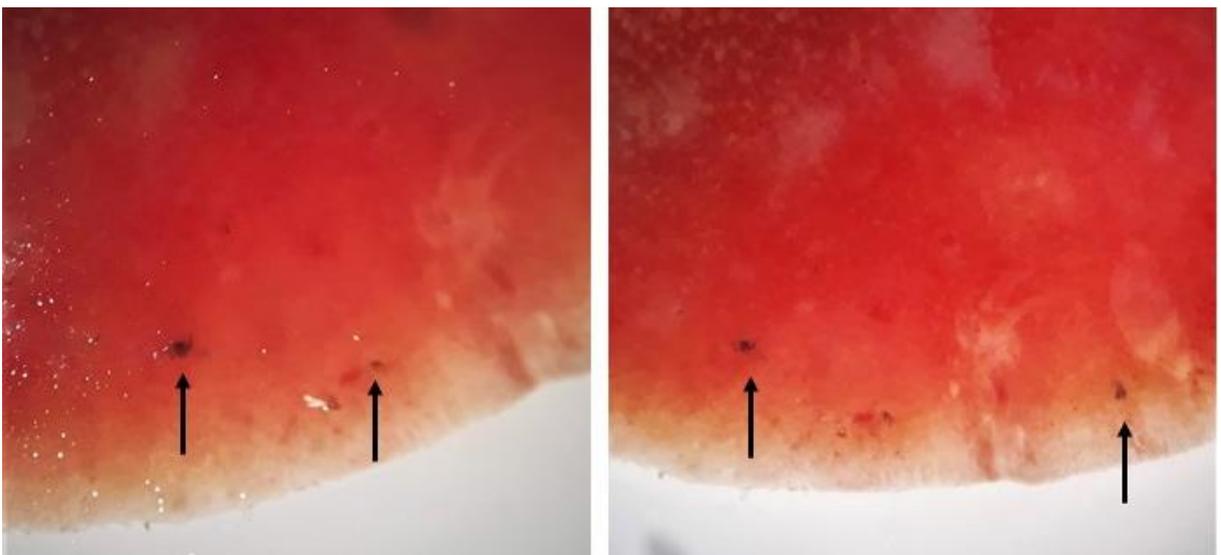


Figura 25. Lesões macroscópicas nos pulmões de roedores infectados, evidenciando pontos nas bordas dos lobos pulmonares (setas).

Na histopatologia, as lesões foram predominantemente de pneumonia histiocitária e linfocitária multifocal associada ao parasito. Foram observados macrófagos vacuolizados no interior de alvéolos associados com as L4 em cortes longitudinais e transversais. Essas larvas apresentavam cutícula delgada, intestino e aparelho reprodutor. Além disso, havia a presença de áreas focais nodulares com macrófagos, células gigantes multinucleadas, linfócitos e plasmócitos ao redor caracterizando uma pneumonia granulomatosa multifocal moderada. Em outras áreas, juntamente com larvas de quarto estágio, havia espessamento do interstício e lesão mais crônica. Em um animal havia perivasculite linfocitohistiocitária com raros neutrófilos no lúmen alveolar. Em outro animal, pneumonia histiocitária multifocal a coalescente com áreas com hemossiderose, células gigantes e multinucleadas e plasmócitos, com formação de um granuloma associado a L4.

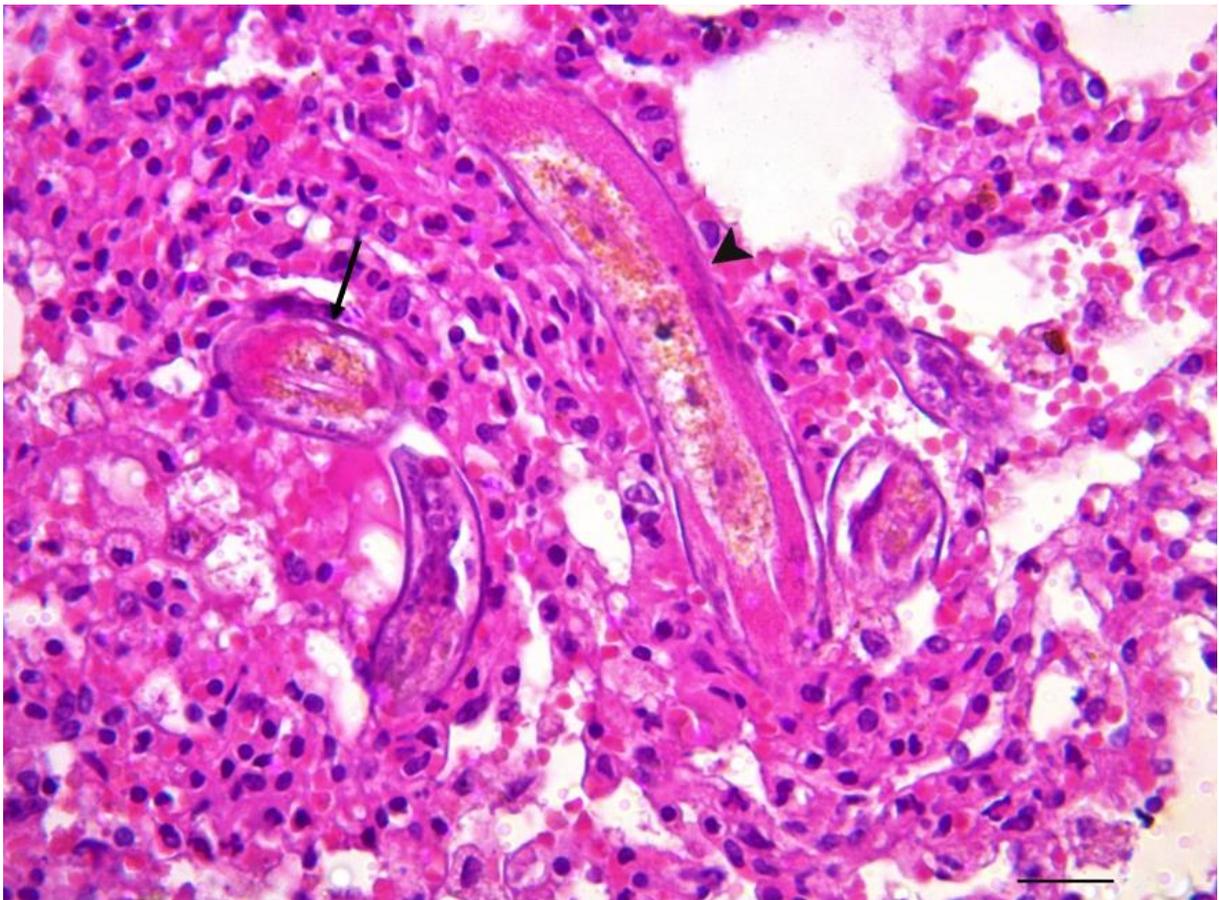


Figura 26. Lesões microscópicas por *Nippostrongylus brasiliensis* nos pulmões de roedores infectados. Cortes transversais (seta) e longitudinais (ponta de seta) de larvas de quarto estágio (L4) (50 μ m). Hematoxilina e eosina.

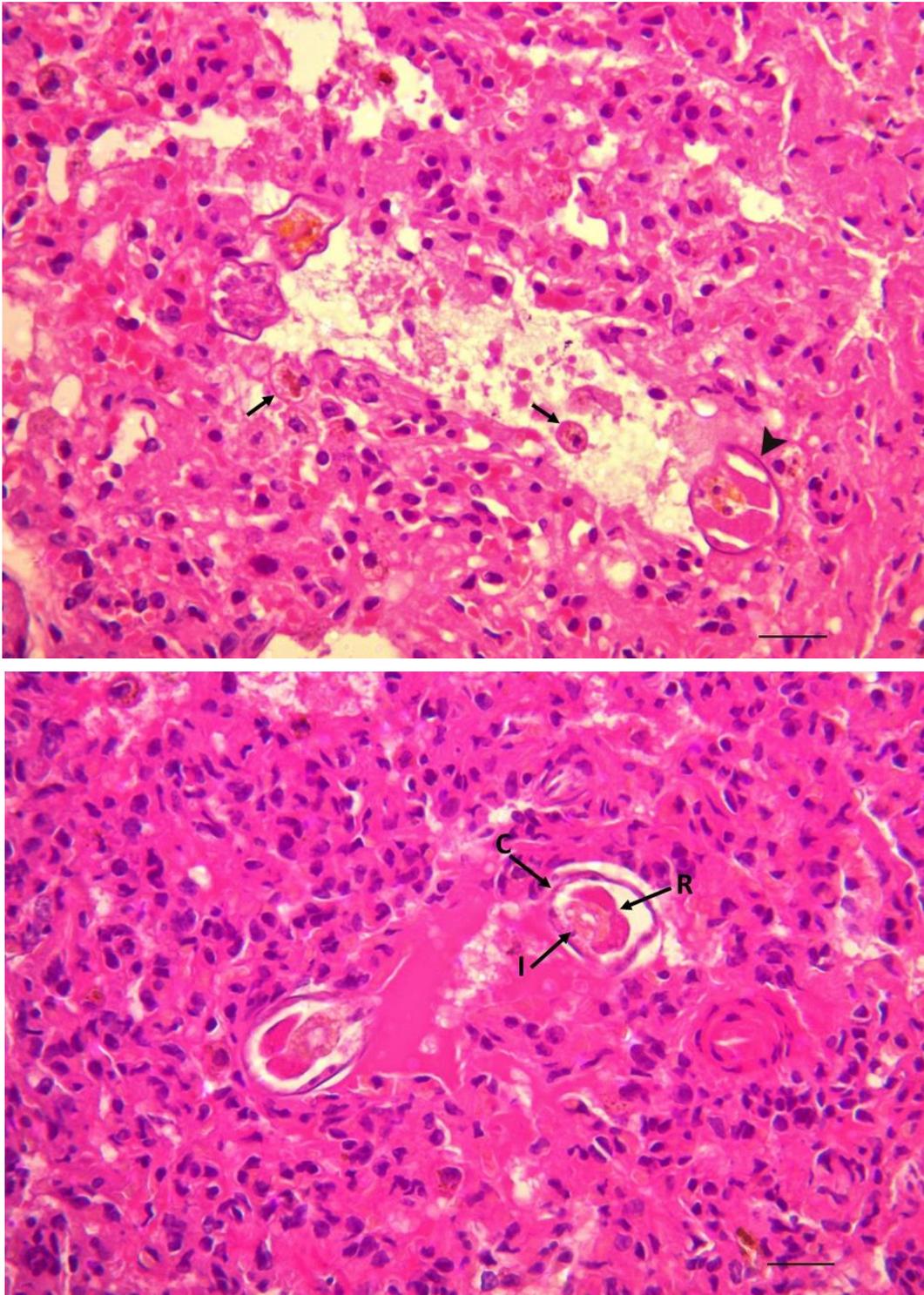


Figura 27. Lesões microscópicas por *Nippostrongylus brasiliensis* nos pulmões de roedores infectados. (a) Área de infiltrado inflamatório com macrófagos com pigmento (seta) próximos a uma L4 (ponta de seta) (20 μ m). (b) Corte transversal de duas L4 no interior de alvéolos evidenciando a cutícula fina (C), o intestino (I) e órgão reprodutor (R) (20 μ m). Hematoxilina e eosina.

Comentários:

Travassos em 1914 descreveu brevemente e sem figuras a espécie *Heligmosomum brasiliensis* do intestino delgado de *Rattus norvegicus* do Rio de Janeiro, Manguinhos, Brasil. Em 1920 Yokogawa descreveu *Heligmosomum muris* da mesma espécie hospedeira em Baltimore, Maryland. O autor conhecia o trabalho de Travassos, mas acreditava que devido às diferenças de tamanho e forma, *H. muris* era diferente de *H. brasiliensis*. Travassos em 1921 fez outra publicação com um relato mais detalhado de *H. brasiliensis*, incluindo uma única figura, que descreveu incorretamente a bolsa copuladora do macho como uma estrutura simétrica, não mencionando a descrição do *H. muris* por Yokogawa. Entretanto, afirmou ao examinar o acervo de Lutz do Instituto de Bacteriologia de São Paulo que o material catalogado como *Strongylus spirillum* n. sp. se tratava de *H. brasiliensis*. Lane em 1923 atribuiu esse nematódeo a um novo gênero denominado *Nippostrongylus*, devido a assimetria da bolsa copuladora dos machos e da terminação em forma de sino, sendo o *Nippostrongylus muris* a espécie tipo. Logo após, em 1929, Travassos e Darriba realizaram um novo estudo e afirmaram que *H. brasiliensis* e *H. muris* eram idênticos, e que as diferenças aparentes entre eles eram devidas a imperfeições na descrição original, mudando inicialmente o nome da espécie para *H. brasiliensis* e posteriormente, em 1937 para *N. brasiliensis* que foi designada como espécie tipo do gênero *Nippostrongylus*. Atualmente, *Heligmosomum brasiliensis* Travassos & Darriba, 1929; *Strongylus spirillum* Lutz (in Travassos, 1921); *Heligmosomum muris* Yokogawa, 1920 e *Nippostrongylus muris* Lane, 1923 são considerados sinônimos de *Nippostrongylus brasiliensis* (Haley, 1961; Haley, 1966; Ogilvie & Jones, 1971).

No gênero *Nippostrongylus* ocorrem espécies que são parasitos comuns encontrados no intestino delgado de murinos. Além disso, está distribuído em todo o mundo (Chaudhary et al., 2016). Os principais hospedeiros naturais da espécie *N. brasiliensis* são *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* e o camundongo *Mus musculus*. O ciclo de vida desse parasito é direto. Os ovos eliminados nas fezes eclodem em 24 horas e se transformam em larvas infectantes em três a quatro dias. A infecção do hospedeiro geralmente ocorre pela penetração da larva infectante na pele. O desenvolvimento normal dos ovos e larvas no solo requer oxigênio e umidade abundantes (Bouchery et al., 2015). Após a infecção percutânea, as larvas de terceiro estágio migram para os pulmões, onde são encontradas pela primeira vez cerca de 15 horas após a infecção. Nos pulmões as larvas mudam para o quarto estágio e, em seguida, migram através da traqueia e esôfago para o intestino delgado. A maioria das larvas já atingiram o intestino delgado do hospedeiro no terceiro dia após a muda. As larvas crescem, mudam para o quinto

estádio (adulto jovem), amadurecendo rapidamente e eliminam ovos no sexto dia pós infecção. A produção de ovos é contínua, por cerca de uma semana, e depois a maioria dos helmintos adultos são eliminados do hospedeiro durante um período de 2 a 3 dias. Depois disso, os ratos desenvolvem uma forte resistência a novas infecções.

Devido as características do ciclo biológico, o *N. brasiliensis* modela as características importantes da infecção por helmintos, incluindo a penetração na pele, a migração dos tecidos para o pulmão e a maturação e produção de ovos no intestino (Yogokawa, 1922; Bouchery et al., 2015). A infecção primária por esse parasito estimula a resistência do hospedeiro a uma nova reinfecção, por meio de respostas imunes mediadas por T helper tipo 2 (Th2) que aparecem na pele, pulmão ou intestino (Knott, et al.; 2007; Harvie et al., 2013; Bouchery et al., 2015). Além das células Th2 é observado a presença de eosinófilos, hiperplasia de células mucosas e produção de IgE pelas células B (Harris et al., 1999; Marsland et al., 2008). As análises histopatológicas dos pulmões demonstram alterações nas vias aéreas semelhantes a doença de obstrução pulmonar crônica e enfisema. As mudanças incluem uma destruição das paredes alveolares e aumento consecutivo dos espaços aéreos distais, resultando no aumento do tamanho do pulmão, como visto em alguns modelos de enfisema induzido por inalação de fumaça, bem como em doenças humanas. Além disso, em análises durante a infecção mais avançada, é observada doença ativa crônica, evidenciada por micro hemorragia alveolar, expressão de heme-oxigenase e deposição de hemossiderina nos macrófagos (Marsland et al., 2008). Devido a essas características o *N. brasiliensis* é utilizado como modelo de diferentes estudos relacionados a resposta imune produzida pela infecção de diferentes espécies de helmintos.

***Guerrerostrongylus gomesae* Simões, Santos & Maldonado Jr. 2012 (Rhabditida:
Heligmonellidae)**

(Figuras: 28 e 29)

Hospedeiro: *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz.

Sítio de infecção: Intestino delgado

Localização: Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)

Espécimes: 2 machos e 2 fêmeas

Geral: Nematódeo pequeno a médio. Delicados, filiformes e não enrolados ou irregularmente enrolados. Vesícula cefálica bem desenvolvida.

Macho: Comprimento 5,7 – 5,96 ($5,83 \pm 0,18$) mm. Largura máxima 0,24 mm. Extremidade anterior com vesícula cefálica com 57,78 - 58,82 ($58,3 \pm 0,74$) μm de comprimento e 40,73 – 41,42 ($41,08 \pm 0,49$) μm de largura. Esôfago 0,37 – 0,38 ($0,37 \pm 0,007$) mm de comprimento. Anel nervoso e poro excretor a 181,43 – 197,26 ($189,35 \pm 11,19$) μm e 351,39 – 360,23 ($355,81 \pm 3,88$) μm da extremidade anterior, respectivamente. Bolsa copuladora simétrica a subsimétrica com raios do tipo 2-2-1. Raios 2 e 3 direcionados para frente e crescem do mesmo vértice. Os raios 4 e 5 são contíguos na porção proximal, divergindo nas extremidades. Raio 6 se origina do tronco comum alcançando a margem. Raio 7 surgindo na base do raio dorsal, não alcançando a margem da bolsa copuladora. Raio dorsal (8) dividido próximo ao meio do comprimento em dois ramos, cada ramo bifurcado em dois pequenos ramos na parte distal. Espículos finos e curtos, geralmente torcidos na porção distal e de difícil visualização. Comprimento do espículo 0,26 mm. Gubernáculo 38,2 – 39,03 ($38,62 \pm 0,59$) μm .

Fêmea: Comprimento 8,8 mm. Largura máxima 0,34 mm. Extremidade anterior com vesícula cefálica com 51,72 – 59,66 ($55,69 \pm 5,61$) μm de comprimento e 38,69 – 46,78 ($43,76 \pm 5,72$) μm de largura. Esôfago 0,44 mm de comprimento. Anel nervoso e poro excretor a 132,68 – 192,43 ($162,56 \pm 42,25$) μm e 309,24 – 369,69 ($339,47 \pm 42,74$) μm da extremidade anterior, respectivamente. Vulva a 0,36 – 0,57 ($0,46 \pm 0,15$) mm da extremidade posterior. Cauda cônica. Ânus a 0,2 – 0,27 ($0,24 \pm 0,05$) mm da extremidade posterior.

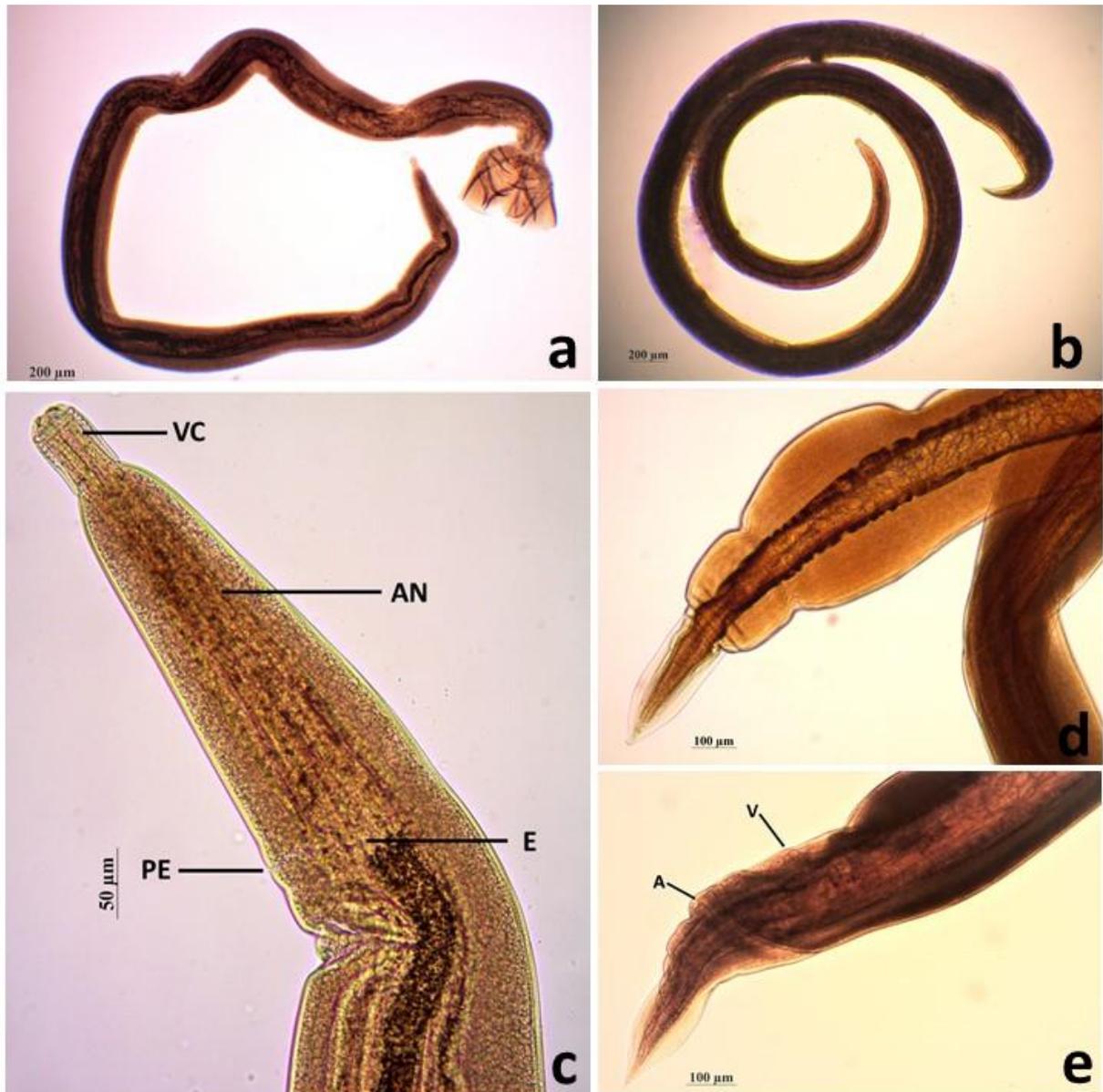


Figura 28. Espécimes adultos de *Guerrerostrongylus gomesae*. (a) Espécime macho adulto. (b) Espécime fêmea adulta. (c) Extremidade anterior do macho evidenciando a vesícula cefálica (VC), o anel nervoso (NA), o esôfago (E) e o poro excretor (PE). (d) Extremidade posterior da fêmea em vista ventral. (e) Extremidade posterior da fêmea evidenciando a vulva (V) e o ânus (A).

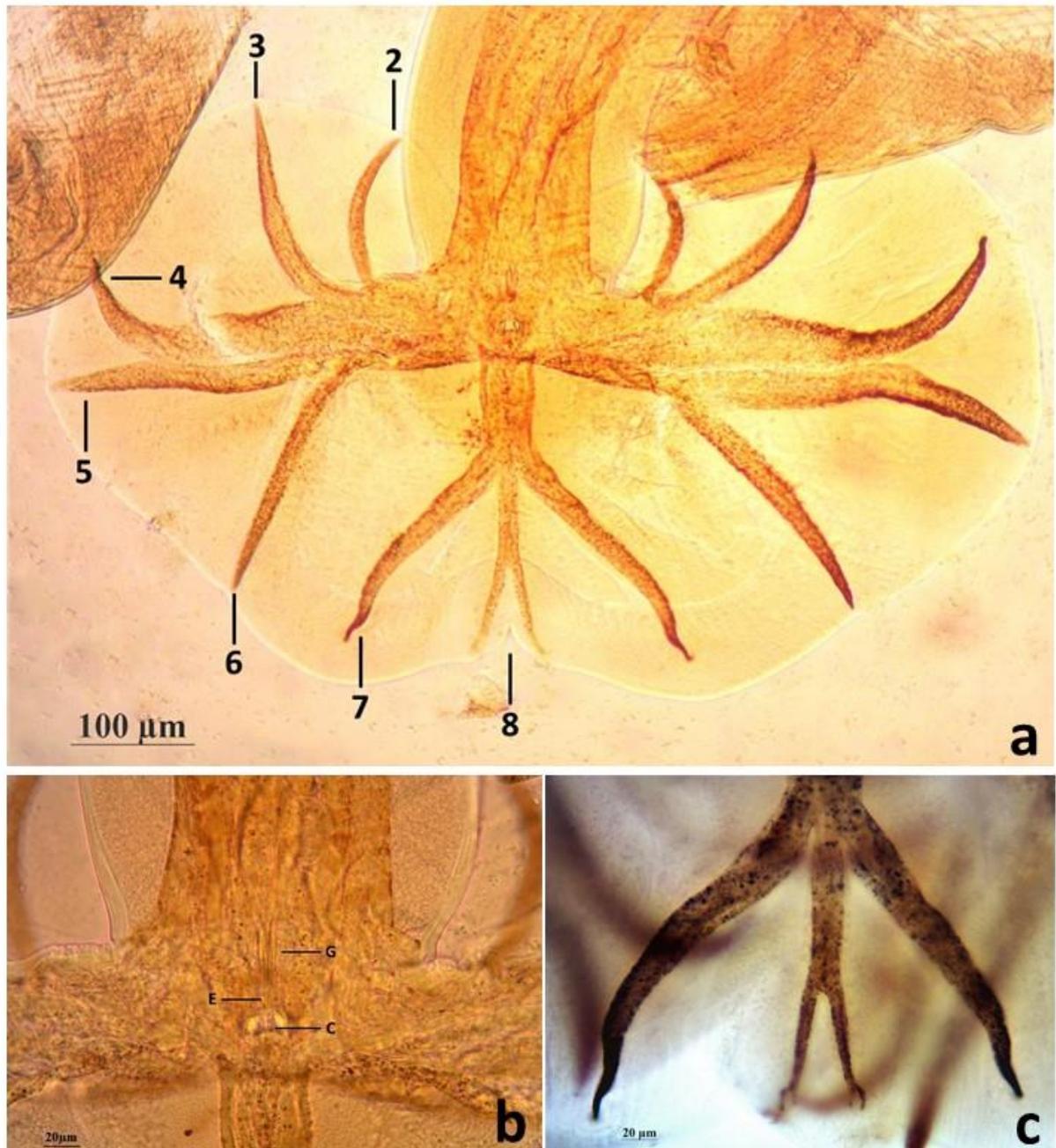


Figura 29. Espécime adulto de *Guerrerostrongylus gomesae*. (a) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando os raios bursais (2-8). (b) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando o gubernáculo (G), os espículos (E) e a abertura da cloaca (C). (c) Extremidade posterior em vista ventral da bolsa copuladora do macho, evidenciando o raio 7 se originando do raio dorsal, dividido próximo ao meio do comprimento em dois ramos, bifurcado em dois pequenos ramos na parte distal.

Comentários:

A família Heligmonellidae Skrjabin & Schikhobalova, 1952 inclui quatro subfamílias, sendo que, a subfamília Nippostrongylineae Durette-Desset, 1971 inclui 30 gêneros de nematódeos que parasitam roedores e têm ampla distribuição geográfica (Durette-Desset & Digiani, 2012; Digiani & Kinsella, 2014). Na região Neotropical, a maioria desses nematódeos infectam principalmente roedores da subfamília Sigmodontinae (Digiani et al., 2003). Composto essa família, o gênero *Guerrerostrongylus* foi proposto por Sutton e Durette-Desset (1991) para colocar a espécie *Guerrerostrongylus uruguayensis* Sutton & Durette-Desset, 1991, um parasita de *Oryzomys flavescens* (= *Oligoryzomys flavescens*) Waterhouse, 1837 no Uruguai. Em 1971, Durette-Desset transferiu a espécie *Longistriata zetta* Travassos, 1937 para o gênero *Hassalstrongylus* Durette-Desset, 1971, que foi posteriormente transferido para o gênero *Guerrerostrongylus* por Sutton & Durette-Desset (1991), com base nas características do gênero. *Guerrerostrongylus* é atualmente conhecido por incluir cinco espécies: *Guerrerostrongylus gomesae* Simões, Santos & Maldonado-Júnior, 2012; *G. uruguayensis*; *Guerrerostrongylus ulysi* Digiani, Notarnicola & Navone, 2012; *G. zetta* que foi redescrito por Digiani et al. em 2012 e *Guerrerostrongylus marginalis* Weirich, Catzefflis & Siméneez, 2016 (Digiani et al., 2012; Simões et al., 2012; Weirich et al., 2016). As diferenças entre as espécies incluem a morfologia da bolsa copuladora, em particular o raio dorsal e os raios 6 e 8, e a morfologia e o comprimento dos espículos (Sutton & Durette-Desset, 1991; Digiani et al., 2012; Simões et al., 2012).

A espécie *G. zetta* foi descrita inicialmente em um roedor coletado em Angra dos Reis, estado do Rio de Janeiro, Brasil por Travasso em 1937, sendo posteriormente relatada no Brasil em diferentes hospedeiros, incluindo *Galea spixii* Wagler, 1831; *Nectomys squamipes* Brants, 1827; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 e *Oligoryzomys nigripes* Olfers, 1818 nos estados de Goiás e Bahia, *Thrichomys pachiurus* Wagner, 1845 no Pantanal brasileiro e *Akodon cursor* Winge, 1887, *Euryoryzomys russatus* Wagner, 1848 e *O. nigripes* no estado do Rio de Janeiro (Gomes et al., 2003; Simões et al., 2012; Werk et al., 2016). Já a espécie *G. gomesae* foi descrita em roedores da espécie *Oecomys mamorae* na região do pantanal (Simões et al., 2012).

Aspidodera railletii Travassos, 1913 (Ascaridida: Aspidoderidae)

(Figuras: 30 e 31)

Hospedeiro: *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Didelphimorphia: Didelphidae), nome comum: gambá de orelha branca

Sítio de infecção: Intestino grosso

Localização: Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)

Espécimes: 7 machos e 3 fêmeas

Geral: Nematódeo pequeno de corpo robusto. Cutícula finamente estriada transversalmente. Extremidade anterior com ranhuras na cutícula que descreve seis alças delimitando os lábios e interlábios. Aparência de cordões ao microscópio óptico. Boca com três lábios bem desenvolvidos. Duas asas laterais que se iniciam próximo a extremidade anterior e se estendem até o terço final. Esôfago delgado com um bulbo posterior. Porção inicial do intestino com dilatação bem evidente.

Macho: Comprimento 5,03 – 6,54 ($5,57 \pm 0,56$) mm. Largura máxima 0,33 – 0,48 ($0,39 \pm 0,07$) mm. Esôfago com 0,87 – 1,01 ($0,94 \pm 0,05$) mm de comprimento. Largura do bulbo 0,17 – 0,2 ($0,19 \pm 0,01$) mm. Ranhuras na extremidade anterior 0,11 – 0,13 ($0,12 \pm 0,008$) mm de comprimento. Poro excretor 0,45 – 0,58 ($0,55 \pm 0,05$) mm da extremidade anterior. Cauda cônica afinando gradativamente, terminando em um apêndice curto 41,81 – 61,14 ($50,38 \pm 8,21$) μm de comprimento. Ventosa circular de bordas espessas na face ventral do terço posterior 0,11 – 0,14 ($0,12 \pm 0,01$) mm de diâmetro localizada anteriormente a cloaca 0,11 – 0,23 ($0,15 \pm 0,056$) mm de distância. Cloaca 0,37 – 0,44 ($0,4 \pm 0,02$) mm da extremidade posterior. Presença de papilas caudais distribuídas da seguinte forma: 5 pares pré-cloacais com dois pares anterior a ventosa e três pares ad-ventosa; dois pares ad-cloacais e oito pares pós-cloacais além de numerosas diminutas papilas na face ventral, desde a região anterior a ventosa até a extremidade da cauda. Espículos iguais bem esclerotizados. Comprimento 0,8 – 0,95 ($0,87 \pm 0,06$) mm. Gubernáculo 0,13 – 0,22 ($0,18 \pm 0,03$) mm de comprimento.

Fêmea: Comprimento 5,23 – 6,86 ($6,26 \pm 0,9$) mm. Largura máxima 0,34 – 0,68 ($0,52 \pm 0,17$) mm. Esôfago com 0,99 – 1,07 ($1,02 \pm 0,04$) mm de comprimento. Largura do bulbo 0,2 – 0,22

(0,21 \pm 0,01) mm. Ranhuras na extremidade anterior 0,13 – 0,14 (0,13 \pm 0,006) mm de comprimento. Poro excretor 0,58 – 0,6 (0,58 \pm 0,01) mm da extremidade anterior. Vulva pouco saliente a 1,44 – 2,28 (2,04 \pm 0,52) mm da extremidade anterior. Ovejector longo com vagina musciosa. Ânus a 0,8 – 0,88 (0,84 \pm 0,04) mm da extremidade posterior.

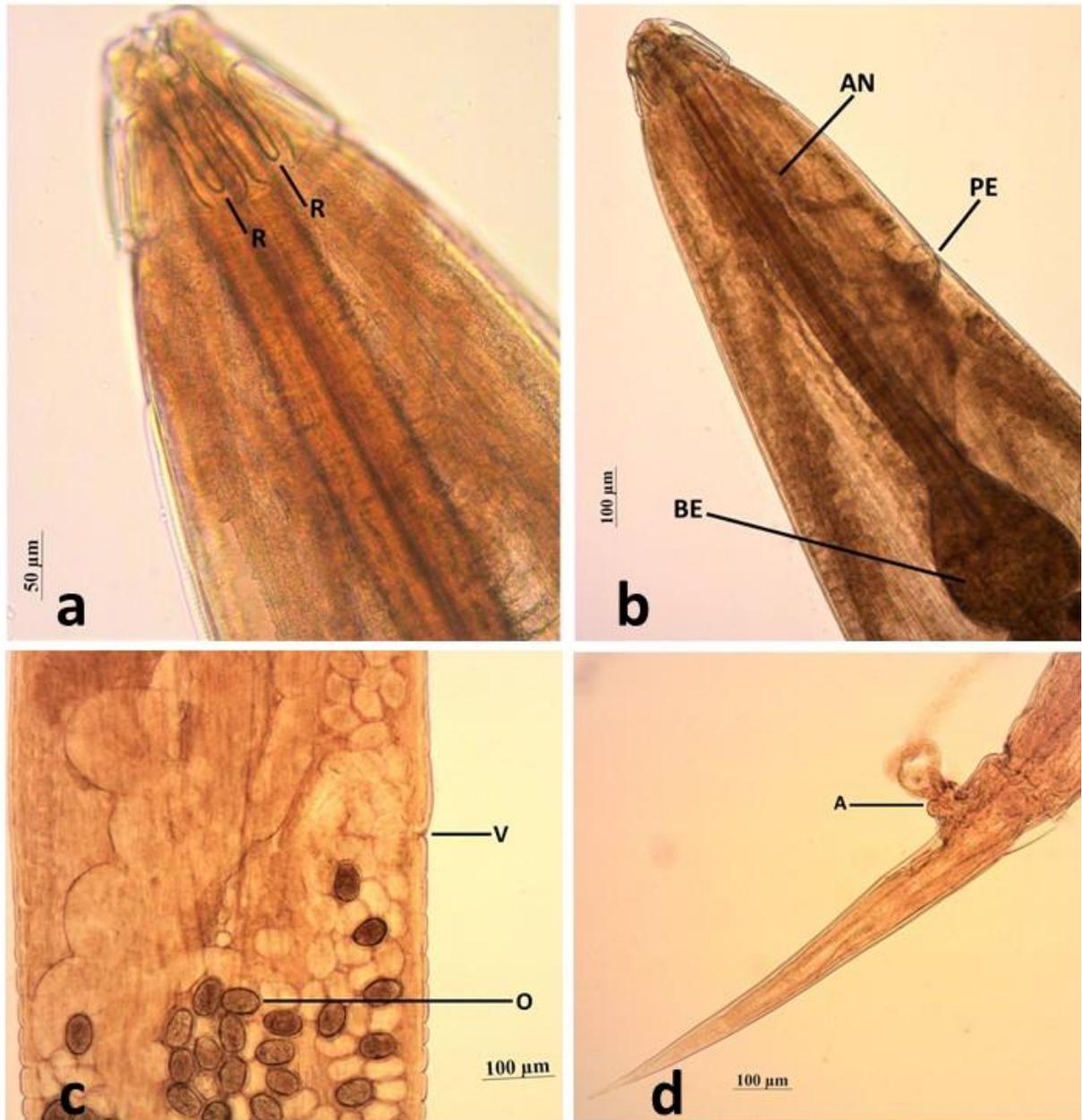


Figura 30. Espécimes adultos de *Aspidodera railletii*. (a) Extremidade anterior da fêmea evidenciando as ranhuras na cutícula (cordões cefálicos) (R). (b) Extremidade anterior da fêmea evidenciando o anel nervoso (AN), o poro excretor (PE) e o esôfago com um bulbo posterior (BE). (c) Vulva pouco saliente da fêmea (V) no terço médio, próxima a extremidade anterior do corpo e útero com a presença de ovos (O). (d) Extremidade posterior da fêmea em vista lateral evidenciando o ânus (A) e a cauda afilada.

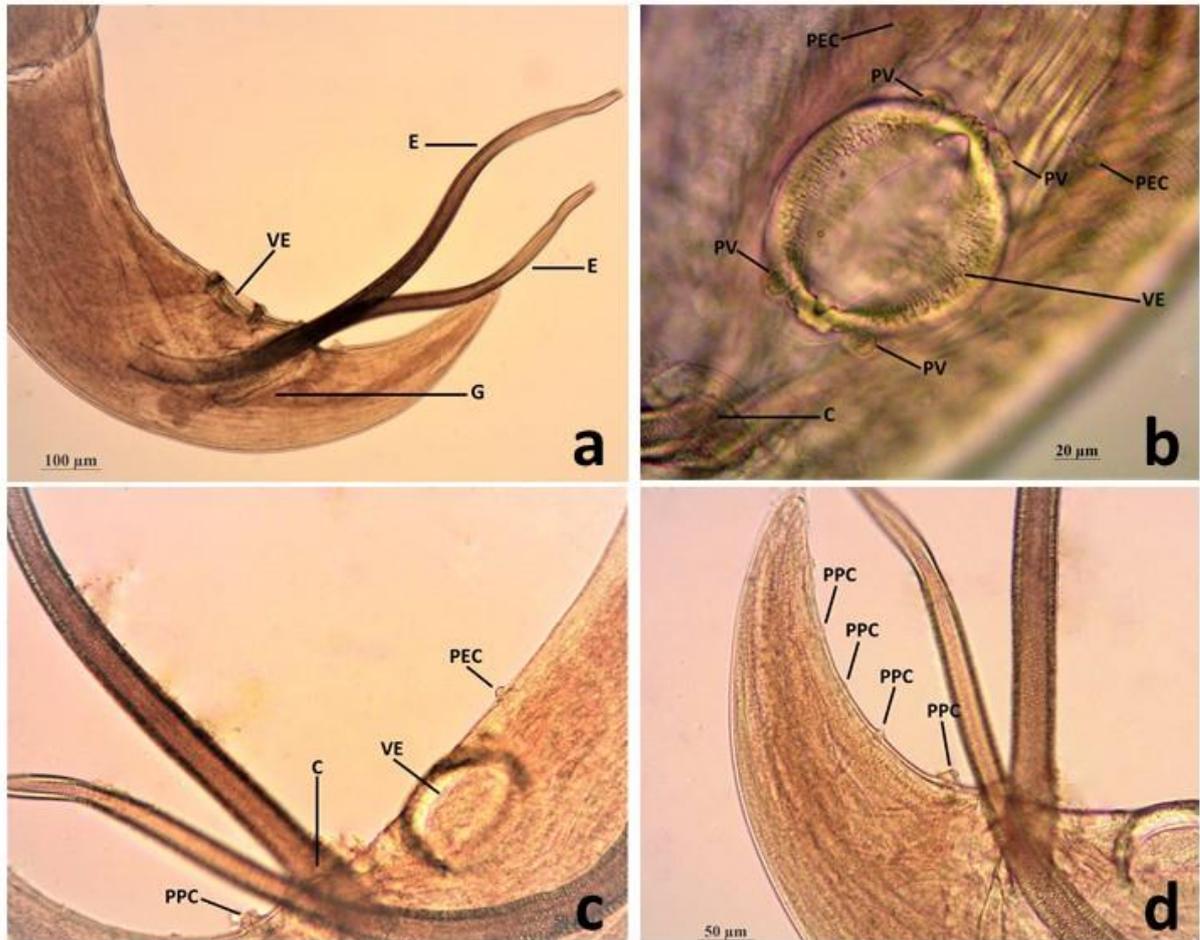


Figura 31. Espécimes adultos de *Aspidodera raillieti*. (a) Extremidade posterior do macho evidenciando os espículos (E), o gubernáculo (G) e a ventosa (VE). (b) Extremidade posterior do macho evidenciando em maior aumento a ventosa (VE), as quatro papilas ad-ventosa (PV), duas papilas pré-cloacais (PEC) e a cloaca (C). (c) Extremidade posterior do macho evidenciando a ventosa (VE), a cloaca (C), uma papila pré-cloacal (PEC) e uma papila pós-cloacal (PPC). (d) Extremidade posterior do macho evidenciando quatro papilas pós-cloacais (PPC).

Comentários:

Os nematódeos da família Aspidoderidae Skrjabin e Schikhobalova, 1947 (Ascaridida: Heterakoidea), inclui diversas espécies divididas em quatro gêneros parasitos de anfíbios, répteis e mamíferos (Santos et al., 1990; Jiménez-Ruiz et al., 2006). A maioria dos estudos taxonômicos envolvendo essa família são baseados nas estruturas encontradas na extremidade anterior. Santos *et al.* (1990), em uma revisão do gênero *Aspidodera*, estabeleceram uma nova chave baseada nos cordões cefálicos para identificar esses parasitos. As estruturas da extremidade cefálica e cordões cefálicos são facilmente visíveis à microscopia de luz (Chagas-Moutinho et al., 2014). Esse gênero foi revisado por Railliet & Henry (1913), Proença (1937), Skrjabin & Schkhobalova (1947) e Vicente (1966). Skrjabin & Schkhobalova (1947) separaram *Aspidodera ansirupta* Proença, 1937 como a espécie-tipo de um novo gênero *Ansiruptodera* e *Aspidodera binansata* Railliet & Henry, 1913 como espécie-tipo de *Sexansodera*. Inglis em 1967, considerou *Sexandodera* Skrjabin & Schkhobalova, 1947 como sinônimo de *Aspidodera*. A primeira chave para as espécies do gênero foi proposta por Foster em 1939 (Santos et al., 1990).

