

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Estudo da helmintofauna de *Mus musculus*
(Rodentia) em São Miguel (Açores): factores
indutores de diversidade e potencial zoonótico**



Vasco Manuel Martins Pereira
MESTRADO EM BIOLOGIA HUMANA E AMBIENTE

2009

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Estudo da helmintofauna de *Mus musculus*
(Rodentia) em São Miguel (Açores): factores
indutores de diversidade e potencial zoonótico**



Vasco Manuel Martins Pereira

MESTRADO EM BIOLOGIA HUMANA E AMBIENTE

2009

Dissertação orientada por:

Prof.^a Doutora Margarida Santos Reis

Centro de Biologia Ambiental/Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da
Universidade de Lisboa

Dr.^a Alcione Trinca

Unidade de Helmintologia e Malacologia Médicas, Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Ho'oponopono

NOTA INTRODUTÓRIA

O presente estudo insere-se no contexto do Projecto de Investigação “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores”, U.S.A. *Scientific Cooperative Agreement* No. 58-4001-3-F185. Realizado entre os anos de 2004 e 2007, este projecto abordou a problemática da leptospirose nas duas ilhas mais povoadas do Arquipélago dos Açores (São Miguel e Terceira) e teve como objectivo primordial a identificação dos principais factores de risco de transmissão ao homem do agente etiológico da leptospirose, as bactérias da família *Leptospiraceae*. O projecto abrangeu três grandes áreas de investigação: epidemiologia humana, ecologia dos principais reservatórios (roedores) e diagnóstico laboratorial. No referente ao estudo dos reservatórios foram estudadas a distribuição, abundância e demografia dos roedores, à escala local (Estudo Vertical) e insular (Estudo Horizontal). Realizado entre Novembro de 2005 e Março de 2006, o Estudo Vertical na ilha de São Miguel teve como objectivos identificar e caracterizar alguns parâmetros populacionais (abundância, estrutura populacional e reprodução) e taxas de infecção por *Leptospira* sp. dos reservatórios silváticos. Todos os exemplares de rato-caseiro (*Mus musculus*) analisados no presente estudo provieram das capturas efectuadas no âmbito do Estudo Vertical.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Margarida Santos Reis, orientadora desta dissertação, quero manifestar a minha gratidão pela oportunidade em trabalhar neste tema sob a sua orientação. Aproveito ainda para agradecer todo o precioso tempo de que prescindiu para responder às minhas questões com as suas críticas, correcções e sugestões sempre construtivas e acertadas.

À Investigadora Alcione Trinca, co-orientadora desta dissertação, gostaria de agradecer o seu empenho, disponibilidade e apoio constante, mas acima de tudo a amizade com que me acolheu ao longo destes meses. Os seus ensinamentos e as suas sugestões foram sem dúvida imprescindíveis para a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Maria Amélia Grácio por ter possibilitado a minha integração nos laboratórios da Unidade de Helmintologia e Malacologia Médicas do Instituto de Higiene e Medicina Tropical, e pela oportunidade de apresentar este trabalho numa comunicação oral no XI Congresso Ibérico de Parasitologia.

A toda a equipa envolvida no Projecto “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores” pela cedência de dados e do material biológico sem o qual este estudo não teria sido possível. Agradeço particularmente à Doutora Margarida Collares Pereira pela cedência das fotografias tiradas em São Miguel.

À Dr.^a Joana Cruz pela ajuda no tratamento dos hospedeiros, tarefa sem a qual teria sido muito mais penosa e prolongada no tempo.

A Ms Eileen Harris, curadora do “Parasitic Worms Group” do Museu de História Natural de Londres, quero agradecer encarecidamente a sua amabilidade e a oportunidade ímpar concedida de trabalhar nos laboratórios de tão prestigiada instituição. Agradeço com especial afincamento a sua disponibilidade na identificação dos helmintas e a valiosa ajuda em apoio bibliográfico.

Ao Dr. Rod Bray pela ajuda na confirmação das espécies pertencentes à Classe Cestoda.

À Dr.^a Filomena Medeiros pela sua preciosa contribuição na análise histológica e pela simpatia com que me recebeu no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Pulido Valente.

À Professora Doutora Luzia Gonçalves pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas respeitantes ao tratamento estatístico dos dados.

Aproveito também para agradecer a todo o pessoal dos laboratórios da Unidade de Helminologia e Malacologia Médicas, pelo incansável apoio moral e pelo grande espírito de camaradagem e entreatajuda existente. Agradeço particularmente à Mestre Mariana Reis pela ajuda no tratamento das fotomicrografias (e pela omnipresente boa disposição) e à Investigadora Doutora Ana Afonso pelas dicas na revisão final da tese.

Reservo o derradeiro agradecimento aos meus pais e à minha irmã pelo apoio com que sempre me presentearam, tanto nos bons como nos menos bons momentos, e sem os quais nada valeria a pena.

RESUMO

É bem conhecida a importância dos pequenos mamíferos como hospedeiros reservatórios ideais de um elevado número de macro e microparasitas, nomeadamente de helmintas zoonóticas. Contudo, o conhecimento acerca da diversidade de espécies helmintas em ambiente insular ainda é escasso, particularmente nos Açores. Este estudo pretendeu: i) identificar as espécies que compõem a helmintofauna de *Mus musculus* na ilha de São Miguel (Açores), principalmente as de cariz zoonótico, ii) analisar os principais factores indutores da sua diversidade (sexo, idade, estação do ano e habitat) e iii) investigar a possível associação deste tipo de macroparasitismo com o microparasitismo protagonizado pela bactéria *Leptospira* sp. Entre Novembro de 2005 e Março de 2006 foram capturados 92 *M. musculus* em três habitats dominantes de São Miguel (floresta, pastagem e ambiente peri-urbano). Os animais foram necropsiados e os seus órgãos (intestino, estômago, fígado, pulmões e coração) manipulados com vista à detecção de helmintas. Os espécimes recolhidos foram identificados a nível específico mediante técnicas helmintológicas correntes. Todos os hospedeiros analisados encontravam-se parasitados por pelo menos uma espécie helminta. No decurso deste estudo foram identificados 3 céstodes (*Cysticercus fasciolaris*, *Hymenolepis diminuta* e *Rodentolepis nana*) e 9 nemátodes (*Aonchotheca annulosa*, *Calodium hepaticum*, *Eucoleus gastricus*, *Gongylonema neoplasticum*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Syphacia obvelata* e *Trichuris muris*). Cinco destas espécies foram pela primeira vez detectadas em *M. musculus* de São Miguel. Tal como era expectável, os hospedeiros do sexo masculino, e os adultos, apresentaram valores de prevalência e de intensidade de infecção superiores aos do sexo feminino e aos juvenis. Não se registaram diferenças significativas nem entre estações do ano, nem entre habitats. A associação entre os dois tipos de parasitismo considerados (helmintas e *Leptospira* sp.) não foi confirmada. A potencial transmissão de helmintas zoonóticas (nomeadamente *H. diminuta*, *R. nana* e *C. hepaticum*) aos habitantes insulares deve ser encarada como um sério problema de saúde pública.

Palavras-chave: Helmintas, Roedores, *Leptospira*, Ilhas, Saúde Pública.

ABSTRACT

The role of small mammals as primary reservoir hosts for a large number of macro and microparasites, including zoonotic helminths, is well known. However, the diversity of helminth species in insular environments is still scarce, particularly in the Azores islands. This study sought to: i) identify the species that compose the helminthfauna of *Mus musculus* of São Miguel island (Azores), especially those of zoonotic nature, ii) analyse the major factors underlying the diversity (gender, age, season and habitat) and iii) to investigate the possible association of this type of macroparasitism with microparasitism played by the bacterium *Leptospira* sp. Between November 2005 and March 2006, 92 *M. musculus* hosts were captured in three dominant habitats of São Miguel (forest, pastureland, periurban environment). The animals were necropsied and their organs (intestines, stomach, liver, lungs and heart) prepared for helminth detection. The specimens collected were identified at the species level by helminthological current techniques. All hosts analyzed were parasitized by at least one helminth species. Three cestodes (*Cysticercus fasciolaris*, *Hymenolepis diminuta* and *Rodentolepis nana*) and nine nematodes (*Aonchotheca annulosa*, *Eucoleus gastricus*, *Calodium hepaticum*, *Gongylostrongylus neoplasticum*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Syphacia obvelata* and *Trichuris muris*) have been identified in the course of this study and five of these species were detected for the first time in *M. musculus* from São Miguel. As expected, males and adults presented higher prevalence and intensity values than females and the juveniles. No significant differences were observed among seasons or habitats. The association between the two types of parasitism considered (helminths and *Leptospira* sp.) has not been confirmed. The potential transmission of zoonotic helminths (including *H. diminuta*, *R. nana* and *C. hepaticum*) to island inhabitants should be seen as a serious public health problem.

Keywords: Helminths, Rodents, Leptospira, Islands, Public Health.

ÍNDICE GERAL

NOTA INTRODUTÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE GERAL	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE QUADROS	xvii
ÍNDICE DE TABELAS	xix
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Enquadramento e justificação do estudo	3
1.2. Helmintofauna de <i>Mus musculus</i>	5
1.2.1. A nível mundial	5
1.2.2. A nível ibérico	6
1.2.3. Nos Açores	6
1.3. Objectivos do estudo	7
CAPÍTULO 2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Material biológico e área de estudo	11
2.1.1. <i>Mus musculus</i> (Linnaeus, 1758)	11
2.1.2. Caracterização da ilha de São Miguel	14
2.1.3. Habitats em estudo	16
2.1.3.1. Pastagem	17
2.1.3.2. Floresta	18
2.1.3.3. Peri-urbana	19
2.2. Captura e observação dos hospedeiros	20
2.2.1. Estratégia de amostragem	20
2.2.2. Captura dos hospedeiros	20
2.2.3. Registo de parâmetros climáticos	21
2.2.4. Processamento laboratorial dos hospedeiros	21
2.3. Técnicas helmintológicas	22
2.3.1. Extracção dos helmintas	22
2.3.2. Preparação e identificação dos helmintas	24
2.3.2.1. Preparação dos céstodes	25
2.3.2.2. Preparação dos nemátodes	26
2.3.2.3. Identificação	27
2.4. Técnicas histológicas	27
2.5. Métodos de análise de dados	28
2.5.1. Conceitos ecológicos adoptados	28

2.5.2. Classificação das lesões hepáticas causadas por <i>C. hepaticum</i>	29
2.5.3. Valor de importância de Bush	29
2.5.4. Classificação do estatuto na comunidade	30
2.5.5. Índice de Simpson	30
2.5.6. Padrão de dispersão das espécies helmintas	31
2.5.7. Grau de dispersão das espécies helmintas	31
2.5.8. Índice de Shannon	32
2.5.9. Índice de equidade de Pielou	32
2.5.10. Análise estatística	33
2.5.10.1. Determinação de associações interespecíficas	33
2.5.10.2. Influência do sexo, da idade e da infecção por <i>Leptospira</i> sp.	33
2.5.10.3. Influência na condição física do hospedeiro	34
2.5.10.4. Influência do habitat e da época de captura do hospedeiro	34
CAPÍTULO 3. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS	35
3.1. Composição da helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	37
3.1.1. Composição qualitativa	37
Classe Cestoda	39
<i>Cysticercus fasciolaris</i> (Rudolphi, 1808), forma larvar de <i>Taenia taeniaeformis</i> (Batsch, 1786) Wolffügel, 1911	41
<i>Hymenolepis diminuta</i> (Rudolphi, 1819) Blanchard, 1891	45
<i>Rodentolepis nana</i> (von Siebold, 1852) Spasskii, 1954	49
Filo Nematoda	55
<i>Aonchotheca annulosa</i> (Dujardin, 1845) Bain et Wertheim, 1980	57
<i>Calodium hepaticum</i> (Bancroft, 1893)	59
<i>Eucoleus gastricus</i> (Baylis, 1926)	69
<i>Gongylonema neoplasticum</i> (Fibiger et Ditlevsen, 1914)	71
<i>Heterakis spumosa</i> (Schneider, 1866)	75
<i>Mastophorus muris</i> (Gmelin, 1790)	79
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i> (Travassos, 1914) Travassos et Darriba, 1929	83
<i>Syphacia obvelata</i> (Rudolphi, 1802) Seurat, 1916	87
<i>Trichuris muris</i> (Schränk, 1788) Hall, 1916	91
3.1.2. Composição quantitativa	95
3.2. Abordagem ecológica da helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	96
3.3. Factores indutores de variabilidade na helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	98
3.3.1. Influência do sexo do hospedeiro	98
3.3.2. Influência da idade do hospedeiro	100
3.3.3. Influência na condição física do hospedeiro	102
3.3.4. Influência da época de captura	103
3.3.5. Influência do local de captura	106
3.4. Relação entre macro e microparasitismo	109
CAPÍTULO 4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	115
4.1. Composição da helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	117
4.1.1. Composição qualitativa	117
4.1.2. Composição quantitativa	118

4.2. Abordagem ecológica da helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	119
4.3. Factores indutores de variabilidade na helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	122
4.3.1. Influência do sexo do hospedeiro	122
4.3.2. Influência da idade do hospedeiro	123
4.3.3. Influência na condição física do hospedeiro	124
4.3.4. Influência da época de captura	125
4.3.5. Influência do local de captura	126
4.4. Relação entre macro e microparasitismo	127
4.5. Evolução da helmintofauna de <i>Mus musculus</i> em São Miguel	129
4.6. Espécies helmintas com potencial zoonótico	132
4.6.1. Classe Cestoda	133
4.6.2. Filo Nematoda	133
4.6.3. Medidas profiláticas	134
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES	137
CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFIA	143
CAPÍTULO 7. ANEXOS	169
Anexo 1. Dados climáticos	171
Anexo 2. Preparação de corantes, soluções e reagentes	173
Anexo 3. Classificação das espécies helmintas	175

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Fotografia de <i>M. musculus</i> capturado na ilha de São Miguel.	12
Figura 2.2 – Mapa do arquipélago dos Açores. (fonte: http://www.travel-in-portugal.com/images/azores_map.gif)	14
Figura 2.3 – Locais de amostragem na ilha de São Miguel.	16
Figura 2.4 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat pastagem.	17
Figura 2.5 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat floresta.	18
Figura 2.6 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat peri-urbano.	19
Figura 2.7 – Armadilha <i>Sherman</i> utilizada para a captura de roedores.	21
Figura 2.8 – Fotomicrografia de espécimes extraídos do intestino delgado de um único hospedeiro <i>M. musculus</i> .	24
Figura 3.1 – Aspecto morfológico geral da larva e da vesícula (V) na qual ocorre inclusa.	44
Figura 3.2 – Vesícula enquistada no fígado.	44
Figura 3.3 – Escólex mostrando as quatro ventosas (Vt) e o rostelo (R) armado com uma dupla coroa de ganchos.	44
Figura 3.4 – Escólex mostrando as ventosas (setas) e o rostelo desarmado (cabeça de seta) retraído numa cavidade interior.	48
Figura 3.5 – Porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides maduras, apresentando os órgãos reprodutores corados (setas).	48
Figura 3.6 – Secção de uma porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides grávidas, em cujo interior ocorre o útero repleto de ovos.	48
Figura 3.7 – Ovo apresentando a coloração amarelada característica e três pares de ganchos lanceolados (seta).	48
Figura 3.8 – Escólex mostrando as ventosas (setas) e o rostelo armado (cabeça de seta).	53
Figura 3.9 Pormenor do rostelo armado com uma coroa de cerca de 24 ganchos em forma de “Y”.	53
Figura 3.10 – Porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides maduras, apresentando os órgãos masculinos (seta) e femininos (cabeça de seta) corados.	53
Figura 3.11 – Conjunto de ovos resultante da ruptura de uma proglótide grávida, cada ovo apresentando filamentos polares (setas) e três pares de ganchos lanceolados (cabeça de seta).	53
Figura 3.12 – Aspecto geral da porção posterior e parte inicial da porção anterior.	58

Figura 3.13 – Pormenor da extremidade anterior mostrando a abertura bucal (seta) sem lábios.	58
Figura 3.14 – Pormenor da junção esófago-intestinal (JEI).	58
Figura 3.15 – Pormenor da zona esofágica evidenciando a banda bacilar (BB) e os esticócitos (setas).	58
Figura 3.16 – Porção posterior mostrando a abertura anal (seta).	58
Figura 3.17 – Especímenes embebidos no parênquima hepático.	65
Figura 3.18 – Fígado com aspecto reticulado conferido por lesões de coloração amarelada que se entrecruzam na superfície do parênquima hepático.	65
Figura 3.19 – Porção média da fêmea com útero repleto de ovos.	65
Figura 3.20 – Conjunto de ovos evidenciando os característicos opérculos nos pólos (setas), resultante da ruptura de tecido hepático parasitado por fêmeas grávidas.	65
Figura 3.21 – Conjunto de aglomerados multifocais de ovos no tecido hepático.	66
Figura 3.22 – Pormenor de aglomerado de ovos.	66
Figura 3.23 – Grupos de ovos livres no tecido hepático e cortes transversais de parasitas adultos em processo de degeneração, evidenciando alguma infiltração de células inflamatórias (setas) e focos de calcificação (cabeças de seta).	67
Figura 3.24 – Fotomicrografia de <i>E. gastricus</i> , mostrando a porção média da fêmea com o útero preenchido por uma fiada de ovos.	70
Figura 3.25 – Especímenes fixos na mucosa do intestino delgado.	73
Figura 3.26 – Porção posterior (esquerda) e anterior (direita) do corpo da fêmea, apresentando bossas cuticulares ovalada (seta) especialmente proeminentes na zona mais anterior.	73
Figura 3.27 – Zona caudal da porção posterior do macho evidenciando as espículas maior (seta) e menor (cabeça de seta).	73
Figura 3.28 – Porção média da fêmea com o útero (U) repleto de ovos em evidência.	73
Figura 3.29 – Porção anterior mostrando o bolbo esofágico (seta).	77
Figura 3.30 – Porção média da fêmea evidenciando os lábios (L) associados à vulva e o útero (U) repleto de ovos.	77
Figura 3.31 – Porção posterior da fêmea.	77
Figura 3.32 – Porção posterior do macho apresentando a complexa estrutura copulatória em vista lateral.	77
Figura 3.33 – Porção anterior apresentando abertura bucal (seta) rodeada por dois lábios trilobados.	81

Figura 3.34 – Porção posterior da fêmea.	81
Figura 3.35 – Porção posterior do macho com a espícula maior (seta) em evidência.	81
Figura 3.36 – Conjunto de ovos em estágio larvado (seta) ou embrionado (cabeça de seta) resultante da ruptura dos tecidos de uma fêmea grávida.	81
Figura 3.37 – Especímenes fixos na mucosa do intestino delgado.	85
Figura 3.38 – Aspecto morfológico geral da fêmea.	85
Figura 3.39 – Aspecto morfológico geral do macho.	85
Figura 3.40 – Pormenor da porção anterior.	85
Figura 3.41 – Pormenor da bolsa copulatória do macho com a dupla espícula (seta) e os raios (cabeças de seta) em evidência.	85
Figura 3.42 – Ovo elipsoidal.	85
Figura 3.43 – Aspecto morfológico geral da fêmea.	89
Figura 3.44 – Porção anterior da fêmea evidenciando o bolbo esofágico esférico (seta), a vagina parcialmente projectada (cabeça de seta) e o útero (U) repleto de ovos.	89
Figura 3.45 – Pormenor da zona ventral em vista lateral do macho apresentando três dilatações cuticulares (setas) e pormenor da longa espícula (cabeça de seta) na terminação caudal.	89
Figura 3.46 – Aspecto morfológico geral do macho.	89
Figura 3.47 – Conjunto de ovos em forma de banana resultante da ruptura dos tecidos de uma fêmea grávida.	89
Figura 3.48 – Aspecto geral da porção posterior do macho, onde ocorre o intestino.	93
Figura 3.49 – Aspecto geral da porção anterior, onde ocorre o esófago.	93
Figura 3.50 – Pormenor da extremidade anterior mostrando a abertura bucal sem lábios.	93
Figura 3.51 – Pormenor da zona esofágica evidenciando a banda bacilar (BB) e os esticócitos (setas).	93
Figura 3.52 – Porção posterior da fêmea.	93
Figura 3.53 – Ovos característicos em forma de barril com um opérculo em cada pólo (setas).	93
Figura 3.54 – Espícula encontrada no término caudal do macho, protegida por uma bainha protudente (B) externamente coberta por pequenos espinhos.	94
Figura 3.55 – Percentagens de hospedeiros com diferentes graus de parasitismo (N = 92).	96

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1.1 – Composição da flora e fauna da área de pastagem em estudo, na ilha de São Miguel.	17
Quadro 1.2 – Composição da flora e fauna da área de floresta em estudo, na ilha de São Miguel.	18
Quadro 1.3 – Composição da flora e fauna da área peri-urbana em estudo, na ilha de São Miguel.	19
Quadro 3.1 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de <i>T. taeniaeformis</i> .	42
Quadro 3.2 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de <i>H. diminuta</i> .	46
Quadro 3.3 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de <i>R. nana</i> .	50
Quadro 3.4 – Espectro de hospedeiros de <i>A. annulosa</i> .	57
Quadro 3.5 – Espectro de hospedeiros de <i>C. hepaticum</i> .	61
Quadro 3.6 – Espectro de hospedeiros de <i>E. gastricus</i> .	69
Quadro 3.7 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de <i>G. neoplasticum</i> .	72
Quadro 3.8 – Espectro de hospedeiros de <i>H. spumosa</i> .	76
Quadro 3.9 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de <i>M. muris</i> .	80
Quadro 3.10 – Espectro de hospedeiros de <i>N. brasiliensis</i> .	84
Quadro 3.11 – Espectro de hospedeiros de <i>S. obvelata</i> .	88
Quadro 3.12 – Espectro de hospedeiros de <i>T. muris</i> .	91

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 – Localização anatômica em <i>M. musculus</i> , prevalência, intensidade média, abundância média \pm desvio padrão (DP) e amplitude da intensidade de infecção da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel.	95
Tabela 3.2 – Valores de importância de Bush e classificação consoante o estatuto na comunidade das espécies helmintas de <i>M. musculus</i> em São Miguel.	96
Tabela 3.3 – Valores dos índices de dispersão e de Green e do parâmetro k da distribuição binomial negativa e classificação da distribuição das espécies helmintas de <i>M. musculus</i> em São Miguel.	97
Tabela 3.4 – Pares de espécies helmintas co-ocorrentes de <i>M. musculus</i> em São Miguel, e respectivos valores do coeficiente de correlação por postos de Spearman (r_s), do teste do qui-quadrado (χ^2) e dos índices não-probabilísticos de associação de Ochiai, Dice e Jaccard (p = nível de significância).	97
Tabela 3.5 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função do sexo masculino.	99
Tabela 3.6 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função do sexo feminino.	99
Tabela 3.7 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência do sexo do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> em São Miguel (p = nível de significância).	100
Tabela 3.8 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função da idade adulta.	101
Tabela 3.9 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função da idade juvenil.	101
Tabela 3.10 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência da idade do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> em São Miguel (p = nível de significância).	102
Tabela 3.11 – Valores médios \pm desvio padrão (DP) para a condição física de <i>M. musculus</i> em São Miguel, de acordo com o seu grupo etário e sexo.	102
Tabela 3.12 – Valores do coeficiente de correlação por postos de Spearman (r_s) e do coeficiente de correlação de Pearson (r) para avaliar a relação entre a condição física de <i>M. musculus</i> em São Miguel (agrupados por sexo e/ou grupo etário) e a abundância e a prevalência de infecção dos componentes da sua comunidade helmíntica (p = nível de significância).	103
Tabela 3.13 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função da estação do ano (Outono).	104

Tabela 3.14 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função da estação do ano (Inverno).	104
Tabela 3.15 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função da estação do ano (Primavera).	105
Tabela 3.16 – Valores dos testes ANOVA (<i>F</i>) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência da época de captura do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> em São Miguel (p = nível de significância).	105
Tabela 3.17 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função do habitat correspondente à floresta.	106
Tabela 3.18 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função do habitat correspondente à pastagem.	107
Tabela 3.19 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel em função do habitat correspondente à área peri-urbana.	107
Tabela 3.20 – Valores dos testes ANOVA (<i>F</i>) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência do habitat do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> em São Miguel (p = nível de significância).	108
Tabela 3.21 – Prevalência de infecção por <i>Leptospira</i> sp. em <i>M. musculus</i> de São Miguel, de acordo com o seu grupo etário e sexo.	109
Tabela 3.22 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> adultos em São Miguel em função da positividade (+) para <i>Leptospira</i> sp.	110
Tabela 3.23 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> adultos em São Miguel em função da negatividade (-) para <i>Leptospira</i> sp.	110
Tabela 3.24 – Valores dos testes t-student (<i>t</i>) e do qui-quadrado (χ^2) para a intensidade média e prevalência, respectivamente, para a análise da relação entre <i>Leptospira</i> sp. e as espécies que constituem a comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> adultos em São Miguel (p = nível de significância).	111
Tabela 3.25 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> juvenis em São Miguel em função da positividade (+) para <i>Leptospira</i> sp.	112
Tabela 3.26 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de <i>M. musculus</i> juvenis em São Miguel em função da negatividade (-) para <i>Leptospira</i> sp.	112
Tabela 3.27 – Valores dos testes t-student (<i>t</i>) e do qui-quadrado (χ^2) para a intensidade média e prevalência, respectivamente, para a análise da relação entre <i>Leptospira</i> sp. e as espécies que constituem a comunidade helmíntica de <i>M. musculus</i> juvenis em São Miguel (p = nível de significância).	113
Tabela 4.1 – Comparação entre as prevalências e intensidades médias de infecção da helmintofauna de <i>M. musculus</i> em São Miguel detectadas por Casanova <i>et al.</i> (1996) e pelo presente estudo.	129

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1. ENQUADRAMENTO E JUSTIFICAÇÃO DO ESTUDO

É bem conhecida a importância dos pequenos mamíferos silvestres, especialmente dos roedores, como hospedeiros reservatórios definitivos ou intermediários ideais de um elevado número de parasitas responsáveis por diversas doenças, tanto em animais domésticos como no ser humano (OMS, 1987; Kataranovski *et al.*, 2008; Singla *et al.*, 2008). Este facto associado à elevada capacidade prolífica dos roedores, bem como à sua co-habitação com o homem em ambiente doméstico e peri-doméstico, faz com que estes animais desempenhem um papel preponderante na manutenção e dispersão de agentes infecciosos (Collares-Pereira *et al.*, 1997, Khatoon *et al.*, 2004). Dentro destes, os helmintas adquirem um lugar de destaque que merece ser estudado. As infecções por helmintas intestinais representam um problema de saúde pública mundial. Por exemplo, Chan *et al.* (1994) estimaram que 1 472 milhões de pessoas no mundo estavam parasitadas por *Ascaris lumbricoides*, 1 298 milhões por ancilostomídeos e 1 049 milhões por *Trichiuris trichiuria*. A sintomatologia é bastante variável, mas a infestação ao comprometer o estado nutricional, afectar os processos cognitivos, induzir reacções nos tecidos como granulomas e provocar anorexia, diarreia ou obstrução intestinal, pode causar morbidade e por vezes morte. Os casos mais graves são normalmente mais frequentes em pacientes desnutridos e imunodeprimidos (WHO, 1996).

Por outro lado, as ilhas do Arquipélago dos Açores, ao constituírem um ambiente isolado, onde as características atlânticas conduzem a condições de precipitação elevada e temperatura média anual amena, a par das densidades elevadas de roedores, favorecem o desenvolvimento e disseminação das espécies helmintas e permitem tirar partido da existência de condições ambientais excepcionais para a sobrevivência dos seus ovos e estados larvares no meio ambiente. Estas condições tão propícias ao desenvolvimento destes parasitas fazem do arquipélago uma excelente região para o estudo de eventuais helmintas patogénicos para o ser humano. Sendo a maior ilha, tanto em área como em termos de população humana, onde a elevada densidade de roedores obriga as populações humanas a viverem diariamente em contacto directo ou indirecto com estes animais, potenciando assim o risco de transmissão de doenças ao homem, São Miguel é a ilha açoriana onde um estudo helmintológico desta natureza adquire maior relevância.

Como parasitas, os helmintas são factores importantes na regulação e evolução das populações hospedeiras (Goater & Holmes, 1997 *in* Higgs & Nowell, 2000), nomeadamente de roedores, pelo que a investigação da interacção parasita/hospedeiro a nível populacional ou da comunidade é um aspecto claramente fundamental. Sabe-se, por exemplo, que a abundância de parasitas pode afectar a sobrevivência e a *fitness* dos animais infectados (Scott & Gibbs, 1986; Caughley & Sinclair, 1994). Assim, além da importância a nível de

saúde pública, um maior conhecimento da biodiversidade helmíntica adquire uma importância ecológica de relevo. Na verdade, o padrão de diversidade de espécies helmintas de hospedeiros em ambiente insular não está devidamente estudado, particularmente nos Açores onde os estudos helmintológicos são escassos, apesar do isolamento geográfico facilitar a identificação dos factores envolvidos (Poulin & Morand, 1999). Desconhece-se, por exemplo a relação entre os helmintas e a “síndrome insular” (Nieberding *et al.*, 2006; López-Darias *et al.*, 2008), e tem sido hipotetizado que a diversidade de espécies helmintas de populações insulares é menor que a diversidade dos seus congéneres continentais (Goüy de Bellocq *et al.*, 2003). Este estudo pretende assim contribuir para colmatar esta lacuna no conhecimento, investigando a influência de diversos parâmetros ambientais, como temperatura e humidade, e da biologia do hospedeiro, como sexo, idade e condição física, na estrutura da comunidade helmíntica para uma melhor compreensão das relações entre as espécies helmintas e os respectivos hospedeiros roedores.

Para além destes factores, a ilha de São Miguel fornece a oportunidade ímpar de estudar a eventual associação entre dois tipos de parasitismo nos roedores, o helmintológico e o bacteriológico, protagonizado pela bactéria *Leptospira* sp., agente etiológico da leptospirose. A interacção entre parasitas é um campo que tem sido pouco explorado, principalmente devido à elevada complexidade e difícil compreensão das interacções que os parasitas estabelecem entre si próprios e com o hospedeiro (Cox, 2001). Estudos pioneiros realizados entre 1993 e 1996 e consolidados entre 2004 e 2007, permitiram confirmar a importância dos roedores na dispersão zoonótica de *Leptospira* sp., consequência de uma taxa de infecção superior a 50% para o conjunto das três espécies de roedores existentes nas ilhas e a 70% no referente ao rato-caseiro (*Mus musculus*) (Collares-Pereira *et al.*, 1997; 2000; 2007). Assim, o estudo da relação entre os dois tipos de parasitismo poderá vir a contribuir para uma melhor compreensão da epidemiologia desta bactéria nos Açores, que tem sido considerada um problema de saúde pública de importância crescente na região, particularmente nas ilhas de São Miguel e Terceira, devido aos casos humanos fatais de leptospirose que têm sido registados entre os habitantes insulares (Collares-Pereira *et al.*, 2000). Dados oficiais indicam 180 novos casos humanos diagnosticados entre 1992 e 2003, 45% dos quais em São Miguel, e uma taxa de mortalidade de 8,5% (Collares-Pereira *et al.*, 2007). Registando uma incidência média anual (1992-2003) de 11,1 casos por 100 000 habitantes, os Açores são actualmente a região de Portugal com a maior taxa de incidência de leptospirose (Vieira *et al.*, 2006).

Nos Açores apenas estão referenciadas três espécies de roedores: *M. musculus*, rato-preto (*Rattus rattus*) e ratazana (*Rattus norvegicus*). Todas são reconhecidas por provocarem impactos negativos na produção primária, no ambiente e na saúde pública e

animal. No entanto, *M. musculus* destaca-se das restantes duas, em vários aspectos, tendo sido por isso a espécie seleccionada para este estudo. Com uma distribuição mais generalizada na ilha de São Miguel, *M. musculus* é também a espécie mais próxima do ser humano e dos animais domésticos. De facto, é a mais abundante em ambientes peri-urbanos e pastagens (Collares-Pereira *et al.*, 2007). Deste modo, é o roedor que poderá acarretar maiores riscos para a saúde humana. Por outro lado, é também o maior portador de *Leptospira* sp. Estudos realizados por Collares-Pereira *et al.* (1997; 2007) demonstraram que a taxa de infecção por *Leptospira* sp. alcança valores de, respectivamente, 88,2% (15/17) e 73,0% (135/185). É de salientar que estes valores máximos foram obtidos em São Miguel, que, das ilhas estudadas, foi a que apresentou taxas de infecção mais elevadas para as três espécies de roedores. *M. musculus* surge então como o melhor modelo para investigar a possível relação entre *Leptospira* sp. e as espécies helmintas que forem identificadas. O facto de a nível mundial ser a espécie cuja helmintofauna tem sido menos explorada, vem reforçar a selecção de *M. musculus* para este estudo.

1.2. HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS*

1.2.1. A nível mundial

A helmintofauna de *M. musculus* tem sido estudada em diversas partes do mundo (Pulido-Flores *et al.*, 2005; Kataranovski *et al.*, 2008). No entanto, tendo em conta a sua importância comensal e distribuição cosmopolita, esta espécie tem sido relativamente menosprezada, principalmente em comparação com os numerosos estudos realizados sobre *Rattus* sp. De um modo geral, a escassa informação sobre as espécies helmintas de *M. musculus* poderá ser explicada pelo facto deste roedor não ser tão comum em habitats naturais onde os roedores selvagens são normalmente capturados (Kataranovski *et al.*, 2008).

Singleton & Krebs (2007) fazem uma revisão das espécies helmintas que têm sido identificadas em *M. musculus* em estado selvagem a nível mundial, não abrangendo no entanto os Açores: *Brachylaima* sp., *Brachylaima cribbi*, *Echinostoma lindoense*, *Fasciola hepatica*, *Zonorchis* sp. (Trematoda); *Catenotaenia pusilla*, *Echinococcus multilocularis*, *Hymenolepis diminuta*, *Mesocestoides* sp., *Paranoplocephala* sp., *Raillientina* sp., *Rodentolepis microstoma* (= *Rodentolepis straminea*), *Rodentolepis nana* (= *Rodentolepis fraterna*), *Taenia taeniaeformis* (larva) (Cestoda); *Aonchotheca annulosa*, *Aspicularis tetraptera*, *Calodium hepaticum*, *Eucoleus bacillatus*, *Gallegostrongylus australis*, *Gallegostrongylus ibicensis*, *Gongylonema aegypti*, *Gongylonema musculi*, *Gongylonema*

neoplasticum, *Heligmosomoides polygyrus*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Muspicea borreli*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Physaloptera getula*, *Syphacia obvelata*, *Syphacia stroma*, *Trichinella spiralis*, *Trichosomoides crassicauda*, *Trichuris muris* (Nematoda). A referência às espécies Acanthocephala é no entanto descurada, talvez por este Filo estar fracamente representado nos roedores em geral (Singla *et al.*, 2008).

1.2.2. A nível ibérico

Em Portugal Continental, exceptuando alguns relatos ocasionais, não existem estudos sobre a helmintofauna de *M. musculus*. Ao contrário do que sucede neste país, em Espanha diversos autores têm-se debruçado sobre a riqueza helmintofaunística deste roedor.

Cordero-del-Campillo *et al.* (1994) fazem uma revisão das espécies helmintas que têm sido identificadas em *M. musculus* na Península Ibérica, incluindo Portugal: *Brachylaemus erinacei*, *Brachylaemus recurvus*, *Brachylaima ruminae*, *Corrigia vitta*, *Echinostoma echinatum*, *Echinostoma lindoense*, *Maritrema* sp., *Postorchigenes gymnesicus* (Trematoda); *Catenotaenia pusilla*, *Hymenolepis diminuta*, *Mesocestoides lineatus*, *Rodentolepis microstoma* (= *Rodentolepis straminea*), *Rodentolepis nana* (= *Rodentolepis fraterna*), *Taenia taeniaeformis* (larva) (Cestoda); *Aspicularis tetraptera*, *Calodium hepaticum*, *Gallegostrongylus ibicensis*, *Gongyлонema musculi*, *Heligmosomoides polygyrus*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Strongyloides ratti*, *Syphacia obvelata*, *Trichinella spiralis*, *Trichuris muris* (Nematoda).

1.2.3. Nos Açores

Apesar das peculiaridades faunísticas e ecológicas do Arquipélago dos Açores, os estudos helmintofaunísticos de roedores na região são praticamente inexistentes, resumindo-se, na realidade, a apenas dois (Afonso-Roque, 1989; Casanova *et al.*, 1996). Tal cenário contraria aquele que sucede, por exemplo, nalgumas ilhas mediterrânicas, onde a oportunidade de explorar os isolados ecossistemas insulares tem sido intensamente explorada e foi recentemente alvo de revisão por Gouÿ de Bellocq *et al.* (2003) e Milazzo *et al.* (2003).

No estudo helmintológico de Afonso-Roque (1989) foi efectuado o levantamento da helmintofauna de várias espécies de mamíferos em São Miguel, nomeadamente de *R.*

norgegicus e *R. rattus*. No entanto, *M. musculus* não foi incluído nesta investigação, uma vez que só foram capturados 5 exemplares desta espécie.

Mais recentemente, Casanova *et al.* (1996) investigou com maior afinco a helmintofauna dos mamíferos silvestres açorianos. Examinou em concreto 52 exemplares de *M. musculus*, 51 de *R. rattus*, 19 de coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus*) e 9 de ouriço-cacheiro (*Erinaceus europaeus*). Entre *M. musculus*, apenas 11 provinham de São Miguel, pertencendo os restantes às ilhas Terceira (19 exemplares) e das Flores (22 exemplares). Para *M. musculus* em São Miguel foram reportadas as seguintes espécies helmintas: *Skrjabinocoelus* sp. (Trematoda); *Hymenolepis diminuta* (Cestoda); *Calodium hepaticum*, *Eucoleus gastricus*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Syphacia obvelata*, *Trichuris muris* (Nematoda), e uma outra espécie nemátode não identificada. É expectável que a riqueza de espécies helmintas de *M. musculus* em São Miguel seja superior à reportada por Casanova *et al.* (1996) baseada em apenas 11 exemplares. Isto porque, de acordo com Poulin & Morand (2000), estudos envolvendo hospedeiros vertebrados em que um número inferior a 40-50 indivíduos é examinado, pelo menos 1-2 espécies helmintas podem não ser detectadas. Em relação a São Miguel, a Terceira apresentou adicionalmente *Brachylaima* sp. (Trematoda); *Cladotaenia globifera* (larva), *Taenia taeniaeformis* (larva), *Rodentolepis microstoma* (Cestoda); *Aonchotheca annulosa*, *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda), estando no entanto ausentes *Skrjabinocoelus* sp., *Trichuris muris* e o nemátode não identificado. Já as Flores apresentou adicionalmente *Brachylaima* sp. (Trematoda); *Aonchotheca annulosa*, *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda); *Prosthorhynchus* sp. (Acanthocephala), estando ausentes *Skrjabinocoelus* sp., *Trichuris muris* e o nemátode não identificado.

1.3. OBJECTIVOS DO ESTUDO

Os principais objectivos deste estudo são, por conseguinte:

1. Contribuir para um melhor conhecimento das espécies que constituem a helmintofauna gastrointestinal de *M. musculus* na ilha de São Miguel, Açores;
2. Analisar os principais factores indutores de variação da diversidade da fauna helmintológica: sexo, idade, condição física dos hospedeiros, tempo (estações do ano) e espaço (habitat);
3. Investigar uma eventual associação entre dois tipos de parasitismo: helmintológico e bacteriológico (infecção por *Leptospira* sp.);
4. Avaliar *M. musculus* como um hospedeiro natural de infecções helmínticas zoonóticas com possíveis implicações na saúde pública humana e animal.

CAPÍTULO 2

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL BIOLÓGICO E ÁREA DE ESTUDO

O material biológico objecto de estudo, gentilmente cedido pelo Projecto de Investigação “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores”, foi constituído por um número total de 92 hospedeiros *M. musculus* procedentes de três habitats (floresta, pastagem e área peri-urbana) da ilha de São Miguel.

Como as relações que os helmintas estabelecem com o hospedeiro dependem em muito das características deste último, crê-se importante fazer uma breve descrição de determinados aspectos de *M. musculus*. Sempre que oportuno será feita referência a peculiaridades da espécie no Arquipélago dos Açores. A importância das características do habitat também não deve ser descorada, pelo que será feita uma breve caracterização dos três habitats considerados precedida por um enquadramento da ilha de São Miguel.

2.1.1. *Mus musculus* (Linnaeus, 1758)

Distribuição geográfica

M. musculus é uma das espécies de mamíferos de distribuição mais generalizada no planeta. A expansão deste roedor, em parte facilitada pelo homem, fez com que se encontre presente em todos os continentes e em diversas ilhas, desde as regiões temperadas, semi-desérticas e desérticas à região sub-Antártica (Berry & Scriven, 2005; Wanless *et al.*, 2007; Whitmer *et al.*, 2007).

Morfologia

Os ratos-caseiros são pequenos roedores que possuem uma longa cauda com 60-105 mm de comprimento, aproximadamente o mesmo que a soma dos comprimentos da cabeça e do corpo (65-95 mm). Apresentam um par de grandes olhos proeminentes, orelhas arredondadas e um focinho pontiagudo com longos bigodes. Os adultos pesam 12-30 g. A coloração da pelagem normalmente varia entre o castanho claro e o preto, a coloração da pele da barriga entre o branco, o castanho e o cinzento.

Devido ao isolamento geográfico, muitas espécies animais adaptaram-se ao ambiente singular das ilhas e, por isso, apresentam características próprias, como coloração, tamanho e forma, que as tornam únicas. Algumas chegam mesmo a ser consideradas subespécies distintas. Este fenómeno é comumente designado por “síndrome insular” (Adler & Levins, 1994). Em relação a *M. musculus* dos Açores (Figura

2.1), vários autores fazem referência à pigmentação mais escura de alguns espécimes (Mathias *et al.*, 1998). Mathias *et al.* (1998) e Collares-Pereira *et al.* (2007) no estudo das características morfológicas externas de *M. musculus* adultos dos Açores registaram um certo grau de dimorfismo sexual, com as fêmeas a apresentar maior comprimento da cabeça e corpo que os machos, enquanto estes últimos alcançaram maior valor de peso total.



Figura 2.1 – Fotografia de *M. musculus* capturado na ilha de São Miguel.

Ecologia

Os ratos do género *Mus* são animais por natureza nocturnos ou crepusculares (Boursot *et al.*, 1993, Witmer & Jojola, 2006). Podem ocorrer sob duas formas, comensal, em que dependem do ser humano para alimento e abrigo, e selvagem, vivendo de um modo semelhante aos outros roedores, longe das habitações humanas (Gray & Hurst, 1998; Berry & Scriven, 2005)

A alimentação dos animais comensais é determinada pela natureza do edifício que ocupam (Latham & Mason, 2004). Nos animais selvagens em habitats cultivados a alimentação é constituída basicamente por sementes. Em habitats não cultivados a alimentação é mais diversificada, incluindo para além de sementes outros tecidos vegetais como folhas, raízes, tecidos caulinares e frutos. A alimentação de origem animal é constituída principalmente por insectos, mas outros invertebrados e até tecidos de vertebrados podem ser incluídos (Bomford, 1987). Conseguem sobreviver sem água disponível para beber se os alimentos que ingerirem tiverem um conteúdo hídrico de pelo menos 15% (Latham & Mason, 2004).

Tal como outras espécies roedoras introduzidas, *M. musculus* adaptou-se rapidamente ao ambiente e aos recursos disponíveis nas ilhas (Adler & Levins, 1994). No arquipélago dos Açores, *M. musculus* é de ocorrência comum no interior de habitações humanas e noutros habitats influenciados pelo homem, assim como em muitos tipos diferentes de habitats naturais ou naturalizados, como florestas de criptoméria (*Cryptomeria japonica*), florestas autóctones Laurissilva e matas dominadas por silvas (*Rubus* sp.), hortênsias (*Hydrangea macrophylla*), fetos (*Pteridium aquilinum*) e urzes açoriana (*Erica azorica*) (Mathias *et al.*, 1998). Das três espécies de murídeos existentes nas ilhas açorianas, é a mais ubíqua e abundante (Collares-Pereira *et al.*, 1997; Amaral *et al.*, 2006; Cabral *et al.*, 2006; Quaresma *et al.*, 2006).

Ciclo de vida e reprodução

São animais que podem viver sozinhos ou em pares, mas geralmente vivem em grandes unidades familiares denominadas *demes* (Latham & Mason, 2004). A área utilizada por este grupo varia consoante a disponibilidade de alimento e a densidade populacional. São polígamos, com os machos dominantes a acasalar com várias fêmeas e vice-versa (Wright & Brown, 2000).

A performance reprodutora é afectada pela qualidade e abundância de alimento, pela temperatura e por factores sociais (Pryor & Bronson, 1981). Em populações comensais onde a quantidade de alimento disponível é relativamente constante, a reprodução geralmente ocorre durante todo o ano. Em contraste, populações selvagens por norma cessam a reprodução por aproximadamente 4 meses durante o Inverno (Pryor & Bronson, 1981; Bomford, 1987). De acordo com Collares-Pereira *et al.* (2007), a época de reprodução de *M. musculus* em São Miguel prolonga-se por todo o ano (só em Fevereiro não foram detectadas fêmeas gestantes), ainda que tenham constatado uma clara concentração da reprodução no Verão e início do Outono. Observaram ainda que a actividade sexual se distribui por todo o ano, com um pico entre o final da Primavera e o início do Outono, e que a espécie é menos abundante nos meses de Inverno.

Uma fêmea reprodutora em condições favoráveis tem aproximadamente 50 crias por ano em 6-8 ninhadas (Randall, 1999; Witmer & Jojola, 2006). O período gestacional dura 19-21 dias. As crias nascem completamente indefesas, cegas, surdas e sem pêlo. O seu primeiro ambiente é o ninho, que nos animais selvagens é subterrâneo (Berry, 1970). Com 3-4 semanas de idade, as crias começam a aventurar-se fora do ninho, com viagens exploratórias curtas e geralmente acompanhadas por um adulto (Berry, 1970; Randall, 1999). A maturidade sexual é atingida às 5-7 semanas de idade. No estado selvagem o período de vida normalmente não ultrapassa um ano (Witmer & Jojola, 2006).

