

ESTUDO ULTRA-ESTRUTURAL DE LARVAS DE HELMINTOS ENCONTRADOS NA ETE CONTORNO DE FEIRA DE SANTANA – BAHIA

Jefferson de Souza Silva¹; Aristeu Vieira da Silva²; Joelande Esquivel Correia³; Patricia Carneiro Silva Santana⁴; Adriana Lanfredi Rangel⁵ e Maria Lucia Vieira Moreno⁶

1. Bolsista FAPESB, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: fsa_jefferson@ymail.com

2. Orientador, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: aristeuvsilva@uefs.br

3. Pesquisadora, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Ciências biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: joelande@ig.com.br

4. Pesquisadora, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Ciências biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mo.pa@hotmail.com

5 e 6. Pesquisadoras, Plataforma de Microscopia Eletrônica, Fundação Oswaldo Cruz-Bahia, e-mail: microscopia@bahia.fiocruz.br

PALAVRAS-CHAVE: Helmintos, Morfologia, Esgoto.

INTRODUÇÃO

Em 2007, projetos de pesquisa foram desenvolvidos na Estação de Tratamento de Esgoto/ETE Contorno de Feira de Santana-Bahia visando estudar a presença de protozoários bioindicadores de poluição ambiental (Almeida, 2008). Nas amostras de esgoto coletadas e analisadas microscopicamente foram encontradas larvas de helmintos, as quais foram consideradas como bioindicadoras ambientais (Oliveira, 2010). Camandaroba *et al.* (2010) e Silva (2011) através de microscopia óptica identificaram quatro tipos larvais de helmintos (L1, L2, L3 e L4), no entanto não lograram a caracterização taxonômica específica. Assim, nasceu a necessidade desse trabalho, como um estudo complementar, visando a pesquisa e a identificação da espécie ou as espécies de larvas de helmintos bioindicadoras ambiental da ETE Contorno através de estudos ultra-estruturais pela microscopia eletrônica de varredora (MEV), de transmissão (MET) e microscopia ótica (MO).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 500mL de amostras de esgoto com concha e garrafa de Meyer (Branco, 1986) e transportadas na temperatura ambiente em caixa isotérmica para o Laboratório de Análises Clínicas e Parasitologia/LAC da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA, para as análises microscópicas. As amostras foram, inicialmente, coletadas desde o mês de abril até setembro de 2011, sendo realizadas mensalmente nove coletas nos seguintes pontos: no esgoto bruto, nas duas lagoas aeradas, em quatro decantadores, na lagoa de decantação e lagoa de maturação, totalizando 53 amostras de esgoto.

Para as análises microscópicas fez-se necessário a centrifugação de alíquotas (12 mL) das amostras. A centrifugação foi realizada com base no método de Blagg (Rocha & Mello, 2005). Após isso, eram feitas preparações microscópicas com o decantado da centrifugação, utilizando lâminas e lamínulas adicionadas de álcool absoluto ou lugol. Após a centrifugação e a preparação das lâminas e lamínulas foram feitas as análises em microscopia óptica, por onde foi observada a presença e o estágio larval das larvas encontradas.

As amostras que apresentam larvas foram separadas e processadas para o estudo detalhado em, MEV e MET na plataforma de microscopia da Fundação Oswaldo Cruz-Bahia (FIOCRUZ).

Para o MEV e MET as amostras foram processadas de acordo com os protocolos do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ (Souza, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as etapas de tratamento foram encontrados diversos tipos de larvas de helmintos dentre as quais puderam ser classificadas como pertencentes aos estágios L1 e L4 (Berenguer,2006). Essas larvas apresentaram corpo em forma de cilindro fino e longo, iniciando com uma boca na região anterior, vestíbulo bucal, seguido por um esôfago, intestino, abertura anal e uma cauda afilada na região posterior.

As larvas L1 apresentaram comprimento total médio de 264 μm e 17,5 μm de largura, obtido na região da junção esôfago intestino. O vestíbulo bucal detém um tamanho de 9 μm de comprimento, sendo seguido pelo esôfago o qual detém tamanho médio de 76 μm . Apresentam cauda de 28 μm de comprimento. Apresenta um lobo cefálico dorsal. Vista em MEV a larva L1 apresenta cutícula rugosa aparentemente frouxa com indícios de estrias transversais.