As espécies do gênero *Aspidodera* Railliet & Henry, 1912 parasitam as ordens Cingulata, Pilosa, Marsupialia e Rodentia (Santos et al., 1990). Essas espécies são encontradas parasitando o ceco e o intestino grosso de mamíferos, com distribuição Neártica Meridional e Neotropical geral, ocorrendo no Brasil, México, Panamá, Paraguai, Trinidad, Argentina, Estados Unidos, Peru, Bolívia, Guatemala, Venezuela, Suriname e Colômbia (Pinto & Gomes, 1980; Santos et al., 1990; Chagas-Moutinho et al., 2007). Atualmente, o gênero inclui as espécies válidas *Aspidodera scoleciformis* (Diesing, 1851) Railliet e Henry, 1912; *Aspidodera subulata* (Molin, 1860) Railliet & Henry, 1912; *Aspidodera fasciata* (Schneider, 1866) Railliet e Henry, 1913; *Aspidodera binansata* Railliet & Henry, 1913; *A. raillieti*; *Aspidodera ansirupta* Proença, 1937; *Aspidodera vazi* Proença, 1937; *Aspidodera lacombeae* Vicente, 1964 e *Aspidodera soganderesei* Jiménez-Ruiz *et al.*, 2006; *Aspidodera lanfredi* Chagas-Moutinho *et al.*, 2014; *Aspidodera Kinsellai* Jiménez *et al.*, 2013; *Aspidodera serrata* Cesário *et al.*, 2021 (Chagas-Moutinho et al., 2007; Cesário et al., 2021). A região anterior das espécies do gênero apresenta uma expansão cuticular que, observada à microscopia de luz, apresenta a forma de uma capa adornada com seis alças longitudinais e três lábios. Essas características são importantes para definir o gênero *Aspidodera*, e para diferenciar as espécies desse gênero. Os cordões cefálicos são incluídos por Santos *et al.* (1990) em uma chave para identificação das espécies, no qual em *A. raillieti*, os cordões ultrapassam o nível do vestíbulo oral e tocam a base

da extremidade cefálica (Chagas-Moutinho et al., 2014). Outras características importantes para a identificação das espécies são a forma e o comprimento dos espículos, a forma da fileira e o número de papilas caudais (Santos et al., 1990).

***Cruzia tentaculata* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1917 (Ascaridida, Kathlaniidae)**

(Figura: 32)

Hospedeiro: *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Didelphimorphia: Didelphidae), nome comum: gambá de orelha branca

Sítio de infecção: Intestino grosso

Localização: Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)

Espécimes: 6 machos, 4 fêmeas e 15 ovos

Geral: Nematódeo pequeno de corpo robusto e extremidade posterior delgada terminando em uma ponta afilada. Cutícula lisa. Boca com três lábios bem desenvolvidos. Um par de dentículos na face interna de cada lábio. Faringe com três fileiras duplas de dentes recorrentes. Esôfago delgado com um bulbo anterior e outro posterior terminando em uma válvula.

Macho: Comprimento 7,41 – 10,99 ($9,71 \pm 1,21$) mm. Largura máxima 0,33 – 0,63 ($0,53 \pm 0,11$) mm. Esôfago com 0,99 – 1,79 ($1,54 \pm 0,29$) mm de comprimento. Largura do bulbo posterior 0,25 – 0,36 ($0,3 \pm 0,04$) mm. Faringe 0,12 – 0,14 ($0,13 \pm 0,008$) mm de comprimento. Poro excretor 0,64 – 1,68 ($1,04 \pm 0,45$) mm da extremidade anterior. Anel nervoso 0,41 – 0,53 ($0,47 \pm 0,05$) mm da extremidade anterior. Extremidade posterior com três pares de papilas pré-cloacais, três pares cloacais, uma papila no lábio anterior da cloaca e quatro pares de papilas caudais. Espículos iguais. Comprimento 0,85 – 1,18 ($0,96 \pm 0,12$) mm. Gubernáculo 0,17 – 0,2 ($0,19 \pm 0,01$) mm de comprimento.

Fêmea: Comprimento 11,55 – 14,44 ($13,01 \pm 1,23$) mm. Largura máxima 0,57 – 0,67 ($0,63 \pm 0,05$) mm. Esôfago com 1,87 – 1,98 ($1,91 \pm 0,05$) mm de comprimento. Largura do bulbo posterior 0,31 – 0,34 ($0,33 \pm 0,01$) mm. Faringe 0,14 – 0,15 ($0,15 \pm 0,005$) mm de comprimento. Poro excretor 1,03 – 1,49 ($1,28 \pm 0,24$) mm da extremidade anterior. Anel nervoso 0,47 – 0,71 ($0,55 \pm 0,12$) mm da extremidade anterior. Vulva a 6,01 – 8,15 ($6,74 \pm 0,98$) mm da extremidade anterior. Ânus a 0,74 – 2,21 ($1,13 \pm 0,72$) mm da extremidade posterior. Ovos elipsoides com casca espessa com 93,58 – 113,9 ($106,79 \pm 6,76$) μm de comprimento e 47,74 – 60,87 ($56,87 \pm 3,33$) μm de largura.

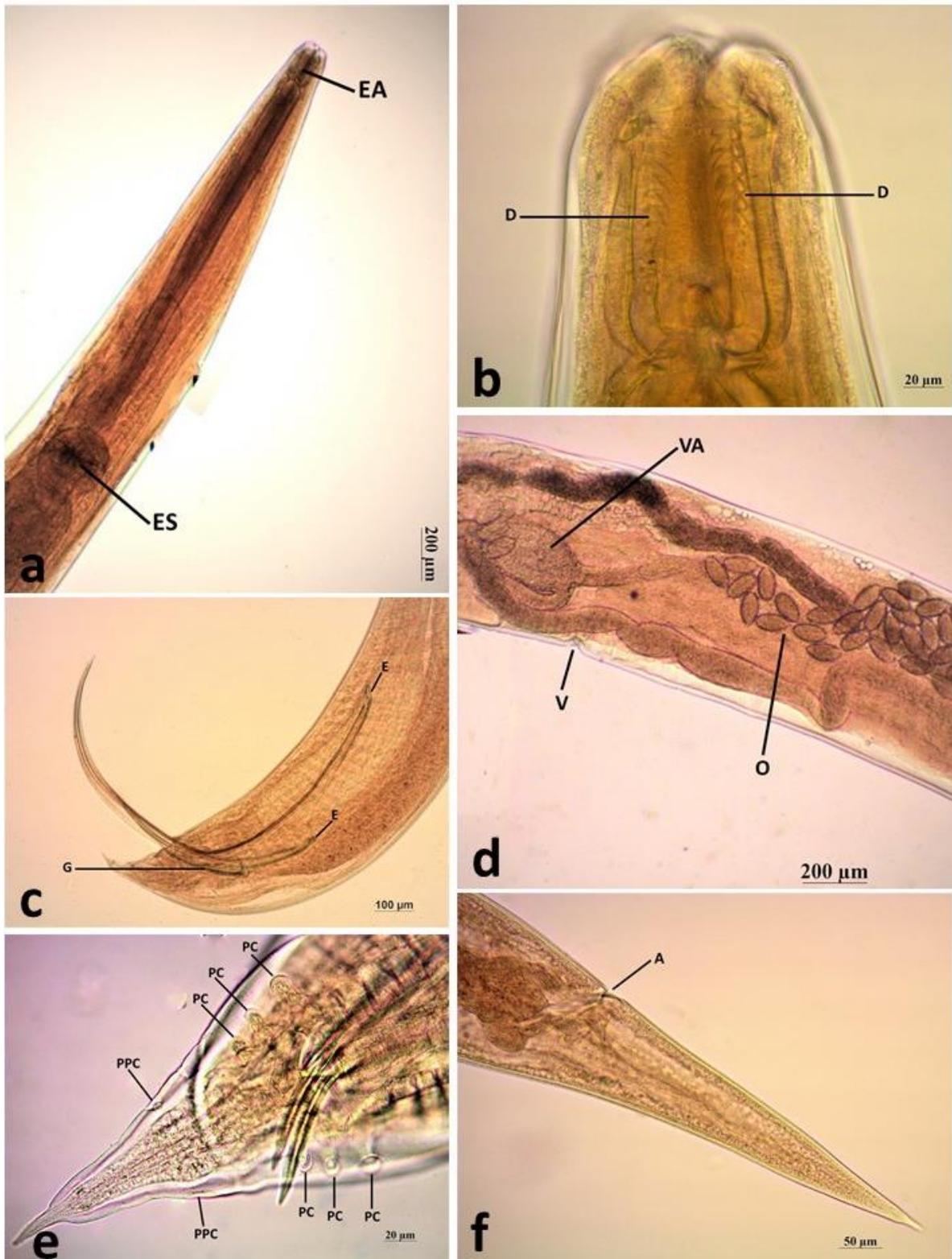


Figura 32. Espécimes adultos de *Cruzia tentaculata*. (a) Extremidade anterior (EA) do macho evidenciando o esôfago terminando em um bulbo (ES). (b) Extremidade anterior com duas fileiras duplas de dentes recorrentes (D). (c) Extremidade posterior do macho evidenciando os espículos (E) e gubernáculo (G). (d) Fêmea evidenciando a vulva pouco saliente (V), vagina (VA) e útero com a presença de ovos (O). (e) Extremidade posterior do macho evidenciando os três pares de papilas cloacais e um par de papilas pós-cloacais. (f) Extremidade posterior da fêmea evidenciando o ânus (A) e a cauda afilada.

Comentários:

Cruzia tentaculata foi descrita por Rudolphi (1819) como *Ascaris tentaculata* e atribuída à família Ascarididae e posteriormente incluída no gênero *Oxysoma* por Schneider (1886). Travassos (1917) propôs a família Cruzidae com o gênero-tipo *Cruzia* em que incluía uma única espécie, *C. tentaculata*. Posteriormente, essa espécie foi colocada dentro da família Kathlaniidae (Travassos, 1922; Anderson et al., 2009; Ramos-de-Souza et al., 2021). Travassos em 1922 ilustrou totalmente a espécie. Além disso, Caballero (1937) registrou a ocorrência de *C. tentaculata* em *Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758 no México e posteriormente Caballero et al. (1944) relataram a espécie em *D. marsupialis* novamente no México e na Guatemala. Wolfgang (1951) e Potkai (1970) afirmaram que *C. tentaculata* comumente parasita marsupiais na América do Sul e Central (Gomes et al., 2003). Atualmente, 13 espécies do gênero *Cruzia* são reconhecidas, parasitando o intestino grosso de anfíbios, répteis, marsupiais e xenartros (Anderson et al., 2009; Adnet et al., 2009; Li, 2019; Vieira et al., 2020).

Entre os hospedeiros marsupiais, três espécies desse helminto são conhecidas: *Cruzia cameroni* Wolfgang, 1951; *Cruzia americana* Maplestone, 1930 e *C. tentaculata* (Li, 2019). As espécies *C. tentaculata* e *C. americana* ocorrem em marsupiais didelfídeos, embora haja registros de tatu (Dasypodidae) como hospedeiros, tanto na América do Sul quanto na América do Norte, em particular no Brasil, Colômbia, Paraguai e México (Adnet et al., 2009; Li, 2019; Vieira et al., 2020). Após sua descrição, vários hospedeiros Didelphidae e Dasipodidae foram registrados parasitados com *C. tentaculata* e poucos caracteres taxonômicos foram adicionados (Ruiz, 1947), mas a confirmação de algumas características ainda é necessária (Adnet et al., 2009). A ocorrência desta espécie em marsupiais foi registrada no Brasil (Pinto & Gomes, 1980; Gomes et al., 2003; Vicente et al., 1997; Quintão-Silva & Costa, 1999; Castro et al., 2017; Adnet et al., 2009), no México (Monet-Mendonza et al., 2005) e em tatus do Paraguai (Fujita et al., 1995), mas nenhuma descrição morfológica adicional foi apresentada por esses autores.

O ciclo de vida de *C. tentaculata* é direto, de modo que os ovos embrionados permanecem latentes no solo até serem ingeridos pelo hospedeiro (Jiménez et al., 2012). Durante esses períodos, a temperatura e a umidade do solo devem ser constantes e adequadas para que os ovos continuem infectantes (Anderson, 2000). Castro et al. (2017) observou que o período chuvoso parece promover um aumento na intensidade de *C. tentaculata* nos gambás e, menos evidentemente, na abundância, sendo que esse resultado pode estar relacionado com o ciclo. Apesar de ter o ciclo direto, Ramos-de-Souza et al. 2021 descreveram larvas de *C. tentaculata* parasitando moluscos, sendo essas larvas encontradas no manto de *Achatina fulica*

Bowdich, 1822 e *Thaumastus taunaisii* Férussac, 1822 e na cavidade corporal de *Latipes erinaceus* Colosi, 1922 no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foram encontradas até 70 larvas em um único indivíduo, sendo a forma mais frequente, provavelmente a larva de terceiro estágio (L3). Supõe-se que os ovos podem ser ingeridos pelos moluscos, eclodirem e encistarem nos tecidos desses animais, onde encontram armazenamento de glicogênio adequado que permite o desenvolvimento para o estágio L3, indicando assim que esses moluscos podem atuar como hospedeiros intermediários de *C. tentaculata* (Ramos-de-Souza et al., 2021). Esse estudo demonstra a necessidade de mais pesquisas relacionadas a essa espécie, já que, além da descoberta de hospedeiros intermediários participando do ciclo de vida, outra espécie do gênero, *Cruzia americana*, um parasita do ceco e do intestino grosso do gambá *Didelphis virginiana* nos Estados Unidos, pode causar patologia grave, ou mesmo morte do hospedeiro, em alta taxa de infecção (Ramos-de-Souza et al., 2021).

Estrobilocerco de *Hydatigera taeniaeformis* Batsch, 1786 (Cyclophyllidea: Taeniidae)

(Figuras: 33 a 37)

Hospedeiro: *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae); nome comum: rato de telhado;
Necromys lasiurus Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae); nome comum: rato do cerrado.

Sítio de infecção: Fígado.

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil
(19°58'26"S; 43°59'22"W).

Espécimes: 5 estrobilocercos.

Geral: Larvas de corpo longo, segmentado, terminando em uma vesícula. Comprimento total 50-103 ($74,6 \pm 24$) mm. Escólex bem desenvolvido com quatro ventosas redondas e proeminentes. Rostelo bem desenvolvido armado com duas coroas alternadas de ganchos. Primeira fileira com 16 – 18 ($17,3 \pm 1,15$) mm ganchos maiores medindo 402,87 – 407,97 ($405,3 \pm 2,55$) μm . Segunda fileira com 16 – 19 ($17,7 \pm 1,53$) mm ganchos menores medindo 229,73 – 242,29 ($236,6 \pm 6,35$) μm . Total de ganchos 32 – 37 ($35 \pm 2,65$).

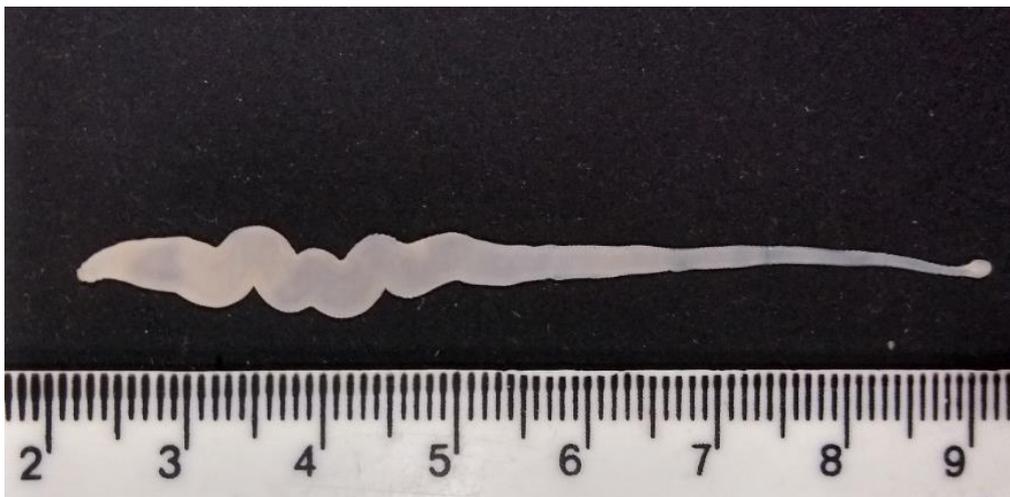


Figura 33. Estrobilocerco comprimido recuperado de um cisto no fígado de roedores.

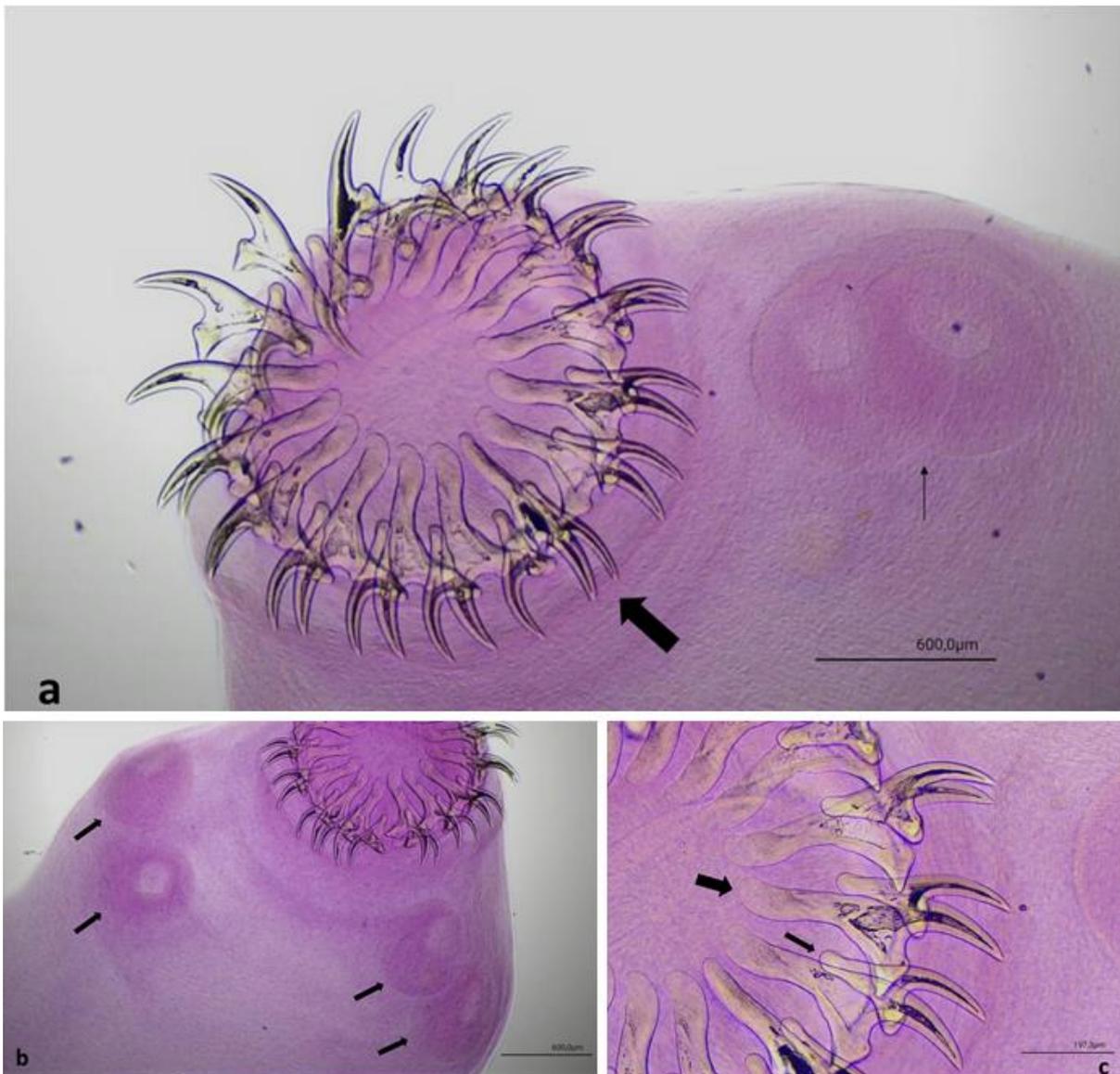


Figura 34. Espécime de *Estrobilocerca* de *Hydatigera taeniaeformis*. (a) Excólex evidenciando o rostelo bem desenvolvido, armado com duas fileiras de ganchos (seta grossa) e duas ventosas (seta fina). (b) Excólex evidenciando quatro ventosas redondas e proeminentes (setas). (c) Rostelo evidenciando ganchos maiores na primeira fileira (seta grossa) e ganchos menores na segunda fileira (seta fina).

Identificação molecular:

Foi obtido fragmento de 644 pb como produto da amplificação usando o iniciador para o gene COI. Ao realizar a busca de similaridades no programa BLAST-N, o sequenciamento do espécime apresentou grande similaridade com sequências já depositadas de *Hydatigera taeniaeformis* para o gene COI. (Tabela 09).

Tabela 09. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para uma sequência consenso de 644 pares de bases para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de *Hydatigera taeniaeformis* encontradas no presente trabalho.

Amostra	Similaridade	Região	Nº de acesso	E- value	Score máximo	Identidade
JC75	<i>Hydatigera taeniaeformis</i>	Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	NC056571.1	2e-75	296	174/180 (97%)

Lesões macroscópicas e microscópicas provocadas por estrobilocerco de *Hydatigera taeniaeformis*:

Macroscopicamente, no fígado dos roedores infectados, foram observados cistos brancos, variando de um a 12 por animal (Figura 35), medindo de 2 a 6 mm que sobressaia do parênquima hepático. Foi realizada a incisão de cistos e recuperação de larvas de cestódeos (figura 36). Nestas visualizou-se um escólex bem desenvolvido e corpo segmentado terminando em uma vesícula. Este parasito foi identificado como estrobilocerco de *Hydatigera taeniaeformis*.



Figura 35. Cistos brancos de Estrobilocerco de *Hydatigera taeniaeformis* de diferentes tamanhos.

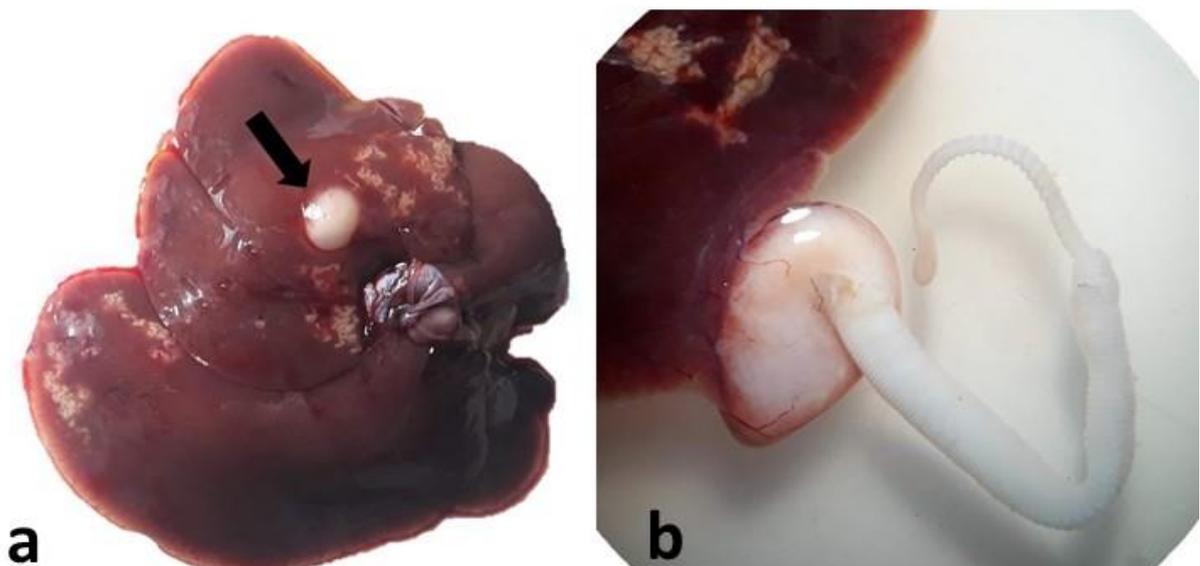


Figura 36. Lesões macroscópicas no fígado de roedores. Cisto branco que sobressai do parênquima hepático (seta) (a). Estrobilocerco sendo recuperado de um cisto no fígado.

Microscopicamente, no parênquima hepático foram observados cistos em cortes transversais medindo em média 2.200 μm de diâmetro, contendo o estrobilocercos em seu interior. Este foi caracterizado por possuir tegumento, musculatura dentro do parênquima que separa a região cortical da medular (característica da ordem Cyclophyllidea), parênquima com corpúsculos calcários basofílicos na região mais periférica do parasito, rostelo evidente e ausência de pseudoceloma ou sistema digestivo. A parede do cisto era composta por tecido conjuntivo fibroso e ao redor infiltrado histiolinfoplasmocitário (Figura 37).

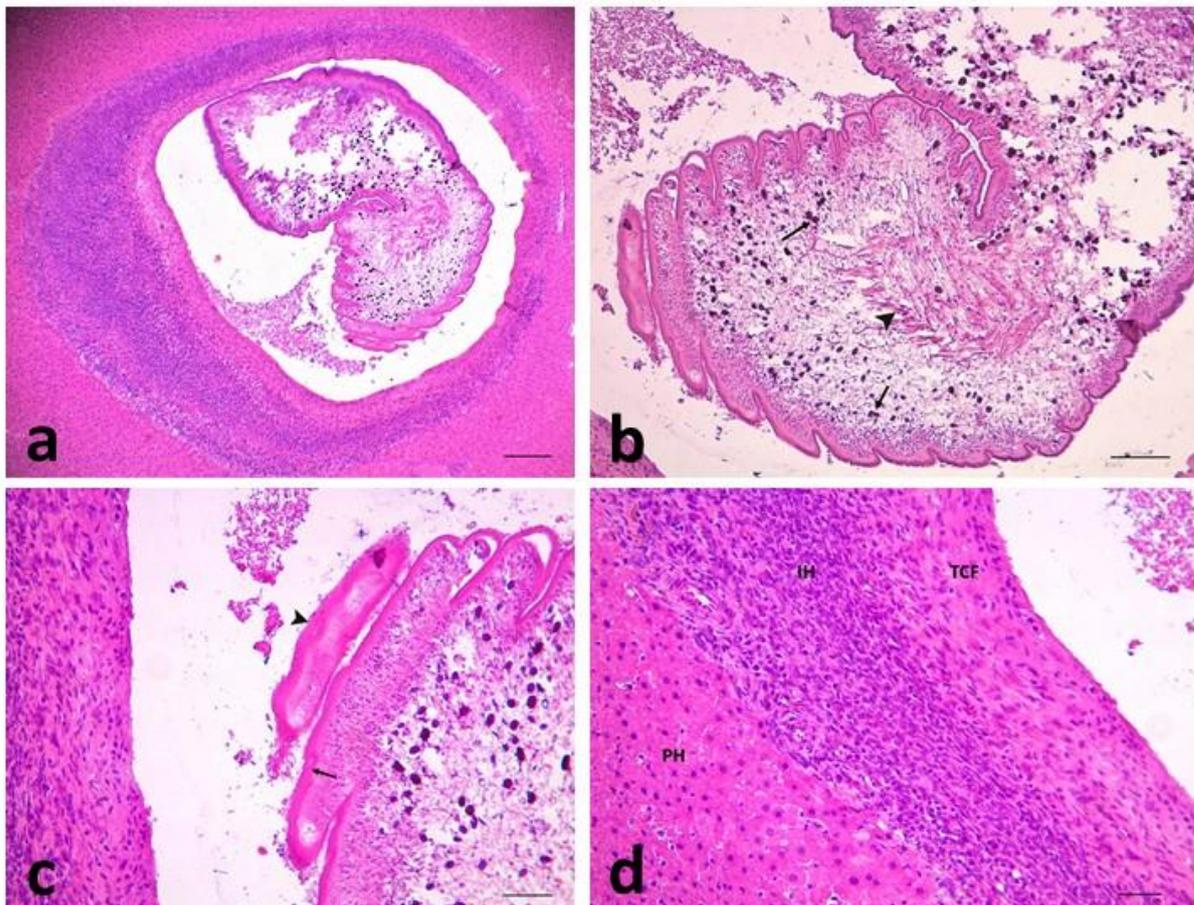


Figura 37. Fígado de roedores com hidatidose. (a) Cisto em corte longitudinal contendo o estrobilocercos de *Hydatigera taeniaeformis* em seu interior (200 μm). (b) Estrobilocercos em corte longitudinal evidenciando a musculatura dentro do parênquima que separa a região cortical da medular (ponta de seta) e corpúsculos calcários basofílicos na região mais periférica do parênquima (seta) (100 μm). (c) Maior aumento evidenciando o tegumento (seta) e o rostelo (ponta de seta) (20 μm). (d) Parede do cisto composta por tecido conjuntivo fibroso (TCF) e ao redor infiltrado histiolinfoplasmocitário (IH) no parênquima hepático (PH) (50 μm). Hematoxilina e eosina.

Comentários:

A ordem Cyclophyllidea, que inclui 15 famílias, é o maior grupo taxonômico entre os cestódeos (Jones et al., 1994). A família Taeniidae, que pertence a essa ordem, era composta por dois gêneros válidos *Taenia* Linnaeus, 1758 e *Echinococcus* Rudolphi, 1801. Para algumas espécies do gênero *Taenia* os mamíferos terrestres são essenciais para os ciclos de vida, com membros da ordem Carnivora atuando principalmente como hospedeiros definitivos e suas presas pertencentes às ordens Rodentia, Lagomorpha e Cetartiodactyla como hospedeiros intermediários (Bowman et al., 2002; Morand et al., 2006).

Estudos filogenéticos da família Taeniidae tem sido amplamente realizados em nível familiar, genérico e específico, sendo que, a maioria das análises moleculares tem se concentrado na elucidação das relações dentro dos gêneros *Taenia* e *Echinococcus*, devido à sua importância global na saúde humana e veterinária. Esses gêneros apresentam espécies causadoras de morbidade e mortalidade em humanos, perdas de produção para animais domésticos e a ocorrência de patógenos com potencial zoonótico (Morand et al., 2006; Miño et al., 2012). Estudos sugerem que, o gênero *Taenia* é um grupo altamente diverso e que revisões taxonômicas são necessárias para realizar a correta classificação das espécies. (Lavikainen et al., 2008; Jia et al., 2012)

Lamarck em 1816 colocou no gênero *Hydatigera* espécies que tinham felinos como hospedeiros definitivos e a estrutura única do estrobilocerco como forma infectante para esses hospedeiros. Já Wardle & McLeod em 1952 colocaram as seguintes seis espécies no gênero *Hydatigera*: *Taenia taeniaeformis*, *Taenia parva* Baer, 1924, *Taenia laticollis* Rudolphi, 1819, *Taenia balaniceps* Hall, 1910, *Taenia lyncis* Skinker, 1935 (sinonimizada com *Taenia rileyi* Loewen, 1929 por Verster, 1969) e *Taenia macrocystis* (Diesing, 1850). Posteriormente, Yamaguti em 1959 acrescentou *Taenia krepkogorski* Schultz & Landa, 1934 ao gênero. Finalmente, Abuladze em 1964 redefiniu os membros de *Hydatigera* spp. da seguinte forma: *T. taeniaeformis*, *T. krepkogorski*, *T. rileyi* e *Taenia hyperborea* von Linstow, 1905. Com base nas filogenias moleculares resultantes de trabalhos recentes, foi proposto a retomada do gênero *Hydatigera* com membros restritos à três espécies: *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) Lamarck, 1816, *Hydatigera krepkogorski* Schultz & Landa, 1934 e *Hydatigera parva* (Baer, 1926) Wardle & McLeod, 1952 (Nakao et al., 2013). Além disso, o estrobilocerco seria uma possível sinapormofia no gênero, que também é caracterizado por grandes ganchos rostelares e uma estreita especificidade de hospedeiros, restrita a felídeos e viverdes (família Viverridae)

como hospedeiros definitivos e roedores como hospedeiros intermediários. Em 2016, Lavikainen *et al.*, realizaram a descrição de outra espécie que foi incluída no gênero, *Hydatigera kamiyai*, em que os helmintos adultos foram recuperados do intestino delgado de gatos domésticos e lince-euroasiático na Finlândia e Japão.

Taxonomicamente, o helminto adulto tende a ser branco, corpo robusto e cerca de 15 a 60 cm de comprimento. O escólex tem duas fileiras de ganchos com cerca de 30 a 50 no total. Cada uma das proglotes maduras possui uma única abertura genital lateral que ocorre aleatoriamente em um lado de um segmento ou no outro (Okamoto *et al.*, 1995; Esfandiari & Youssefi, 2010). No ciclo biológico as proglotes terminais grávidas, cheias de ovos dos helmintos adultos, presentes no intestino delgado dos felídeos parasitados, são eliminadas nas fezes ou saem ativamente pelo ânus dos hospedeiros e podem ser encontradas no pelo dos animais. Os roedores ingerem os ovos e as larvas eclodem no intestino, migram através da parede intestinal e se desenvolvem para um estágio denominado estrobilocerco (*Cysticercus fasciolaris* Rudolphi, 1808) no fígado do roedor. Ao preda os roedores, os felídeos ingerem os estrobilocercos presentes no fígado dos animais infectados, que se desenvolvem em adultos no intestino delgado dos hospedeiros definitivos (Bowman *et al.*, 2002; Miño *et al.*, 2013).

Essa espécie está distribuída em todo o mundo, com relatos de felídeos parasitados nas Américas, Europa, África, Índia e Asia (Esfandiari & Youssefi, 2010; Lavikainen *et al.*, 2016). Embora *H. taeniaeformis* tenha uma ampla variedade de hospedeiros, a maioria dos estudos o registrou em gatos domésticos e roedores sinantrópicos, como *Mus musculus*, *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus* (Iwaki *et al.*, 1994; Lavikainen *et al.*, 2016). Entretanto, outras espécies já foram relatadas como hospedeiros intermediários, como *Clethrionomys rufocanus* Sundevall, 1846 (Iwaki *et al.*, 1994), *Apodemus argenteus* Temminck, 1844 (Okamoto *et al.*, 1995), *Myodes rufocanus* Sundevall, 1846 (Okamoto *et al.*, 1995), *Bandicota bengalensis* Gray, 1835, *Meriones persicus* Blanford, 1875 (Bowman *et al.*, 2002), *Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758 (Lavikainen *et al.*, 2008), *Akodon azarae* Fischer, 1829 (Miño *et al.*, 2013), *Sciurus ingrami* Thomas, 1901 (Melo *et al.*, 2018), além de, lagomorfos e até mesmo humanos (Loos-Frank, 2000; Bowman *et al.*, 2002). Assim como outras espécies, também já foram relatadas como hospedeiros definitivos além dos felídeos, o procionídeo *Procyon lotor* Linnaeus, 1758 (Matoba *et al.*, 2003), o canídeo *Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758 (Loos-Frank & Zeyhle, 1982), cães domésticos e humanos.

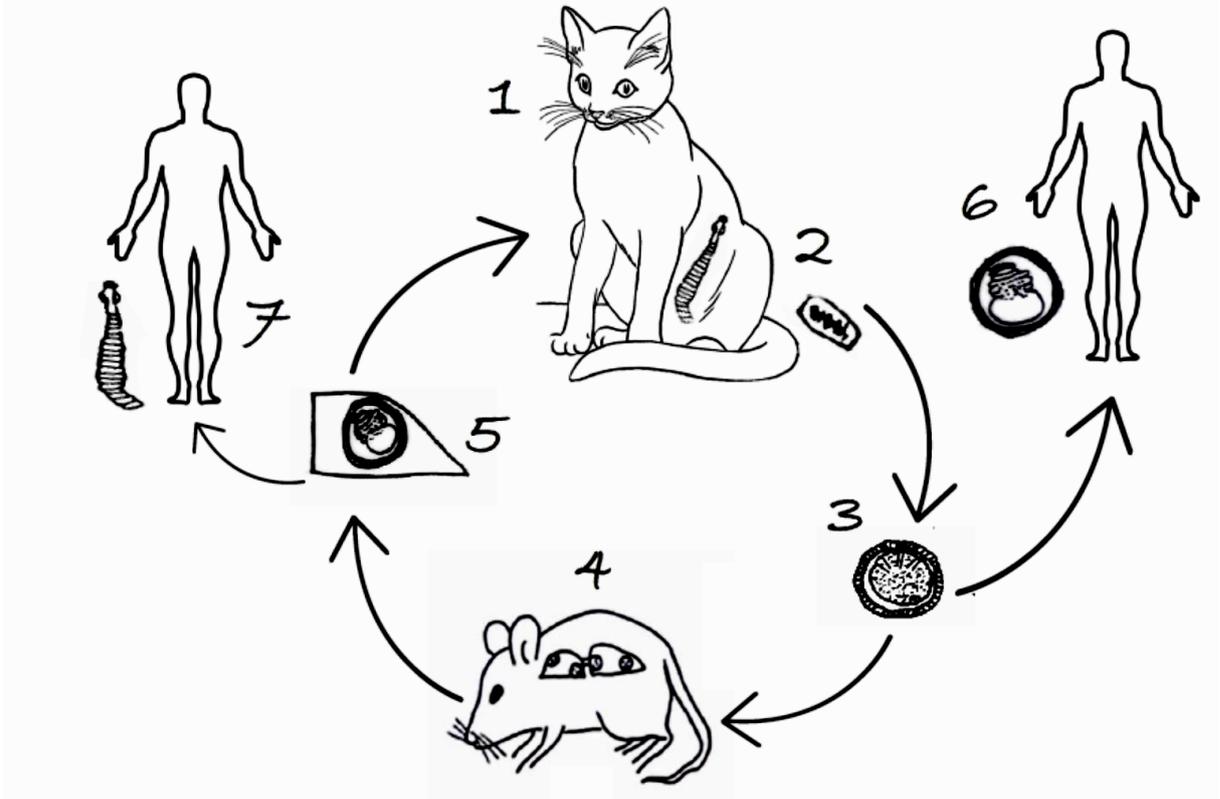


Figura 38. Ciclo biológico de *Hydatigera taeniaeformis* (Freitas, 1982 modificado). 1. Presença do cestódeo adulto no intestino delgado do hospedeiro definitivo. 2. Eliminação das proglotes terminais grávidas pelo hospedeiro definitivo. 3. Ingestão de ovos pelo hospedeiro intermediário. 4. Migração das larvas do intestino para o fígado do hospedeiro intermediário. 5. Ingestão do fígado contendo o cisto com o estrobilocerco pelo hospedeiro definitivo. 6. Ingestão acidental pelos humanos dos ovos de *H. taeniaeformis* desenvolvendo o cisto com o estrobilocerco no fígado. 7. Ingestão acidental pelos humanos do estrobilocerco de *H. taeniaeformis* desenvolvendo o helminto adulto no intestino delgado.

A infecção humana por *Hydatigera taeniaeformis* foi relatada pela primeira vez, em Buenos Aires, por Bacigalupo (1927), que acreditava que havia observado uma nova espécie, a *Taenia infantis* Joyeux e Baer (1929), entretanto, mostraram posteriormente que *T. infantis* era sinônimo de *H. taeniaeformis* (= *Taenia taeniaeformis*). Spassky et al. (1968) apontaram a infecção em um grupo de crianças e uma mulher de 55 anos do Japão, que Morishita e Sawada (1966) identificaram como espécies de *Multiceps*, mas que eram, de fato, *H. taeniaeformis*. Outro registro foi realizado em 1998 no Sri Lanka por Ekanayake *et al.*, em uma criança de sete anos. Há também um registro da ocorrência de cisticercose por *T. taeniaeformis* em humanos por Sterba e Barus em 1976. Sendo assim, esses relatos demonstram a importância de estudos que indiquem riscos às populações humanas susceptíveis, sobretudo em áreas com condições precárias de saneamento básico e elevada densidade de cães e gatos.

***Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819) Blanchard, 1891 (Cyclophyllidea:
Hymenolepididae)**

(Figuras: 39 e 40)

Hospedeiro: *Necromys lasiurus* Lund, 1841 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do mato; *Cerradomys subflavus* Wagner, 1842 (Rodentia: Cricetidae), nome comum: rato do arroz; *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae), nome comum: rato de telhado

Sítio de infecção: Intestino delgado

Localização: Parque Municipal Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W) Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)

Espécimes: 4

Geral: Adulto com corpo dividido em escólex, seguido pelo pescoço e estróbilo segmentado. Escólex com quatro ventosas e um rostelo desarmado no ápice. Quando sexualmente maduro, o estróbilo consiste em várias centenas de proglotes, ocupando aproximadamente os dois terços posteriores da estrutura contendo órgãos reprodutivos diferenciados. Hermafrodita, com maturação sexual das proglotes protândrica, com os órgãos do sistema masculino se desenvolvendo antes dos do sistema feminino. Proglotes terminais grávidas com embriões com casca e apolíticas, se destacando do estróbilo e se desintegrando para liberar os ovos. Corpo segmentado externamente ou divisível em uma série de proglotes discretas. O tegumento, os principais músculos longitudinais, os canais excretores e os cordões nervosos são contínuos de uma proglote para outra ao longo de todo comprimento. A superfície livre do tegumento é coberta por projeções digitiformes nomeadas de microtriches. O rostelo é densamente coberto por essas microtriches. Os poros genitais são unilaterais e encontrados em cada proglote. Apresenta três testículos medulares dispostos mais ou menos em linha reta com um no lado do poro genital e dois do lado oposto. Distalmente ao oótipo o oviduto se torna útero que consiste em apenas um saco final cego, até todas as outras estruturas do aparelho reprodutor feminino ter amadurecido. Com a produção de ovos, o útero se estende para ambas as margens laterais da proglote ocupando o espaço gerado pela desintegração dos órgãos reprodutores masculinos e posteriormente os femininos. Nesse estágio, a proglote é composta pelo útero cheio de ovos que serão liberados após a desintegração da proglote grávida. Ovos ovóides ou ligeiramente

com uma bainha externa estriada espessa e uma fina bainha interna. Oncosfera contém 6 ganchos localizados centralmente.