2.1.2. Caracterização da ilha de São Miguel

Os Açores, oficialmente designados por Região Autónoma dos Açores, são um arquipélago português localizado no Atlântico Norte (Figura 2.2). O arquipélago é formado por nove ilhas principais que se distribuem por três grupos: o Ocidental (Flores e Corvo), o Central (Terceira, Graciosa, São Jorge, Pico e Faial) e o Oriental (São Miguel e Santa Maria). O Grupo Central encontra-se a cerca de 1 430 km do Continente Europeu (Portugal) e a mais de 3 900 km da América do Norte (Estados Unidos), distâncias que reflectem bem o isolamento e marcada insularidade geográfica da região. Foram, durante o longo período de navegação à vela, ponto de escala das viagens de retorno de África, Índia e América, tendo por isso grande importância geoestratégica que ainda mantêm na actualidade. O arquipélago ocupa uma área de 2 332,74 km². As ilhas apresentam dimensões muito desiguais, sendo São Miguel a maior (746,79 km²) e Corvo a mais pequena (17,12 km²). No seu conjunto, as ilhas contam com uma população de 241 763 habitantes, dos quais mais de metade (131 609 habitantes) vive em São Miguel (dados de 2001 – SREA, 2003).



Figura 2.2 – Mapa do arquipélago dos Açores.
(fonte: http://www.travel-in-portugal.com/images/azores_map.gif)

O arquipélago dos Açores situa-se na zona subtropical de anticlones do hemisfério Norte e o factor dominante das condições meteorológicas da região é o anticlone dos Açores (Soeiro de Brito, 1955). O clima das ilhas é oceânico e caracteriza-se por uma

amplitude térmica pouco acentuada, que não ultrapassa os 10°C, e elevadas precipitação e humidade (Borges, 1992; Miranda *et al.*, 2006). Em São Miguel, a temperatura média anual (1961-1990) varia entre 9°C no Pico da Vara (o ponto mais alto da ilha com 1 105 m) e 17°C junto à orla costeira. No Inverno e nos mesmos pontos (Pico da Vara e orla costeira), a média da temperatura mínima é de 4°C e 11°C, enquanto no Verão a média das temperaturas máximas é de 13°C e 23°C, respectivamente. Os meses de Outubro a Janeiro são os de maior precipitação na ilha, com o máximo em Janeiro, e os meses de Fevereiro e Abril os menos chuvosos. A humidade do ar é sempre elevada e constante (Soeiro de Brito, 1955).

De origem vulcânica, as ilhas localizam-se na região onde as placas litosféricas americana, euro-asiática e africana contactam. Devido a este facto, apresentam um cenário tectónico complexo, onde os fenómenos sísmicos e vulcânicos são comuns (Amaral *et al.*, 2006). A ilha de São Miguel, vista de longe surge formada no horizonte por duas áreas montanhosas de desigual tamanho, ligadas entre si por uma plataforma baixa crivada de pequenos picos, e mede 65 km de comprimento e 15 km de largura máxima e 8 km de largura mínima (Teixeira & Gonçalves, 1980).

Anteriormente à colonização portuguesa, as ilhas açorianas estavam revestidas por uma cobertura de árvores e arbustos de pequeno porte. Actualmente e apesar de alguns esforços de reflorestação, as florestas naturais não perturbadas, como as endémicas florestas Laurissilva, são raras e encontram-se confinadas a pequenas áreas do interior montanhoso. Além da completa transformação da cobertura vegetal pela acção do homem, foi ainda introduzido grande número de plantas de modo intencional (com fins comerciais ou ornamentais) ou simplesmente de forma accidental, que se disseminaram rapidamente e constituem hoje um elemento inseparável da paisagem açoriana (Soeiro de Brito, 1955; Martins, 1993).

Em comparação com as restantes ilhas da Macaronésia, os Açores apresentam uma diversidade faunística terrestre menor. Factores relacionados com a colonização insular, particularmente a grande distância aos continentes mais próximos, a pequena superfície, a idade relativamente jovem e a actividade vulcânica destrutiva das ilhas, são explicações plausíveis para esta maior pobreza específica (Borges & Oromí, 1991). Os únicos animais vertebrados terrestres nos Açores à chegada dos portugueses eram várias espécies de aves adaptadas às ilhas, como o milhafre (*Buteo buteo*) e a cagarra (*Calonectris diomedea*), e duas espécies de morcegos, o morcego-rato-grande (*Myotis myotis*) e o endémico morcego dos Açores (*Nyctalus azoreum*) (Fructuoso, 1978; Speakman & Webb, 1993). Nas suas actividades comerciais e exploratórias, o homem foi introduzindo os mamíferos em diversos momentos da colonização. A introdução iniciou-se com espécies necessárias à agricultura e pecuária, como bovinos e suínos para consumo. Ao longo do povoamento das ilhas, foram

2.1.3.2. Pastagem

A área de pastagem localizou-se na exploração da Associação dos Jovens Agricultores Micaelenses, zona das Arribanas, na freguesia dos Arrifes, a uma altitude de aproximadamente 250 m (Figura 2.4). Encontrava-se inserida numa exploração agropecuária, onde ocorre rotação de pastoreio e actividade de produção forrageira, estando presentes salas de ordenha, silos com alimentos concentrados e forragem produzida, estábulos de animais, armazéns, tanques e reservatórios de água, e outras construções com várias finalidades e actividades.



Figura 2.4 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat pastagem.

O coberto vegetal predominante era de porte herbáceo, com dominância de gramíneas. A vegetação arbustiva encontrava-se principalmente ao longo dos muros de pedra e a vegetação com porte arbóreo, no exterior da zona limite da área de pastagem. Em relação à fauna, a área de estudo caracteriza-se pela presença de aves selvagens, rãs nas zonas de encharcamento, lagartixas que habitam nos muros de pedra, ouriços-cacheiros e coelhos. Cavalos e gado bovino têm presença quotidiana na exploração (Quadro 1.1).

Quadro 1.1 – Composição da flora e fauna da área de pastagem em estudo, na ilha de São Miguel.

Flora	Estrato herbáceo	<i>Glyceria declinata</i> , <i>Lolium perenne</i> , <i>Trifolium repens</i> , <i>Rumex acetosella</i> sp., <i>Oxalis pes caprae</i>
	Estrato arbustivo	<i>Ruscus aculeatus</i> , <i>Hydrangea macrophylla</i> , <i>Rubus ulmifolius</i>
	Estrato arbóreo	<i>Platanus hybrida</i> , <i>Cryptomeria japonica</i>
Fauna	Anfíbios	<i>Rana perezi</i>
	Répteis	<i>Lacerta dugesii</i>
	Aves	<i>Passer domesticus</i> , <i>Turdus merula</i>
	Mamíferos	<i>Bos taurus</i> , <i>Equus caballus</i> , <i>Canis familiaris</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Erinaceus europaeus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Mus musculus</i>

2.1.3.1. Floresta

A área florestal escolhida para o estudo localizou-se no Parque Florestal de Recreio do Pinhal da Paz, na Freguesia de Fajã de Cima, a uma altitude de aproximadamente 270 m (Figura 2.5).



Figura 2.5 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat floresta.

O coberto vegetal predominante era de porte arbóreo, maioritariamente representado por uma plantação de criptomérias. Existiam também outras espécies de porte arbóreo e arbustivo, embora representadas em menor proporção, de origem espontânea e consideradas infestantes tal como as espécies vegetais de porte herbáceo existentes. Foi registada a presença de aves domésticas e exóticas, ouriços-cacheiros e coelhos, além da presença de gatos e cães domésticos (Quadro 1.2).

Quadro 1.2 – Composição da flora e fauna da área de floresta em estudo, na ilha de São Miguel.

Flora	Estrato arbóreo	<i>Cryptomeria japonica</i> , <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , <i>Picconia azorica</i> , <i>Myrica faya</i> , <i>Acacia melanoxylon</i> , <i>Araucaria angus</i> , <i>Quercus robur</i> , <i>Pinus pinea</i> , <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> , <i>Castanea sativa</i> , <i>Pittosporum undulatum</i>
	Estrato arbustivo	<i>Camellia japonica</i> , <i>Ilex azorica</i> , <i>Persea indica</i> , <i>Metrosideros excelsa</i>
	Estrato herbáceo	<i>Hedychium gardnerianum</i> , <i>Aloe vera</i> , <i>Pteridium aquilinum</i> , <i>Zantedeschia aethiopica</i>
Fauna	Aves	<i>Turdus merula</i> , <i>Erithacus rubecula</i> , <i>Pavo cristatus</i> , <i>Phasianus colchicus</i> , <i>Tadorno tadorna</i> , <i>Anas querquedula</i>
	Mamíferos	<i>Erinaceus europaeus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Canis familiaris</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Mus musculus</i>

2.1.3.3. Peri-urbana

A área peri-urbana localizou-se na zona de aterro sanitário, na área coberta da antiga lixeira, situada a Norte, no local do Pico das Murtas, freguesia de São Roque, a uma altitude de aproximadamente 200 m (Figura 2.6).



Figura 2.6 – Local de captura de roedores correspondente ao habitat peri-urbano.

Como parte das armadilhas foi colocada numa zona que corresponde à antiga lixeira, recentemente tapada e coberta com terra, enquanto outra parte abrangeu a zona do actual aterro sanitário, a comunidade vegetal nesta área é representativa do processo de colonização pelas espécies vegetais invasoras em fase juvenil de adaptação. Deste modo, apesar de actualmente apresentarem porte arbustivo, as espécies vegetais poderão a longo prazo adquirir porte arbóreo. O estrato herbáceo é também constituído por espécies invasoras infestantes. Algumas espécies de aves, lagartixas, cães, gatos e pequenos mamíferos compõem a fauna local (Quadro 1.3).

Quadro 1.3 – Composição da flora e fauna da área peri-urbana em estudo, na ilha de São Miguel.

Flora	Estrato arbustivo	<i>Picconia azorica</i> , <i>Myrica faya</i> , <i>Pittosporum undullatum</i> , <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Acacia melanoxylon</i> , <i>Laurus azorica</i> , <i>Persea indica</i> , <i>Rubus hochstetterorum</i>
	Estrato herbáceo	<i>Luzula purpureo splendens</i> , <i>Lolium perenne</i> , <i>Prunella vulgaris</i> , <i>Lantana camara</i> , <i>Avena barbata</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Mentha</i> sp.
Fauna	Répteis	<i>Lacerta dugesii</i>
	Aves	<i>Larus cachinnans</i> , <i>Coturnix coturnix</i>
	Mamíferos	<i>Canis familiaris</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i> , <i>Erinaceus europaeus</i> , <i>Mustela nivalis</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Mus musculus</i>

2.2. CAPTURA E OBSERVAÇÃO DOS HOSPEDEIROS

Uma vez que os animais do presente estudo foram facultados pelo Projecto de Investigação “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores”, a informação respeitante à amostragem, captura e necrópsia dos animais e registo de parâmetros climáticos foi em parte extraída do relatório resultante desse projecto.

2.2.1. Estratégia de amostragem

A estratégia de amostragem de *M. musculus* consistiu em capturas mensais, de Novembro de 2005 a Março de 2006, em cada um dos três habitats representativos da ilha de São Miguel. Foram realizadas durante quatro noites consecutivas. Para garantir uma homogénea distribuição das capturas, foram instaladas em cada área 100 armadilhas ao longo de 50 pontos (duas por ponto), distanciadas 10 m entre si e colocadas na proximidade de sítios de refúgio para maximizar a probabilidade de captura dos animais.

2.2.2. Captura dos hospedeiros

A amostragem de roedores baseou-se no método de captura-remoção. Para tal, foram utilizadas armadilhas para captura de animais vivos do tipo *Sherman*, iscadas com uma mistura de queijo e/ou sardinha em lata com sêmea de trigo e óleo vegetal.

As armadilhas *Sherman* utilizadas (modelo LFATDG: 8,0×9,0×23,0 cm e do modelo XLF15: 10,0×10,0×38,0 cm – Figura 2.7) são constituídas por placas de alumínio, com um sistema interior com alavanca que permite o fecho da armadilha após a entrada do animal. Permitem a captura de animais de pequenas dimensões, como *M. musculus*. Após a captura, o animal não tem interface com o meio exterior.

Todas as armadilhas foram observadas e recolocadas de forma operacional nas manhãs seguintes às noites de amostragem, com reposição de isco sempre que necessário. Os exemplares de *M. musculus* capturados foram acondicionados em caixas apropriadas e transportados vivos para o laboratório da Direcção de Serviços de Agricultura e Pecuária, em Ponta Delgada, onde foram eutanasiados e necropsiados.



Figura 2.7 – Armadilha *Sherman* utilizada para a captura de roedores.

2.2.3. Registo de parâmetros climáticos

Para registo das condições microclimáticas durante a captura, utilizaram-se um termo-higrómetro (modelo HOBO H08-032-08) e um pluviómetro (modelo *Data Logging Rain Gauge*-RG1-M), colocados mensalmente junto ao solo no local de estudo, desde o primeiro dia até ao final das quatro noites. No Anexo 1 estão registadas as variações dos valores médios mensais da temperatura do ar, da humidade relativa do ar e da pluviosidade durante o período de amostragem.

2.2.4. Processamento laboratorial dos hospedeiros

No laboratório em Ponta Delgada, os animais foram eutanasiados com éter e registaram-se as informações quanto ao estatuto reprodutor (pela observação das estruturas reprodutoras externas como o grau de desenvolvimento das mamas nas fêmeas e a dimensão e posição dos testículos nos machos) e quanto a vários parâmetros morfométricos (peso, comprimentos da cabeça e corpo, cauda, orelha e pata posterior).

Para realização das necrópsias, os exemplares foram distendidos e fixados à prancha de dissecação em posição decúbito-dorsal. A região ventral foi desinfectada com algodão embebido em betadine e com o auxílio de uma pinça e tesoura efectuou-se uma incisão na linha médio-ventral que permitiu aceder ao coração. A retoma da incisão permitiu a separação da camada epitelial superior e assim ter acesso aos órgãos internos. Retiraram-se os rins, com tesoura e pinça devidamente desinfectada em álcool a 70% e

chama de lamparina, e os restantes órgãos (coração, estômago, fígado, intestinos delgado e grosso e pulmões). Os rins foram colocados em sacos estéreis contendo 10 mL de BSAD (*bovine serum albumin digest*) para a detecção de *Leptospira* sp. por cultura de rins, segundo o protocolo da Unidade de Leptospirose e Borreliose de Lyme (ULBL) do Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), em Lisboa. Este protocolo foi desenvolvido no laboratório da referida unidade, por membros da equipa do Projecto de Investigação “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores”.

Todos os restantes órgãos recolhidos foram armazenados em sacos de plástico devidamente identificados (espécie e número do animal, data e local de captura), conservados a -20°C e enviados para o laboratório da Unidade de Helmintologia e Malacologia Médicas (UHMM) do IHMT, em Lisboa. Deste modo, os órgãos de 92 exemplares de *M. musculus* estudados qualitativamente (diversidade de helmintas) e quantitativamente (contagem de todos os parasitas) foram o coração, estômago, fígado, intestinos delgado e grosso e pulmões.

2.3. TÉCNICAS HELMINTOLÓGICAS

As técnicas helmintológicas englobam todos os processos que vão desde a extracção dos helmintas dos seus respectivos micro-habitats de parasitação até à sua identificação. O modo de preparação das soluções, reagentes e corantes utilizados está descrito no Anexo 2.

2.3.1. Extracção dos helmintas

Todo o processo de extracção dos helmintas foi realizado nos laboratórios da UHMM do IHMT. O método da preservação do material por congelação (método físico) não proporciona uma observação dos órgãos tão clara como no caso da observação e estudo em fresco e não evita possíveis migrações *post mortem* dos helmintas. Contudo, dada a distância geográfica entre o local de captura dos animais e o local da análise helmintológica dos seus órgãos, além do espaçamento temporal entre a realização dos mesmos, o congelamento foi a opção mais viável.

Uma vez que se encontravam congelados, o primeiro passo a ser executado foi, obviamente, a retirada dos órgãos dos respectivos sacos e a sua descongelação, imediatamente após a qual, se procedeu à análise individual dos órgãos de cada animal. Para tal, foi utilizado material cirúrgico elementar, como, entre outros, pinças, bisturis,

tesouras, agulhas cirúrgicas e pipetas de Pasteur. Os diferentes órgãos foram depositados em placas de Petri para se proceder à sua dissecação e observação. Para a manutenção do correcto estado de hidratação dos tecidos foi utilizado soro fisiológico a 0,9%, evitando-se assim a desidratação e posterior endurecimento dos tecidos que dificultaria a sua manipulação e que poderia levar à ruptura dos helmintas durante a sua extracção.

Para a análise intestinal, após a separação do intestino delgado do grosso, procedeu-se à libertação do conteúdo intestinal através da técnica clássica de incisão longitudinal ao longo das paredes dos intestinos. As mucosas foram então observadas cuidadosamente ao estereomicroscópio com o intuito de remover e contar os parasitas nelas fixados. O conteúdo intestinal foi lavado com soro fisiológico e após sedimentação foi sujeito a decantações sucessivas até a obtenção de um sobrenadante límpido e claro. O sedimento resultante foi também observado ao estereomicroscópio para remoção e contagem da totalidade dos parasitas.

O estômago também foi separado dos restantes órgãos. Através de uma incisão entre os dois esfíncteres, cárdia e piloro, libertou-se o conteúdo estomacal, que foi observado estereomicroscopicamente para a recolha e contagem dos parasitas. As paredes do estômago foram igualmente observadas.

Para a pesquisa de parasitas no coração, fígado e pulmões foram efectuadas, respectivamente, incisões a nível do miocárdio e das principais vias hepáticas e pulmonares. Para facilitar o seu manuseamento, os pulmões foram separados com o auxílio de duas pinças. Estes órgãos foram também examinados ao estereomicroscópio.

É de realçar que todas as incisões devem ser realizadas devagar e com extremo cuidado, de modo a evitar a destruição dos parasitas. A precaução deve ser acrescida nas incisões realizadas em órgãos como os intestinos onde a intensidade de parasitas é frequentemente elevada.

Todo este processo de extracção de helmintas é extremamente moroso, requerendo muita concentração e dedicação, especialmente durante a contagem dos espécimes. Em média, o processamento dos órgãos de um único hospedeiro *M. musculus* requer 2-3 horas, mas consoante a intensidade de infecção este valor pode facilmente ultrapassar as 4 horas. Na fotomicrografia realizada à lupa da Figura 2.8 estão representados mais de 700 espécimes *Nippostrongylus brasiliensis* extraídos de um único hospedeiro, ilustrando bem a dedicação exigida.

Os helmintas extraídos foram conservados em solução de formol (CH₂O) a 5%, guardados em tubos *Eppendorf* devidamente identificados com o respectivo número de identificação do animal e data da extracção, para posteriormente serem submetidos aos processos necessários ao seu estudo.

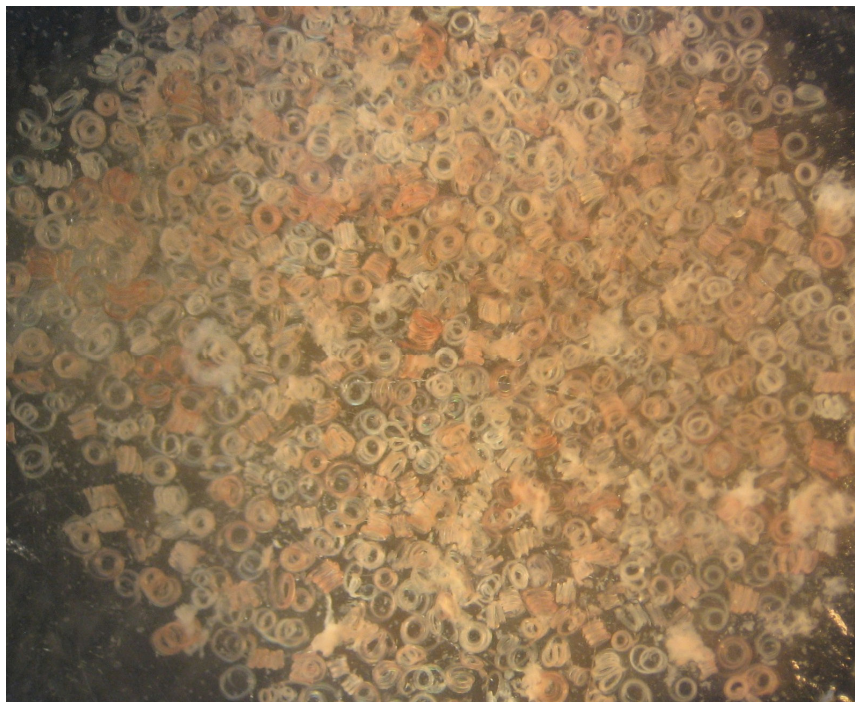


Figura 2.8 – Fotomicrografia de espécimes extraídos do intestino delgado de um único hospedeiro *M. musculus*.

2.3.2. Preparação e identificação dos helmintas

Após uma primeira fase de observação e identificação dos helmintas extraídos realizada na UHMM do IHMT, os espécimes foram transportados para a secção do Grupo de Vermes Parasitas (*Parasitic Worms Group*), do Departamento de Zoologia, do Museu de História Natural de Londres (*The Natural History Museum*) onde se procedeu à confirmação das espécies identificadas na UHMM e à identificação das restantes. O processo de preparação dos helmintas e subsequente identificação específica foi realizado de acordo com os protocolos e critérios implementados no referido museu (e a seguir descritos).

Uma vez extraídos dos órgãos do hospedeiro, os helmintas devem ser fixados. As técnicas de fixação diferem consoante o grupo de helmintas (tremátodes, céstodes, nemátodes ou acantocéfalos) e segundo o tipo de material com que nos deparamos, vivo ou previamente conservado. Este último é o caso dos helmintas do presente estudo, que foram conservados quimicamente em formol após a sua extracção do material mastozoológico, por sua vez conservado por congelação. Por se tratar de helmintas mortos, deve ser realizada uma fixação, que neste caso se denomina refixação.

Antes de qualquer procedimento, é importante assegurar que todos os espécimes estão conservados em álcool a 70 ou 80%. Os helmintas do presente estudo, como referido anteriormente, encontravam-se conservados em solução de formol a 5%, pelo que foi então

necessário lavar os espécimes várias vezes em água para remover a solução de formol e proceder à sua refixação colocando-os em álcool a 80% por aproximadamente 1 hora. A desvantagem da conservação em formol é o endurecimento dos parasitas, o que dificulta a clarificação e manipulação dos mesmos.

2.3.2.1. Preparação dos céstodes

No estudo dos céstodes é indispensável o uso de corantes específicos. A coloração, ao permitir a visualização da morfologia interna que de outro modo estaria difusa e pouco distinguível, possibilita a realização de um diagnóstico específico destes platelmintos. Deve ser seguida pela montagem que, no caso destes parasitas, é definitiva. É de salientar que, em todos os tempos de espera, os godés contendo alguma solução e parasitas foram sempre cobertos com placa de vidro para manter um ambiente húmido no seu interior.

O corante adoptado para a coloração dos céstodes foi o paracarmim de Mayer. Os céstodes foram colocados em godés contendo o corante por um período de tempo de aproximadamente 15 minutos (min). No entanto, este período variou entre 10 e 30 min, pois o tempo de coloração varia consoante o tamanho, espessura e condição do exemplar. Como o tempo de coloração pode variar não só entre espécies, mas também entre indivíduos da mesma espécie, os parasitas não foram corados todos de uma vez só, permitindo assim constatar o tempo mais adequado.

Após a coloração, os céstodes foram transferidos para álcool clorídrico a 50% para eliminar o excesso de coloração adquirido pelas estruturas internas. Esta fase corresponde à diferenciação, por isso é importante deixar os exemplares no álcool clorídrico até que a correcta diferenciação seja alcançada, i.e., até que se atinja uma coloração rosa pálida. Se o processo de diferenciação estiver a ocorrer demasiado lentamente, pode ser acelerado adicionando uma gota de ácido clorídrico (HCl) ao álcool clorídrico. Esta fase de duração variável deve ser controlada em estereomicroscópio.

Após a diferenciação, os exemplares foram desidratados numa série de álcoois de concentração crescente: 30%, 50%, 80% e 100%, permanecendo em cada concentração 10-15 min, mais uma vez consoante o seu tamanho. Deste modo também ocorreu a remoção dos restos de álcool clorídrico. Em vez da transferência para álcool absoluto (100%), os exemplares podem ser transferidos para álcool isopropílico (C₃H₈O) a 90%, onde também permanecem por 10-15 min.

O passo seguinte foi a clarificação dos exemplares em creosoto de faia. Devido à espessura reduzida dos céstodes, a imersão em creosoto leva aproximadamente 5 min.

Outros agentes clarificadores podem ser usados, como o óleo de cravo-da-índia, o óleo de cedro ou o lactofenol.

Após a clarificação, procedeu-se à montagem dos céstodes entre lâmina e lamela utilizando como meio de montagem bálsamo do Canadá, seguida de um período de secagem. Nalgumas situações foi necessário fragmentar os exemplares para conseguir uma boa extensão. Todas as lâminas foram devidamente identificadas. A montagem foi a última etapa da preparação dos céstodes, cujo resultado final foi a obtenção de preparações definitivas.

Esta metodologia pode ser seguida na maior parte dos casos. Contudo, alguns exemplares podem por vezes não estar correctamente clarificados ou começar a escurecer quando colocados em creosoto ou bálsamo do Canadá. Se este processo ocorrer, significa que a desidratação não foi completada apropriadamente e ar está presente. Num dos exemplares estudados proveniente do creosoto ocorreu escurecimento. Nestes casos, os exemplares devem ser imediatamente removidos da solução e colocados em álcool clorídrico a 50% se provenientes de creosoto, ou colocados em xileno, depois creosoto e então em álcool ácido a 50% se provenientes de bálsamo do Canadá. Outro método será usar álcool isopropílico a 90% em alternativa ao álcool absoluto na série de alcoóis e o benzoato de metilo ($C_8H_8O_2$) pode ser introduzido como passo intermédio, antes da transferência para o creosoto.

2.3.2.2. Preparação dos nemátodes

Normalmente os nemátodes não são sujeitos a nenhum processo de coloração. A sua clarificação é geralmente suficiente para a visualização das estruturas internas. Tal como para os céstodes, o creosoto de faia foi o agente clarificador utilizado. Neste processo, os nemátodes de maiores dimensões foram deixados em creosoto durante a noite para uma clarificação adequada. Para nemátodes de menores dimensões, 5 min em creosoto é suficiente.

Após a clarificação, procedeu-se à montagem dos nemátodes, intactos, entre lâmina e lamela utilizando como meio de montagem o creosoto, e foram observados directamente ao microscópio. Este tipo de preparação tem a vantagem de permitir a manipulação do exemplar durante a visualização ao microscópio, mas a desvantagem de ser temporário, não definitivo, pelo que é necessário recolher o exemplar após observação. Os exemplares foram então transferidos do creosoto para álcool clorídrico a 50% e posteriormente conservados novamente em álcool a 80%.

Devido à sua cutícula pouco espessa, os exemplares de *Syphacia obvelata* são muito frágeis e rebentam facilmente. Por esta razão, alguns exemplares foram destruídos durante o processo de montagem entre lâmina e lamela com creosoto. Assim, em alternativa ao creosoto, o gel de glicerina foi usado como agente clarificador e meio de montagem. Os exemplares foram transferidos do álcool a 80% onde se encontravam conservados para um godé contendo o gel de glicerina, tendo o cuidado de transportar a menor quantidade de álcool possível e de cobrir bem o godé com placa de vidro para evitar a secagem precoce do material. O tempo de clarificação foi de aproximadamente 10 min, um pouco mais demorado que o creosoto. Posteriormente procedeu-se à montagem entre lâmina e lamela dos exemplares com o gel de glicerina. A preparação resultante foi colocada em secador de lâminas para uma secagem mais rápida e eficiente. As bolhas de ar que surgiram devido a este processo foram removidas com o auxílio de uma agulha. Após o término da secagem, a lâmina foi selada com bálsamo do Canadá. Obteve-se assim uma preparação definitiva para estes exemplares de *S. obvelata*.

2.3.2.3. Identificação

O estudo da anatomia e morfologia de cada helminta foi efectuado por observação ao microscópio óptico, utilizando uma ocular micrométrica previamente calibrada para a realização das medições necessárias.

O registo fotográfico das espécies helmintas foi efectuado com recurso a máquina fotográfica digital Canon PowerShot A540 (resolução de 6.0 Megapixéis, zoom óptico de 4x, ecrã LCD de 2.5 Polegadas). As fotomicrografias realizadas ao microscópio foram analisadas com o programa de software *ImageJ* 1.42 (<http://rsb.info.nih.gov/ij>).

Todos os exemplares estudados foram devidamente identificados com espécie, hospedeiro e local de origem, e guardados na colecção parasitológica do Museu de História Natural de Londres, estando assim disponíveis a outros estudos.

2.4. Técnicas histológicas

Durante o processo de extracção de helmintas, os fígados que apresentavam sinais característicos de infecção por *Calodium hepaticum* foram separados e guardados em frascos contendo solução de formol a 5% para sua conservação. Três desses fígados escolhidos aleatoriamente foram transportados para o Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Pulido Valente, em Lisboa, onde foram submetidos a análise histológica. Para a

obtenção dos cortes histológicos, foram sujeitos a diversas etapas: fixação em solução de formol a 10%, desidratação em série de álcoois, diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina líquida, polimerização, corte em micrótomo (cortes de 5 µm de espessura), coloração por hematoxilina-eosina e montagem em bálsamo do Canadá.

2.5. Métodos de análise de dados

A metodologia adoptada para a interpretação dos resultados é tão importante quanto a correcta manipulação e estudo laboratorial do material biológico. Neste ponto será abordada a linha metodológica seguida para o tratamento dos dados obtidos, desde a terminologia adoptada à análise estatística empregue.

2.5.1. Conceitos ecológicos adoptados

Os termos e conceitos adoptados para a análise dos resultados estão de acordo com os sugeridos por Bush *et al.* (1997), habitualmente utilizados para descrever e caracterizar as populações e comunidades de parasitas:

- **prevalência:** número de hospedeiros infectados com um ou mais exemplares de uma determinada espécie parasita dividido pelo número total de hospedeiros estudados para essa espécie parasita;
- **intensidade:** número de exemplares de uma determinada espécie parasita presente num único hospedeiro, ou seja, corresponde ao número de indivíduos numa infrapopulação;
- **intensidade média:** média das intensidades de uma determinada espécie parasita entre uma população de hospedeiros por ela infectados, por outras palavras, número total de exemplares de uma determinada espécie parasita encontrado na amostra de hospedeiros estudados a dividir pelo número de hospedeiros infectados por essa espécie parasita;
- **intensidade máxima:** número máximo de exemplares de uma determinada espécie parasita num único hospedeiro da amostra estudada;
- **intensidade mínima:** número mínimo de exemplares de uma determinada espécie parasita num único hospedeiro da amostra estudada;
- **abundância:** número de exemplares de uma determinada espécie parasita presente num único hospedeiro independentemente de estar ou não infectado;

- **abundância média:** média das abundâncias de uma determinada espécie parasita entre todos os membros de uma população de hospedeiros, por outras palavras, número total de exemplares de uma determinada espécie parasita numa amostra de um determinado hospedeiro a dividir pelo número total de hospedeiros estudados (incluindo hospedeiros infectados e não infectados);
- **população:** compreende todos os indivíduos de uma espécie parasita singular num determinado local e num determinado espaço de tempo;
- **infrapopulação:** inclui todos os indivíduos de uma espécie parasita num único hospedeiro num determinado espaço de tempo;
- **comunidade:** refere-se a duas ou mais populações de diferentes espécies parasitas a coexistir num determinado local e num determinado espaço de tempo;
- **infracomunidade:** refere-se à comunidade de infrapopulações de parasitas num único hospedeiro.

2.5.2. Classificação das lesões hepáticas causadas por *C. hepaticum*

É impossível estimar a intensidade de infecção por *C. hepaticum* nos hospedeiros infectados, pois o número de parasitas desta espécie não pode ser contado directamente (Farhang-Azad, 1977a). Por outro lado, a contagem total dos ovos não deve ser usada como indicação da intensidade de infecção, porque a produção de ovos por fêmea é variável (Luttermoser, 1938a). A contagem directa das lesões provocadas pelos parasitas tem provado ser o melhor método para estimar a intensidade de infecção (Farhang-Azad, 1977a). O grau do envolvimento hepático em hospedeiros infectados foi classificado de acordo com Conlogue *et al.* (1979) em 3 graus de intensidade:

- Leve: discreto envolvimento dos bordos do fígado ou algumas lesões discretas e dispersas num único lóbulo hepático (infecção de intensidade 1);
- Moderado: lesões mais numerosas envolvendo menos de metade do fígado (infecção de intensidade 2);
- Grave: lesões envolvendo mais de metade do fígado (infecção de intensidade 3).

2.5.3. Valor de importância de Bush

O valor de importância de Bush (*I*) foi utilizado segundo Thul *et al.* (1985) para classificar as espécies de acordo com a sua importância relativa na comunidade helmíntica em quatro categorias:

- Dominante: espécie marcadamente característica da comunidade ($I \geq 1,0$);
- Codominante: espécie que contribui significativamente para a comunidade, mas em menor grau que as espécies dominantes ($0,01 \leq I < 1,0$);
- Subordinada: espécie de ocorrência pouco frequente que, apesar de se poder desenvolver e reproduzir no hospedeiro, não contribui significativamente para a comunidade ($0 < I < 0,01$);
- Pioneira mal sucedida: espécie que invadiu o hospedeiro, mas não matura nem se reproduz nele, contribuindo pouco para a comunidade e sendo característica de outra espécie hospedeira ($I = 0$).

O valor de importância foi calculado para cada espécie de acordo com a seguinte fórmula:

$$I = (M_j) \frac{A_j B_j}{\sum_{i=1}^S A_i B_i} \times 100 ,$$

onde A_j é o número de exemplares da espécie parasita j , B_j é o número de hospedeiros infectados com a espécie j , S é o número de espécies parasitas, e M_j é o factor de maturidade igual a 1,0 se for encontrado pelo menos um exemplar maduro da espécie j e igual a 0 se tal não for verificado.

2.5.4. Classificação do estatuto na comunidade

As espécies componentes das infracomunidades parasitárias foram classificadas consoante o seu estatuto na comunidade, de acordo com Bush & Holmes (1986), em:

- Central: espécie presente em mais de dois terços dos hospedeiros (Prevalência (%) $\geq 66,67$);
- Secundária: espécie presente em um a dois terços dos hospedeiros ($33,33 \leq$ Prevalência (%) $< 66,67$);
- Satélite: espécie presente em menos de um terço dos hospedeiros ($0 < \text{Prevalência} (\%) < 33,33$).

2.5.5. Índice de Simpson

O índice de Simpson (D) é um índice de dominância e reflecte a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na comunidade pertencerem à mesma espécie. O valor

do índice varia entre 0 e 1, e quanto mais elevado maior a dominância e menor a diversidade da comunidade. Foi calculado para determinar a concentração de dominância entre as espécies helmintas, assumida quando $D \geq 0,25$ (Stone & Pence, 1978), de acordo com a seguinte fórmula:

$$D = \sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)} \right),$$

onde n_i é o número de exemplares da espécie parasita i e N é o número total de exemplares de todas as espécies parasitas.

2.5.6. Padrão de dispersão das espécies helmintas

O índice de dispersão (ID) é uma medida para verificar se um conjunto de ocorrências observadas é relativamente agregado ou disperso comparando com um modelo estatístico. Valores do índice iguais a 1 indicam uma distribuição espacial aleatória (distribuição de Poisson), valores menores distribuição uniforme (distribuição binomial) e valores maiores distribuição agregada (distribuição binomial negativa) (Rabinovich, 1980 *in* Costa *et al.*, 2006). Foi calculado para determinar o padrão de distribuição de cada espécie helminta, de acordo com a seguinte fórmula:

$$ID = \frac{s^2}{\bar{x}},$$

onde s^2 é a variância amostral e \bar{x} é a abundância parasitária média.

2.5.7. Grau de dispersão das espécies helmintas

O grau de superdispersão da agregação de cada espécie helminta foi obtido pelo cálculo do parâmetro k da binomial negativa (Costa *et al.*, 2006) e pelo índice de Green (GI) (Ludwig & Reynolds, 1988).

A estimativa dos valores de k foi feita pelo método dos momentos ($s^2 > \bar{x}$, $k > 0$), de acordo com a seguinte fórmula:

$$k = \frac{\bar{x}^2}{s^2 - \bar{x}}.$$

Quando os valores estimados são negativos indicam uma distribuição uniforme, quando são baixos e positivos ($k < 2$) indicam uma distribuição altamente agregada, quando variam entre 2 e 8 indicam uma agregação moderada e valores superiores a 8 ($k > 8$) indicam uma distribuição aleatória.

O índice de Green foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$GI = \frac{(s^2 / \bar{x}^2) - 1}{n_i - 1} .$$

Quando os valores do índice são negativos indicam uma distribuição uniforme e quando são positivos indicam uma distribuição agregada.

2.5.8. Índice de Shannon

O índice de Shannon (H') mede o grau de incerteza associado à previsão da espécie a que um indivíduo escolhido ao acaso de uma amostra com um determinado número de espécies e indivíduos pertencerá. Quanto menor o valor do índice, menor o grau de incerteza e a diversidade da amostra. De modo inverso, quanto maior o valor do índice mais elevada tenderá a ser diversidade. Foi portanto calculado para a estimativa da diversidade de espécies helmintas, de acordo com a seguinte fórmula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left[\left(\frac{n_i}{N} \right) \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \right] .$$

2.5.9. Índice de equidade de Pielou

O índice de equidade de Pielou (J') mede o grau de uniformidade da distribuição da abundância entre as espécies que constituem uma comunidade. O valor do índice varia entre 0 e 1, onde 1 representa uma comunidade com uma uniformidade perfeita, que pode decrescer até 0 à medida que a abundância relativa das espécies diverge da uniformidade. Foi calculado para a estimativa da similaridade helmintofaunística, de acordo com a seguinte fórmula:

$$J' = \frac{H'}{\ln(S)} .$$

2.5.10. Análise estatística

A análise estatística inclui apenas as espécies helmintas com prevalência superior a 10% (Bush *et al.*, 1990) na amostra total constituída pelos 92 hospedeiros estudados. Optou-se ainda por incluir *M. muris* na análise estatística, uma vez que o valor de prevalência deste nemátode (9,78%) é apenas ligeiramente inferior ao estipulado. O nível de significância adoptado foi de $p \leq 0,05$. O programa de análise estatística utilizado foi o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 17.0.

2.5.10.1. Determinação de associações interespecíficas

As possíveis associações interespecíficas entre os pares de espécies co-ocorrentes foram determinadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2), usando a correcção de Yates, enquanto as possíveis correlações entre abundâncias de espécies que formam associações foram analisadas pelo teste de correlação por postos de Spearman (r_s) (Machado *et al.*, 1996). O grau de associação foi determinado pelos índices de Ochiai (*OI*), Dice (*DI*) e Jaccard (*JI*) (Ludwig & Reynolds, 1988). O valor destes índices varia entre 0, indicando ausência total de associação entre as espécies, e 1, indicando associação completa. Foram calculados, respectivamente, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$OI = \frac{a}{\sqrt{a+b}\sqrt{a+c}} \quad , \quad DI = \frac{2a}{2a+b+c} \quad , \quad JI = \frac{a}{a+b+c} \quad ,$$

onde *a* é o número total de hospedeiros em que as espécies A e B co-ocorrem, *b* é o número total de hospedeiros em que A ocorre sem B, e *c* é o número total de hospedeiros em que B ocorre sem A.

2.5.10.2. Influência do sexo, da idade e da infecção por *Leptospira* sp.

A influência do sexo e idade do hospedeiro e da positividade para *Leptospira* sp. na intensidade e na prevalência de infecção de cada espécie helminta foi testada pelo teste t-student (*t*), com prévia normalização por transformação logarítmica ($\log[x]$) dos dados de intensidade, e pelo teste do qui-quadrado (χ^2), respectivamente (Silva *et al.*, 2000; Rózsa *et al.*, 2000). A influência dos referidos factores na intensidade de infecção por *C. hepaticum* foi analisada pelo teste *U* de Mann-Whitney, devido à não normalização dos dados de intensidade deste helminta.

2.5.10.3. Influência na condição física do hospedeiro

Para determinar possíveis correlações entre a condição física do hospedeiro e a abundância parasitária, foi utilizado o teste de correlação por postos de Spearman (r_s), com prévia aplicação do teste t-student para verificar a existência de diferenças significativas entre os sexos e entre os dois grupos etários considerados (Dias *et al.*, 2004). O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi utilizado para determinar a possível correlação entre a condição física e a prevalência de infecção, com prévia transformação angular ($\arcsen[\sqrt{x}]$) dos dados de prevalência (Zar, 1996).

O índice de condição física utilizado foi o de Davis & Hall (1951), previamente usado para *R. norvegicus* (Moors, 1985). Foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$C = \frac{W}{HBL^3} \times 10^5 ,$$

onde W é o peso (g) e HBL é o comprimento da cabeça e corpo (mm).

2.5.10.4. Influência do habitat e da época de captura do hospedeiro

A influência do habitat e da época de captura do hospedeiro na intensidade e na prevalência de infecção de cada espécie helminta foi testada pela análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, com prévia normalização por transformação logarítmica ($\log[x]$) dos dados de intensidade, e pelo teste do qui-quadrado (χ^2), respectivamente (Rózsa *et al.*, 2000). A influência dos referidos factores na intensidade de infecção por *C. hepaticum* foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis, devido à não normalização dos dados de intensidade deste helminta.

CAPÍTULO 3

APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

3.1. COMPOSIÇÃO DA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

3.1.1. Composição qualitativa

Na amostra constituída por 92 exemplares de *M. musculus* da ilha açoriana de São Miguel, foram identificadas um total de 12 espécies helmintas, 3 das quais pertencentes à Classe Cestoda e 9 ao Filo Nematoda:

Classe Cestoda

Cysticercus fasciolaris forma larvar de *Taenia taeniaeformis*
Hymenolepis diminuta
Rodentolepis nana

Filo Nematoda

Aonchotheca annulosa
Calodium hepaticum
Eucoleus gastricus
Gongylonema neoplasticum
Heterakis spumosa
Mastophorus muris
Nippostrongylus brasiliensis
Syphacia obvelata
Trichuris muris

Seguidamente será apresentado o estudo e a revisão dos conhecimentos actuais de cada uma destas espécies, dando especial ênfase à morfologia dos espécimes extraídos e a outros aspectos gerais das espécies helmintas, nomeadamente grupos de hospedeiros, biogeografia, ciclo de vida e potencial zoonótico. A análise morfométrica apresentada foi restrita às características consideradas mais importantes, como as dimensões corporais totais ou as dimensões de determinada peculiaridade da espécie. É de salientar que, tal como notado por Bajer *et al.* (2005), após um período de intensos estudos descritivos das espécies helmintas, a investigação científica está actualmente mais focada no estudo da estrutura das suas comunidades e nos factores que as regulam. Não obstante, optou-se por mencionar as dimensões de determinadas características que nos permitem obter uma visão global de cada espécie.

A classificação das espécies helmintas foi realizada a partir de várias obras de referência. Entre outros, são de destacar os trabalhos de Skrjabin *et al.* (1949), Skrjabin *et al.* (1954), Skrjabin *et al.* (1957), Skrjabin *et al.* (1960), Skrjabin *et al.* (1961), Skrjabin *et al.* (1967), Wertheim (1962), Anderson *et al.* (1974) para os nemátodes, e de Joyeux & Baer (1936), Brumpt (1949), Abuladze (1964) para os céstodes. No Anexo 3 encontra-se esquematizada a classificação desde o nível de Superfamília de cada espécie helminta detectada em *M. musculus* de São Miguel. Chama-se a atenção para o facto de as espécies helmintas apresentarem várias sinonímias para género e espécie. Neste estudo, foi adoptada para determinada espécie a sinonímia mais consensual e utilizada pelos especialistas da actualidade.

Por último, espera-se que a revisão bibliográfica e as fotomicrografias apresentadas sejam uma contribuição importante para futuros estudos helmintológicos em Portugal, onde são evidentes as lacunas de informação na área da parasitologia de roedores.

CLASSE CESTODA

CYSTICERCUS FASCIOLARIS (RUDOLPHI, 1808), FORMA LARVAR DE TAENIA TAENIAEFORMIS (BATSCH, 1786) WOLFFÜGEL, 1911¹

Morfologia

M. musculus é um hospedeiro intermediário de *T. taeniaeformis*. Como tal, nesta espécie de roedor apenas foram encontradas, no fígado, as formas larvares deste céstode, *C. fasciolaris*. As formas adultas apenas são encontradas nos intestinos dos hospedeiros definitivos, usualmente os gatos.

A forma larvar de *T. taeniaeformis* é encontrada enquistada no tecido hepático do hospedeiro intermediário (Figura 3.2). Este metacestode é um estrobilocerco que se encontra protegido no interior de uma vesícula desenvolvida, de coloração amarelada, cheia de um líquido hialino e que atinge 9 mm de diâmetro. A aparência externa da larva é semelhante à da forma adulta (Figura 3.1), mas nunca alcança a maturidade sexual no roedor. O corpo apresenta uma coloração esbranquiçada e é constituído por um escólex armado e um estróbilo longo e segmentado. Este último mediu em média 5,15 cm de comprimento, apresentando largura variável com a porção anterior mais larga que a posterior. Formas larvares alcançando 30 cm já foram registadas (Cordero-del-Campillo & Rojo-Vázquez, 1999). No escólex observam-se quatro ventosas e uma dupla coroa de ganchos (Figura 3.3). O número total de ganchos é de 30-40, com os da coroa anterior a medir 210,9 µm de comprimento e os da coroa posterior 161,7 µm. Apenas foi encontrada uma forma larvar por hospedeiro infectado.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

T. taeniaeformis é um céstode característico de gatos e outros carnívoros que usa várias espécies de roedores como hospedeiros intermediários (Quadro 3.1) e se caracteriza por uma distribuição geográfica cosmopolita, que se sobrepõe à distribuição do gato doméstico (Al-Jashamy & Islam, 2007).

¹ Nota sistemática: o metacestode completamente desenvolvido da família Taeniidae consiste numa vesícula cheia de líquido em cujo interior ocorre um ou mais escólices. Até metade do séc. XIX, a relação entre estas vesículas e os vermes adultos não era conhecida. Assim, as vesículas foram descritas e nomeadas como espécies distintas e colocados no actualmente extinto Filo Cystica. As respectivas formas adultas receberam nomes não relacionados e foram colocadas no igualmente extinto Filo Vermes. Curiosamente, a confusão resultante tem sido preservada até à actualidade pela manutenção da nomenclatura binomial (Georgi, 1980). Por exemplo, e em relação à espécie em estudo, o termo *Cysticercus fasciolaris* ainda é amplamente utilizado para identificar a forma larvar de *Taenia taeniaeformis*, a forma adulta.

Quadro 3.1 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de *T. taeniaeformis*.