As características das larvas L1 descritas condizem com as disponibilizadas na literatura para as espécies do gênero *Strongyloides*, as quais apresentam entre 150 a 390 μm de comprimento total por 14 a 20 μm de largura na região do esôfago intestinal. As caudas são afiladas com tamanho variando entre 45 a 55 μm (Little, 1966; Vieira *et al.* 2006).

As larvas L4 apresentaram comprimento médio total de 732,5 μm com um diâmetro de 45 μm , obtido na região do esôfago intestino. As mesmas apresentam vestíbulos de 13 μm comprimento, com um esôfago de 189 μm , seguido por um intestino retilíneo e uma cauda de 54 μm . A região anterior detém uma abertura bucal com estruturas que lembram capsula bucal. Apresentavam, ainda, uma abertura anal no final do intestino e uma cauda fina e pontiaguda. Detém esôfago do tipo rabditoide, com a parte anterior separado do bulbo por um istmo muito evidente.

Em alguns representantes das L4, foi possível detectar desenvolvimento embriológico por meio da sequência de maturação de ovos nas tubas uterinas, os quais se apresentavam em ordem de diferenciação celular até a formação do embrião. A vulva estava situada na metade do corpo da larva.

Os ovos dentro da tuba uterina detinham características elipsoide com uma parede única e fina, apresentando-se larvados em sua fase final com tamanho de aproximadamente de 50 μm x 57,5 μm .

De acordo com Viney&Lok (2007) os ovos de *Strongyloides* spp. são larvados desde as fases iniciais, que pôde ser visto nas tubas uterinas das larvas L4, além do mais os ovos de *Strongyloides* spp. são caracterizados por apresentarem formato elipsoidal, extremidade polares simétricas, casca delgada, superfície interna e externas lisas, tamanho variando entre 40 a 80 μm de comprimento. Essas características são típicas de nematódeos partenogenéticos.

As larvas inicialmente classificadas como L4, devido ao seu tamanho (Berenguer,2006), podem ser considerados indivíduos adultos, uma vez que apresentam maturação sexual.

O fato desses helmintos serem encontradas fora de um hospedeiro levou a considerá-las de vida livre. Dentro da ordem Rhabditina, a família Strongyloidae se destaca pelo fato de apresentar uma alternância de geração, a qual é capaz de gerar indivíduo machos e fêmeas de vida livre e uma fêmea partenogenica parasita (Berenguer,2006).

Os indivíduos de vida livre apresentam uma abertura oral com dois lobos cefálicos, detendo um esôfago rabditoide formado por um corpo, istmo e bulbo. As fêmeas possuem aspecto fusiforme com uma cauda curta e pontiaguda, detendo a vulva na metade do corpo (Chitwood&Chitwood, 1950 *apud* Little, 1966; Berenguer,2006). Essas características são evidentes nas descrições das larvas L4.

Não foi possível registrar dados de L1 e L2 nesse estudo, no entanto essas foram vistas e descritas por Oliveira (2010) as quais detinham características comuns a ordem Rhabditina e o gênero *Strongyloides*.



FIGURA 1.A) Larva L1 sob microscopia óptica; B) Larva L1 sob microscopia eletrônica de varredura, evidenciando a cutícula enrugada. Feira de Santana, 2012.