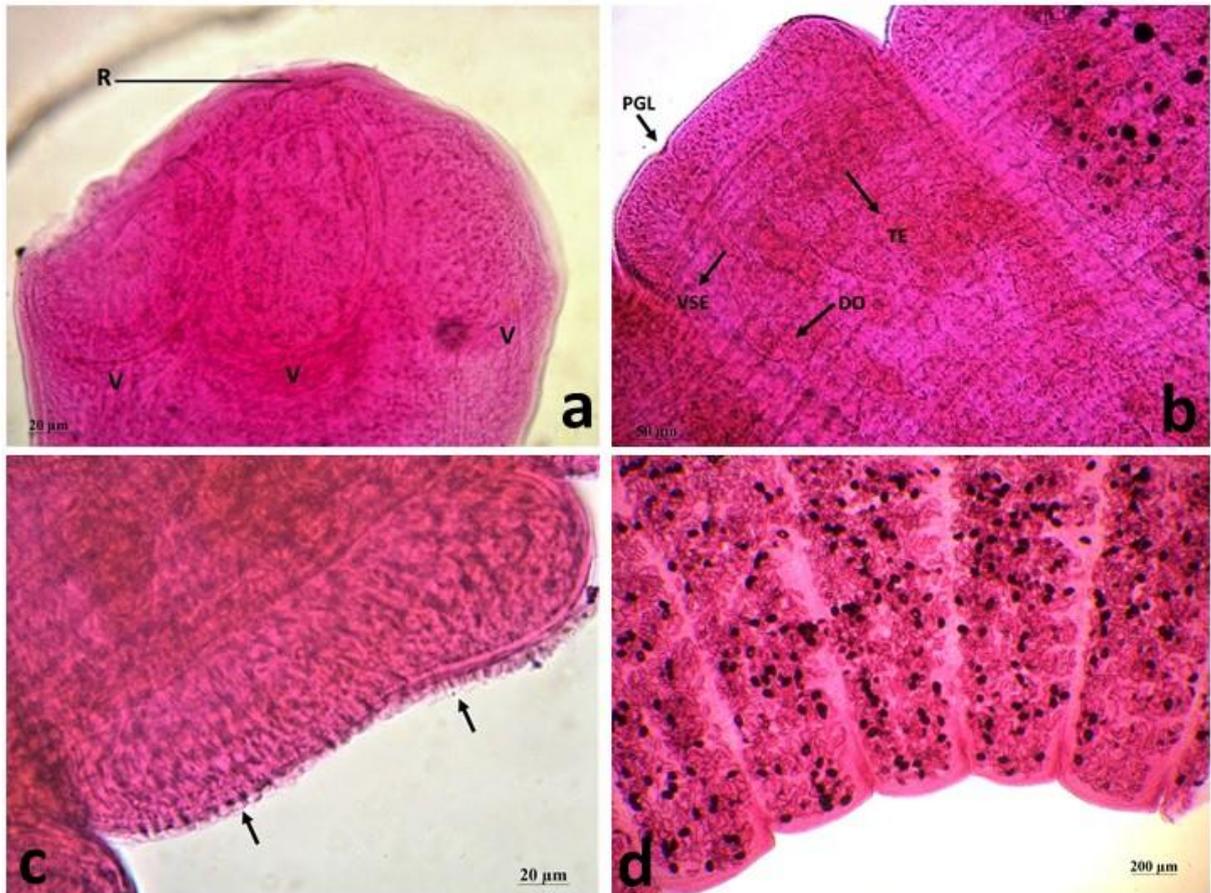


Figura 39. Espécime de *Hymenolepis diminuta*. (a) Excólex evidenciando o rostelo sem ganchos e três ventosas (V). (b) Proglote madura evidenciando o poro genital lateral (PGL), o testículo próximo ao poro (TE), a vesícula seminal externa (VSE) e o ovário em desenvolvimento (DO). (c) superfície livre do tegumento coberta por microtriches (setas). (d) Proglotes grávidas.

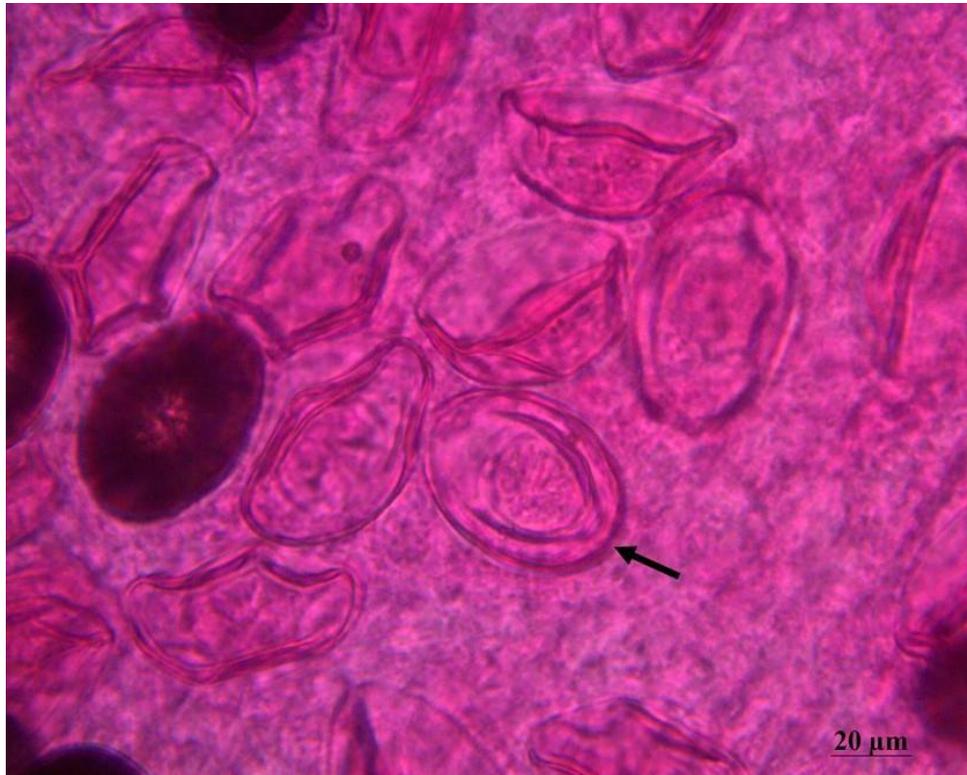


Figura 40. Espécime de *Hymenolepis diminuta* com proglote grávida em maior aumento evidenciando os ovos com a ooncosfera com ganchos.

Identificação molecular:

Foram obtidos fragmentos de 596 pb para a amostra PMAG17 de um roedor do PMM e de 603 pb para a amostra JC60 de um roedor do PMJC, como produto da amplificação usando o iniciador para o gene COI. Ao realizar a busca de similaridades no programa BLAST-N, o sequenciamento dos espécimes apresentou grande similaridade com sequências já depositadas de *Hymenolepis diminuta* para o gene COI. (Tabela 10).

Tabela 10. Similaridade resultante da análise pelo BLAST-N para duas sequências consenso de 596 pb e 603 pb para COI obtida pelo sequenciamento das amostras de *Hymenolepis diminuta* encontradas no presente trabalho.

Amostra	Similaridade	Região	Nº de acesso	E- value	Score máximo	Identidade
PMAG17	<i>Hymenolepis diminuta</i>	Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	JN252044,.1	0.0	652	503/577 (87%)
JC60	<i>Hymenolepis diminuta</i>	Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	JN252044,.1	0.0	652	507/583 (87%)

Comentários:

Os cestódeos da família Hymenolepididae Railliet & Henry, 1909 apresentam como características um pequeno número de testículos (um a quatro), os poros genitais unilaterais, grande vesícula seminal externa e a maioria das espécies são pequenas. Os helmintos dessa família parasitam aves, roedores, quirópteros e alguns outros mamíferos (Arai, 1980; Burt, 1980). Foram descritas em torno de 230 e 620 espécies de himenolepidídeos parasitando mamíferos e aves respectivamente, sendo que algumas espécies que parasitam roedores são de interesse para a saúde pública, por apresentarem potencial zoonótico, podendo causar doenças graves em indivíduos imunossuprimidos (Foronda et al., 2011; Fitte et al., 2017).

Uma das espécies da família que apresenta potencial zoonótico é *Hymenolepis diminuta* que parasita o intestino delgado de várias espécies de roedores e tem ampla distribuição mundial (Burt, 1980). Esse parasito apresenta ciclo biológico indireto que pode envolver insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Siphonaptera como hospedeiros intermediários. Diferentes espécies de pulgas já foram identificadas como hospedeiras de *H. diminuta*, como *Ctenocephalides canis* Curtis, 1826, *Ctenocephalides felis felis* Bouché, 1835, *Leptopsylla segnis* Schönherr, 1811, *Monopsyllus anisus* Rothschild 1907), *Nosopsyllus fasciatus* Bosc, 1800, *Orchopeas howardii* Baker, 1895, *Pulex irritans* Linnaeus, 1758 e *Xenopsylla cheopsis* Rothschild, 1903 (Heicher & Gallati, 1978). A forma encontrada no hospedeiro intermediário são larvas cisticercoides. O crescimento e o desenvolvimento da larva cisticercóide ocorrem na hemocele do hospedeiro intermediário. A penetração da parede intestinal é independente da metamorfose do hospedeiro e a larva em desenvolvimento é rodeada por uma cutícula fina de dois a três dias após entrar na hemocele. O desenvolvimento, que depende da temperatura, pode ocorrer em 5 dias a 37 ° C ou até 65 dias a 15 ° C (Burt, 1980). Ao ser ingerida pelo hospedeiro definitivo, a larva cisticercóide da origem ao adulto jovem que, uma vez estabelecido no intestino cresce e se desenvolve rapidamente.

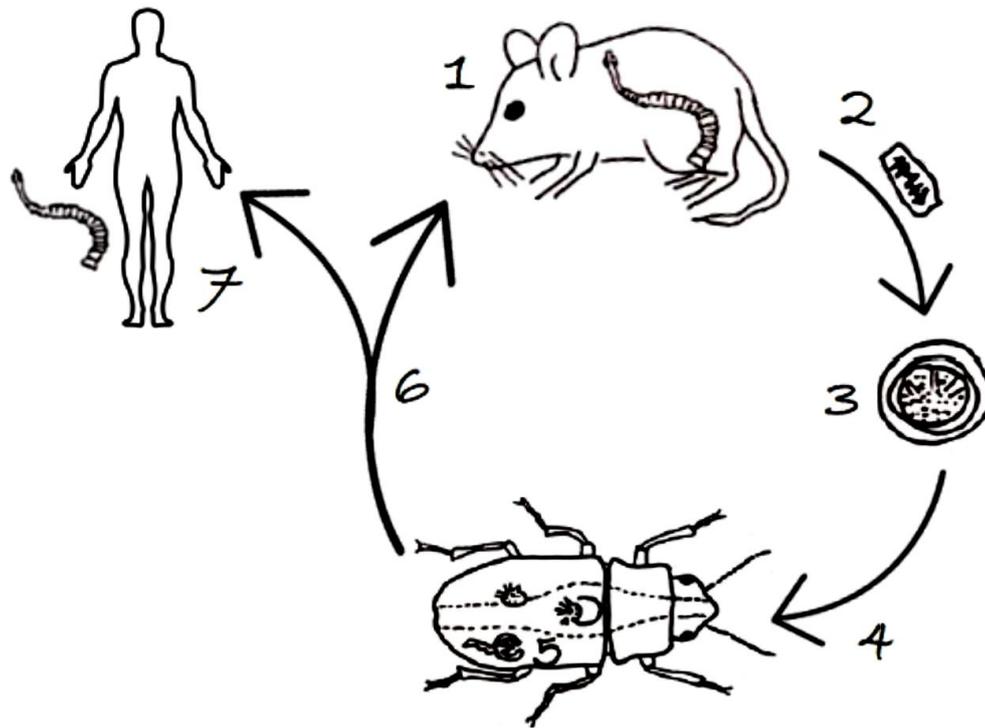


Figura 41. Ciclo biológico de *Hymenolepis diminuta* (Freitas, 1982 modificado). 1. Presença do cestódeo adulto no intestino delgado do hospedeiro definitivo. 2. Eliminação das proglotes terminais grávidas pelo hospedeiro definitivo. 3. Desintegração das proglotes no ambiente e liberação dos ovos. 4. Ingestão dos ovos pelo hospedeiro intermediário (coleóptero). 5. Migração das larvas do intestino para a hemocele do hospedeiro intermediário e desenvolvimento da larva cisticercoide. 6. Ingestão do hospedeiro intermediário, contendo a larva cisticercoide, pelo hospedeiro definitivo. 7. Ingestão acidental pelos humanos do hospedeiro intermediário, contendo a larva cisticercoide de *H. diminuta*, desenvolvendo o helminto adulto no intestino.

O primeiro relato de infecção por *H. diminuta* em humanos foi atribuído a Railliet e Zschokke, que identificaram a espécie a partir de fragmentos depositados no Museu de Alfort (França) antes de 1810. Quase um século depois, Deaderick (1906) revisou as primeiras 11 infecções humanas identificadas. Posteriormente, as revisões realizadas por Riley e Shannon (1922) e Burt (1980) relataram 61 e 202 casos humanos em todo o mundo, respectivamente. Além disso, Chandler (1922), Margono (1989) e Wiwanitkit (2004) revisaram os casos registrados nos Estados Unidos, Indonésia e Tailândia (Pati-May et al., 2019). Em contraste com a espécie *Hymenolepis nana* Siebold, 1852, outro cestódeo que causa a himenolepiase, no qual foram identificados mais de 175 milhões de casos da doença causada por essa espécie,

foram descritos apenas algumas centenas de pessoas infectadas com *H. diminuta* (Yang et al., 2017) Entretanto, ambas as parasitoses compartilham algumas características epidemiológicas, como maior prevalência em crianças de áreas marginalizadas com hábitos de higiene e condições sanitárias precárias e alta densidade populacional (Martinez-Barbabosa et al., 2012). Conseqüentemente, a himenolepíase é uma doença zoonótica negligenciada em humanos causada pelos cestódeos *H. nana* e *H. diminuta*, sendo globalmente difundidos, mas endêmicos na Ásia, Sul e Europa Oriental, América Central e do Sul e África (Thompson, 2015). O mais recente levantamento de infecções humanas por *H. diminuta*, demonstra que foram relatados casos em 80 países ao redor do mundo de 1810 a 2018. A maioria dos casos foram relatados nas Américas (n = 815), sudeste da Ásia (n = 226) e no Mediterrâneo oriental (n = 210), com o Brasil exibindo 140 casos. No entanto, considerando apenas os relatórios recentes (2000-2018) o Brasil apresentou 53 casos (Panti-May et al., 2020).

Geralmente, os casos humanos são assintomáticos. No entanto, humanos infectados com esses parasitos podem apresentar sintomas clínicos leves, principalmente diarreia, dor abdominal, anorexia e manifestações gastrointestinais vagas. Entretanto, a infecção por *H. diminuta* pode causar doenças graves, até mesmo condições de risco de vida em indivíduos imunossuprimidos (Yang et al., 2017).

Rhopalias coronatus* (Rudolphi, 1819) Stiles & Hassall 1898 (Digenea: Echinostomatidae)*(Figuras: 42 e 43)****Hospedeiro:** *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Didelphimorphia: Didelphidae), nome comum: gambá de orelha branca**Sítio de infecção:** Intestino delgado**Localização:** Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°56'43"S; 43°54'42"W)**Espécimes:** 4

Geral: Corpo alongado. Porção anterior mais larga, separada da porção posterior por uma ligeira constrição que se inicia ao nível do acetábulo. Corpo recoberto por espinhos que se estendem até próximo à extremidade distal. Comprimento 2,61 – 3,5 (3,14 ± 0,41) mm. Largura 0,54 – 0,68 (0,63 ± 0,06) mm. Grupo de cerca de 18 espinhos na região dorsal da ventosa oral. Extremidade anterior com duas probóscidas retráteis de comprimento 0,27 – 0,53 (0,43 ± 0,120) mm e largura 0,08 – 0,1 (0,09 ± 0,01) mm. Ventosa oral subterminal com 0,1 - 0,19 (0,14 ± 0,04) mm de comprimento e 0,1 – 0,16 (0,12 ± 0,03) mm de largura. Acetábulo 0,28 – 0,38 (0,33 ± 0,04) mm de comprimento e 0,22 – 0,27 (0,24 ± 0,02) mm de largura. Aparelho digestivo representado pela boca com abertura no meio da ventosa oral seguida por uma faringe com a porção final musculosa 0,17 – 0,27 (0,23 ± 0,04) mm de comprimento e 0,07 – 0,083 (0,8 ± 0,01) mm de largura. Em seguida um curto esôfago e os cecos com bifurcação próxima ao acetábulo atingindo a extremidade posterior. Abertura genital situada logo acima do acetábulo. Bolsa do cirro grande e claviforme, iniciando ao nível do ovário e desemboca no poro genital com 0,67 – 0,9 (0,79 ± 0,1) mm de comprimento e 0,13 – 0,24 (0,19 ± 0,05) mm de largura. Aparelho reprodutor constituído de ovário esférico e pré-testicular com 0,14 – 0,18 (0,16 ± 0,02) mm de diâmetro. Útero pouco desenvolvido indo da zona ovariana à região do poro genital. Dois testículos de bordas irregulares, um atrás do outro posteriores ao ovário. Testículo anterior 0,18 – 0,24 (0,22 ± 0,03) mm de comprimento e 0,26 – 0,35 (0,31 ± 0,04) de largura. Testículo posterior 0,31 – 0,47 (0,39 ± 0,07) mm de comprimento e 0,22 – 0,31 (0,26 ± 0,04) mm de largura. Folículos vitelínicos extra e inter-cecais, ocupando toda a região pós-testicular. Vesícula excretora com abertura na extremidade posterior do corpo, através do poro excretor. Ovos operculados, de casca fina e lisa com 92,11 – 100,96 (95,43 ± 2,38) mm de comprimento e 50,32 – 58,6 (54,7 ± 2,12) mm de largura.

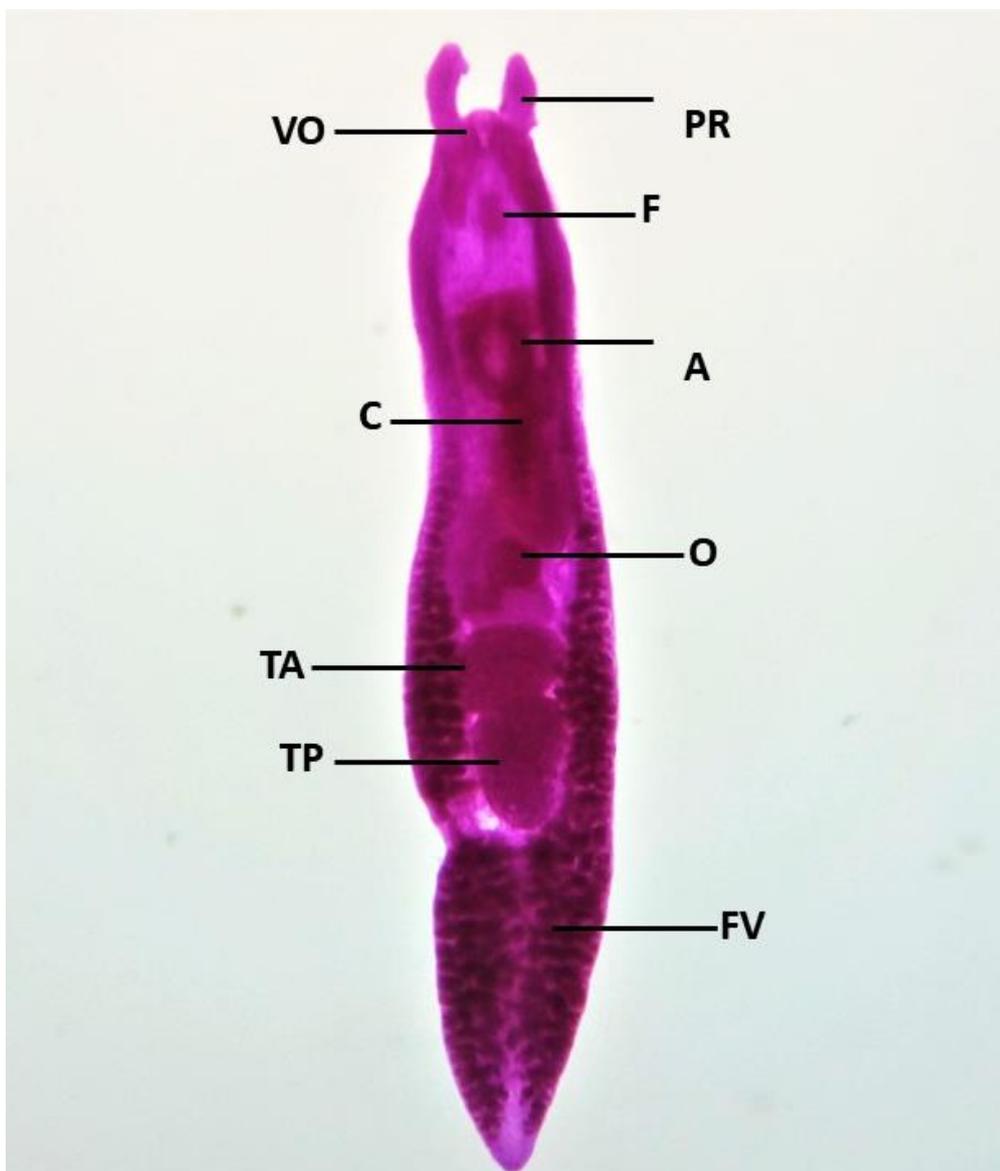


Figura 42. Espécime de *Rhopalias coronatus*. Adulto de corpo inteiro evidenciando as probóscidas retráteis (PR), a ventosa oral (VO), a faringe (F), o acetábulo (A) a bolsa do cirro (C), o ovário (O), o testículo anterior (TA), o testículo posterior (TP) e os folículos vitelínicos ocupando toda a região pós-testicular (FV). Imagem em microscópio estereoscópio em 16X.

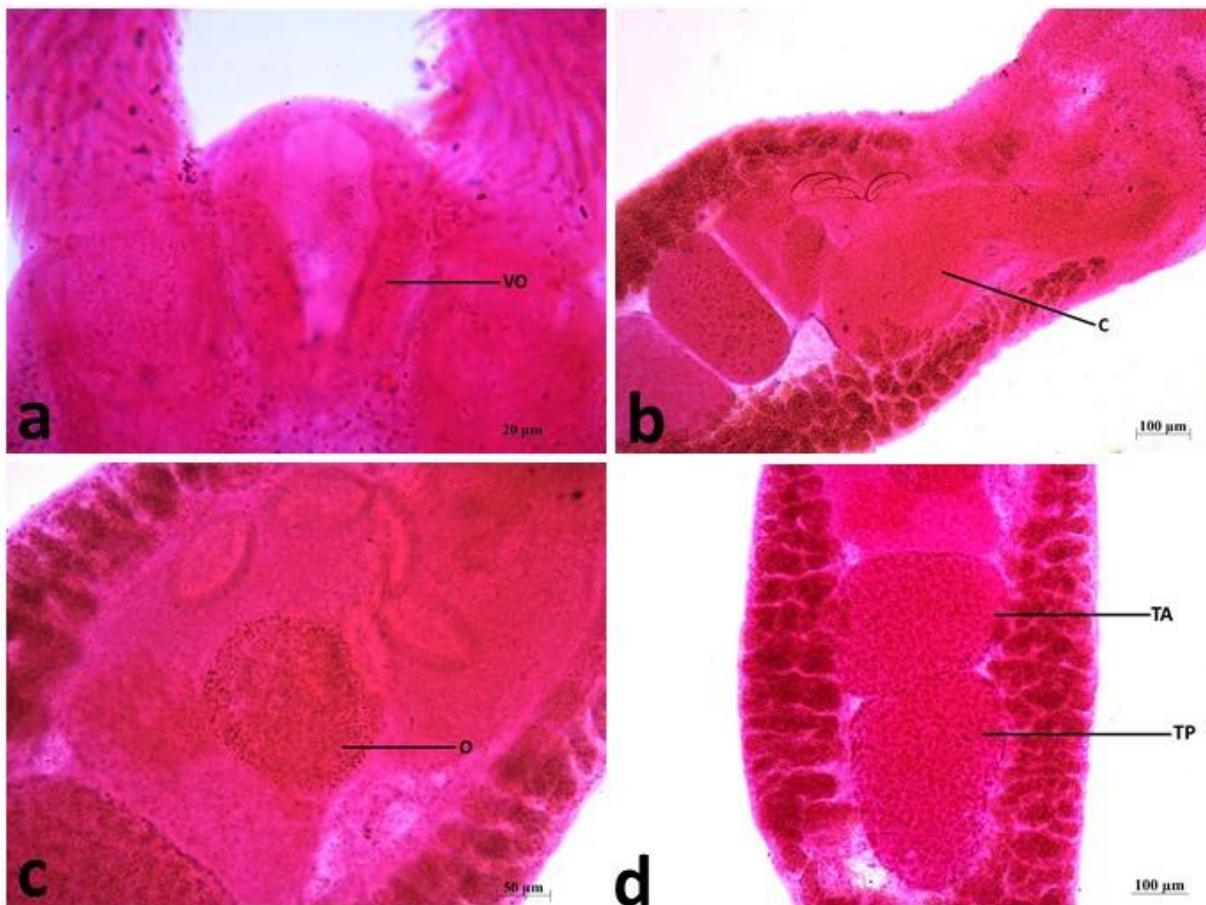


Figura 43. Espécime de *Rhopalias coronatus*. Maior aumento evidenciando: (a) a ventosa oral (VO); (b) a bolsa do cirro grande e claviforme (C); (c) o ovário esférico e pré-testicular (O); (d) os dois testículos de bordas irregulares, testículo anterior (TA) e testículo posterior (TP) um atrás do outro posteriores ao ovário.

Comentários:

As espécies do gênero *Rhopalias* (Rudolphi, 1819) são parasitos do intestino delgado de marsupiais das regiões Neártica e Neotropical (Haverkost & Gardner, 2008; Fernandes et al., 2015).

Stiles & Hassall em 1898, propõem para um grupo de helmintos o nome *Rhopalias*. Em 1901, Braun faz um estudo do gênero descrevendo *Rhopalias baculifer*. Além disso Chandler, em 1932, descreve uma nova espécie *Rhopalias macracanthus*, parasita de marsupial na América do Norte. Ao rever o gênero em 1938, Hearin descreve *Rhopalias louisiana*, parasita de *Didelphis virginiana* Kerr, 1792. Caballero, Bravo Hollis & Cerecero em 1944, relatam as espécies *R. coronatus* e *R. macracanthus* em marsupiais no México, mostrando que essas espécies podem ter uma ampla distribuição geográfica. Dois anos depois, Caballero relata *Rhopalias horridus* na Guatemala. Em 1951, Wolfgang relata *R. coronatus* em Trinidad e publica uma chave para a determinação das espécies do gênero. Logo depois, redescrivendo *R. coronatus* em 1958, Sanders publica um mapa da distribuição geográfica e um quadro comparativo das espécies, que também foi feito por Caballero & Montero Gei incluindo os hospedeiros. Prod'Hon em 1968, descreve *Rhopalias dobbini* como nova espécie do Brasil. Posteriormente, no trabalho “Trematódeos do Brasil”, Travassos, Freitas & Kohn, em 1969, reproduzem as descrições e as figuras das espécies brasileiras de *Rhopalias* segundo Braun, 1901. Em 1972, Gomes & Vicente fazem uma revisão do gênero incluindo espécies que parasitam marsupiais desde o Uruguai até o sul dos Estados Unidos. Finalmente, a última revisão do gênero foi realizada por Haverkost & Gardner em 2008.

De acordo com Haverkost & Gardner (2008), *R. coronatus* se distingue das outras espécies, pela presença de, entre 3 e 11 espinhos orais, visíveis dentro dos sacos tentaculares, que se estendem muito além da margem posterior da faringe. No Peru, *R. coronatus* foi registrado em quatro hospedeiros marsupiais. Esta espécie também foi registrada na Argentina, Bolívia, Brasil, Costa Rica, Equador, México, Paraguai e Venezuela (Acosta-Virgen et al., 2015; Fernandes et al., 2015; Rodríguez-Ortiz et al., 2004).

10. DISCUSSÃO

Os resultados apresentados demonstram que o número de espécies de pequenos mamíferos capturadas nos dois parques foram diferentes, sendo cinco espécies no Parque das Mangabeiras e quatro no Parque Jacques Cousteau. Um número baixo, se comparado com outros estudos em áreas de Mata Atlântica, bioma presente nos dois parques, que variam normalmente entre 8 e 23 espécies (Pardini & Umetisu, 2006; Cardoso et al., 2021). Ambos os parques pesquisados representam fragmentos de floresta Atlântica em meio a uma área densamente urbanizada e ampla. Este fato justifica o menor número e diversidade de espécies de animais capturados em comparação a esses estudos. Nesse contexto, os fragmentos florestais, representados pelos parques urbanos na cidade de Belo Horizonte, onde os pequenos mamíferos foram capturados, apresentam áreas pequenas de florestas para algumas espécies persistirem, ou esses fragmentos são muito distantes uns dos outros para essas espécies se deslocarem, resultando em um longo processo de decomposição em diversidade residual do habitat remanescente (Krauss et al., 2010; Morris, 2010). Outro fator importante que afeta a riqueza e composição das espécies são, os efeitos de borda que podem alterar o microclima desses fragmentos (Ewers & Didham 2006). Esses fatores associados, podem justificar a baixa diversidade de espécies capturadas. No caso do PMM, que apresenta uma área de floresta, composta por dois biomas, Cerrado e Mata atlântica, maior e mais preservada, além de ter corredores de mata que liga o parque a outras áreas florestadas, a diversidade de espécies foi maior que no PMJC. Um exemplo é a presença de mamíferos de médio porte como os quatis (*Nasua nasua*), espécie símbolo do parque (Hemetrio, 2007) e a cuíca *M. incanus*, espécie endêmica do Brasil, na Mata Atlântica, encontrada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Gardner, 2007). Essa espécie de cuíca, é negativamente afetada por mudanças na paisagem natural, sendo sensível a fragmentação da paisagem (Rocha & Louzada, 2011). Estudos mostram que a espécie ocorre nas áreas florestadas e corredores de mata e sua ocorrência diminui nas bordas e em especial nos fragmentos pequenos, sendo fortemente dependente das florestas (Pardini et al., 2005; Umetsu & Pardini, 2007; Rocha & Louzada, 2011). Diante disso a captura de *M. incanus* no PMM é justificada, já que o parque tem áreas de floresta mais preservadas, com a presença de nascentes e corredores de mata, diferente do PMJC, no qual a espécie não foi capturada, que apresenta uma pequena área florestada, sem corredores de mata, sofrendo mais com os efeitos de borda.

Por outro lado, os gambás (*D. albiventris* e *D. aurita*), por serem frugívoros/onívoros e oportunistas, se adaptam mais facilmente a diferentes ambientes, apresentando alta sinantropia,

convivendo com os humanos no meio rural e nas cidades, onde são cada vez mais frequentes (Castro et al., 2017). Essas características associadas ao uso generalista do habitat (Junior & Leite, 2007) tornam essas espécies abundantes, com altas densidades populacionais, principalmente em áreas próximas a habitações humanas (Gentile et al., 2000), tornando os gambás animais silvestres sinantrópicos (Teodoro et al., 2019). Ambas as espécies são adaptadas e podem ser encontradas em áreas antrópicas. Entretanto, *D. albiventris* é a mais comumente encontrada, tanto no nível do solo quanto no dossel das árvores (Cerqueira & Tribe, 2007). Semelhantemente ao relatado, no PMM as duas espécies de gambás foram capturadas. Entretanto, *D. albiventris* foi mais capturada na trilha 3, área mais antropizada do parque, próxima a Vila Marçola. Quanto ao *D. aurita*, a maioria dos animais foram capturados na trilha 2, área de mata mais preservada do parque, próxima a nascentes. Sugerindo uma maior preferência de *D. albiventris* a áreas mais antropizadas, quando comparado com *D. aurita* em um mesmo fragmento. No PMJC apenas a espécie *D. albiventris* foi capturada. O que reforça a capacidade desses animais de se adaptarem a fragmentos pequenos e altamente antropizados.

No que se refere aos roedores, duas espécies silvestres foram capturadas nos dois parques, *N. lasiurus* e *C. subflavus*. O roedor *N. lasiurus* possui hábitos terrestres e prospera em vários biomas, incluindo Cerrado, Caatinga, Pantanal e áreas abertas da Mata Atlântica, onde é considerado uma espécie invasora (Reis et al., 2011; Costa et al., 2019). Essa espécie só foi capturada na área de transição Cerrado e Mata Atlântica no PMM e foi mais capturada na área de Cerrado e pastagens variadas no PMJC, corroborando com estudos que demonstram que a espécie tem preferência em habitar áreas de Cerrado (Becker et al., 2007; Costa et al., 2019). Além disso, *N. lasiurus* pode atuar como uma espécie oportunista, ocorrendo em vários ambientes perturbados, incluindo fragmentos florestais, peridomicílios e áreas rurais (Gentile & Fernandez, 1999; Olifiers et al., 2005). Nessas áreas, a espécie pode se reproduzir de forma ampla, uma modificação de comportamento que tem sido diretamente associada a doenças zoonóticas (Suzuki et al., 2004; Limongi et al., 2013; Oliveira et al., 2014), sendo a espécie conhecida por ser um importante reservatório de Hantavírus (Limongi et al., 2013; Oliveira et al., 2014) e Arenavírus (Fernandes et al., 2015; Sabino-Santos et al., 2016), e podendo atuar como um reservatório/hospedeiro de *Trypanosoma cruzi* (Orozco et al., 2014). Esse comportamento pode estar associado a um maior número de animais capturados no PMJC (n= 34), comparando com o PMM (n= 4), já que o primeiro parque é um ambiente mais perturbado com uma maior oferta de alimentos próximo à área que a espécie habita e, já no PMM a área habitada é mais distante dos bairros e construções, e menos antropizada.

A outra espécie silvestre capturada, *C. subflavus*, ocorre no cinturão de vegetação aberta que atravessa a América do Sul, do nordeste do Brasil ao sudeste da Bolívia e noroeste do Paraguai (Patton et al., 2015). Os biomas Caatinga, Cerrado e Chaco formam essa área, também conhecida como “diagonal seca” (Costa, 2003). No entanto, essa espécie está predominantemente associada a habitats florestais que ocorrem em toda esta região, incluindo matas de galeria, manchas de floresta semidecídua úmida (brejos) e savanas florestais (cerradão) (Patton et al., 2015). A associação dos dois biomas, Cerrado e Mata Atlântica nos dois parques estudados, é o que pode estar permitindo a sobrevivência da espécie nesses fragmentos. No PMM os animais foram capturados na área de transição Cerrado e Mata Atlântica e no PMJC foram mais capturados na área mais aberta com forragens variadas. No entanto, essa espécie também apresenta hábitos generalistas e está associada a ambientes antropizados, no qual foram capturados no presente estudo.

O rato-preto (*R. rattus*) é uma espécie exótica introduzida nas Américas durante o período de colonização (Caldart et al., 2017). É também conhecido como rato de telhado devido a habilidade para escalar, frequentando forros de casas e escalando paredes facilmente, sendo predominante na maioria das áreas rurais do Brasil e apresentando alta distribuição em centros urbanos (Olifiers et al., 2005). Essa espécie é introduzida nos fragmentos florestais nas cidades ao longo do processo de urbanização e a presença de moradias humanas próximas a esses habitats naturais, influencia a presença desses animais nesses locais, já que *R. rattus* é uma espécie exótica, cuja ocorrência está diretamente relacionada aos assentamentos humanos e não é capturada em florestas primárias nas regiões neotropicais (Emmons & Feer, 1997). Sendo assim, podemos associar a presença de *R. rattus* no PMJC e o fato de ter sido a espécie mais capturada (n= 39), com a relação desses animais com a população humana, visto que o parque está completamente inserido no Bairro, muito próximo de residências, comércio, escola e hospital. Já no PMM, uma área de mata maior e mais preservada, a espécie não foi capturada, o que seria justificado nas trilhas um e dois, mas que em relação a trilha três, área mais antropizada do parque e muito próxima a residências e depósito de lixo, seria esperado que a espécie fosse capturada. Sendo assim, podemos inferir que um dos motivos da espécie não ser capturada nessa trilha seria a realização de controle de roedores na Vila Marçola que é feita periodicamente pelos Agentes de Combate a Endemias da Prefeitura de Belo Horizonte (Prefeitura de Belo Horizonte, 2021).

A ocorrência de roedores sinantrópicos comensais, como o *R. rattus*, e seus parasitos, pode ter um grande impacto na estrutura das comunidades de mamíferos residentes e, suas

relações parasito-hospedeiro, pode eventualmente, modificar os ciclos de transmissão de muitos agentes etiológicos (Bush et al., 2001). Nesse cenário, como é o caso do PMJC, os ratos, muitas vezes altamente competentes para a transmissão de certos agentes, até mesmo os zoonóticos (Bruno & Bard, 2012; Herrera et al., 2008; Sales et al., 2010), podem transmiti-los às espécies nativas, como os roedores *C. subflavus*, *N. lasiurus* e em alguns casos para *D. albiventris*, um processo conhecido como *spillover*. Em contrapartida, as espécies invasoras também podem adquirir novos parasitos de espécies silvestres, o que pode resultar no aumento da abundância desses parasitos e de um aumento da probabilidade de nova infecção das espécies nativas, processo conhecido como *spillback* (Poulin, 2018). No caso do PMJC ocorre o compartilhamento de espécies de helmintos entre as duas espécies de roedores silvestres e *R. rattus* como *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) e *Nippostrongylus brasiliensis* recuperadas dos três hospedeiros, e estrobilocercos de *Hydatigera taeniaeformis*, recuperados dos ratos e *N. lasiurus*.

Em relação a *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*), a transmissão humana em áreas urbanas está relacionada com a presença de ratos (*R. rattus* e *Rattus norvegicus*) e com as condições higiênicas e sanitárias precárias, com ingestão de ovos presentes no solo ou em ambientes contaminados (Gonçalves et al., 2012; Moreira et al., 2013; Fueherer, 2014). As três espécies de roedores capturadas no PMJC fazem parte do ciclo desse parasito, com prevalência média de infecção de 26,6%. De acordo com estudos publicados em roedores, as características como a alta prevalência de infecção natural, a rápida mudança populacional e o hábito de canibalismo podem explicar a elevada transmissão do parasito entre esses roedores e seu envolvimento na contaminação ambiental por ovos (Leslie & Deplazes, 2005; Fueher et al., 2011). A presença de animais domésticos (cães e gatos) também pode contaminar o solo com fezes infectadas, após esses animais predarem pequenos roedores, carcaças ou fígado infectado de outros mamíferos. A participação dos animais domésticos nos ciclos domiciliares ainda não está bem definida (Gonçalves et al., 2012). Um indicativo de que no PMJC ocorre a presença de cães e gatos, seria a infecção por estrobilocerco de *H. taeniaeformis* nos *R. rattus* e *N. lasiurus* que tem prevalência média de 18,6%, e que tem como hospedeiros definitivos felídeos, incluindo os gatos domésticos e os cães (Loos-Frank & Zeyhle 1982; Lavikainen et al., 2016). Além disso, foram encontrados dois animais coinfectados com os dois parasitos, sendo um *R. rattus* e um *N. lasiurus*. Da mesma forma, *H. taeniaeformis*, pode parasitar humanos, sobretudo em locais com condições precárias de saneamento básico e elevada densidade de cães e gatos (Sterba & Barus, 1976). O contato frequente com animais domésticos e uma população de ratos

circundante, foi relatado por vários autores (Silverman et al., 1973; Choe et al., 1993; Camargo et al., 2010). Cochrane *et al.* (1957) relataram alta infecção em um roedor (*Mastomys natalensis*) capturado na casa de um paciente com capilaríase hepática, e Juncker-Voss *et al.* (2000) encontraram esse nematódeo no fígado de camundongos capturados no jardim zoológico de Viena – Áustria, onde dois funcionários foram testados positivos para anticorpos contra *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*). A geofagia é um risco especial para crianças. Os hábitos alimentares de areia, terra e sujeira foram documentados por vários autores em crianças com capilaríase hepática (Cochrane et al., 1957; Calle, 1961; Silverman et al., 1973). A dinâmica da transmissão de *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) e de *H. taeniaeformis* e os fatores de risco associados, demonstram a importância de maiores estudos e o acompanhamento das populações de roedores e animais domésticos no PMJC, para realização de planos de manejo para o parque e educação ambiental e sanitária para a população do entorno, com objetivos de redução do risco de infecção para os moradores e visitantes.

A fibrose septal causada por *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*) em roedores já foi descrita em diferentes trabalhos, sendo que geralmente a identificação da espécie é realizada através da descrição histopatológica da lesão provocada no fígado e pelas características histopatológicas dos adultos e ovos (Gotardo et al., 2003; Barbosa et al., 2010; Dubey et al., 2018). Devido a impossibilidade de recuperação de espécimes adultos, a identificação da espécie no presente estudo seguiu os mesmos critérios, já que as lesões macroscópicas e microscópicas descritas foram compatíveis com a de estudos realizados anteriormente.

Diferente das outras espécies que apresentam potencial zoonótico, que foram recuperadas apenas no PMJC, o cestódeo *Hymenolepis diminuta* foi recuperado de roedores dos dois parques. No PMM um *N. lasiurus* e um *C. subflavus*, capturados na mesma trilha estavam parasitados. Já no PMJC foram quatro *R. rattus*, capturados na trilha 1 e um na trilha 2, dois *C. subflavus* capturados na trilha 2 e 10 *N. lasiurus* também capturados na trilha 2. Os hospedeiros definitivos mais comuns de *H. diminuta* são ratos sinantrópicos, como *Rattus norvegicus* e *R. rattus*. Entretanto, esse cestódeo também foi relatado em cães, primatas não humanos, outras espécies de roedores, entre outros mamíferos selvagens (Burt, 1980). Esse parasito foi encontrado em *R. norvegicus* e *R. rattus* em diferentes tipos de ambientes, mas principalmente próximo de assentamentos humanos. A presença de roedores nas residências de pacientes com *H. diminuta* foi relatada em poucos estudos (Watwe & Dardi, 2008; Rivero et al., 2009; Rohela et al., 2012; Kalaivani et al., 2014; Sungkar et al., 2017), mas apenas Fisher (1934) e Álvarez-

Fernández *et al.* (2012) encontraram o parasito em ratos que habitam as casas das famílias dos pacientes. Ainda não está claro como os humanos adquirem a infecção. Dado que, a maioria dos casos de infecção por *H. diminuta* foi relatada em crianças, uma hipótese seria a de que elas podem adquirir a infecção através da ingestão de insetos, enquanto a infecção em adultos pode ocorrer por ingestão involuntária de alimentos contaminados com insetos infectados, ou pela ingestão voluntária de insetos comestíveis, em países onde ocorre essa prática (Panti-May *et al.*, 2020).

As possíveis justificativas para a presença de duas espécies com potencial zoonótico apenas no PMJC e, no caso de *H. diminuta*, um maior número de roedores parasitados, pode ser devido a grande diferença de roedores eutanasiados nos dois parques, sendo 14 no PMM e 102 no PMJC e a presença do roedor sinantrópico *R. rattus*, já que não houve diferenças no período amostral nos dois parques, e no caso do PMM que apresenta uma área maior que a do PMJC, foi feito um transecto a mais com um número maior de armadilhas distribuídas. Como já foi demonstrado, as espécies mais generalistas de pequenos mamíferos, como é o caso das encontradas no presente estudo, se adaptam as condições adversas dos parques urbanos e usam seus recursos, como alimentação, abrigo e a ausência de predadores naturais para se tornarem abundantes localmente (Vieira & Monteiro-Filho, 2003; Pardini *et al.*, 2005; Verberk, 2011). Assim, essas comunidades podem se tornar restritas a um pequeno número de espécies, como é o caso dos dois parques, aumentando significativamente suas densidades populacionais (Ruedas *et al.*, 2004; Carroll *et al.*, 2005; Mills, 2006), como é o caso do PMJC que apresenta uma área menor, sem corredores de mata e sofre de uma maior pressão antrópica quando comparado com o PMM. Outro fator importante, é a presença do roedor sinantrópico *R. rattus* no PMJC que é citado como um importante hospedeiros das três espécies zoonóticas relatadas. Essa espécie de rato, que pode transitar entre o ambiente de mata e o bairro, pode estar mantendo o ciclo desses parasitos, transmitindo para as outras espécies de roedores, devido ao maior contato entre elas, favorecido pela alta densidade populacional.