Hospedeiros	Ordem	Espécies
Definitivos	Carnívoros	<i>Acinonyx jubatus</i> , <i>Canis aureus</i> , <i>C. familiaris</i> , <i>Caracal caracal</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Felis</i> sp., <i>Genetta genetta</i> , <i>Lynx pardinus</i> , <i>Martes foina</i> , <i>M. martes</i> , <i>Mellivora capensis</i> , <i>Mustela erminea</i> , <i>Panthera</i> sp., <i>Viverra zibetha</i> , <i>Vulpes vulpes</i>
Intermediários	Roedores	<i>Apodemus argenteus</i> , <i>A. speciosus</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Arvicola terrestris</i> , <i>Bandicota bengalensis</i> , <i>Clethrionomys glareolus</i> , <i>Microtus agrestis</i> , <i>M. arvalis</i> , <i>M. pennsylvanicus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Neotoma floridana</i> , <i>Ondatra zibethica</i> , <i>Procyon lotor</i> , <i>Rattus lutreolus</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>R. tiomanicus</i> , <i>Sciurus carolinensis</i> , <i>S. niger</i> , <i>Sigmodon hispidus</i>
	Lagomorfos	<i>Lepus americanus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i>

Referências: Harkema, 1936; Mahon, 1954; Gallati, 1956; Abuladze, 1964; Ishimoto, 1974; Krishnasamy *et al.*, 1980; Taylor & Calaby, 1988; Founta *et al.*, 1994; Hasegawa *et al.*, 1994; Behnke *et al.*, 1998; Calvete *et al.*, 1998; Torres *et al.*, 1998; Bomfim, 2001; Ito & Itagaki, 2003; Matoba *et al.*, 2003; Pétavy *et al.*, 2003; Eira *et al.*, 2006; Irizarry-Rovira *et al.*, 2007; Singla *et al.*, 2009.

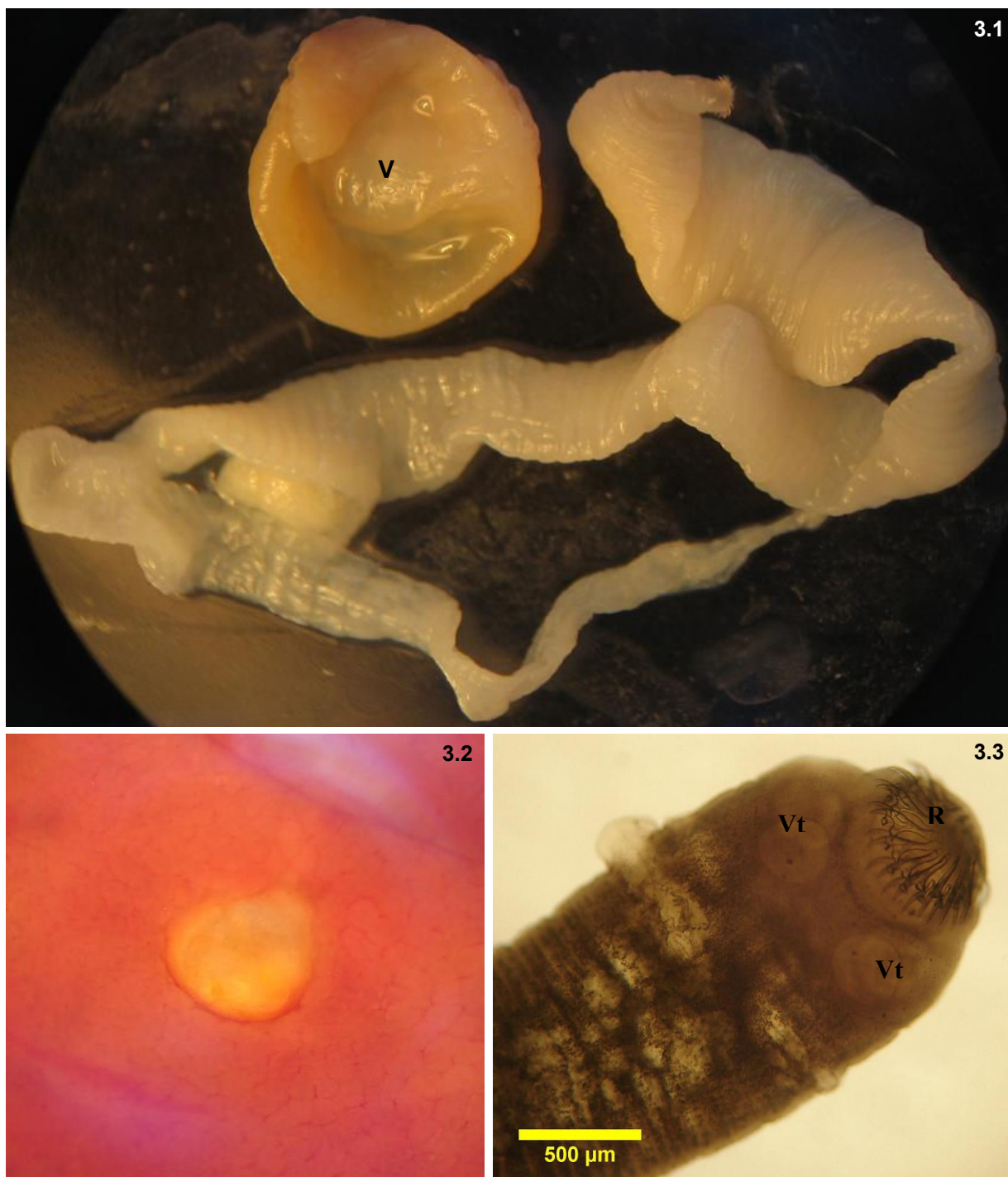
Ciclo de vida

O ciclo de vida de *T. taeniaeformis* é indirecto, com o gato como hospedeiro definitivo principal e diversas espécies de roedores como hospedeiro intermediário. Após a ingestão por parte do roedor de alimento ou água contaminada com fezes do hospedeiro definitivo infectado, a membrana externa dos ovos ingeridos é dissolvida pelos sucos gástricos e a oncosfera ou embrião hexacanto é libertada no intestino delgado. Posteriormente, a oncosfera penetra a parede intestinal e é transportada pela corrente sanguínea até ao fígado em cujos capilares fica alojada. Após 6 dias, uma larva pode ser encontrada no interior de uma pequena vesícula enquistada na superfície do fígado. As paredes da vesícula são formadas pela proliferação do tecido conjuntivo do roedor. São necessários cerca de 2 meses para a larva se transformar num estrobilocerco infectante completamente desenvolvido. Quando o hospedeiro definitivo ingere o fígado do roedor infectado, a digestão da vesícula liberta a larva que depois se fixa à parede intestinal. Esta atinge a maturidade em 35-42 dias, período em que os primeiros ovos começam a surgir nas fezes. No total, são necessários pelo menos 250 dias para o ciclo de vida se completar, e a patência pode durar 7-34 meses (Salisbury & Anderson, 1939; Gallati, 1956; Singh & Rao, 1965; Williams & Sheareer, 1981).

Potencial zoonótico

Apenas há registo de um caso humano de infecção por *C. fasciolaris*, a forma larvar de *T. taeniaeformis*. Este caso foi diagnosticado durante a autópsia de um homem de 77 anos que apresentava numerosos quistos no fígado, e que terá falecido por causas alheias à infecção (Stěrba & Barus, 1976).

Alguns casos humanos esporádicos de parasitismo pela forma adulta, *T. taeniaeformis*, têm sido registados, nomeadamente na Argentina, ex-Checoslováquia, Dinamarca, Taiwan e Sri Lanka (Al-Jashamy & Islam, 2007). Nestes casos, foram recuperadas formas adultas de intestinos humanos. O modo de como estes pacientes foram infectados não é inteiramente conhecido. Nos casos em que um único verme foi removido, é possível que o verme adulto tenha sido consumido pelos pacientes após o verme ter passado pelas fezes de um gato. Nos casos em que vários vermes foram removidos, os pacientes deverão ter ingerido tecidos de coelho ou roedores infectados pelo estado larvar (Bowman *et al.*, 2002).



Figuras 3.1-3.3 – Fotomicrografias de *C. fasciolaris* (forma larvar de *T. taeniaeformis*). **3.1** – Aspecto morfológico geral da larva e da vesícula (V) na qual ocorre inclusão. **3.2** – Vesícula enquistada no fígado. **3.3** – Escólex mostrando as quatro ventosas (Vt) e o rostelo (R) armado com uma dupla coroa de ganchos.

***HYMENOLEPIS DIMINUTA* (RUDOLPHI, 1819) BLANCHARD, 1891**

Morfologia

Tal como os restantes céstodes, o corpo de *Hymenolepis diminuta* tem a forma de uma longa fita segmentada, estando revestido por um tegumento e dividido em escólex, pescoço e estróbilo. O estróbilo divide-se, por sua vez, em centenas de proglótides. As proglótides são consideradas jovens ou imaturas quando a sua estrutura reprodutora está ainda resumida ao poro genital unilateral e a um esboço do útero. As proglótides sexuadas e maduras já são hermafroditas, apresentando estruturas masculinas (três testículos ovóides) e femininas (útero e ovário) (Figura 3.5). O aparelho reprodutor masculino é o primeiro a ser formado e vai atrofiando à medida que o feminino se desenvolve. O aparelho reprodutor feminino também acaba por regredir ao dar lugar a um útero repleto de ovos que ocupa quase por completo o interior da proglótide (Figura 3.6). As proglótides neste estágio de desenvolvimento são denominadas de proglótides grávidas. A cabeça é pequena e arredondada, provida de quatro pequenas ventosas e de um rostelo, piriforme e desarmado (desprovido de ganchos), que se encontra geralmente retraído ou invaginado numa cavidade anterior (Figura 3.4).

Os estróbilos extraídos intactos do intestino delgado de *M. musculus* mediram em média 13,4 cm de comprimento. Há referências na literatura de estróbilos que atingiram 1 m, mas normalmente o seu comprimento médio situa-se nos 20-60 cm (Faust, 1949), consoante o tipo de hospedeiro (Read & Vogé, 1954). Aumentam gradualmente em largura desde a zona do pescoço até à porção final do estróbilo. Uma análise mais atenciosa revela-nos que este aumento gradual se deve ao facto de as proglótides serem sucessivamente maiores, estando as imaturas, e por isso mais pequenas, mais próximas do escólex e as grávidas, maiores e repletas de ovos, mais afastadas. As proglótides terminais são as maiores e alcançam 1,9 mm de comprimento e 0,325 mm de largura. As proglótides grávidas desprendem-se do estróbilo, são parcialmente digeridas e os ovos são libertados no lúmen do intestino. Estes ovos de forma oval medem em média 64,8 µm de comprimento e 57,6 µm de largura. São hialinos, mas apresentam uma coloração castanha-amarelada em resultado da absorção de pigmentos biliares. A oncosfera apresenta uma membrana interna desprovida de filamentos polares, apesar de possuir um espessamento em cada pólo. No seu interior ocorrem três pares de ganchos lanceolados (Figura 3.7).

Hospedeiros & Distribuição geográfica

H. diminuta é o céstode mais frequentemente encontrado em *Rattus* sp., o hospedeiro e reservatório natural, mas *M. musculus* e outros mamíferos, incluindo o homem, podem igualmente ser infectados por este parasita. Diversas espécies de artrópodes coprófagos actuam como hospedeiros intermediários (Quadro 3.2). É um parasita de distribuição cosmopolita que tem sido encontrado em todas as regiões do mundo.

Quadro 3.2 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de *H. diminuta*.

Hospedeiros	Ordem	Espécies
Definitivos	Roedores	<i>Apodemus speciosus</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Citellus tridecemlineatus</i> , <i>Geomys bursarius</i> , <i>Grammomys surdaster</i> , <i>Mogera kobeae</i> , <i>M. wogura</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Praomys jacksoni</i> , <i>Rattus exulans</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Sciurus carolinensis</i>
	Carnívoros	<i>Felis catus</i>
Intermediários	Lepidópteros	<i>Aglossa dimidiata</i> , <i>Aphornia gularis</i> , <i>Pyralis farinalis</i> , <i>Tinea granella</i> , <i>T. pellionella</i>
	Dermápteros	<i>Fontaria virginiensis</i> , <i>Julus</i> sp.
	Sifonápteros	<i>Ceratophyllus fasciatus</i> , <i>Ctenocephalides canis</i> , <i>Ctenopsyllus segnis</i> , <i>Nosopsyllus fasciatus</i> , <i>Orchopeas wickhami</i> , <i>Pulex irritans</i> , <i>Xenopsylla cheopis</i>
	Coleópteros	<i>Akis spinosa</i> , <i>Aphodius distinctus</i> , <i>Dermestes peruvianus</i> , <i>Dyscinetus gagates</i> , <i>D. vulpinus</i> , <i>Geotrupes stercorosus</i> , <i>Scaurus striatus</i> , <i>Stegobium paniceum</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Tribolium castaneum</i> , <i>T. confusum</i> , <i>T. obscurus</i> , <i>Ulosonia parvicornis</i>
	Blatídeos	<i>Blatta orientalis</i> , <i>Blattella germanica</i> , <i>Periplaneta americana</i>
	Ortópteros	<i>Amblycorypha</i> sp., <i>Melanoplus femurrubrum</i> , <i>Schistocerca gregaria</i>

Referências: Riley & Shannon, 1922; Oldham, 1931; Faust, 1949; Hansen, 1950; Bacigalupo, 1951; Wardle & McLeod, 1952; Burnham, 1953; Heyneman & Voge, 1971; Lethbridge, 1971; Joseph, 1974; Heicher & Gallati, 1978; Yokohata *et al.*, 1989; Roberts *et al.*, 1992; Yokobori *et al.*, 1993; Founta *et al.*, 1994; Sohn & Chai, 2005.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *H. diminuta* é indirecto com um insecto como hospedeiro intermediário. Após ingestão de fezes de um hospedeiro infectado, as oncosferas contidas nos ovos são libertadas, eclodem no tracto digestivo dos insectos e pela acção mecânica dos ganchos penetram a parede intestinal e alcançam o hemocélio onde se transformam em larvas cisticercóides (a fase infectiva para os mamíferos). Com a ingestão do insecto infectado pelo hospedeiro definitivo, normalmente um roedor, a larva cisticercóide é libertada, fixa-se à parede intestinal e prossegue o seu desenvolvimento até ao estado adulto. Novas proglótides estão constantemente a ser produzidas pela linha celular germinativa localizada posteriormente ao escoléx. Estas proglótides começam a produzir os seus primeiros ovos em cerca de 9 dias após a sua formação (Faust, 1949; Kearn, 1998). Em roedores, especialmente quando a infecção é produzida por apenas alguns

especímenes, os parasitas podem viver tanto quanto o tempo de vida do hospedeiro (Read, 1967).

Potencial zoonótico

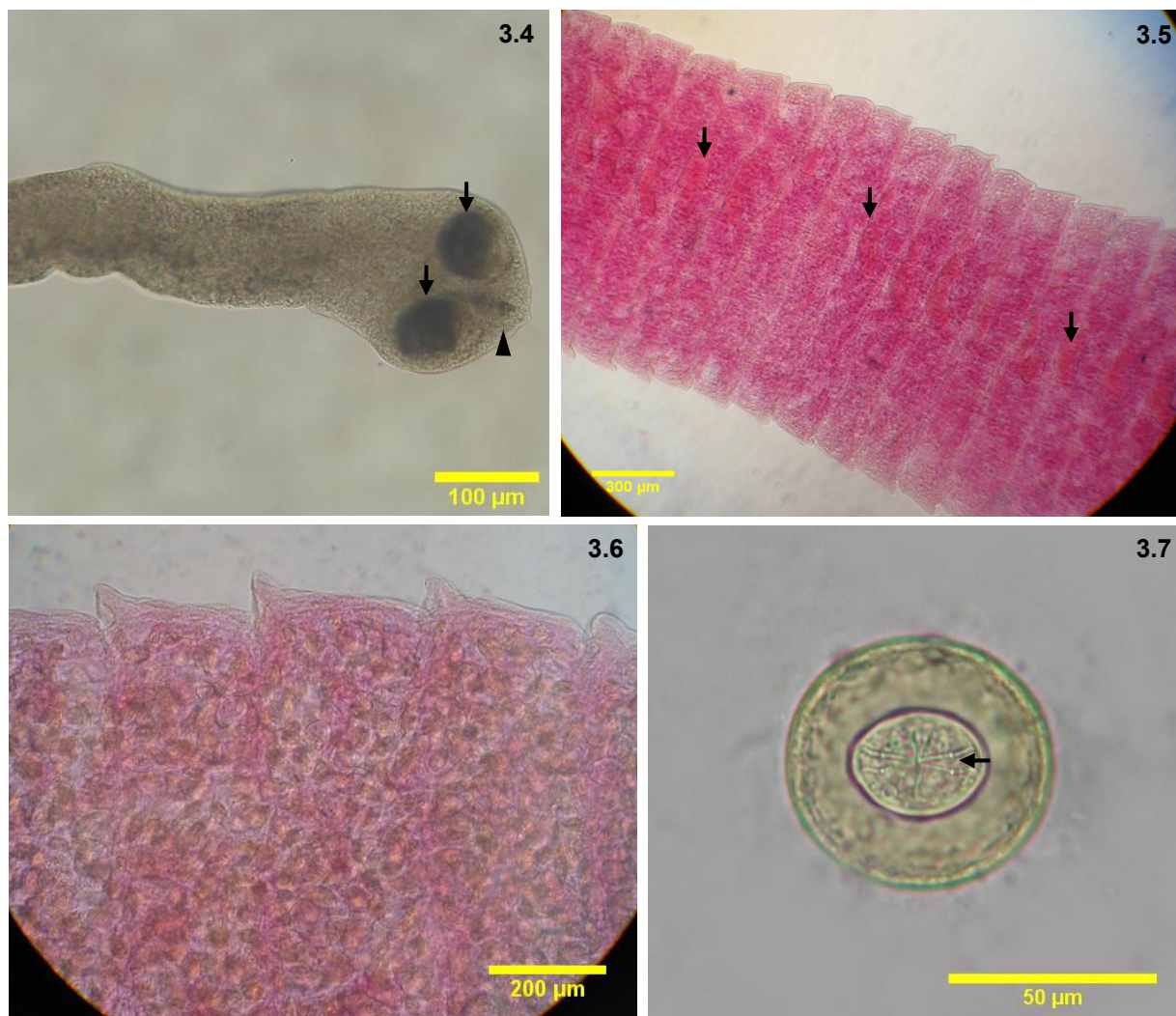
A himenolepíase humana causada por *H. diminuta* é uma infecção rara, com cerca de 500 casos humanos diagnosticados a nível mundial (Wiwanitkit, 2004). No entanto, uma vez que várias espécies de roedores comensais são portadoras da infecção, é provável que o número real de casos humanos seja muito superior. A transmissão do parasita ao homem, geralmente crianças (Marangi *et al.*, 2003), ocorre acidentalmente através da ingestão de um insecto hospedeiro infectado com larvas cisticercóides.

Sintomatologia

A himenolepíase humana é geralmente assintomática, mas dor abdominal, prurido, tonturas, indigestão, diarreia, perda de peso e eosinofilia têm sido registados (Marangi *et al.*, 2003; Kunwar *et al.*, 2005; Watwe & Dardi, 2008).

Diagnóstico & Tratamento

O diagnóstico é realizado pela identificação microscópica dos ovos mediante análise coprológica. Os ovos podem ser diferenciados dos de *Rodentolepis nana* pelo seu maior tamanho e pela ausência dos filamentos polares na membrana interna (Andreassen, 1998). A droga de eleição para o tratamento de himenolepíase humana é o praziquantel (Marangi *et al.*, 2003; Mowlavi *et al.*, 2008). Outras drogas como a niclosamida também têm-se revelado eficazes (Tena *et al.*, 1998; Marangi *et al.*, 2003).



Figuras 3.4-3.7 – Fotomicrografias de *H. diminuta*. **3.4** – Escólex mostrando as ventosas (setas) e o rostelo desarmado (cabeça de seta) retraído numa cavidade interior. **3.5** – Porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides maduras, apresentando os órgãos reprodutores corados (setas). **3.6** – Secção de uma porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides grávidas, em cujo interior ocorre o útero repleto de ovos. **3.7** – Ovo apresentando a coloração amarelada característica e três pares de ganchos lanceolados (seta).

RODENTOLEPIS NANA (VON SIEBOLD, 1852) SPASSKII, 1954²

Morfologia

Apesar de menores dimensões, o corpo de *R. nana* é em forma e constituição muito semelhante ao de *H. diminuta*. A cabeça é romboidal, provida de quatro ventosas hemisféricas (Figura 3.8) e de um rostelo armado com uma coroa de 22-26 ganchos em forma de “Y” com 10,8 µm de comprimento (Figura 3.9). O pescoço é alongado e delgado. O comprimento dos estróbilos extraídos do intestino delgado de *M. musculus* em São Miguel foi em média de 45,7 mm. Às proglótides mais próximas do escólex, imaturas e mais pequenas, vão-se sucedendo proglótides progressivamente mais maduras, de comprimento e larguras maiores. Estas últimas alcançam 0,844 mm de comprimento e 0,155 mm de largura. Cada proglótide madura (Figura 3.10) possui um poro genital unilateral e três testículos que formam um triângulo alongado separado pelos ovários. Cada proglótide grávida possui um útero cheio de ovos. Estes ovos são de forma oval ou quase esférica e quase transparentes (Figura 3.11), medindo em média 53,1 µm de comprimento e 37,8 µm de largura. A membrana da oncosfera possui um espessamento em cada pólo dos quais partem 4 ou 8 filamentos que se prolongam pelo espaço entre as membranas interna e externa. No interior da oncosfera ocorrem três pares de ganchos lanceolados.

Hospedeiros

R. nana possui como hospedeiros principais não só diversas espécies de roedores, como também o ser humano (Quadro 3.3). No entanto, alguns autores alegam que nos roedores ocorre uma estirpe diferente, *R. nana* var. *fraterna*, por oposição à estirpe humana, *R. nana* var. *nana*, ambas morfologicamente indistinguíveis. Surge assim a controvérsia sobre o estatuto singular ou dualístico deste céstode. Ainda não está completamente esclarecido se as espécies *R. nana* e *R. fraterna* são de facto duas espécies distintas, específicas para homem e roedores, respectivamente, se são espécies distintas, mas ambas com capacidade para infectar homem e roedores, ou se simplesmente são a mesma

² Nota sistemática: Na literatura existe uma grande falta de consenso em relação à classificação taxonómica desta espécie. Espécies do género *Hymenolepis* de rostelo armado com os testículos em linha não separados pelos ovários foram reposicionadas no género *Vampirolepis* Spasskii, 1954. Outras espécies do género *Hymenolepis* de rostelo armado e com os testículos orientados em forma de um triângulo alongado separados em dois grupos pelos ovários foram reposicionadas no género *Rodentolepis*. O género *Vampirolepis* ficou restringido a espécies parasitas de morcegos, partilhando com *Rodentolepis* um rostelo armado retráctil (Vaucher, 1992; Czaplinski & Vaucher, 1994). De acordo com esta classificação, a espécie *Hymenolepis nana* foi re-classificada como *Rodentolepis nana*, e o género *Hymenolepis* passou a conter apenas espécies com rostelo desarmado. Apesar desta revisão da nomenclatura, *R. nana* continua a ser referida universalmente como *H. nana* na literatura não-taxonómica e no meio médico.

espécie que pode ser encontrada em qualquer um dos hospedeiros (Brumpt, 1949; Ferretti *et al.*, 1981). Contudo, infecções cruzadas em ambas as direcções são possíveis, pelo que *R. nana* deve ser considerada uma espécie zoonótica (Andreassen, 1998; El-Sayad & Lotfy, 2002; El-Sayad & Lotfy, 2004).

Quadro 3.3 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de *R. nana*.

Hospedeiros	Ordem	Espécies
Definitivos	Roedores	<i>Apodemus argenteus</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Bandicota bengalensis</i> , <i>Funambulus pennanti</i> , <i>Meriones hurrianae</i> , <i>M. unguiculatus</i> , <i>Mesocricetus auratus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i>
Intermediários	Sifonápteros	<i>Ctenocephalides canis</i> , <i>Pulex irritans</i> , <i>Xenopsylla cheopis</i>
	Coleópteros	<i>Tenebrio molitor</i> , <i>T. obscurus</i> , <i>Tribolium confusum</i>

Referências: Larsh, 1946; Bailey, 1947; Faust, 1949; Lussier & Loew, 1970; Nama, 1990; Yokobori *et al.*, 1993; Fuentes *et al.*, 2004.

Distribuição geográfica

R. nana é um céstode de distribuição cosmopolita, apesar de aparentemente ser mais comum em regiões quentes em detrimento das mais frias. Ocorre no sul da Ásia, Médio Oriente, Europa Meridional, repúblicas da Ásia Central, Índia, América do Sul, sul dos Estados Unidos e Pacífico Sudoeste (Fan, 2005).

Ciclo de vida

Os céstodes geralmente requerem pelo menos um hospedeiro intermediário para completar o seu ciclo de vida (Smyth, 1969). *R. nana* é o único céstode capaz de o completar sem esse intermediário. No entanto, além do ciclo de vida directo *R. nana* pode ter também um ciclo de vida indirecto com um insecto a servir de hospedeiro intermediário.

Directo

O desenvolvimento de *R. nana* de ovo a larva cisticercóide e posteriormente ao estado adulto pode ocorrer inteiramente no hospedeiro definitivo sem a necessidade da intervenção de um hospedeiro intermediário. Após a sua ingestão pelo hospedeiro definitivo, os ovos eclodem no duodeno e libertam as oncosferas que penetram com os três pares de ganchos as vilosidades intestinais do intestino delgado, onde se desenvolvem até ao estado de larva cisticercóide. Em 5-6 dias, a vilosidade entra em ruptura, a larva cisticercóide emerge da mucosa para o lúmen intestinal, fixa-se firmemente à parede intestinal pelo escólex e em cerca de 2 semanas desenvolve-se até ao estado adulto, de estróbilo maduro e com capacidade reprodutiva. O período pré-patente é de cerca de 14 dias, podendo

chegar aos 25, e o tempo de vida do verme adulto é de 4-6 semanas (Faust, 1949; Wardle & McLeod, 1952; Smyth, 1962). Quando uma proglótide grávida se desprende do estróbilo, passa pelo tracto digestivo e é expelida juntamente com as fezes. Contudo, alguns ovos que se soltam da proglótide podem dar início a um processo de auto-infecção ao se alojarem nas vilosidades intestinais em vez de passarem para o exterior. Assim, um único estróbilo pode dar origem a uma grande colónia de vermes adultos e a infecção pode persistir por um tempo muito superior ao tempo de vida do primeiro verme.

Indirecto

O ciclo de vida indirecto inicia-se quando o insecto hospedeiro intermediário ingere ovos de *R. nana*. Estes eclodem no tubo digestivo e libertam as oncosferas que penetram a parede intestinal e se desenvolvem no hemocélio até à fase de larva cisticercóide. Quando o hospedeiro definitivo ingere o hospedeiro intermediário, as larvas cisticercóides são libertadas deste último e fixam-se à parede intestinal do definitivo onde se desenvolvem até ao estado adulto. O período pré-patente de 4 dias é inferior ao do ciclo de vida directo (Faust, 1949).

Potencial zoonótico

Transmissão

A transmissão de *R. nana* no homem ocorre pela via feco-oral, com passagem de ovos directamente da mão para a boca. Por este motivo, há uma tendência para que a prevalência de infecção seja superior em grupos onde as condições de higiene são deficientes, como crianças e pessoas institucionalizadas. A contaminação por ingestão acidental de um hospedeiro intermediário infectado com larvas cisticercóides ou por ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos são vias de transmissão alternativas (Faust, 1949; Mason & Patterson, 1994; Andreassen, 1998; Sirivichayakul *et al.*, 2003). Apesar de o homem ser o principal foco de infecção, os roedores constituem sempre uma potencial ameaça (Andreassen, 1998).

Epidemiologia

Crompton (1999) estimou que no mundo inteiro existem cerca de 75 milhões de pessoas infectadas por *R. nana*, fazendo deste parasita a infecção céstode humana mais comum a nível mundial. *R. nana* é mais frequente nos países em desenvolvimento, devido

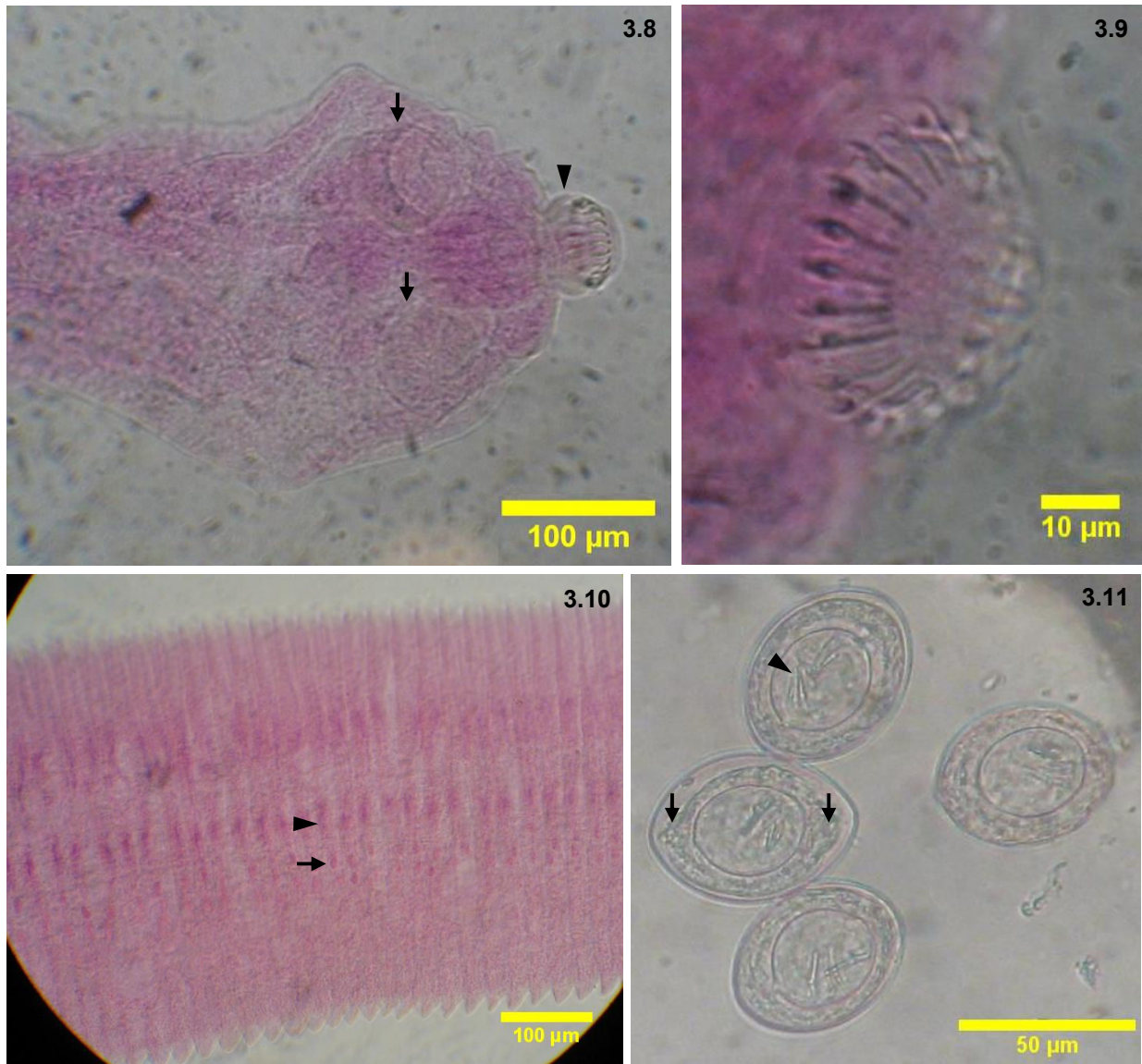
em parte às condições climáticas mais favoráveis, climas quentes e áridos, e às condições higiênico-sanitárias deficitárias. A prevalência de infecção varia entre valores próximos de zero e 1,2% nos países desenvolvidos (Min *et al.*, 1986; Kappus *et al.*, 1991; El-On *et al.*, 1994; Alegre *et al.*, 2004) e entre 1,81% e 13,42% nos países em desenvolvimento (Marnell *et al.*, 1992; Fallah *et al.*, 2002; Mirdha & Samantray, 2002; Tasawar *et al.*, 2004; Hamit *et al.*, 2008), podendo alguns casos mais específicos, como populações indígenas, atingir valores tão elevados como 31,2-54,6% (Reynoldson *et al.*, 1997; Menghi *et al.*, 2007). De modo geral é em crianças em idade escolar de comunidades desfavorecidas que se verificam as maiores prevalências de infecção, variando entre 5% e os casos mais extremos de 58,6% (Mason & Patterson, 1994; Getahun, 2005; Adhikari *et al.*, 2007; Jacobsen *et al.*, 2007; Al-Zain, 2009).

Sintomatologia

Apesar de *R. nana* ser o céstode humano de menores dimensões, pode originar graves complicações nervosas ou toxicológicas, particularmente em crianças de tenra idade ou nos casos em que o parasita esteja presente em elevado número. Os sintomas apresentados pelo paciente parecem ser maioritariamente influenciados pela intensidade ou gravidade da infecção. Infecções superiores a 1000-2000 vermes (severas) são normalmente acompanhadas por dor abdominal, diarreia, vômitos, convulsões, tonturas, perda de apetite, fraqueza e eosinofilia (Faust, 1949; Andreassen, 1998). Em crianças, a infecção pode estar associada a um retardamento do crescimento em peso e altura (Khalil *et al.*, 1991). Infecções com reduzido número de vermes (suaves) são geralmente assintomáticas.

Diagnóstico & Tratamento

O diagnóstico é baseado na presença dos ovos característicos nas fezes. Os ovos de *R. nana* podem ser facilmente diferenciados dos de *H. diminuta* pelo seu menor tamanho e pela presença dos filamentos polares na membrana interna (Andreassen, 1998). Praziquantel e niclosamida são as drogas mais frequentemente usadas no tratamento de infecção por *R. nana* (Schenone, 1980; Eom *et al.*, 1988; Khalil *et al.*, 1991; Andreassen, 1998). Nitazoxanida tem também mostrado alguns resultados satisfatórios (Díaz *et al.*, 2003; Chero *et al.*, 2007). As larvas cisticercóides de *R. nana* não são tão susceptíveis às drogas como os vermes adultos, pelo que para um tratamento bem sucedido poderá ser necessário uma maior dose do composto anti-helmíntico ou um prolongamento da duração do tratamento.



Figuras 3.8-3.11 – Fotomicrografias de *R. nana*. **3.8** – Escólex mostrando as ventosas (setas) e o rostelo armado (cabeça de seta). **3.9** Pormenor do rostelo armado com uma coroa de cerca de 24 ganchos em forma de “Y”. **3.10** – Porção do estróbilo formada por um conjunto de proglótides maduras, apresentando os órgãos masculinos (seta) e femininos (cabeça de seta) corados. **3.11** – Conjunto de ovos resultante da ruptura de uma proglótide grávida, cada ovo apresentando filamentos polares (setas) e três pares de ganchos lanceolados (cabeça de seta).

FILO NEMATODA

AONCHOTHECA ANNULOSA (DUJARDIN, 1845) BAIN ET WERTHEIM, 1980

Morfologia

O longo corpo de *Aonchotheca annulosa* tem caracteristicamente forma de anel, particularmente na porção posterior (Figura 3.12). A terminação cefálica é, por sua vez, extremamente fina e apresenta uma abertura bucal sem lábios (Figura 3.13). A junção esófago-intestinal define a fronteira entre a porção anterior e posterior do corpo (Figura 3.14). A cutícula é estriada transversalmente e a banda bacilar (Figura 3.15) lateral compreende 1/3 do diâmetro do corpo.

Nenhum macho e apenas duas fêmeas foram extraídos do intestino grosso de dois indivíduos *M. musculus*. Estas mediram 19,1 mm de comprimento e 0,056 mm de largura. A vulva não apresenta qualquer tipo de apêndice. A cauda é cega, não pontiaguda, e o ânus subterminal (Figura 3.16). Não foram observados ovos, provavelmente devido aos espécimes não terem ainda atingido a plena maturidade, mas segundo Skrjabin *et al.* (1957) estes medem 56 µm de comprimento por 50 µm de largura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

A. annulosa é um nemátode que parasita habitualmente roedores (Quadro 3.4) que ocorre na Europa, Rússia e Norte de África (Skrjabin *et al.*, 1957).

Quadro 3.4 – Espectro de hospedeiros de *A. annulosa*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Apodemus sylvaticus</i> , <i>Clethrionomys glareolus</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Tamias sibiricus</i>

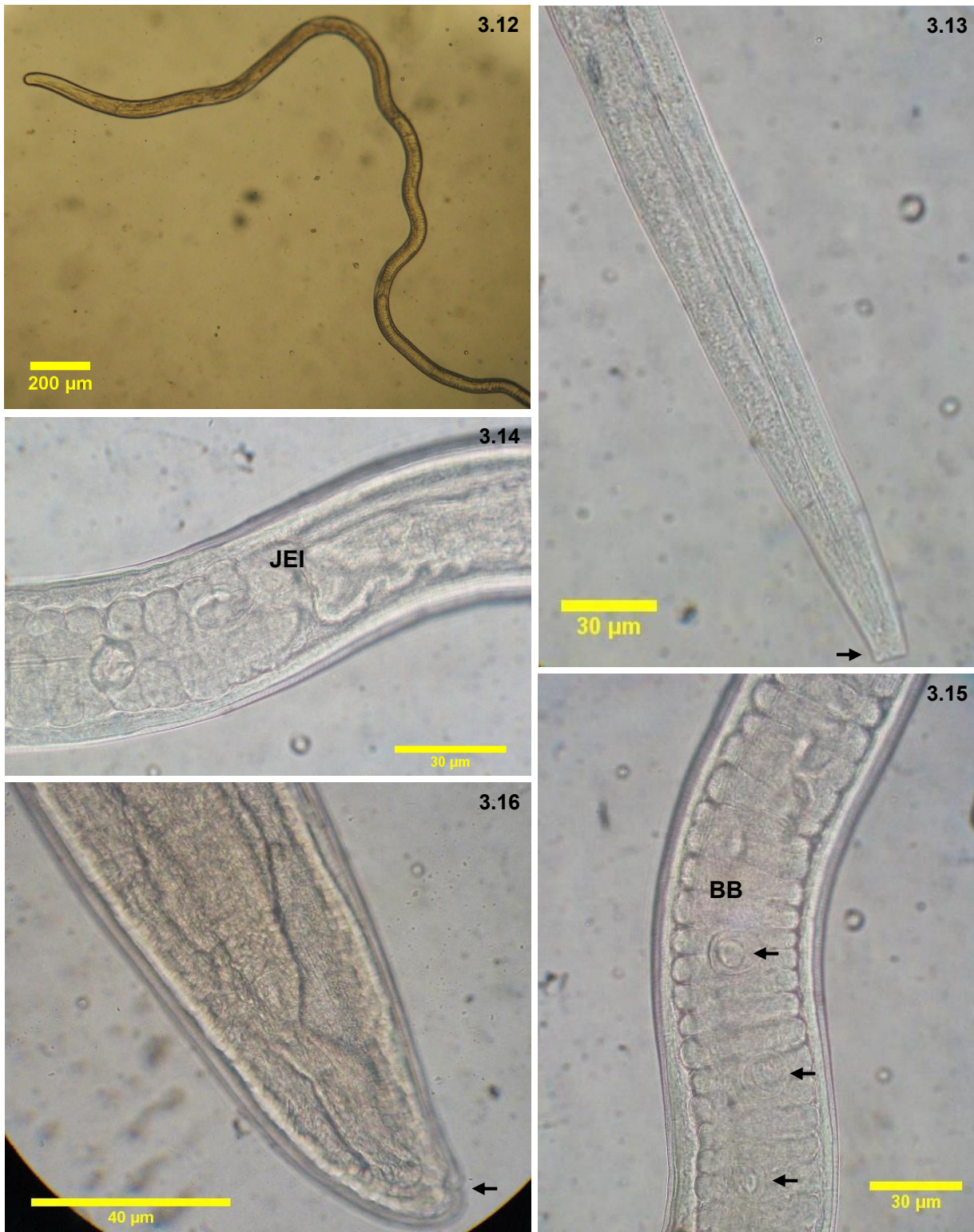
Referências: Skrjabin *et al.*, 1957; Milazzo *et al.*, 2003; Pisanu *et al.*, 2007.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *A. annulosa* não está descrito. Pensa-se que esta espécie apresenta ciclo de vida directo (Féliu *et al.*, 1997).

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registados de parasitismo por *A. annulosa*.



Figuras 3.12-3.16 – Fotomicrografias de *A. annulosa*. **3.12** – Aspecto geral da porção posterior e parte inicial da porção anterior. **3.13** – Pormenor da extremidade anterior mostrando a abertura bucal (seta) sem lábios. **3.14** – Pormenor da junção esófago-intestinal (JEI). **3.15** – Pormenor da zona esofágica evidenciando a banda bacilar (BB) e os esticócitos (setas). **3.16** – Porção posterior mostrando a abertura anal (seta).

CALODIUM HEPATICUM (BANCROFT, 1893)

Morfologia

Devido à sua espessura, comprimento e localização, é extremamente difícil extrair os delicados exemplares de *Calodium hepaticum* intactos do parênquima hepático onde se encontram embebidos (Figura 3.17). Além do mais, os indivíduos desta espécie desintegram-se ao fim de algumas semanas. Por esta razão, nenhum macho foi extraído intacto.

Os nemátodes extraídos do tecido hepático são filiformes e de cor esbranquiçada. O corpo cilíndrico é revestido por uma cutícula fina e estriada transversalmente. As bandas bacilares ocorrem em fileiras perpendiculares à superfície da cutícula, prolongando-se ao longo de grande parte do corpo. A abertura bucal é muito pequena e arredondada, sem lábios. O esófago é formado por duas secções, uma anterior, pequena e muscular, e uma posterior, fina e cuticular. Ocorre rodeado dorsal e lateralmente por uma longa coluna de células moniliformes com funções análogas a glândulas esofágicas. Este conjunto celular é denominado de esticossoma e as células que o constituem de esticócitos.

As fêmeas extraídas mediram em média 63 mm de comprimento, apresentando uma zona cefálica delgada com 0,074 mm de largura e a porção posterior consideravelmente mais espessa com 0,162 mm de largura. O ovário localiza-se na zona final da porção posterior do corpo, onde se liga ao oviducto, que por sua vez comunica com o útero. O útero é um tubo, cheio de ovos nas fêmeas sexualmente maduras (Figura 3.19), que se transforma numa vagina muscular. Os peculiares ovos desta espécie apresentam forma de barril com opérculos típicos nos pólos, e uma estriação radial característica (Figura 3.20). Os ovos medem em média 53,1 µm de comprimento e 28,8 µm de largura. A casca do ovo consiste em quatro camadas: a externa muito fina que cobre o ovo inteiro; a segunda muito espessa, que não cobre os dois opérculos; a terceira de tom acastanhado, que forma os opérculos nos pólos; e a quarta, transparente, que cobre a parte germinativa do ovo.

Análise histológica de tecido hepático

O diagnóstico final de infecção por *C. hepaticum* foi realizado com recurso a cortes histológicos de fígados infectados, que permitiram a identificação dos ovos característicos deste nemátode. Macroscopicamente, os fígados apresentaram aspecto reticulado conferido por lesões hepáticas multifocais de maior ou menor extensão distribuídas aleatoriamente na

superfície capsular (Figura 3.18). Estas lesões eram caracterizadas por pontos ou linhas amareladas que se entrecruzavam no parênquima hepático.

As lesões histopatológicas do fígado consistiram em vários aglomerados multifocais de ovos (Figuras 3.21 e 3.22) e em cortes transversais e longitudinais de parasitas adultos (Figura 3.23), alguns já em processo de degeneração, rodeados por focos necróticos, inflamações granulomatosas e pequenas ou moderadas quantidades de tecido fibroso decorrentes da proliferação de fibroblastos e da deposição de matriz colagénica (fibrose). Os granulomas eram constituídos por focos de necrose e detritos celulares associados a células inflamatórias, nomeadamente eosinófilos, neutrófilos, leucócitos e macrófagos epitelióides. Vários conjuntos de ovos ocorreram livres no tecido hepático devido à desintegração das fêmeas que morrem logo após a postura e devido à reabsorção de zonas fibróticas. Foram também detectados alguns focos de calcificação, por vezes significativos, em material necrótico (Figura 3.23).

Nalgumas preparações histológicas surgiram zonas brancas, principalmente nas regiões mais periféricas, correspondentes às zonas do tecido hepático em que ocorreu grande destruição de hepatócitos. Tais artefactos são consequência do processo de congelamento a que os fígados estiveram sujeitos.

Hospedeiros

Os roedores são os principais hospedeiros de *C. hepaticum*. As maiores prevalências têm sido registadas em *R. rattus* e *R. norvegicus*, que são os hospedeiros e reservatórios por excelência. Este parasita tem sido detectado em muitos outros mamíferos (Quadro 3.5), incluindo o homem, correspondendo a infecções acidentais resultantes do consumo de alimento e água contaminados com ovos embrionados (Spratt & Singleton, 1986).

Distribuição geográfica

C. hepaticum é um helminta cosmopolita, tendo já sido registado em praticamente todas as regiões geográficas do globo, de diversos climas e condições ambientais. No entanto, parece ocorrer maioritariamente nas zonas temperadas e tropicais, onde a temperatura e a humidade são elevadas (Galvão, 1981).