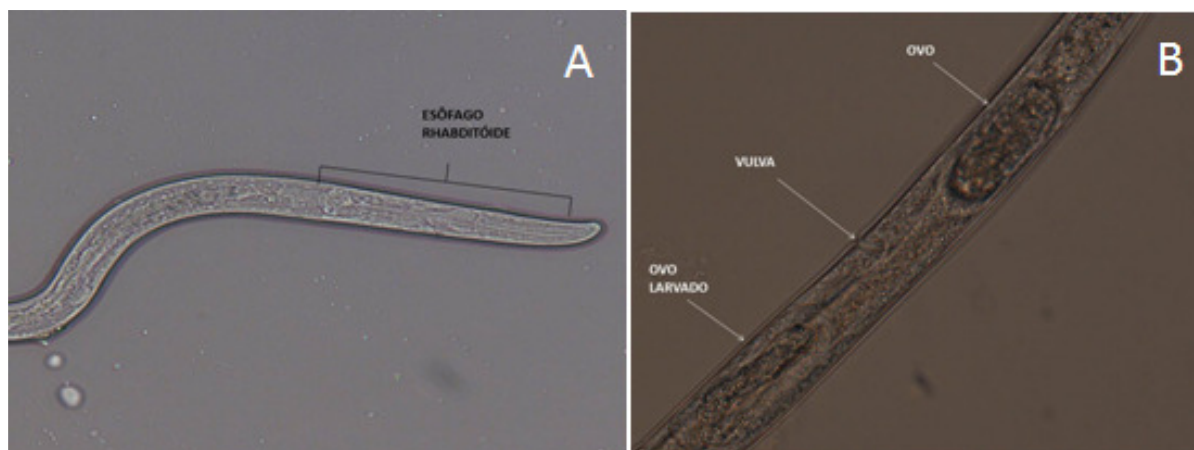


FIGURA 2.A) Larva L4 em microscopia óptica, com destaque para o esôfago rhabditóide; B) Larva L4 em microscopia óptica, com destaque para a presença de ovos na tuba uterina. Feira de Santana, 2012.

CONCLUSÕES

Foram encontradas e identificadas na ETE contorno larvas de helmintos classificadas como pertencentes aos estágios larvais L1 e L4. As larvas L4 apresentam maturação sexual com ovos larvados, sendo assim larviporas podendo ser partenogênica. As larvas L4 são de vida livre. As larvas encontradas na ETE apresentam características que permite classificá-las como pertencente a Ordem Rhabditida, Família Strongyloidae e Gênero *Strongyloides*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P.R.M. 2008. *Microfauna de protozoários como indicador de eficiência de estação de tratamento de esgoto do tipo lodo ativado em Feira de Santana-Ba.* 2008. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- BERENQUER, J.G. 2006. *Manual de Parasitologia: morfologia e biologia dos parasitos de interesse sanitário.* Tradução de Hilda Beatriz Dmitruk. 2. ed. Chapeco: Argos, 408p.
- BRANCO, S.M. 1986. *Hidrobiologia Aplicada á Engenharia Sanitária.* São Paulo: CETESB/ASCETEB, 1986. 640 p.

- CAMANDAROBA, E.L.P. et al. 2010. Presença de geo-helmintos, bioindicadores de poluição ambiental, em amostras de esgoto e lodo na estação de tratamento de esgoto (ETE) Contorno de Feira de Santana-Bahia. In: *XVII Encontro de Zoologia do Nordeste, 2010, São Raimundo Nonato*. Resumos de trabalhos apresentados. São Raimundo Nonato: [s.n].
- LITTLE, M.D. *Comparative Morphology of Six Species of Strongyloides (Nematoda) and Redefinition of the Genus*. *The Journal of Parasitology*. USA, v.52, n.1, p. 69-84, 1966.
- ROCHA, M.O.; MELLO, R.T. 2005. Exame Parasitológico de Fezes. In: NEVES, D.P.; MELO, P.M.; VITOR, R.W.A. *Parasitologia humana*. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. cap 56. p 455-456.
- OLIVEIRA, N.M.C.L. 2010. *Estudo de geo-helmintos, bioindicadores de poluição ambiental, presentes em amostras de esgoto e lodo coletados na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Contorno de Feira de Santana-Bahia*. 2010. 52 p. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- SILVA, J.S. et. al. Estudo ultraestrutural de larvas de geo-helmintos encontrados na ETE Contorno de Feira de Santana – Bahia. In: *XV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana*. Resumos de trabalhos apresentados. Feira de Santana, 2011.
- SOUZA, W. 2011. *Técnicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas*. 3 ed. Rio de Janeiro: SBMM.
- VIEIRA, F.M.; LIMA, S.S.; BESSA, E.C.A. 2006. Morfologia e biometria de ovos e larvas de Strongyloides. Grassi, 1879 (Rhabditoidea: Strongyloididae) parasito gastrointestinal de Hydrochaeris hydrochaeris (Linnaeus, 1766) (Rodentia: Hydrochaeridae), no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Revista brasileira de parasitologia veterinária*, Brasil, v.15, n.1, p 7-12.
- VINEY, M.E.; LOK J.B. 2007 [on-line]. *Strongyloides spp. The C. elegans Research Community, WormBook*, .15p. doi/10.1895/wormbook.1.141.1, Homepage: <http://www.wormbook.org> acesso em: 28/12/11.