As outras espécies descritas nesse trabalho, são comumente relatadas parasitando os pequenos mamíferos, a maioria sem causar doença, sendo essa característica relatada em *Physaloptera bispiculata*, no qual os helmintos adultos são hematófagos podendo causar gastrite catarral ou hemorrágica e anemia (Urquhart *et al.*, 1998; Fortes, 2004). Dos parasitos em que a identificação completa não foi concluída, apenas *Trichuris* sp. apresenta espécies que podem parasitar humanos. Sendo assim, a correta identificação nos dois parques que

apresentam roedores parasitados é necessária para avaliar a ocorrência de parasitos que podem ser um risco para a população do entorno e visitantes.

A presença de roedores sinantrópicos em parques urbanos vem sendo descrita em vários países, além da ocupação desses espaços por espécies generalistas, que de certa forma acabam participando do ciclo de diferentes agentes com potencial zoonótico. Os programas de controle de roedores no Brasil se concentram principalmente no *R. norvegicus*, cuja presença está associada à leptospirose, devido à alta densidade populacional dessa espécie de rato, grande população humana de baixa renda, más condições sanitárias e constantes inundações em algumas áreas. Em algumas propriedades, como escolas, creches e outros prédios públicos, a espécie *R. rattus* também é controlada (Babolin et al., 2016). No caso do PMJC, a presença de *R. rattus* em alta densidade populacional precisa ser monitorada, sendo o programa de controle de roedores estendido para essa região. Além disso, o monitoramento das espécies silvestres também se torna necessário, já que elas também participam do ciclo das espécies de helmintos que apresentam potencial zoonótico relatadas nesse estudo.

Os resultados obtidos nesse capítulo demonstram a importância da pesquisa realizada em fragmentos de matas dentro dos centros urbanos e do monitoramento dos animais que habitam esses locais, devido a capacidade dessas espécies de hospedar agentes com potencial zoonótico, aumentando o risco de transmissão de doenças para a população humana. Uma atenção especial deve ser dada as espécies sinantrópicas e de animais domésticos, pela maior proximidade desses animais com a população que reside no entorno desses parques.

11. CONCLUSÃO

- A diversidade de espécies de pequenos mamíferos capturadas no Parque Municipal das Mangabeiras e Parque Municipal Jacques Cousteau foi baixa, sendo a maioria delas espécies generalistas.
- A espécie exótica e sinantrópica *R. rattus* foi capturada apenas no Parque Municipal Jacques Cousteau, sendo a espécie mais capturada, com total de 39 animais.
- Os pequenos mamíferos do Parque Municipal das Mangabeiras e Parque Municipal Jacques Cousteau são parasitados por helmintos do filo Nematoda e das classes Cestoda e Trematoda.
- Foram identificadas três espécies que apresentam potencial zoonótico no Parque Municipal Jacques Cousteau, *Calodium hepaticum* (sin. *Capillaria hepatica*), *Hydatigera taeniaeformis* e *Hymenolepis diminuta*, que também foi identificada no Parque Municipal das Mangabeiras.

CAPÍTULO II

**ACHADOS TAXONÔMICOS, MOLECULARES E PATOLÓGICOS DO CICLO
NATURAL E CICLO EXPERIMENTAL DE *Angiostrongylus cantonensis*
RECUPERADO DE *Rattus rattus* E *Achatina fulica* NO PARQUE MUNICIPAL
JACQUES COUSTEAU EM BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS.**

12. INTRODUÇÃO

12.1. Características gerais da espécie *Angiostrongylus cantonensis*

Angiostrongylus cantonensis Chen, 1935, é um nematódeo que pertence ao filo Nematoda, superfamília Metastrongyloidea Lane, 1917, família Angiostrongylidae Boehm & Gebauer, 1934 e gênero *Angiostrongylus* Kamensky, 1905. Esse agente, causa a meningoencefalite eosinofílica em humanos e foi descrito pela primeira vez parasitando as artérias pulmonares de *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus* em Cantão, China por Chen (1935). Foi originalmente descrito como *Pulmonema cantonensis* e posteriormente foi colocado no gênero *Angiostrongylus* por Dougherty (1946) (Barratt et al., 2016). A primeira descrição em humanos foi feita por Nomura & Lin em Taiwan, em um homem no ano de 1945. O parasito foi encontrado no líquido cefalorraquidiano do paciente com meningite, referência que permaneceu praticamente despercebida. A identificação de Chitwood, em 1961, que estabeleceu que era de fato *A. cantonensis* o organismo causador da meningoencefalite eosinofílica (Alicata & Jindrak, 1970). Esse é o agente etiológico de mais de 2.877 casos humanos de meningite eosinofílica em todo o mundo, ganhando reconhecimento como uma zoonose emergente (Wang et al., 2012).

Após a primeira descrição, esse helminto se dispersou por várias ilhas no Pacífico, através de ratos naturalmente infectados em containers vindos da Ásia (Diaz, 2008). Os crescentes fluxos de comércio e turismo global, bem como a disseminação de hábitos e costumes entre os países, permitiram a dispersão dos hospedeiros definitivos e intermediários de *A. cantonensis* em vários continentes como na Austrália, África e nas Américas (Foronda et al., 2010; Maldonado et al., 2012; Moreira et al., 2013). No Brasil, já foi descrito no Espírito Santo, Pernambuco, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Amazônia (Caldeira et al., 2007; Lima et al., 2009; Maldonado et al., 2010; Espírito-Santo et al., 2013; Moreira et al., 2013; Morassutti et al., 2014).

Os helmintos adultos de *A. cantonensis* apresentam um corpo filiforme em ambos os sexos, afunilando na extremidade anterior. As fêmeas são maiores e mais robustas que os machos. Ambos os sexos apresentam abertura oral simples, circular e cercada por seis papilas. O esôfago é claviforme e o poro excretor é posterior ao esôfago. Já o anel nervoso se localiza na metade anterior do esôfago. Nos machos, a bolsa copuladora (órgão copulador masculino) é pequena e levemente assimétrica. Os raios ventroventrais são menores que os raios ventrolaterais, com uma origem comum, bifurcando na metade proximal e não alcançando as

margens bursais. Os raios laterais surgem de um tronco comum, com o raio ventrolateral sendo em forma de fenda e menor do que os outros raios laterais. O raio mediolateral direito é mais fino do que o raio mediolateral esquerdo, com o raio mediolateral direito e posterolateral bifurcando no meio do tronco e o raio mediolateral esquerdo e laterolateral no terço distal. O raio dorsal é espesso, bifurcando em três ramos, com raio externodorsal digitiforme separado na base. O gubernáculo está presente. Na fêmea, a tuba uterina é em espiral com o intestino cheio de sangue, sendo facilmente visível através da cutícula transparente. A abertura da vulva é próxima a abertura do ânus e da ponta da cauda curta (Chen, 1935; Alicata & Jindrak, 1970; Maldonado et al., 2012).

Entretanto, os nematódeos do gênero *Angiostrongylus* são muito conservados morfológicamente, fazendo com que a identificação correta, baseada apenas nas características morfológicas, muitas vezes se torne inconsistente, uma vez que a descrição morfológica e morfométrica pode ser influenciada pelo hospedeiro. (Santos, 1985; Ubelaker, 1986; Blouin et al., 1998; Gasser & Newton, 2000). Desta forma, a análise molecular vem sendo empregada para a identificação das espécies, permitindo a identificação de organismos através da análise de um pequeno segmento do genoma, representando uma abordagem promissora para o diagnóstico da diversidade biológica (Blouin, 2002; Hebert et al., 2003). Marcadores genéticos são amplamente usados para identificação de parasitos, tanto para discriminação molecular de espécies complexas, assim como para o grau de parentesco entre as mesmas. A amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) de segmentos de DNA ribossomal nuclear ou DNA mitocondrial tem sido uma abordagem frequentemente utilizada para a identificação do táxon que se deseja estudar (Anderson, 2001; Yong & Eamsobhana, 2013; Barbosa et al., 2020).

12.2. Ciclo Biológico de *A. cantonensis*

O ciclo biológico de *A. cantonensis* é indireto, tendo moluscos como hospedeiros intermediários e roedores como hospedeiros definitivos. Os adultos machos e fêmeas, vivem em ramos da artéria pulmonar e coração dos hospedeiros definitivos. As fêmeas são ovíparas e realizam a postura dos ovos unicelulares que são levados pela corrente sanguínea até os capilares dos pulmões, onde se alojam formando êmbolos. Após seis dias os ovos se tornam embrionados, até se desenvolverem as larvas de primeiro estágio (L1) que rompe a casca, entra nos espaços alveolares dos pulmões e são carregadas até o sistema respiratório superior e faringe,

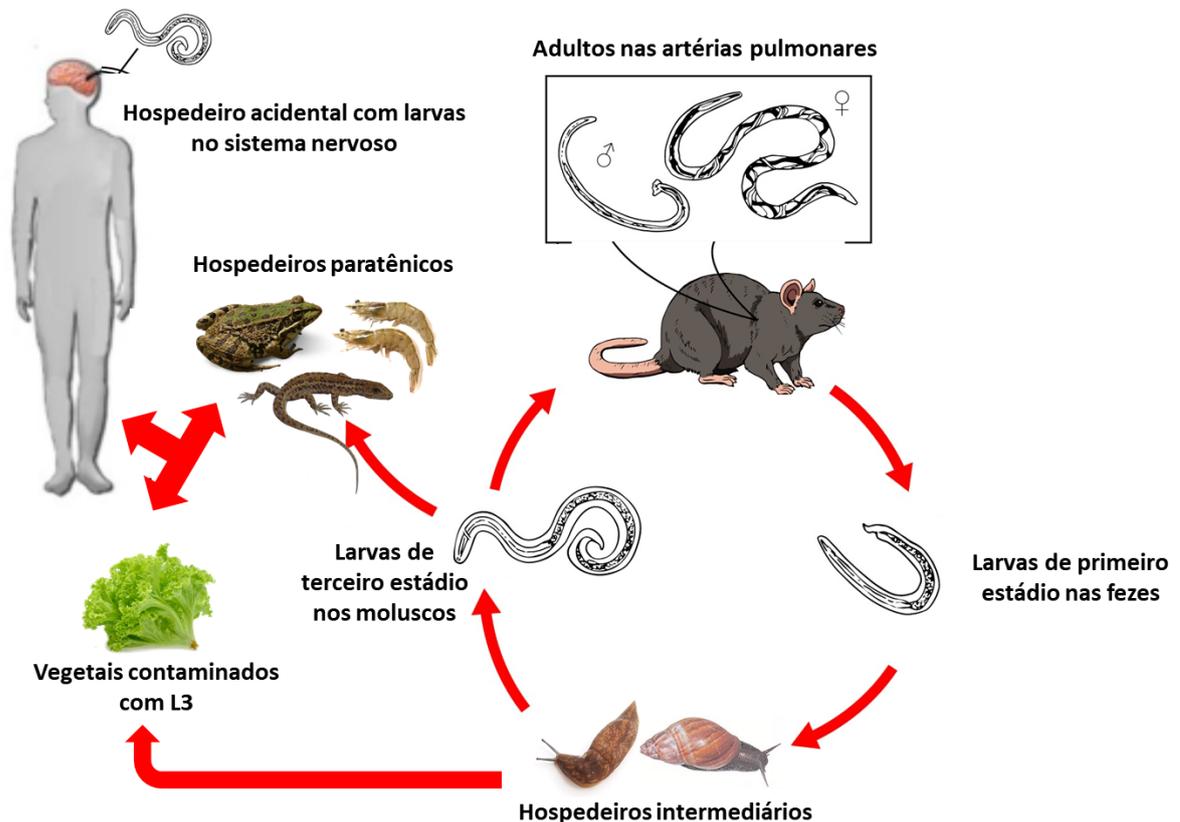
onde são deglutidas e sequentemente eliminadas com as fezes, aproximadamente 6 a 8 semanas após a infecção (Alicata & Jindrak, 1970; Wang et al., 2012)

A infecção do molusco, hospedeiro intermediário, ocorre pela ingestão das L1 ou por penetração ativa na superfície do corpo do molusco. Após a infecção, as L1 migram para a musculatura ou outras partes e ficam quiescentes. Em alguns dias aumentam em comprimento e largura e o intestino grosso assume uma aparência escura. Em cerca de uma semana as larvas passam pela primeira muda, com retenção da cutícula da L1. Após cerca de mais uma semana, quando o metabolismo do alimento armazenado termina, elas passam pela segunda muda ocorrendo a fusão das duas cutículas. Com a conclusão da segunda muda, as larvas atingem o terceiro estágio (L3) e se tornam infectantes. O tempo para atingir o terceiro estágio depende da temperatura e espécie do molusco hospedeiro (Alicata & Jindrak, 1970; Wang et al., 2012; Thiengo et al., 2013).

Geralmente a infecção dos ratos, hospedeiros definitivos, ocorre pela ingestão dos moluscos hospedeiros intermediários infectados com a L3. Após a ingestão as larvas penetram no estômago e parede intestinal atingindo o sistema porta hepático e/ou mesentérico linfático. Posteriormente são distribuídas por todo o corpo, pela circulação arterial, chegando ao sistema nervoso central, tendendo a se concentrar na medula espinhal, medula, cerebelo e diencéfalo e a se espalhar gradualmente para o telencéfalo, passando por dois estádios larvais (L4 e L5), se desenvolvendo em helmintos jovens adultos (L5) no espaço subaracnóide (Alicata & Jindrak, 1970; Barratt et al., 2016). Quando esses helmintos atingem o máximo desenvolvimento e tamanho no cérebro, penetram nas veias cerebrais dilatadas e entram na circulação venosa até o coração e pulmões. Isso ocorre geralmente entre 26 e 33 dias após infecção. Ao atingir o coração e pulmões os helmintos adultos jovens viajam para os ramos da artéria pulmonar, destino da espécie, e em cerca de uma semana, atingem a maturidade sexual. Em torno de 42 dias após a infecção, larvas de primeiro estágio já podem ser encontradas nas fezes dos hospedeiros definitivos (Alicata & Jindrak, 1970; Thiengo et al., 2013; Barratt et al., 2016).

Nas infecções por *Angiostrongylus*, hospedeiros paratênicos são os animais que se infectam com as larvas L3, através da ingestão de moluscos infectados, sem desenvolver a infecção, porém mantendo as larvas viáveis para a infecção do hospedeiro definitivo (Alicata & Jindrak, 1970). Geralmente são os invertebrados que em condições naturais são encontrados como hospedeiros paratênicos de *A. cantonensis* e são frequentemente responsáveis pela transmissão do ser humano, incluído uma variedade de planárias terrestres, camarões de água

doce e caranguejos, assim como sapos e lagartos (Alicata & Jindrak, 1970; Eamsobhana, 2014; Barratt et al., 2016).



Ciclo biológico de *Angiostrongylus cantonensis* (Fonte: Centro de Controle e Prevenção de Doenças modificado).

Para o estudo do ciclo biológico de *A. cantonensis*, incluindo sua capacidade de infectar e se desenvolver nas diferentes espécies de hospedeiros intermediários e o tipo de resposta imunológica desses animais (Kramer et al., 2018; Lu et al., 2018); e também suas características ao infectar os hospedeiros definitivos e acidentais, assim como os tipos de lesões e respostas imunológicas provocadas nesses hospedeiros, já foram, utilizados diferentes modelos como hospedeiros intermediários, definitivos e acidentais com o objetivo de reproduzir essas infecções e respostas frente a infecção em um ambiente controlado (Yang et al., 2012). A infecção de *Biomphalaria glabrata* por *A. cantonensis* (Harris & Cheng, 1975ab; Bonfim et al., 2020; Mendes et al., 2020) e de *A. fulica* (When, 1977; Tunholi-Alves et al., 2012; Tunholi-

Alves et al., 2014; Lima et al., 2020) já foi bem estudada através da infecção experimental desses moluscos. O ciclo de vida e as mudanças patológicas no encéfalo dos camundongos são semelhantes às dos pacientes humanos, portanto, esses animais são utilizados como um modelo substituto de infecção humana por *A. cantonensis* (Lee et al., 2006; Chung et al., 2010; Wang et al., 2018). Além disso, estudo com ratos Wistars (*Rattus norvegicus*) também são realizados para contribuir com um melhor entendimento da relação entre *R. norvegicus* e *A. cantonensis*, já que essa espécie é considerada como hospedeiro natural desse parasito (Garcia et al., 2014ab).

12.3. Hospedeiros definitivos e intermediários de *A. cantonensis*

Rattus rattus e *R. norvegicus* são os hospedeiros definitivos preferenciais de *A. cantonensis*, embora pelo menos 17 espécies de roedores possam se comportar como hospedeiros definitivos, capazes de eliminar larvas de primeiro estágio nas fezes (Yong & Eamsobhana, 2013). A infecção natural de roedores sinantrópicos por *A. cantonensis* tem sido relatada na África, Austrália, América do Norte e em alguns países asiáticos (Maldonado et al., 2010). No Brasil, essas duas espécies sinantrópicas foram encontradas naturalmente infectadas por *A. cantonensis* no Estado do Pará, e apenas a espécie *R. norvegicus* foi encontrada naturalmente infectado nos Estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul (Caldeira et al., 2007; Simões et al., 2011; Monte et al., 2012; Moreira et al., 2013; Cognato et al., 2013; Thiengo et al., 2013).

Entretanto, a competência dos roedores como hospedeiros definitivos pode variar entre as espécies. Por exemplo, a prevalência de *A. cantonensis* é geralmente muito maior em *R. norvegicus* em comparação com *Rattus flavipectus* Milne-Edwards, 1871 (Zhang et al., 2008; Deng et al., 2012). Isso pode ser atribuído às competências biológicas de diferentes espécies de ratos, ou simplesmente, devido a diferenças nos hábitos alimentares, embora isso ainda deva ser verificado (Zhang et al., 2008).

Como já indicado, *A. cantonensis* se desenvolve até a maturidade sexual na artéria pulmonar de ratos. Por outro lado, existem vários outros mamíferos, incluindo humanos, considerados hospedeiros acidentais, nos quais o parasita atinge o sistema nervoso central e não se desenvolve até a fase adulta (Alicata & Jindrak, 1970). Dentre os principais hospedeiros acidentais já relatados infectados com *A. cantonensis* estão os cães, cavalos, gambás, cangurus

e diferentes espécies de primatas. Geralmente nesses hospedeiros, a infecção causa uma meningite eosinofílica e pode ser fatal (Alicata & Jindrak, 1970; Maldonado et al., 2012; Kim et al., 2014; Barratt et al., 2016; Edwards et al., 2020). Burns *et al.* (2014) descreveram um caso fatal em um falcão-pigmeu africano de cativeiro no zoológico de San Diego, sul da Califórnia, EUA, demonstrando que aves também podem ser consideradas hospedeiras acidentais.

A classe Gastropoda do filo Mollusca é composta por lesmas e caramujos, que se distribuem por ambientes aquáticos e terrestres, sendo que, espécies de diferentes famílias de moluscos podem atuar como hospedeiros intermediários de helmintos da espécie *A. cantonensis* (Kim et al., 2014). A prevalência de *A. cantonensis* nas populações de moluscos varia entre os locais, provavelmente devido a fatores ambientais como temperatura, umidade, distribuição de moluscos e comportamento de ratos hospedeiros definitivos (Kim et al., 2014; Barratt et al., 2016).

Foi demonstrado, como hospedeiros naturalmente infectados de *A. cantonensis* na China e em partes do sudeste da Ásia, *Pomacea canaliculata* Lamarck, 1819, e na Tailândia, *Pila* spp. Roding, 1798. Já na Austrália duas espécies de caramujos terrestres, *Cornu aspersum* Muller, 1774 e *Bradybaena similaris* Férussac, 1822 foram recentemente confirmadas como hospedeiras intermediárias naturais. No Brasil, Caldeira *et al.* (2007) demonstraram a presença de moluscos naturalmente infectados por larvas L3 no Estado do Espírito Santo, tais como, *Subulina octona* Bruguière 1789, *Sarasinula marginata* Semper, 1885 e *B. similaris*. Carvalho *et al.* (2012), observaram que além de *A. fulica*, as mesmas espécies de moluscos avaliadas no estudo anterior foram encontradas naturalmente infectadas nas regiões portuárias do Brasil.

Os moluscos *Achatina fulica* Férussac, 1821 e *Pomacea canaliculata* são importantes na manutenção do ciclo desse parasito na China, representando os principais hospedeiros intermediários dessa espécie na região (Song et al., 2016). Estudos mostraram que *A. fulica* foi encontrado naturalmente infectado por *A. cantonensis* em diversas regiões do Brasil como Sul, Sudeste, Norte e Nordeste sendo considerado um dos principais hospedeiros do parasito no país (Caldeira et al., 2007; Maldonado et al., 2010; Thiengo et al., 2010; Monte et al., 2012; Moreira et al., 2013; Thiengo et al., 2013). O molusco *Parmarion martensi* Simroth, 1893, uma espécie invasora no Brasil, também tem sido considerado um importante hospedeiro na transmissão de *A. cantonensis* nas Ilhas do Havaí, devido a sua alta densidade populacional, comportamento de escalada, atração por alimentos associados a habitações humanas e carga parasitária potencialmente alta (Hollingsworth et al., 2007; Hollingsworth et al., 2013; Kim et al., 2014).

12.4. Expansão do *Achatina fulica* e sua importância como hospedeiro intermediário de *A. cantonensis*

O molusco *A. fulica* pertence a classe Gastropoda Cuvier, 1795, ordem Stylommatophora Schmidt, 1855 e família Achatinidae Swainson, 1840. A espécie é originária da África (Mead, 1995; Simberloff, 1995), mas se distribuiu amplamente pelo Japão (Koyano et al., 1989), nas Ilhas Indianas, Austrália, Sudeste Asiático (Graeff-Teixeira et al., 1995; Paiva, 2001) e no continente americano (Godan, 1983). Foi introduzido no Brasil como objetivo comerciais na década de 80 para o consumo humano. Entretanto, a espécie não foi apreciada, devido principalmente aos hábitos culturais e alimentares da população, sendo liberados no ambiente. Atualmente, é encontrado em 24 dos 26 estados e no Distrito Federal (Paiva, 2001; Thiengo et al., 2007; Zanol et al., 2010).

Essa espécie, promove importantes impactos ecológicos e econômicos nas áreas onde é introduzida, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, causando danos em plantações, sendo considerada uma praga agrícola (Albuquerque et al., 2008). Além disso, esse molusco também pode ser encontrado em árvores, material em decomposição e próximo a depósitos de lixo (Mead, 1995). Portanto, um dos fatores mais importantes para o estabelecimento e dispersão de *A. fulica* é a presença humana, sendo mais abundante em locais com altas populações. Outro fator importante que pode condicionar a dinâmica populacional de *A. fulica* é a taxa de crescimento, sobrevivência, fecundidade e a preferência alimentar (Ahmed & Rauth, 1991).

A introdução e rápida expansão do caramujo gigante africano, causa grande preocupação, devido ao risco de aumento da transmissão ou a introdução do *A. cantonensis*, já que, o *A. fulica* é um importante hospedeiro desse o parasito (Graeff-Teixeira, 2007). Nesse sentido, o risco pode ser amplificado em locais onde também ocorre a presença de *R. rattus*, importante hospedeiro definitivo de *A. cantonensis*, que assim como o molusco, também ocorre nos parques urbanos de Belo Horizonte e bairros do entorno desses parques. No Brasil o primeiro registro de *A. fulica* naturalmente infectada por *A. cantonensis* foi feito por Caldeira et al. (2007). Após esse período vários outros estudos demonstraram a presença de caramujos infectados por *A. cantonensis* em centros urbanos no Brasil (Maldonado Júnior et al., 2010; Thiengo et al., 2010; Moreira et al., 2013).

12.5. Meningoencefalite eosinofílica

Nos roedores a manifestação clínica da infecção pelo *A. cantonensis* é dependente da quantidade de larvas durante a infecção. Geralmente, em infecções mais leves, o período crucial para os roedores é durante a migração dos parasitos do encéfalo para os pulmões, em que, entre 26 e 33 dias após a infecção, a maioria dos ratos apresentam sangue na secreção lacrimal, epistaxe, locomoção comprometida, sensibilidade ao toque e pelos arrepiados. Depois que os parasitos se instalam nas artérias pulmonares, pode ocorrer episódios de dispneia e cianose. Nas infecções experimentais de ratos, quando são usadas milhares de larvas, geralmente esses animais desenvolvem coma e morrem em poucos dias (Lim et al., 1965; Alicata & Jindrak, 1970).

Já em humanos, a meningite eosinofílica é a principal manifestação clínica da doença causada pelo nematódeo *A. cantonensis* (Lima et al., 2009; Luessi et al., 2009; Hsueh et al., 2013), sendo registrados casos em diversas partes do mundo incluindo o Brasil, nos estados do Espírito Santo (município de Cariacica), Pernambuco, nos municípios de Olinda e Escada, e São Paulo, na capital (Caldeira et al., 2007; Lima et al., 2009; Thiengo et al., 2010; Espírito-Santo et al., 2013; Thiengo et al., 2013).

A presença do helminto, sua movimentação e morte no sistema nervoso central, e a resposta imune produzida pelo hospedeiro, leva a uma meningite caracterizada pela presença de eosinófilos tanto no líquido cefalorraquidiano (LCR) quanto no sangue periférico. Outros sintomas associados são encefalites com sinais neurológicos severos, rigidez de nuca, febre, náusea, vômito, hiperestesia, parestesia, distúrbio de consciência, visão turva, coma e até mesmo a morte. Os sintomas clínicos podem ocorrer entre dois e 35 dias após a infecção, com um tempo médio de incubação de aproximadamente 14 dias, sendo a maioria das infecções de baixa gravidade com recuperação do paciente de forma espontânea. Porém, também podem ocorrer casos graves da doença com sequelas neurológicas permanentes e evolução para coma e morte (Pien & Pien, 1999; Tsai et al., 2001; Luessi et al., 2009; Chen et al., 2011; Espírito-Santo et al., 2013; Murphy & Johnson, 2013).

O tratamento da doença ainda não é bem definido e normalmente é realizado com medidas de apoio. Nos casos mais graves podem ser realizadas punções lombares a fim de diminuir a pressão intracraniana. O uso de anti-helmíntico de amplo espectro, associado a corticosteróides e outros fármacos anti-inflamatórios, também tem sido proposto a fim de minimizar a resposta inflamatória que é exacerbada por antígenos liberados a partir da morte

do parasito. (Pien & Pien, 1999; Lai et al., 2005; Chen & Lai, 2007; Luessi et al., 2009; Chen et al., 2011; Wang et al., 2011). Geralmente é realizado o diagnóstico presuntivo da doença, através da presença de eosinófilos no LCR associado ao histórico de exposição à larva infectante do *A. cantonensis*, como a ingestão de moluscos. Os resultados mais sugestivos para um diagnóstico seria a presença de 10 ou mais eosinófilos/mm³ ou eosinófilos representando pelo menos 10% do total de leucócitos no LCR (Lima et al., 2009; Sawanyawisuth et al., 2012; Espírito-Santo et al., 2013). Entretanto, o padrão ouro à nível de diagnóstico, mesmo sendo raramente efetuado, seria a recuperação de larvas do parasito no LCR (Tsai et al., 2001; Luessi et al., 2009).

Diante do exposto, os parques urbanos, onde ocorre a presença de roedores sinantrópicos e moluscos exóticos, são locais em que o monitoramento e controle dessas espécies são importantes, devido ao risco de introdução e manutenção de agentes com potenciais zoonóticos como o *A. cantonensis*, indicando para as autoridades de Saúde Pública que, a presença dessas espécies pode servir de alerta em relação à angiostrongilíase, uma zoonose pouco conhecida no país.

13. OBJETIVO GERAL DO SEGUNDO CAPÍTULO

Identificar morfológica e molecularmente a espécie de *Angiostrongylus* sp. recuperada de roedores e moluscos na área do Parque Municipal Jacques Cousteau e avaliar as lesões nos roedores infectados.

14. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO SEGUNDO CAPÍTULO

- Identificar morfológica e molecularmente a espécie de *Angiostrongylus* sp. recuperada de roedores capturados no parque alvo do estudo;
- Avaliar as lesões provocadas nos roedores infectados;
- Identificar possíveis hospedeiros intermediários de *Angiostrongylus* sp. na área estudada;
- Observar o desenvolvimento do ciclo do nematódeo, em condições laboratoriais, por meio de passagem entre *Biomphalaria glabrata*, camundongos BALB/c e de ratos Wistar;
- Avaliar aspectos clínicos, parasitológicos e histopatológicos dos camundongos BALB/c e de ratos Wistar, infectados com L3 de *Angiostrongylus cantonensis*, provenientes de *Biomphalaria glabrata* infectados com L1 de *Rattus rattus* naturalmente infectados.

15. MATERIAIS E MÉTODOS

A identificação morfológica e molecular da espécie de *Angiostrongylus* sp. recuperada dos *R. rattus* capturados e a análise histopatológica para identificar as lesões provocadas pelo parasito seguiram a mesma metodologia já descrita no primeiro capítulo.

15.1. Coleta e identificação de moluscos terrestres do Parque Municipal Jacques Cousteau e recuperação de larvas de metastrongilídeos

No período de abril de 2018 a março de 2019, durante a captura de pequenos mamíferos, os caramujos encontrados nos transectos onde as armadilhas foram distribuídas, durante a verificação das mesmas, foram coletados e acondicionados em cubas plásticas, e transportados para o LabHelVet/ICB/UFMG. Posteriormente, estes moluscos foram identificados, seguindo o manual de vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica da FIOCRUZ (<http://bvsmms.saude.gov.br>) e chaves específicas (Barbosa, 1995).

Os moluscos coletados foram submersos em um recipiente com solução de mentol (250mg/L) por 4 horas para realizar a anestesia. Logo após a imobilidade completa do caramujo, a concha foi quebrada com um martelo e as partes moles foram removidas com auxílio de pinça. O tecido foi picotado em placas de petri com tesoura cirúrgica e em seguida as amostras foram enroladas em gaze dobrada quatro vezes e colocadas dentro do funil de vidro conectado a tubo de hemólise por tubo látex contendo água a 41°C. Após 12 horas, o conteúdo foi retirado e colocado em uma placa de petri, e examinado em microscópio estereoscópico 40X. Após esse período os fragmentos de tecido foram digeridos em pepsina 1% diluída em HCL 1% e incubados no Banho Maria à 37 °C por 40 minutos. A cada 10 minutos as amostras foram agitadas manualmente para facilitar a digestão. Após os 40 minutos, o conteúdo da digestão foi filtrado em peneira de um mm, acondicionado em tubos de 15 mL e centrifugado a 1.000 rpm por 10 minutos. Em seguida 10mL do sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspensionado em 10 mL água de torneira e novamente centrifugado a 1.000 rpm por 10 minutos. Esse procedimento foi repetido cinco vezes, para retirada do excesso de pepsina/HCL, que poderia danificar o tegumento das larvas (Façanha & Gomes, 2005; Coaglio et al., 2016).

15.2. Identificação morfológica das larvas de terceiro estágio de metastrongilídeos e infecção experimental do modelo laboratorial Wistar

As larvas recuperadas desse processo foram colocadas em uma placa de petri e examinadas em microscópio estereoscópico 40X. As que apresentavam características compatíveis com L3 de metastrongilídeos foram utilizadas na infecção experimental do modelo laboratorial Wistar (*Rattus norvegicus*) e para identificação morfológica.

Para infecção experimental, foi utilizada uma fêmea de Wistar de 6 a 8 semanas, proveniente do Centro de Bioterismo da UFMG. Foi realizada a inoculação de 50 L3 por via oral, utilizando agulha de gavage para a infecção. Logo após o animal foi transferido para o biotério do Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG e mantido em gaiola modelo growing, medindo 41cmx34cmx16cm com água e ração fornecidas *ad libitum*. A limpeza era realizada duas vezes por semana, conforme o protocolo do CEUA/UFMG 306/2017. A partir de 15 dias de inoculação das L3, amostras de fezes foram coletadas, duas vezes por semana, para a realização do método de Baermann modificado para a recuperação das L1 nas fezes (Barçante et al., 2003). As amostras de fezes foram enroladas, em gaze dobrada quatro vezes, e colocadas dentro do funil de vidro, com 10 cm de diâmetro, conectado a um tubo de hemólise por um tubo látex, contendo água a 41°C. Após 12 horas, o tubo foi retirado e o conteúdo colocado, em uma placa de petri, e examinado em microscópio estereoscópico 40X. Todas as larvas encontradas foram coletadas com auxílio de uma pipeta e transferidas para um tubo de prolipropileno de 1,5mL.

Após a redução da eliminação de L1 o animal foi eutanasiado. Inicialmente foi realizada a sedação com injeção intraperitoneal de 100mg/Kg de cloridato de cetamina em associação com 10mg/Kg de cloridrato de xilazina 2%. Em seguida, foi realizada a eutanásia por sobre dose de anestésico geral (Propofol 10mg/Kg). A necropsia para a recuperação de helmintos adultos foi realizada de acordo com o item 8.3 do primeiro capítulo. Fragmentos de 0,2 cm do encéfalo, pulmão, coração, fígado, baço, estômago, rins e intestino foram fixados em formol a 10%, para análise histopatológica. Os espécimes adultos recuperados do modelo, foram utilizados para realização da análise molecular e comparação com as sequências obtidas dos helmintos recuperados das artérias pulmonares dos *R. rattus* capturados.

15.3. Análise Filogenética

As sequências obtidas dos helmintos recuperados dos *R. rattus* naturalmente infectados identificados como JC01, JC06 e JC77 e a sequência obtida do helminto recuperado do *R. norvegicus* (Wistar) experimentalmente infectado com L3 recuperadas de moluscos coletados, foram alinhadas com sequências disponíveis no GenBank, de membros representativos da família Angiostrongylidae. Foi utilizada uma sequência do GenBank de strongilídeo como grupo externo: *Ancylostoma duodenale* (tabela 08). O alinhamento foi realizado utilizando a função Geneious de alinhamento múltiplo do pacote Geneious 9.1, com parâmetros padrão. Do alinhamento resultante, foram cortadas as extremidades mal alinhadas, também no Geneious.

A reconstrução filogenética foi realizada, com o uso de inferência bayesiana (BI), como critério de otimização, usando o software MrBayes, versão 3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Para explicar diferentes processos evolutivos, em cada uma das três posições do códon, a análise de BI foi realizada com modelos distintos por posição do códon. Nas análises de BI, foram utilizados modelos GTR + I + Γ , distintos para cada posição do códon, com desvinculação das frequências e parâmetros de base. A amostragem da cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) foi realizada por 20.000.000 gerações, com quatro correntes simultâneas, em duas corridas. A robustez dos nós, na BI, foi avaliada por probabilidades Bayesianas Posteriores (BPP), calculadas a partir de árvores, amostradas a cada 500 gerações, após a remoção dos primeiros 25% de gerações como um estágio de "burn-in". A adequação da amostragem das análises de BI foi avaliada, utilizando o software Tracer, versão 1.6 (Rambaut et al., 2014), para calcular os tamanhos de amostra efetivas (ESS) dos parâmetros. Valores acima de 100 amostras, efetivamente independentes, foram considerados suficientes. Para economizar tempo computacional, as análises de BI foram realizadas no cluster XSEDE, usando o CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010).

Tabela 11. Números de acesso de sequências do gene MT-CO1 de nematódeos recuperadas a partir do GenBank e seus respectivos hospedeiros, sítios de infecção, origem geográfica e referências.

Espécie	Acesso no GenBank	Hospedeiro	Sítio de infecção	Origem geográfica	Referência
<i>Ancylostoma duodenale</i>	AJ417718.1	Humanos	Intestino delgado	China	Hu, 2002
<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	JX519458.1	<i>Felis catus</i>	Pulmão	ni	Jabbar, 2013
<i>Angiostrongylus vasorum</i>	GQ982735.1	<i>Canis familiaris</i>	Coração e artérias pulmonares	Reino Unido	Jefferies, 2010
<i>Angiostrongylus vasorum</i>	GQ982871.1	<i>Vulpes vulpes</i>	Coração e artérias pulmonares	Portugal	Jefferies, 2010
<i>Angiostrongylus chabaudi</i>	KU521521.1	<i>Felis silvestris</i>	Coração e artérias pulmonares	România	Gherman, 2016
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	KR827449.1	ni	Vasos mesentéricos	Costa Rica	Yong, 2015
<i>Angiostrongylus minasensis</i>	XXXXXX	<i>Nasua nasua</i>	Vasos mesentéricos	Brasil	Almeida et al., 2020
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	GQ398121.1	<i>Rattus norvegicus</i>	Artérias pulmonares	China	Lv et al., 2012
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	HQ440217.1	<i>Rattus norvegicus</i>	Artérias pulmonares	Brasil	Simões et al., 2011
<i>Angiostrongylus malaysiensis</i>	KT947979.1	<i>Rattus rattus</i>	Coração e pulmão	Malásia	Yong, 2016
<i>Angiostrongylus</i> sp. JC01	XXXXXX	<i>Rattus rattus</i>	Artérias pulmonares	Brasil	Presente estudo
<i>Angiostrongylus</i> sp. JC06	XXXXXX	<i>Rattus rattus</i>	Artérias pulmonares	Brasil	Presente estudo
<i>Angiostrongylus</i> sp. JC77	XXXXXX	<i>Rattus rattus</i>	Artérias pulmonares	Brasil	Presente estudo
<i>Angiostrongylus</i> sp. R01	XXXXXX	<i>Achatina fulica</i>	X	Brasil	Presente estudo

ni: não informado

15.4. Infecção de moluscos com larvas de primeiro estágio de *Angiostrongylus* sp.

Para verificar a capacidade de infecção das larvas de primeiro estágio (L1) obtidas de ratos naturalmente infectados, exemplares de *Biomphalaria glabrata*, medindo entre 9 e 14 mm, mantidas no moluscário do LabHelVet, foram infectados com 300 L1 coletadas das fezes dos ratos. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, as larvas foram colocadas em uma placa de cultura de células de poliestireno, com seis cavidades, preenchendo os poços com 2mL de água de torneira, de forma que todo o molusco ficasse em contato com a água. Os moluscos permaneceram no recipiente de infecção, por 24 horas, sob a luz de uma lâmpada, a uma distância de 50 cm, para estimular a penetração das larvas. Ao final desse período, cada poço foi inspecionado em microscópio estereoscópico, juntamente com a superfície externa dos moluscos, em aumento de 40X, para confirmação da infecção. Após esse período, os espécimes foram transferidos para uma cuba de experimentação, com no máximo cinco caramujos em cada, de acordo com a origem das larvas utilizadas na infecção. As cubas foram identificadas com a data de infecção, a origem das larvas e a carga parasitária. Os moluscos foram alimentados, por 30 dias com alface, e a limpeza da cuba, realizada duas vezes por semana (Barçante et al., 2003).

15.5. Recuperação de larvas de *Angiostrongylus* sp. em *Biomphalaria glabrata*

Após 30 dias de infecção, os moluscos infectados foram sacrificados individualmente e os tecidos e as conchas foram macerados, em almofariz utilizando pistilo, acondicionados em gaze cirúrgica dobrada e colocados no aparelho de Baermann, para a recuperação de larvas de terceiro estágio (L3), seguindo a mesma metodologia utilizada para obtenção de L1. As L3 recuperadas foram utilizadas para infecção de roedores para manutenção do ciclo do parasito em laboratório (Barçante et al., 2003).

15.6. Infecção de roedores com larvas de terceiro estágio recuperadas de *B. glabrata*

Foram utilizados quatro camundongos BALB/c (*Mus musculus*) e seis ratos Wistar fêmeas de 6 a 8 semanas, provenientes do Centro de Bioterismo da UFMG para infecção com L3 provenientes de moluscos coletados no Parque e de L3 provenientes de *B. glabrata* infectadas com L1 recuperadas de fezes de *rattus rattus* naturalmente infectados. Após infecção, os animais foram transferidos para o biotério do Departamento de Parasitologia do

ICB/UFMG e mantidos, em gaiolas modelo mousepack, medindo 30cm x 19cm x 12cm para os BALB/c e modelo growing, medindo 41cm x 34cm x 16cm para os wistars, com água e ração fornecidas *ad libitum*. A limpeza era realizada, duas vezes por semana, conforme o protocolo do CEUA/UFMG 306/2017.

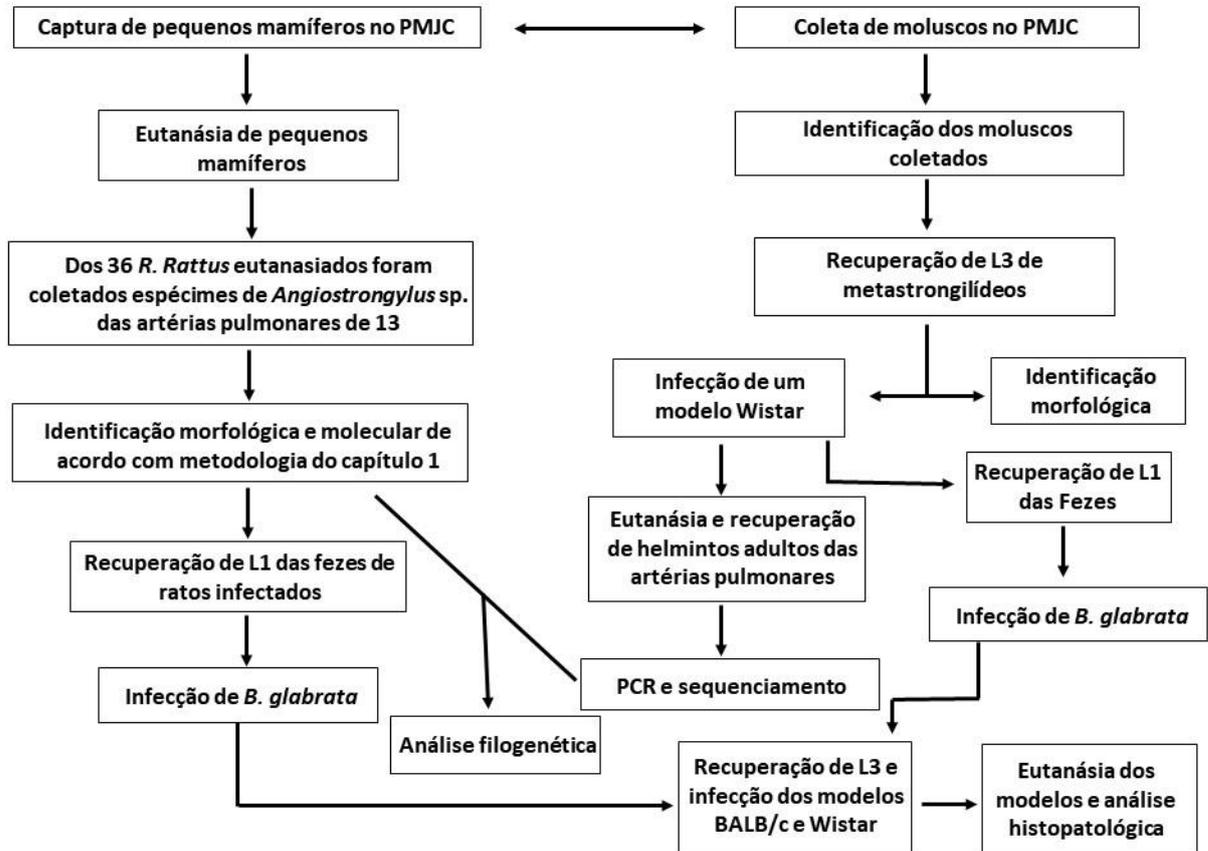
A infecção dos camundongos e ratos foi realizada por inoculação das L3 por via oral, utilizando agulha de gavagem, sendo 50 larvas para infectar cada camundongo BALB/c e cada rato Wistar. A partir de 15 dias de inoculação das L3, amostras de fezes foram coletadas, duas vezes por semana, para a realização do método de Baermann e a recuperação das L1 nas fezes. As larvas coletadas foram utilizadas para a infecção de *B. glabrata*.