Quadro 3.5 – Espectro de hospedeiros de *C. hepaticum*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Aethomys kaiseri medicatus</i> , <i>Apodemus agrarius</i> , <i>A. argenteus</i> , <i>A. flavicollis</i> , <i>A. silvaticus</i> , <i>Arvicanthis abyssinicus rubescens</i> , <i>Arvicola terrestris</i> , <i>Blarina brevicauda</i> , <i>Castor canadensis</i> , <i>C. fiber</i> , <i>Clethrionomys gapperi</i> , <i>C. glareolus</i> , <i>C. rufocanus</i> , <i>Cricetomys gambianus</i> , <i>C. migratorius</i> , <i>Cynomys ludovicianus</i> , <i>Dasymys incomtus medius</i> , <i>Ellobius talpinus</i> , <i>Erethizon dorsatum</i> , <i>Gerbilliscus kempfi</i> , <i>Lemniscomys striatus massaicus</i> , <i>Marmota monax</i> , <i>Mastomys coucha ugandae</i> , <i>Microtus nivalis</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Myocastor coypus</i> , <i>Neotoma floridana</i> , <i>Ondatra zibethicus</i> , <i>Otomys tropicalis</i> , <i>Peromyscus floridanus</i> , <i>P. gossypinus</i> , <i>P. leucopus</i> , <i>P. maniculatus</i> , <i>Praomys albipes</i> , <i>P. jacksoni</i> , <i>Rattus exulans</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Sciurus anomalus</i> , <i>S. vulgaris</i> , <i>Sigmodon hispidus</i> , <i>Sorex cinereus</i> , <i>S. fumeus</i> , <i>Spilogale putorius</i>
Lagomorfos	<i>Lepus europaeus</i> , <i>Oryctolagus cuniculus</i> , <i>Sylvilagus floridanus</i>
Carnívoros	<i>Canis familiaris</i> , <i>C. latrans</i> , <i>Cerdocyon thous</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Lycalopex gymnocercus</i>
Hiracóides	<i>Dendrohyrax arboreus</i>
Perissodáctilos	<i>Equus ferus caballus</i>
Prímatas	<i>Ateles geoffroyi</i> , <i>Callithrix geoffroyi</i> , <i>Cebus capucinus imitator</i> , <i>Cercopithecus aethiops</i> , <i>Gorilla gorilla beringei</i> , <i>Macaca nigra</i> , <i>Pan troglodytes</i> , <i>Pithecia pithecia</i> , <i>Saguinus bicolor</i>

Referências: Fain, 1953; Freeman & Wright, 1960; Layne & Griffo, 1960; Seo *et al.*, 1964; Layne & Winegarner, 1971; Solomon & Handley, 1971; Barrett & Chalmers, 1972; Wobeser & Rock, 1973; Ishimoto, 1974; Farhang-Azad & Schlitter, 1978; Nation & Dies, 1978; Chaiyabut, 1979; Chieffi *et al.*, 1981; Chineme & Ibrahim, 1984; Singleton *et al.*, 1991; Roberts *et al.*, 1992; Borucinska & Nielsen, 1993; Borucinska *et al.*, 1997; Graczyk *et al.*, 1999; Hamir & Rupprecht, 2000; Ilha & Barros, 2000; Shimalov & Shimalov, 2002; Stojčević *et al.*, 2002; Hilken *et al.*, 2003; Landolfi *et al.*, 2003; Ruas *et al.*, 2003; Reperant & Deplazes, 2005; Pizzi *et al.*, 2008; Stidworthy *et al.*, 2009.

Ciclo de vida

O desenvolvimento de *C. hepaticum* ocorre directamente sem um hospedeiro intermediário, apesar dos predadores terem um papel importante no seu ciclo de vida. Após a infecção, os parasitas permanecem vivos no fígado dos hospedeiros por aproximadamente um mês. Assim que morrem, ocorre a lise e a reabsorção dos seus tecidos. A fêmea deposita ao redor do seu corpo grupos de ovos no parênquima hepático do hospedeiro. Posteriormente, fibrose e calcificação das lesões acabam por encapsular parasitas e massas de ovos, podendo aí permanecer viáveis durante meses (Weidman, 1925; Shorb, 1931; Luttermoser, 1938a,b). Uma vez encapsulados, os ovos não são excretados para o ambiente durante o tempo de vida do hospedeiro. A libertação dos ovos ocorre por ingestão do fígado de um animal infectado por actos de canibalismo, predação ou necrofagia. A consequente passagem do fígado pelo tubo digestivo do predador liberta os ovos de *C. hepaticum* pela acção dos sucos digestivos, que acabam por ser disseminados no solo juntamente com os excrementos. Processos de decomposição do fígado raramente estão na origem de ovos viáveis (Luttermoser, 1938a,b; Skrjabin *et al.*, 1957). Na literatura há referência a ovos de *C. hepaticum* ocorrendo em tractos digestivos e fezes (Faust & Martinez, 1935; Foster & Johnson, 1939; Chieffi *et al.*, 1981). Skrjabin *et al.* (1957) sugerem que estes são meros casos de parasitismo transiente, causados pela ingestão de fígados de

animais hospedeiros infectados por *C. hepaticum* e consequente passagem dos ovos pelo tracto gastrointestinal. Freeman & Wright (1960) e Farhang-Azad (1977b) sugerem a manutenção de *C. hepaticum* nos sistemas de túneis e ninhos por canibalismo, considerando a predação e a decomposição fontes secundárias de infecção.

Em condições de temperatura e humidade favoráveis e na presença de oxigénio, os ovos de *C. hepaticum* desenvolvem-se até ao estágio infectante. São susceptíveis à dissecação, mas em ambiente húmido à temperatura de 25°C desenvolvem-se completamente em 35-45 dias. Podem permanecer viáveis durante longos períodos de tempo (meses a anos, consoante os autores), tanto no estágio embrionado como não embrionado, e podem suportar as baixas temperaturas do Inverno sob os mantos de neve e nos ninhos dos hospedeiros (Skrjabin *et al.*, 1957). O hospedeiro é infectado pela ingestão de ovos embrionados, que eclodem no ceco em 24 h. As larvas no primeiro estágio larvar (L1) atravessam a parede do intestino em cerca de 6 h. Migram pela cavidade abdominal, entram na veia porta hepática e 52 h após a infecção alcançam o fígado. Atingem o estado maduro neste órgão, surgindo fêmeas grávidas 21 dias após a infecção (Olsen, 1986).

Potencial zoonótico

C. hepaticum é um nemátode zoonótico, com algumas dezenas de casos humanos referenciados na literatura. O homem é infectado pela ingestão de comida, água ou solo contaminado por ovos (Tesana *et al.*, 2007). A maior parte dos casos humanos reportados diz respeito a crianças com idade inferior a 5 anos (Choe *et al.*, 1993; Terrier *et al.*, 1999), provavelmente devido ao hábito mais frequente nestas idades de levar a mão à boca e à ingestão de solo (geofagia) (Sawamura *et al.*, 1999). Quando ovos embrionados são ingeridos ocorre a chamada infecção genuína, em que a larva eclode no ceco e migra até ao fígado, desenvolvendo-se a capilaríase hepática. A larva pode chegar a outros órgãos, como pulmões e baço, mas morre quase de imediato (Sawamura *et al.*, 1999). Fan *et al.* (2000) fazem uma revisão dos casos humanos até à data, aludindo a 42 genuínos a nível mundial, muitos dos quais terminaram em morte. Na revisão bibliográfica realizada no âmbito deste estudo, constatou-se que estes autores identificaram erroneamente como sendo portugueses dois casos brasileiros de capilaríase hepática. Outra forma de infecção por *C. hepaticum* é a chamada infecção espúria, mais frequente no homem, que ocorre quando o hospedeiro ingere ovos não embrionados. Neste caso, os ovos apenas passam através do tracto gastrointestinal e são libertados nas fezes, sem envolvimento do fígado. É o que sucede quando o hospedeiro ingere fígado de um animal parasitado (Foster & Johnson, 1939).

Sintomatologia

Elevada taxa de eosinófilos (eosinofilia até 85%), febre e hepatoesplenomegalia (Cochrane *et al.*, 1957; Galvão, 1981; Terrier *et al.*, 1999; Fan *et al.*, 2000) constituem os sintomas quase sempre presentes nos casos descritos de capilaríase hepática. Anemia é frequentemente observada, assim como hipergamaglobulinemia, quando averiguada. Por vezes ocorre um aumento moderado e transitório do nível das enzimas hepáticas (Cochrane & Skinstad, 1961; Silverman *et al.*, 1973; Choe *et al.*, 1993; Nabi *et al.*, 2007). Outras manifestações da doença são cansaço, náuseas, vômitos, perda de apetite e peso, dor e distensão abdominal (Berger *et al.*, 1990; Terrier *et al.*, 1999; Klenzak *et al.*, 2005; Tesana *et al.*, 2007). Cislighi & Radice (1970) apontam para a possibilidade da infecção por *C. hepaticum* ser a causa de eosinofilia, hepatomegalia e febre inexplicáveis em crianças.

A infecção pode causar hepatite aguda ou subaguda (inflamação local), dilatação dos ductos biliares, abscessos hepáticos, destruição de parênquima hepático, fibrose que poderá evoluir para cirrose e mudanças granulomatosas devido essencialmente à desintegração dos parasitas e aos seus ovos, resultando em dor abdominal, febre, convulsões e nos outros sintomas desta helmintíase (Choe *et al.*, 1993; Fan *et al.*, 2000; Keven *et al.*, 2001; Klenzak *et al.*, 2005; Tesana *et al.*, 2007).

A infecção espúria normalmente é assintomática ou causa sintomas intestinais transitórios, como desconforto abdominal e vômitos, sendo apenas detectada por análise coprológica (Lubinsky, 1961; Sawamura *et al.*, 1999).

Casos subdiagnosticados

É surpreendente que apesar da grande prevalência desta parasitose entre roedores comensais, do grande número destes animais, e apesar das baixas condições de higiene e condições económicas em que vive grande parte da população mundial, aliada à alta resistência dos ovos e à baixa especificidade de *C. hepaticum*, a capilaríase hepática não seja mais frequente entre os seres humanos (Galvão, 1981). Uma explicação para este facto poderá estar na dificuldade do diagnóstico, pois os ovos dos parasitas não aparecem nas fezes (Galvão, 1979). Por outro lado, as manifestações clínicas de maior relevância da capilaríase hepática como hepatite aguda ou subaguda com hipereosinofilia, não são específicas desta infecção (Fan *et al.*, 2000), pelo que é provável que muitos casos desta helmintíase sejam mal diagnosticados. Por exemplo, as larvas de *C. hepaticum* podem ser responsáveis pela síndrome da *larva migrans* ou larva migrante, normalmente associada a larvas de *Toxocara canis* e *T. cati* (Silverman *et al.*, 1973; Kumar *et al.*, 1985; Sawamura *et al.*, 1999). É ainda de realçar que os casos humanos não fatais e subclínicos podem passar

despercebidos (Galvão, 1981), como provam alguns casos detectados acidentalmente (Juncker-Voss *et al.*, 2000).

Como os ovos de *C. hepaticum* são muito semelhantes aos de *Trichuris trichiura*, os primeiros poderão passar despercebidos, não sendo identificados, em exames coprológicos rotineiros, quando não se está atento para a possibilidade de encontrar este parasita (Galvão, 1979). Assim, a infecção espúria poderá ser mais frequente do que o relatado e ser por vezes confundida com tricúriase, uma helmintíase muito comum a nível global.

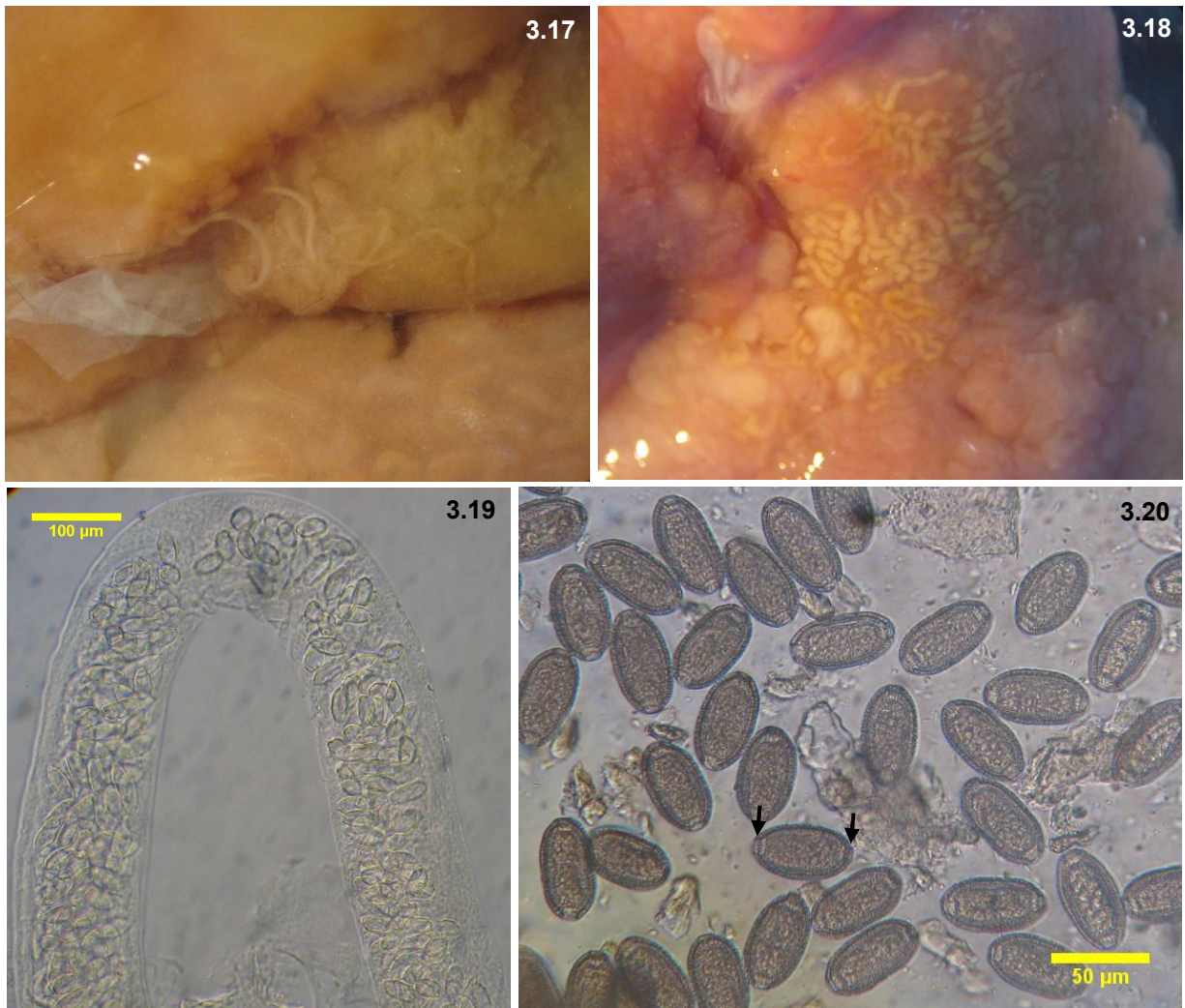
Diagnóstico

Todos os casos descritos foram diagnosticados através de biopsia hepática ou autópsia, uma vez que os ovos não passam para as fezes na infecção genuína (Fan *et al.*, 2000). De facto, em vida, as possibilidades de diagnóstico ficam reduzidas à biopsia hepática que, para um diagnóstico mais preciso, de ser realizada com laparotomia ou laparoscopia, já que os ovos se concentram em focos que podem não ser atingidos com a biopsia de agulha, conduzindo assim a um diagnóstico incorrecto (Galvão, 1981; Klenzak *et al.*, 2005). Devido à necessidade de um método mais adequado para o diagnóstico, têm surgido estudos incidindo sobre métodos imunológicos, principalmente técnicas de imunofluorescência, para detecção deste parasita, que requerem apenas uma amostra de soro do paciente (Galvão, 1979; Juncker-Voss *et al.*, 2000; Assis *et al.*, 2004).

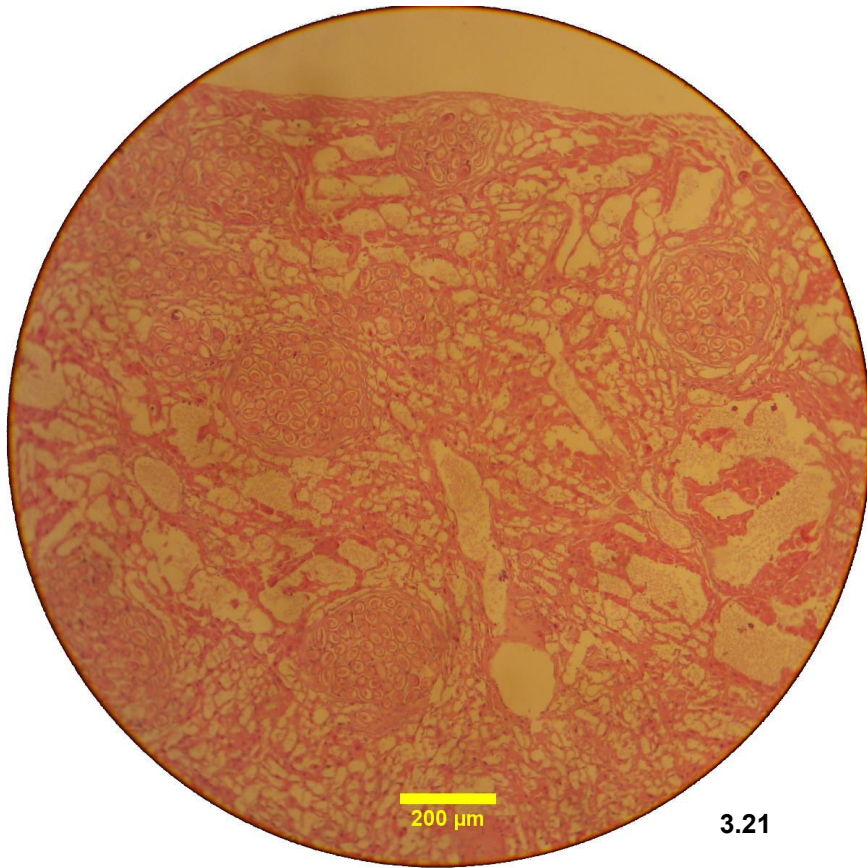
O prognóstico depende da gravidade da infestação. Com a destruição massiva do tecido hepático e falência hepática, o resultado final poderá ser morte, se não estiver disponível um transplante hepático (Terrier *et al.*, 1999).

Tratamento

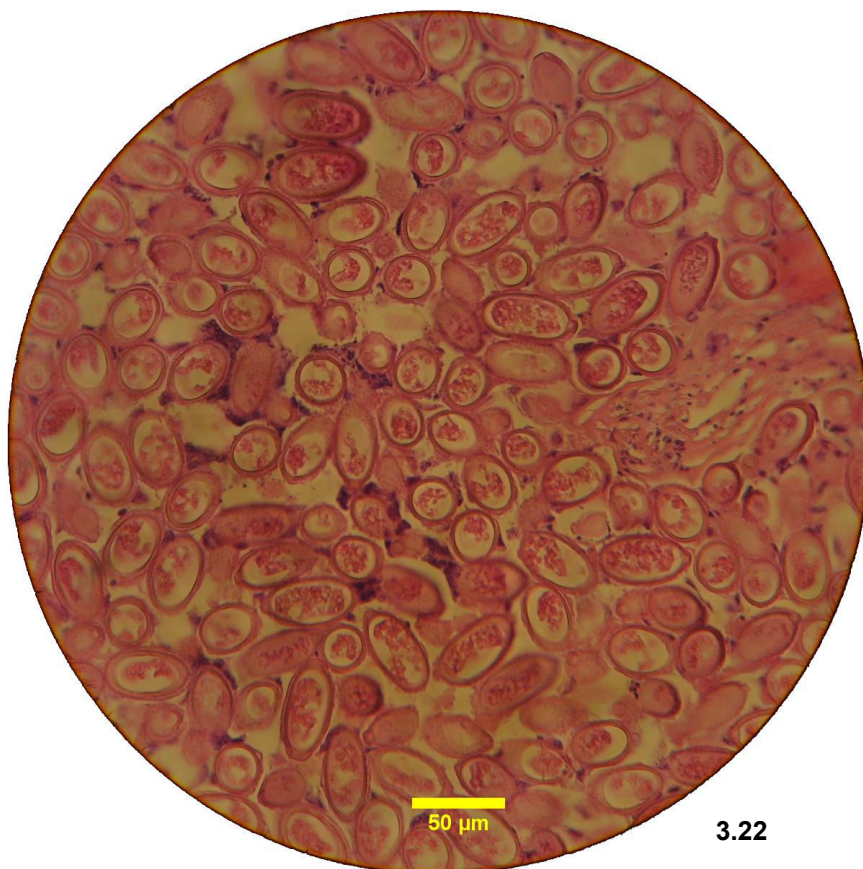
A infecção por *C. hepaticum* tem sido tratada com prednisona, disofenol, tartarato de pirantel, tiabendazol, mebendazol, albendazol e ivermectina com resultados mais ou menos satisfatórios (Pereira & França, 1983; Berger *et al.*, 1990; Sawamura *et al.*, 1999; Terrier *et al.*, 1999; Nabi *et al.*, 2007). O mebendazol, cuja dose terapêutica está dentro do limite recomendado para o homem (Cheetham & Markus, 1991), é a droga de eleição para o tratamento de capilaríase hepática humana (Sawamura *et al.*, 1999). Contudo, as drogas apenas actuam contra parasitas adultos, são ineficazes contra os ovos, protegidos pelo tecido fibroso e pela casca, que permanecem no tecido hepático com a lesão. Assim, em alguns casos pode ser necessário a administração de corticosteróides para reduzir a resposta inflamatória (Sawamura *et al.*, 1999; Keven *et al.*, 2001).



Figuras 3.17-3.20 – Fotomicrografias de *C. hepaticum*. **3.17** – Especímenes embebidos no parênquima hepático. **3.18** – Fígado com aspecto reticulado conferido por lesões de coloração amarelada que se entrecruzam na superfície do parênquima hepático. **3.19** – Porção média da fêmea com útero repleto de ovos. **3.20** – Conjunto de ovos evidenciando os característicos opérculos nos pólos (setas), resultante da ruptura de tecido hepático parasitado por fêmeas grávidas.



3.21



3.22



Figuras 3.21-3.23 – Fotomicrografias de cortes histológicos de fígado infectado por *C. hepaticum*. **3.21** – Conjunto de aglomerados multifocais de ovos no tecido hepático. **3.22** – Pormenor de aglomerado de ovos. **3.23** – Grupos de ovos livres no tecido hepático e cortes transversais de parasitas adultos em processo de degeneração, evidenciando alguma infiltração de células inflamatórias (setas) e focos de calcificação (cabeças de seta).

***EUCOLEUS GASTRICUS* (BAYLIS, 1926)**

Morfologia

Foram extraídos dois exemplares de *Eucoleus gastricus* do estômago de dois indivíduos *M. musculus* de São Miguel que se encontravam em condições muito degradadas, provavelmente em consequência da frágil estrutura do corpo desta espécie e do processo de congelação e descongelação a que estiveram sujeitos. Para além das características morfológicas claramente visíveis (como os ovos), a localização no hospedeiro do qual foram recolhidos (estômago) e o facto da espécie já ter sido identificada por Casanova *et al.* (1996) em *M. musculus* de São Miguel, contribuíram para a identificação dos exemplares.

O corpo de *E. gastricus* apresenta-se longo e afilado, com uma delicada cutícula estriada transversalmente e bandas bacilares. Apesar do estado de conservação dos exemplares extraídos, a presença de ovos (Figura 3.24) em ambos permitiu a sua classificação como fêmeas. Os ovos medem 72 µm de comprimento e 32 µm de largura, possuindo casca estriada não-granulosa.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

E. gastricus é um nemátode que parasita diversas espécies roedoras (Quadro 3.6) que ocorre na Europa Ocidental, Arménia, Japão, América do Sul e Austrália (Skrjabin *et al.*, 1957).

Quadro 3.6 – Espectro de hospedeiros de *E. gastricus*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Apodemus agrarius</i> , <i>A. alpicola</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Microtus arvalis</i> , <i>M. pinetorum</i> , <i>Ondatra zibethica</i> , <i>Rattus fuscipes</i> , <i>R. lutreolus</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i>

Referências: Kasai, 1978; Obendorf, 1979; Lochmiller *et al.*, 1982; Feliú *et al.*, 1985; Taylor & Calaby, 1988; Feliú *et al.*, 1997; Asakawa *et al.*, 1999; de Bellocq *et al.*, 2003; Klimpel *et al.*, 2007.

Ciclo de vida

Além do estômago, *E. gastricus* pode ocorrer no esófago do hospedeiro. O seu ciclo de vida não está descrito, mas segundo Skrjabin *et al.* (1957), minhocas como *Lumbricus terrestris* podem actuar como reservatórios e hospedeiros intermediários deste nemátode. Os ovos são ingeridos pelas minhocas nas quais eclodem. As larvas invadem os tecidos das

minhocas e, apesar de permanecerem em L1, após um período de crescimento moderado tornam-se infectantes para o hospedeiro final (Anderson, 1992).

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registrados de parasitismo por *E. gastricus*.



Figura 3.24 – Fotomicrografia de *E. gastricus*, mostrando a porção média da fêmea com o útero preenchido por uma fiada de ovos.

GONGYLONEMA NEOPLASTICUM (FIBIGER ET DITLEVSEN, 1914)

Morfologia

Gongylonema neoplasticum é um nemátode que parasita o estômago e o esôfago dos seus hospedeiros. Contudo, os exemplares do presente estudo foram extraídos da mucosa do intestino delgado de *M. musculus*, local onde se encontravam fixados (Figura 3.25). Este é o primeiro caso descrito a nível mundial de parasitismo por *G. neoplasticum* no intestino.

Tal como os restantes membros do seu género, o corpo alongado de *G. neoplasticum* apresenta uma cutícula coberta por espessamentos verruciformes ou bossas cuticulares, especialmente proeminentes na parte anterior do corpo (Figura 3.26). A abertura bucal é circundada por duas formações trilobadas com lóbulos dorsais e ventrais esclerotizados externamente e um denticulo interno. Lateralmente ocorrem lóbulos estreitos e pequenos e duas papilas cefálicas, além de duas submedianas. Dois alelos laterais, começando logo a seguir à papila cervical que ocorre a nível do anel nervoso, prolongam-se ao longo do comprimento do corpo. O esôfago é muito longo, composto por duas secções, a anterior, mais pequena e espessa, e a posterior, maior.

Os machos *G. neoplasticum* extraídos do intestino de *M. musculus* mediram em média 13,82 mm de comprimento e 0,172 mm de largura máxima. O esôfago mediu na sua totalidade 3,21 mm. Na porção posterior, a cauda é ligeiramente curva e possui dois alelos caudais assimétricos, esquerdo e direito, suportados por 5 ou 6 pares de papilas pré-anais e 3 pares pós-anais assimetricamente distribuídos, duas espículas quitinizadas de tamanho e forma diferentes (Figura 3.27), e governáculo assimétrico. A espícula maior, localizada no lado esquerdo, mediu 590 µm de comprimento e 9,22 µm de largura máxima. Por sua vez, a espícula menor, no lado direito, mediu 119,8 µm de comprimento e 13,82 µm de largura, e o governáculo 54,51 µm de comprimento.

As fêmeas extraídas mediram em média 35,02 mm de comprimento e 0,311 mm de largura máxima. O esôfago mediu na sua totalidade 4,61 mm. A cauda é de forma cônica e próximo do seu ápice encontra-se o ânus. A vulva encontra-se na porção final do corpo. Possuem útero didélfico, preenchido com ovos (Figura 3.28), e um oviducto muito longo, tendo aproximadamente metade do comprimento do corpo. Os ovos medem 54,0 µm de comprimento e 34,2 µm de largura. Apresentam-se envoltos por uma casca espessa e contêm uma larva L1 na altura da postura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

G. neoplasticum é um parasita comum em *Rattus* sp. que já foi identificado em muitas outras espécies animais. Os hospedeiros intermediários são insectos (Quadro 3.7). Apresenta uma distribuição cosmopolita, tendo sido registado em praticamente todas as regiões do mundo.

Quadro 3.7 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de *G. neoplasticum*.

Hospedeiros	Ordem	Espécies
Definitivos	Roedores	<i>Apodemus flavicolis</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Dipodomys panamintinus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>R. tiomanicus</i>
	Lagomorfos	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
	Artiodáctilos	<i>Ovis aries</i>
Intermediários	Coleópteros	<i>Tenebrio molitor</i>
	Blatídeos	<i>Blatta orientalis</i> , <i>Blattella germanica</i> , <i>Periplaneta americana</i> , <i>P. australasiae</i> , <i>Rhyarobia maderae</i>

Referências: Yokogawa, 1925; Voge, 1956; Vives & Zeledón-Araya, 1957; Krishnasamy *et al.*, 1980; Cordero-del-Campillo *et al.*, 1994; Hasegawa *et al.*, 1994; Eira *et al.*, 2006.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *G. neoplasticum* é indirecto e requer um insecto coprófago como hospedeiro intermediário, tal como as restantes espécies do género. A fêmea deposita os ovos embrionados no lúmen do órgão em que se encontra. Os ovos passam depois para as fezes do hospedeiro infectado e necessitam de ser ingeridos por um insecto hospedeiro apropriado, geralmente um coleóptero ou um blatídeo. Posteriormente, eclodem nos tubos digestivos dos insectos e as larvas invadem e desenvolvem-se até larva de segundo estágio (L2) no hemocélio. Algumas larvas poderão eventualmente ser encapsuladas nos músculos, onde atingem o terceiro estágio larvar (L3). Este estágio infectante é atingido no interior do insecto 20-30 dias após a ingestão dos ovos. A infecção do hospedeiro vertebrado definitivo ocorre após ingestão do insecto. Os parasitas chegam ao estágio adulto 60-80 dias após a ingestão de um insecto infectado (Anderson, 1992; Haruki *et al.*, 2005).

Potencial zoonótico

A gongilonemose humana é uma infecção rara, com apenas 52 casos registados em todo o mundo, e sem causar complicações de maior. Na maior parte dos casos humanos, *G. pulchrum* é a espécie envolvida (Wilson *et al.*, 2001; Haruki *et al.*, 2005). Não obstante, não existem casos humanos de parasitismo por *G. neoplasticum* registados.



Figuras 3.25-3.28 – Fotomicrografias de *G. neoplasticum*. 3.25 – Especímenes fixos na mucosa do intestino delgado. **3.26 –** Porção posterior (esquerda) e anterior (direita) do corpo da fêmea, apresentando bossas cuticulares ovalada (seta) especialmente proeminentes na zona mais anterior. **3.27 –** Zona caudal da porção posterior do macho evidenciando as espículas maior (seta) e menor (cabeça de seta). **3.28 –** Porção média da fêmea com o útero (U) repleto de ovos em evidência.

***HETERAKIS SPUMOSA* (SCHNEIDER, 1866)**

Morfologia

Os exemplares de *Heterakis spumosa*, extraídos do ceco e da primeira porção do cólon, apresentam um corpo delgado de coloração amarela-esbranquiçada. A boca é pequena e tem três lábios desiguais, cada um com duas papilas laterais e uma situada entre os lábios. O esôfago é desenvolvido e a sua porção muscular passa por um bolbo esofágico (Figura 3.29) que possui um complexo valvular. A cutícula que recobre o corpo é estriada longitudinal e transversalmente. O corpo possui alelos cuticulares laterais suportados por um par de papilas cervicais, que se iniciam ao nível da zona cefálica na porção anterior e se prolongam até ao final da porção posterior. O poro excretor ocorre na zona da porção média do esôfago.

Os machos *H. spumosa* extraídos de *M. musculus* mediram em média 6,07 mm de comprimento e 0,225 mm de largura máxima. Na região caudal apresentam a ventosa genital, uma estrutura muscular e pedunculada que é interrompida na margem posterior por uma estrutura papiliforme (Figura 3.32). Nesta região, os alelos caudais são suportados por 10 pares de papilas caudais: 2 pares de papilas pedunculadas ao nível da ventosa, 3 pares de papilas pedunculadas laterais (1 par pré-cloacal maior e mais largo, 1 par adcloacal delgado e granular, 1 par pós-cloacal grande e mais delgado), 2 pares de papilas sésseis próximos da cloaca, 3 pares de papilas laterais no extremo caudal. Não apresentam governáculo, mas possuem espículas de tamanho e forma desiguais que terminam numa ligeira curvatura.

As fêmeas *H. spumosa* extraídas mediram em média 8,44 mm de comprimento e 0,281 mm de largura máxima. Apresentam 5 formações cuticulares (lábios) associadas à vulva, 1 anterior à abertura vulvar e 4 posteriores (1 formação seguida de mais 3) (Figura 3.30). A vulva é estriada transversalmente e a sua abertura ocorre aproximadamente a meio do corpo. A cauda, cônica e pontiaguda (Figura 3.31), apresenta 2 pares de papilas sésseis, 1 proximal ventrolateral e 1 assimétrico distal localizado lateralmente. O útero didélfico está repleto de ovos em forma de mórula (Figura 3.30) que medem em média 60,3 µm de comprimento e 42,3 µm de largura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

H. spumosa é um nemátode vulgarmente encontrado no ceco do intestino grosso de *Rattus* sp. e *M. musculus*. Muitas outras espécies de roedores podem ser infectadas

(Quadro 3.8). De distribuição cosmopolita, tem sido registado nas mais diversas partes do mundo.

Quadro 3.8 – Espectro de hospedeiros de *H. spumosa*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Abrothrix olivaceus</i> , <i>Apodemus argenteus</i> , <i>A. speciosus</i> , <i>Bandicota bengalensis</i> , <i>Clethrionomys rufocanus</i> , <i>Crycetomys emini</i> , <i>C. buchani</i> , <i>C. gambianus</i> , <i>Hydromys chrysogaster</i> , <i>Lophuromys sikapusi</i> , <i>Mogera kobeeae</i> , <i>Rattus exulans</i> , <i>R. fuscipes</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>R. sordidus</i> , <i>R. tunneyi</i> , <i>Rhizomys</i> sp.

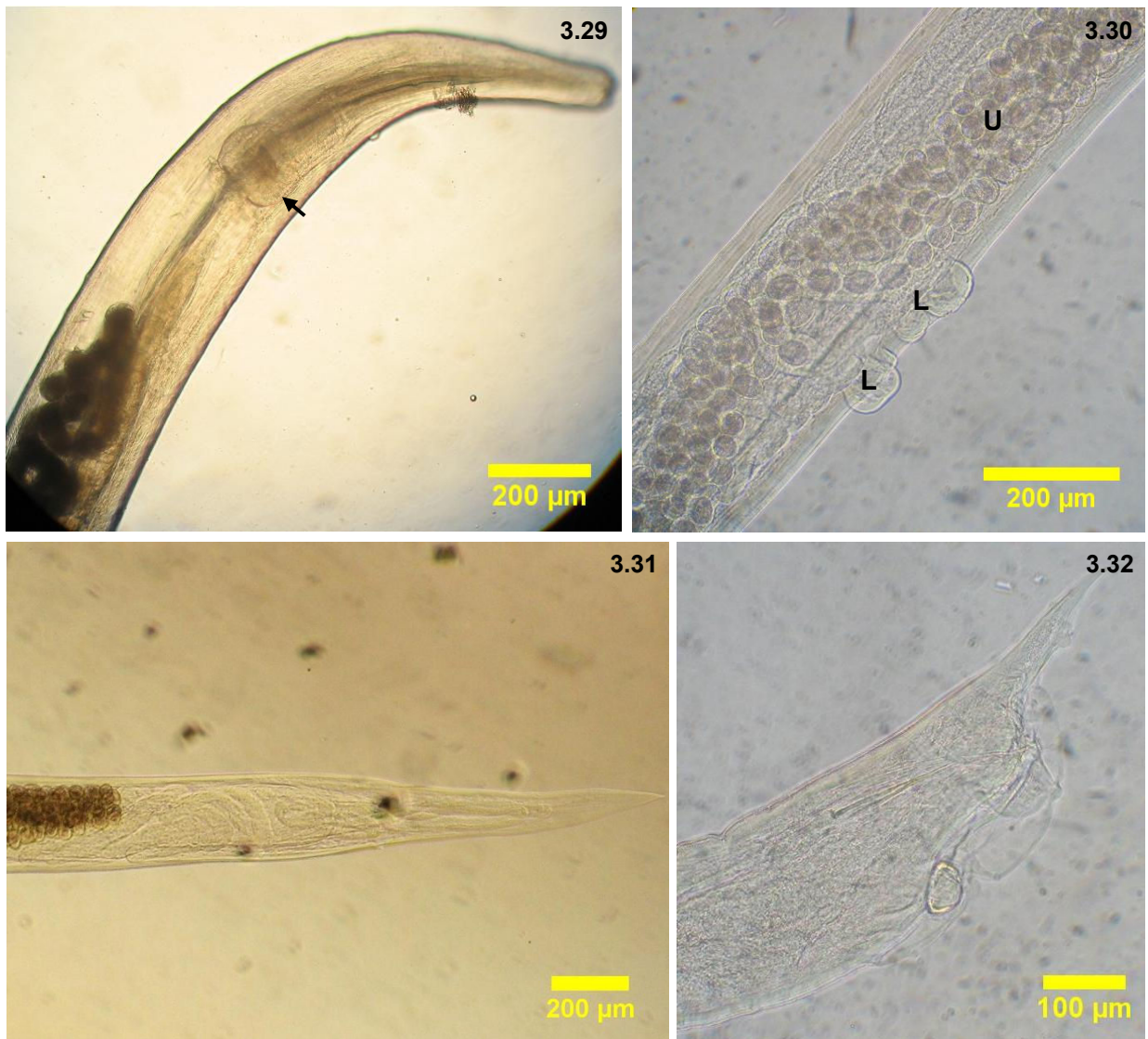
Referências: Smith, 1953; Ishimoto, 1974; Yokohata *et al.*, 1989; Roberts *et al.*, 1992; Cabrera & Mendoza, 2001; Landaeta-Aqueveque *et al.*, 2007; Rosario Robles *et al.*, 2008.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *H. spumosa* é directo. Os ovos ingeridos pelo hospedeiro eclodem no intestino delgado e as larvas passam para o cólon onde podem ser encontradas 48-72 h após a infecção. Os parasitas imaturos tendem a localizar-se no cólon e à medida que se vão aproximando da maturidade tendem a concentrar-se nos primeiros 1-2 cm. Em *Rattus* sp., o período pré-patente é de 26-47 dias. Os ovos fertilizados aparecem nas fêmeas 25 dias após a infecção do hospedeiro, mas só a partir do dia 30 é que começam a surgir nas fezes. As fêmeas continuam a crescer nos 100 dias seguintes após o início da produção de ovos. Mais de 50% dos hospedeiros perdem a infecção em cerca de 150 dias, apesar de alguns animais permanecerem infectados por mais de 300 (Skrjabin *et al.*, 1961; Anderson, 1992).

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registados de parasitismo por *H. spumosa*.



Figuras 3.29-3.32 – Fotomicrografias de *H. spumosa*. **3.29** – Porção anterior mostrando o bolbo esofágico (seta). **3.30** – Porção média da fêmea evidenciando os lábios (L) associados à vulva e o útero (U) repleto de ovos. **3.31** – Porção posterior da fêmea. **3.32** – Porção posterior do macho apresentando a complexa estrutura copulatória em vista lateral.

***MASTOPHORUS MURIS* (GMELIN, 1790)**

Morfologia

Mastophorus muris são nemátodes relativamente grandes que apresentam uma coloração acastanhada e o corpo cilíndrico revestido por uma cutícula muito espessa constituída por córtex e camadas mediana e basal (Hamada & Wertheim, 1978). A abertura bucal é rodeada por dois lábios trilobados muito cuticularizados (Figura 3.33), em que os lóbulos medianos têm forma quadrada e os laterais triangular. A superfície interna de cada lóbulo possui uma membrana da qual emanam fiadas de dentes em número e tamanho variáveis. Na base de cada lábio encontram-se duas papilas, uma em cada junção dos lóbulos medianos e laterais. Pelo menos em espécimes fixados, a porção posterior do corpo adquire uma forma espiralada e apresenta tendencialmente uma curvatura ventral na zona caudal (Figura 3.34).

Os machos *M. muris* extraídos de *M. musculus* mediram em média 28,5 mm de comprimento e 0,844 mm de largura máxima. A cutícula na porção posterior pode apresentar-se inchada dando uma aparência ondulada ao corpo. Na face ventral da porção posterior a cutícula possui espessamentos ovais alongados. As papilas caudais, pedunculadas, são constituídas por 4 pares de papilas pré-anais e 2 pares pós-anais. Perto da zona final da cauda existem pequenas papilas sésseis de número variável. As espículas são filiformes, curvilíneas e esclerotizadas. A espícula maior (Figura 3.35), localizada no lado direito, mediu 1,39 mm de comprimento e 36 µm de largura máxima. Por sua vez, a espícula menor, no lado esquerdo, mediu 1,01 mm de comprimento e 32,4 µm de largura máxima.

As fêmeas *M. muris* extraídas mediram em média 42,0 mm de comprimento e 1,35 mm de largura máxima. A vulva ocorre na primeira metade do corpo suportada por uma estrutura esclerotizada. Os ovos são ovalados e medem 48,6 µm de comprimento e 27,0 µm de largura, ocorrendo no estágio larvar ou no embrionado (Figura 3.36).

Hospedeiros & Distribuição geográfica

M. muris é vulgarmente encontrado no estômago de *Rattus* sp. e várias outras espécies de roedores, sendo raramente encontrado em carnívoros. Possui várias espécies de insectos como hospedeiros intermediários (Quadro 3.9). Tem sido registado em todo o mundo, desde as regiões nórdicas de clima temperado, como o Alasca, Finlândia e Polónia, aos climas mais quentes de Israel e Flórida.

Quadro 3.9 – Espectro de hospedeiros definitivos e intermediários de *M. muris*.

Hospedeiros	Ordem	Espécies
Definitivos	Roedores	<i>Acomys cahirinus dimidiatus</i> , <i>Apodemus sylvaticus</i> , <i>Calomys callosus</i> , <i>Clethrionomys glareolus</i> , <i>C. rufocanus</i> , <i>C. rutilus</i> , <i>Dipodomys ordii</i> , <i>Geomys bursarius</i> , <i>Graomys griseoflavus</i> , <i>Microtus miurus</i> , <i>M. nivalis</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Mus spretus</i> , <i>Onychomys leucogaster</i> , <i>Oryzomys palustris</i> , <i>Peromyscus leucopus</i> , <i>Rattus alexandrinus</i> , <i>R. exulans</i> , <i>R. fuscipes assimilis</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Sciurus vulgaris</i> , <i>Sigmodon hispidus</i>
	Carnívoros	<i>Canis latrans</i> , <i>Felis catus</i> , <i>F. silvestris</i> , <i>Genetta genetta</i> , <i>Lynx pardinus</i> , <i>Martes foina</i> , <i>Meles meles</i> , <i>Mustela nivalis</i> , <i>Vulpes vulpes</i>
	Lagomorfos	<i>Sylvilagus aquaticus</i>
	Diprotodontes	<i>Hypsiprymnodon moschatus</i>
Intermediários	Sifonápteros	<i>Ceratophyllus anisus</i> , <i>C. fasciatus</i> , <i>Ctenophthalmus agyrtes</i> , <i>C. arvernus</i> , <i>Ctenopsyllus segnis</i> , <i>Nosopsyllus fasciatus</i> , <i>Xenopsylla cheopis</i>
	Coleópteros	<i>Tenebrio molitor</i>
	Blatídeos	<i>Blattella germanica</i>
	Dípteros	<i>Phlebotomus ariasi</i> , <i>P. perniciosus</i>

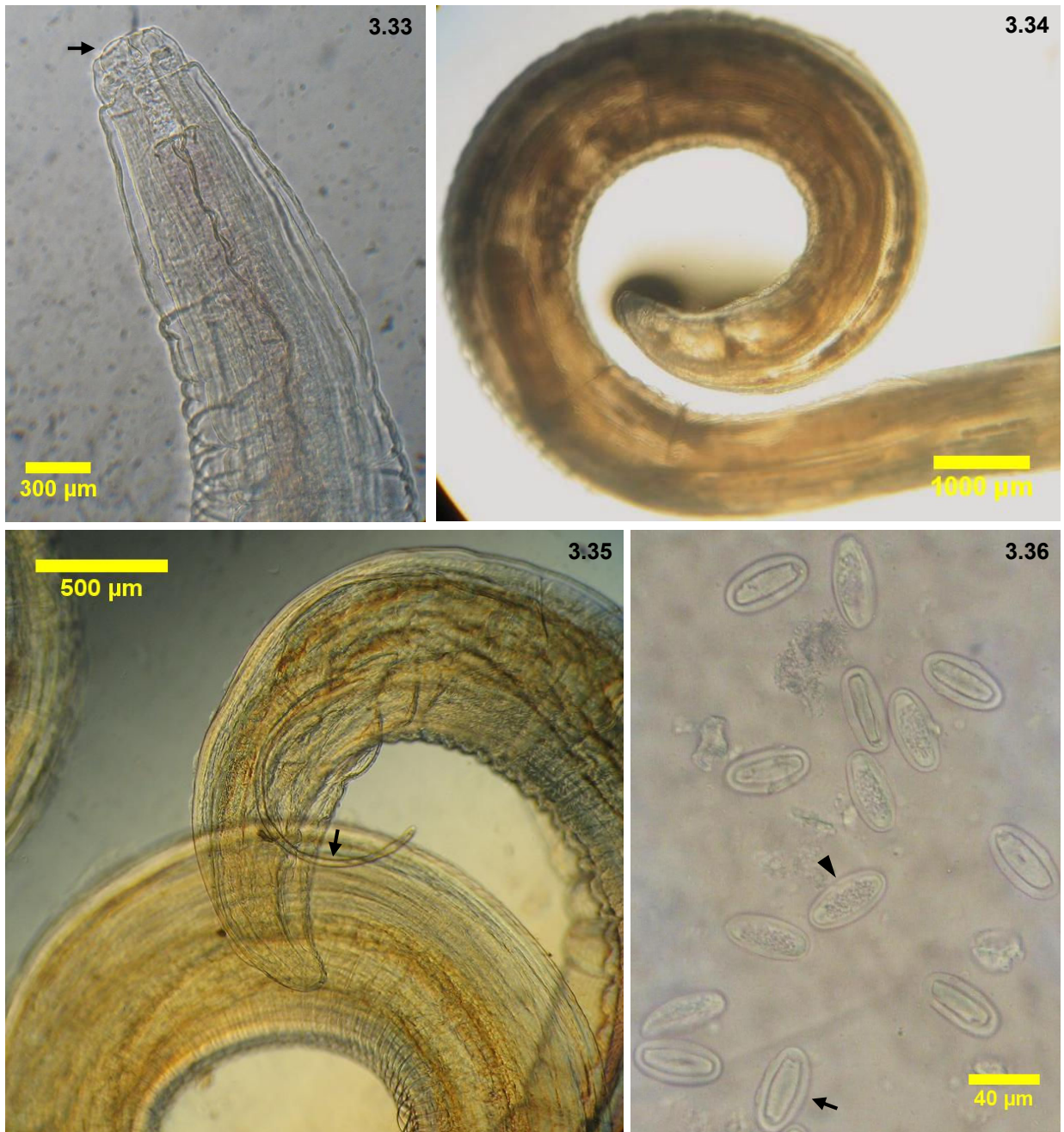
Referências: Skrjabin *et al.*, 1949; Melvin & Chandler, 1950; Burnham, 1953; Wertheim, 1962; Garner *et al.*, 1976; Pfaffenberger *et al.*, 1985; Haukisalmi *et al.*, 1987; Haukisalmi *et al.*, 1988; Anderson, 1992; Haukisalmi *et al.*, 1995; Lucientes *et al.*, 1995; Miller & Miller, 1995; Smales, 1995; King *et al.*, 1996; Mafiana *et al.*, 1997; Torres *et al.*, 1998; Behnke *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2001; Shimalov & Shimalov, 2002; Rojas & Digiani, 2003; Milazzo *et al.*, 2005; Sainz-Elípe *et al.*, 2007; Vukićević-Radić *et al.*, 2007.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *M. muris* é indirecto, envolvendo como hospedeiros intermediários diversas espécies de insectos. De acordo com Quentin (1970), as larvas L1 eclodem no insecto e invadem o hemocélio e o tecido adiposo, onde são encapsuladas e se desenvolvem até L3 nos primeiros 15 dias após infecção. Nos hospedeiros definitivos, parasitas adultos são observados 28 dias após infecção.