Os animais eutanasiados foram primeiramente sedados, de acordo com o protocolo para recuperação de parasitos:

- Wistar: Anestesia intraperitoneal com 100mg/Kg de cloridrato de cetamina em associação com 10mg/Kg de cloridrato de xilazina 2%.
- Balb/c: Anestesia intraperitoneal de 80mg/Kg de cloridrato de cetamina, em associação com 10mg/Kg de cloridrato de xilazina 2%.

Em seguida, foi realizada a eutanásia por deslocamento cervical dos camundongos e sobre dose de anestésico geral (Propofol 10mg/Kg) dos ratos. A necropsia para a recuperação de helmintos adultos e/ou larvas, foi realizada de acordo com o item 7.3 do primeiro capítulo. Fragmentos de 0,2 cm do encéfalo, pulmão, coração, fígado, baço, estômago, rins e intestino foram fixados em formol a 10% para análise histopatológica, e o restante dos órgãos e a carcaça foram seccionados para a recuperação de parasitos e a identificação morfológica dos helmintos recuperados.

15.7. Delineamento experimental do segundo capítulo



16. RESULTADOS

16.1. Descrição morfológica, molecular e patológica de helmintos do gênero *Angiostrongylus* recuperados de roedores do Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais e estações de coleta do transecto referenciadas por GPG, onde os espécimes de *R. rattus* infectados foram capturados.

Angiostrongylus cantonensis Chen, 1935 (Metastrongyloidea: Angiostrongylidae)

(Figuras: 45 a 48)

Hospedeiro: *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Muridae); nome comum: rato de telhado.

Sítio de infecção: artérias pulmonares e coração.

Localização: Parque Jacques Cousteau, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (19°58'26"S; 43°59'22"W).

Espécimes: 8 machos e 6 fêmeas

Geral: Nematódeo de tamanho médio e corpo filiforme, afinando na extremidade anterior. Cutícula lisa com estrias transversais finas. Abertura oral simples com dois dentículos triangulares laterais. Esôfago curto e claviforme. Poro excretor posterior ao esôfago. Anel nervoso localizado à metade anterior do comprimento do esôfago.

Fêmea: Comprimento 17,69 – 34,06 ($25,54 \pm 5,89$) mm. Largura máxima 0,29 – 0,52 ($0,42 \pm 0,09$) mm. Esôfago com 0,28 – 0,31 ($0,29 \pm 0,01$) mm de comprimento e 0,06 – 0,07 ($0,06 \pm 0,005$) mm de largura da base. Anel nervoso a 0,15 – 0,18 ($0,17 \pm 0,02$) mm da extremidade anterior. Vulva com abertura próxima ao ânus a 0,14 – 0,26 ($0,21 \pm 0,05$) mm da ponta da cauda. Túbulos uterinos espiralados em torno do intestino de coloração escura facilmente vistos através da cutícula transparente. Ânus a 0,04 – 0,06 ($0,05 \pm 0,008$) mm da ponta da cauda. Cauda curta, arredondada e levemente curvada ventralmente.

Macho: Comprimento 15,16 – 21,86 ($18,3 \pm 2,92$) mm. Largura máxima 0,24 – 0,31 ($0,28 \pm 0,03$) mm. Esôfago com 0,28 – 0,33 ($0,31 \pm 0,008$) mm de comprimento e 0,04 – 0,07 ($0,05$) mm de largura da base.

$\pm 0,008$) mm de largura da base. Anel nervoso a $0,11 - 0,19$ ($0,15 \pm 0,04$) mm da extremidade anterior. A extremidade posterior é curvada, ventralmente, terminando em uma bolsa copuladora pequena e levemente assimétrica. Raios ventroventrais menores que os raios ventrolaterais, com origem comum, bifurcando na metade proximal e não alcançando as margens bursais. Raios laterais surgem de um tronco comum, com raio ventrolateral em forma de fenda e menor do que os outros raios laterais. Raio mediolateral direito mais fino que o raio mediolateral esquerdo, com o raio mediolateral direito e posterolateral bifurcando no meio do tronco e o raio mediolateral esquerdo e laterolateral no terço distal. Raio dorsal espesso, bifurcando em três ramos. Raio externodorsal digitiforme separado na base. Espículos iguais com $1,15 - 1,25$ ($1,2 \pm 0,04$) mm de comprimento e gubernáculo com $0,07 - 0,21$ ($0,095 \pm 0,05$) mm de comprimento.

Larvas de primeiro estágio (n=10): Comprimento $0,24 - 0,26$ ($0,25 \pm 0,008$) mm. Largura máxima $0,01$ mm. Extremidade anterior arredondada. Esôfago delgado, mas se alarga na porção posterior e ocupa cerca da metade do comprimento do corpo. O intestino é um tubo fino e o ânus está localizado na extremidade posterior. Cauda ventralmente curvada, terminando em um apêndice unguiforme.

Larvas de segundo estágio (n=1): Comprimento $0,39$ mm. Largura máxima $0,02$ mm. Está contida na bainha da primeira muda. O esôfago, que é muito parecido com o do estágio anterior, tem $0,14$ mm de comprimento e cerca de um terço do comprimento do corpo. As células intestinais estão cheias de grânulos alimentares, mas estes diminuem à medida que a larva envelhece. O primórdio genital está localizado ao longo do intestino mais próximo a cauda.

Larvas de terceiro estágio (n = 2): Comprimento $0,41 - 0,44$ mm. Largura máxima $0,02$ mm. Apresenta dois bastões quitinosos, dispostos, longitudinalmente na extremidade anterior. Esôfago com $0,18$ mm de comprimento. O primórdio genital a $0,12 - 0,13$ mm da ponta da cauda. Ânus localizado a $0,02 - 0,03$ mm da ponta da cauda em forma de cone, moderadamente curvada e pontiaguda.

Identificação molecular

Foram obtidos fragmentos de em média 431 pares de bases (pb) como produto da amplificação, usando os iniciadores para o gene COI e 630 pb como produto da amplificação usando os iniciadores para o gene ITS-2. Ao realizar a busca de similaridades no programa BLAST-N, o sequenciamento do espécime apresentou grande similaridade com sequências já depositadas de *Angiostrongylus cantonensis* tanto para o gene COI quanto para ITS-2 (Tabela 12).

Tabela 12. Similaridades resultantes da análise pelo BLAST-N para uma sequência de 431 pares de bases para COI e 630 pares de base para ITS-2 obtida pelo sequenciamento das amostras de *Angiostrongylus cantonensis* encontradas no presente estudo.

Amostra	Similaridade	Região	Nº de acesso	E- value	Score máximo	Identidade
JC01, JC06, JC77	<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	MK570631	0.0	761	422/427 (99%)
JC01, JC06, JC77	<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	Second internal transcribed spacer region (ITS-2)	AB700696	0.0	1157	626/626 (100%)

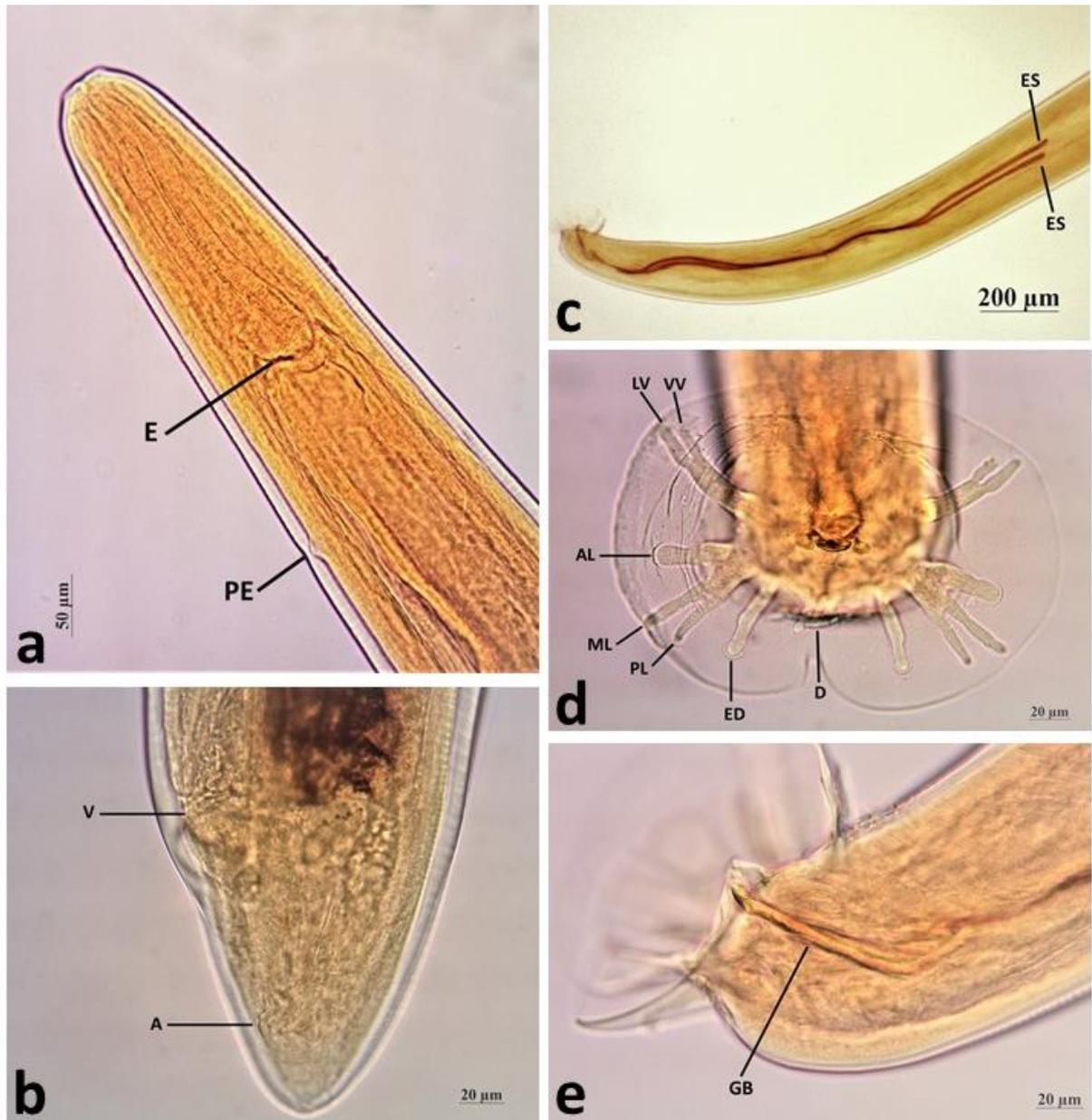


Figura 44. Espécimes adultos de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) Extremidade anterior evidenciando o esôfago (E) e o poro excretor (PE). (b) Extremidade posterior da fêmea evidenciando a vulva (V) e o ânus (A). (c) Vista lateral da bolsa copuladora evidenciando os dois espículos (ES). (d) Vista ventral da bolsa copuladora, com os raios ventroventral (VV) e lateroventral (LV) emergindo do mesmo tronco, raios laterais divididos em ventrolateral (AL) mediolateral (ML) e posterolateral (PL), raio externodorsal (ED) e dorsal (D). (e) Vista lateral da bolsa copuladora evidenciando o gubernáculo (GB).

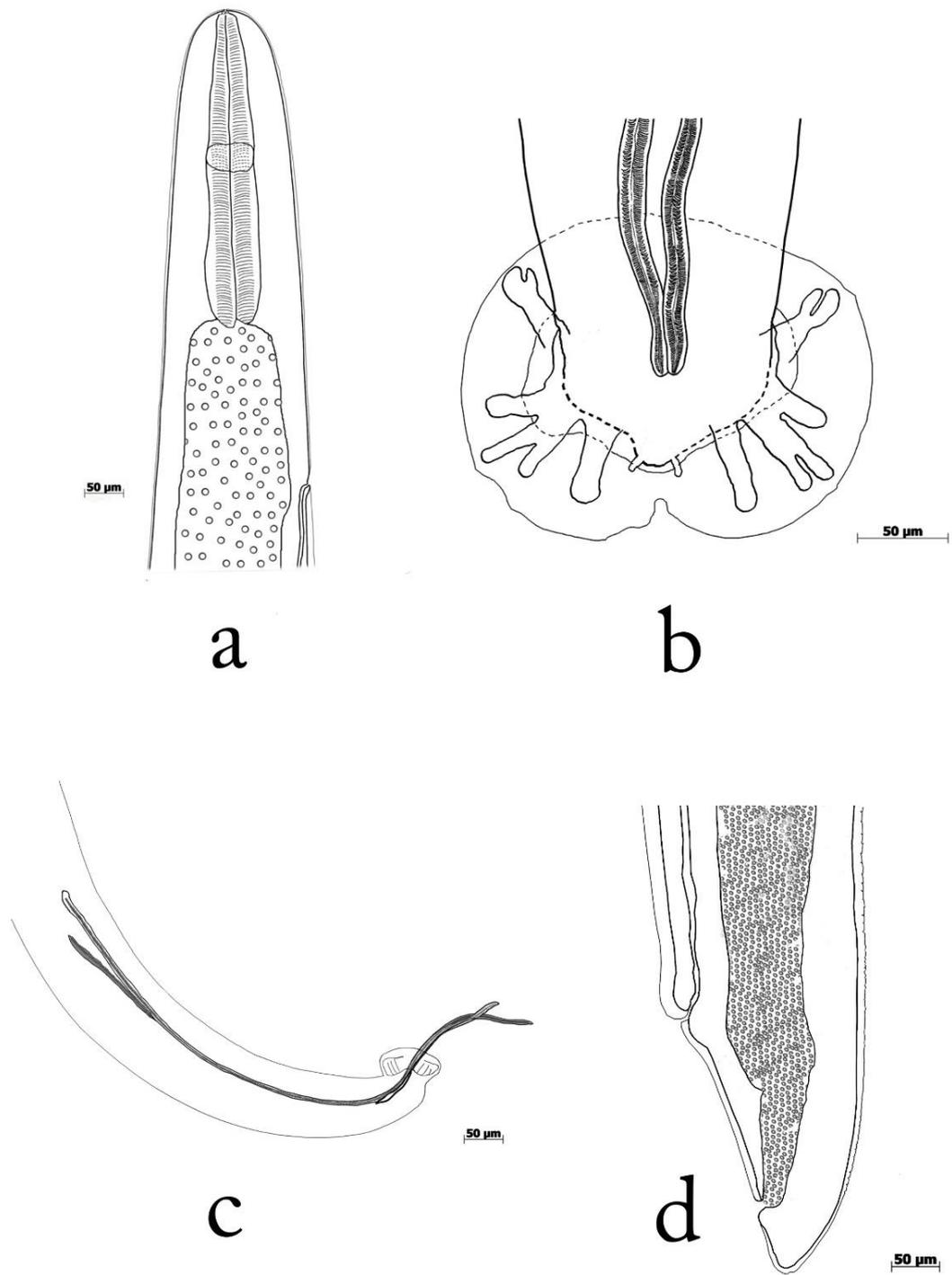


Figura 45. Desenhos de *A. cantonensis*. (a) Extremidade anterior do macho. (b) Vista ventral da extremidade posterior do macho, evidenciando a bolsa copuladora. (c) Extremidade posterior do macho em vista lateral evidenciando os espículos e o gubernáculo. (d) Extremidade posterior da fêmea.

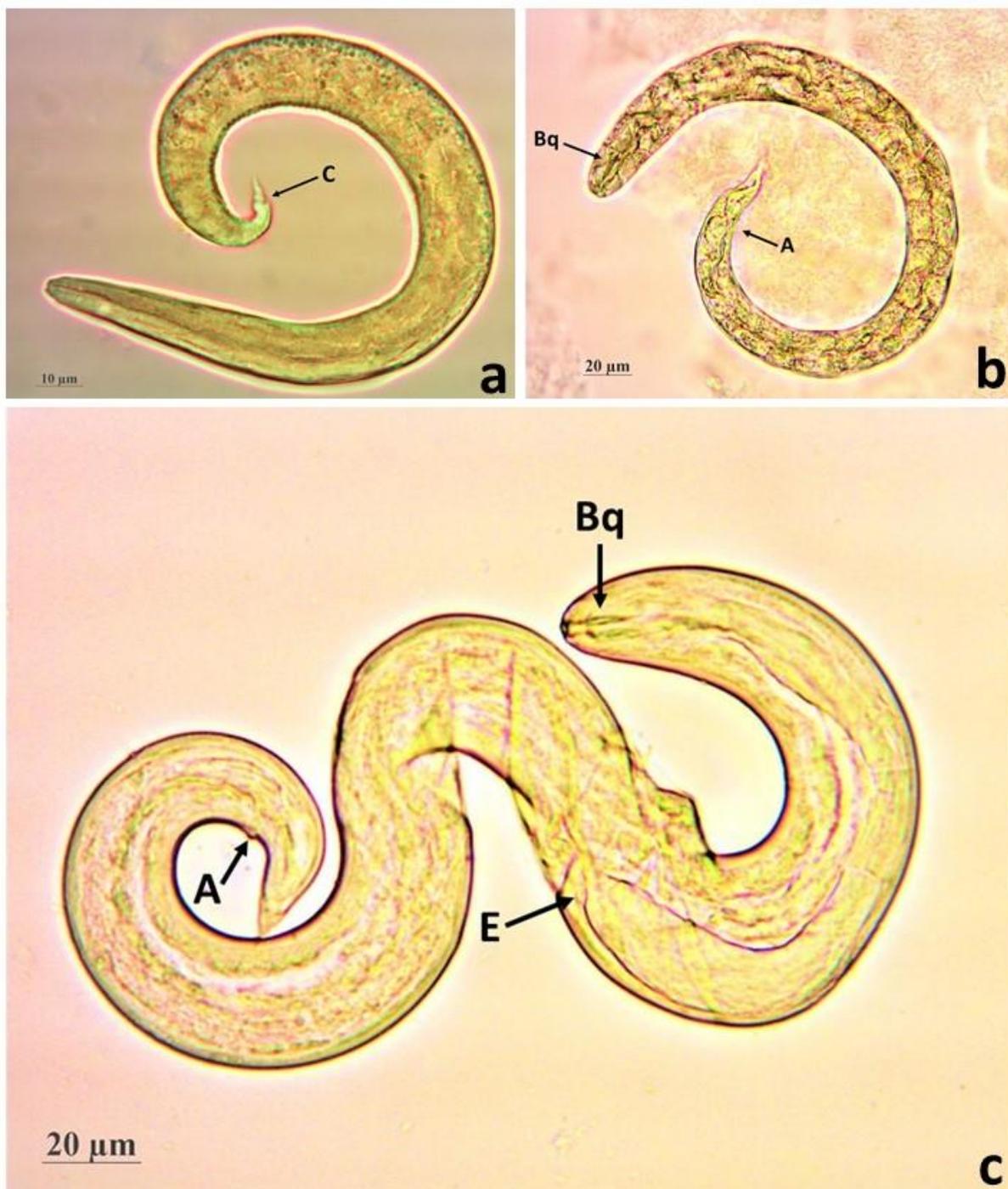


Figura 46. Larvas de primeiro (L1), segundo (L2) e terceiro (L3) estádios de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) L1 evidenciando um apêndice unguiforme na cauda. (b) L2 evidenciando dois bastões quitinosos (Bq) e ânus (A). (c) L3 evidenciando dois bastões quitinosos (Bq), esôfago (E) e ânus (A).

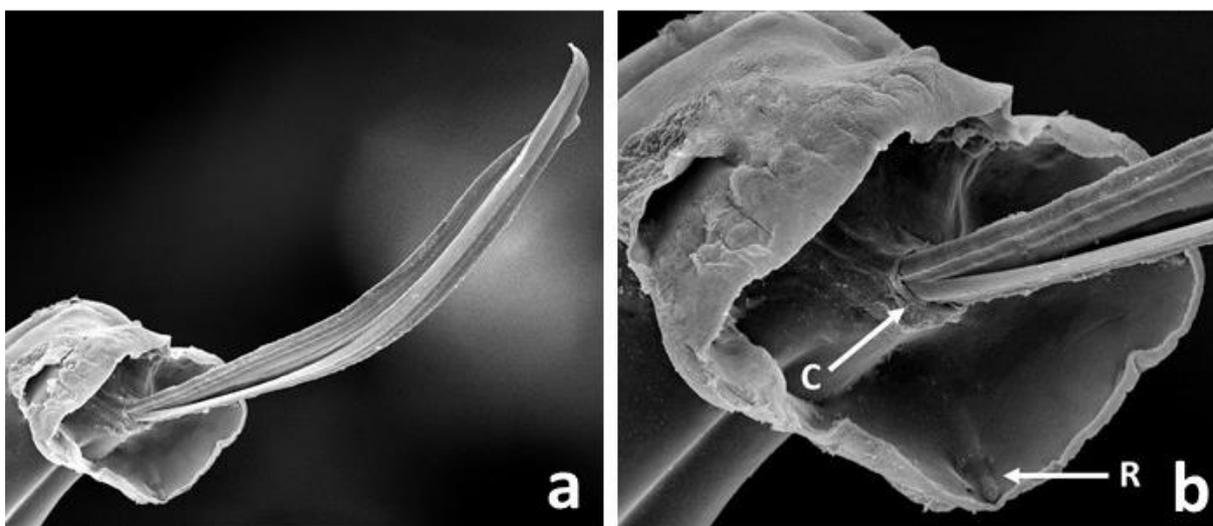


Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura de um espécime adulto macho de *Angiostrongylus cantonensis*. (a) Extremidade posterior evidenciando o espículo. (b) Extremidade posterior em maior aumento evidenciando a cloaca (C) e um raio da bolsa copuladora (R).

Lesões macroscópicas e microscópicas provocadas por *Angiostrongylus cantonensis*

Macroscopicamente, no pulmão dos ratos infectados havia áreas consolidadas esbranquiçadas, áreas com atelectasia, enfisema e quantidade leve de petéquias. No interior das artérias pulmonares, havia vários exemplares de helmintos cilíndricos brancos, com intestino avermelhado visível através da cutícula, de cerca de 2cm de comprimento, identificados como *Angiostrongylus cantonensis*. De quatro *R. rattus*, três fêmeas e um macho, foi retirado o encéfalo para análise histopatológica. Nestes animais, não foram observadas lesões macroscópicas no encéfalo e apenas uma fêmea apresentava adultos de *Angiostrongylus cantonensis* no pulmão.

Na histopatologia do pulmão, as lesões foram de pneumonia granulomatosa acentuada. A arquitetura pulmonar estava totalmente alterada com áreas de perda total do parênquima, e substituição por células inflamatórias associadas a larvas e ovos íntegros embrionados com casca delgada eosinofílica e ovos degenerados de nematódeos em cortes longitudinais e transversais, medindo em média 110,5 μm de comprimento e 54,34 μm de comprimento e 27,5 μm de largura, respectivamente. As células inflamatórias foram caracterizadas por macrófagos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas, associadas aos ovos e larvas, além de, linfócitos e plasmócitos especialmente ao redor dos vasos, particularmente arteriais. Além disso, havia áreas com macrófagos com hemossiderina e deposição de material intensamente basofílico granular e amorfo (mineralização distrófica) associada a parasitos e ovos degenerados. Associado a essas áreas, havia hiperemia difusa e infiltrado neutrofílico discreto ao redor de vasos menores do parênquima e áreas de fibroplasia. Também foram observadas regiões de enfisema. Em algumas áreas havia agregados nodulares de macrófagos e células multinucleadas. Na parede dos vasos havia espessamento da túnica média com desorganização das camadas de células musculares e núcleos desorganizados, caracterizando hipertrofia e hiperplasia. Em um animal, havia hiperplasia da túnica íntima e substituição do lúmen por material amorfo (fragmentos de nematódeos) associado a um trombo em organização, caracterizando arterite granulomatosa obliterante (obstrutiva) com restos de parasitas no lúmen. Em outro animal, a artéria bronquiolar estava com espessamento da túnica íntima, além de hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas da túnica média. No lúmen desta, havia cinco secções em cortes transversais de nematódeos machos adultos que morfologicamente possuíam cutícula delgada, musculatura celomiariana e cavidade celomática, testículos e intestino com células epiteliais cúbicas, núcleo e citoplasma amplos. Estes parasitas tiveram em média 234 μm de diâmetro.

Na histopatologia do encéfalo, havia adultos jovens de nematódeo, medindo em média 687 μm de comprimento, em duas fêmeas de *R. rattus*. Destas, em apenas uma foram recuperados adultos de *Angiostrongylus cantonensis* nas artérias pulmonares. No cerebelo destes animais, havia adultos jovens no espaço subaracnóide das leptomeninges, com inflamação leve a moderada próxima aos helmintos e infiltrado ao redor de vasos dessa área, caracterizando meningite linfoplasmocitária focal moderada com macrófagos e linfócitos, associada a secções longitudinais de larvas de nematódeos. Os adultos jovens em cortes longitudinais, foram caracterizados por cutícula lisa, cordão lateral, musculatura celomiariana, cavidade celomática, órgão reprodutor (testículo) e intestino.

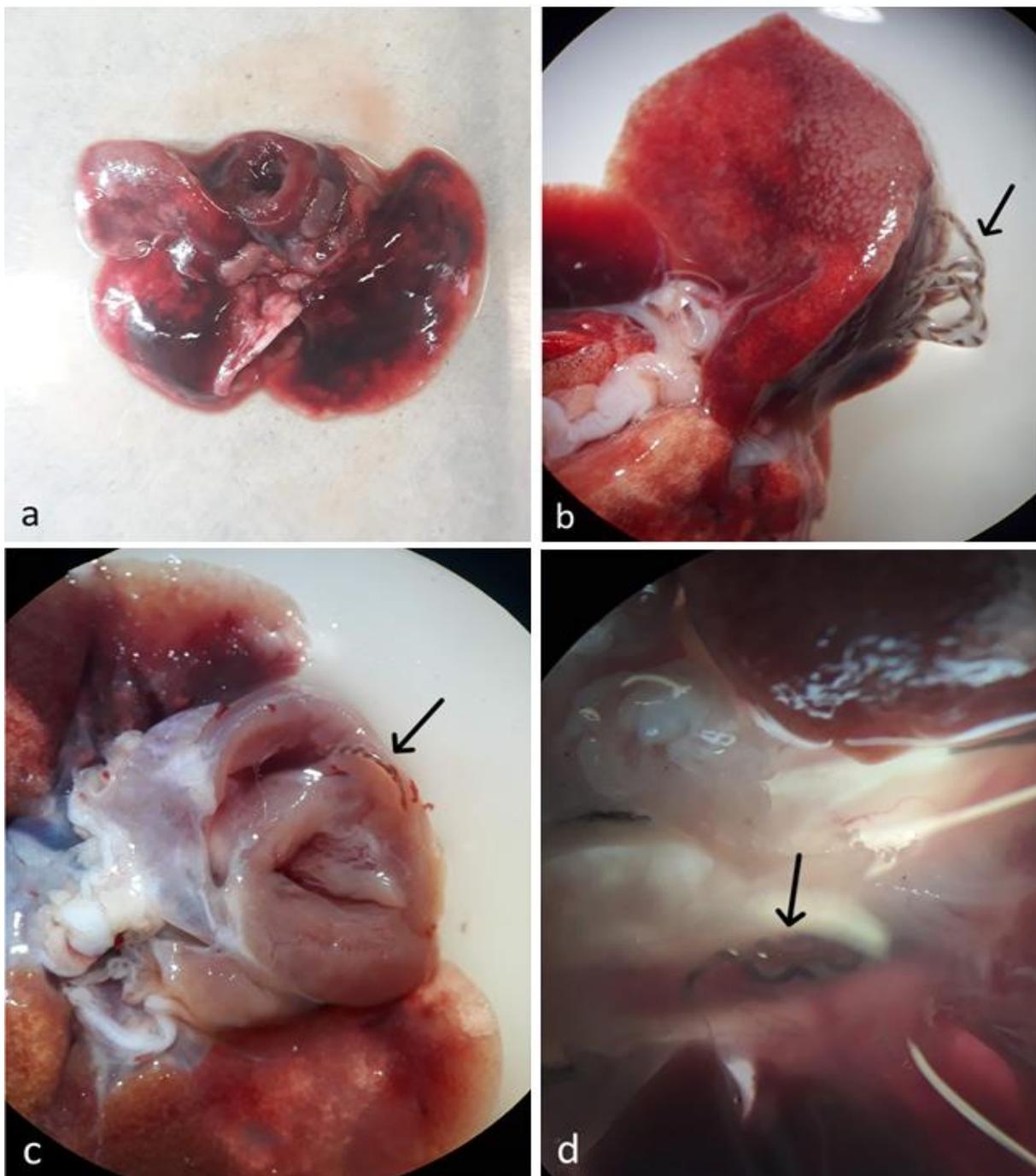


Figura 48. Lesões macroscópicas no pulmão de roedores. Áreas consolidadas esbranquiçadas e áreas com petéquias na superfície pulmonar (a). Exemplares adultos de *Angiostrongylus cantonensis* emergindo das artérias pulmonares (seta) (b). Fêmea adulta de *A. cantonensis* emergindo do coração (seta) (c). Fêmea adulta visualizada no interior de uma artéria pulmonar (seta) (d).

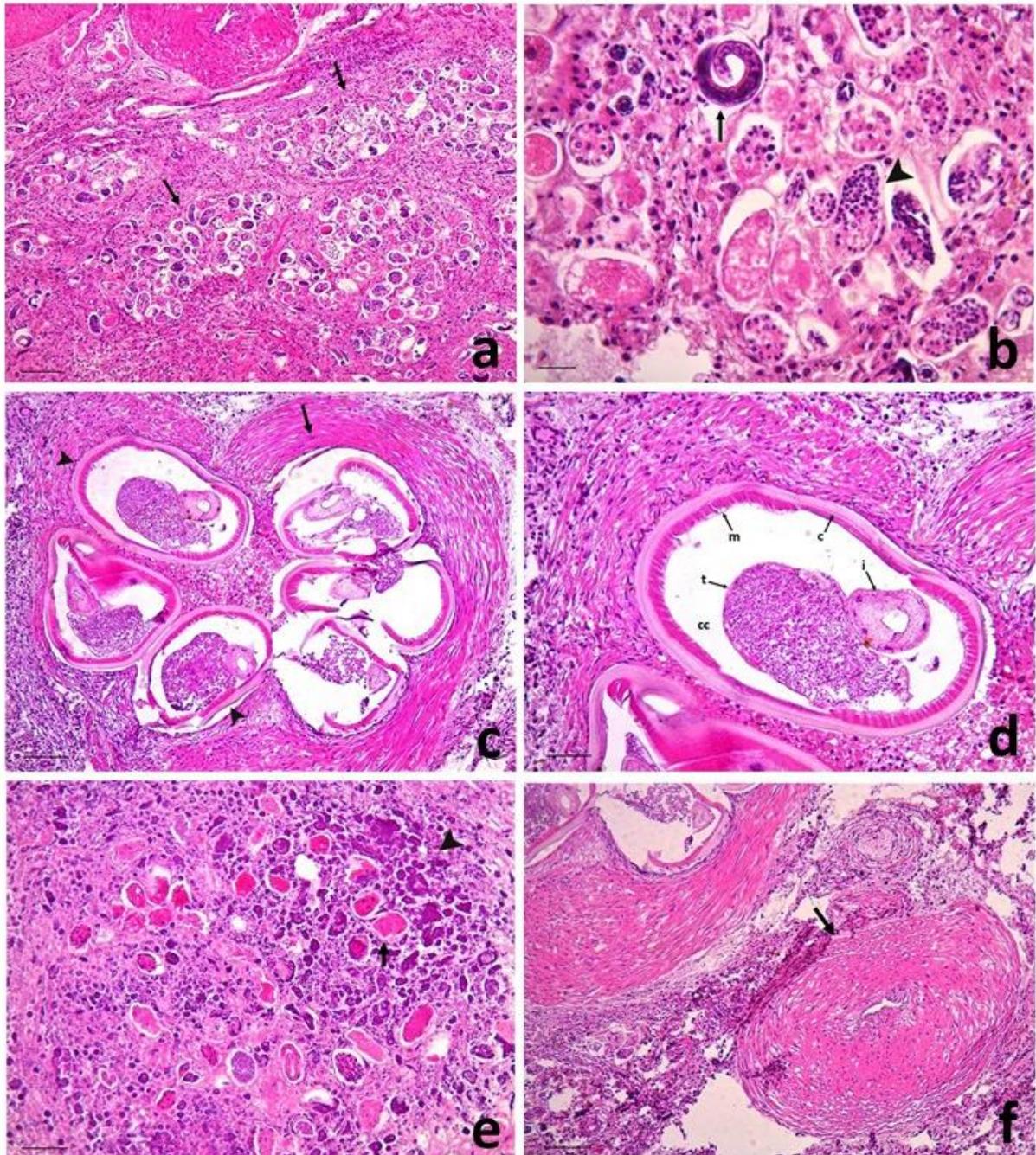


Figura 49. Lesões microscópicas no pulmão de roedores. (a) Arquitetura pulmonar totalmente alterada com áreas de perda total do parênquima, e substituição por células inflamatórias associadas a larvas e ovos (setas) (200 μ m). (b) Ovos (ponta de seta) e larvas (seta) em maior aumento (20 μ m). (c) Artéria bronquiolar com espessamento da túnica íntima, além de hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas da túnica média (seta) e no lúmen secções em cortes transversais de nematódeos machos adultos (pontas de seta) (100 μ m). (d) Em maior aumento, um nematódeo macho adulto apresentando morfologicamente cutícula delgada(c), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), testículos (t) e intestino com células epiteliais cúbicas, núcleo e citoplasma amplos (i) (50 μ m). (e) Deposição de material intensamente basofílico granular e amorfo (mineralização distrófica) (ponta de seta) associada a parasitos e ovos degenerados (seta) (100 μ m). (f) Espessamento da túnica íntima, além de hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas da túnica média de uma artéria (seta) (50 μ m). Hematoxilina e eosina.

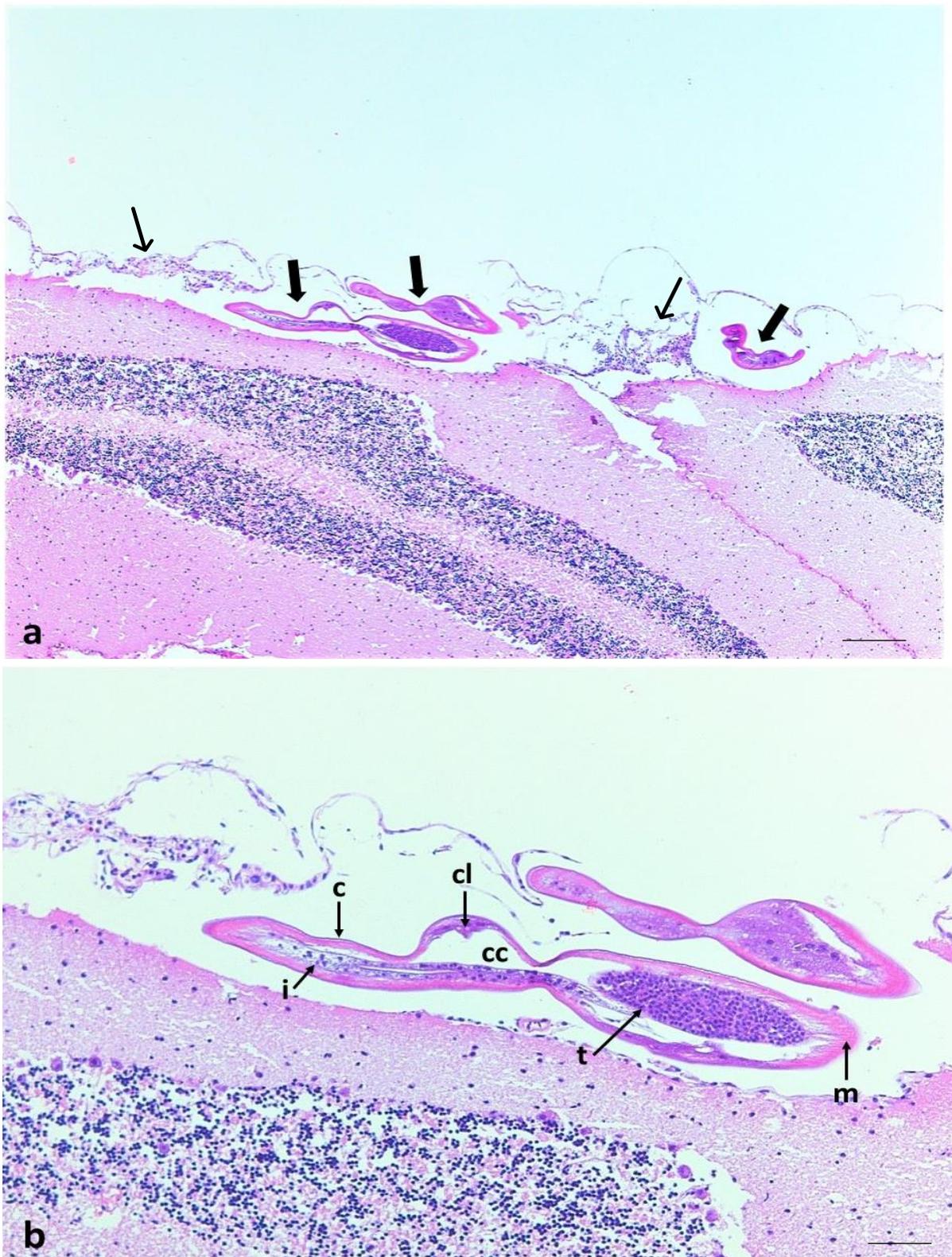


Figura 50. Lesões microscópicas no encéfalo de roedores. (a) Cerebelo com adultos jovens de *A. cantonensis* no espaço subaracnóide das leptomeninges (setas grossas) com inflamação leve a moderada próxima aos helmintos (setas finas) (100µm). (b) Adulto jovem em detalhes evidenciando cutícula lisa (c), cordão lateral (cl), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), testículo (t) e intestino (i) (50 µm). Hematoxilina e eosina.

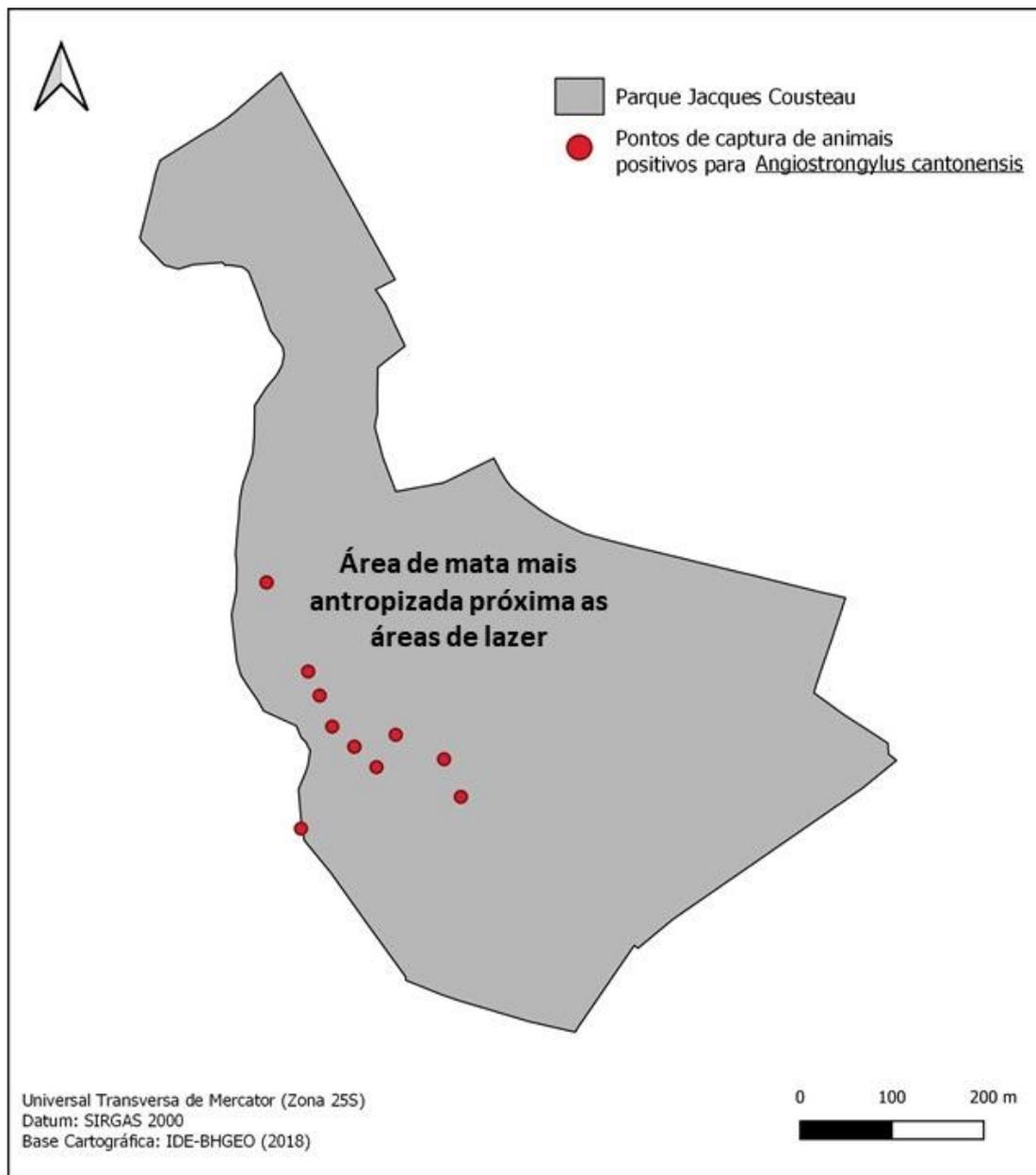


Figura 51. Mapa do Parque Municipal Jacques Cousteau demonstrando as estações de coleta do transecto referenciadas por GPG, onde os espécimes de *R. rattus* infectados por *A. cantonensis* foram capturados.

16.2. Coleta de moluscos terrestres no Parque Municipal Jacques Cousteau e recuperação de larvas de metastrongílídeos

Durante os meses de outubro e novembro, nas coletas de pequenos mamíferos, foram coletados três exemplares de *A. fulica* e um exemplar de *Megalobulimus* sp. K. Miller, 1878 (Stylommatophora: Megalobulimidae) (Figura 53) encontrados na trilha 1 e na trilha principal do PMJC (tabela 13). Após a digestão, em um exemplar de *A. fulica* foram recuperadas 109 larvas de terceiro estágio compatíveis com larvas de metastrongílídeos. Destas, 50 L3 foram utilizadas para a infecção de um rato Wistar para recuperação e identificação molecular de exemplares adultos. A extração de DNA e PCR de um exemplar fêmea recuperado após a eutanásia do rato Wistar, foram realizados de acordo com a metodologia descrita no capítulo I e a sequência obtida foi utilizada para a análise filogenética.

Tabela 13. Presença de larvas de terceiro estágio de metastrongílídeos em moluscos coletados no Parque Municipal Jacques Cousteau nos meses de outubro e novembro de 2019.

Data	Local	Espécie	Resultado	Infecção
01/10/2018	Trilha 1	<i>Achatina fulica</i>	Positivo para L3	1 Wistar (50 L3)
01/11/2018	Trilha principal	<i>Achatina fulica</i>	Negativo	.
01/11/2018	Trilha principal	<i>Achatina fulica</i>	Negativo	.
20/11/2018	Trilha 1	<i>Megalobulimus</i> sp.	Negativo	.



Figura 52. Exemplos de moluscos da espécie *Achatina fulica* (a) e do gênero *Megalobulimus* (b) encontrados no Parque Municipal Jacques Cousteau.

16.3. Análise filogenética

Um total de 14 sequências foram alinhadas, resultando em uma matriz composta por 8 táxons. O gênero *Angiostrongylus* formou um grupo monofilético bem suportado (BPP = 100%). As sequências de *Angiostrongylus cantonensis* também formaram um grupo monofilético bem suportado com a sequência de *Angiostrongylus malaysiensis* da Malásia (Yong, 2016) (BPP = 100%). Já as duas sequências obtidas no Genbank de *A. cantonensis* da China (Lv et al., 2012) e do Brasil (Simões et al., 2011) e as sequências obtidas de helmintos recuperados de roedores naturalmente infectados (JC01, JC06 e JC07) e do *A. fulica* (R01) formam um grupo monofilético bem suportado (BPP = 100%), sendo que as sequências de JC01, JC06, JC77, R01 mais a sequência de *A. cantonensis* do Brasil formaram um único clado com alto suporte (BPP 100%) (Figura 54).

Os resultados da análise filogenética confirmam que a espécie de *Angiostrongylus* recuperada das artérias pulmonares dos *R. rattus* e do exemplar de *A. fulica* do Parque Jacques Cousteau pertencem a mesma espécie, o *Angiostrongylus cantonensis*.

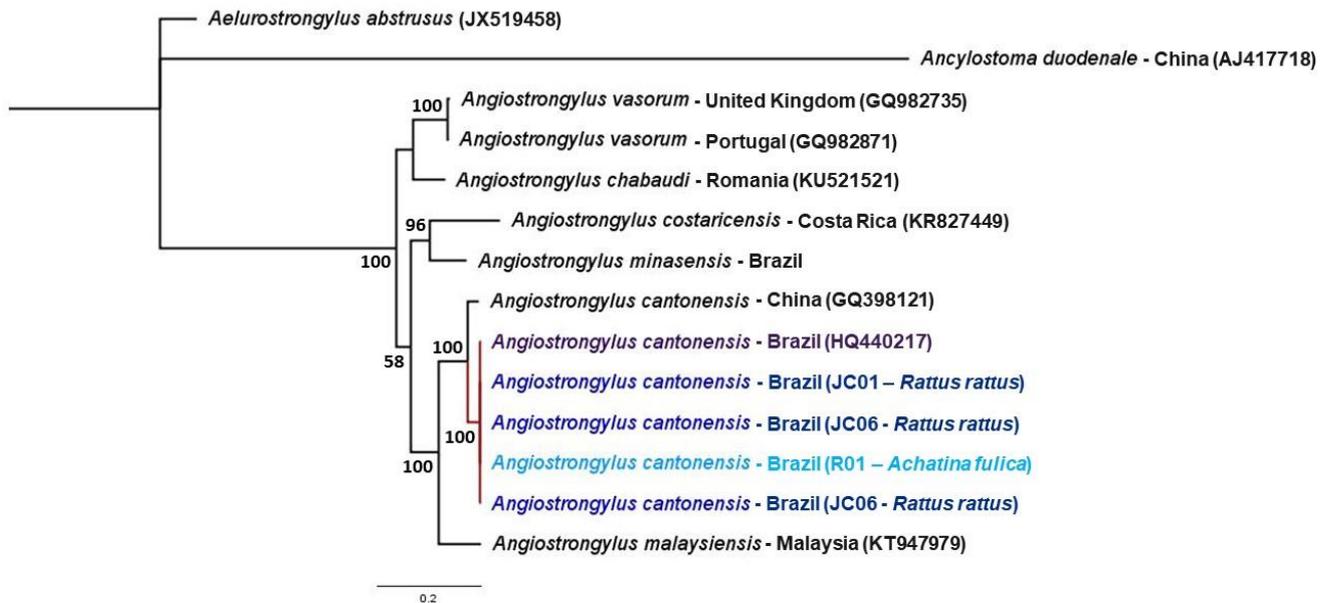


Figura 53. Reconstituição filogenética bayesiana, baseada no gene CO1. Valores nos nós são as probabilidades bayesianas posteriores.

16.4. Ciclo experimental de *Angiostrongylus cantonensis*: aspectos clínicos e descrições macroscópicas e microscópicas das lesões em modelos experimentais

Na tabela 14 estão apresentados os dados dos modelos experimentais infectados com L3 de *A. cantonensis* oriundas de *A. fulica* e *B. glabrata*, assim como o período pré-patente da infecção nos ratos Wistar, já que os camundongos BALB/c não eliminaram larvas de primeiro estágio nas fezes durante o período de experimento.

Tabela 14. Informações da infecção dos modelos experimentais Wistar e BALB/c com larvas de terceiro estágio de *A. cantonensis*.

Linagem	Origem L3	Id	N L3	Período pré-patente	Eutanásia (dias pós infecção)	Manifestação de sinais clínicos
Wistar	<i>A. fulica</i>	R01	50 L3	54 dias	110 dias	Não apresentou
BALB/c	<i>B. glabrata</i>	BR01-1	50 L3	não eliminou L1	28 dias	Perda de peso, pelo arrepiado e ataxia.
BALB/c	<i>B. glabrata</i>	BR02-1	50 L3	não eliminou L1	28 dias	Perda de peso, pelo arrepiado, postura de “cão sentado”, dificuldade respiratória, incoordenação, prostração e ataxia.
BALB/c	<i>B. glabrata</i>	BR01-2	50L3	não eliminou L1	79 dias	Não apresentou
BALB/c	<i>B. glabrata</i>	BR02-2	50L3	não eliminou L1	79 dias	Não apresentou
Wistar	<i>B. glabrata</i>	R04-1	50 L3	não eliminou L1	28 dias	Não apresentou
Wistar	<i>B. glabrata</i>	R04-2	50 L3	47 dias	56 dias	Não apresentou
Wistar	<i>B. glabrata</i>	R05-1	50 L3	não eliminou L1	28 dias	Não apresentou
Wistar	<i>B. glabrata</i>	R05-2	50 L3	47 dias	56 dias	Não apresentou

Após 110 dias de infecção, a rata R01 reduziu a eliminação de larvas e foi eutanasiada para recuperação dos helmintos adultos e análise morfológica e molecular, a fim de elucidar o ciclo natural da espécie. O animal não apresentou sinais clínicos decorrentes da infecção e aumentou o peso de 200 para 289 gramas. Na necropsia, o pulmão estava edemaciado, com áreas avermelhadas e áreas de fibrose. Das artérias pulmonares foram recuperados dois nematódeos adultos, uma fêmea e um macho. Não foram observadas alterações macroscópicas nos outros órgãos.

Na histopatologia, a maior parte do parênquima pulmonar estava substituído por múltiplas formações nodulares com ovos íntegros, ovos degenerados e larvas de nematódeos em cortes longitudinais e transversais. Associado aos ovos e larvas, havia numerosas células inflamatórias caracterizadas por macrófagos, macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas e plasmócitos. Além disso, quantidade leve a moderada de tecido fibroso estava presente ao redor dos ovos e larvas, os quais foram também visualizados no interior dos alvéolos. As larvas eram enoveladas e continham grânulos basofílicos e extremidades afiladas medindo em média 110,5 μm de comprimento. Os ovos embrionados tinham a casca delgada e eosinofílica, medindo em média 54,34 μm de comprimento e 27,5 μm de largura.

Após 28 dias de infecção, o camundongo BR01-1 apresentou perda de peso, de 21.46 para 15.9 gramas, pelo arrepiado e ataxia. O camundongo BR02-1 apresentou perda de peso, de 22 para 15.6 gramas, pelo arrepiado, postura de “cão sentado”, dificuldade respiratória, incoordenação, prostração e ataxia. Os dois animais foram eutanasiados. Na necropsia, no animal BR01-1, o cérebro estava edemaciado e no pulmão havia áreas vermelhas consolidadas. No animal BR02-1 havia equimose do lado direito do encéfalo, além de bexiga distendida e repleta de urina. Não foram observadas alterações macroscópicas nos outros órgãos.

Os achados histopatológicos foram restritos ao sistema nervoso central. No espaço subaracnóide do animal BR01-1 havia algumas larvas em secções transversais. O diâmetro médio das larvas foi de 302 μm e morfológicamente eram envoltas por cutícula delgada e lisa, musculatura celomiariana e hipoderme. Além disso, continham cavidade celomática e intestino com uma única camada de epitélio cúbico mononuclear. Nas leptomeninges, especialmente ao redor dos vasos e se estendendo para o espaço subaracnóide, em áreas multifocais, havia infiltrado neutrofílico e linfo-histiocitário, com áreas multifocais de hemorragia. No encéfalo do animal BR02-1, havia duas larvas na região de transição do hipocampo e substância branca do cérebro, adjacente ao ventrículo lateral, sendo uma intravascular; duas larvas na meninge do

cerebelo, cinco larvas na meninge de um dos hemisférios cerebrais, duas larvas no tronco (medula oblonga) e uma no quarto ventrículo em cortes transversais e longitudinais. Nas leptomeninges havia hiperemia e infiltrado inflamatório multifocal discreto, com predomínio de plasmócitos e macrófagos, ocasionalmente neutrófilos e raros eosinófilos. Ao redor de uma larva encontrada no espaço subaracnóide, predominou infiltrado neutrofílico. Com relação os parasitas presentes no parênquima do encéfalo, as larvas comprimiram o parênquima adjacente e estavam envoltas por plasmócitos, linfócitos, macrófagos e macrófagos epitelioides, caracterizando reação granulomatosa. Em um dos locais, havia também hemorragia e macrófagos com pigmento amarronzado (hemossiderina). Reação glial leve foi visualizada no parênquima ao redor das larvas. No neurópilo havia áreas com restos celulares associados aos vasos com hemorragia e eritrofagocitose, com algumas áreas de degeneração axonal. No fígado, os hepatócitos estavam difusamente vacuolizados caracterizando degeneração gordurosa. No baço, dos dois animais havia hiperplasia de polpa branca (hiperplasia folicular).

Após 79 dias de infecção, como os animais não eliminaram larvas de primeiro estágio nas fezes e não apresentaram sinais clínicos, os camundongos BR01- 2 e BR02- 2 foram eutanasiados. O animal BR01- 2 apresentou ganho de peso, de 21,75 para 25 gramas. Na necropsia o pulmão estava negativo para adultos, sem alterações macroscópicas. O animal BR02-2 apresentou ganho de peso, de 22,89 para 24 gramas. Macroscopicamente o pulmão estava negativo para parasitas adultos. Na histopatologia não foram observadas alterações em nenhum dos dois animais.

Para comparação com os resultados obtidos na infecção dos camundongos BALB/c, duas ratas Wistar foram eutanasiadas com 28 dias de infecção, R04-1 e R05-1, além de um controle.

Estas ratas não apresentaram sinais clínicos e tinham 255 e 254 gramas, respectivamente, na última pesagem. Durante a necropsia o cérebro e cerebelo das ratas R04-1 e R05-1 estavam hiperêmicos com vários exemplares de *A. cantonensis* jovens nas leptomeninges. Não foram recuperados helmintos adultos no pulmão nem larvas de primeiro estágio nas fezes.

Microscopicamente, no espaço subaracnóide na região do cerebelo e entre a aracnoide e a dura máter, na região lateral do tálamo, havia cortes transversais e longitudinais de adultos jovens de *A. cantonensis*. Estes parasitas tiveram em média 459 µm de diâmetro, possuindo cutícula lisa, hipoderme delgada, musculatura celomiariana, cavidade celomática, cordão

lateral, testículo, intestino com camada única e epitélio cúbico com núcleo único e gotas eosinofílicas no lúmen do intestino, sugestiva de hemoglobina, nos dois animais. As meninges estavam espessadas devido a proliferação epitelial associadas a infiltrado por macrófagos e células epitelioides, caracterizando meningite granulomatosa no animal R04-1. Já no animal R05-1 havia infiltrado linfocitário discreto na região das leptomeninges caracterizando meningite linfocitária e nas meninges fibroplasia leve.

Após o período pré patente, com 56 dias, mais duas ratas wistars, R04-2 e R05-2, e um controle foram eutanasiados. Os animais não apresentaram sinais clínicos e tinham 265 e 253 gramas, respectivamente, na última pesagem.

Macroscopicamente, o pulmão do Wistar R04-2 estava com áreas de atelectasia e com vários nódulos esbranquiçados variando de milimétricos a 0,5 cm, levemente salientes e aprofundados no parênquima. Exemplares machos e fêmeas, identificados posteriormente como *A. cantonensis*, foram visualizados no interior das artérias pulmonares. O encéfalo estava difusamente hiperêmico e edemaciado. Pela histopatologia, parasitas adultos, ovos e larvas foram visualizados nas áreas que corresponderam aos nódulos brancos identificados na macroscopia. Em uma artéria pulmonar havia proliferação da túnica íntima caracterizada por múltiplas camadas de endotélio, além de hipertrofia e hiperplasia da camada muscular, caracterizando arterite proliferativa. No lúmen desta artéria havia 15 cortes transversais e longitudinais de adultos de *A. cantonensis*. Morfologicamente, estes parasitas possuíam cutícula espessa, musculatura celomiariana, cordões laterais e cavidade celomática. Alguns eram machos, contendo testículos e intestino com células epiteliais cúbicas, núcleo e citoplasma amplos, outros eram fêmeas contendo intestino e útero com ovos embrionados. Áreas multifocais a coalescentes eram constituídas por restos de larvas e ovos envoltos por macrófagos epitelioides, e células multinucleadas, áreas de mineralização e tecido conjuntivo fibroso em quantidade leve a moderada. Nos alvéolos havia áreas multifocais com fibrina e hemorragia, associadas a macrófagos e linfócitos. Nos brônquios e bronquíolos havia hipertrofia e hiperplasia de células caliciformes com acúmulo de muco e larvas no lúmen. No folículo linfoide associado ao brônquio constatou-se hiperplasia e plasmocitose com algumas células *Mott*. O linfonodo cervical superficial estava reativo com hiperplasia difusa da cortical e plasmocitose.

No animal R05-2, na necropsia as lesões macroscópicas também foram intensas. No pulmão deste animal havia aderências entre os lóbulos, nódulos esbranquiçados e firmes a

palpação, áreas de atelectasia e hemorragias e exemplares machos e fêmeas, identificados posteriormente como *A. cantonensis*, no interior das artérias pulmonares. Um dos nódulos apresentava 3cm e estava comprimindo o parênquima da porção caudal do lobo cranial esquerdo e aderido a pleura. O encefalo estava difusamente hiperêmico. Microscopicamente, havia perda do parênquima pulmonar e substituição por áreas circulares multifocais a coalescentes contendo ovos embrionados. Estes eram constituídos por casca delgada eosinofílica, medindo em média 54,34 μm de comprimento e 27,5 μm de largura, ovos degenerados e larvas enveladas com grânulos basofílicos e extremidades afiladas, medindo 110,5 μm de comprimento. Na túnica íntima da artéria bronquial, havia espessamento caracterizado por múltiplas camadas desorganizadas de células endoteliais (arterite proliferativa). No lúmen, havia trombose associada a neutrófilos. A túnica média estava espessada por células musculares lisas caracterizadas por múltiplas camadas, com alteração da morfologia da artéria. No lúmen, havia 13 cortes transversais e longitudinais de adultos de *A. cantonensis*. Macrófagos vacuolizados foram visualizados em abundância no lúmen dos alvéolos e ao redor de larvas e ovos.

Neste mesmo pulmão, na porção caudal do lobo cranial esquerdo, havia uma área nodular comprimindo o parênquima normal adjacente, caracterizada por áreas multifocais a coalescentes de necrose lítica associada a numerosos neutrófilos degenerados e íntegros. Numerosos neutrófilos também estavam presentes no lúmen de bronquíolos. Alguns destes estavam com dilatação e a parede rompida (bronquiectasia). Estas lesões estavam intercaladas por áreas com ovos e larvas associadas a quantidade moderada de tecido conjuntivo fibroso, numerosos linfócitos e plasmócitos e menor quantidade de neutrófilos. Macrófagos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas estavam presentes em quantidade moderada ao redor dos ovos e larvas. Por vezes, ovos e larvas estavam envoltos por epitélio simples achatado e/ou cúbico (hiperplasia de pneumócitos). No lúmen de uma artéria também foram visualizados ovos e larvas e outras artérias estavam com proliferação moderada da túnica íntima e com hipertrofia da túnica média. Havia áreas com edema no interior de alguns espaços alveolares remanescentes. No baço, havia hiperplasia de polpa branca (hiperplasia folicular) e no encéfalo espessamento multifocal leve da meninge e inflamação leve (meningite leve).

Os Wistars, utilizados como controles, não apresentavam sinais clínicos. Na necropsia e na histopatologia não foram observadas lesões.



Figura 54. Sinais clínicos apresentados pelo camundongo BR02-1 evidenciando baixo escore corporal, postura de “cão sentado” e incoordenação.

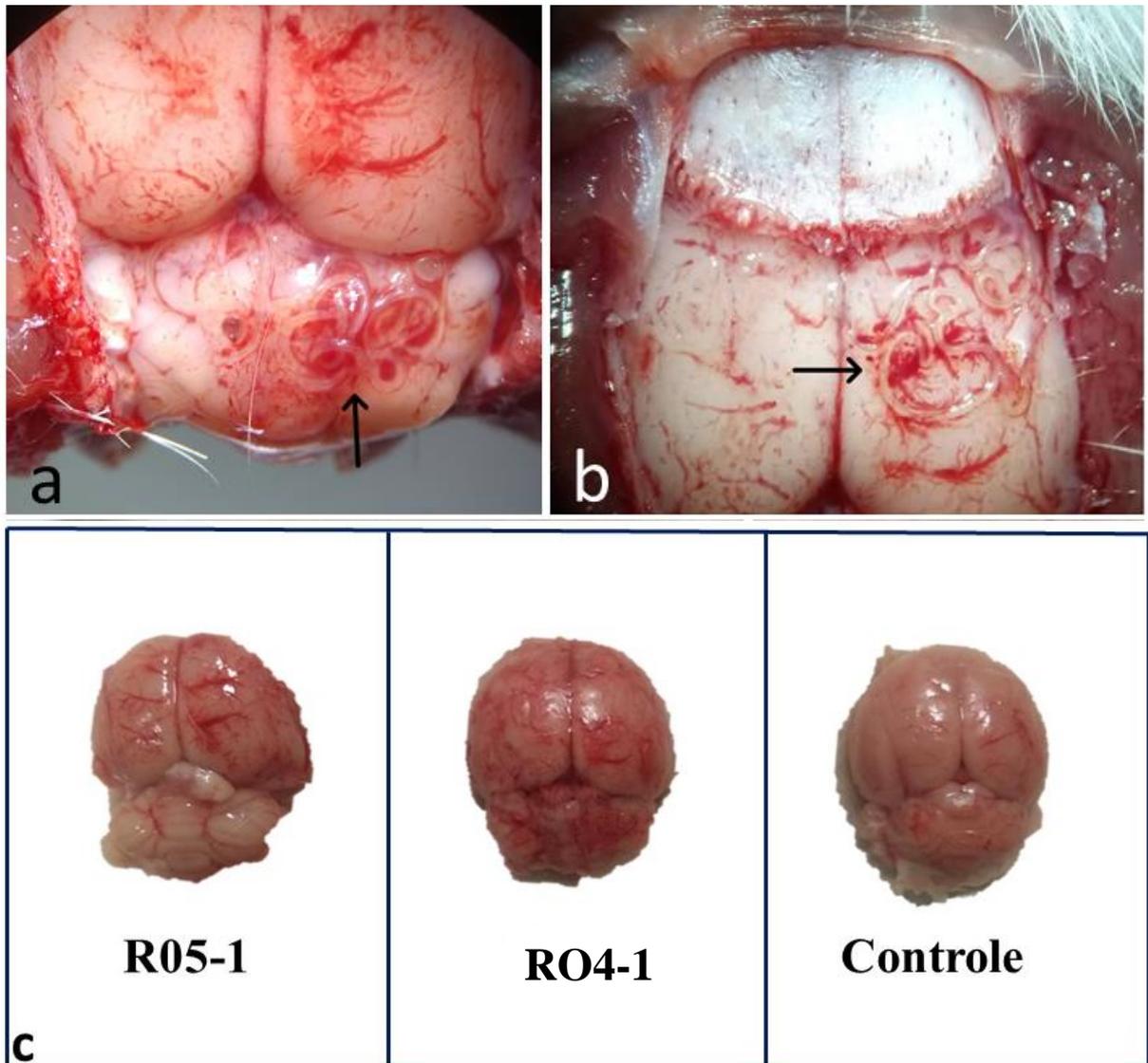


Figura 55. Lesões macroscópicas no encéfalo de ratas experimentalmente infectadas. (a) Presença de exemplares de adultos jovens de *A. cantonensis* nas leptomeninges da região do cerebelo (seta) do animal R04-1. (b) Presença de exemplares de adultos jovens de *A. cantonensis* nas leptomeninges da região do hemisfério cerebral direito (seta) do animal R05-1. (c) Comparação entre os encéfalos dos animais, da esquerda para a direita, R05-1, R04-1 e Controle, onde podemos observar hiperemia moderada nos animais R05-1 e R04-1 em comparação com a ausência no controle não infectado.

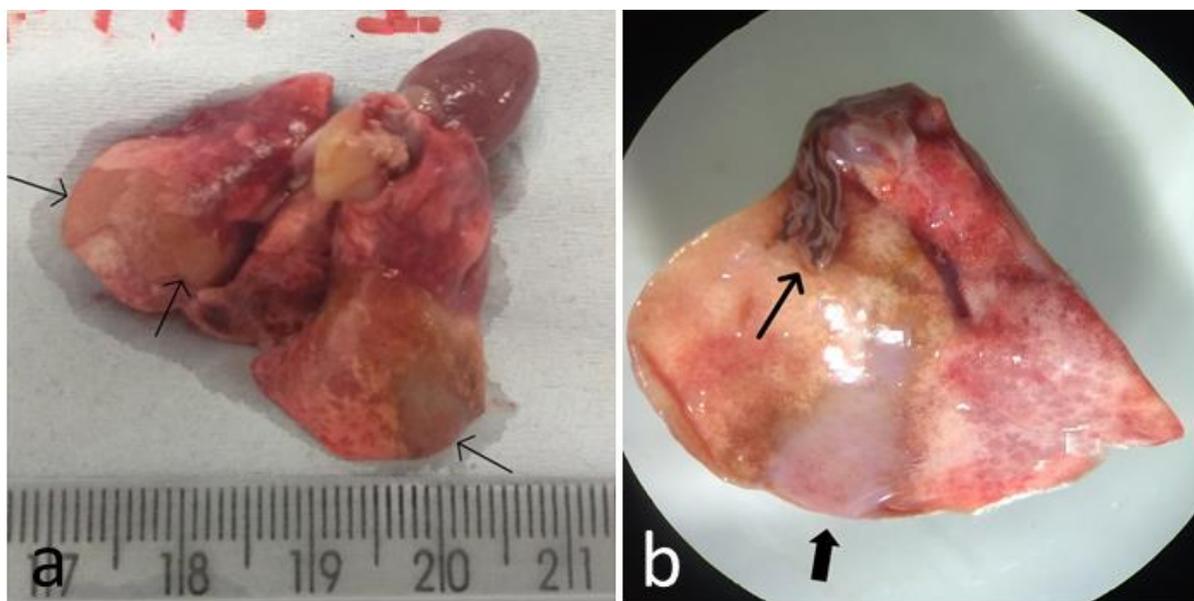


Figura 56. Lesões macroscópicas no pulmão da rata R04-2 experimentalmente infectada. (a) Presença de nódulos esbranquiçados e firmes a palpação nos lobos caudal direito e caudal esquerdo (setas). (b) Nódulo esbranquiçado em detalhe (seta espessa) e exemplares adultos de *A. cantonensis* emergindo de uma artéria pulmonar próxima ao nódulo (seta fina).

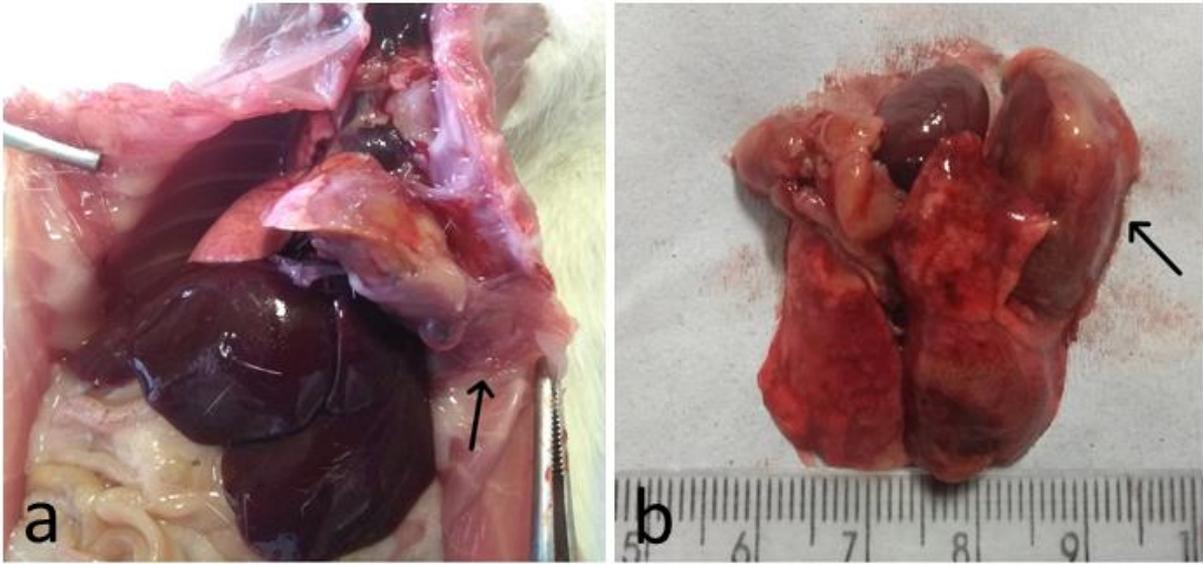


Figura 57. Lesões macroscópicas no pulmão da rata R05-2 experimentalmente infectada. (a) Presença de nódulo esbranquiçado e firme a palpação comprimindo o parênquima do lobo caudal esquerdo do pulmão e aderido à pleura (seta). (b) Pulmão com áreas de hemorragia, evidenciando o nódulo no lobo caudal esquerdo (seta).

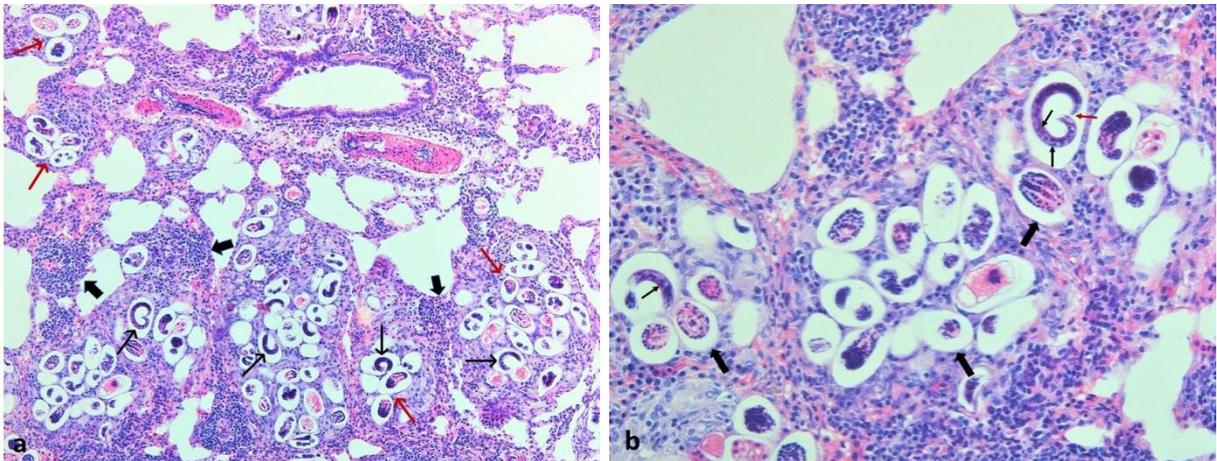


Figura 58. Lesões microscópicas no pulmão da rata R01 experimentalmente infectada. (a) Parênquima pulmonar substituído por múltiplas formações nodulares com ovos (setas vermelhas) e larvas (setas pretas) de nematódeos em cortes longitudinais e transversais, associados a numerosas células inflamatórias (setas grossas) 10X. (b) Em maior aumento as larvas eram enoveladas e continham grânulos basofílico (setas finas pretas) e extremidades afiladas (setas finas vermelhas) e os ovos embrionados tinham a casca delgada eosinofílica (setas grossas) 20X. Hematoxilina e eosina.

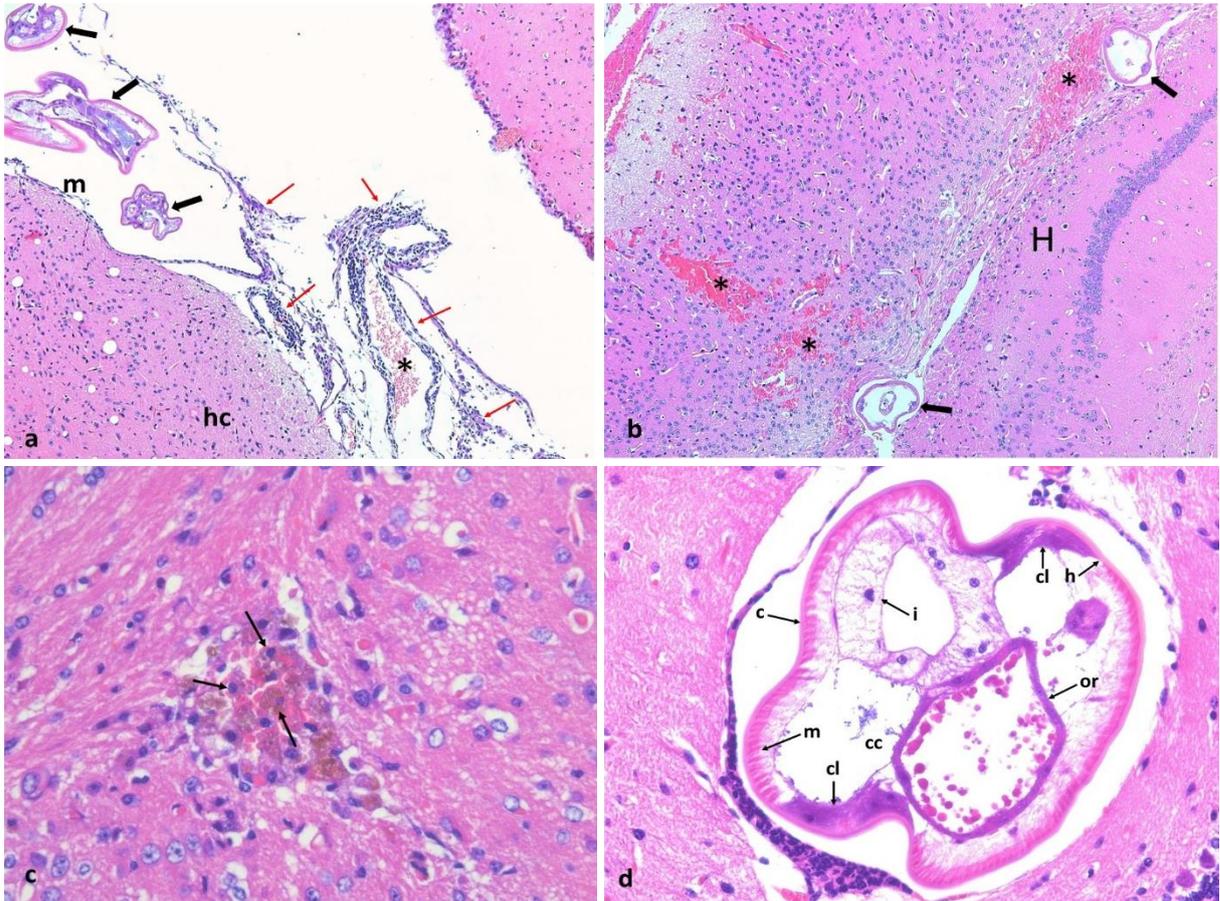


Figura 59. Lesões microscópicas no encéfalo dos camundongos BR01-1 e BR02-1 experimentalmente infectados. (a) Presença de larvas (setas pretas) na meninge (m) de um dos hemisférios cerebrais (hc), associadas a hiperemia (asterisco) e infiltrado inflamatório (setas vermelhas) 10X. (b) Presença de duas larvas (setas) na região de transição do hipocampo e substância branca do cérebro adjacente ao ventrículo lateral (H) associadas a áreas de hemorragia (asteriscos) 10X. (c) Em detalhe, local de hemorragia e macrófagos com pigmento amarronzado (hemossiderina) (setas) 40X. (d) Em detalhe, morfologicamente as larvas eram envoltas por cutícula delgada e lisa (c), musculatura celomariana (m) e hipoderme (h), cavidade celomática (cc), intestino com uma única camada de epitélio cúbico com núcleo único (i) e órgão reprodutor (or). Hematoxilina e eosina.

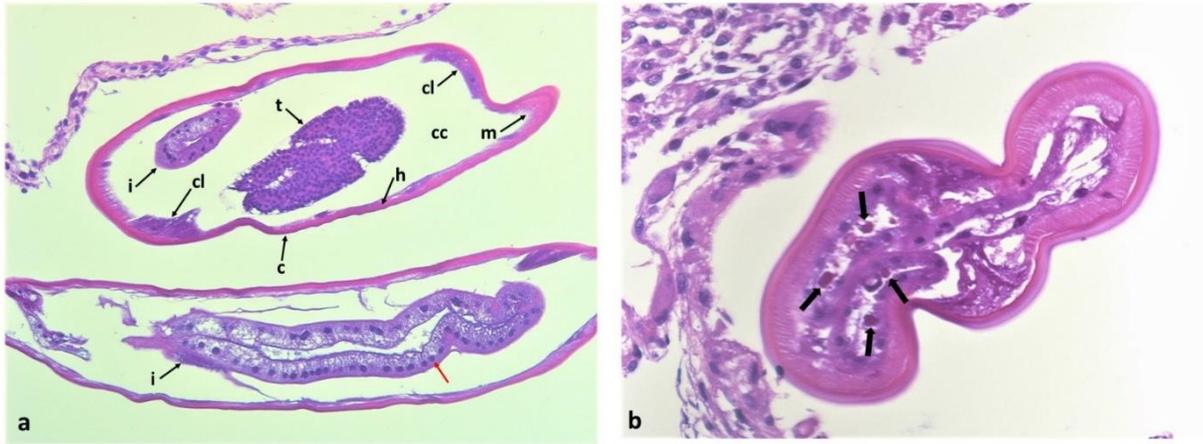


Figura 60. Lesões microscópicas no encéfalo das ratas R04-1 e R05-1 experimentalmente infectadas. (a) Em maior aumento, morfologicamente as larvas eram envoltas por cutícula lisa (c), hipoderme delgada (h), musculatura celomariana (m), cavidade celomática (cc), cordão lateral (cl), testículo (t), intestino (i) com camada única e epitélio cúbico com núcleo único (seta vermelha) 40X. Em maior aumento, foram observadas gotas eosinofílicas no lúmen do intestino (setas grossas) sugestiva de hemoglobina. Hematoxilina e eosina.

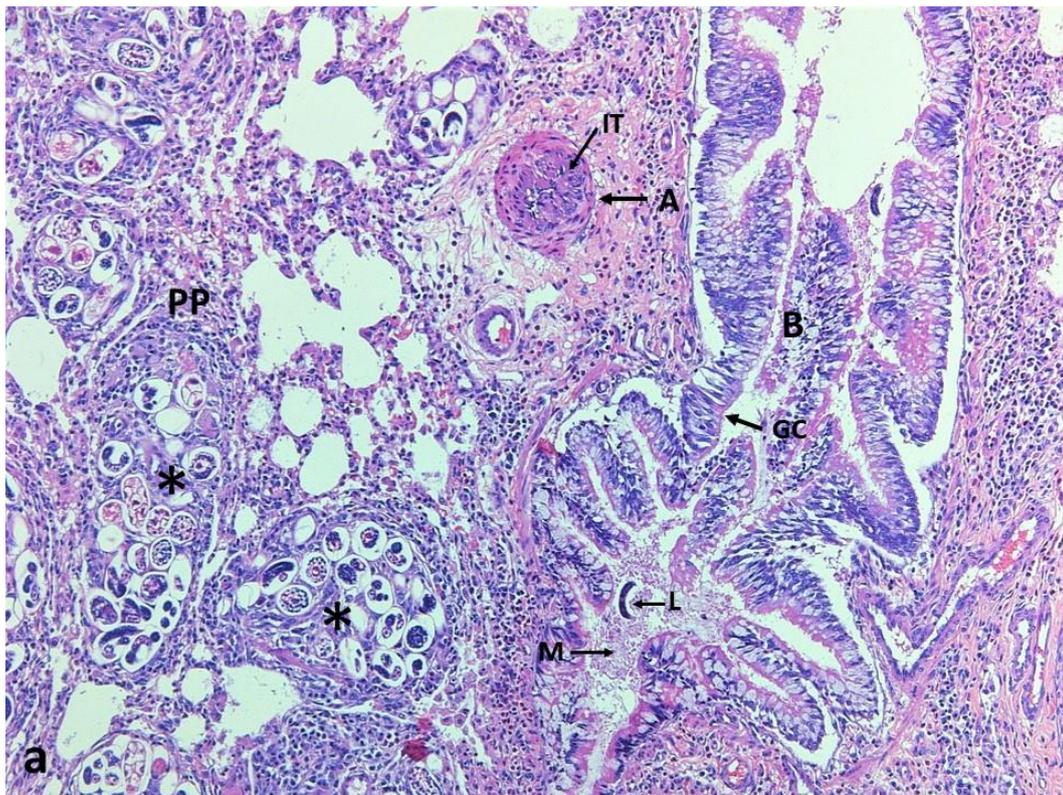


Figura 61. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. Arquitetura pulmonar com áreas de perda total do parênquima (PP), substituição por células inflamatórias associadas a larvas e ovos íntegros embrionados e ovos degenerados em cortes longitudinais e transversais (*). Artéria (A) com espessamento da túnica íntima (IT). Brônquio (B) com hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes (GC) e presença de muco (M) e larva (L) 20X. Hematoxilina e eosina.

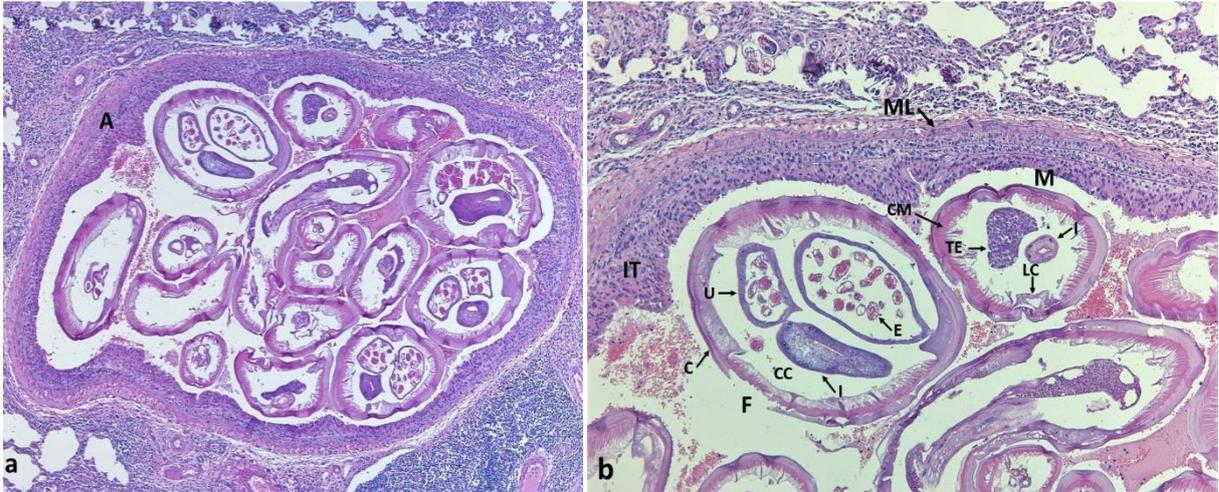


Figura 62. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. (a) Artéria pulmonar (A) com presença de 15 cortes transversais e longitudinais de adultos de *A. cantonensis* 10X. (b) Artéria pulmonar com proliferação da túnica íntima (IT) e hipertrofia e hiperplasia da camada muscular (ML), evidenciando no lúmen em cortes transversais, um exemplar macho (M) com musculatura celomiariana (CM), cordões laterais (SC), testículos (TE) e intestino (I) e um exemplar fêmea (F) com cutícula espessa (C), cavidade celomática (CC), intestino (I) e útero (U) com ovos embrionados (E) (c). Os adultos jovens em cortes longitudinais foram caracterizados por cutícula lisa (CC), musculatura celomiariana (CM), cavidade celomática (CC), testículo (TE) e intestino (I) 20X. Hematoxilina e eosina.