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registados de parasitismo por *M. muris*.



Figuras 3.33-3.36 – Fotomicrografias de *M. muris*. **3.33** – Porção anterior apresentando abertura bucal (seta) rodeada por dois lábios trilobados. **3.34** – Porção posterior da fêmea. **3.35** – Porção posterior do macho com a espícula maior (seta) em evidência. **3.36** – Conjunto de ovos em estágio larvado (seta) ou embrionado (cabeça de seta) resultante da ruptura dos tecidos de uma fêmea grávida.

NIPPOSTRONGYLUS BRASILIENSIS (TRAVASSOS, 1914) TRAVASSOS ET DARRIBA, 1929

Morfologia

Os exemplares de *Nippostrongylus brasiliensis* apresentam uma coloração avermelhada (Figura 3.37), devido à presença de hemoglobina na cutícula, tecidos e fluidos corporais do parasita, e não devido à hemoglobina do hospedeiro (Kassai, 1982). A coloração das fêmeas é geralmente mais intensa que a dos machos. O corpo dos parasitas removidos apresenta uma forma espiralada (Figuras 3.38 e 3.39). Na porção anterior, a zona cefálica possui uma expansão cuticular inflada e a abertura bucal é trirradiada e circundada por um ânulo (Figura 3.40).

Os machos *N. brasiliensis* extraídos de *M. musculus* mediram em média 3,8 mm de comprimento e 0,098 mm de largura máxima. Na porção posterior do corpo apresentam uma bolsa copulatória bem desenvolvida de natureza cuticular que rodeia a cloaca (Figura 3.41). Esta estrutura cuja forma relembra um par de mãos abertas unidas pelos pulsos, consiste em dois lóbulos laterais e num lóbulo dorsal mais pequeno, suportados por raios. Possuem ainda na porção terminal do corpo duas espículas filiformes de coloração acastanhada, ocorrendo geralmente unidas pelas pontas curvilíneas. As espículas mediram em média 492,2 µm de comprimento e 21,1 µm de largura máxima.

As fêmeas *N. brasiliensis* extraídas mediram em média 5,2 mm de comprimento e 0,119 mm de largura máxima. A vulva ocorre na região ventral e o útero ocorre ao longo do corpo, estando preenchido por uma fiada de ovos. Os ovos são elipsoidais (Figura 3.42) e medem 54,9 µm de comprimento e 28,8 µm de largura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

N. brasiliensis ocorre naturalmente no intestino delgado de *Rattus* sp. e mais raramente em *M. musculus* e outras espécies de roedores (Quadro 3.10). É um nemátode de distribuição cosmopolita que tem sido registado desde as Filipinas, Ásia e Austrália, até à América, passando pelo Médio Oriente e Europa (Kassai, 1982).

Quadro 3.10 – Espectro de hospedeiros de *N. brasiliensis*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Chinchilla chinchilla</i> , <i>Citellus tridecemlineatus</i> , <i>Gerbillus pyramidum</i> , <i>Mastomys natalensis</i> , <i>Melomys rufescens</i> , <i>Meriones unguiculatus</i> , <i>Mesocricetus auratus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Rattus conatus</i> , <i>R. fuscipes assimilis</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>R. sordidus</i> , <i>R. tiomanicus</i> , <i>Sigmodon hispidus</i>
Lagomorfos	<i>Oryctolagus cuniculus</i>

Referências: Vives & Zeledón-Araya, 1957; Krishnasamy *et al.*, 1980; Spatafora & Platt, 1982; Smales, 2009.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *N. brasiliensis* é directo e envolve uma fase externa de vida livre. Kassai (1982) faz uma revisão geral do ciclo de vida desta espécie. As fêmeas adultas produzem ovos no intestino do hospedeiro que passam depois para o exterior através das fezes. Os ovos eclodem no ambiente externo e as larvas L1 desenvolvem-se até ao estágio infectante L3 em 5 ou 6 dias. Estas larvas entram no hospedeiro através da penetração da pele deste e migram pela corrente sanguínea até aos alvéolos pulmonares em 1-4 dias, onde prosseguem o seu desenvolvimento até ao quarto estágio larvar (L4). Posteriormente migram para o intestino delgado passando pela traqueia, esófago e estômago. No intestino delgado, aproximadamente 5 dias após infecção, terminam o seu desenvolvimento alcançando a fase adulta (L5). Os ovos começam a surgir nas fezes a partir do sétimo dia, persistindo até à expulsão dos parasitas adultos, 9-14 dias após infecção. Como a maioria dos nemátodes, *N. brasiliensis* não se multiplica no hospedeiro.

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registados de parasitismo por *N. brasiliensis*.



Figuras 3.37-3.42 – Fotomicrografias de *N. brasiliensis*. **3.37** – Especímenes fixos na mucosa do intestino delgado. **3.38** – Aspecto morfológico geral da fêmea. **3.39** – Aspecto morfológico geral do macho. **3.40** – Pormenor da porção anterior. **3.41** – Pormenor da bolsa copulatória do macho com a dupla espícula (seta) e os raios (cabeças de seta) em evidência. **3.42** – Ovo elipsoidal.

SYPHACIA OBVELATA (RUDOLPHI, 1802) SEURAT, 1916

Morfologia

Os nemátodes da espécie *Syphacia obvelata* são parasitas de pequenas dimensões, coloração esbranquiçada e que apresentam acentuado dimorfismo sexual, sendo as fêmeas muito maiores que os machos (Figuras 3.43 e 3.46). Na porção anterior, a zona cefálica possui duas dilatações cuticulares infladas, estriadas transversalmente, que se estendem até ao nível do anel nervoso. O esófago cilíndrico possui um bolbo esofágico esférico (Figura 3.44), estando ambos separados por uma constrição. A boca é formada por três lábios distintos em posição trirradial.

Os machos *S. obvelata* extraídos de *M. musculus* mediram em média 1,15 mm de comprimento e 0,105 mm de largura máxima. Possuem três dilatações mamelonadas, de origem cuticular e estriadas transversalmente, na face ventral do último terço do corpo (Figura 3.45). A cauda é extremamente encurvada. Apresentam ainda na porção posterior 3 pares de papilas caudais (2 pares pré-anais e 1 pós-anal), um governáculo fusiforme com 36 µm de comprimento e uma espícula longa e ligeiramente encurvada com 73,83 µm de comprimento e 7,03 µm de largura na base.

As fêmeas *S. obvelata* extraídas mediram em média 4,92 mm de comprimento e 0,244 mm de largura máxima. Dois alelos laterais estendem-se ao longo do corpo que termina numa cauda longa e fina. O poro excretor muito pequeno encontra-se no ponto mediano entre o bolbo esofágico e a vulva, localizada num espessamento cuticular. A vagina ocorre parcialmente projectada nos espécimes mais velhos (Figura 3.44), com um oviducto muscular que comunica directamente com o útero. O útero é longo e repleto de ovos nas fêmeas grávidas. Os ovos são em forma de banana (Figura 3.47) e medem 126 µm de comprimento e 41,4 µm de largura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

S. obvelata é um nemátode do intestino grosso extremamente vulgar em *M. musculus*, o seu hospedeiro principal. Pode também ocorrer em várias outras espécies de roedores selvagens e comensais (Quadro 3.11). De distribuição cosmopolita, este nemátode tem sido registado em todo o mundo.

Quadro 3.11 – Espectro de hospedeiros de *S. obvelata*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Abrothrix olivaceus</i> , <i>Apodemus agrarius</i> , <i>A. sylvaticus</i> , <i>Crocidura russula</i> , <i>Gerbillus pyramidum</i> , <i>Lemniscomys barbarus</i> , <i>Microtus arvalis</i> , <i>M. pennsylvanicus</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>R. alexandrinus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i>

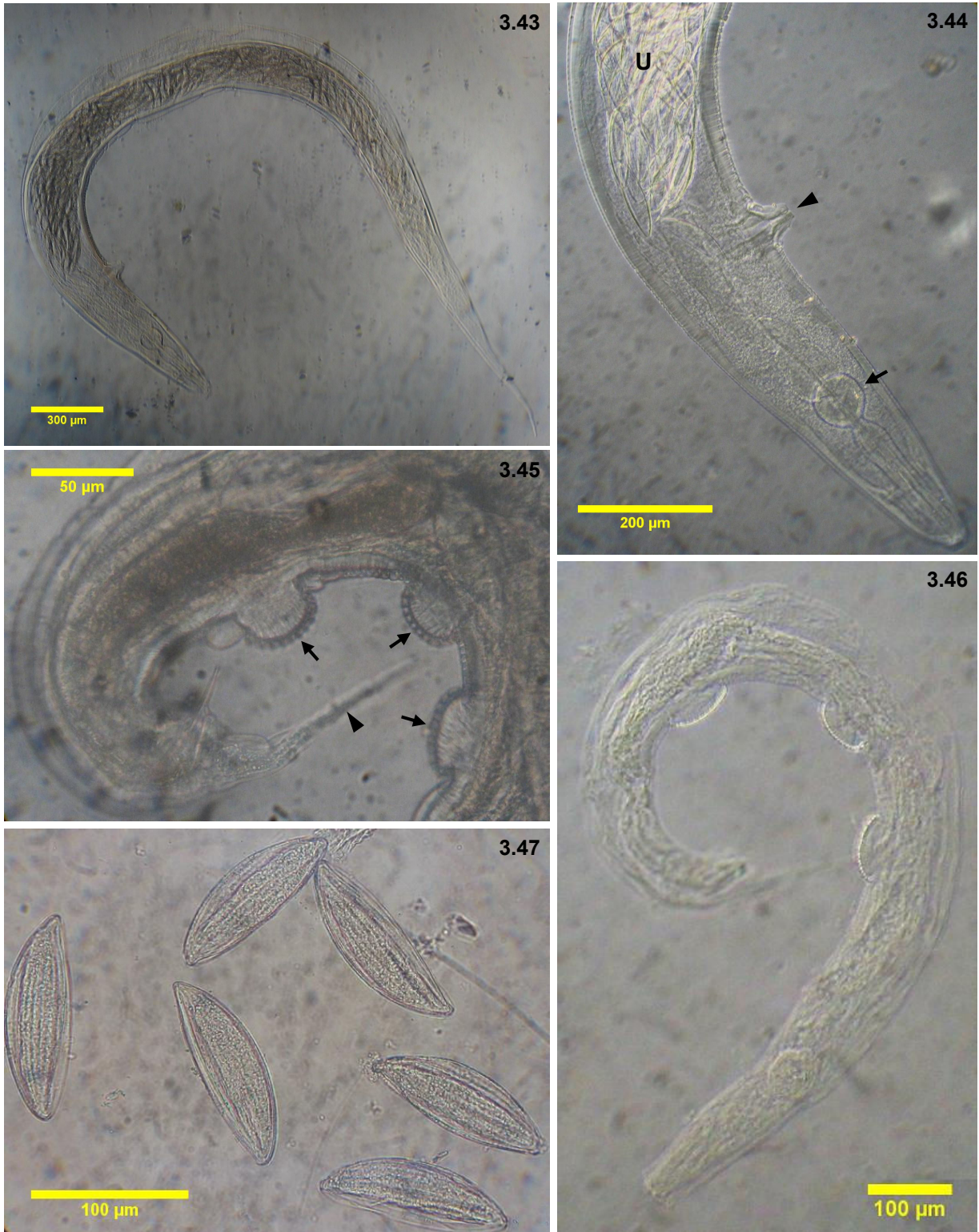
Referências: Erickson, 1938; Seo *et al.*, 1958; Skrjabin *et al.*, 1960; Landaeta-Aqueveque *et al.*, 2007.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *S. obvelata* é directo. As fêmeas grávidas migram do ceco para o ânus onde depositam os ovos embrionados na pele ou onde simplesmente rebentam por compressão, libertando assim os ovos. Estes tornam-se infectantes em poucas horas após a postura e sobrevivem várias semanas no ambiente. O hospedeiro é infectado pela ingestão dos ovos directamente da região perianal de um animal infectado ou indirectamente de materiais contaminados no ambiente, como alimentos e água. Devido ao seu peso extremamente baixo, os ovos também podem ser propagados como aerossóis (Baker, 1998). Pode ainda ocorrer retroinfecção, a migração de larvas recém-eclodidas no ânus para o cólon. Após a ingestão do ovo, a larva eclode em 1 h e migra para o ceco em 2 h. As larvas prosseguem o seu desenvolvimento e os machos atingem a maturidade sexual em 96 h. Estes últimos acabam por morrer logo após a cópula. Cinco dias após a infecção a maioria das fêmeas é fertilizada, surgem grávidas em 9 dias e migram do ceco para o ânus em 12 dias. A maioria deixa o hospedeiro 12-15 dias após infecção (Sharpless, 1943; Skrjabin *et al.*, 1960; Taffs, 1976).

Potencial zoonótico

A infecção de humanos por *S. obvelata* é extremamente rara. Apenas três casos a nível mundial foram diagnosticados, dois nos Estados Unidos e um nas Filipinas. Riley (1919) estudou o caso de uma criança americana nas Filipinas, cuja análise coprológica revelou ovos e duas fêmeas adultas de *S. obvelata* nas fezes. Concluiu que a contaminação accidental de alimentos por ratos infectados teria sido a causa da infecção humana. Em 1944, ovos típicos de *S. obvelata* encontrados na análise coprológica revelaram a infecção de duas crianças nos Estados Unidos. Os aspectos clínicos da infecção por *S. obvelata* não foram estudados (Faust, 1949). A dificuldade em detectar os ovos nas fezes, relativamente raros, a aparente reduzida patogenicidade e as variações sazonais desta espécie levam a crer que os casos humanos poderão estar subdiagnosticados.



Figuras 3.43-3.47 – Fotomicrografias de *S. obvelata*. **3.43** – Aspecto morfológico geral da fêmea. **3.44** – Porção anterior da fêmea evidenciando o bolbo esofágico esférico (seta), a vagina parcialmente projectada (cabeça de seta) e o útero (U) repleto de ovos. **3.45** – Pormenor da zona ventral em vista lateral do macho apresentando três dilatações cuticulares (setas) e pormenor da longa espícula (cabeça de seta) na terminação caudal. **3.46** – Aspecto morfológico geral do macho. **3.47** – Conjunto de ovos em forma de banana resultante da ruptura dos tecidos de uma fêmea grávida.

TRICHURIS MURIS (SCHRANK, 1788) HALL, 1916

Morfologia

Os nemátodes da espécie *Trichuris muris* fazem parte do morfogrupo dos *whipworms* (“vermes chicote”), devido ao seu corpo característico em forma de chicote. A porção anterior do corpo que engloba o esófago (Figura 3.49), é manifestamente mais longa e delgada que a posterior (Figura 3.48). A zona onde o longo e estreito esófago se transforma no intestino corresponde à zona onde a porção anterior se transforma na porção posterior. A boca é simples, não apresentando lábios (Figura 3.50). A superfície ventral da porção anterior apresenta a característica banda bacilar (Figura 3.51). O corpo é revestido por uma fina cutícula estriada transversalmente.

Os machos *T. muris* extraídos de *M. musculus* mediram em média 15,5 mm de comprimento e 0,239 mm de largura na zona de junção do esófago com o intestino. Na porção posterior do corpo, a cauda é espiralada dorsalmente e termina numa espícula longa e pontiaguda de 632,8 µm de comprimento. A espícula encontra-se protegida por uma bainha protudente coberta externamente por pequenos espinhos (Figura 3.54).

As fêmeas *T. muris* extraídas mediram em média 17,4 mm de comprimento e 0,211 mm de largura na zona de junção do esófago com o intestino. A zona final da cauda é arredondada e termina numa pequena saliência (Figura 3.52). A vulva encontra-se na altura da zona de junção do esófago com o intestino. O longo útero é preenchido por ovos. Estes são em forma de barril, com uma espessa cutícula e um opérculo em cada pólo (Figura 3.53). Medem 64,8 µm de comprimento e 30,8 µm de largura.

Hospedeiros & Distribuição geográfica

T. muris é um nemátode vulgarmente encontrado no intestino grosso de *M. musculus*, *Rattus* sp. e outros roedores (Quadro 3.12), que tem sido registado em todo o mundo.

Quadro 3.12 – Espectro de hospedeiros de *T. muris*.

Ordem	Espécies (hospedeiros definitivos)
Roedores	<i>Apodemus sylvaticus</i> , <i>Arvicanthis abyssinicus</i> , <i>Arvicola terrestris</i> , <i>Cricetulus migratorius</i> , <i>Georchus capensis</i> , <i>Holochilus physodes</i> , <i>H. brasiliensis</i> , <i>Loncheres bistrata</i> , <i>Mastomys coucha ugandae</i> , <i>Meriones persicus</i> , <i>M. tristrami</i> , <i>Mesocricetus auratus</i> , <i>M. brandti</i> , <i>Microtus arvalis</i> , <i>M. socialis</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>Trychomys apereoides</i>

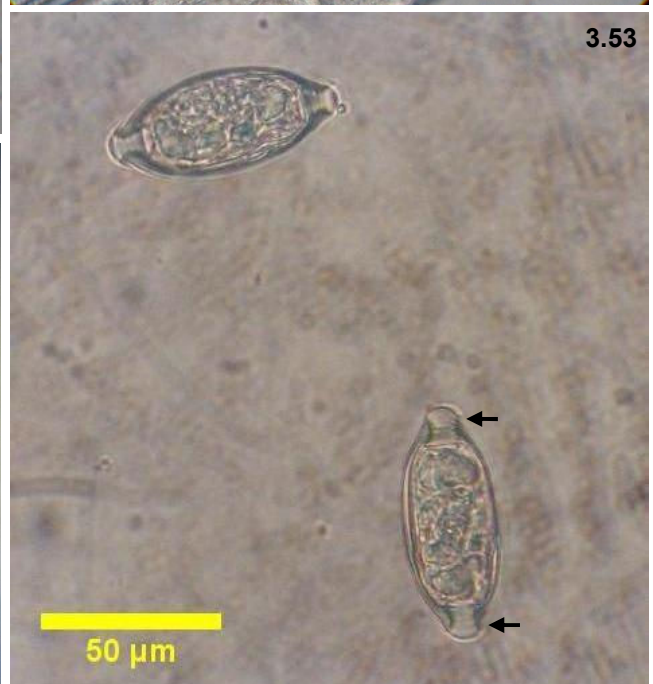
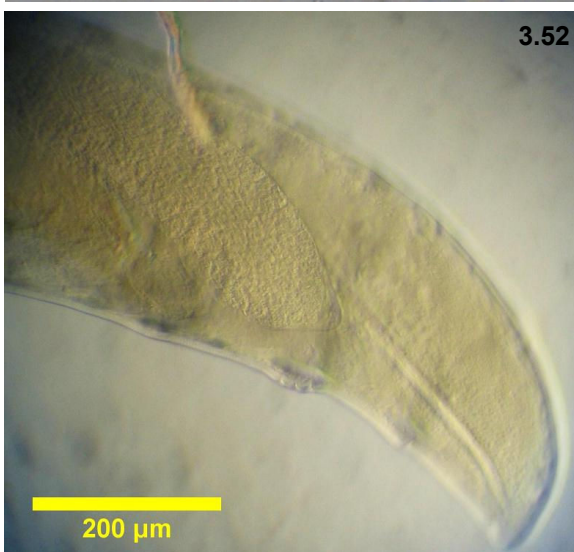
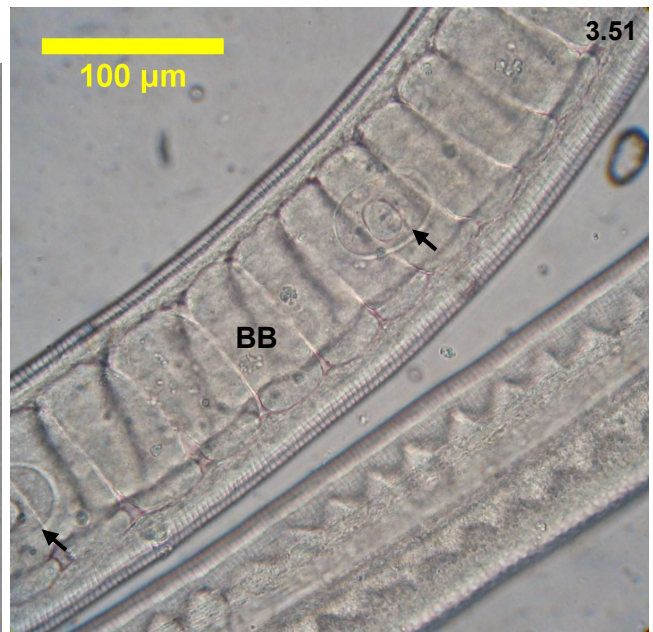
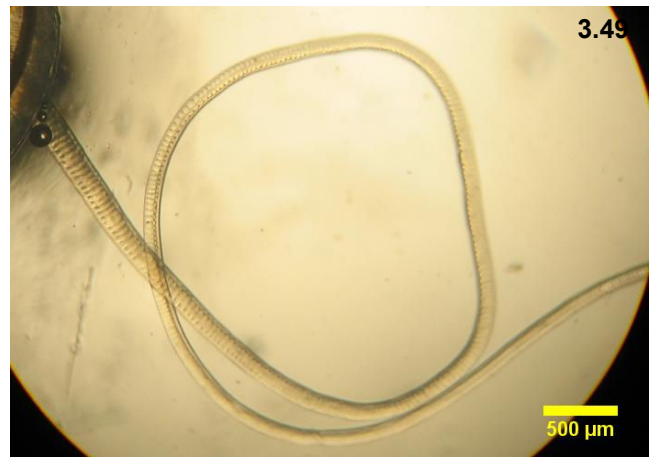
Referências: Skrjabin *et al.*, 1957; Milazzo *et al.*, 2005.

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *T. muris* é directo. Os ovos são ingeridos em alimentos contaminados e eclodem no intestino delgado do hospedeiro. As larvas resultantes migram rapidamente para o intestino grosso e invadem o epitélio da mucosa intestinal onde prosseguem o seu desenvolvimento até à fase adulta. A região esofágica anterior dos parasitas adultos penetra na mucosa em 40-55 dias após infecção enquanto a porção posterior do corpo permanece livre no lúmen intestinal. Em 30-49 dias após infecção, as fêmeas começam a produzir e a libertar ovos no intestino grosso. Comparativamente com as fêmeas, o número de machos vai sendo substancialmente reduzido à medida que a infecção progride. O tempo de vida dos parasitas no hospedeiro não vai além dos 76-100 dias (Pike, 1959; Anderson, 1992).

Potencial zoonótico

Não há casos humanos registados de parasitismo por *T. muris*.





Figuras 3.48-3.54 – Fotomicrografias de *T. muris*. **3.48** – Aspecto geral da porção posterior do macho, onde ocorre o intestino. **3.49** – Aspecto geral da porção anterior, onde ocorre o esôfago. **3.50** – Pormenor da extremidade anterior mostrando a abertura bucal sem lábios. **3.51** – Pormenor da zona esofágica evidenciando a banda bacilar (BB) e os esticócitos (setas). **3.52** – Porção posterior da fêmea. **3.53** – Ovos característicos em forma de barril com um opérculo em cada pólo (setas). **3.54** – Espícula encontrada no término caudal do macho, protegida por uma bainha protudente (B) externamente coberta por pequenos espinhos.

3.1.2. Composição quantitativa

A Tabela 3.1 descreve a composição quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel. Nela é feita referência aos valores obtidos para a prevalência, abundância e carga parasitária. Esta última é definida pela intensidade média e pela amplitude da intensidade (intensidades mínima e máxima).

Tabela 3.1 – Localização anatómica em *M. musculus*, prevalência, intensidade média, abundância média \pm desvio padrão (DP) e amplitude da intensidade de infecção da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel.

Espécie	Localização anatómica	Prevalência (%)	Intensidade média	Abundância média \pm DP	Amplitude da intensidade
CESTODA		21,74			
<i>R. nana</i>	Intestino delgado	10,87	2,40	0,26 \pm 0,90	1 – 6
<i>T. taeniaeformis</i>	Fígado	7,61	1	0,08 \pm 1,94	1
<i>H. diminuta</i>	Intestino delgado	5,43	5,40	0,29 \pm 0,27	1 – 18
NEMATODA		100			
<i>N. brasiliensis</i>	Intestino delgado	100	313,73	313,73 \pm 242,89	3 – 1013
<i>S. obvelata</i>	Intestino grosso	53,26	37,82	20,14 \pm 47,5	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	Fígado	40,22	1,89	0,76 \pm 1,04	1 – 3
<i>T. muris</i>	Intestino grosso	10,87	2,30	0,25 \pm 0,88	1 – 6
<i>M. muris</i>	Estômago	9,78	1,89	0,18 \pm 0,65	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	Intestino grosso	3,26	5	0,16 \pm 1,18	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	Intestino delgado	2,17	1	0,02 \pm 1,15	1
<i>E. gastricus</i>	Estômago	2,17	1	0,02 \pm 1,15	1
<i>G. neoplasticum</i>	Intestino delgado	1,09	27	0,29 \pm 2,81	27

Mais de 30 000 espécimes pertencentes a 11 espécies helmintas (*C. hepaticum* não incluído para efeitos de contagem) foram identificados e colectados neste estudo. Os nemátodes foram o grupo helminta com maior prevalência e maior intensidade média de infecção, ocorrendo em 100% dos hospedeiros e representando 99,81% (30 802) dos espécimes colectados. Por sua vez, os céstodes ocorreram em 21,74% dos hospedeiros e representaram apenas 0,19% (58) dos espécimes colectados.

A riqueza de espécies das infracomunidades helmínticas variou entre 1 e 5 espécies. No gráfico da Figura 3.55 estão representadas as percentagens relativas ao grau de parasitismo dos hospedeiros. Mais especificamente, 19,56% dos hospedeiros estavam infectados por 1 espécie, 33,70% por 2 espécies, 28,26% por 3 espécies, 17,39% por 4 espécies e 1,09% por 5 espécies. A média da riqueza de espécies foi de 2,467 por hospedeiro.

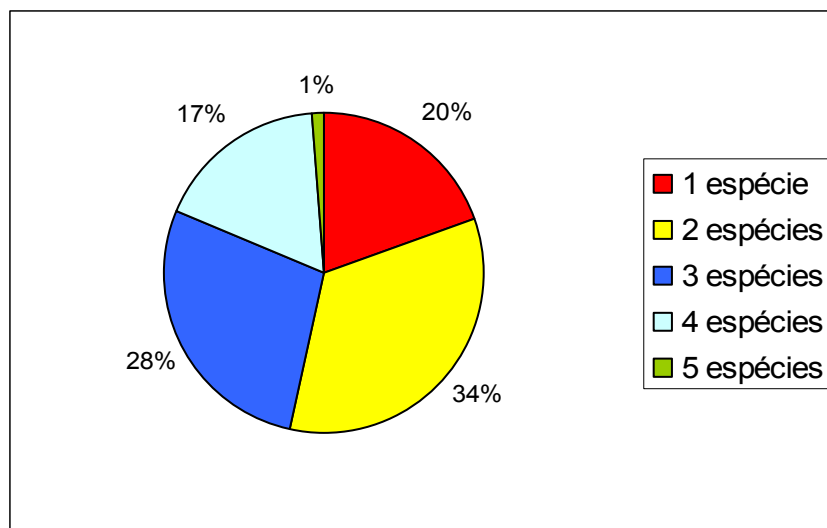


Figura 3.55 – Percentagens de hospedeiros com diferentes graus de parasitismo (N = 92).

3.2. ABORDAGEM ECOLÓGICA DA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

De acordo com os seus valores de importância de Bush, 2 espécies foram classificadas como dominantes e 9 como subordinadas (Tabela 3.2). Nenhuma espécie foi classificada como codominante nem como pioneira mal sucedida. Segundo os valores de prevalência, 1 espécie foi ainda classificada como central, 2 como secundárias e 9 como satélites (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Valores de importância de Bush e classificação consoante o estatuto na comunidade das espécies helmintas de *M. musculus* em São Miguel.

Espécie	Valor de importância de Bush	Classificação da importância	Estatuto na comunidade
CESTODA			
<i>R. nana</i>	0,009	Subordinada	Satélite
<i>H. diminuta</i>	0,005	Subordinada	Satélite
<i>T. taeniaeformis</i>	0,002	Subordinada	Satélite
NEMATODA			
<i>N. brasiliensis</i>	96,66	Dominante	Central
<i>S. obvelata</i>	3,31	Dominante	Secundária
<i>C. hepaticum</i>	†	†	Secundária
<i>T. muris</i>	0,008	Subordinada	Satélite
<i>M. muris</i>	0,006	Subordinada	Satélite
<i>H. spumosa</i>	0,002	Subordinada	Satélite
<i>A. annulosa</i>	0,0002	Subordinada	Satélite
<i>E. gastricus</i>	0,0002	Subordinada	Satélite
<i>G. neoplasticum</i>	0,001	Subordinada	Satélite

(†) Não analisado.

O índice de Simpson calculado para as 11 espécies helmintas de intensidade conhecida foi de 0,878. A diversidade helmíntica média calculada de acordo com o índice de Shannon foi de 0,267. O valor obtido para o índice de equidade de Pielou, de 0,111, foi reduzido, devido ao elevado valor do índice de Simpson.

Os valores obtidos pelo índice de dispersão (Tabela 3.3) indicam que os helmintas em estudo apresentaram uma distribuição agregada, seguindo o padrão da distribuição binomial negativa. De acordo com o índice de Green e com o parâmetro k da distribuição binomial negativa, o grau de agregação pode ser classificado como muito elevado. Apesar da prevalência geral superior a 10%, *C. hepaticum* não foi incluído nesta análise uma vez que não se procedeu à contagem dos helmintas desta espécie.

Tabela 3.3 – Valores dos índices de dispersão e de Green e do parâmetro k da distribuição binomial negativa e classificação da distribuição das espécies helmintas de *M. musculus* em São Miguel.

Espécie	Índice de dispersão	Distribuição	Índice de Green	Parâmetro k
CESTODA				
<i>R. nana</i>	3,11	Binomial negativa	0,092	0,124
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	188,05	Binomial negativa	0,006	1,677
<i>S. obvelata</i>	112,01	Binomial negativa	0,06	0,181
<i>T. muris</i>	3,13	Binomial negativa	0,097	0,117
<i>M. muris</i>	2,25	Binomial negativa	0,078	0,148

Tabela 3.4 – Pares de espécies helmintas co-ocorrentes de *M. musculus* em São Miguel, e respectivos valores do coeficiente de correlação por postos de Spearman (r_s), do teste do qui-quadrado (χ^2) e dos índices não-probabilísticos de associação de Ochiai, Dice e Jaccard (p = nível de significância).

Pares de espécies co-ocorrentes	r_s	p	χ^2	p	Índices		
					Ochiai	Dice	Jaccard
<i>N. brasiliensis</i> - <i>S. obvelata</i>	0,138	0,188	†	†	0,730	0,695	0,533
<i>N. brasiliensis</i> - <i>C. hepaticum</i>	0,273*	0,008	†	†	0,634	0,574	0,402
<i>N. brasiliensis</i> - <i>T. muris</i>	-0,019	0,855	†	†	0,330	0,196	0,109
<i>N. brasiliensis</i> - <i>M. muris</i>	-0,024	0,823	†	†	0,313	0,178	0,098
<i>N. brasiliensis</i> - <i>R. nana</i>	-0,058	0,586	†	†	0,330	0,196	0,109
<i>S. obvelata</i> - <i>C. hepaticum</i>	-0,001	0,992	0,304	0,581	0,493	0,488	0,323
<i>S. obvelata</i> - <i>T. muris</i>	0,101	0,338	1,263	0,261	0,316	0,237	0,135
<i>S. obvelata</i> - <i>M. muris</i>	0,040	0,708	0,720	0,396	0,238	0,172	0,094
<i>S. obvelata</i> - <i>R. nana</i>	0,171	0,104	3,222	0,073	0,361	0,271	0,157
<i>C. hepaticum</i> - <i>T. muris</i>	-0,062	0,560	0,487	0,485	0,156	0,128	0,068
<i>C. hepaticum</i> - <i>M. muris</i>	0,101	0,338	0,976	0,323	0,274	0,217	0,122
<i>C. hepaticum</i> - <i>R. nana</i>	-0,060	0,572	0,481	0,485	0,156	0,128	0,068
<i>T. muris</i> - <i>R. nana</i>	-0,017	0,872	0,009	0,925	0,100	0,100	0,053

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

Dos 13 pares de associações testados, 7 resultaram em correlações negativas e 6 em positivas. Os valores de correlação mais elevados foram obtidos para as associações positivas. Contudo, apenas o par co-ocorrente formado por *N. brasiliensis* e *C. hepaticum* apresentou um valor de correlação positiva significativo entre os respectivos valores de abundância parasitária, além de índices relativamente elevados de associação (Tabela 3.4).

3.3. FACTORES INDUTORES DE VARIABILIDADE NA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

3.3.1. Influência do sexo do hospedeiro

A amostra em estudo constituída por 92 hospedeiros foi subdividida em dois grupos de 50 machos e 42 fêmeas, com o intuito de se analisar a influência do sexo na composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel (Tabelas 3.5 e 3.6, respectivamente para machos e fêmeas).

Na composição qualitativa da helmintofauna em função do sexo salienta-se a ausência de *H. spumosa* nos machos e as ausências de *A. annulosa* e *G. neoplasticum* nas fêmeas.

Em relação à composição quantitativa, os céstodes apresentaram maior prevalência geral nos machos (26% contra 16,67%), sexo em que se detectou o dobro do valor de prevalência de *R. nana*, embora a diferença não seja estatisticamente significativa (consultar Tabela 3.7 para valores estatísticos). Quanto aos nemátodes, para *C. hepaticum* foi detectada uma prevalência superior nos machos (48% contra 30,95%), não significativa para o nível de significância adoptado (significativa, no entanto, para o nível de $P \leq 0,10$). As espécies *S. obvelata* e *T. muris* apresentaram prevalências praticamente idênticas nos dois sexos. O único caso em que as diferenças de prevalência foram estatisticamente significativas diz respeito a *M. muris*, em que as fêmeas apresentaram uma prevalência superior aos machos (4% contra 16,67%). No que diz respeito à carga parasitária, constatou-se que o sexo masculino apresentou intensidades médias superiores estatisticamente significativas para as duas espécies dominantes da comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel, *N. brasiliensis* e *S. obvelata* (361,38 contra 257 e 48,19 contra 25,09, respectivamente). Naturalmente, devido à importância destes helmintas, a carga parasitária correspondente ao total das espécies revelou-se também significativamente maior nos machos. Para as restantes espécies não se assinalaram diferenças significativas.

Tabela 3.5 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função do sexo masculino.

Espécie	Machos (n = 50)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	26			
<i>R. nana</i>	14	2,57	0,36	1 – 6
<i>H. diminuta</i>	6	2,67	0,16	1 – 4
<i>T. taeniaeformis</i>	8	1	0,08	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	361,38	361,38	26 – 1013
<i>S. obvelata</i>	54	48,19	26,02	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	48	1,83	0,88	1 – 3
<i>T. muris</i>	10	2,4	0,24	1 – 6
<i>M. muris</i>	4	1,5	0,06	1 – 2
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	4	1	0,04	1
<i>E. gastricus</i>	2	1	0,02	1
<i>G. neoplasticum</i>	2	27	0,54	27

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.6 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função do sexo feminino.

Espécie	Fêmeas (n = 42)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	16,67			
<i>R. nana</i>	7,14	2	0,14	1 – 3
<i>H. diminuta</i>	4,76	9,50	0,45	1 – 18
<i>T. taeniaeformis</i>	7,14	1	0,07	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	257	257	3 – 926
<i>S. obvelata</i>	52,38	25,09	13,14	1 – 153
<i>C. hepaticum</i>	30,95	2	0,619	1 – 3
<i>T. muris</i>	11,90	2,20	0,26	1 – 4
<i>M. muris</i>	16,67	2	0,33	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	7,14	5	0,36	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	-	-	-	-
<i>E. gastricus</i>	2,38	1	0,02	1
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.7 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência do sexo do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel (p = nível de significância).

Espécie	t	p	χ^2	p
CESTODA				
<i>R. nana</i>	0,350	0,735	1,108	0,293
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	2,369	0,020*	†	†
<i>S. obvelata</i>	2,068	0,044*	0,024	0,877
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	2,759	0,097
<i>T. muris</i>	<0,001	1,000	0,085	0,770
<i>M. muris</i>	-0,460	0,659	4,150	0,042*
TOTAL	2,514	0,014*	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) Teste t-student não aplicável; variável analisada pelo teste U de Mann-Whitney, obtendo-se os valores de $Z = -0,686$ e $p = 0,492$.

3.3.2. Influência da idade do hospedeiro

Com o intuito de se analisar a influência da idade na composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel, subdividiu-se a amostra em estudo constituída por 92 hospedeiros em dois grupos de 60 adultos e 32 juvenis (Tabelas 3.8 e 3.9, respectivamente para adultos e juvenis).

A nível qualitativo, a composição helmíntica dos indivíduos em idade juvenil mostrou-se com uma riqueza específica inferior à dos indivíduos em idade adulta, estando ausentes *H. spumosa*, *E. gastricus* e *G. neoplasticum*.

A nível quantitativo, a prevalência de infecção por céstodes foi a mesma entre os dois grupos etários. Todavia, embora sem uma diferença significativa (consultar Tabela 3.10 para valores estatísticos), *R. nana* apresentou uma prevalência superior nos juvenis (15,63% contra 8,33%). É de salientar que a prevalência de *C. fasciolaris* em adultos alcançou os 10%. Embora assinalável, a prevalência de *T. muris* superior nos adultos (15% contra 3,12%) não é significativa para o nível de significância adoptado (significativa, no entanto, para o nível de $P \leq 0,10$). Para *C. hepaticum* foram encontrados valores de prevalência próximos em ambos os grupos e um valor de intensidade de infecção ligeiramente superior nos adultos (diferença significativa apenas para o nível de $P \leq 0,10$). O valor de intensidade média de *N. brasiliensis* superior nos adultos também não foi estatisticamente significativo. O único caso em que as diferenças relacionadas com a idade, quer em termos de prevalência quer de intensidade, foram estatisticamente significativas foi

o de *S. obvelata*. Para este nemátode, a maior prevalência ocorreu nos juvenis (68,75% contra 45%) enquanto a maior intensidade média ocorreu nos adultos (52,26 contra 20,09).

Tabela 3.8 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função da idade adulta.

Espécie	Adultos (n = 60)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	21,67			
<i>R. nana</i>	8,33	2	0,167	1 – 3
<i>H. diminuta</i>	5	7,67	0,38	1 – 18
<i>T. taeniaeformis</i>	10	1	0,10	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	345,20	345,20	3 – 1013
<i>S. obvelata</i>	45	52,26	23,52	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	41,67	2,04	0,85	1 – 3
<i>T. muris</i>	15	2,44	0,37	1 – 6
<i>M. muris</i>	8,33	2	0,17	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	5	5	0,25	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	1,67	1	0,02	1
<i>E. gastricus</i>	3,33	1	0,03	1
<i>G. neoplasticum</i>	1,67	27	0,45	27

Tabela 3.9 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função da idade juvenil.

Espécie	Juvenis (n = 32)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	21,88			
<i>R. nana</i>	15,63	2,8	0,44	1 – 6
<i>H. diminuta</i>	6,25	2	0,13	1 – 3
<i>T. taeniaeformis</i>	3,13	1	0,03	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	254,72	254,72	26 – 926
<i>S. obvelata</i>	68,75	20,09	13,82	1 – 111
<i>C. hepaticum</i>	37,50	1,58	0,59	1 – 3
<i>T. muris</i>	3,13	1	0,03	1
<i>M. muris</i>	12,50	1,75	0,22	1 – 2
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	3,13	1	0,03	1
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.10 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência da idade do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel (p = nível de significância).

Espécie	t	p	χ^2	p
CESTODA				
<i>R. nana</i>	-0,344	0,740	1,145	0,285
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	1,251	0,214	†	†
<i>S. obvelata</i>	2,186	0,034*	4,729	0,030*
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	0,151	0,698
<i>T. muris</i>	1,045	0,327	3,038	0,081
<i>M. muris</i>	-0,060	0,954	0,411	0,522
TOTAL	1,347	0,181	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) Teste t-student não aplicável; variável analisada pelo teste U de Mann-Whitney, obtendo-se os valores de $Z = -1,697$ e $p = 0,090$.

3.3.3. Influência na condição física do hospedeiro

Neste ponto pretendeu-se analisar a influência das espécies helmintas na condição física dos indivíduos, esta última avaliada com o índice de Davis & Hall (1951), uma vez que a prevalência e intensidade de infecção helmíntica pode afectar a sobrevivência e a *fitness* dos animais infectados (Caughley & Sinclair, 1994; Eira *et al.*, 2006).

Devido à heterogeneidade das dimensões dos indivíduos que compõem a amostra em estudo (Tabela 3.11), os hospedeiros foram separados por sexo e grupo etário na tentativa de homogeneizar a amostra e assim se estabelecerem correlações mais realistas. Além disso, os efeitos deletérios dos helmintas podem diferir entre os subgrupos da população (Haukisalmi *et al.*, 1995). Assim, com esta prévia divisão da amostra a interferência dos factores idade e sexo na avaliação da influência dos parâmetros de parasitação na condição física foi minimizada.

Tabela 3.11 – Valores médios \pm desvio padrão (DP) para a condição física de *M. musculus* em São Miguel, de acordo com o seu grupo etário e sexo.

Sexo	Grupo etário	Condição física
Adultos	Machos	2,491 \pm 0,25
	Fêmeas	2,292 \pm 0,32
Juvenis	Machos	2,256 \pm 0,27
	Fêmeas	2,462 \pm 0,25

A análise estatística aplicada entre a condição física dos hospedeiros e os dois grupos etários revelou que a condição física não é significativamente diferente entre adultos e juvenis ($t = 0,854$; g.l. = 90; $p = 0,396$), mas entre os adultos, foi significativamente diferente entre machos e fêmeas ($t = 2,670$; g.l. = 58; $p = 0,010$). Entre a condição física de machos e fêmeas juvenis também não se obteve uma diferença significativa ($t = -1,746$; g.l.=30; $p = 0,081$). Posto isto, para a análise da influência da prevalência e intensidade de infecção na condição física do hospedeiro os adultos foram analisados separados por sexos (machos adultos e fêmeas adultas) e os juvenis analisados como um só grupo.

Na Tabela 3.12 encontra-se resumida a análise estatística referente às diversas correlações analisadas.

Tabela 3.12 – Valores do coeficiente de correlação por postos de Spearman (r_s) e do coeficiente de correlação de Pearson (r) para avaliar a relação entre a condição física de *M. musculus* em São Miguel (agrupados por sexo e/ou grupo etário) e a abundância e a prevalência de infecção dos componentes da sua comunidade helmíntica (p = nível de significância).

Espécie	Adultos								Juvenis			
	Machos				Fêmeas				r_s	p	r	p
r_s	p	r	p	r_s	p	r	p					
CESTODA												
<i>R. nana</i>	0,147	0,431	0,249	0,176	-0,305	0,107	-0,245	0,200	-0,176	0,336	-0,214	0,240
NEMATODA												
<i>N. brasiliensis</i>	0,011	0,953	†	†	-0,106	0,585	†	†	0,091	0,622	†	†
<i>S. obvelata</i>	0,060	0,750	-0,139	0,456	0,036	0,851	0,013	0,949	0,203	0,265	0,353	0,048*
<i>C. hepaticum</i>	-0,055	0,768	-0,055	0,769	-0,143	0,460	-0,218	0,256	-0,170	0,352	-0,197	0,280
<i>T. muris</i>	0,136	0,467	0,055	0,767	0,369	0,049*	0,334	0,076	0,263	0,146	0,195	0,285
<i>M. muris</i>	0,061	0,743	0,022	0,906	-0,081	0,678	-0,059	0,760	0,069	0,708	0,089	0,627
TOTAL	0,140	0,453	†	†	-0,082	0,674	†	†	0,094	0,611	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo da correlação.

3.3.4. Influência da época de captura

Para analisar a influência da época de captura na composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel, subdividiu-se a amostra total em três grupos correspondentes aos hospedeiros capturados nas três estações do ano amostradas: Outono (com 22 hospedeiros), Inverno (55) e Primavera (15). A composição helmíntica em função da estação do ano encontra-se discriminada nas Tabelas 3.13, 3.14 e 3.15, respectivamente.

Infelizmente não se teve acesso a material biológico correspondente ao ano inteiro, uma vez que a captura de animais esteve restrita ao período compreendido entre Novembro e Março. Deste modo, além de não terem sido contempladas amostras correspondentes ao Verão, o número de amostras analisado não foi homoganeamente distribuído pelas três estações amostradas.

Tabela 3.13 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função da estação do ano (Outono).

Outono (n = 22)				
Espécie	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	22,73			
<i>R. nana</i>	13,64	1,33	0,18	1 – 2
<i>H. diminuta</i>	-	-	-	-
<i>T. taeniaeformis</i>	9,09	1	0,09	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	334	334	3 – 926
<i>S. obvelata</i>	68,18	40,33	27,50	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	50	1,55	0,77	1 – 3
<i>T. muris</i>	4,55	1	0,05	1
<i>M. muris</i>	13,64	1,67	0,23	1 – 2
<i>H. spumosa</i>	4,55	2	0,09	2
<i>A. annulosa</i>	4,55	1	0,05	1
<i>E. gastricus</i>	4,55	1	0,05	1
<i>G. neoplasticum</i>	4,55	27	1,23	27

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.14 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função da estação do ano (Inverno).