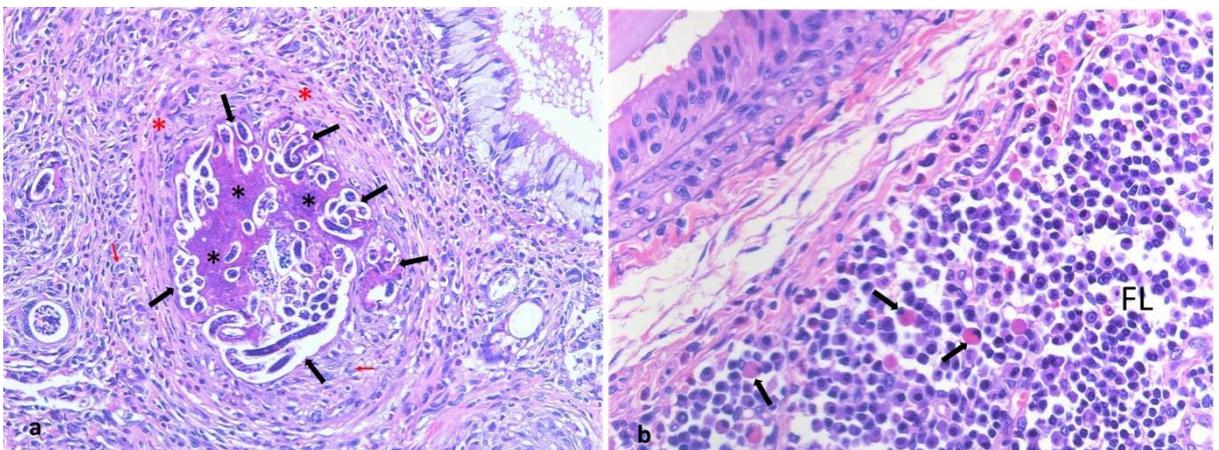


Figura 63. Lesões microscópicas no pulmão das ratas R04-2 e R05-2 experimentalmente infectadas. (a) Áreas multifocais a coalescentes constituídas por restos de larvas e ovos (setas pretas) envolvidos por macrófagos epitelioides, e células multinucleadas (setas vermelhas), áreas de mineralização (asteriscos pretos) e tecido conjuntivo fibroso (asteriscos vermelhos) 20X. (b) No folículo linfóide (FL) associado ao brônquio constatou-se hiperplasia e plasmocitose com algumas células *Mott* (setas) 40X. Hematoxilina e eosina.

17. DISCUSSÃO

Parques urbanos em todo o mundo, geralmente são caracterizados por grande pressão antrópica e contínuo avanço humano sobre os fragmentos de florestas, semelhante aos parques do presente estudo. Há uma baixa proporção de matas nativas, próximas às residências, com presença de lixo e mudanças nos habitats naturais, afetando diretamente a estrutura das comunidades de animais e plantas (Soulé, 1980; Bradley & Altizer, 2006; Mackenstedt et al., 2015). Nesses parques urbanos, as comunidades de roedores podem ficar restritas a um pequeno número de espécies oportunistas e exóticas, como *R. rattus*, cuja densidade populacional pode aumentar significativamente devido à ausência de pressões competitivas e recursos abundantes que não dependem de flutuações sazonais, como lixo e alimentos dados pelas pessoas, que sustentam essas populações (Ruedas et al., 2004; Carrol et al., 2005; Mills, 2006). Esses fatores característicos dos parques urbanos, também são importantes para a colonização desses ambientes por *A. fulica*. Esse caramujo, tem como um dos fatores predominantes para o seu estabelecimento e disseminação, a presença humana, sendo mais abundante em áreas urbanas com grande população e grande oferta alimentar (Albuquerque et al., 2008).

Após a primeira descrição por Chen, 1935 o *Angiostrongylus cantonensis* se dispersou por várias ilhas no Pacífico, através de ratos naturalmente infectados em containers vindos da Ásia (Diaz, 2008). Os crescentes fluxos de comércio e turismo global, bem como a disseminação de hábitos e costumes entre os países, permitiram a dispersão dos hospedeiros definitivos e intermediários, principalmente o *Achatina fulica*, hospedeiro intermediário de *A. cantonensis* em vários continentes como Austrália, África e nas Américas (Foronda et al., 2010; Maldonado et al., 2012; Moreira et al., 2013).

Os espécimes obtidos no presente estudo, foram inicialmente comparados com exemplares descritos por Alicata & Jindrak, 1970, demonstrando se tratar de *A. cantonensis*. As características morfológicas e morfométricas desses helmintos, o hospedeiro, a localização na artéria pulmonar dos parasitos, os dados moleculares e as lesões descritas confirmaram a identificação. Esses mesmos parâmetros morfométricos, estavam de acordo com a descrição original de Chen (1935). Da mesma forma, os dados morfológicos e moleculares de adultos recuperados de *R. norvegicus* experimentalmente infectado com L3 recuperadas de *A. fulica* naturalmente infectado, confirma se tratar de *A. cantonensis*, demonstrando a ocorrência do ciclo natural da espécie no parque urbano Jacques Cousteau e sugerindo o aumento de sua dispersão nos estados brasileiros.

O nematódeo *A. costaricensis* tem pouca especificidade em relação aos hospedeiros definitivos, sendo os roedores das famílias Cricetidae, Heteromyidae e Muridae os principais hospedeiros envolvidos no seu ciclo de vida (Maldonado et al., 2010). Em locais como o parque Jacques Cousteau, com paisagens de baixa proporção de florestas nativas, comunidades de roedores podem se tornar restritas a um pequeno número de espécies oportunistas, como algumas espécies da família Muridae, cuja densidade populacional pode aumentar significativamente devido à ausência de pressões competitivas (Ruedas et al., 2004; Carroll et al., 2005; Mills, 2006). Estes animais, apesar das lesões observadas tanto no pulmão quanto no encéfalo, geralmente não apresentam manifestação clínica relacionada ao parasitismo, sendo que, quando apresentam, ela é dependente da quantidade de larvas durante a infecção. Geralmente, em infecções mais leves, o período crucial para os roedores é durante a migração dos parasitos do encéfalo para os pulmões. (Lim et al., 1965; Alicata & Jindrak, 1970). Devido a estes fatores, a manutenção do ciclo biológico em locais onde a densidade de roedores sinantrópicos, como *R. rattus*, é alta, pode ser facilitada, assim como a possibilidade de transmissão para a população humana. Visto que, como sugerido por Wang *et al.* (2008), o papel de *R. rattus* como hospedeiro definitivo, pode ser baseado nas taxas de prevalência registradas em outros países, embora sua participação no ciclo de vida do parasito possa depender de condições epidemiológicas locais.

Diferente dos roedores, no caso dos humanos, considerados hospedeiros acidentais de *A. cantonensis*, a presença do helminto, sua movimentação e morte no sistema nervoso central, e a resposta imune produzida pelo hospedeiro, leva a uma meningite caracterizada pela presença de eosinófilos tanto no líquido cefalorraquidiano (LCR) quanto no sangue periférico (Pien & Pien, 1999; Tsai et al., 2001; Luessi et al., 2009; Chen et al., 2011; Espírito-Santo et al., 2013; Murphy & Johnson, 2013). Sendo assim, a meningite eosinofílica é a principal manifestação clínica da doença causada pelo nematódeo *A. cantonensis*, podendo ocorrer casos graves da doença com sequelas neurológicas permanentes e evolução para coma e morte (Lima et al., 2009; Luessi et al., 2009; Hsueh et al., 2013).

Mais de 2.877 casos humanos de meningite eosinofílica foram relatados em todo o mundo, fazendo com que a doença ganhasse reconhecimento como uma zoonose emergente, sendo considerada endêmica em alguns países asiáticos e ilhas do Pacífico (Wang et al., 2008), demonstrando a importância de estudos que identifiquem os hospedeiros definitivos e intermediários do nematódeo e os locais onde o ciclo ocorre (Wang et al., 2012). Portanto, um maior conhecimento dessa zoonose emergente é essencial, principalmente em locais onde a

densidade de roedores sinantrópicos, como *R. rattus*, é alta, o que pode facilitar a manutenção do ciclo biológico do parasito. Considerando que o papel de *R. rattus* como hospedeiro definitivo pode ser baseado nas taxas de prevalência registradas em outros países, sua participação no ciclo de vida do parasito pode depender das condições epidemiológicas locais (Wang et al., 2008). Esses achados, reforçam a importância da conscientização dos serviços públicos de saúde quanto à presença de *A. cantonensis* em área urbana e do monitoramento e controle das principais espécies de hospedeiros, a fim de evitar possíveis casos humanos, como os já existentes, relatados no Brasil, e para reduzir a possibilidade de infecção de animais domésticos, relatados como hospedeiros acidentais em outros países. As medidas preventivas incluem evitar o contato com moluscos potencialmente infecciosos e roedores sinantrópicos, e o controle e monitoramento de animais domésticos em parques urbanos, que podem ser incentivados por meio de ações de educação em saúde e capacitação de agentes de controle de zoonoses para identificar possíveis riscos de transmissão e manutenção de ciclo de *A. cantonensis* nessas áreas. Claramente, mais pesquisas são necessárias, com urgência, para mapear a distribuição de *A. cantonensis* em Minas Gerais.

Este estudo, além de representar o primeiro relato da presença do *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus rattus* e *Achatina fulica* no estado de Minas Gerais, pode servir de alerta para as autoridades de saúde pública do estado, dado o potencial zoonótico desse parasito, as altas densidades de populações sinantrópicas de ratos, a presença do caramujo exótico *A. fulica* e a proximidade da ocorrência e manutenção do ciclo em área urbana e de visitação pública.

Em relação ao ciclo experimental, podemos observar que L4 foram recuperadas no espaço subaracnóideo dos ratos Wistars com 28 dias de infecção. Após esse período, foram recuperadas L1 nas fezes dos modelos infectados e adultos nas artérias pulmonares dos ratos eutanasiados. Esses resultados estão de acordo com os relatados em outros experimentos (Kuberski & Wallace, 1979; Chen & Lai, 2007; Lan & Lai, 2009; OuYang et al., 2012). Diante disso, uma vez que as L3 são ingeridas pelos hospedeiros elas atingem o sistema nervoso central através do sistema circulatório. No entanto, o desenvolvimento larval no encéfalo é distinto nos diferentes hospedeiros. As larvas no hospedeiro permissivo como por exemplo ratos, mudam duas vezes, se desenvolvendo em adultos jovens (L5). Essas larvas já apresentam dimorfismo sexual sendo possível observar a bolsa copuladora na extremidade posterior dos machos e a vulva na extremidade posterior da fêmea (OuYang et al., 2012). Os helmintos recuperados nas leptomeninges de dois Wistars eutanasiados com 28 dias de infecção, no presente estudo, também apresentavam essas características. No caso de hospedeiros não permissivos, como

humanos, outros mamíferos e aves, as larvas geralmente não conseguem completar a migração pulmonar e permanecem no encéfalo até a morte (Alicata & Jindrak 1970; Yamashita et al. 1975). No presente estudo, não foram recuperados adultos jovens dos camundongos BALB/c infectados, o que é corroborado por diferentes estudos que utilizam esse modelo para a infecção com *A. cantonensis* (Lee et al., 2006; OuYang et al., 2012; Wang et al., 2018) Esses estudos demonstram que, ao contrário das larvas dos ratos, as larvas dos camundongos infectados eram menores e seus tamanhos não aumentavam mais, desde a terceira semana após a infecção. Nenhuma diferença significativa foi observada no comprimento larval entre as larvas recuperadas de camundongos na terceira semana e na quarta semana pós-infecção. Nos Wistars que apresentavam adultos jovens, eles foram recuperados nas leptomeninges da região do cerebelo e nas leptomeninges da região do hemisfério cerebral direito. Esses resultados foram parecidos com os obtidos por OuYang *et al.* (2012), que recuperam helmintos agregados principalmente no espaço subaracnóide da região cerebral onde seu número foi significativamente maior do que em outras regiões do cérebro, incluindo cerebelo e tronco cerebral. Danos mecânicos na superfície do cérebro causados pela migração larval foram caracterizados por hemorragias irregulares e inchaço do tecido focal. O dano mais óbvio foi visto na superfície cerebral em ratos e a área da lesão foi maior do que a de qualquer outra região do cérebro, neste estágio infectado. Esses achados também foram observados no presente estudo, no qual, os encéfalos dos animais eutanasiados com 28 dias, apresentavam hiperemia moderada em comparação com a ausência no controle não infectado. Na microscopia, as meninges estavam espessadas devido a proliferação epitelial, associadas a infiltrado por macrófagos e células epitelioides, caracterizando meningite granulomatosa em um animal, sendo que no outro havia infiltrado linfocitário discreto na região das leptomeninges caracterizando meningite linfocitária e nas meninges fibroplasia leve.

Os resultados obtidos nos ratos Wistars eutanasiados após o período pré patente, foram semelhantes aos obtidos nos ratos naturalmente infectados e nos casos descritos na literatura. Esses achados, demonstram a viabilidade das larvas recuperadas dos hospedeiros naturalmente infectados e do modelo Wistar infectado com L3 recuperadas do *A. fulica*. Essas larvas foram viáveis para infectar moluscos da espécie *B. glabrata* e modelos Wistars (*R. norvegicus*) reproduzindo o ciclo natural da espécie. Conseqüentemente, o ciclo de *A. cantonensis* recuperado de *R. rattus* e *A. fulica* naturalmente infectados no Parque Jacques Cousteau será mantido no Laboratório de Helmintologia veterinária do ICB-UFMG para estudos futuros.

Em relação aos resultados obtidos da infecção de modelos BALB/c, podemos observar a viabilidade das larvas para infectar esses animais, apesar de que, dois animais não apresentaram sinais clínicos nem alterações macroscópicas e microscópicas no encéfalo, o que pode ser justificado por algum erro durante a infecção desses animais. Os sinais clínicos apresentados com 28 dias de infecção, coincidem com sinais clínicos relatados em primatas não humanos infectados por *A. cantonensis*. Esses animais apresentaram início agudo de letargia com fraqueza, diarreia, ataxia, convulsões, paralisia e paresia do membro posterior (Edwards et al., 2020). Nas análises histopatológicas, em todos os casos, houve uma meningite que variou de leve a grave e afetou o cérebro, cerebelo e tronco cerebral, com predomínio de eosinófilos e infiltrado composto principalmente de macrófagos. Também foram relatadas áreas caracterizadas por cavitação, hemorragia, inflamação histiocítica, edema, degeneração dos axônios e gliose (Edwards et al., 2020). Esses achados são compatíveis com os descritos nesse trabalho, o que demonstra que os modelos BALB/c podem ser utilizados para estudos que reproduzem infecções nos hospedeiros acidentais, incluindo humanos.

18. CONCLUSÃO

- Exemplos adultos de *Angiostrongylus cantonensis* foram recuperados das artérias pulmonares de *Rattus rattus* naturalmente infectados, capturados no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais.
- Larvas de terceiro estágio de *Angiostrongylus cantonensis* foram recuperadas de molusco *Achatina fulica*, naturalmente infectado, coletado no Parque Municipal Jacques Cousteau em Belo Horizonte, Minas Gerais.
- A presença de ratos e moluscos infectados com *A. cantonensis* demonstra a ocorrência do ciclo biológico natural da espécie em um parque urbano, próximo a residências, escola e hospital, e utilizado para visitação na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.
- Este é o primeiro relato de *A. cantonensis* parasitando *Rattus rattus* e *Achatina fulica* no estado de Minas Gerais.
- A viabilidade das larvas de terceiro estágio recuperadas de *A. fulica* e de primeiro estágio recuperadas de *R. rattus* naturalmente infectados, foi demonstrada através da infecção dos modelos experimentais Wistar e BALB/c e do molusco *Biomphalaria glabrata*.

19. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu-JR EF, Casali DM, Garbino GST, Loretto D, Loss AC, Marmontel M, Nascimento MC, Oliveira ML, Pavan SE, Tirelli FP. Lista de Mamíferos do Brasil. Comitê de Taxonomia da Sociedade Brasileira de Mastozoologia (CT-SBMz). Available in: <https://www.sbmz.org/mamiferos-do-brasil>. 2020.

Abuladze KI. Taeniata of animal and man and diseases caused by them. Izdatel' stvo "Nauka", Moscow (in Russian). 1964.

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud. 1986; p. 174-185. (Publicación científica, 503).

Acuña A, et al. Helmintiasis Intestinales. Manejo de las geohelmintiasis. Montevideo: Ed.MSP/OPS/OMS, 2003.

Adnet FA, Anjos DH, Menezes-Oliveira A, Lanfredi RM. Further description of *Cruzia tentaculata* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1917 (Nematoda: Cruzidae) by light and scanning electron microscopy. Parasitol. Res. 2009; 104 (5), 1207–1211.

Albuquerque FS, Peso-Aguiar MC, Assunção-Albuquerque MJ.; Distribution, feeding behavior and control strategies of the exotic land snail *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata) in the northeast of Brazil. Braz J Biol. 2008; 68(4):837-42.

Alcaraz A, Eberhard ML. Diagnóstico Histopatológico. In: Bowman DD. Parasitologia Veterinária de Georgis. 8ed. Barueri, SP: Manole. 2006; cap.6, p. 359-394.

Alicata JE, Jindrak K. Angiostrongylosis in the Pacific and Southeast Asia. By Charles C Thomas publisher. 1970; pp 17-77.

Almeida LR, Souza JGR, Santos HA, Torres E JL, Vilela RV, Cruz OMS, Rodrigues L, Pereira CAJ, Maldonado Junior A, Lima WS. *Angiostrongylus minasensis* n. sp.: new species found parasitizing coatis (*Nasua nasua*) in an urban protected area in Brazil. Braz J Vet Parasitol 2020; 29(1): e018119.

Altaf J, Qureshi AZ, Siddiqui MJI. Terrestrial snails as bioindicators of environmental degradation. J. Bio. & Env. Sci. 2017; Vol. 10, No. 1, p. 253-264.

Alves-Costa CP. Frugivoria e dispersão de sementes por quatis (Procyonidae: *Nasua nasua*) no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. 1998.

Amato JFR, Boeger WA, Amato SB. Protocolos para laboratório – coleta e processamento de parasitos de pescado. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária – UFRRJ. 1991; 81.

Anderson RC, Chabaud AG, Willmott S. Keys to the nematode parasites of vertebrates. Archival Volume. Wallingford: CAB International; 2009. 463 pp.

Anderson RC. Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. 2nd ed. Wallingford: CAB International; 2000. 650 pp.

Anderson TJC. The dangers of using single locus markers in parasite epidemiology: *Ascaris* as a case study. Trends in Parasitology. 2001; 17(4):183-8.

Araujo EO, Mendes MM, Langone PQ, Müller G. The Helminth Parasites of *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) of Urban, Intermediate and Rural Environments In Southern Brazil. Neotrop. Helminthol. 2014; 8(1) 18-22.

Avelar IO, Almeida LR, D'Elia ML, Santos HA, Soares DFM, Pereira PLL, et al. Pathological and parasitological findings in a Brazilian hoary fox (*Lycalopex vetulus*, Lund, 1842) infected by *Oslerus osleri* (Cobbold, 1876) (Nematoda: filaroididae). Braz J Vet Pathol 2013; 6(3): 111-115.

Babolin LS, Almeida- Silva MJF, Potenza MR, Fava C, Castro V, Harakava R, et al. Zoonosis associated to *Rattus rattus* and the impacts of the public actions to control the species. Arq. Inst. Biol., 2016; v.83, 1-7, e0832014.

Bain, O. et al. Étude de quelques *Litomosoides* parasites de rongeurs; conséquences taxonomiques. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1989; 64, 268–289.

Barbosa TA, Thiengo SC, Fernandez MA, Graeff-Teixeira Ca, Morassutti AL, Mourão FRP et al. Infection by *Angiostrongylus cantonensis* in both humans and the snail *Achatina (Lissachatina) fulica* in the city of Macapá, in the Amazon Region of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2020; Vol. 115: e200115.

Barçante TA, Barçante JM, Dias SR, Lima WS. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. Parasitol Res. 2003; 91(6):471-5.

Barratt J, Chan D, Sandaradura I, Malik R, Spielman D, Lee R, Marriott D, Harkness J, Ellis J, Stark D. *Angiostrongylus cantonensis*: a review of its distribution, molecular biology and clinical significance as a human pathogen. Parasitology. 2016; 143(9):1087-118.

Becker RG, Paise G, Baumgarten LC, Vieira EM. Estrutura de comunidades de pequenos mamíferos e densidade de *Necomys lasiurus* (Rodentia, Sigmodontinae) em áreas abertas de cerrado no Brasil central. Mastozoología Neotropical, 2007; 14(2):157-168.

Blouin MS, Yowell CA, Courtney CH, Dame JB. Substitution bias, Rapid saturation, and the use of mtDNA for nematode systematics. Mol Biol Evol. 1998; 15(12):1719-27.

Blouin MS. Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. Int J Parasitol. 2002; 32:527-31.

Bonvicino CR, Oliveira JA, D'Andrea PS. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS: 2002; p. 120.

Bordes F, Morand S, Pilosof S, Julien Claude J, Krasnov BR, Cosson JF, et al. Habitat fragmentation alters the properties of a host–parasite network: rodents and their helminths in South-East Asia. Journal of Animal Ecology. 2015.

Bouchery T, Kyle R, Camberis M, Shepherd A, Filbey K, Smith A. ILC2s and T cells cooperate to ensure maintenance of M2 macrophages for lung immunity Against hookworms. *Nature communications*. 2015.

Bowles J, Hope M, Tiu WU, Liu X, McManus DP. Nuclear and mitochondrial genetic markers highly conserved between Chinese and Philippine *Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica*. 1993; 55: 217-229.

Bowman D, Hendrix C, Lindsay DS, Barr SC. *Feline clinical parasitology*. Iowa State University Press, Ames. 2002.

Bradley CA, Altizer S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 2006; 22 (2).

Brandão ML. Helminhos de mamíferos da região do Parque Nacional Serra da Capivara, Sudeste do Piauí: diversidade e influências antrópicas [dissertação]. Fundação Oswaldo Cruz. 2007; p. 165.

Brant SV, Gardner SL. Phylogeny of species of the genus *Litomosoides* (Nematoda: Onchocercidae): evidence of rampant host switching. *J. Parasitol.*, 86(3), 2000, p. 545–554.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE) / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – 2. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

Brooks DR, Hoberg EP. Triage for the biosphere: The need and rationale for taxonomic inventories and phylogenetic studies of parasites. *Comp Parasitol.* 2000; 68: 1-25.

Bruno SF, Bard VT. Rio de Janeiro, Brazil. Exóticos Invasores: Bioinvasores selvagens introduzidos no estado do Rio de Janeiro e suas implicações, vol. 1. Publisher: UFF, Niteroi. 2012; p. 127.

Burgin CJ, Colella JP, Kahn PI, Upham NS. How many species of mammals are there? *Journal of Mammalogy*. 2018. 99(1): 1-14.

Burns RE, Bicknese EJ, Ovarnstrom Y, DeLeon-Carnes M, Drew CP, Gardiner CH, Rideout BA. Cerebral *Angiostrongylus cantonensis* infection in a captive African pygmy falcon (*Polihierax semitorquatus*) in southern California. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2014; Vol. 26(5) 695– 698.

Burt MDB. Aspects of the life history and systematics of *Hymenolepis diminuta*. In: Arai PH (ed) *Biology of the tapeworm Hymenolepis diminuta*. Academic Press. 1980; New York, pp 1–57.

Bush AO, Fernández JC, Esch GW, Seed JR. *Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge University Press. 2001; 566.

Cabada MM, Lopez M, Arque E, White AC. Prevalence of soil-transmitted helminths after mass albendazole administration in an indigenous community of the Manu jungle in Peru. *Pathog Glob Health*. 2014 Jun; 108(4): 200–205.

Caldart ET, Freire RL, Ferreira FP, Ruffolo BB, Sbeghen MR, Mareze M, et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonenses*. Braz. J. Vet. Parasitol., Jaboticabal. 2017; v. 26, n. 1, p. 17-27.

Caldeira RL, Carvalho OS, Mendonça CLFG, Graeff-Teixeira C, Silva MCF, Bem R, Maurer R, Lima WS, Lenzi HL. Molecular differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A. cantonensis* e *A. vasorum* by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98(8):1039-43.

Caldeira RL, Mendonca CLF, Gouveia CO, Lenzi HL, Graeff-Teixeira C, Lima WS, Mota EM, Pecora IL, Medeiros AM, Carvalho SO. First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102(7):887-889.

Calle S. Parasitism by *Capillaria hepatica*. Pediatrics. 1961.27:648-655.

Câmara EMVC, Lessa LG. Inventário dos mamíferos do Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais. Bios. 1994; 2: 31-35.

Camargo LM, Camargo JS, Vera LJ, Barreto PD, Tourinho EK, Souza MM. Capillariasis (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. Parasit Vectors. 2010; 3:11.

Camargo LMA, Camargo JSAA, Vera LJS, Barretos, PTC, Tourinho EK, Souza MM. Capillariasis (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. Parasites & Vectors 2010, 3:11.

Cardoso ST, Macabu CE, Simões RO, Maldonado-Junior A, Luque JL, Gentile R. Helminth community structure of two sigmodontine rodents in Serra dos Órgãos National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. Oecol. Aust. 2019; 23(2): 301-314.

Cardoso TS, Andreazzi CS, Maldonado Junior A. Functional traits shape small mammal-helminth network: patterns and processes in species interactions. Parasitology. 2021; 148, 947–955.

Carroll DS, Mills JN, Montgomery JM, Bausch DG, Blair PJ, Burans JP, et al.; Hantavirus pulmonary syndrome in central Bolivia: relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2005; 72 (1), pp. 42–46.

Carvalho OS, Scholte RG, Mendonça CL, Passos LK, Caldeira RL. *Angiostrongylus cantonensis* (Nematode: Metastrongyloidea) in molluscs from harbour areas in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012; 107(6):740-6.

Castro RGBM, Costa Neto SF, Maldonado Junior A. Ecological aspects of Nematode parasites of *Didelphis aurita* (Didelphimorphia, DIDELPHIDAE) in urban-sylvatic habitats in Rio de Janeiro, Brazil. *Oecologia Australis*. 2017; 21(1): 54-61.

Catalano S, Léger E, Fall CB, Borlase A, Diop SD, Berger D, Webster BL, Faye B, Diouf D, et al. Multihost Transmission of *Schistosoma mansoni* in Senegal, 2015–2018. Emerging Infectious Diseases. 2020; Vol. 26, No. 6.

Cerqueira R, Tribe CJ. Gênero *Didelphis*. In: Garner, A.L. (Ed.), Mammals of South America: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats. The University of Chicago Press, Chicago, 2007; pp. 17–25.

Cerqueira R. Reproduction du *Didelphis albiventris* au nordest du Brésil (Polyprotodontia, Didelphidae). Mammalia. 1984; 48:95–104.

Cesar TCP, Luz E. Raillietina (Raillietina) guaricana n sp. (Cestoda – Davaineidae). Parasite of wild rats from the environmental protection área of Guaricana, Paraná, Brasil. Mem. Ist. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 1993; Vol. 88 (1): 85 – 88.

Cesário CS, Gomes APN, Maldonado A, Olifiers N, Jiménez FA, et al. A New Species of *Aspidodera* (Nematoda: Heterakoidea) Parasitizing the Giant Anteater *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae) in Brazil and New Key to Species. Comp. Parasitol. 2021; 88(1), pp. 7–14.

Chagas-Moutinho VA, Oliveira-Menezes A, Cárdenas MQ, Lanfredi RM. Further description of *Aspidodera raillieti* (Nematoda: Aspidoderidae) from *Didelphis marsupialis* (Mammalia: Didelphidae) by light and scanning electron microscopy. Parasitol Res. 2007; 101:1331–1336.

Chagas-Moutinho VA, Sant'Anna V, Oliveira- Menezes A, Souza W. New Aspidoderidae species parasite of *Didelphis aurita* (Mammalia: Didelphidae): a light and scanning electron microscopy approach. Acta Tropica. 2014; 130:162–166.

Chandler, A. C. New genera and species of nematode worms. Proc US Natl Museum. 1931.

Chaudhary A, Goswami U, Singh HS. Molecular Characterization of *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda: Heligmosomatidae) from *Mus musculus* in India. Korean J Parasitol Vol. 2016; 54, No. 6: 743-750.

Chen CY, Kuo CC, Lo CP, Huang MY, Wang YM, Wang WY. Eosinophilic meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. Q J Med. 2011; p.1-3. doi:10.1093/qjmed/hcr261.

Chen HT. A new pulmonary nematode of rats, *Pulmonema cantonensis* n. g, n. sp. from Canton. Ann Parasitol Hum Comp. 1935; 13:312–317.

Chen KM, Lai SC. Biochemical and pathological evaluation of albendazole/thalidomide co-therapy against eosinophilic meningitis or meningoencephalitis induced by *Angiostrongylus cantonensis*. J. Antimicrob. Chemother. 2007; 59 (2), 264–276.

Chiquito EA, D'elía G, Percequillo AR. Taxonomic review of genus *Sooretamys* Weksler, Percequillo & Voss (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae): an integrative approach. Zoological Journal of the Linnean Society. 2014; 171(4): 842-877.

Chiquito EA, Percequillo AR. The taxonomic status of *Nectomys saturatus* Thomas, 1897 (Cricetidae: Sigmodontinae). Zootaxa 2019. 4550(3): 321-339.

Choe G, Lee HS, Seo JK, Chai JY, Lee SH, Eom K, Chi JG. Hepatic capillariasis: First case report in the Republic of Korea. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993; 48(5), 610-625.

- Cirino BS, Costa Neto SF, Maldonado Júnior A, Gentile R. First study on the helminth community structure of the neotropical marsupial *Metachirus myosuroides* (Didelphimorphia, Didelphidae). *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(3): e005420.
- Coaglio AL, Mozzer LR, Corrêa DN, Pereira CAJ, Lima WS. Evaluation of techniques for recovery of *Angiostrongylus vasorum* from *Achatina fulica*, a potential intermediate host. *Rev Patol Trop*. 2016; Vol. 45 (1): 87-97.
- Cochrane JC, Sagorin L, Wilcocks MG. *Capillaria hepatica* infection in man; a syndrome of extreme eosinophilia, hepatomegaly and hyperglobulinaemia. *S Afr Med J*. 1957; 31(30):751–755.
- Cognato BB, Morassutti AL, Silva AC, Graeff-Teixeira C. First report of *Angiostrongylus cantonensis* in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013; 46(5):664-5.
- Collinge SK Ecology of fragmented landscapes. 2009. The Johns Hopkins University press, Baltimore, USA.
- Costa NA, Cardoso TS, Costa Neto SF, Maldonado Junior A, Gentile R. Metacommunity structure of helminths of *Necromys lasiurus* (Rodentia: Sigmodontinae) in different land use areas in the Brazilian cerrado. *the journal of parasitology*, 2019; vol. 105, no. 2, April.
- Costa Neto SF, Simões RO, Mota EM, Vilela RV, Torres EJM, Barbosa HS, Gentile R, Maldonado Junior A. Lungworm *Heterostrongylus heterostrongylus* Travassos, 1925 from the black-eared opossum in South America: Morphologic, histopathological and phylogenetic aspects. *Veterinary Parasitology*. 2016; 228: 144–152.
- Cribb TH, Bray RA, Olson PD, Littlewood DTJ. Life cycle evolution in the Digenea: a new perspective from phylogeny. *Adv. Parasitol*. 2003. (in press).
- D'Andrea PS, Maroja LS, Gentile R, Cerqueira R, Maldonado Jr. A, Rey L. The parasitism of *Schistosoma mansoni* (Digenea–Trematoda) in a naturally infected population of water rats, *Nectomys squamipes* (Rodentia–Sigmodontinae) in Brazil. *Parasitology*. 2000. 120, 573–582.
- Da Rocha EJM, Basano SDA, Souza MMD, Honda ER, Castro MBD, Colodel EM, Silva JCD, Barros LP, Rodrigues ES, Camargo LMA. Study of the prevalence of *Capillaria hepatica* in humans and rodents in an urban area of the city of Porto Velho, Rondônia, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015; 1:39–46.
- Dayrat B. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2005; 85, 407–415.
- De Carli, Geraldo Atílio. *Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico de parasitoses humanas*. São Paulo; Atheneu; 2. ed; 2007. 906 p.
- De Souza MM, Tolentino M, Assis BC, Gonzalez ACDO, Silva TMC, Andrade ZA. Pathogenesis of septal fibrosis of the liver. (An experimental study with a new model). *Pathol Res Pract*. 2006; 202(12):883–889.

- Deng ZH, Zhang QM, Huang SY, Jones JL. First provincial survey of *Angiostrongylus cantonensis* in Guangdong Province, China. *Tropical Medicine and International Health*. 2012; 17, 119–122.
- Diaz J. Helminth eosinophilic meningitis: emerging zoonotic diseases in the South. *J La State Med Soc*. 2008; 160(6):333-42.
- Digiani M.C., Sutton C.A., Durette-Desset M.-C. A new genus of Nippostrongylineae (Nematoda: Heligmonellidae) from the water rat *Scapteromys aquaticus* from Argentina. *J. Parasitol*. 2003; 89: 124–132.
- Digiani MC, Kinsella JM. A new genus and species of *Heligmonellidae* (Nematoda: Trichostrongylina) parasitic in *Delomys dorsalis* (Rodentia: Sigmodontinae) from Misiones, Argentina. *Folia Parasitologica*. 2014; 61 [5]: 473–478.
- Digiani MC, Notarnicola J, Navone GT. The genus *Guerrerostrongylus* (Nematoda: Heligmonellidae) in cricetid rodents from the Atlantic Rain Forest of Misiones, Argentina: emended description of *Guerrerostrongylus* Zetta (travassos, 1937) and description of a new species.
- Dreves AJ, Anderson N, Sullivan C. Slug Control In: Pacific Northwest Insect Management Handbook. Oregon State University. 2017. Hollingsworth CS (Ed), p. 14-16.
- Dubey A, Bagchi A, Sharma D, Dey A, Nandy K, Sharma R. Hepatic Capillariasis- Drug Targets. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2018; 18, 3-10.
- Duplantier JM, Sène M. Rodents as reservoir hosts in the transmission of *Schistosoma mansoni* in Richard-Toll, Senegal, West Africa. *J Helminthol*. 2000; 74:129–35.
- Durette-Desset M.-C., Digiani M.C. The caudal bursa in the Heligmonellidae (Nematoda: Trichostrongylina). Characterisation and hypothesis on its evolution. *Parasite*, 2012; 19: 3–18.
- Eamsobhana P, Lim PE, Solano G, Zhang H, Gan X, Yong HS. Molecular differentiation of *Angiostrongylus* taxa (Nematoda: Angiostrongylidae) by cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene sequences. *Acta Trop*. 2010; 116:152-6.
- Eamsobhana, P. Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* – a neglected disease with escalating importance. *Tropical Biomedicine*. 2014; 31(4): 569–578.
- Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 2004; Vol. 32, No. 5.
- Edwards EE, Borsta MM, Lewisa BC, Gomez G, Flanagan JP. *Angiostrongylus cantonensis* central nervous system infection in captive callitrichids in Texas. *Veterinary Parasitology: 2020; Regional Studies and Reports* 19.
- Esfandiari B and MR Youssefi. First report of *Taenia taeniaeformis* in Persian leopard (*Panthera pardus saxicolor*) in Iran. *Pak Vet J*. 2010; 30(4): 253-254.
- Espírito-Santo MCC, Pinto PLS, Mota DJG, Gryscek RCB. The first case of *Angiostrongylus cantonensis* eosinophilic meningitis diagnosed in the city of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2013; 55(2):129-132.

Ewers RM, Didham RK. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biol. Rev.* 2006; 81, 117–142.

Faria MB, Lanes RO, Bonvicino CR. *Marsupiais do Brasil: guia de indentificação com base em caracteres morfológicos externos e cranianos.* São Caetano do Sul (Brazil): Amélie Press. 2019.

Feliu C, Torres J, Miquel J, Segovia JM, Fons R. Digenean trematodes. *In: Morand S, Krasnov BR, Poulin R. Micromammals and Macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management.* Japan: Springer Velarg; 2006; 13-28.

Fernandes J, Oliveira RC, Guterres A, Carvalho Serra F, Bonvicino CR, D’Andrea PS, Cunha RV, LEVIS S, LEMOS ERS. Co-circulation of Clade C New World arenaviruses: New geographic distribution and host species. *Infection, Genetics and Evolution.* 2015; 33: 242–245.

Fitte B, Robles MR, Dellarupe A, Unzaga JM, Navone GT. *Hymenolepis diminuta* and *Rodentolepis nana* (Hymenolepididae: Cyclophyllidea) in urban rodents of Gran La Plata: association with socio-environmental conditions. *Journal of Helminthology.* 2017; 92, 549–553.

Foronda P, López-González M, Hernández M, Haukisalmi V, Feliu C. Distribution and genetic variation of hymenolepidid cestodes in murid rodents on the Canary Islands (Spain). *Parasit Vectors.* 2011; 26: 185.

Foronda P; López-González M, Miquel J, Torres J, Segovia M, Abreu-Costa N, Casanova JC, Valladares B, Mas-Coma S, Bargues MD, Feliu C. Finding of *Parastrongylus cantonensis* (Chen,1935) in *Rattus rattus* in Tenerife, Canary Islands (Spain). *Acta Trop.* 2010; 114:123-7.

Fuehrer HP, Igel P, Auer H. *Capillaria hepatica* in man - an overview of hepatic capillariosis and spurious infections. *Parasitol Res.* 2011; 109:969–979.

Fuehrer HP. An overview of the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 1—Muroidea. *Parasitol Res.* 2014; 113:619–640.

Fuehrer HP. An overview of the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 2—Mammalia (excluding Muroidea). *Parasitol Res.* 2014. 113:641–651.

Fujita OA, Oku V, Sanabria N, Inchausti L, Kamiya AM Nematodes of armadillos in Paraguay: a description of a new species *Aspidodera esperanzae* (Nematoda: Aspidoderidae). *J Parasitol.* 1995; 81:936–941.

Garcia JS, Bonfim TCS, Maldonado Junior A, Tunholi VM, Tunholi-Alves VM, Mota EM, Simões RO, Santana AC, Hooper C, Pinheiro J, Bóia MN. Hematological and histopathological changes in *Rattus norvegicus* (Wistar) experimentally infected by *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935). *Parasitology International* 63. 2014; 631–637.

Garcia JS, Lúcio CS, Bonfim TCS, Maldonado Junior A, Tunholi VM, Tunholi-Alves VM, Mota EM et al. Metabolic and histopathological profile of *Rattus norvegicus* (Wistar) experimentally infected by *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935). *Experimental Parasitology* 137. 2014; 35–40.

Gardner A. Mammals of South America. The University of Chicago All rights reserved. Published 2007. Printed in the United States of America.

Gardner TA, Barlow J, Parry LW, Peres CA. Predicting the uncertain future of tropical forest species in a data vacuum. *Biotropica*. 2007; 39, 25–30.

Gasser RB, Chilton B, Hostel H, Beveridge. Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. *Nucleic Acids Research*. 1993; Vol. 21, No. 10 2525-2526.

Gasser RB, Newton SE. Genomic and genetic research on bursate nematodes: significance, implications and prospects. *Int J Parasitol*. 2000; 30:509-34.

Gentile R, D'Andrea PS, CERQUEIRA R, Santoro ML. Population dynamics and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural area: A five-year study. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 2000; 35: 1–9.

Gentile R, Fernandez FAS. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. *Mammalia*. 1999; 63: 29–40.

Georgiev BB, Bray RA, Littlewood DTJ. Cestodes of small mammals: taxonomy and life cycles. *In: Morand S, Krasnov BR, Poulin R. Micromammals and Macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Japan: Springer Verlag. 2006; 29-60.

Gherman CM, Ionică AM., D'Amico G, Otranto D, Mihalca AD. *Angiostrongylus chabaudi* (Biocca, 1957) in wildcat (*Felis silvestris silvestris*) from Romania. *Parasitol Res*. 2016; 115:2511–2517.

Goldberg SR, Bursey CR. Gastrointestinal helminths of seven gekkonid lizard species (Sauria: Gekkonidae) from Oceania. *Journal of Natural History*. 2002; 36, 2249–2264.

Gomes DC, Cruz RP, Vicente V, Pinto RM. Nematode parasites of marsupials and small rodents from the Brazilian Atlantic Forest in state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 2003; 20: 699–707.

Gomes DC, Vicente JJ. Estudo do gênero *Rhopalias* Stiles e Hassall, 1898 (Trematoda, Rhopaliasidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1972; 70 (2).

Gonçalves AQ, Ascaso C, Santos I, Serra PT, Julião GR, Orlandi PP. *Calodium hepaticum*: Household Clustering Transmission and the Finding of a Source of Human Spurious Infection in a Community of the Amazon Region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6(12): e1943.

Gonçalves Jonathan, Teixeira BR, Olifiers N, Lucio CS, Riski LL, Costa-Neto SF, Lemos ERS, Bonvicino CR, D'Andrea PS. A survey of small mammals in the atlantic forest of the Northwestern region of Rio de Janeiro state. *Oecologia Australis*. 2016; 20(4): 492-500.

Gotardo BM, Andrade RG, Oliveira LF, Andrade ZA. Production of septal fibrosis of the liver by means of foreign protein injections into rats. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003; 36: 577-580.

Graeff-Teixeira C, Morera P. Método de digestão de moluscos em ácido clorídrico para isolamento de larvas de metastrongilídeo. *Biociências* 1995; 3: 85-89.

Graeff-Teixeira C. Expansion of *Achatina fulica* in Brazil and potential increase risk for angiostrongyliasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007; 101, 743–744.

Grazzini G, Gatto-Almeida F, Tiepolo LM. Small mammals from the lasting fragments of Araucaria Forest in southern Brazil: a study about richness and diversity. *Iheringia, Série Zoologia*, 2021; 111: e2021015.

Guardone, L., et al., Ribosomal and mitochondrial DNA analysis of Trichuridae nematodes of carnivores and small mammals. *Vet. Parasitol.* (2013).

Haley AJ. Biology of the Rat Nematode *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914). I. Systematics, Hosts and Geographic Distribution. *The Journal of Parasitology.* 1961; Vol. 47, No. 5 pp. 727-732.

Haley, A. J. Biology of the rat nematode, *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914). III. Characteristics of *N. brasiliensis* after 30 to 120 serial passages in the Syrian hamster. *Journal of Parasitology.* 1966; 52, 98-108.

Harris KR, Cheng TC. The encapsulation process in *Biomphalaria glabrata* experimentally infected with the metastrongylid *Angiostrongylus cantonensis*: light microscopy. *Int. J. Parasitol.* 1975; 5, 521–528.

Harris KR, Cheng TC. The encapsulation process in *Biomphalaria glabrata* experimentally infected with the metastrongylid *Angiostrongylus cantonensis*: enzyme histochemistry. *J. Invertebr. Pathol.* 1975; 26, 367–374.

Harris, N. L., Peach, R. J. and Ronchese, F., CTLA4-Ig inhibits optimal T helper 2 cell development but not protective immunity or memory response to *Nippostrongylus brasiliensis*. *Eur. J. Immunol.* 1999. 29: 311–316.11.

Harrison S. Local extinction in a metapopulation context: an empirical evaluation. *Biological Journal of the Linnean Society.* 1991; 42:73–88.

Haverkost TR, Gardner SL. A Review of Species in the Genus *Rhopalias* (Rudolphi, 1819). *J. Parasitol.*, 2008; 94(3), pp. 716–726.

Hawking F, Sewell P, Davey PD The maintenance of a filarial infection (*Litomosoides carinii*) in the laboratory. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1947; 41(1):7.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B.* 2003; 270:313-21.

Heicher D, Gallati WW. Three new hosts for the cysticercoïd of *Hymenolepis diminuta*. *OHIO J. SCI.* 1978; 78(3): 149.

Hemetrio NS. Levantamento Populacional de Quatis (PROCYONIDAE: *Nasua nasua*) no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais. Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. 2007.

Hernández Mazariegos WC. Determinación de la presencia de *Hymenolepis nana* e *Hymenolepis diminuta* en roedores sinantrópicos, em la comunidad Los Lirios, Masagua, Escuintla, Guatemala. PhD thesis, Universidad de San Carlos, Guatemala. 2016.

Herrera HM, Abreu UGP, Keuroghlian A, Freitas TP, Jansen AM. The role played by sympatric collared peccary (*Tayassu tajacu*), white-lipped peccary (*Tayassu pecari*), and feral pig (*Sus scrofa*) as maintenance hosts for *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma cruzi* in a sylvatic area of Brazil. *Parasitol. Res.* 2008; 103, 619–624.

Hoffmann WH, Petit G, Schulz-Key H, Taylor DW, Bain O, Goff LL. *Litomosoides sigmodontis* in Mice: Reappraisal of an Old Model for Filarial Research. *Parasitology Today.* 2000; vol. 16, no. 9.

Hollingsworth RG, Howe K, Jarvi SI. Control measures for slug and snail hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, with special reference to the semi-slug *Parmarion martensi*. *Hawaii J Med Public Health.* 2013; 72(6 supl 2):75-80.

Hollingsworth RG, Kaneta R, Sullivan JJ, Bishop HS, Qvarnstrom Y, Silva AJ, Robinson DG. Distribution of *Parmarion cf. martensi* (Pulmonata: Helicarionidae), a new semi-slug on Hawaii Island, and its potential as a vector for human angiostrongyliasis. *Pacific Science.* 2007; 61(4):457-67.

Hong H, Kang et al. Histopathological findings in wild Nutrias (*Myocastor coypus*) with *Capillaria hepatica* Infection. *J. Vet. Med. Sci.* 2016; 78(12): 1887–1891.

Hsueh CW, Chen HS, Li CH, Chen YW. Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* in an adolescent with mental retardation and pica disorder. *Pediatr Neonatol.* 2013; 54(1):56-9.

<https://prefeitura.pbh.gov.br/fundacao-de-parques-ezoobotanica/informacoes/parques/parque-jacques-cousteau>.

Hu M, Chilton NB, Gasser RB. The mitochondrial genomes of the human hookworms, *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* (Nematoda: Secernentea). *International Journal for Parasitology.* 2002; 32, 145–158.

Incani R, Aguilar C, Dávila I, Pacheco M. *Parasitologia.* 2nd edn. Valencia, Universidad de Carabobo. 2003.

Iwaki T, Nonaka N, Okamoto M, Oku Y, Kamiya M. Developmental and Morphological Characteristics of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) in *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* and *Rattus norvegicus* from Different Geographical Locations. *The Journal of Parasitology.* 1994; Vol. 80, No. 3, pp. 461-467.

Jabbar A, Jex AR, Mohandas N, Hall RS, Littlewood DTJ, Gasser RB. The mitochondrial genome of *Aelurostrongylus abstrusus* - diagnostic, epidemiological and systematic implications. *Gene.* 2013; 516, 294–300.

Janssen T, Karssen G, Topalović O, Coyne D, Bert W. Integrative taxonomy of root-knot nematodes reveals multiple independent origins of mitotic parthenogenesis. *PLoS ONE* 2017; 12(3): e0172190.

Jefferies R, Shaw SE, Willeson J, Viney ME, Morgan ER. Elucidating the spread of the emerging canid nematode *Angiostrongylus vasorum* between Palaearctic and Nearctic ecozones. *Infection, Genetics and Evolution.* 2010; 10. 561–568.

- Jia W, Yan H, Lou Z, Ni X, Dyachenko V, Li H, Littlewood DT. Mitochondrial genes and genomes support a cryptic species of tapeworm within *Taenia taeniaeformis*. *Acta Trop*. 2012; 123, 154–163.
- Jimenez-Ruiz A, Gardner SL, Varela-Stokes AS. Aspidoderidae from North America, with the description of a new species of Aspidodera (Nematoda: Heterakoidea). *J Parasitol*. 2006; 92(4):847–854.
- Jiménez-Ruiz FA, Gardner SL, Navone GT, Ortí G. Four events of host switching in Aspidoderidae (Nematoda) involve convergent lineages of mammals. *Journal of Parasitology*. 2012; 98(6), 1166–1175.
- Jones A, Bray RA, Khalil LF. Order Cyclophyllidea van Beneden in Braun, 1900. In: Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A. (Eds.), *Key to the Cestode Parasites of Vertebrates*. CAB International, Wallingford, 1994. pp. 305–307.
- Juncker-Voss M, Prosl H, Lussy H, Enzenberg U, Auer H, Nowotny N. Serological detection of *Capillaria hepatica* by indirect immunofluorescence assay. *J Clin Microbiol*. 2000; 38:431–433.
- Kalaivani R, Nandhini L, Srinivasaiah Seetha K. *Hymenolepis diminuta* infection in a school-going child: a rare case report. *Australas Med J*. 2014; 7:379–381.
- Karadjian G, Fercoq F, Pionnier N, Vallarino-Lhermitte N, Lefoulon E, Nieguitsila A, Specht S, Carlin LM, Martin C. Migratory phase of *Litomosoides sigmodontis* filarial infective larvae is associated with pathology and transient increase of S100A9 expressing neutrophils in the lung. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11(5):e0005596.
- Kazemi Aghdam M, Karimi A, Amanati A, Ghoroubi J, Khoddami M, Shamsian BS, shamsizadeh A, Zahedi Far S *Capillaria hepatica*, a case report and review of the literatures. *Arch Pediat Infect Dis*. 2015; 3(2):e19398.
- Kilarski WW, Martin C, Pisano M, Bain O, Babayan SA, Swartz MA Inherent biomechanical traits enable infective filariae to disseminate through collecting lymphatic vessels. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 2895.
- Kim JR, Hayes KA, Yeung NW, Cowie RH. Diverse gastropod hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm, globally and with a focus on the Hawaiian Islands. *PLoS ONE*. 2014; 9, e94969.
- Kramer KJ, Posner J, Gosnell WL. Role of Gastropod Mucus in the Transmission of *Angiostrongylus cantonensis*, a Potentially Serious Neurological Infection. *ACS Chem. Neurosci*. 2018, 9, 629–632.
- Krasnov BR, Poulin R, Morand, S. Patterns of macroparasite diversity in small mammals. In: Morand, S., Krasnov, B.R. & Poulin R. (Eds), *Micromammals and macroparasites: from evolutionary ecology to management*. Springer, Kato Bunmeisha. 2006; pp. 197–231.
- Krauss J, et al. Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecol. Lett*. 2010; 13, 597–605.

- Kuberski T, Wallace GD. Clinical manifestations of eosinophilic meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis*. *Neurology* 1979; 29, 566–1570.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33 (7):1870–1874.
- Lacher TE, JR. RP, Young R, Kennerley NS, Roach SM, Turvey ST. Evolution, phylogeny, ecology, and conservation of the Clade Glires: Lagomorpha and Rodentia. In: D. E. WILSON, T. E. LACHER JR. & R. A. MITTERMEIER (Ed.): *Handbook of Mammals of the World*. 2016; vol. 6: Lagomorphs and Rodents: 28-60. Lynx Editions, Barcelona, Spain.
- Lai SC, Jiang ST, Chen KM, Hsu JD, Shyu LY, Lee HH. Efficacy of albendazole-GM6001 co-therapy against *Angiostrongylus cantonensis*-induced meningitis in BALB/c mice. *Acta trop.* 2005; 93(3):267-73.
- Lan KP, Lai SC. Differences of proteolytic enzymes and pathological changes in permissive and nonpermissive animal hosts for *Angiostrongylus cantonensis* infection. 2009.
- Lavikainen A, Haukisalml V, Lehtinen MJ, Henttonen H, Oksanen A, Meri S. A phylogeny of members of the family Taeniidae based on the mitochondrial cox1 and nad1 gene data. *Parasitology*. 2008; 135, 1457–1467.
- Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalml V, Konyaev SV, Casiraghi M, Dokuchaev NE. Reappraisal of *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda: Taeniidae) sensu lato with description of *Hydatigera kamiyai* n. sp. *Int. J. Parasitol.* 2016.
- Lee June-Der, Tsai Li-Yu, Chend Chun-Hsiang, Wang Jiun-Jye, Hsiao Jen-Kuei, Yen Chuan-Min. Blood–brain barrier dysfunction occurring in mice infected with *Angiostrongylus cantonensis*. *Acta Tropica* 97. 2006; 204–211.
- Lenarczyk J, Saluga M, Piatek J. Integrative approach helps clarify confusing taxonomy of the *pseudopediastrum boryanum* species complex (chlorophyceae), including recognition of five distinct species. *J. Phycol. Phycological Society of America*. 2020; 56, 1557–1574.
- Li CD, Yang HL, Wang Y. *Capillaria hepatica* in China. *World J Gastroenterol.* 2010; 16(6):698.
- Li L. Redescription of *Cruzia americana* Maplestone, 1930 (Nematoda: Kathlaniidae) a parasite of *Didelphis virginiana* (Kerr) (Mammalia: Didelphidae) in the USA. *Syst Parasitol.* 2019; 96:433–440.
- Lim BL, Ow-Yang CK, Lie KJ. Natural infection of *Angiostrongylus cantonensis* in Malaysian rodents and intermediate hosts, and preliminary observations on acquired resistance. *Amer J Trop Med.* 1965; 14: 610-617.
- Lima ARMC, Mesquita SD, Santos SS, Aquino ERP, Rosa LRS, Duarte FS, Teixeira AO, Costa ZRS, Ferreira MLB. Neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. Alicate disease at Recife, Brazil. *Arq Neuropsiquiatr.* 2009; 67(4):1093-1096.
- Lima MG, Augusto RC, Pinheiro J, Thiengo SC. Physiology and immunity of the invasive giant African snail, *Achatina (Lissachatina) fulica*, intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis*. *Developmental and Comparative Immunology* 105. 2020; 103579.

Limongi JE, Moreira FG, Peres JB, Suzuki A, Ferreira IB, Souza RP, Pinto RMC, Pereira LE. Serological survey of *Hantavirus* in rodents in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2013; 55: 155–158.

Littlewood, DTJ, Lockyer, AE, Webster, BL, Johnston, DA and Le, TH The complete mitochondrial genomes of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma spindale* and the evolutionary history of mitochondrial genome changes among parasitic flatworms. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2006; 39, 452–467.

Llop A, Valdés M, Zuazo J. *Microbiología y parasitología médicas*. La Habana, Editorial Ciencias Médicas. 2001; 666 pp.

Loos-Frank B, Zeyhle E. The Intestinal Helminths of the Red Fox and Some Other Carnivores in Southwest Germany. *Z Parasitenkd*. 1982; 67: 99 - 113.

Loos-Frank B. An up-date of Verster's (1969) 'Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus (Cestoda) in table format. *Syst. Parasitol*. 2000; 45, 155–183.

Lopes EJT, de Souza W, Miranda K. Comparative analysis of *Trichuris muris* surface using conventional, low vacuum, environmental and field emission scanning electron microscopy. *Vet Parasitol*. 2013; 196(3-4): 409-416.

Lu Xiao-Ting, Gu Qiu-Yun, Limpanont Y, Song Lan-Gui, Wu Zhong-Dao, Okanurak K, Lv Zhi-Yue. Snail-borne parasitic diseases: an update on global epidemiological distribution, transmission interruption and control methods. *Infectious Diseases of Poverty* 2018; 7:28.

Luessi F, Sollors J, Torzewski M, Muller HD, Siegel E, Blum J, Sommer C, Vogt T, Thomke F. Eosinophilic Meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis* in Germany. *J Travel Med*. 2009; 16(4):292-4.

Lv S, Zhang Y, Zhang L, Liu Q, Liu He-X, Hu L, Wei Fu-R, Steinmann P, Graeff-Teixeira C, Zhou Xiao-N, Utzinger J. The complete mitochondrial genome of the rodent intra-arterial nematodes *Angiostrongylus cantonensis* and *Angiostrongylus costaricensis*. *Parasitol Res*. 2012; 111:115–123.

Mackenstedt U, Jenkins D, Romig T. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2015; (4) 71–79.

Mafra ACAT, Lanfredi RM. Reevaluation of *Physaloptera bispiculata* (Nematoda: Spiruroidea) by light and scanning electron microscopy. *J. Parasitol*. 1998; 84(3), p. 582-588.

Maldonado Jr. A, Simões RO, São Luiz J, Costa-Neto SF, Vilela RV. A new species of *Physaloptera* (Nematoda: Spirurida) from *Proechimys gardneri* (Rodentia: Echimyidae) from the Amazon rainforest and molecular phylogenetic analyses of the genus. *Journal of Helminthology*. 2019 at 20:54:47.

Maldonado JRA, Simões R, Thiengo S. *Angiostrongyliasis in the Americas, Zoonosis*, Dr. Jacob Lorenzo-Morales (Ed.). 2012; ISBN: 978-953-51-0479-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/zoonosis/angiostrongyliasis-in-the-americas>.

- Maldonado Júnior A, Simões RO, Oliveira APM, Motta EM, Fernandez MA, Pereira ZM, Monteiro SS, Torres E JL, Thiengo SC. First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010; 105(7):938-41.
- Marsland BJ, Kurrer M, Reissmann R, Harris NL, Kopf M. *Nippostrongylus brasiliensis* infection leads to the development of emphysema associated with the induction of alternatively activated macrophages.
- Martin C, Al-Qaoud KM, Ungeheuer MN, Paehle K, Vuong PN, Bain O, Fleischer B, Hoerauf A. IL-5 is essential for vaccine-induced protection and for resolution of primary infection in murine filariasis. Med Microbiol Immunol. 2000; 189:67–74.
- Martin C. Odile Bain (April 28, 1939–October 16, 2012): A life dedicated to systematics and biology of filariae. PLoSNegl TropDis. 2014; 8(2):e2565.
- Martínez-Barbabosa I, Gutiérrez-Cárdenas ME, Aguilar-Venegas JM, Shea M, Gutiérrez-Quiroz M and Ruíz-González LA. Infección por *Hymenolepis diminuta* en una estudiante universitaria. Revista Biomédica. 2012; 23, 61–64.
- Mello EM, Furtado LFV, Rabelo EML, Pinto HÁ. DNA barcoding of metacestodes found in the *Guerlinguetus ingrami* (Rodentia: Sciuridae) reveals the occurrence of *Hydatigera taeniaeformis* sensu stricto (Cyclophyllidae: Taeniidae) in the Americas. Parasitology International 67.2018; 115–118.
- Mendes TMF, Carrilho E, Galinara CA, Cabrala FJ, Allegretta SM. *Biomphalaria glabrata* infected with *Angiostrongylus cantonensis*: Proteomic changes in the snail host. Acta Tropica 212. 2020; 105684.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Gateway Computing Environments Workshop, GCE 2010.
- Mills JN.; Biodiversity loss and emerging infectious disease: an example from the rodent borne hemorrhagic fevers. Biodiversity. 2006; 7(1).
- Miño MH, Herrera EJR, Notarnicola J, Robles M del R, Navone GT. Diversity of the helminth community of the Pampean grassland mouse (*Akodon azarae*) on poultry farms in central Argentina. Journal of Helminthology. 2012; 86(1):46–53.
- Miño MH, Rojas Herrera EJ, Notarnicola J, Robles MR, Novane GT. Diversity of the helminth community of the Pampean grassland mouse (*Akodon azarae*) on poultry farms in central Argentina. J. Helminthol. 2012; 86, 46–53.
- Monet-Mendonza A, Osorio-Sarabia D, Garcia L. Helminths of the *Virginia opossum Didelphis virginiana* (Mammalia: Didelphidae) in México. J Parasitol. 2005; 91:213–219.
- Monte TCC, Simões RO, Oliveira AP, Novaes CF, Thiengo SC, Silva AJ, Estrela PC, Maldonado Jr. A. Phylogenetic relationship of the Brazilian isolates of the rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda:Metastrongylidae) employing mitochondrial COI gene sequence data. Parasit Vectors. 2012; 5:248.

- Morand S, Bouamer S, Hugot J-P. Nematodes. In: Morand S, Krasnov BR, Poulin R, editor. *Micromammals and Macroparasites: From Evolutionary Ecology to Management*. Tokyo, Japan.: Springer; 2006. p. 63–80.
- Morassutti AL, Thiengo SC, Fernandez M, Sawanyawisuth K, Graeff-Teixeira C. Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*: an emergent disease in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2014; Vol. 109(4): 399-407.
- Moreira VLC, Giese EG, Melo FTV, Simões RO, Thiengo SC, Maldonado Júnior A, Santos JN. Endemic angiostrongyliasis in the Brazilian Amazon: Natural parasitism of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus rattus* and *R. norvegicus*, and sympatric giant African land snails, *Achatina fulica*. *Acta trop*. 2013; 125:90-7.
- Morris CP, Evans H, Larsen SE, Mitre E A. comprehensive, model-based review of vaccine and repeat infection trials for filariasis. *Clin Microbiol Ver*. 2013; 26(3):381–421.
- Morris RJ. Anthropogenic impacts on tropical forest biodiversity: a network structure and ecosystem functioning perspective. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2010; 365, 3709–3718.
- Moszczyńska A, Locke AS, McLaughlin JD, Marcogliese DJ, Crease TJ. Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. *Molecular Ecology Resources*. 2009; 9 (Suppl. 1), 75–82.
- Mowlavi G, Farzod F, Kheirkhah A, Mobedi I, Bowman DD, Naddaf SR. Human ocular onchocerciasis caused by *Onchocerca lupi* (Spirurida, Onchocercidae) in Iran. *J. Helminthol*. 2014; 88, 250–255.
- Murcia C Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends Ecol Evol*. 1995; 10:58–62.
- Murphy GS, Johnson S. Clinical aspects of eosinophilic meningitis and meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm. *Hawaii J Med Public Health*. 2013; 72(6 supl 2):35-40.
- Nakao M, Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev S, Oku Y, Okamoto M, Ito A. Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): Proposals for the resurrection of *Hydatigera* Lamarck, 1816 and the creation of a new genus *Versteria*. *International Journal for Parasitology* 43. 2013; 427–437.
- Nicolai A, Ansart A. Conservation at a slow pace: terrestrial gastropods facing fast-changing climate. *Conserv Physiol*. 2017 5 (1): cox 007.
- Notarnicola J, Navone G. A new species, *Litomosoides odilae* n. sp. (Nematoda: Onchocercidae) from *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia: Muridae) in the rainforest of Misiones, Argentina. *J Parasitol*. 2002; 88(5): 967-971.
- Ogilvie BM, Jones VE. *Nippostrongylos brasiliensis*: A Review of Immunity and the Host/Parasite Relationship in the Rat. *Experimental Parasitology*. 1971; 29, 138-177.

Ohlweiler FP, Takahashi FY, Guimarães MCA, Gomes SR & Kawano T. Manual de gastrópodes límnicos e terrestres do estado de São Paulo associados às helmintoses. 2010. Rede Editora: Porto Alegre, RS, 224 p.

Okamoto M, Bessho Y, Kamiya M, Kurosawa T, Horii T. Phylogenetic relationships within *Taenia taeniaeformis* variants and other taeniid cestodes inferred from the nucleotide sequence of the cytochrome c oxidase subunit I gene. *Parasitol. Res.* 1995; 81, 451–458.

Olifiers N, Gentile R, Fiszon JT. Relation between small mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest. *Revista Brasileira de Biologia.* 2005; 65(3):495-501.

Olifiers, N. Fragmentação, habitat e as comunidades de pequenos mamíferos na bacia do rio Macacu, RJ. MSc Thesis, 2002; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 81p.

Oliveira RC, Guterres A, Fernandes J, D'Andrea PS, Bonvicino CR, Lemos ERS. *Hantavirus* reservoirs: Current status with an emphasis on data from Brazil. *Viruses.* 2014; 6: 1929–1973.

Orozco MM, Piccinali RV, Mora MS, Enriquez GF, Cardinal MV, GURTLER RE. The role of Sigmodontine rodents as sylvatic hosts of *Trypanosoma cruzi* in the Argentinean Chaco. *Infection, Genetics and Evolution.* 2014; 22: 12–22.

OuYang L, Wei J, Wu Z, Zeng X, Li Y, Jia Y, Ma Y, Zhan M, Lei W. Differences of larval development and pathological changes in permissive and nonpermissive rodent hosts for *Angiostrongylus cantonensis* infection. *Parasitol.Res.* 2012; 111 (4), 1547–1557.

Paglia AP, Fonseca GAB, Rylands AB, Herrmann G, Aguiar LMS, Chiarello AG, Leite YLR, Costa LP, Siciliano S, Kierulff MCM, Mendes SL, Tavares VC, Mittermeier RA & P JL. Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2a ed. Arlington, VA.: Occasional Papers in Conservation Biology, No. 6. Conservation International.; 2012.

Panti-May JA, Digiani MC, Palomo-Arjona EE, Gurubel-González YMG, Navone GT, Machain-Williams C, Hernández-Betancourt, SF, Robles MR. A checklist of the helminth parasites of sympatric rodents from two Mayan villages in Yucatán, México. 2018; *Zootaxa* 4403 (3): 495–512.

Panti-May JA, Rodríguez-Vivas RI, García-Prieto L, Servián A, Costa F. Worldwide overview of human infections with *Hymenolepis diminuta*. *Parasitology Research.* 2020; 119:1997–2004.

Paramasvaran S, Sani RA, Hassan L, Hanjeet K, Krishnasamy M, Jeffery J, Santhana R, Ghazali SM, Hock LK. Endo-parasite fauna of rodents caught in five wet markets in Kuala Lumpur and its potential zoonotic implications. *Tropical Biomedicine.* 2009; 26(1): 67–72.

Pardini R, Souza SM, Braga-Neto R, Metzger JP. The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. *Biological Conservation.* 2005; 124 (2): 253–66.

Pardini R, Umetsu F. Pequenos mamíferos não-voadores da Reserva Florestal do Morro Grande—distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. *Biota Neotropica.* 2006; 6:1–22.

- Patra, BB, Basu UP. Parasitic development of *Litomosoides carinii* in some rodents. Proc Indian Sci Congress Assoc. 1970; 57. (III).
- Patton JL, Pardiñas UFJ, D'elia G (eds.). Mammals of South America: Rodents, Vol. 2. 2015. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 1384 p.
- Patton JL, Pardiñas UFJ, D'Elía G. Mammals of South America: vol. 2: Rodents: 1-1384. 2015. The University of Chicago Press, Chicago.
- Percequillo AR, Dalapicolla J, Abreu-Júnior EF, Roth PRO, Ferraz IMPMB, Chiquito EA. How many species of mammals are there in Brazil? New records of rare rodents (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) from Amazonia raise the current known diversity. PeerJ. 2017. 5: e4071.
- Pereira FB, Alves PV, Rocha BM, Lima SS and Luque JL. *Physaloptera binae* n. sp. (Nematoda: Physalopteridae) parasitic in *Salvator merianae* (Squamata: Teiidae), with a key to Physaloptera species parasitizing reptiles from Brazil. Journal of Parasitology. 2014; 100, 221–227.
- Petit, G. et al. Maturation of the filaria *Litomosoides sigmodontis* in BALB/c mice, comparative susceptibility of nine other inbred strains. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1992; 67, 144–150.
- Pickett STA, Cadenasso ML, Grove JM, Nilon CH, Pouyat RV, Zipperer WC, Costanza R Urban ecological systems: linking terrestrial ecological, physical, and socioeconomic components of metropolitan areas. Annu Rev Ecol Syst. 2001; 32:127–157.
- Pien FD, Pien BC. *Angiostrongylus cantonensis* Eosinophilic meningitis. Int J Infect Diseases. 1999; 3(3):161-3.
- Pinto RM, Gomes DC. Contribuição ao conhecimento da fauna helmintológica da região amazônica, Nematódeos. Atas Soc Biol. 1980; Rio de J 21:65–74.
- Pinto RM, Knoff M, Gomes DC, Noronha D. Nematodes from mammals in Brazil: an updating. Neotrop Helminthol. 2011; 5(2): 139-183.
- Poulin R. How many parasite species are there: are we closest to answers? International Journal for Parasitology. 1996; 26: 1127–9.
- Poulin R. Modification of host social networks by manipulative parasites. Behaviour. 2018; 155:671–688.
- Pringle G, King DF Some developments in techniques for the study of the rodent filarial parasite *Litomosoides carinii*. I. A preliminar comparison of the host efficiency of the multimammate rat, *Praomys (Mastomys) natalensis*, with that of the cotton rat, *Sigmodon hispidus*. Ann Trop Med Parasitol. 1968; 62(4):462–468.
- Quilla MHDP, Paller VGV. Histopathological features and prevalence of *Capillaria hepatica* infection in *Rattus* spp. in Philippine Mount Makiling forest reserve and its adjacent áreas. J Parasit Dis. 2020; 44(2):338–348.
- Quintão e Silva MG, Costa HMA. Helminths of White-bellied Opossum from Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*. 1999; 35(2), pp. 371–374.

- Ramakrishnan SP, Singh D, Bhatnagar VN, Raghavan NG. Infection of the albino rat with the filarial parasite. *Litomosoides carinii*, of cotton rats. Indian J Malariol. 1961; 15:255–261.
- Ramos-de-Souza J, Maldonado-Jr A, Vilela RV, Andrade-Silva BE, Barbosa HS, Gomes SR, Thiengo SC. First report of the nematode *Cruzia tentaculata* using molluscs as natural intermediate hosts, based on morphology and genetic markers. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 15. 2021; 105–111.
- Rangel FCS, Gomes SR, Canuto T, Rodrigues PS, Thiengo SC. Diversity of non-marine gastropods of the Fiocruz Atlantic Forest Biological Station and adjacent urban areas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. An Acad Bras Cienc. 2021; 93(2).
- Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP. Mamíferos do Brasil, 2a ed. Editora da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brazil, 2011. 437 p.
- Reperant LA, Deplazes P. Cluster of *Capillaria hepatica* infections in non-commensal rodents from the canton of Geneva, Switzerland. Parasitol Res. 2005; 96(5):340–342.
- Risch F, Ritter M, Hoerauf A, Hübner MP. Human filariasis—contributions of the *Litomosoides sigmodontis* and *Acanthocheilonema viteae* animal model. Parasitology Research. 2020.
- Rivero RZC, Villalobos PR, Bracho MAM, Fuenmayor BA. Infección por *Hymenolepis diminuta* en un niño del municipio Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Rev Soc Venez Microbiol. 2009; 29:133–135.
- Rocha MF, Passamani M, Louzada J. A Small Mammal Community in a Forest Fragment, Vegetation Corridor and Coffee Matrix System in the Brazilian Atlantic Forest. PLoS ONE. 2011; 6(8): e23312.
- Rohela M, Ngui R, Lim YAI et al. A case report of *Hymenolepis diminuta* infection in a Malaysian child. Paediatr Indones. 2012; 29:224 – 230.
- Rokni MB, Zhou XN, et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 11 Foodborne Parasitic Diseases, 2010: A Data Synthesis. PLoS Med. 2015; 12(12): e1001920.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Syst. Biol. 2012; 61, pp. 539–542.
- Rossomando MJ, Márquez W, Prado J, Chacón N. Epidemiología de himenolepiosis y otras parasitosis intestinales en una comunidad suburbana de Escuque, Trujillo-Venezuela. Revista de la Facultad de Medicina. 2008; 31, 101–110.
- Ruedas LA, Salazar-bravo J, Tinnin DS, Armien B, Caceres L, Garcia A, Diaz MA, Gracia F, Suzan G, Peters CJ, Yates TL, Mills JN. Community ecology of small mammal populations in Panama following an outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome. Journal of Vector Ecology. 2004; 29: 177-191.
- Ruiz JM. Revisão do gênero *Cruzia* (Nematoda: Oxiuroidea) e estudo das espécies brasileiras. Thesis S. Paulo. 1947; pp 1–105.

Sabino-Santos G, Maia FGM, Johnson CB, Goodin DG, Salazar-Bravo LJ, Figueiredo TM. Serologic evidence of Mammarena viruses among wild rodents in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*. 2016; 52: 766–769.

Sales IS, Ruiz-Miranda CR, Santos CP. Helminths found in marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*) introduced to the region of occurrence of golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) in Brazil. *Vet. Parasitol.* 2010; 171, 123–129.

Sandars DF. On some trematodes from the Manicou, *Didelphis marsupialis insularis* (Allen) from the West Indies. *J. Helm.* 1958; 32: 146 – 158.

Santos CP, Lent H, Gomes DC The genus *Aspidodera* Railliet and Henry, 1912 (Nematoda: Heterakoidea): revision, new synonyms and key of species. *Rev Bras Biol.* 1990; 50 (4):1017–1031.

Santos CP. Redescritção de *Angiostrongylus (Parastrongylus) costaricensis* isolado de novo hospedeiro silvestre, *Proechimys* sp., na Venezuela (Metastrongyloidea, Angiostrongylidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1985; 80:81-3.

São Luiz J, Simões RO, Torres EL, Barbosa HS, Santos JN, Giese EG, Rocha FL and Maldonado Jr A. A new species of *Physaloptera* (Nematoda: Physalopteridae) from *Cerradomys subflavus* (Rodentia: Sigmodontinae) in the Cerrado Biome, Brazil. *Neotropical Helminthology.* 2015; 9, 301–312.

Sawamura R, Fernandes MI, Peres LC, Galvão, LC, Goldani, HA, Jorge SM, de Melo Rocha G, de Souza NM. Hepatic capillariasis in children: report of 3 cases in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1999; 61(4), 642-647.

Sawanyawisuth K, Sawanyawisuth K, Senthong V, Limpawattana P, Phichaphop A, Intapan PM, Maleewong W, Tiamkao S, Jitpimolmard S, Chotmongkol V. How can clinicians ensure the diagnosis of meningitic angiostrongyliasis? *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(1):73-5.

Sazmand A, Khordadmehr M, Nourian A, Otranto D. Hepatic *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) infection in cat (*Felis catus*)—histopathological findings and first report from Iran. *Parasitology Research.* 2021; 120:1489–1491.

Schmidt S. Untersuchungen zum Vorkommen von *Capillaria hepatica* und Metazestoden der Cyclophyllida bei Wildmäusen in Deutschland. PhD Thesis, Universität., Veterinärmedizinische Fakultät, 2001; Leipzig:145pp.

Seifollahi Z, Sarkari B, Motazedian MH, Asgari O, Ranjbar MJ, Khabisi SA. Protozoan Parasites of Rodents and Their Zoonotic Significance in Boyer-Ahmad District, Southwestern Iran. *Veterinary Medicine International.* 2016.

Sheth BP, Thaker VS. DNA barcoding and traditional taxonomy: An integrated approach for biodiversity conservation. Centre for Advanced Studies in Plant Biotechnology and Genetic Engineering. Department of Biosciences, Saurashtra University. 2017; India.

Silva GM. Helmitos de *Didelphis albiventris* Lund, 1841, capturados em Belo Horizonte, Minas Gerais: frequências, intensidades médias, associações parasitárias e aspectos

morfológicos com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura. Belo Horizonte. Brasil. Instituto de Ciências Biológicas UFMG. 1995.

Silverman NH, Katz JS, Levin SE. *Capillaria hepatica* infestation in a child. S Afr Med J. 1973; 47(6):219–221.

Simões R, Monteiro F, Sánchez E, Thiengo S, Garcia J, Costa-Neto S, Luque J, Maldonado Júnior A. Endemic Angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil. Emerg Infect Dis. 2011; 17(7):1331-3.

Simões RO, Santos MM, Maldonado Jr. A. A New Heligmonellid (Nematoda: Heligmonellidae) from *Oecomys mamorae* (Rodentia: Sigmodontinae) In the Pantanal and New Data on the Synopse of *Guerrerostrongylus zetta* from the Atlantic Forest, Brazil. Journal of Parasitology, 2012; 98(4):801-805.

Simonsen PE, Onapa AW, Asio SM. *Mansonella perstans* filariasis in Africa. Acta Trop. 2011; 120(Suppl 1):S109–S120.

Soares M, Nunes H, Silveira F, Alves M, Souza A. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) entre populações indígenas e mamíferos silvestres no noroeste do Estado do Mato Grosso, Brasil, 2000. Rev Pan-Amaz-Saúde. 2011; 2: 35–40. In: Gonçalves AQ, Ascaso.

Song L, Wang X, Yang Z, Lv Z, Wu Z. *Angiostrongylus cantonensis* in the vector snails *Pomacea canaliculata* and *Achatina fulica* in China: a meta-analysis. Parasitol Res. 2016; 115:913–923.

Soulé ME, Wilcox BA. Conservation biology: Its scope and its challenge. In: Soulé ME, Wilcox BA, editor. Conservation Biology: An Evolutionary- Ecological Perspective. Sunderland, MA.: Sinauer Associates. 1980; p. 7–8.

Soultan A, Attum Omar, Lahue W. The relationship between landscape features and domestic species on the occupancy of native mammals in urban forests. Urban Ecosystems. 2021; 24:1117–1128.

Stunkard HW. Life histories and systematics of parasitic worms. Syst. Zool. 1953; 2 (1): 7-18.

Sungkar S, Sianturi I, Kusumowidagdo G. Human infection with *Hymenolepis* spp.: case reports from East Indonesia. Arch Parasitol. 2017; 1:1000104.

Sutton CA, Durette-Desset MC. Nippostrongylinae (Nematoda—Trichostongyloidea) parasites d’*Oryzomys flavescens* em Argentine et en Uruguay. Revue Suisse de Zoologie. 1991; 98: 535–553.

Suzán G, Esponda F, Carrasco-Hernández R, Aguierre AA. Habitat fragmentation and infectious disease ecology. Anthropogenic Change and Conservation Medicine. 2011.

Suzuki A, Bisordi I, Levis S, Garcia J, Pereira LE, Souza RP, Sugahara TKN, Pini N, Enria D, Souza LTM. Identifying rodent Hantavirus reservoirs, Brazil. Emerging Infectious Diseases. 2004; 10: 2127–2134.

Teodoro AKM, Cutolob AA, Motoiec G, Meira-Strejevitchb CS, Pereira-Chioccolab VL, et al. Gastrointestinal, skin and blood parasites in *Didelphis* spp. from urban and sylvatic areas in São Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 16. 2019; 100286.

Thiengo SC, Maldonado A, Mota EM, Torres EJJ, Caldeira R, Carvalho OS, Oliveira APM, Simões RO, Fernandez MA, Lanfredi RM. The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. *Acta Trop.* 2010; 115(3):1994-9.

Thiengo SC, Simões RO, Fernandez MA, Maldonado AJr. *Angiostrongylus cantonensis* and Rat Lungworm Disease in Brazil. *Hawaii J Med Public Health.* 2013; 72(6 Suppl 2): 18–22.

Thompson RC. Neglected zoonotic helminths: *Hymenolepis nana*, *Echinococcus canadensis* and *Ancylostoma ceylanicum*. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: 426-432.

Tijjani M, Majida RA, Abdullahia SA, Unyaha NZ. Detection of rodent-borne parasitic pathogens of wild rats in Serdang, Selangor, Malaysia: A potential threat to human health. *Parasites and Wildlife* 11. 2020; 174–182.

Torgerson PR, Devleeschauwer B, Praet N, Speybroeck N, Willingham AL, Kasuga F,

Travassos L, Freitas JFT, Kohn A. Trematódeos do Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1969; 67: 1-886.

Travassos L. Introdução ao Estudo da Helminologia. Rio de Janeiro. *Rev Bras Biol.* 1950; 173.

Travassos L. Contribuição para o conhecimento da fauna helmintologica brasileira. XVI. *Cruzia tentaculata* (Rud. 1819). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1922; 14:88–94.

Travassos L, Freitas T, Kohn A. Trematódeos do Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1969; 67: 1–886.

Tsai HC, Liu YC, Kunin CM, Lee SSJ, Chen HHL, Tsai TH, Lin WR, Huang CK, Yen MY, Yen CM. Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*: report of 17 cases. *Am J Med.* 2001; 111:109-14.

Tunholi-Alves VM, Tunholi VM, Garcia JS, Costa-Neto SF, Maldonado AJ, Santos MAJ, Thiengo SC, Pinheiro J. Changes in the calcium metabolism of *Biomphalaria glabrata* experimentally infected with *Angiostrongylus cantonensis*. *J. Helminthol.* 2014; 88, 160–165.

Tunholi-Alves VM, Tunholi VM, Pinheiro J, Thiengo SC. Effects of infection by larvae of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda, Metastrongylidae) on the metabolism of the experimental intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Exp. Parasitol.* 2012; 131, 143–147.

Umetsu F, Pardini R. Small mammals in a mosaic of forest remnants and anthropogenic habitats — evaluating matrix quality in an Atlantic Forest landscape. *Landscape Ecology.* 2007; 22:517-530.

Urquhart GM, Armour J, Dunn AM, Jennings FW. *Parasitologia veterinária.* 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

- Vaucher C. Les cestodes parasites des Soricidae d'Europe. Etude anatomique, revision taxonomique et biologie. Rev Suisse zool. 1971; 78:1-113.
- Vaz Z. *Ackertia* gen. nov. for *Litomosa burgosi* De La Barrera, 1926, with notes on the synonymy and morphological variations of *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919). Ann Trop Med Parasitol. 1934; 28(2):143–149.
- Verberk W. Explaining general patterns in species abundance and distributions. Nature Education Knowledge. 2011; 3 (10): 38.
- Vicente JJ, Rodrigues HO, Correa Gomes D, Magalhães Pinto RM. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de Mamíferos. Rev Bras Zool. 1997; 14(Supl. 1):1–452
- Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. Revista Brasileira de Biologia. 1997. v. 14, Supl.1, p. 1-452.
- Vidigal THDA, Coscarelli D, Paixão DH, Bernardes S, Montresor LC, Pepato AR. Integrative taxonomy of the neotropical genus *Omalonyx* (Elasmognatha: Succineidae). Zoologica Scripta. 2018;1–13.
- Vieira EM, Monteiro-Filho ELA. Vertical stratification of small mammals in the Atlantic rain forest of south-eastern Brazil. Journal of Tropical Ecology. 2003; 19 (5): 501–7.
- Vieira FM, Gonçalves PA, Lima SS, Sousa BM, Muniz-Pereira LC. A new species of *Cruzia* (Ascaridida; Kathlanidae) parasitizing *Salvator merianae* (Squamata, Teiidae) from the Atlantic Forest in Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(1): e018519.
- Wang L, Zhang Y, Deng Y, Li X, Zheng X, Wang F, Zou Y. Clinical and laboratory characterizations of hepatic capillariasis. Acta Trop. 2019; 193:206–210.
- Wang LC, Yen CM, Liu CL, Chen ER, Chao D. Effects of age and splenectomy on heavy infection of *Angiostrongylus cantonensis* in rats. Exp Parasitol. 2012; 131: 210-4.
- Wang QP, Wu ZD, Wei J, Owen RL, Lun ZR. Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011; 11:1328-35.
- Wang Tzu-Yi, Chen Kuang-Yao, Jhan Kai-Yuan, Li Chung-Han, Jung Shih-Ming d, Wang Lian-Chen. Temporal-spatial expressions of interleukin-4, interleukin-10, and interleukin-13 in the brains of C57BL/6 and BALB/c mice infected with *Angiostrongylus cantonensis*: An immunohistochemical study. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2018.
- Wang, QP, Lai, DH, Zhu, XQ, Chen, XG, Lun, ZR.; Human angiostrongyliasis. The Lancet Infectious Diseases 8. 2008; (10), 621–630.
- Watwe S, Dardi C. *Hymenolepis diminuta* in a child from rural area. Indian J Pathol Microbiol. 2008; 51:149–150.
- Weirich JM, Catzefflis F, Jiménez FA. *Guerrerostrongylus marginalis* n. sp. (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae) from the Guianan arboreal mouse (*Oecomys auyantepui*) from French Guiana. Parasite 2016, 23, 9.

- Wilson DE, Reeder DM. Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference: 3rd.: 1-2142. 2005. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Wolfgang RW. Studies on the endoparasitic fauna of trinidad mammals: IX. *Didelphonema*, a new genus of nematode from marsupials. Can J Zool 1953; 31(5): 519-521.
- Yamaguti S. Systema Helminthum vol. 2: the Cestodes of Vertebrates. – N. Y.; L., 1959.
- Yamaguti S. Systema Helminthum. The Nematodes of Vertebrates. New York: Interscience Pub. Inc.; 1961. 679 pp.
- Yamashita T, Sato Y, Shiraki T, Otsuru M, Suzuki T Development of *Angiostrongylus cantonensis* in rats, mice and guineapigs. Japan J Parasitol. 1975; 24:114–121.
- Yang D, Zhao W, Zhang Y, Liu A. Prevalence of *Hymenolepis nana* and *H. diminuta* from Brown Rats (*Rattus norvegicus*) in Heilongjiang Province, China. Korean J Parasitol. 2017; Vol. 55, No. 3: 351-355.
- Yokagawa S. The development of *Heligmosomum muris* Yokagawa, a nematode from the intestine of the wild rat. Parasitology. 1922; 14, 127-166.
- Yong HS, Eamsobhana P. Definitive rodent hosts of the rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis*. Raffles Bulletin of Zoology Suppl. 2013; 29, 111–115.
- Yong HS, Song SL, Eamsobhana P, Goh SY, Lim PE, Chow WL, Chan KG, Abrahams-Sand E. Mitochondrial Genome Supports Sibling Species of *Angiostrongylus costaricensis* (Nematoda: Angiostrongylidae). PLoS ONE. 2015; 10(7): e0134581.
- Zanol J, Fernandez MA, Oliveira APM, et al. O caramujo exótico invasor *Achatina fulica* (Stylommatophora, Mollusca) no Estado do Rio de Janeiro (Brasil): situação atual. Biota Neotropica 2010; 10, 447–451.
- Zonta ML, Navone GT, Oyhenart EE. Parasitosis intestinales em niños de edad preescolar y escolar: situación actual en poblaciones urbanas, periurbanas y rurales en Brandsen, Buenos Aires, Argentina. Parasitología Latinoamericana. 2007; 62, 54–60.