Inverno (n = 55)				
Espécie	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	25,45			
<i>R. nana</i>	12,73	2,86	0,36	1 – 6
<i>H. diminuta</i>	9,09	5,40	0,49	1 – 18
<i>T. taeniaeformis</i>	7,23	1	0,07	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	286,87	286,87	29 – 1013
<i>S. obvelata</i>	56,36	36,58	20,62	1 – 165
<i>C. hepaticum</i>	30,91	1,88	0,58	1 – 3
<i>T. muris</i>	14,55	2,50	0,36	1 – 6
<i>M. muris</i>	9,09	2,20	0,20	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	3,64	6,50	0,24	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	1,82	1	0,02	1
<i>E. gastricus</i>	1,82	1	0,02	1
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.15 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função da estação do ano (Primavera).

Espécie	Primavera (n = 15)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	6,67			
<i>R. nana</i>	-	-	-	-
<i>H. diminuta</i>	-	-	-	-
<i>T. taeniaeformis</i>	6,67	1	0,07	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	382,47	382,47	26 – 962
<i>S. obvelata</i>	20	38	7,60	4 – 59
<i>C. hepaticum</i>	60	2,33	1,40	2 – 3
<i>T. muris</i>	6,67	2	0,13	2
<i>M. muris</i>	6,67	1	0,07	1
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	-	-	-	-
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

De um ponto de vista qualitativo, é de salientar que em nenhuma estação do ano se detectaram todas as espécies que compõem a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel, embora no Inverno apenas não se tenha detectado *G. neoplasticum* e no Outono *H. diminuta*. Na Primavera apenas foram detectadas 6 espécies, estando ausentes os céstodes *R. nana* e *H. diminuta* e os nemátodes *H. spumosa*, *A. annulosa*, *E. gastricus* e *G. neoplasticum*.

Tabela 3.16 – Valores dos testes ANOVA (*F*) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência da época de captura do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel (*p* = nível de significância).

Espécie	<i>F</i>	<i>p</i>	χ^2	<i>p</i>
CESTODA				
<i>R. nana</i>	3,305	0,107	2,199	0,333
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	0,356	0,701	†	†
<i>S. obvelata</i>	0,233	0,793	8,846	0,012*
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	5,299	0,071
<i>T. muris</i>	0,478	0,639	1,949	0,377
<i>M. muris</i>	0,543	0,607	0,565	0,754
TOTAL	0,239	0,788	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) ANOVA não aplicável; variável analisada pelo teste de Kruskal-Wallis, obtendo-se os valores de $H = 1,309$ e $p = 0,253$.

A nível quantitativo, registaram-se diferenças significativas entre as estações do ano para a prevalência de infecção por *S. obvelata* (consultar Tabela 3.16 para valores estatísticos). A prevalência deste nemátode foi decrescendo à medida que as três estações se sucederam (Outono: 68,18%; Inverno: 56,36%; Primavera: 20%). Apesar de não significativa, outra diferença assinalável entre as estações do ano foi observada para a prevalência de *C. hepaticum* (diferença significativa, no entanto, para o nível de $P \leq 0,10$). O menor valor de prevalência deste nemátode foi obtido para o Inverno (30,90%) e o mais elevado para a Primavera (60%), seguido pelo Outono (50%).

3.3.5. Influência do local de captura

Para analisar a influência do habitat na composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel, a amostra total foi subdividida em três grupos correspondentes aos hospedeiros capturados nos três habitats. Obteve-se assim um grupo constituído por 29 hospedeiros capturados na floresta, outro grupo constituído por 26 capturados na pastagem e outro por 37 capturados na área peri-urbana (composição helmíntica nas Tabelas 3.17, 3.18 e 3.19, respectivamente).

Tabela 3.17 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função do habitat correspondente à floresta.

Floresta (n = 29)				
Espécie	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	20,69			
<i>R. nana</i>	6,90	2	0,14	1 – 3
<i>H. diminuta</i>	-	-	-	-
<i>T. taeniaeformis</i>	13,79	1	0,14	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	420,31	420,31	94 – 926
<i>S. obvelata</i>	55,17	25,25	13,93	1 – 111
<i>C. hepaticum</i>	51,72	2	1,03	1 – 3
<i>T. muris</i>	-	-	-	-
<i>M. muris</i>	6,90	2,50	0,17	2 – 3
<i>H. spumosa</i>	3,45	2	0,07	2
<i>A. annulosa</i>	-	-	-	-
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.18 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função do habitat correspondente à pastagem.

Espécie	Pastagem (n = 26)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	15,38			
<i>R. nana</i>	3,85	2	0,08	2
<i>H. diminuta</i>	7,69	11	0,85	4 – 18
<i>T. taeniaeformis</i>	7,69	1	0,08	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	259	259	26 – 1013
<i>S. obvelata</i>	61,54	77,25	47,55	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	30,77	1,75	0,54	1 – 3
<i>T. muris</i>	34,62	2,33	0,81	1 – 6
<i>M. muris</i>	-	-	-	-
<i>H. spumosa</i>	7,69	6,50	0,50	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	3,85	1	0,04	1
<i>E. gastricus</i>	7,69	1	0,08	1
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.19 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel em função do habitat correspondente à área peri-urbana.

Espécie	Peri-urbana (n = 37)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	27,03			
<i>R. nana</i>	18,92	2,57	0,49	1 – 6
<i>H. diminuta</i>	8,11	1,67	0,14	1 – 3
<i>T. taeniaeformis</i>	2,70	1	0,03	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	268,65	268,65	3 – 827
<i>S. obvelata</i>	45,95	12,53	5,76	1 – 51
<i>C. hepaticum</i>	37,84	1,86	0,70	1 – 3
<i>T. muris</i>	2,70	2	0,05	2
<i>M. muris</i>	18,92	1,71	0,32	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	2,70	1	0,03	1
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	2,70	27	0,73	27

(-) Espécie não detectada.

Em nenhum dos habitats foram detectadas todas as espécies que compõem a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel. Na floresta não foi detectado o céstode *H. diminuta* nem os nemátodes *T. muris*, *A. annulosa*, *E. gastricus* e *G. neoplasticum*, na pastagem os nemátodes *M. muris* e *G. neoplasticum*, e na área peri-urbana os nemátodes *H. spumosa* e *E. gastricus*. Os céstodes *R. nana* e *T. taeniaeformis* e os nemátodes *N. brasiliensis*, *S. obvelata* e *C. hepaticum* foram transversais aos três habitats estudados.

Assim, na floresta foram detectadas 7 espécies e na pastagem e na área peri-urbana 10 em cada.

Tabela 3.20 – Valores dos testes ANOVA (F) e do qui-quadrado (χ^2) para a análise da influência do habitat do hospedeiro na intensidade média e prevalência, respectivamente, na comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel (p = nível de significância).

Espécie	F	p	χ^2	p
CESTODA				
<i>R. nana</i>	0,069	0,934	4,271	0,118
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	5,095	0,008*	†	†
<i>S. obvelata</i>	4,674	0,014*	1,554	0,460
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	2,650	0,266
<i>T. muris</i>	0,008	0,931	21,216	<0,001*
<i>M. muris</i>	1,457	0,267	6,592	0,037*
TOTAL	4,339	0,016*	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) ANOVA não aplicável; variável analisada pelo teste de Kruskal-Wallis, obtendo-se os valores de $H = 0,697$ e $p = 0,706$.

Em relação às prevalências de infecção, apenas se registaram diferenças significativas entre os habitats para *T. muris* e *M. muris*, nemátodes que não ocorreram na floresta nem na pastagem, respectivamente (consultar Tabela 3.20 para valores estatísticos não mencionados no texto). Os valores de prevalência sugerem que *T. muris* ocorre preferencialmente no habitat pastagem, mesmo em detrimento da área peri-urbana (34,62% contra 2,7%; $\chi^2 = 11,646$, g.l. = 1, $p = 0,001$). Já *M. muris* parece ocorrer preferencialmente na área peri-urbana em detrimento da floresta, embora não significativamente (18,92% contra 6,90%; $\chi^2 = 1,995$, g.l. = 1, $p = 0,158$). Quanto à intensidade média de parasitação, foram registadas diferenças significativas entre habitats para *N. brasiliensis* e *S. obvelata*. A maior intensidade de *N. brasiliensis* foi detectada na floresta, enquanto a maior intensidade de *S. obvelata* foi detectada na pastagem. A floresta foi, inevitavelmente, o habitat com maior carga parasitária correspondente ao total das espécies devido ao peso de *N. brasiliensis* na comunidade helmíntica.

3.4. RELAÇÃO ENTRE MACRO E MICROPARASITISMO

Dos 92 hospedeiros que constituem a amostra em estudo, 77,17% encontrava-se infectado por *Leptospira* sp., o agente etiológico da leptospirose. Neste ponto pretendeu-se analisar a possível associação entre o microparasitismo protagonizado por esta bactéria e o macroparasitismo protagonizado pelas espécies helmintas que constituem a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel, relacionando para isso as prevalências e intensidades de infecção dos helmintas com a presença ou a ausência da bactéria.

Da análise da Tabela 3.21 verifica-se que a prevalência de infecção por *Leptospira* sp. variou consoante o sexo e o grupo etário dos hospedeiros. De facto a análise estatística revelou que a prevalência de infecção não é independente do grupo etário, mais concretamente, que os adultos apresentavam uma taxa de infecção significativamente superior à dos juvenis ($\chi^2 = 8,824$; g.l. = 1; $p = 0,003$). Contudo, a prevalência de infecção já não foi significativamente diferente entre machos e fêmeas adultos ($\chi^2 = 2,629$; g.l. = 1; $p=0,105$) nem entre machos e fêmeas juvenis ($\chi^2 = 1,587$; g.l. = 1; $p = 0,208$). Posto isto, para a análise da possível relação entre helmintas e *Leptospira* sp. os adultos foram analisados como um só grupo e os juvenis como outro, caso contrário o factor idade influenciaria os resultados

Tabela 3.21 – Prevalência de infecção por *Leptospira* sp. em *M. musculus* de São Miguel, de acordo com o seu grupo etário e sexo.

Grupo Etário	Sexo	Prevalência (%)
Adultos	Machos	93,55
	Fêmeas	79,31
Juvenis	Machos	68,42
	Fêmeas	46,15

A nível qualitativo, todas as espécies helmintas que constituem a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel foram detectadas nos hospedeiros adultos co-infectados com *Leptospira* sp. (Tabela 3.22). Já nos hospedeiros adultos não infectados pela bactéria (Tabela 3.23), o céstode *R. nana* e os nemátodes *T. muris*, *M. muris*, *A. annulosa* e *G. neoplasticum* não foram detectados. Todavia, apesar da assinalável ausência de *R. nana*, *T. muris* e *M. muris*, na medida em que são espécies com prevalências para a população total na ordem dos 10%, estes resultados poderão estar enviesados devido ao número reduzido de hospedeiros negativos para *Leptospira* sp.

Quantitativamente não foram encontradas grandes diferenças entre as prevalências e intensidades de infecção para as subpopulações adultas infectadas e não infectadas por *Leptospira* sp. Além da prevalência exclusiva de *R. nana*, *T. muris* e *M. muris*, os indivíduos

infectados por *Leptospira* sp. tenderam a apresentar maiores níveis de parasitismo pelas espécies mais importantes da comunidade, *N. brasiliensis* e *S. obvelata*, embora a diferença não seja estatisticamente significativa (Tabela 3.24). Contrariando esta tendência, *C. hepaticum* apresentou uma prevalência estatisticamente superior em adultos não infectados por *Leptospira* sp. (36,54% contra 75%).

Tabela 3.22 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* adultos em São Miguel em função da positividade (+) para *Leptospira* sp.

Espécie	<i>Leptospira</i> sp. (+) (n = 52)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	23,08			
<i>R. nana</i>	9,62	2	0,19	1 – 3
<i>H. diminuta</i>	3,85	2,50	0,10	1 – 4
<i>T. taeniaeformis</i>	9,62	1	0,10	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	347,54	347,54	3 – 1013
<i>S. obvelata</i>	48,08	55,68	26,77	1 – 325
<i>C. hepaticum</i>	36,54	2,11	0,77	1 – 3
<i>T. muris</i>	17,31	2,44	0,42	1 – 6
<i>M. muris</i>	9,62	2	0,19	1 – 4
<i>H. spumosa</i>	1,92	2	0,04	2
<i>A. annulosa</i>	1,92	1	0,02	1
<i>E. gastricus</i>	1,92	1	0,02	1
<i>G. neoplasticum</i>	1,92	27	0,52	27

Tabela 3.23 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* adultos em São Miguel em função da negatividade (-) para *Leptospira* sp.

Espécie	<i>Leptospira</i> sp. (-) (n = 8)			
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	12,50			
<i>R. nana</i>	-	-	-	-
<i>H. diminuta</i>	12,50	18	2,25	18
<i>T. taeniaeformis</i>	12,50	1	0,13	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	330	330	42 – 794
<i>S. obvelata</i>	25	9,50	2,38	5 – 14
<i>C. hepaticum</i>	75	1,83	1,38	1 – 3
<i>T. muris</i>	-	-	-	-
<i>M. muris</i>	-	-	-	-
<i>H. spumosa</i>	25	6,50	1,63	2 – 11
<i>A. annulosa</i>	-	-	-	-
<i>E. gastricus</i>	12,50	1	0,13	1
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.24 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a intensidade média e prevalência, respectivamente, para a análise da relação entre *Leptospira* sp. e as espécies que constituem a comunidade helmíntica de *M. musculus* adultos em São Miguel (p = nível de significância).

Espécie	t	p	χ^2	p
CESTODA				
<i>R. nana</i>	#	#	0,839	0,360
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	0,012	0,991	†	†
<i>S. obvelata</i>	-0,777	0,444	1,492	0,222
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	4,220	0,040*
<i>T. muris</i>	#	#	1,629	0,202
<i>M. muris</i>	#	#	0,839	0,360
TOTAL	-0,031	0,975	†	†

(*) Valor significativo.

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) Teste t-student não aplicável; variável analisada pelo teste *U* de Mann-Whitney, obtendo-se os valores de $Z = -1,685$ e $p = 0,092$.

(#) Não calculado; espécie só ocorreu em hospedeiros positivos para *Leptospira* sp., facto que não permitiu o cálculo do teste t-student.

Para os juvenis, a nível qualitativo, *T. muris* destaca-se como estando uma vez mais ausente da subpopulação não infectada (Tabelas 3.25 e 3.26). Quantitativamente, e à semelhança dos adultos, não foram encontradas diferenças significativas entre as prevalências e intensidades de infecção para as duas subpopulações juvenis, infectada e não infectada por *Leptospira* sp. (Tabela 3.27). Ainda assim, salienta-se o facto de a prevalência de *C. hepaticum* ter sido superior em juvenis infectados pela bactéria (47,37% contra 23,08%), e a prevalência de *S. obvelata* superior nos não infectados (84,62% contra 57,89%), ambas as espécies contrariando deste modo a tendência verificada nos adultos.

Tabela 3.25 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* juvenis em São Miguel em função da positividade (+) para *Leptospira* sp.

<i>Leptospira</i> sp. (+) (n = 19)				
Espécie	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	15,79			
<i>R. nana</i>	15,79	3	0,47	1 – 6
<i>H. diminuta</i>	-	-	-	-
<i>T. taeniaeformis</i>	-	-	-	-
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	244,95	244,95	29 – 926
<i>S. obvelata</i>	57,89	23,55	13,63	1 – 111
<i>C. hepaticum</i>	47,37	1,56	0,74	1 – 2
<i>T. muris</i>	5,26	1	0,05	1
<i>M. muris</i>	10,53	1,50	0,16	1 – 2
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	5,26	1	0,05	1
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.26 – Composição qualitativa e quantitativa da helmintofauna de *M. musculus* juvenis em São Miguel em função da negatividade (-) para *Leptospira* sp.

<i>Leptospira</i> sp. (-) (n = 13)				
Espécie	Prevalência (%)	Intensidade Média	Abundância Média	Amplitude da intensidade
CESTODA	30,77			
<i>R. nana</i>	15,38	2,50	0,38	1 – 4
<i>H. diminuta</i>	15,38	2	0,31	1 – 3
<i>T. taeniaeformis</i>	7,69	1	0,08	1
NEMATODA	100			
<i>N. brasiliensis</i>	100	269	269	26 – 582
<i>S. obvelata</i>	84,62	16,64	14,08	1 – 104
<i>C. hepaticum</i>	23,08	1,67	0,38	1 – 2
<i>T. muris</i>	-	-	-	-
<i>M. muris</i>	15,38	2	0,31	2
<i>H. spumosa</i>	-	-	-	-
<i>A. annulosa</i>	-	-	-	-
<i>E. gastricus</i>	-	-	-	-
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	-	-

(-) Espécie não detectada.

Tabela 3.27 – Valores dos testes t-student (t) e do qui-quadrado (χ^2) para a intensidade média e prevalência, respectivamente, para a análise da relação entre *Leptospira* sp. e as espécies que constituem a comunidade helmíntica de *M. musculus* juvenis em São Miguel (p = nível de significância).

Espécie	t	p	χ^2	p
CESTODA				
<i>R. nana</i>	-0,159	0,884	0,001	0,975
NEMATODA				
<i>N. brasiliensis</i>	0,486	0,631	†	†
<i>S. obvelata</i>	-0,793	0,437	2,565	0,109
<i>C. hepaticum</i>	‡	‡	1,943	0,163
<i>T. muris</i>	#	#	0,706	0,401
<i>M. muris</i>	1,000	0,423	0,167	0,683
TOTAL	0,547	0,589	†	†

(†) Não calculado; *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência de 100%, facto que não permitiu o cálculo do χ^2 .

(‡) Teste t-student não aplicável; variável analisada pelo teste U de Mann-Whitney, obtendo-se os valores de $Z = -1,269$ e $p = 0,204$.

(#) Não calculado; espécie só ocorreu em hospedeiros positivos para *Leptospira* sp., facto que não permitiu o cálculo do teste t-student.

CAPÍTULO 4

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. COMPOSIÇÃO DA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

4.1.1. Composição qualitativa

A helmintofauna de *M. musculus* da ilha açoriana de São Miguel é constituída por 12 espécies helmintas, 3 das quais pertencentes à Classe Cestoda e 9 ao Filo Nematoda. Não foi detectada nenhuma espécie representante da Classe Trematoda. Quando os hospedeiros são abruptamente introduzidos num novo habitat têm tendência em perder as espécies tremátodes, que geralmente possuem um ciclo de vida complexo, associado a recursos hídricos e envolvendo um ou mais hospedeiros intermediários. Outro grupo helminta não representado na helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel é o Filo Acanthocephala. Tal ausência não é de todo surpreendente, pois o número de espécies Acanthocephala descrito em roedores é muito reduzido (Singla *et al.*, 2008). A título de exemplo, na Península Ibérica, onde o estudo helmintológico de pequenos mamíferos tem sido bastante extensivo, apenas *Moniliformis moliniformis* foi identificado em *R. norvegicus* (Ribas & Casanova, 2006).

Foi a primeira vez que os céstodes *R. nana* e *C. fasciolaris* e os nemátodes *A. annulosa* e *G. neoplasticum* foram detectados em *M. musculus* de São Miguel. Em relação a *G. neoplasticum*, além de ter sido a primeira vez que a espécie foi identificada nesta ilha, este foi também o primeiro caso de infecção de *M. musculus* por *G. neoplasticum* identificado em Portugal. De facto, a nível mundial são extremamente raros os casos reportados de parasitismo por *G. neoplasticum* em *M. musculus*. Durante muitos anos pensou-se que a infecção neste roedor estava restrita aos casos de infecção experimental em laboratório, até que Oliveira Rodrigues & Lopes dos Santos (1984) detectaram no Brasil o primeiro caso mundial de infecção natural em *M. musculus*. Por outro lado, este foi também o primeiro caso descrito a nível mundial de parasitismo por *G. neoplasticum* no intestino. Excluiu-se a possibilidade de se tratar de um caso de migração *post mortem* devido ao elevado número de espécimes colectados da mucosa intestinal onde se encontravam fixados ou embebidos. Além disso, todos os hospedeiros capturados foram mortos em laboratório e os órgãos removidos e imediatamente congelados.

A helmintofauna de espécies em ambiente insular apresenta tipicamente uma riqueza específica relativamente reduzida, quando em comparação com as suas contrapartes continentais (Fromont, 2001; Beadell *et al.*, 2006; Nieberding *et al.*, 2006; López-Darias *et al.*, 2008). Tal deve-se em parte ao número geralmente reduzido de

hospedeiros fundadores que colonizam as ilhas (Dobson, 1988), ao facto destes provavelmente estarem infectados por um menor número de parasitas (Goüy de Bellocq *et al.*, 2002), e ao isolamento ou à distância destas populações fundadoras das populações continentais infectadas (Poulin & Morand, 1999; McCallum *et al.*, 2001).

No entanto, apesar da história recente da introdução de *M. musculus* nos Açores e da localização geográfica do arquipélago, não se encontrou um efeito significativo da insularidade na riqueza de espécies em *M. musculus* de São Miguel. Por exemplo, Feliu *et al.* (1997) detectaram 15 espécies helmintas em *M. musculus* de Espanha, face às 12 detectadas neste estudo. Além disso, apesar de se suspeitar que o número de espécies parasitas encontrado em ilhas oceânicas é inferior ao de ilhas continentais (Foronda *et al.*, 2003), o número de espécies helmintas detectado em São Miguel revelou-se superior ao número detectado em *M. musculus* de muitas ilhas mediterrânicas, mesmo de maiores dimensões (Milazzo *et al.*, 2003). Existem inclusivamente estudos em zonas da Europa Continental (Mažeika *et al.*, 2003; Grikenienė, 2005; Izdebska & Rolbiecki, 2006; Kataranovski *et al.*, 2008) e de outras regiões continentais do globo (Pulido-Flores *et al.*, 2005; Landaeta-Aqueveque *et al.*, 2007) que apresentaram riquezas específicas inferiores à detectada no presente estudo.

Sendo uma espécie associada ao homem, *M. musculus* pode migrar e colonizar ambientes insulares com relativa facilidade através do transporte humano (Goüy de Bellocq *et al.*, 2002). Este facto aliado à posição geoestratégica dos Açores, onde todos os anos aporta grande número de barcos e navios, pode traduzir-se na potencial chegada de novas espécies helmintas com a chegada de novos hospedeiros *M. musculus* à ilha de São Miguel. Além disso, como sugerido por Torchin *et al.* (2003), o estabelecimento das novas espécies poderá ser facilitado pela elevada densidade populacional dos roedores na ilha.

4.1.2. Composição quantitativa

Todos os hospedeiros *M. musculus* analisados encontravam-se parasitados por pelo menos uma espécie helminta. Esta elevada prevalência é justificada em grande parte pela prevalência de 100% que o nemátode *N. brasiliensis* alcançou na população estudada. Este nemátode atingiu ainda uma elevada intensidade média (313,73 parasitas por hospedeiro). O parasitismo pode ser um custo associado à densidade do hospedeiro (Morand & Poulin, 1998). Segundo Arneberg *et al.* (1998) existe uma relação positiva entre a densidade populacional do hospedeiro e a abundância de parasitas: à medida que a densidade populacional do hospedeiro aumenta, também deverá aumentar a abundância de parasitas na comunidade. É provável que este fenómeno se deva ao aumento da probabilidade de um

ovo ou larva entrar em contacto com um hospedeiro quando o número de hospedeiros disponível é mais elevado (Anderson & May, 1978; May & Anderson, 1978). Deste modo os dados parasitológicos obtidos apontam para uma elevada densidade populacional de *M. musculus* na ilha de São Miguel, aliás confirmada pelos estudos levados a cabo no âmbito do projecto “Epidemiologia e Controlo da Leptospirose nos Açores” (Collares-Pereira *et al.*, 2007). Além disso, o parasitismo pode ser um custo associado à socialização. É reconhecido que o comportamento social do hospedeiro tem um grande efeito na transmissão de parasitas de ciclo de vida directo. Para o caso em estudo, o facto de *M. musculus* ser um animal gregário que forma grandes unidades familiares pode promover o contacto entre indivíduos susceptíveis e infectados (Ezenwa, 2004), levando assim ao aumento da prevalência e intensidade de infecções helmínticas na população hospedeira. A virulência de *N. brasiliensis* deve ser também reduzida o suficiente para permitir tão elevada prevalência, caso contrário a prevalência na população seria pequena, pois os indivíduos infectados não sobreviveriam muito tempo (van Boven & Weissing, 2004). Além da elevada densidade populacional de *M. musculus* em São Miguel, também há que ter em conta que os ovos e as fases de vida livre de *N. brasiliensis* e de outros helmintas podem beneficiar das temperaturas amenas e da elevada humidade características de São Miguel necessárias para o seu desenvolvimento (Anderson, 1992).

4.2. ABORDAGEM ECOLÓGICA DA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

A colonização dos hospedeiros pelos helmintas depende da sobrevivência das fases de desenvolvimento de vida livre no novo ambiente e da disseminação dos helmintas relativamente à dinâmica populacional do hospedeiro (Dobson & May, 1986). Por este motivo, espécies helmintas de ciclo de vida directo são normalmente encaradas como boas colonizadoras (Morand, 1996). Por outro lado, tem-se assumido que helmintas com ciclo de vida indirecto não são colonizadores tão eficientes devido à ausência dos hospedeiros intermediários necessários para completarem o seu desenvolvimento no novo habitat (Dobson & May, 1986). Das 12 espécies identificadas neste estudo, apenas 3 (25%) ou 4 (33,3%) se contarmos com *R. nana*, possuem um ciclo de vida indirecto. De facto, a contribuição dos dois ciclos de vida para a população de *R. nana* em *M. musculus* no estado selvagem é desconhecida (Mackiewicz, 1988). As restantes espécies possuem então um ciclo de vida directo. De um modo geral, todas as espécies identificadas podem ser consideradas como eurixenas, ou seja, apresentam reduzida especificidade parasitária, podendo por isso infectar uma ampla variedade de hospedeiros.

A classificação das populações de endoparasitas de acordo com os valores de importância de Bush é primordial para a avaliação quantitativa da importância relativa dessas populações na comunidade de endoparasitas de um dado hospedeiro. *N. brasiliensis* e *S. obvelata*, foram classificadas como espécies dominantes, ou seja, contribuem significativamente para a comunidade helmíntica de *M. musculus*. As duas espécies foram responsáveis por 93,53% e 6% dos helmintas colectados, respectivamente. As outras nove espécies foram classificadas como subordinadas, apresentando uma contribuição muito menos significativa para a comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel.

Em relação ao estatuto das espécies na comunidade helminta, apenas *N. brasiliensis* apresentou uma prevalência suficientemente elevada para ser classificada como espécie central, o que corresponde a uma espécie regionalmente comum e localmente abundante. *S. obvelata* foi classificada juntamente com *C. hepaticum* como espécie secundária. A prevalência relativamente reduzida das restantes nove espécies justifica a sua classificação como espécies satélites, ou seja, espécies que tendem a colonizar poucos hospedeiros, e quando o fazem ocorrem em pequeno número.

O elevado valor do índice de Simpson obtido corresponde a uma reduzida biodiversidade de espécies e indicia claramente a existência de pelo menos uma espécie dominante na comunidade helmíntica de *M. musculus*, que poderá influenciar o tamanho das outras infrapopulações.

O índice de Shannon e o índice de equidade de Pielou sugerem uma tendência para a homogeneidade da comunidade helmíntica e que alguma espécie apresentou uma intensidade de infecção suficientemente elevada para influenciar o tamanho das outras infrapopulações de helmintas. Os resultados obtidos apontam claramente para *N. brasiliensis* como sendo a única espécie capaz de exercer tal influência, pois além de constituir o principal componente da comunidade helminta, é a espécie dominante e de maior importância nas infracomunidades helmínticas de *M. musculus* em São Miguel.

O carácter agregado da distribuição dos helmintas significa que a maioria dos hospedeiros alberga poucos helmintas, enquanto que um número relativamente pequeno de hospedeiros concentra a maioria dos helmintas. Este tipo de distribuição agregada é típico de grande parte dos sistemas parasitários (von Zuben, 1997; Shaw *et al.*, 1998; Galvani, 2003) e resulta da heterogeneidade na susceptibilidade dos hospedeiros, que surge devido às diferenças comportamentais, genéticas ou imunológicas, ou ainda devido à possibilidade de contacto com aglomerados de estádios infecciosos que se encontrem no ambiente (Anderson & Gordon, 1982).

As interacções entre as espécies são processos importantes para a compreensão global da ecologia dessas mesmas espécies. Num determinado hospedeiro, são diversos os factores que podem influenciar a interacção entre espécies co-ocorrentes. Um possível

padrão de associação interespecífico entre duas espécies irá variar consoante estas preferam ou evitem o mesmo micro-habitat de parasitação, apresentem algum grau de repulsa ou atracção natural entre elas, ou não apresentem qualquer tipo de interacção. Assim, as associações interespecíficas podem ser positivas, negativas ou inexistentes (Poulin, 1997). O facto de as espécies do par co-ocorrente formado por *N. brasiliensis* e *C. hepaticum* se encontrarem espacialmente separadas, uma vez que parasitam órgãos distintos do hospedeiro (intestinos e fígado, respectivamente), não impede a ocorrência de uma correlação positiva entre ambas e a sua interacção. Por exemplo, mesmo helmintas restringidos ao tracto gastrointestinal podem ter efeitos imunológicos sistémicos via citocinas, moléculas sinalizadoras consideradas pouco específicas (Mohrs *et al.*, 2005), e deste modo interagir com outros helmintas. Contudo, quando as espécies parasitas ocorrem em tecidos diferentes a natureza de tal interacção não é tão óbvia (Janovy, 2002). A detecção de um padrão de associação interespecífico não fornece a explicação da causa de tal padrão, devendo apenas ser encarada como o ponto de partida para um futuro estudo da interacção entre as espécies associadas. Para a espécie hospedeira em estudo, a associação entre *N. brasiliensis* e *C. hepaticum* sugerida pelos valores obtidos, é um caso que merece ser investigado futuramente. É provável que tal associação passe pela interacção da fase de *larva migrans* de *N. brasiliensis*, que pode inclusivamente alcançar o fígado, com *C. hepaticum*, ou a presença de uma das espécies ao modificar o micro-habitat pode alterar a susceptibilidade do hospedeiro à outra (Lotz & Font, 1994). É ainda de assinalar que *M. muris* não co-ocorreu com *T. muris* nem com *R. nana* nos hospedeiros *M. musculus* analisados. Com apenas uma associação positiva significativa detectada, as interacções entre as espécies helmintas de *M. musculus* em São Miguel podem ser consideradas raras ou mesmo ausentes. Tal como sugerido por Kennedy *et al.* (1986), esta condição pode ser o reflexo da reduzida riqueza de espécies e dos reduzidos valores de abundância encontrados para grande parte das espécies colectadas.

Stock & Holmes (1988) consideraram os dois tipos de comunidades parasitárias, a interactiva, com espécies centrais e associações interespecíficas, e a isolacionista, sem evidências de espécies centrais e associações interespecíficas, não como um padrão onde se poderiam classificar todos os tipos de comunidades parasitárias, mas como um *continuum* formado por um conjunto de comunidades com características intermédias entre os dois tipos. Além da escassez de pares de espécies associadas, a comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel apresentou poucas espécies com prevalências e abundâncias elevadas, pelo que parece ser uma comunidade mais próxima do tipo isolacionista. Os resultados parecem estar de acordo com Poulin (1997), segundo o qual a maioria das comunidades parasitas de hospedeiros vertebrados é isolacionista.

4.3. FACTORES INDUTORES DE VARIABILIDADE NA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

Neste ponto será discutida a influência de diversos factores, tanto intrínsecos ao hospedeiro (sexo, idade, dimensões corporais e condição física) como ambientais (época anual de captura e habitat do hospedeiro), na composição da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel.

4.3.1. Influência do sexo do hospedeiro

O sexo do hospedeiro parece não exercer influência na composição qualitativa da helmintofauna uma vez que as diferenças constatadas referem-se a espécies que apresentam uma prevalência muito reduzida no hospedeiro estudado. No entanto, de um ponto de vista quantitativo, o sexo já parece exercer influência na composição da mesma.

Os dados sugerem que os indivíduos do sexo masculino tendem a apresentar maior prevalência e principalmente, tendo em conta a importância das espécies envolvidas, maior carga parasitária, o que está em linha com vários estudos que indicam que *M. musculus* do sexo masculino apresentam maiores prevalências e intensidades de infecção que o sexo feminino (Poulin, 1996; Schalk & Forbes, 1997; Kataranovski *et al.*, 2008). É interessante realçar que os resultados obtidos neste estudo relacionados com a intensidade de infecção por *N. brasiliensis* em *M. musculus* selvagens estão de acordo com o verificado em condições experimentais por Neafie & Haley (1962), que demonstraram que os machos apresentam uma carga parasitária deste nemátode muito superior às fêmeas. Outros estudos também demonstraram que as fêmeas são mais resistentes à infecção por *Aspicularis tetraptera*, um oxiurídeo tal como *S. obvelata*, apresentando menores valores de intensidade que os machos (Mathies, 1954; Behnke, 1975).

Na verdade, têm sido reportados diferentes níveis de parasitismo entre os dois sexos em várias espécies de mamíferos, com os machos tendencialmente a hospedar mais parasitas que as fêmeas ou a sofrer mais intensamente os seus efeitos (Reimchen & Nosil, 2001; Zuk, 2009). Alguns estudos sugerem que machos de espécies que apresentam um sistema de poliginia, como *M. musculus*, investem menos no sistema imunitário que as fêmeas conspecíficas (Zuk, 1990). Baseiam-se na “hipótese do macho susceptível”, de acordo com a qual os machos ganham mais em investir em características relacionadas com o sucesso reprodutor a curto prazo do que a investir em características imunitárias que afectam a longevidade (Forbes, 2007). Este não parece ser o caso das fêmeas, que

precisam de investir pouco para garantir o acasalamento, estando por isso mais livres para investir num sistema imunitário que lhes confere maior longevidade (Stoehra & Kokko, 2006; Forbes, 2007). Por outro lado, em consequência da competição por parceiras e da defesa territorial, os machos estão sujeitos a elevados níveis de stress e podem apresentar-se mais debilitados fisicamente, estando assim mais susceptíveis a infecções (Zuk, 1990; Herbert & Cohen, 1993; Braude *et al.*, 1999). Além disso, acredita-se que a testosterona, hormona masculina necessária para um comportamento agressivo e para o desenvolvimento de caracteres sexuais secundários, tenha efeitos imunossupressores no sistema imunitário (Folstad & Karter, 1992; Stoehra & Kokko, 2006). Esta redução da imunocompetência poderá influenciar também a maior susceptibilidade dos machos a parasitas (Ezenwa, 2004; Skorping & Jensen, 2004). A influência do sexo nas infecções por parasitas pode ainda ter origem em diferenças comportamentais ou ecológicas (Ezenwa, 2004). Por exemplo, a maior actividade dos machos ou a maior área vital destes pode resultar em diferentes exposições a parasitas não relacionadas com os custos desiguais da reprodução (Hughes & Randolph, 2001; Reimchen & Nosil, 2001). Tal como sugerido por Layne & Griffo (1960), esta maior área vital poderá estar na origem da prevalência em *C. hepaticum* superior nos machos detectada neste estudo.

Por outro lado, *M. muris* é a única espécie cuja prevalência é superior nas fêmeas. Este nemátode de ciclo de vida indirecto possui diversas espécies de insectos como hospedeiros intermediários, nomeadamente algumas espécies de escaravelhos e baratas. A maior prevalência em fêmeas poderá indicar uma maior acção predatória e consumo por parte do sexo feminino de espécies de insectos hospedeiras intermediárias de *M. muris*. É provável que este consumo se deva a uma necessidade energética e proteica das fêmeas superior à dos machos.

4.3.2. Influência da idade do hospedeiro

A idade do hospedeiro é um factor que se sabe ter influência na estrutura das comunidades helmínticas de roedores selvagens (Bajer *et al.*, 2005). A composição helmíntica dos indivíduos em idade juvenil mostrou-se com uma riqueza específica inferior à dos indivíduos em idade adulta. No entanto, as espécies ausentes nos juvenis apresentam prevalências muito reduzidas mesmo em adultos, pelo que a idade não parece ter um papel preponderante em termos qualitativos na composição helmíntica. De um ponto de vista quantitativo já foram encontradas diferenças assinaláveis.

A prevalência de *R. nana* superior nos juvenis está de acordo com alguns estudos que sugerem que os adultos tendem a ser mais resistentes à infecção por este céstode

(Furukawa *et al.*, 1982). Em humanos, as crianças também são o grupo etário mais susceptível. Ainda em relação aos céstodes, a prevalência de *C. fasciolaris* superior em adultos poderá resultar da maior exposição destes ao ambiente e conseqüentemente à maior probabilidade de contactarem com fezes de gatos infectados (Farhang-Azad, 1977b).

Alguns estudos referentes a *Rattus* sp. sugerem que a prevalência em *C. hepaticum* aumenta com a idade do hospedeiro, o mesmo se passando com a intensidade de infecção (Farhang-Azad, 1977a; Chieffi *et al.*, 1981), provavelmente devido à maior exposição ambiental dos adultos que além de maiores territórios tiveram um período de vida mais longo (Layne & Griffio, 1960). A proximidade dos valores de prevalência de *C. hepaticum* detectada no presente estudo entre adultos e juvenis não permite corroborar esta situação em *M. musculus*, apesar da diferença dos valores de intensidade já ser mais significativa.

Curiosamente, a maior prevalência de *S. obvelata* em juvenis e a maior intensidade média nos adultos traduz-se na prática numa subpopulação deste oxiurídeo mais agregada nos adultos e numa mais dispersa nos juvenis. De acordo com Taffs (1976) e Bazzano *et al.* (2002), este tipo de infecções são geralmente mais frequentes em juvenis porque os adultos são mais resistentes. Este estudo em São Miguel é um dos primeiros a nível mundial a mostrar esta resistência em condições de campo. A resistência poderá estar associada à produção de imunoglobulinas G (IgG) específicas contra *S. obvelata* (Sato *et al.*, 1995). No entanto, a prevalência em adultos, apesar de significativamente menor, continuou elevada, além destes indivíduos terem apresentado valores de intensidade em média superiores. Os resultados sugerem que outros factores que não a idade ou o sexo poderão estar envolvidos na elevada intensidade de parasitação dos adultos. Sabe-se que as fêmeas *S. obvelata* migram para a superfície perianal onde libertam os ovos quer por deposição quer por ruptura do seu próprio corpo. Como estes ovos se tornam rapidamente infectantes, o hospedeiro ao limpar a sua pele pode dar origem ao processo de auto-infecção. É provável que os adultos *M. musculus* tenham maiores cuidados de higiene que os juvenis, pelo que os que se encontrem parasitados por *S. obvelata*, por se encontrarem mais debilitados imunologicamente ou por outra razão, podem ter tendência a apresentar maior intensidade de infecção que os juvenis em resultado de processos de auto-infecção.

4.3.3. Influência na condição física do hospedeiro

Os parasitas podem ter muitos e variados efeitos não letais na *fitness* do hospedeiro, podendo debilitar a sua saúde geral ou a sua condição física (Price, 1977; Stoehra & Kokko, 2006). Alteram o ambiente que os rodeia através de, por exemplo, perturbações mecânicas que exercem no tubo digestivo, competição pelos nutrientes, supressão da capacidade de

acumular reservas energéticas (gordura), e eliminação de metabolitos tóxicos resultantes do seu metabolismo (Bakke & Wiger, 1975; Newey *et al.*, 2005). Todavia, nas correlações entre o factor condição física de *M. musculus* e a prevalência e intensidade de infecção não se verificaram influências negativas das espécies helmintas sobre a condição física dos hospedeiros, os quais aparentemente suportam os prejuízos causados pelos parasitas que carregam consigo. Foram até encontradas duas correlações positivas, uma para a prevalência de *S. obvelata* em hospedeiros juvenis e outra para a abundância de *T. muris* em adultos do sexo feminino, o que poderá indicar que estes nemátodes privilegiaram hospedeiros que se encontravam em boas condições físicas. De facto, já durante a realização das capturas e necrópsias se verificou o bom estado de saúde geral dos hospedeiros em estudo, que se apresentaram ágeis e aparentemente saudáveis, sem lesões nos órgãos internos nem sinais externos de doença. Esta relação aparentemente pacífica pode ser o resultado de uma íntima história co-evolutiva que resultou numa compatibilidade tão elevada entre os genótipos de *M. musculus* e dos helmintas que compõem a sua helmintofauna que nenhum efeito adverso é detectado no hospedeiro.

4.3.4. Influência da época de captura

Apesar da conhecida influência do clima nos padrões de transmissão de parasitas (Bajer *et al.*, 2005), para o período de amostragem estudado (Novembro de 2005 a Março de 2006) não foram detectadas diferenças significativas entre as estações do ano nas composições qualitativa e quantitativa que possam ser atribuídas directamente a factores ambientais.

Com apenas 6 espécies detectadas, a Primavera foi a estação do ano com menor riqueza de espécies. No entanto, o número de amostras analisado desta estação foi inferior ao analisado para as restantes duas, pelo que o número de espécies poderá estar subavaliado. A nível quantitativo, também não foram encontradas grandes diferenças entre as três estações do ano analisadas.

As diferenças na prevalência de *S. obvelata* detectadas (prevalências sucessivamente decrescentes do Outono para a Primavera) não se devem directamente a características ambientais relacionadas com as estações do ano, mas às flutuações naturais da composição etária da população de *M. musculus*. *S. obvelata* é maioritariamente transmitida por contacto entre os hospedeiros, pelo que a sua transmissão raramente é influenciada por constrangimentos ambientais (Hugot, 1988). Como descrito no ponto 4.3.2, os hospedeiros em idade juvenil apresentam maior prevalência de infecção por *S. obvelata* que os adultos, e o Outono foi a estação em que maior número de juvenis foi capturado

(40,90% do total de capturas), seguindo-se o Inverno (34,55%) e por fim a Primavera (26,67%), pelo que esta diferença reflecte meramente as diferenças nas composições etárias das populações de hospedeiros. Curiosamente, uma tendência semelhante foi constatada para outro helminta, *R. nana*, com prevalências superiores no Outono e Inverno (13,64% e 12,73%, respectivamente) face à sua ausência na Primavera.

Ao contrário de *S. obvelata*, não foram encontradas diferenças entre as prevalências de *C. hepaticum* em adultos e juvenis, pelo que as diferenças etárias não parecem estar subjacentes às diferenças nas prevalências deste nemátode encontradas entre as estações do ano (prevalências superiores no Outono e Primavera). Estes valores podem ser o reflexo das densidades populacionais de *M. musculus* nas respectivas estações do ano, pois, tal como sugerido por Farhang-Azad (1977a) para *R. norvegicus*, elevadas prevalências de infecção podem ser resultado da elevada densidade populacional dos roedores. Na mesma linha de raciocínio, reduzidas densidades populacionais resultam em prevalências menores no hospedeiro. Isto porque um maior número de hospedeiros assegura o fornecimento contínuo de ovos e aumenta a probabilidade de contacto com ovos infecciosos. De facto, *M. musculus* foi claramente mais abundante nos meses estudados do Outono e da Primavera, apresentando um claro decréscimo populacional nos de Inverno (Collares-Pereira *et al.*, 2007).

Assim, mesmo as diferenças observadas podem ser atribuídas às flutuações naturais da estrutura e densidade das populações de *M. musculus*. A influência aparentemente ausente das estações do ano sobre a composição helmíntica poderá dever-se ao clima temperado de São Miguel que, tal como as restantes ilhas açorianas, apresenta temperaturas amenas e elevados níveis de precipitação e humidade durante todo o ano. De facto, durante o período de amostragem não se observaram variações muito expressivas nos valores médios mensais da temperatura do ar (floresta: 13,3 a 16,2°C; pastagem: 12,1 a 14,9°C; área peri-urbana: 14,0 a 15,9°C) nem da humidade relativa do ar (floresta: 66,3 a 100%; pastagem: 98,6 a 100%; área peri-urbana: 90,1 a 97,6%), sendo a precipitação o parâmetro que demonstrou variações mais evidentes (floresta: 1,8 a 43,1 mm; pastagem: 4,2 a 42,0 mm; área peri-urbana: 0,9 a 21,1 mm). Não obstante, é provável que se tivessem obtido diferenças mais demarcadas na helmintofauna entre as estações se o período de amostragem tivesse coberto todo o ano.

4.3.5. Influência do local de captura

De um ponto de vista qualitativo, a floresta foi o habitat que apresentou menor riqueza específica. Porém, em nenhum habitat se detectaram todas as espécies que

compõem a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel. Os resultados obtidos na análise quantitativa, discutidos de seguida, foram mais interessantes.

A área peri-urbana destaca-se das restantes duas por apresentar as prevalências mais elevadas das espécies de ciclo de vida indirecto que utilizam um insecto como hospedeiro intermediário, nomeadamente *M. muris*, *R. nana* e *H. diminuta*. *G. neoplasticum*, nemátode que também utiliza um insecto como hospedeiro intermediário, apenas foi detectado neste habitat. Estes resultados podem levar-nos a especular sobre a maior diversidade e abundância de insectos associada à área peri-urbana, mais precisamente ao aterro sanitário onde foram realizadas as capturas dos hospedeiros. É no entanto de realçar que a suspeita carece de significado estatístico.

Por outro lado, as espécies helmintas em cujo ciclo de vida os predadores desempenham um papel importante, *C. hepaticum* e *T. taeniaeformis*, parecem estar mais associadas à floresta. De acordo com Conlogue *et al.* (1979) a actividade predatória pode afectar a taxa de infecção por *C. hepaticum*. É provável que o mesmo suceda no caso de *T. taeniaeformis*. Pelas suas características, a floresta parece ser o local mais indicado à ocorrência de espécies carnívoras, nomeadamente aves de rapina e cães e gatos selvagens. No entanto, a elevada prevalência de *C. hepaticum* na floresta poderá ser o reflexo das condições climáticas neste habitat, nomeadamente temperatura, oxigénio e humidade, favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos deste nemátode (Spratt & Singleton, 1986). A floresta foi o habitat que registou maiores valores médios de pluviosidade (16,7 mm) e temperatura do ar (14,3°C), e o segundo com maior humidade relativa (93,3%).

É provável que a maior intensidade de *N. brasiliensis* detectada na floresta seja resultado do coberto vegetal de porte arbóreo que predomina neste habitat, que poderá criar condições mais favoráveis à sobrevivência dos estádios larvares de vida livre de *N. brasiliensis* e à posterior maior taxa de infecção dos hospedeiros. A mesma linha de pensamento poderá se aplicada para *S. obvelata* na pastagem, onde foram detectados os maiores valores de intensidade. No entanto, será necessária uma investigação mais aprofundada para ambas as espécies para esclarecer os factores envolvidos.

4.4. RELAÇÃO ENTRE MACRO E MICROPARASITISMO

De um modo geral, a ausência de resultados estatisticamente significativos, tanto para indivíduos adultos como juvenis, não permite concluir a existência de uma associação positiva entre as espécies helmintas e *Leptospira* sp.

Ainda assim, salienta-se a ausência de *T. muris* na subpopulação não infectada por *Leptospira* sp. e a maior prevalência de *C. hepaticum* em juvenis co-infectados pela bactéria. Contrariando a tendência verificada nos juvenis, a prevalência de *C. hepaticum* superior em adultos não infectados por *Leptospira* sp., além de contrariar a tendência de maiores níveis de parasitismo pelas espécies mais importantes da comunidade (*N. brasiliensis* e *S. obvelata*) em adultos co-infectados, poderá significar que a co-infecção por *C. hepaticum* e *Leptospira* sp. é demasiado nefasta para o hospedeiro, levando à sua morte prematura e por conseguinte menor capturabilidade (i.e., a probabilidade de juvenis co-infectados com *C. hepaticum* e *Leptospira* sp. atingirem a idade adulta poderá ser inferior à dos não co-infectados).

As elevadas prevalências de infecção constatadas para ambos os tipos de parasitismo, podem simplesmente ser o resultado das excelentes condições ambientais de São Miguel, propícias à sobrevivência e desenvolvimento de ambos os tipos de parasitismo, não existindo qualquer relação entre eles. Por outro lado, são estas mesmas elevadas prevalências que levam a supor a existência de tal associação, principalmente entre *N. brasiliensis*, pela sua espectacular prevalência e intensidade de infecção, e *Leptospira* sp.

Apesar dos avanços dos últimos anos, ainda não são exactamente conhecidos os mecanismos pelos quais o sistema imunitário do hospedeiro remove os parasitas, em parte devido à elevada complexidade e redundância das várias respostas imunológicas envolvidas (Koski & Scott, 2003). No entanto, sabe-se que a maioria dos macroparasitas extracelulares, onde se incluem os helmintas gastrointestinais, induz respostas do tipo Th2 (linfócitos *T helper* do tipo 2) responsáveis pela imunidade humoral dependente de anticorpos (Urban *et al.*, 1992), nomeadamente IgG1, IgG4, e IgE, requerendo a expressão de interleucina (IL)-4 (Loukas & Prociv, 2001; Koski & Scott, 2003). Por outro lado, os microparasitas, como as bactérias, induzem uma resposta tipicamente do tipo Th1 (linfócitos *T helper* do tipo 1) responsável pela imunidade celular mediada por interferão- γ (IFN- γ) (Urban *et al.*, 1992; Graham, 2008). Como geralmente as respostas Th1 são antagonistas das respostas Th2, e vice-versa (Mosmann & Sad, 1996), o que significa que um hospedeiro infectado pode apenas arquitectar eficientemente um tipo de resposta de cada vez (Graham, 2002), helmintas que induzam a expressão de citocinas envolvidas na supressão de IFN- γ podem facilitar a expansão dos microparasitas (Graham, 2008). Apesar da complexidade das interações no interior do hospedeiro poder tornar árdua a tarefa de prever como uma infecção irá influenciar o decurso de outra (Graham, 2008), é provável que um mecanismo semelhante envolvendo a expressão de citocinas supressoras de IFN- γ esteja subjacente à interacção entre *N. brasiliensis* e *Leptospira* sp.

4.5. EVOLUÇÃO DA HELMINTOFAUNA DE *MUS MUSCULUS* EM SÃO MIGUEL

Como referido no Capítulo 1, até ao presente estudo a investigação helmintológica de *M. musculus* em São Miguel resumia-se ao estudo elaborado por Casanova *et al.* (1996). Desde então, vários anos passaram, pelo que será interessante averiguar a evolução helmintofaunística da espécie em ambiente insular. No entanto, é necessário ter em consideração que apenas 11 hospedeiros foram capturados e analisados entre 1993 e 1996 por Casanova *et al.* (1996), contra os 92 analisados no presente estudo. Esta discrepância afectará naturalmente quaisquer elações que se pretenda retirar.

A análise da Tabela 4.1 sugere que a helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel é constituída pelas 12 espécies identificadas no presente estudo, 3 céstodes e 9 nemátodes. A inclusão do tremátode *Skrjabinocoelus* sp. identificado por Casanova *et al.* (1996) na helmintofauna é desvalorizada, na medida em que esta espécie é um parasita característico de aves dos Açores. Este é portanto um caso de pseudoparasitismo, em que *M. musculus* constitui apenas um hospedeiro acidental.

Tabela 4.1 – Comparação entre as prevalências e intensidades médias de infecção da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel detectadas por Casanova *et al.* (1996) e pelo presente estudo.

Espécie	Casanova <i>et al.</i> (1996) (n = 11)		Presente estudo (n = 92)	
	Prevalência (%)	Intensidade Média	Prevalência (%)	Intensidade Média
TREMATODA	9,09		-	
<i>Skrjabinocoelus</i> sp.	9,09	12	-	-
CESTODA	9,09		21,74	
<i>R. nana</i>	-	-	10,87	2,4
<i>T. taeniaeformis</i>	-	-	7,61	1
<i>H. diminuta</i>	9,09	1	5,43	5,4
NEMATODA	90,90		100	
<i>N. brasiliensis</i>	-	-	100	313,73
<i>S. obvelata</i>	36,36	220,7	53,26	37,82
<i>C. hepaticum</i>	36,36	†	40,22	1,89
<i>T. muris</i>	18,18	3	10,87	2,30
<i>M. muris</i>	18,18	2	9,78	1,89
<i>H. spumosa</i>	45,45	5,4	3,26	5
<i>A. annulosa</i>	-	-	2,17	1
<i>E. gastricus</i>	9,09	2	2,17	1
<i>G. neoplasticum</i>	-	-	1,09	27
Nematoda sp.	9,09	2	-	-
TOTAL	90,90		100	

(†) Não analisado.

(-) Espécie não detectada.

A comparação com o estudo de Casanova *et al.* (1996) permite constatar algumas diferenças tanto a nível qualitativo como quantitativo. Em primeiro lugar, destaca-se o notável enriquecimento qualitativo da comunidade helmíntica de *M. musculus* no presente estudo, com 12 espécies detectadas contra 7 em 1996 (excluindo *Skrjabinocoelus* sp. e o nemátode não identificado). Por outro lado, a redução da prevalência de parasitação total no estudo de 1996 não foi tão acentuada como a diminuição da riqueza de espécies (90,90% contra 100%). Já a prevalência de infecção por céstodes foi inferior à encontrada no presente estudo (9,09% contra 21,74%), além de ter sido apenas uma décima parte da infecção por nemátodes (9,09%).

Tendo em conta as elevadas prevalência (100%) e intensidade média de infecção (313,73) detectadas no presente estudo, além da identificação relativamente fácil, é surpreendente que *N. brasiliensis* não tenha sido detectado por Casanova *et al.* (1996). Em apenas 10 anos, *N. brasiliensis* passou de uma espécie simplesmente ausente a espécie dominante e de maior abundância da comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel. Este fenómeno é de difícil explicação e merece ser investigado. Afonso-Roque (1989) e Casanova *et al.* (1996) detectaram este nemátode em *Rattus* sp. de São Miguel. Sendo espécies próximas, não só evolutiva como ecologicamente, é provável que do contacto entre os dois roedores tenha resultado a transferência interespecífica de *N. brasiliensis* de *Rattus* sp. para *M. musculus*. Por outro lado, está bem documentada a facilidade com que *M. musculus* é transportado pelo ser humano. Assim, a possibilidade de *M. musculus* infectados recém-chegados de outras ilhas açorianas (*N. brasiliensis* foi detectado em *M. musculus* por Casanova *et al.* (1996) nas ilhas Terceira e das Flores, com prevalências de 10,52% e 4,54%, respectivamente), do continente (onde os estudos sobre a helmintofauna de *M. musculus* são escassos) ou mesmo de outras regiões do globo, terem constituído um foco de infecção inicial que rapidamente se generalizou, deve também ser tida em consideração. Em qualquer dos casos, parece que *N. brasiliensis* terá encontrado em *M. musculus* de São Miguel um nicho relativamente livre e um hospedeiro adequado ao seu ciclo de vida.

Outros nemátodes não detectados por Casanova *et al.* (1996) foram *A. annulosa* e *G. neoplasticum*. Provavelmente escaparam à detecção devido às prevalências de infecção extremamente reduzidas de ambas as espécies em *M. musculus* de São Miguel e ao pequeno número de hospedeiros analisados. A hipótese de alguma destas duas espécies corresponder ao nemátode não identificado pelos autores foi descartada, uma vez que estes, no mesmo estudo e com um esforço de amostragem superior, identificaram *A. annulosa* em *M. musculus* da Terceira e Flores e em *Rattus* sp. em São Miguel, e identificaram *G. neoplasticum* em *Rattus* sp. da Terceira.

Os céstodes *R. nana* e *C. fasciolaris* podem também não ter sido detectados em *M. musculus* de São Miguel devido à reduzida prevalência (10,87% e 7,61%, respectivamente) aliada à fraca amostragem. É portanto a primeira vez que estas espécies são detectadas em *M. musculus* de São Miguel. Casanova *et al.* (1996) já tinham detectado *C. fasciolaris* em *M. musculus* na Terceira e Flores. Curiosamente, estes autores não detectaram *R. nana*, não só em *M. musculus* pertencentes às outras ilhas estudadas, como também em *Rattus* sp. de São Miguel, onde *R. nana* tinha já sido identificada por Afonso-Roque (1989).

Neste estudo, os nemátodes *T. muris*, *M. muris* e *E. gastricus* apresentaram, prevalências inferiores às detectadas por Casanova *et al.* (1996), embora não estatisticamente significativas ($\chi^2 = 0,510$, g.l. = 1, $p = 0,475$; $\chi^2 = 0,727$, g.l. = 1, $p = 0,394$; $\chi^2 = 1,662$, g.l. = 1, $p = 0,197$, respectivamente). Por outro lado, *C. hepaticum* apresentou um valor de prevalência praticamente igual em ambos os estudos e *S. obvelata* um valor de prevalência superior, não significativo ($\chi^2 = 1,123$, g.l. = 1, $p = 0,289$). A comparação da intensidade média desta última espécie nos dois estudos revela-se mais interessante. Os autores em 1996 obtiveram uma prevalência inferior associada a um valor de intensidade média mais elevado que no presente estudo, o que conduziu a uma maior agregação de *S. obvelata*. Contudo, a diferença entre as intensidades médias não foi significativa ($Z = -0,414$, $p = 0,679$).

Outro aspecto distinto entre os estudos é a prevalência significativamente superior de *H. spumosa* no estudo de 1996 (45,45% contra 3,26%; $\chi^2 = 24,417$, g.l. = 1, $p < 0,001$). Na verdade, a importância de *H. spumosa* na comunidade helmíntica de *M. musculus* em São Miguel sofreu um grande decréscimo, passando de espécie dominante ($I = 15,10$) e secundária a espécie subordinada ($I = 0,002$) e satélite. Pode-se especular se este declínio não estará relacionado com a ascensão de *N. brasiliensis* a espécie dominante da comunidade helmíntica. Ao testar a associação do par co-ocorrente *N. brasiliensis* – *H. spumosa* do presente estudo não se obteve uma correlação significativa ($r_s = -0,064$, $p = 0,542$), o que poderá indiciar a ausência de interação entre ambas as espécies. No entanto, este resultado não implica a ausência de interações negativas no passado em condições ecológicas e biológicas diferentes.

Os dados sugerem que a composição helmíntica de *M. musculus* em São Miguel poderá estar num processo de transição evolutiva, com novas espécies a afirmarem-se a nível da comunidade helmíntica deste roedor. No entanto, não esquecendo os diferentes esforços de amostragem entre os dois estudos, as diferenças qualitativas e quantitativas encontradas podem também ser o reflexo de diversos condicionantes bióticos, como idade e sexo dos hospedeiros, e abióticos, como diferentes épocas e locais de amostragem.

4.6. ESPÉCIES HELMINTAS COM POTENCIAL ZONÓTICO

As zonas rurais da Região Autónoma dos Açores abrangem 99,6% do território e 93% da população residente. Além disso, de acordo com os critérios comunitários, todo o território da região está classificado como zona desfavorecida (MADRP, 2008). Estes factos traduzem-se na prática numa população que está em constante contacto com o campo e com toda a perigosidade a ele associada, nomeadamente o contacto próximo com as espécies de roedores comensais existentes na ilha, conhecidos portadores de agentes zoonóticos. A elevada prevalência de infecção helmíntica aliada à elevada densidade de roedores, nomeadamente *M. musculus*, sugere um considerável potencial de contaminação ambiental e consequente exposição do homem e seus animais domésticos a focos infecciosos (Ching *et al.*, 2000; Stojčević *et al.*, 2002).

Seguidamente serão discutidos os potenciais riscos que as espécies helmintas identificadas neste estudo em *M. musculus* em São Miguel podem representar para a saúde pública dos habitantes insulares. Das 12 espécies identificadas, pelo menos 5 são transmissíveis ao homem, dando origem a zoonoses helmínticas:

Classe Cestoda

Cysticercus fasciolaris forma larvar de *Taenia taeniaeformis*

Hymenolepis diminuta

Rodentolepis nana

Filo Nematoda

Calodium hepaticum

Syphacia obvelata

Considerando os potenciais perigos subjacentes, é do maior interesse para a saúde pública de São Miguel que seja feito o reconhecimento e dado o alerta sobre as espécies helmintas de origem em *M. musculus* com potencial zoonótico. Os aspectos relacionados com a casuística a nível mundial, sintomatologia, diagnóstico e tratamento já foram abordados no ponto 3.1.1 dedicado ao estudo das espécies helmintas. Cabe agora discutir os aspectos particulares referentes à problemática de cada espécie na ilha de São Miguel.

4.6.1. Classe Cestoda

Os casos de parasitismo humano por *T. taeniaeformis* são esporádicos e relativamente inócuos. Contudo, há que manter certas precauções para evitar a infecção por este helminta, nomeadamente controlar as investidas dos gatos domésticos nas populações de roedores selvagens e evitar o contacto com fezes de gato. O habitat de São Miguel mais propício a *T. taeniaeformis* é a floresta, tendo ocorrido em todos os períodos de estudo.

Entre os céstodes detectados, *R. nana* e *H. diminuta* são os que representam maior perigosidade em São Miguel. Aliás, tal facto é comprovado pela identificação em análise coprológica de um caso de infecção por *Hymenolepis* sp. de uma criança na região de Rabo de Peixe (Afonso-Roque, 1989).

Nalguns países do Sudeste Asiático faz parte da cultura gastronómica a ingestão de insectos (Wiwanitkit, 2004). Este comportamento não ocorre em Portugal, pelo que é mais provável a infecção humana ocorrer pela ingestão acidental de um insecto hospedeiro infectado com larvas cisticercóides. Fica o alerta quanto ao consumo de cereais e farinhas não cozinhados, frequentemente contaminados com espécies de insectos que podem ser hospedeiros intermediários de *H. diminuta* (Faust, 1949), nomeadamente *Pyralis farinalis*, *Stegobium paniceum* e *Tenebrio obscurus*, espécies existentes nos Açores. Em São Miguel, as áreas de pastagem e peri-urbana são os habitats de maior risco de contracção da infecção, principalmente durante o Inverno.

A via de transmissão zoonótica de *R. nana* também pode ocorrer pela ingestão acidental de um hospedeiro intermediário infectado. Além disso, o facto deste céstode possuir um ciclo de vida directo possibilita a sua transmissão por ingestão de água ou alimentos contaminados com fezes de roedores infectados. Em São Miguel, a área peri-urbana é o habitat mais propício à infecção, principalmente durante o Outono e o Inverno.

4.6.2. Filo Nematoda

Dos helmintas zoonóticos identificados em *M. musculus* em São Miguel, *C. hepaticum* pode ser considerado aquele que representa o maior perigo para o ser humano. Os casos humanos reportados de infecção por *C. hepaticum* são geralmente graves, a maioria dos quais termina na morte da pessoa infectada (Galvão, 1981). A infecção humana ocorre pela ingestão de alimentos, água ou solo contaminado com ovos embrionados. Sendo as crianças o grupo mais susceptível, principalmente as mais desfavorecidas onde a geofagia é um hábito mais frequente, maior atenção lhes deve ser atribuída, principalmente durante as actividades recreativas ao ar livre onde é maior a probabilidade de contactarem

com material contaminado. A educação e implementação de hábitos higiênicos, como a lavagem das mãos e a não colocação de materiais e dedos na boca, são fortemente aconselhados desde tenra idade.

O facto de *C. fasciolaris* ter sido detectado em *M. musculus* sugere uma interacção predador-presa entre este roedor e gatos na ilha de São Miguel, tal como mencionado por Ceruti *et al.* (2001). Sendo assim, gatos domésticos que cacem *M. musculus* infectados podem servir de vectores de *C. hepaticum*, contribuindo para a disseminação de ovos. Também os cães, não só os vadios como os domésticos que têm acesso ao exterior, podem contrair a infecção ao incluírem na sua dieta carcaças de roedores e contribuir para essa disseminação (Conlogue *et al.*, 1979; Chieffi *et al.*, 1981). Ambos os casos podem resultar na contaminação de áreas onde habitualmente não ocorrem roedores, o que aumenta a probabilidade do ser humano contactar com ovos embrionados. Além do mais, durante a época de captura dos hospedeiros foram observados cães e gatos nos três habitats estudados. É de salientar que a infecção por *C. hepaticum* pode ser adquirida, se não ao longo de todo o ano, pelo menos durante todo o período analisado, e em qualquer um dos habitats de São Miguel estudados, inclusivamente na área peri-urbana.

Estes dados sugerem que a potencial transmissão de *C. hepaticum* a humanos, principalmente a crianças, deverá ser encarada como um sério problema de saúde pública na ilha de São Miguel.

Em relação a *S. obvelata*, apesar de ser um parasita frequentemente associado a *M. musculus*, são extremamente raros os casos humanos diagnosticados de infecção por este nemátode. Não obstante, devem ser tomadas as precauções necessárias para evitar o contacto com fómites ou a ingestão de alimentos contaminados por fezes de *M. musculus* infectados. Tal como para *C. hepaticum*, a elevada prevalência de *S. obvelata* em *M. musculus* sugere a possibilidade de contracção desta infecção em qualquer altura do ano e em qualquer habitat.

4.6.3. Medidas profiláticas

Após esta análise, é sugerido o seguinte conjunto de medidas profiláticas na ilha de São Miguel com vista à promoção da higiene e defesa da saúde pública:

- Aumentar a vigilância das populações de roedores presentes na ilha (*M. musculus* e *Rattus* sp.) com o intuito de conhecer a evolução e dinâmica das suas comunidades helmínticas;
- Promover campanhas de desratização, principalmente nas épocas de menor abundância de roedores para potenciar o seu controlo;

- Incentivar a utilização de rodenticidas de morte rápida, evitando assim a morte dos animais infectados por *C. hepaticum* nos sistemas de túneis e ninhos, onde a libertação dos ovos por actos de canibalismo iria fomentar o ciclo do parasita;
- Recolher periodicamente todas as carcaças de roedores do seu habitat natural, não permitindo assim que sejam consumidas por predadores;
- Destruir as carcaças recolhidas, preferencialmente por incineração;
- Dar preferência ao controlo das populações de roedores do interior ou proximidades das habitações;
- Fazer o rastreio de *C. hepaticum* em gatos e cães de São Miguel, para estudar o provável envolvimento destes animais na disseminação dos ovos;
- Controlar ou remover as populações de cães e gatos vadios;
- Garantir o armazenamento livre de roedores dos cereais e outros alimentos;
- Melhorar as condições higiénico-sanitárias das populações mais desfavorecidas;
- Informar a população sobre os perigos do contacto com os roedores, que deve ser evitado;
- Esclarecer a população sobre as helmintíases zoonóticas, através de acções de educação e saúde que informem a população sobre medidas higiénicas, nomeadamente a lavagem regular das mãos com desinfectante e a cuidada lavagem dos alimentos para consumo;
- Evitar a ingestão de água de fontes duvidosas, como poços não controlados nem higienizados;
- Alertar a comunidade médica para o eventual surgimento de casos de helmintíases humanas.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

O presente estudo enquadrou-se na área da parasitologia e os objectivos inicialmente definidos pretenderam contribuir para um maior conhecimento da helmintofauna de *M. musculus* em São Miguel e avaliar o potencial risco dos helmintas identificados para os habitantes insulares. Seguidamente, destacam-se as principais conclusões deste estudo:

- A helmintofauna de *Mus musculus* da ilha açoriana de São Miguel é constituída por 12 espécies helmintas, 3 céstodes (*Cysticercus fasciolaris* forma larvar de *Taenia taeniaeformis*, *Hymenolepis diminuta* e *Rodentolepis nana*) e 9 nemátodes (*Aonchotheca annulosa*, *Calodium hepaticum*, *Eucoleus gastricus*, *Gongylonema neoplasticum*, *Heterakis spumosa*, *Mastophorus muris*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Syphacia obvelata* e *Trichuris muris*).
- Detecção pioneira de *R. nana*, *C. fasciolaris*, *A. annulosa* e *G. neoplasticum* em *M. musculus* de São Miguel. É também o primeiro caso de infecção de *M. musculus* por *G. neoplasticum* detectado em Portugal, aparentemente apenas o terceiro a nível mundial. Ainda em relação a este nemátode, é o primeiro caso mundial de infecção por *G. neoplasticum* no intestino de um hospedeiro.
- A insularidade não tem um efeito apreciável na riqueza helmintofaunística de *M. musculus* em São Miguel, tendo até sido identificado um número de espécies helmintas superior ao de muitas regiões continentais do globo. Tal facto poderá ser justificado pela constante chegada de novos hospedeiros em consequência da posição geoestratégica dos Açores e à elevada densidade populacional que este roedor atinge na ilha.
- A espécie dominante e central foi *N. brasiliensis*, que atingiu uma prevalência de 100% e uma intensidade de infecção suficientemente elevada para influenciar o tamanho das outras infrapopulações de helmintas, resultando numa comunidade helmíntica com tendência para a homogeneidade.
- A fraca detecção de espécies com prevalências e abundâncias elevadas e a quase ausência de pares de espécies associadas sugerem uma comunidade próxima do tipo isolacionista.
- O sexo do hospedeiro não exerce grande influência a nível qualitativo na composição helmíntica de *M. musculus*. A nível quantitativo, os machos tendem a apresentar maiores valores de prevalência e principalmente, tendo em conta a importância das

espécies envolvidas (*N. brasiliensis* e *S. obvelata*), maiores cargas parasitárias que as fêmeas. Todavia, as fêmeas apresentaram uma prevalência de *M. muris* significativamente superior.

- A idade parece exercer alguma influência na composição helmíntica de *M. musculus*. Os indivíduos adultos apresentaram uma riqueza específica superior à dos indivíduos juvenis. Por outro lado, os juvenis apresentaram uma prevalência superior aos adultos não significativa em *R. nana* e significativa em *S. obvelata*, provavelmente por não terem adquirido ainda a resistência associada à idade.
- As espécies helmintas identificadas não parecem influenciar negativamente a condição física dos hospedeiros. Esta relação parasita-hospedeiro relativamente pacífica poderá ser o resultado de uma longa história co-evolutiva entre *M. musculus* e os helmintas identificados.
- As espécies *T. taeniaeformis*, *N. brasiliensis*, *S. obvelata*, *C. hepaticum*, *T. muris* e *M. muris* foram detectadas nas três estações do ano estudadas. As restantes apresentaram uma distribuição irregular, embora no Inverno apenas não se tenha detectado *G. neoplasticum* e no Outono *H. diminuta*. A Primavera foi a estação do ano que apresentou menor riqueza de espécies. Para o período de amostragem estudado, não foram detectadas diferenças quantitativas significativas entre as estações do ano que possam ser atribuídas directamente a factores ambientais, provavelmente devido ao clima temperado de São Miguel que não apresenta marcada variação sazonal.
- As espécies *R. nana*, *T. taeniaeformis*, *N. brasiliensis*, *S. obvelata* e *C. hepaticum* foram transversais aos três habitats estudados. A floresta foi o habitat que apresentou menor riqueza de espécies. No entanto, as espécies cujo ciclo de vida está mais dependente de predadores, *C. hepaticum* e *T. taeniaeformis*, parecem estar mais associadas a este habitat, onde também foi detectada a maior intensidade em *N. brasiliensis*. A cobertura vegetal da floresta poderá estar na base destes resultados. Na área peri-urbana ocorreram as prevalências mais elevadas das espécies de ciclo de vida indirecto. Na pastagem foi detectada a maior intensidade em *S. obvelata*.
- Os hospedeiros adultos infectados por *Leptospira* sp. tenderam a apresentar maiores níveis de parasitismo por *N. brasiliensis* e *S. obvelata*. Contrariamente, *C. hepaticum*

apresentou uma prevalência estatisticamente superior em adultos não infectados, o que leva a pressupor uma co-infecção nefasta para o hospedeiro, conduzindo-o eventualmente a uma morte prematura. *T. muris* apenas ocorreu em hospedeiros infectados por *Leptospira* sp. Contudo, a ausência de diferenças significativas não permite concluir a existência de uma associação positiva entre as espécies helmintas e *Leptospira* sp.

- Pelo menos 5 das 12 espécies identificadas são passíveis de ser transmitidas ao ser humano. As espécies zoonóticas de maior importância são *H. diminuta*, *R. nana* e *C. hepaticum*, e as de menor importância *T. taeniaeformis* e *S. obvelata*.
- A elevada prevalência de infecção helmíntica aliada à elevada densidade de *M. musculus* e à frequência com que a população insular tem contacto com locais infestados pelo roedor faz com que a potencial transmissão de helmintíases aos habitantes de São Miguel deva ser encarada como um sério problema de saúde pública. Além disso, a detecção de *C. fasciolaris* neste hospedeiro sugere a ocorrência de uma interacção predador-presa e a possibilidade dos gatos e cães actuarem como agentes disseminadores de ovos de *C. hepaticum* na ilha, o que torna patente o risco de capilaríase hepática nos habitantes insulares.

É importante referir que a composição helmíntica não é estática, pelo que a helmintofauna apresentada apenas diz respeito ao período analisado. Além disso, o esforço de amostragem não abrangeu a totalidade da área geográfica de São Miguel, apesar dos três habitats seleccionados serem os mais representativos da ilha. Posto isto, a extrapolação dos resultados para a totalidade da ilha deve ser encarada com precaução.

CAPÍTULO 6

BIBLIOGRAFIA

As referências bibliográficas apresentadas foram elaboradas de acordo com as regras estipuladas pela revista da especialidade *Parasitology*.

ABULADZE, K. I. (1964) Taeniata of animals and man and diseases caused by them. In *Essentials of Cestodology. Volume IV.* (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1970).

ADHIKARI, N., BOMJAN, R., KHATRI, D. B., JOSHI, D. R., DHAKAL, P. & LEKHAK, B. (2007) Intestinal helminthic infections among school children in Kathmandu Valley. *Journal of Nepal Health Research Council* **5**, 17-21.

ADLER, G. H. & LEVINS, R. (1994) The island syndrome in rodent populations. *The Quarterly Review of Biology* **69**, 473-490.

AFONSO-ROQUE, M. M. (1989) Fauna helmintológica de vertebrados terrestres da ilha de S. Miguel (Açores). Tese de Doutoramento. Centro de Zoologia, Investigação Científica Tropical, Lisboa, 509 pp.

ALEGRE, P. T., GARCÍA-COLLÍA, M., ZAPATERO, L., BOLÁS, F., SUBIRATS, M., BAQUERO, M. & GÓMEZ-GARCÉS, J. L. (2004) A 3-year descriptive study of intestinal parasite infections in outpatients in Madrid, Spain (2000–02). *Clinical Microbiology and Infection Supplement* **10**, 140-141.

AL-JASHAMY, K. & ISLAM, M. N. (2007) Morphological study of *Taenia taeniaeformis* scolex under scanning electron microscopy using hexamethyldisilazane. *Annals of Microscopy* **7**, 80-83.

AL-ZAIN, B. F. (2009) Impact of socioeconomic conditions and parasitic infection on hemoglobin level among children in Um-Unnasser Village, Gaza Strip. *Turkish Journal of Medical Sciences* **39**, 53-58.

AMARAL, A., CRUZ, J. V., CUNHA, R. T., RODRIGUES, A. S. (2006) Baseline levels of metals in volcanic soils of the Azores (Portugal). *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* **15**, 123-130.

AMARAL, J., ALMEIDA, S., COELHO, M., ROCHA, J., RESENDE, S., SILVEIRA, J., QUARESMA, A. & GONÇALVES, A. T. (2006) Rodents: population structure, demography and infection rate by *Leptospira* on Terceira Island. In *Resumos do Seminário de Leptopirose nos Açores, 24-25 Nov. 2006* (ed. Collares-Pereira, M.), pp. 31-32. Ponta Delgada.

ANDERSON, R. C. (1992) *Nematode Parasites of Vertebrates – their Development and Transmission*. CAB International, Cambridge.

ANDERSON, R. C., CHABAUD, A. G., WILLMOTT, S. (1974) *C. H. I. (Commonwealth Institute of Helminthology) Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal.

ANDERSON, R. M. & GORDON, D. M. (1982) Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* **85**, 373-398.

- ANDERSON, R. M. & MAY, R. M. (1978) Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology* **47**, 219-247.
- ANDREASSEN, J. (1998) Intestinal Tapeworms. In *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Volume 5: Parasitology* (ed. Cox, F. E. G., Kreier, J. P. & Wakelin, D.), pp. 521-538. Hodder Arnold, London.
- ARNEBERG, P., SKORPING, A., GRENFELL, B. & READ, A. F. (1998) Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the Royal Society B* **265**, 1283-1289.
- ASAKAWA, M., BERTOUILLE, E., REUTTER, B. A. & VOGEL, P. (1999) Parasitic nematodes of *Apodemus alpicola* (Mammalia: Rodentia: Muridae) collected in Switzerland. *Helminthologia* **36**, 287-289.
- ASSIS, B. C. A., CUNHA, L. M., BAPTISTA, A. P. & ANDRADE, Z. A. (2004) A contribution to the diagnosis of *Capillaria hepatica* infection by indirect immunofluorescence test. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**, 173-177.
- BACIGALUPO, J. (1951) Parasitose experimentale du rat blanc par une *Hymenolepis diminuta* d'origine humaine. *Comptes Rendus de la Société de Biologie* **145**, 1729.
- BAILEY, W. S. (1947) Observations on the rôle of *Tenebrio molitor* as an intermediate host for *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. *The Journal of Parasitology* **33**, 433-434.
- BAJER, A., BEHNKE, J. M., PAWEŁCZYK, A., KULIS, K., SEREDA, M. J. & SINSKI, E. (2005) Medium-term temporal stability of the helminth component community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* **130**, 213-228.
- BAKER, D.G. (1998). Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clinical Microbiology Review* **11**, 231-266.
- BAKKE, T. A. & WIGER, R. (1975) Endoparasites of selected small rodents and their predators with special reference to pathology. *Ecological Bulletins* **19**, 201-207.
- BARRETT, M. W. & CHALMERS, G. A. (1972) *Capillaria hepatica* (Nematoda: Trichuridae) in pronghorn antelope (*Antilocapra americana* Ord) in Alberta. *Journal of Wildlife Diseases* **8**, 332-334.
- BAZZANO, T., RESTEL, T. I., PINTO, R. M. & GOMES, D. C. (2002) Patterns of infection with the nematodes *Syphacia obvelata* and *Aspicularis tetraptera* in conventionally maintained laboratory mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**, 847-853.
- BEADELL, J. S., ISHTIAQ, F., COVAS, R., MELO, M., WARREN, B. H., ATKINSON, C. T., BENSCH, S., GRAVES, G. R., JHALA, Y. V., PEIRCE, M. A., RAHMANI, A. R., FONSECA, D. M. & FLEISCHER, R. C. (2006) Global phylogeographic limits of Hawaii's avian malaria. *Proceedings of the Royal Society B* **273**, 2935-2944.
- BEHNKE, J. M. (1975) *Aspicularis tetraptera* in wild *Mus musculus*. The prevalence of infection in male and female mice. *Journal of Helminthology* **49**, 85-90.
- BEHNKE, J. M., BARNARD, C. J., MASON, N., HARRIS, P. D., SHERIF, N. E., ZALAT, S. & GILBERT, F. S. (2000) Intestinal helminths of spiny mice (*Acomys cahirinus dimidiatus*) from St Katherine's Protectorate in the Sinai, Egypt. *Journal of Helminthology* **74**, 31-43.

- BEHNKE, J. M., LEWIS, J. W., ZAIN, S. N. M. & GILBERT, F. S. (1999) Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in southern England: interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *Journal of Helminthology* **73**, 31-44.
- BERGER, T., DEGRÉMONT, A., GEBBERS, J. O. & TÖNZ, O. (1990) Hepatic capillariasis in a 1-year-old child. *European Journal of Pediatrics* **149**, 333-336.
- BERRY, R. (1970) The natural history of the house mouse. *Field Studies* **3**, 219-262.
- BERRY, R. J. & SCRIVEN, P. N. (2005) The house mouse: a model and motor for evolutionary understanding. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**, 335-347.
- BOMFIM, T. C. B. (2001) Algumas observações sobre infecção natural em *Rattus norvegicus* por *Cysticercus fasciolaris* (Eucestoda: Taeniidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **10**, 79-82.
- BOMFORD, M. (1987) Food and reproduction of wild house mice I. Diet and breeding season in various habitats on irrigated cereal farms in New South Wales. *Australian Wildlife Research* **14**, 183-196.
- BORGES, P. A. V. & OROMÍ, P. (1991) The cave-dwelling ground beetles on the Azores (Col.: Carabidae). *Mémoires de Biospéologie* **18**, 185-191.
- BORGES, P. A. V. (1992) Biogeography of the Azorean Coleoptera. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **44**, 5-76.
- BORUCINSKA, J. D. & NIELSEN, S. W. (1993) Hepatic capillariasis in muskrats (*Ondatra zibethicus*). *Journal of Wildlife Diseases* **29**, 518-520.
- BORUCINSKA, J. D., VAN KRUININGEN, H. J., CAIRA, J. N. & GARMENDIA, A. E. (1997) Clinicopathological features and histopathology of experimental hepatic capillariasis in muskrats (*Ondatra zibethicus*). *Journal of Wildlife Diseases* **33**, 122-130.
- BOURSOT, P., AUFFRAY, J. C., BRITTONDAVIDIAN, J. & BONHOMME, F. (1993) The evolution of house mice. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**, 119-152.
- BOWMAN, D. D., HENDRIX, C. M., LINDSAY, D. S. & BARR, S. C. (2002) *Feline Clinical Parasitology*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- BRAUDE, S., TANG-MARTINEZ, Z. & TAYLOR, G. T. (1999) Stress, testosterone, and the immunoredistribution hypothesis. *Behavioral Ecology* **10**, 345-350.
- BRUMPT, E. (1949) *Précis de Parasitologie. Volume I*. Masson et Cie Éditeurs, Paris.
- BURNHAM, G. L. (1953) A study of the helminth parasites of the pocket gophers of Woods, Alfalfa, Grant, and Marshall Counties, Oklahoma. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science* **34**, 59-61.
- BUSH, A. O. & HOLMES, J. C. (1986) Intestinal helminths of lesser scaup ducks: an interactive community. *Canadian Journal of Zoology* **64**, 142-152.
- BUSH, A. O., AHO, J. M. & KENNEDY, C. R. (1990) Ecological versus phylogenetic determinants of helminth parasite community richness. *Evolutionary Ecology* **4**, 1-20.
- BUSH, A. O., LAFFERTY, K. D., LOTZ, J. M. & SHOSTAK, A. W. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology* **83**, 575-583.

CABRAL, A., CABRAL, C., ARRUDA, H., TRAVASSOS, J., VIVEIROS, L., SILVA, M., BORGES, T., QUARESMA, A., GONÇALVES, A. T. & CRUZ, J. (2006) Rodents: population structure, demography and infection rate by *Leptospira* in São Miguel Island. In *Resumos do Seminário de Leptopirose nos Açores, 24-25 Nov. 2006* (ed. Collares-Pereira, M.), pp. 33-34. Ponta Delgada.

CABRERA, R. & MENDOZA, L. U. (2001) *Heterakis spumosa* Schneider, 1866 (Nematoda: Heterakidae) en *Rattus norvegicus* (Rodentia: Ica, Perú). *Revista Peruana de Biología* **8**, 1-5.

CALVETE, C., LUCIENTES, J., CASTILLO, J. A., ESTRADA, R., GRACIA, M. J., PERIBÁNEZ, M. A. & FERRER, M. (1998). Gastrointestinal helminth parasites in stray cats from the mid-Ebro Valley, Spain. *Veterinary Parasitology* **28**, 235-240.

CASANOVA, J. C., MIQUEL, J., FONS, R., MOLINA, X., FELIÚ, C., MATHIAS, M. L., TORRES, J., LIBOIS, R., SANTOS-REIS, M., COLLARES-PEREIRA, M. & MARCHAND, B. (1996) On the helminthfauna of wild mammals (Rodentia, Insectivora and Lagomorpha) in Azores Archipelago (Portugal). *Vie et Milieu* **46**, 253-259.

CAUGHLEY, G. & SINCLAIR, A. R. E. (1994) *Wildlife Ecology and Management*. Blackwell Science, Oxford.

CERUTI, R., SONZOGNI, O., ORIGGI, F., VEZZOLI, F., CAMMARATA, S., GIUSTI, A. M. & SCANZIANI, E. (2001) *Capillaria hepatica* infection in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from the urban area of Milan, Italy. *Journal of Veterinary Medicine Series B* **48**, 235-240.

CHAIYABUTR, N. (1979) Hepatic capillariasis in *Rattus norvegicus*. *Journal of The Science Society of Thailand* **5**, 48-50.

CHAN, M. S., MEDLEY, G. F., JAMISON, D. & BUNDY, D. A. P. (1994) The evaluation of potential global morbidity attributable to intestinal nematode infections. *Parasitology* **109**, 373-387.

CHEETHAM, R. F. & MARKUS, M. B. (1991) Drug treatment of experimental *Capillaria hepatica* infection in mice. *Parasitology Research* **77**, 517-520.

CHERO, J. C., SAITO, M., BUSTOS, J. A., BLANCO, E. M., GONZALVEZ, G., GARCIA, H. H. & CYSTICERCOSIS WORKING GROUP IN PERU (2007) *Hymenolepis nana* infection: symptoms and response to nitazoxanide in field conditions. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **101**, 203-205.

CHIEFFI, P. P., DIAS, R. M., MANGINI, A. C., GRISPINO, D. M. & PACHECO, M. A. (1981) *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) em murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **23**, 143-146.

CHINEME, C. N. & IBRAHIM, M. A. (1984) Hepatic capillariasis in African giant rats (*Cricetomys gambianus* Waterhouse). *Journal of Wildlife Diseases* **20**, 341-342.

CHING, H. L., LEIGHTON, B. J. & CRAIG, S. (2000) Intestinal parasites of raccoons (*Procyon lotor*) from southwest British Columbia. *The Canadian Journal of Veterinary Research* **64**, 107-111.

CHOE, G., LEE, H. S., SEO, J. K., CHAI, J-Y., LEE, S-H., EOM, K. S. & CHI, J. G. (1993) Hepatic capillariasis: first case report in the Republic of Korea. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **48**, 610-625.

- CISLAGHI, F. & RADICE, C. (1970) Infection by *Capillaria hepatica*. First case report in Italy. *Helvetica Paediatrica Acta* **25**, 654.
- COCHRANE, J. C. & SKINSTAD, E. E. (1960) *Capillaria hepatica* in a man – follow-up of a case. *South African Medical Journal* **34**, 21-22.
- COCHRANE, J. C., SAGORIN, L., & WILCOCKS, M. G. (1957) *Capillaria hepatica* infection in man. A syndrome of extreme eosinophilia, hepatomegaly and hyperglobulinaemia. *South African Medical Journal* **31**, 751-755.
- COLLARES-PEREIRA, M., GONÇALVES, L. & SANTOS-REIS, M. (2007) Epidemiologia e Controlo da Leptospirose na Região Autónoma dos Açores. Relatório Científico (USA Scientific Cooperative Agreement Nº 58-401-3-F185, 2004-2007). Unidade de Leptospirose e Borreliose de Lyme e Unidade de Epidemiologia e Bioestatística do Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa / Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 337 pp (+Anexos; 174 pp).
- COLLARES-PEREIRA, M., KORVER, H., TERPSTRA, W. J., SANTOS-REIS, M., RAMALHINHO, M. G., MATHIAS, M. L., OOM, M. M., FONS, R., LIBOIS, R. & PETRUCCI-FONSECA, F. (1997) First epidemiological data on pathogenic leptospires isolated on the Azorean islands. *European Journal of Epidemiology* **13**, 435-441.
- COLLARES-PEREIRA, M., MATHIAS, M. L., SANTOS-REIS, M., RAMALHINHO, M. G., DUARTE-RODRIGUES, P. (2000) Rodents and *Leptospira* transmission risk in Terceira island (Azores). *European Journal of Epidemiology* **16**, 1151-1157.
- COLLARES-PEREIRA, M., MATHIAS, M. L., SOARES, S., BACELLAR, F., ALVES, M. J., SANTOS-REIS, M., RAMALHINHO, M. G., OOM, M. M., FLOR, L., MATOS, J. E., FERRAZ DE CARVALHO, G., PETRUCCI-FONSECA, F. & FILIPE, A. (1997) Agentes zoonóticos associados aos pequenos mamíferos silvestres no arquipélago dos Açores. *Açoreana* **8**, 339-357.
- CONLOGUE, G., FOREYT, W., ADESS, M. & LEVINE, H. (1979) *Capillaria hepatica* (Bancroft) in select rat populations of Hartford, Connecticut, with possible public health implications. *The Journal of Parasitology* **65**, 105-108.
- CORDERO-DEL-CAMPILLO, M. & ROJO-VÁZQUEZ, F. A. (1999) *Parasitología Veterinaria*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid.
- CORDERO-DEL-CAMPILLO, M., CASTAÑÓN-ORDÓÑEZ, L. & REGUERA-FEO, A. (1994) *Índice-catálogo de Zooparásitos Ibéricos*. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León, León.
- COSTA, M. G., BARBOSA, J. C. & YAMAMOTO, P. T. (2006) Distribuição de probabilidade de ocorrência de *Orthezia praelonga* Douglas (Hemiptera: Sternorrhyncha: Ortheziidae) na cultura de citros. *Neotropical Entomology* **35**, 395-401.
- COX, F. E. G. (2001) Concomitant Infections, Parasites and Immune Responses. *Parasitology* **122**, S23-S38.
- CROMPTON, D. W. T. (1999). How much human helminthiasis is there in the world? *The Journal of Parasitology* **85**, 397-403.

CZAPLINSKI, B. & VAUCHER, C. (1994) Family Hymenolepididae Ariola, 1899. In *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates* (ed. Khalil, L. F., Jones, A. & Bray, R. A.), pp. 595-664. CAB International, Wallingford.

DIAS, P. G., FURUYA, W. M., PAVANELLI, G. C., MACHADO, M. H. & TAKEMOTO, R. M. (2004) Carga parasitária de *Rondonia rondoni*, Travassos, 1920 (Nematoda, Atractidae) e fator de condição do armado, *Pterodoras granulosus*, Valenciennes, 1833 (Pisces, Doradidae). *Acta scientiarum. Biological Sciences* **26**, 151-156.

DÍAZ, E., MONDRAGÓN, J., RAMÍREZ, E. & BERNAL, R. (2003) Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in children in Mexico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **68**, 384-385.

DOBSON, A. P. & MAY, R. M. (1986) Patterns of invasion by pathogens and parasites. In *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii* (ed. Mooney, H. A. & Drake, J. A.), pp. 58-76. Springer-Verlag, Berlin.

DOBSON, A. P. (1988) Restoring island ecosystems: the potential of parasites to control introduced mammals. *Conservational Biology* **2**, 31-39.

EIRA, C., MIQUEL, J., VINGADA, J. & TORRES, J. (2006) Natural infection of *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha, Leporidae) by *Gongylonema neoplasticum* (Nematoda, Gongylonematidae) in Portugal. *Acta Parasitologica* **51**, 119-122.

EIRA, C., VINGADA, J., TORRES, J. & MIQUEL, J. (2006) The helminth community of the red fox, *Vulpes vulpes*, in Dunas de Mira (Portugal) and its effect on host condition. *Wildlife Biology in Practice* **2**, 26-36.

EL-ON, J., DAGAN, R., FRASER, D. & DECKELBAUM, R. J. (1994) Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia intestinalis* in Bedouin children from southern Israel. *International Journal for Parasitology* **24**, 409-411.

EL-SAYAD, M. H. & LOTFY, W. M. (2002) A comparative study on the effect of praziquantel and triclabendazole on *Vampirolepis nana* in vitro. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **32**, 219-228.

EL-SAYAD, M. H. & LOTFY, W. M. (2005) Effect of storage on the infectivity of *Vampirolepis nana* var. *nana* eggs to Swiss albino mice. *Iranian Journal of Public Health* **34**, 29-34.

EOM, K-S., KIM, S-H. & RIM, H-J. (1988) Efficacy of praziquantel (Cesocide® injection) in treatment of cestode infections in domestic and laboratory animals. *The Korean Journal of Parasitology* **26**, 121-126.

ERICKSON, A. B. (1938) Parasites of some Minnesota Cricetidae and Zapodidae, and a host Catalogue of helminth parasites of Native American mice. *American Midland Naturalist* **20**, 575-589.

EZENWA, V. O. (2004) Host social behavior and parasitic infection: a multifactorial approach. *Behavioral Ecology* **15**, 446-454.

FAIN, A. (1953) Observations sur *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893) Hall 1916 au Congo Belge. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* **33**, 107-117.

- FALLAH, M., MIRARAB, A., JAMALIAN, F. & GHADERI, A. (2002) Evaluation of two years of mass chemotherapy against ascariasis in Hamadan, Islamic Republic of Iran. *Bulletin of the World Health Organization* **80**, 399-402.
- FAN, P. C. (2005) Infectivity and development of the human strain of *Hymenolepis nana* in ICR mice. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **36**, 97-102.
- FAN, P. C., CHUNG, W. C. & CHEN, E. R. (2000) *Capillaria hepatica*: a spurious case with a brief review. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* **16**, 360-367.
- FARHANG-AZAD, A. & SCHLITTER, D. A. (1978) *Capillaria hepatica* in small mammals collected from Shoa province, Ethiopia. *Journal of Wildlife Diseases* **14**, 358-361.
- FARHANG-AZAD, A. (1977a) Ecology of *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) (Nematoda). I. Dynamics of infection among Norway rat populations of the Baltimore Zoo, Baltimore, Maryland. *The Journal of Parasitology* **63**, 117-122.
- FARHANG-AZAD, A. (1977b) Ecology of *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) (Nematoda). II. Egg-releasing mechanisms and transmission. *The Journal of Parasitology* **63**, 701-706.
- FAUST, E. C. & MARTINEZ, W. H. (1935) Notes on helminths from Panama. II. Rare human nematode eggs in the feces of individuals from the Chagres River, Panama. *The Journal of Parasitology* **21**, 332-336.
- FAUST, E. C. (1949) *Human Helminthology, A Manual for Physicians, Sanitarians and Medical Zoologists*. Henry Kimpton, London.
- FELIÚ, C., RENAUD, F., CATZEFLIS, F., HUGOT, J. P., DURAND, P. & MORAND, S. (1997) A comparative analysis of parasite species richness of Iberian rodents. *Parasitology* **115**, 453-466.
- FELIÚ, C., TORRES, J., GALLEGO, J., GOSÀLBEZ I NOGUERA, J. & VENTURA, J. (1995) Primeros datos acerca de la helmintofauna de los roedores del Delta del Ebro (Península Ibérica). *Miscel-lània Zoològica* **9**, 55-64.
- FERRETTI, G., GABRIELE, F. & PALMAS, C. (1981) Development of human and mouse strain of *Hymenolepis nana* in mice. *International Journal for Parasitology* **11**, 425-430.
- FOLSTAD, I. & KARTER, A. J. (1992) Parasites, bright males and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist* **139**, 603-622.
- FORBES, M. R. (2007) On sex differences in optimal immunity. *Trends in Ecology and Evolution* **22**, 111-113.
- FORONDA, P., VALLADARES, B., LORENZO-MORALES, J., RIBAS, A., FELIÚ, C. & CASANOVA, J.C. (2003) Helminths of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Macaronesia. *The Journal of Parasitology* **89**, 952-957.
- FOSTER, A. O. & JOHNSON, C. M. (1939) An explanation for the occurrence of *Capillaria hepatica* ova in human feces suggested by the finding of three new hosts used as food. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **32**, 639-644.
- FOUNTA, A., THEODORIDIS, Y. & CHIMONAS, C. A. (1994) Metazoan parasitic fauna of *Mus musculus* in the city of Thessaloniki, Greece. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* **45**, 55-58.

FREEMAN, R. S. & WRIGHT, K. A. (1960) Factors concerned with the epizootiology of *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) in a population of *Peromyscus maniculatus* in Algonquin Park, Canada. *The Journal of Parasitology* **46**, 373-382.

FREEMAN, R. S. & WRIGHT, K. A. (1960) Factors concerned with the epizootiology of *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) in a population of *Peromyscus maniculatus* in Algonquin Park, Canada. *The Journal of Parasitology* **46**, 373-382.

FROMONT, E., MORVILLIERS, L., ARTOIS, M. & PONTIER, D. (2001) Parasite richness and abundance in insular and mainland feral cats: insularity or density? *Parasitology* **123**, 143-151.

FUENTES, M. V., SÁEZ, S., TRELIS, M., MUÑOZ-ANTOLI, C. & ESTEBAN, J. G. (2004) The helminth community of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia, Muridae) in the Sierra de Gredos (Spain). *Arxius de Miscel-lània Zoològica* **2**, 1-6.

FURUKAWA, T., INOUE, T. & MIYAZATO, T. (1982) Development of protective immunity to *Hymenolepis nana* infection in young mice. *Acta medica Kinki University* **7**, 135-145.

GALLATI, W. W. (1956) Fibrosarcoma associated with the cysticercus of *Taenia taeniaeformis* in the liver of a muskrat. *The Ohio Journal of Science* **56**, 71-75.

GALVANI, A. P. (2003) Immunity, antigenic heterogeneity, and aggregation of helminth parasites. *The Journal of Parasitology* **89**, 232-241.

GALVÃO, V. A. (1979) Tentativa para detector infecção por *Capillaria hepatica* no Homem. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* **21**, 231-236.

GALVÃO, V. A. (1981) Estudos sobre *Capillaria hepatica*: uma avaliação do seu papel patogênico para o Homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **76**, 415-433.

GARNER, H. W., RICHARDSON, L. W. & FELTS, L. A. (1976) Alimentary helminths of *Dipodomys ordii*: Effects on the host population. *The Southwestern Naturalist* **21**, 327-334.

GEORGI, J. R. (1980) *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. W. B. Saunders Company, Filadélfia.

GETAHUN, T. (2005) The prevalence of intestinal helminthic infections and associated risk factors among school children in Babile town, eastern Ethiopia. *Ethiopian Journal of Health Development* **19**, 140-147.

GOÛY DE BELLOCQ, J., MORAND, S. & FELIÚ, C. (2002) Patterns of parasite species richness of Western Palaearctic micro-mammals: island effects. *Ecography* **25**, 173-183.

GOÛY DE BELLOCQ, J., SARÀ, M., CASANOVA, J. C., FELIÚ, C. & MORAND, S. (2003) A comparison of the structure of helminth communities in the woodmouse, *Apodemus sylvaticus*, on islands of the western Mediterranean and continental Europe. *Parasitology Research* **90**, 64-70.

GOÛY DE BELLOCQ, J., SARÀ, M., CASANOVA, J. C., FELIÚ, C. & MORAND, S. (2003) A comparison of the structure of helminth communities in the woodmouse, *Apodemus sylvaticus*, on islands of the Western Mediterranean and continental Europe. *Parasitology Research* **90**, 64-70.

- GRACZYK, T. K., LOWENSTINE, L. J. & CRANFIELD, M. R. (1999) *Capillaria hepatica* (Nematoda) infections in human-habituated mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) of the Parc National de Volcans, Rwanda. *The Journal of Parasitology* **85**, 1168-1170.
- GRAHAM, A. L. (2002) When T-helper cells don't help: immunopathology during concomitant infection. *The Quarterly Review of Biology* **77**, 409-434.
- GRAHAM, A. L. (2008) Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 566-570.
- GRAY, S. J. & HURST, J. L. (1998) Competitive behaviour in an island population of house mice, *Mus domesticus*. *Animal Behaviour* **56**, 1291-1299.
- GRIKIENIENÉ, J. (2005) Investigations into endoparasites of small mammals in the environs of Lake Drūkšiai. *Acta Zoologica Lituanica* **15**, 109-114.
- HAMADA, G. S. & WERTHEIM, G. (1978) *Mastophorus muris* (Nematoda: Spirurina): cuticular ultrastructure of the adult and third stage larva. *The Journal of Parasitology* **64**, 448-453.
- HAMIR, A. N. & RUPPRECHT, C. E. (2000) Hepatic capillariasis (*Capillaria hepatica*) in porcupines (*Erethizon dorsatum*) in Pennsylvania. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **12**, 463-465.
- HAMIT, M. A., TIDJANI, M. T. & BILONG BILONG, C., F. (2008) Recent data on the prevalence of intestinal parasites in N'Djamena, Chad Republic. *African Journal of Environmental Science and Technology* **2**, 407-411.
- HANSEN, M. F. (1950) A new dilepidid tapeworm and notes on other tapeworms of rodents. *American Midland Naturalist* **43**, 471-479.
- HARKEMA, R. (1936) The parasites of some North Carolina rodents. *Ecological Monographs* **6**, 151-232.
- HARUKI, K., FURUYA, H., SAITO, S., KAMIYA, S. & KAGEI, N. (2005) Gongylostrongylus infection in man: a first case of gongylostrongylosis in Japan. *Helminthologia* **42**, 63-66.
- HASEGAWA, H., KOBAYASHI, J. & OTSURU, M. (1994) Helminth parasites collected from *Rattus rattus* on Lanyu, Taiwan. *Journal of the Helminthological Society of Washington* **61**, 95-103.
- HAUKISALMI, V., HENTTONEN, H. & BATZLI, G. O. (1995) Helminth parasitism in the voles *Microtus oeconomus* and *M. miurus* on the north slope of Alaska: host specificity and the effects of host sex, age and breeding status. *Annales Zoologici Fennici* **32**, 193-201.
- HAUKISALMI, V., HENTTONEN, H. & TENORA, F. (1987) Parasitism by helminths in the grey-sided vole (*Clethrionomys rufocanus*) in northern Finland: Influence of density, habitat and sex of the host. *Journal of Wildlife Diseases* **23**, 233-241.
- HAUKISALMI, V., HENTTONEN, H. & TENORA, F. (1988) Population dynamics of common and rare helminth in cyclic vole populations. *Journal of Animal Ecology* **57**, 807-825.
- HEICHER, D. S. & GALLATI, W. W. (1978) Three new hosts for the Cysticeroid of *Hymenolepis Diminuta*. *The Ohio Journal of Science* **78**, 149-151.

HERBERT, C. & COHEN, S. (1993) Stress and immunity in humans: a meta-analysis review. *Psychosomatic Medicine* **55**, 364-379.

HEYNEMAN, D. & VOGEL, M. (1971) Host response to the flour beetle, *Tribolium confusum*, to infections with *Hymenolepis diminuta*, *H. microstoma*, and *H. citelli* (Cestoda: Hymenolepididae). *The Journal of Parasitology* **57**, 881-886.

HIGGS, S. & NOWELL, F. (2000) Population biology of *Eimeria* (Protozoa: Apicomplexa) in *Apodemus sylvaticus*: a capture/recapture study. *Parasitology* **120**, 355-363.

HILKEN, G., BÜTTNER, D. & MILITZER, K. (2003) Three important endoparasites of laboratory woodchucks (*Marmota monax*) caught in the wild: *Capillaria hepatica*, *Ackertia marmotae*, and *Taenia crassiceps*. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **30**, 151-156.

HUGHES, V. L. & RANDOLPH, S. E. (2001) Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: a force for aggregated distributions of parasites. *The Journal of Parasitology* **87**, 49-54.

HUGOT, J. P. (1988) Les nématodes Syphaciinae parasites de rongeurs et de lagomorphes. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Série A* **141**, 1-148.

ILHA, M. R. & BARROS, C. S. (2000) Capilariose hepática em cães e gatos: 15 casos. *Ciência Rural* **30**, 665-669.

IRIZARRY-ROVIRA, A. R., WOLF, A. & BOLEK, M. (2007) *Taenia taeniaeformis*-induced metastatic hepatic sarcoma in a pet rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Exotic Pet Medicine* **16**, 45-48.

ISHIMOTO, Y. (1974) Studies on helminths of voles in Hokkaido. I. Taxonomical study. *Japanese Journal of Veterinary Research* **22**, 1-12.

ITO, M. & ITAGAKI, T. (2003) Survey on wild rodents for endoparasites in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* **65**, 1151-1153.

IZDEBSKA, J. N. & ROLBIECKI, L. (2006) Correlation between the occurrence of mites (*Demodex* spp.) and nematodes in house mice (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) in the Gdańsk urban agglomeration. *Biological Letters* **43**, 175-178.

JACOBSEN, K. H., RIBEIRO, P. S., QUIST, B. K. & RYDBECK, B. V. (2007) Prevalence of intestinal parasites in young Quichua children in the highlands of rural Ecuador. *The Journal of Health, Population and Nutrition* **25**, 399-405.

JANOVY, J. JR. (2002) Concurrent infections and the community ecology of helminth parasites. *The Journal of Parasitology* **88**, 440-445.

JOSEPH, T. (1974) *Hymenolepis diminuta* in a gray squirrel from Indiana. *Journal of Wildlife Diseases* **10**, 164-165.

JOYEUX, C. H. & BAER, J. G. (1936) *Faune de France. 30. Cestodes*. Lechevalier, Paris.

JUNCKER-VOSS, M., PROSL, H., LUSSY, H., ENZENBERG, U., AUER, H. & NOWOTNY, N. (2000) Serological detection of *Capillaria hepatica* by indirect immunofluorescence assay. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 431-433.

- KAPPUS, K. K., JURANEK, D. D. & ROBERTS, J. M. (1991) Results of testing for intestinal parasites by state diagnostic laboratories, United States, 1987. *Morbidity and Mortality Weekly Report CDC Surveillance Summaries* **40**, 25-45.
- KASAI, Y. (1978) Studies on helminth and protozoan parasites of rats in Sapporo. *Japanese Journal of Veterinary Research* **26**, 31-31.
- KASSAI, T. (1982) *Handbook of Nippostrongylus brasiliensis (Nematode)*. Commonwealth Agricultural Bureau, Akadémiai Kiadó, Budapest.
- KATARANOVSKI, D.S., VUKIĆEVIĆ-RADIĆ, O. D., KATARANOVSKI, M. V., RADOVIĆ, D. L. & MIRKOV, I. I. (2008) Helminth fauna of *Mus musculus* Linnaeus, 1758 from the suburban area of Belgrade, Serbia. *Archives of Biological Sciences, Belgrade* **60**, 609-617.
- KEARN, G. C. (1998) *Parasitism and the Platyhelminths*. Chapman & Hall, London.
- KENNEDY, C. R.; BUSH, A. O. & AHO, J. M. (1986) Patterns in helminth communities: why are birds and fish different? *Parasitology* **93**, 205-215.
- KEVEN, K., BENGISUN, J. S., ALTUNTAŞ, F., AKAR, H., NERGIZOĞLU, G., KUTLAY, S., DUMAN, N. & ERBAY, B. (2001) Cystic infection of the liver in a maintenance haemodialysis patient. *Nephrology Dialysis Transplantation* **16**, 859-860.
- KHALIL, H. M., EL SHIMI, S., SARWAT, M. A., FAWZY, A. F. & EL SOROUGY, A. O. (1991) Recent study of *Hymenolepis nana* infection in Egyptian children. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **21**, 293-300.
- KHATOON, N., BILQEES, F. M., JAFFERY, D. S. & RIZWANA, A. G. (2004) Histopathologic alterations associated with *Syphacia* sp. (Nematode) in the intestine of *Nesokia indica*. *Turkish Journal of Zoology* **28**, 345-351.
- KING, C. M., FLUX, M., INNES, J. G. & FITZGERALD, B. M. (1996) Population biology of small mammals in Pureora Forest Park: I. Carnivores (*Mustela erminea*, *M. furo*, *M. nivalis*, and *Felis catus*). *New Zealand Journal of Ecology* **20**, 241-251.
- KLENZAK, J., MATTIA, A., VALENTI, A. & GOLDBERG, J. (2005) Hepatic capillariasis in Maine presenting as a hepatic mass. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **72**, 651-653.
- KLIMPEL, S., FÖRSTER, M. & SCHMAHL, G. (2007) Parasites of two abundant sympatric rodent species in relation to host phylogeny and ecology. *Parasitology Research* **100**, 867-875.
- KOSKI, K. G. & SCOTT, M. E. (2003) Gastrointestinal nematodes, trace elements and immunity. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* **16**, 237-251.
- KRISHNASAMY, M., SINGH, K. I., AMBU, S. & RAMACHANDRAN, P. (1980) Seasonal prevalence of the helminth fauna of the wood rat *Rattus tiomanicus* (Miller) in West Malaysia. *Folia Parasitologica (Praha)* **27**, 231-235.
- KUMAR, V., BRANDT, J. & MORTELMANS, J. (1985) Hepatic capillariasis may simulate the syndrome of visceral larva migrans, an analysis. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* **65**, 101-104.

KUNWAR, C. B., SUBBA, B., SHRESTHA, M., CHAPAGAIN, R. H., JHA, B., SUBEDI, J., BLANGERO, J., WILLIAMS BLANGERO, S. & TOWNE, B. (2005) A human case of *Hymenolepis diminuta* infection in Nepal. *Journal of Institute of Medicine* **27**, 66-67.

LANDAETA-AQUEVEQUE, C. A., ROBLES, M. D. R. & CATTAN, P. E. (2007) The community of gastrointestinal helminths in the housemouse, *Mus musculus*, in Santiago, Chile. *Parasitología Latinoamericana* **62**, 165-169.

LANDAETA-AQUEVEQUE, C. A., ROBLES, M. D. R. & CATTAN, P. E. (2007) Helmintofauna del roedor *Abrothrix olivaceus* (Sigmodontinae) en áreas sub-urbanas de Santiago de Chile. *Parasitología Latinoamericana* **62**, 134-141.

LANDOLFI, J. A., KARIM, B. O., POYNTON, S. L. & MANKOWSKI, J. L. (2003) Hepatic *Calodium hepaticum* (Nematoda) infection in a zoo colony of black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **34**, 371-371.

LARSH, J. E., JR. (1946) A comparative study of *Hymenolepis* in white mice and golden hamsters. *The Journal of Parasitology* **32**, 477-479.

LATHAM, N. & MASON, G. (2004) From house mouse to mouse house: the behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Applied Animal Behaviour Science* **86**, 261-289.

LAYNE, J. N. & GRIFFO, J. V., JR. Incidence of *Capillaria hepatica* in populations of the Florida deer mouse, *Peromyscus floridanus*. *The Journal of Parasitology* **47**, 31-37.

LAYNE, J. N. & WINEGARNER, C. E. (1971) Occurrence of *Capillaria hepatica* (Nematoda: Trichuridae) in the spotted skunk in Florida. *Journal of Wildlife Diseases* **7**, 256-257.

LETHBRIDGE, R. C. (1971) The locust as an intermediate host for *Hymenolepis diminuta*. *The Journal of Parasitology* **57**, 445-446.

LOCHMILLER, R. L., ROBINSON, R. M. & KIRKPATRICK, R. L. (1982) Infection of *Microtus pinetorum* with the Nematode *Capillaria gastrica* (Baylis, 1926) Baylis, 1931. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* **49**, 321-323.

LÓPEZ-DARIAS, M., RIBAS, A. & FELIÚ, C. (2008) Helminth parasites in native and invasive mammal populations: comparative study on the Barbary ground squirrel *Atlantoxerus getulus* L. (Rodentia, Sciuridae) in Morocco and the Canary Islands. *Acta Parasitologica* **53**, 296-301.

LOTZ, J. M. & FONT, W. F. (1994) Excess positive associations in communities of intestinal helminths of bats: a refined null hypothesis and a test of the facilitation hypothesis. *The Journal of Parasitology* **80**, 398-413.

LOUKAS, A. & PROCIV, P. (2001) Immune responses in hookworm infections. *Clinical Microbiology Reviews* **14**, 689-703.

LUBINSKY, G. (1956) On the Probable presence of parasitic liver cirrhosis in Canada. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* **20**, 457-465.

LUCIENTES, J., CASTILLO, J. A., TANG, Y., BENITO, M. I., FERRER-DUFOL, M., GARCÍA-SALINAS, M. J., PERIBÁÑEZ, M. A. & GUARGA-PENELLA, J. L. (1995) Sobre el hallazgo de *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 (Diptera: Psychodidae) parasitado por

- Mastophorus muris* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spirurina). *Zapateri, Revista Aragonesa de Entomología* **5**, 183-184.
- LUDWIG, J. A. & REYNOLDS, J. F. (1988) *Statistical Ecology: A Primer on Methods and Computing*. Wiley InterScience Publications, New York.
- LUSSIER, G. & LOEW, F. M. (1970) Natural *Hymenolepis nana* in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *The Canadian Veterinary Journal* **11**, 105-107.
- LUTTERMOSER, G. W. (1938a) An experimental study of *Capillaria hepatica* in the rat and the mouse. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **27**, 321-340.
- LUTTERMOSER, G. W. (1938b) Factors influencing the development and viability of the eggs of *Capillaria hepatica*. *American Journal of Epidemiology* **27**, 275-289.
- MACHADO, M., PAVANELLI, G. C. & TAKEMOTO, R. M. (1996) Structure and diversity of endoparasitic infracommunities and the trophic level of *Pseudoplatystoma corruscans* and *Schizodon borelli* (Osteichthyes) of the high Paraná river. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**, 441-448.
- MACKIEWICZ, J. S. (1988) Cestode transmission patterns. *The Journal of Parasitology* **74**, 60-71.
- MADRP (2008) *Programa Rede Rural Nacional*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- MAFIANA, C.F., OSHO, M. B., SAM-WOBO, S. (1997) Gastrointestinal helminth parasites of the black rat (*Rattus rattus*) in Abeokuta, southwest Nigeria. *Journal of Helminthology* **71**, 217-220.
- MAHON, J. (1954) Occurrence of larvae of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) in the American rabbit *Lepus americanus*. *The Journal of Parasitology* **40**, 698.
- MARANGI, M., ZECHINI, B., FILETI, A., QUARANTA, G. & ACETI, A. (2003) *Hymenolepis diminuta* infection in a child living in the urban area of Rome, Italy. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 3994-3995.
- MARNELL, F., GUILLET, A. & HOLLAND, C. (1992) A survey of the intestinal helminths of refugees in Juba, Sudan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **86**, 387-93.
- MARTINS, A. M. F. (1993) The Azores – westernmost Europe: where evolution can be caught red-handed. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **2**, 181-198.
- MASON, P. R. & PATTERSON, B. A. (1994) Epidemiology of *Hymenolepis nana* in primary school children in urban and rural communities in Zimbabwe. *The Journal of Parasitology* **80**, 245-250.
- MATHIAS, M. L., RAMALHINHO, M. G., SANTOS-REIS, M., PETRUCCI-FONSECA, F., LIBOIS, R., FONS, R., FERRAZ DE CARVALHO, G., OOM, M. M. & COLLARES-PEREIRA, M. (1998) Mammals from the Azores islands (Portugal): an updated overview. *Mammalia* **62**, 397-407.
- MATHIES, A. W. (1954) The influence of sex on mouse pinworm infection. *The Journal of Parasitology* **40**, 702.

- MATOBA, Y., ASANO, M., YAGI, K. & ASAKAWA, M. (2003) Detection of a taeniid species *Taenia taeniaeformis* from a feral raccoon *Procyon lotor* and its epidemiological significance. *Mammal Study* **28**, 157-160.
- MAY, R. M. & ANDERSON, R. M. (1978) Regulation and stability of host-parasite population interactions. II. Destabilising processes. *Journal of Animal Ecology* **47**, 249-267.
- MAŽEIKA, V., PAULAUSKAS, A. & BALČIAUSKAS, L. (2003) New data on the helminth fauna of rodents of Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica* **13**, 41-47.
- MCCALLUM, H., BARLOW, N. & HONE, J. (2001) How should pathogen transmission be modelled? *Trends in Ecology and Evolution* **16**, 295-300.
- MELVIN, D. M. & CHANDLER, A. C. (1950) New helminth records from the cotton rat, *Sigmodon hispidus*, including a new species, *Strongyloides sigmodontis*. *The Journal of Parasitology*, **36**, 505-510.
- MENGHI, C. I., IUVARO, F. R., DELLACASA, M. A., & GATTA, C. L. (2007) Investigación de parásitos intestinales en una comunidad aborigen de la provincia de Salta. *Medicina (Buenos Aires)* **67**, 705-708.
- MILAZZO, C., ALOISE, G., CAGNIN, M., DI BELLA, C., GERACI, F., FELIÚ, C. & CASANOVA, J. C. (2005). Helminths of *Apodemus sylvaticus* (Muridae) distributed on the Southern European border (Italian peninsula). *Vie et Milieu* **55**, 45-51.
- MILAZZO, C., CASANOVA, J. C., ALOISE, G., RIBAS, A. & CAGNIN, M. (2003) Helminths of the bank vole *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Arvicolinae) in Southern Italy. *Italian Journal of Zoology* **70**, 333-337.
- MILAZZO, C., GOÛY DE BELLOCQ, J., CAGNIN, M., CASANOVA, J.C., DI BELLA, C., FELIÚ, C., FONS, R., MORANS, S. & SANTALLA, F. (2003) Helminth and ectoparasites of *Rattus rattus* and *Mus musculus* from Sicily, Italy. *Comparative Parasitology* **70**, 199-204.
- MILLER, C. J. & MILLER, T. K. (1995) Population dynamics and diet of rodents on Rangitoto Island, New Zealand, including the effect of a 1080 poison operation. *New Zealand Journal of Ecology* **9**, 83-88.
- MIN, D. Y., AHN, M. H., KIM, K. M. & KIM, C. W. (1986) Intestinal parasite survey in Seoul by stool examination at Hanyang University Hospital. *The Korean Journal of Parasitology* **24**, 209-212.
- MIRANDA, P. M. A., VALENTE, M. A., TOMÉ, A. R., TRIGO, R., COELHO, M. F., AGUIAR, A. AZEVEDO, E. B. (2006) O Clima de Portugal nos séculos XX e XXI. In *Alterações climáticas em Portugal. Cenários, Impactos e Medidas de Adaptação* (ed. Santos, F. D. & Miranda, P. M. A.), pp. 49-113. Gradiva-Publicações Lda, Lisboa.
- MIRDHA, B. R. & SAMANTRAY, J. C. (2002) *Hymenolepis nana*: A common cause of paediatric diarrhoea in urban slum dwellers in India. *Journal of Tropical Pediatrics* **48**, 331-334.
- MOHRS, K., HARRIS, D. P., LUND, F. E. & MOHRS, M. (2005) Systemic dissemination and persistence of Th2 and type 2 cells in response to infection with a strictly enteric nematode parasite. *The Journal of Immunology* **175**, 5306-5313.

- MOORS, P. J. (1985) Norway rats (*Rattus norvegicus*) on the Noises and Motukawao Islands, Hauraki Gulf, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology* **8**, 37-54.
- MORAND, S. & POULIN, R. (1998) Density, body mass and parasite species richness of terrestrial mammals. *Evolutionary Ecology* **12**, 717-727.
- MORAND, S. (1996). Biodiversity of parasites in relation to their life-cycle. In *Aspects of the Genesis and Maintenance of Biological Diversity* (ed. Hochberg, M. E., Clobert, J. & Barbault, R.), pp. 243-260. Oxford University Press, Oxford.
- MOSMANN, T. R. & SAD, S. (1996) The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology Today* **17**, 138-146.
- MOWLAVI, G. H., MOUBEDI, I., MAMISHI, S., REZAEIAN, M., HAGHI-ASHTIANI, M. T. & KASHI, M. (2008) *Hymenolepis diminuta* (Rodolphi, 1819) infection in a child from Iran. *Iranian Journal of Public Health* **37**, 120-122.
- NABI, F., PALAHA, H. K., SEKHSARIA, D. & CHIATALE, A. (2007) *Capillaria hepatica* infestation. *Indian Pediatrics* **44**, 781-782.
- NAMA, H. S. (1990) *Cestode Parasites of Indian Mammals*. Scientific Publishers, Jodhpur.
- NATION, P. N. & DIES, K. H. (1978) Case report: *Capillaria hepatica* in a horse. *The Canadian Veterinary Journal* **19**, 315-316.
- NEAFIE, R. C. & HALEY, A. J. (1962) Sex difference in resistance of the mouse, *Mus musculus*, to infection with the rat nematode, *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914). *The Journal of Parasitology* **48**, 151.
- NEWAY, S., SHAW, D. J., KIRBY, A., MONTIETH, P., HUDSON, P. J. & THIRGOOD, S. J. (2005) Prevalence, intensity and aggregation of intestinal parasites in mountain hares and their potential impact on population dynamics. *International Journal for Parasitology* **35**, 367-373.
- NIEBERDING, C., MORAND, S., LIBOIS, R. & MICHAUX, J. R. (2006) Parasites and the island syndrome: the colonization of the western Mediterranean islands by *Heligmosomoides polygyrus* (Dujardin, 1845). *Journal of Biogeography* **33**, 1212-1222.
- OBENDORF, D. L. (1979) The helminth parasites of *Rattus fuscipes* (Waterhouse) from Victoria, including description of two new nematode species. *Australian Journal of Zoology* **27**, 867-879.
- OLDHAM, J. N. (1931) On the arthropod intermediate hosts of *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi 1819). *Journal of Helminthology* **9**, 21-28.
- OLIVEIRA RODRIGUES, H. DE & LOPES DOS SANTOS, L. R. (1984) Infecção natural de *Mus musculus* L., 1758 por *Gongylonema neoplasticum* Fibiger & Ditlevsen, 1914 (Nematoda, Gongylonematinae). *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro* **24**, 17.
- OLSEN, O. W. (1986) *Animal Parasites, Their Biology and Life Cycles*. Courier Dover Publications, New York.
- OMS (1987) *Guide por la lutte contre la leptospirose*. Organisation Mondiale de la Santé, Genève: Publication Offset N°. 67, 175 pp.

- PEREIRA, V. G. & FRANÇA, L. C. M. (1983) Successful treatment of *Capillaria hepatica* infection in an acutely ill adult. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **32**, 1272-1274.
- PÉTAVY, A. F., TENORA, F. & DEBLOCK, S. (2003) Co-occurrence of metacestodes of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* (Cestoda) in *Arvicola terrestris* (Rodentia) in France. *Folia Parasitologica (Praha)* **50**, 157-158.
- PFÄFFENBERGER, G. S., KEMETHER, K. & DE BRUIN, D. (1985) Helminths of sympatric populations of kangaroo rats (*Dipodomys ordii*) and grasshopper mice (*Onychomys leucogaster*) from the high plains of eastern New Mexico. *The Journal of Parasitology* **71**, 592-595.
- PIKE, E. H. (1969) Egg output of *Trichuris muris* (Schrank, 1788). *The Journal of Parasitology* **55**, 1046-1049.
- PISANU, B., JERUSALEM, C., HUCHERY, H., MARMET, J. & CHAPUIS, J. L. (2007) Helminth fauna of the Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus* Laxmann (Rodentia, Sciuridae) introduced in suburban French forests. *Parasitology Research* **100**, 1375-1379.
- PIZZI, R., GORDON, J. C., FLACH, E. J., ROUTH, A. D., CLARK, B. & BOARDMAN, W. S. J. (2008) *Capillaria hepatica* (syn *Calodium hepaticum*) in primates in a zoological collection in the UK. *The Veterinary Record* **163**, 690-691.
- POULIN, R. & MORAND, S. (1999) Geographical distances and similarity among parasite communities of conspecific host populations. *Parasitology* **119**, 369-374.
- POULIN, R. & MORAND, S. (2000) The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology* **75**, 277-293.
- POULIN, R. (1996) Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *The American Naturalist* **147**, 287-295.
- POULIN, R. (1997) Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* **28**, 341-358.
- PRICE, P. W. (1977) General concepts on the evolutionary biology of parasites. *Evolution* **31**, 405-420.
- PRYOR, S. & BRONSON, F. H. (1981) Relative and combined effects of low temperature, poor diet, and short daylength on the productivity of wild house mice. *Biology of Reproduction* **25**, 734-743.
- PRYOR, S. & BRONSON, F. H. (1981) Relative and combined effects of low temperature, poor diet, and short daylength on the productivity of wild house mice. *Biology of Reproduction* **25**, 734-743.
- PULIDO-FLORES, G., MORENO-FLORES, S. & MONKS, S. (2005) Helminths of rodents (Rodentia: Muridae) from Metztitlán, San Cristóbal, and Rancho Santa Elena, Hidalgo, Mexico. *Comparative Parasitology* **72**, 186-192.
- QUARESMA, A., ALMEIDA, S., COSTA, D., BORREGO, S., MARTINS, R., COSTA, A., FERREIRA, P., FREITAS, G. & GONÇALVES, A. T. (2006) Rodents: distribution, relative abundance and *Leptospira* infection rate in Terceira and São Miguel Islands. In *Resumos do Seminário de Leptopirose nos Açores, 24-25 Nov. 2006* (ed. Collares-Pereira, M.), pp. 29-30. Ponta Delgada.

QUENTIN, J. C. (1970) Morphogénèse larvaire du spiruride *Mastophorus muris* (Gmelin, 1790). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **45**, 839-855.

RANDALL, C. (1999) *Vertebrate Pest Management – A Guide for Commercial Applicators (Extension Bulletin E-2050)*. Michigan State University extension, East Lansing.

READ, C. P. & VOGEL, M. (1954) The size attained by *Hymenolepis diminuta* in different host species. *The Journal of Parasitology* **40**, 88-89.

READ, C. P. (1967) Longevity of the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *The Journal of Parasitology* **53**, 1055-1056.

REIMCHEN, T. E. & NOSIL, P. (2001) Ecological causes of sex-biased parasitism in threespine stickleback. *Biological Journal of the Linnean Society* **73**, 51-63.

RelLepMiranda2006

REPERANT, L. A. & DEPLAZES, P. (2005) Cluster of *Capillaria hepatica* infections in non-commensal rodents from the canton of Geneva, Switzerland. *Parasitology Research* **96**, 340-342.

REYNOLDS, J. A., BEHNKE, J. M., PALLANT, L. J., MACNISH, M. G., GILBERT, F., GILES, S., SPARGO, R. J. & THOMPSON, R. C. A. (1997) Failure of pyrantel in treatment of human hookworm infections (*Ancylostoma duodenale*) in the Kimberley region of North West Australia. *Acta Tropica* **68**, 301-312.

RIBAS, A. & CASANOVA, J. C. (2006) Acanthocephalans. In *Micromammals and Macroparasites: from Evolutionary Ecology to Management* (ed. Morand, S., Krasnov, B. R. & Poulin, R.), pp. 81-89. Springer-Verlag, Tokyo.

RILEY, W. & SHANNON, W. R. (1922) The rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta*, in man. *The Journal of Parasitology* **8**, 109-117.

RILEY, W. A. (1919) A mouse oxyurid, *Syphacia obvelata*, as a parasite of man. *The Journal of Parasitology* **6**, 89-93.

ROBERTS, M., RODRIGO, A., McARDLE, B. & CHARLESTON, W. A. G. (1992) The effect of habitat on the helminth parasites of an island population of the Polynesian rat (*Rattus exulans*). *Journal of Zoology* **227**, 109-125.

ROJAS, M. DEL C. & DIGIANI, M. C. (2003) First record of *Mastophorus muris* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spiruroidea) from a wild host in South America. *Parasite* **10**, 375-378.

ROSARIO ROBLES, M., NAVONE, G. T. & GOMEZ VILLAFANE, I. E. (2008) New morphological details and first records of *Heterakis spumosa* and *Syphacia muris* from Argentina. *Comparative Parasitology* **75**, 145-149.

RÓZSA, L., REICZIGEL, J. & MAJOROS, G. (2000) Quantifying parasites in samples of hosts. *The Journal of Parasitology* **86**, 228-232.

RUAS, J. L., SOARES, M. P., FARIAS, N. A. R. & BRUM, J. G. W. (2003) Infecção por *Capillaria hepatica* em carnívoros silvestres (*Lycalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous*) na região sul do Rio Grande do Sul. *Arquivos do Instituto Biológico* **70**, 127-130.

- SAINZ-ELIPE, S., GALÁN-PUCHADES, M. T. & FUENTES, M. V. (2007) The helminth community of the Mediterranean mouse, *Mus spretus*, in a post-fire regenerated Mediterranean ecosystem. *Helminthologia* **44**, 107-111.
- SALISBURY, L. F. & ANDERSON, R. J. (1939) Concerning the chemical composition of *Cysticercus fasciolaris*. *The Journal of Biological Chemistry* **129**, 505-517.
- SATO, Y., OOI, H. K., NONAKA, N., OKU, Y. & KAMIYA, M. (1995) Antibody production in *Syphacia obvelata* infected mice. *The Journal of Parasitology* **81**, 559-562.
- SAWAMURA, R., FERNANDES, M. I., PERES, L. C., GALVÃO, L. C., GOLDANI, H. A., JORGE, S. M., DE MELO ROCHA, G. & DE SOUZA, N. M. (1999) Hepatic capillariasis in children: report of 3 cases in Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **61**, 642-647.
- SCHALK, G. & FORBES, M. R. (1997) Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age and parasite taxon. *Oikos* **78**, 67-74.
- SCHENONE, H. (1980) Praziquantel in the treatment of *Hymenolepis Nana* infections in children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **29**, 320-321.
- SCOTT, M. E. & GIBBS, H. C. (1986) Long-term population dynamics of pinworms (*Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera*) in mice. *The Journal of Parasitology* **72**, 652-662.
- SEO, B-S., RIM, H. J., LEE, C. W. & YOON, J. S. (1964) Studies on the parasitic helminths of Korea II. Parasites of the rat, *Rattus norvegicus* Erxl. in Seoul, with the description of *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) Travassos, (1915). *The Korean Journal of Parasitology* **2**, 55-62.
- SEO, B-S., RIM, H.-J., YOON, J.-J., KOO, B.-Y. & HONG, N.-T. (1968) Studies on the parasitic helminths of Korea III. Nematodes and cestodes of rodents. *The Korean Journal of Parasitology* **6**, 123-131.
- SHARPLESS, G. R. (1943) Diet and epithelial hyperplasia in the forestomach of rats and mice. *Cancer Research* **3**, 108-112.
- SHAW, D. J., GRENFELL, B. T. & DOBSON, A. P. (1998) Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology* **117**, 597-610.
- SHIMALOV, V. V. & SHIMALOV, V. T. (2002) Helminth fauna of the red squirrel (*Sciurus vulgaris* Linnaeus, 1758) in Belorussian Polesie. *Parasitology Research* **88**, 1008.
- SHORB, D. A. (1931) Experimental infestation of white rats with *Hepaticola hepatica*. *The Journal of Parasitology* **17**, 151-154.
- SILVA, L. O., LUQUE, J. L., ALVES, D. R. & PARAGUASSÚ, A. R. (2000) Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do peixe-espada *Trichiurus lepturus* Linnaeus (Osteichthyes, Trichiuridae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecias* **2**, 115-133.
- SILVERMAN, N. H., KATZ, J. S. & LEVIN, S. E. (1973) *Capillaria hepatica* infestation in a child. *South African Medical Journal* **47**, 219-221.
- SINGH, B. B. & RAO, B. V. (1965) Some biological studies on *Taenia taeniaeformis*. *Journal of Helminthology* **18**, 151-160.

- SINGLA, L. D., SINGLA, N., PARSHAD, V. R., JUYAL, P. D. & SOOD, N. K. (2008) Rodents as reservoirs of parasites in India. *Integrative Zoology*, **3**: 21-26.
- SINGLA, L.D., AULAKH, G.S., SHARMA, R., JUYAL, P.D. & SINGH, J. (2009) Concurrent infection of *Taenia taeniaeformis* and *Isospora felis* in a stray kitten: a case report. *Veterinarni Medicina* **54**, 81-83.
- SINGLETON, G. R. & KREBS, C. J. (2007) The secret world of wild mice. In *The Mouse in Biomedical Research. Volume 1: History, Wild Mice, and Genetics* (ed. Fox J. G., Barthold, S. W., Davisson, M. T., Newcomer, C. E., Quimby, F. W. & Smith, A. L.), pp. 25-51. Academic Press/Elsevier, San Diego.
- SINGLETON, G. R., SMITH, A. L., SHELLAM, G. R., FITZGERALD, N. & MULLER, W. J. (1993) Prevalence of viral antibodies and helminths in field populations of house mice (*Mus domesticus*) in Southeastern Australia. *Epidemiology and Infection* **110**, 399-417.
- SINGLETON, G. R., SPRATT, D. M., BARKER, S. C. & HODGSON, P. F. (1991). The geographic distribution and host range of *Capillaria hepatica* (Bancroft) (Nematoda) in Australia. *International Journal of Parasitology* **21**, 945-957.
- SIRIVICHAYAKUL, C., POJJAROEN-ANANT, C., WISETSING, P., SIRIPANTH, C., CHANTHAVANICH, P. & PENGSA, K. (2003) Prevalence of intestinal parasitic infection among Thai people with mental handicaps. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **34**, 259-263.
- SKORPING, A. & JENSEN, K. H. (2004) Disease dynamics: all caused by males? *Trends in Ecology and Evolution* **19**, 219-220.
- SKRJABIN, K. I., SHIKHOBALOVA, N. P. & LAGODOVSKAYA, E. A. (1960) Oxyuroidea of animals and man. Part One. In *Essentials of Nematodology. Volume VIII* (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1974).
- SKRJABIN, K. I., SHIKHOBALOVA, N. P. & LAGODOVSKAYA, E. A. (1961) Oxyurata of animals and man. Part Two. In *Essentials of Nematodology. Volume X* (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1974).
- SKRJABIN, K. I., SHIKHOBALOVA, N. P. & ORLOV, I. V. (1957) Trichocephalidae and Capillariidae of animals and man and the diseases caused by them. In *Essentials of Nematodology. Volume VI* (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1970).
- SKRJABIN, K. I., SHIKHOBALOVA, N. P. & SHULTS, R. S. (1954) Trichostrongylids of animals and man. In *Essentials of Nematodology. Volume III* (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1960).
- SKRJABIN, K. I., SHIKHOBALOVA, N. P. & SOBOLEV, A. A. (1949) Spirurata and Filariata. In *Key to Parasitic Nematodes. Volume I*. (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, St. Petersburg. In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1969).
- SKRJABIN, K. I., SOBOLEV, A. A. & IVASHKIN, V. M. (1967) Spirurata of animals and man and the diseases caused by them, Part 4: Thelazioidea. In *Essentials of Nematodology*.

Volume XVI. (ed. Skrjabin, K. I.). Academy of Sciences of the USSR, Moscow. (In Russian: English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1971).

SMALES, L. R. (1995) *Mastophorus muris* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spirocercidae) from the musky rat-kangaroo, *Hypsiprymnodon moschatus*. *Transactions of the Royal Society of South Australia* **119**, 95-96.

SMALES, L. R. (2009) Helminths of *Melomys rufescens* and *Melomys* spp. (Muridae: Hydromyinae) from Papua New Guinea with the descriptions of a new genus and five new species in the Heligmonellidae (Nematoda: Trichostrongyloidea). *The Raffles Bulletin of Zoology* **57**, 5-15.

SMITH, P. E. (1953) Incidence of *Heterakis spumosa* Schneider, 1866 (Nematoda: Heterakidae) in wild rats. *The Journal of Parasitology* **39**, 225-226.

SMYTH, J. D. (1962) *Introduction to Animal Parasitology*. English University Press, London.

SMYTH, J. D. (1969) *The Physiology of Cestodes*. Oliver and Boyd, Edinburgh.

SOEIRO DE BRITO, R. (1955) *A Ilha de São Miguel, Estudo Geográfico*. Instituto de Alta Cultura – Centro de Estudos Geográficos, Lisboa.

SOHN, W.-M. & CHAI, J.-Y. (2005) Infection status with helminthes in feral cats purchased from a market in Busan, Republic of Korea. *The Korean Journal of Parasitology* **43**, 93-100.

SOLOMON, G. B. & HANDLEY, C. O., JR. (1971) *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) in Appalachian mammals. *The Journal of Parasitology* **57**, 1142-1144.

SPATAFORA, G. A. & PLATT, T. R. (1982) Survey of the helminth parasites of the rat, *Rattus norvegicus*, from Maymont Park, Richmond, Virginia. *Virginia Journal of Science* **33**, 3-6.

SPEAKMAN, J. R. & WEBB, P. I. (1993) Taxonomy status and distribution of the Azorean bat (*Nyctalus azoreum*). *Journal of Zoology (London)* **231**, 27-38.

SPRATT, D. M. & SINGLETON, G. R. (1986) Studies on the life cycle, infectivity and clinical effects of *Capillaria hepatica* (Bancroft) (Nematoda) in mice, *Mus musculus*. *Australian Journal of Zoology* **34**, 663-675.

SREA (2003) *Principais Resultados Definitivos dos Censos 1991 e 2001*. Serviço Regional de Estatística dos Açores, Angra do Heroísmo.

STĚRBA, J. & BARUS, V. (1976) First record of *Strobilocercus fasciolaris* (Taenidae-larvae) in man. *Folia Parasitologica (Praha)* **23**, 221-226.

STIDWORTHY, M. F., LEWIS, J. C., MASTERS, N. J., BOARDMAN, S. I., HOPPER, J. S., DE LINAN, F. J., REDROBE, S. P. & SAYERS, G. (2009) *Capillaria hepatica* in primates in zoological collections in the British isles. *The Veterinary Record* **164**, 66.

STOCK, T. M. & HOLMES, J. C. (1988) Functional relationships and microhabitat distributions of enteric helminths of grebes (Podicipedidae): the evidence for interactive communities. *The Journal of Parasitology* **74**, 214-227.

STOEHR, A. M. & KOKKO, H. (2006) Sexual dimorphism in immunocompetence: what does life-history theory predicts? *Behavioral Ecology* **17**, 751-756.

- STOJČEVIĆ, D., MARINCULIĆ, A. & MIHALJEVIĆ, Z. (2002) Prevalence of *Capillaria hepatica* in Norway rats (*Rattus norvegicus*) in Croatia. *Veterinarski Arhiv* **72**, 141-149.
- STONE, J. E. & PENCE, D. B. (1978) Ecology of helminth parasitism in the bobcat from West Texas. *The Journal of Parasitology* **64**, 295-302.
- TAFFS, L. F. (1976) Pinworm infections in laboratory rodents: a review. *Laboratory Animals* **10**, 1-13.
- TASAWAR, Z., GUL, S., BHUTTA, M. A. & ARIF, M. (2004) Prevalence of *Hymenolepis nana* in human beings in and around Multan-Pakistan. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences* **2**, 62-64.
- TAYLOR, M. & CALABY, H. J. (1988) *Rattus lutreolus*. *Mammalian Species* **299**, 1-7.
- TEIXEIRA, C. & GONÇALVES, F. (1980) *Introdução à Geologia de Portugal*. Instituto Nacional de Investigação Científica, Lisboa.
- TENA, D., PÉREZ-SIMÓN, M., GIMENO, C., PÉREZ-POMATA, M. T., ILLESCAS, S., AMONDARAIN, I., GONZÁLEZ, A., DOMÍNGUEZ, J. & BISQUERT, J. (1998) Human infection with *Hymenolepis diminuta*: case report from Spain. *Journal of Clinical Microbiology* **36**, 2375-2376.
- TERRIER, P., HACK, I., HATZ, C., THEINTZ, G. & ROULET, M. (1999) Hepatic capillariasis in a 2-year-old boy [case report]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **28**, 338-340.
- TESANA, S., PUAPAIROJ, A. & SAESEOW, O. (2007) Granulomatous, hepatolithiasis and hepatomegaly caused by *Capillaria hepatica* infection: first report of Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **38**, 636-640.
- THUL, J. E., FORRESTER, D. J. & ABERCROMBIE, C. L. (1985) Ecology of parasitic helminths of wood ducks *Aix sponsa*, in the Atlantic flyway. *Proceedings of The Helminthological Society of Washington* **52**, 297-310.
- TORCHIN, M. E., LAFFERTY, K. D., DOBSON, A. P., MCKENZIE, V. J. & KURIS, A. M. (2003) Introduced species and their missing parasites. *Nature* **421**, 628-630.
- TORRES, J., FELIÚ, C., GARCIA PEREA, R. & GISBERT, J. (1998) Helminth fauna of the Iberian lynx, *Lynx pardinus*. *Journal of Helminthology* **72**, 221-226.
- TORRES, J., MIGUEL, J. & MOTJÉ, M. (2001) Helminth parasite of the eurasian badger (*Meles meles* L.) in Spain: a biogeographic approach. *Parasitology Research* **87**, 259-263.
- URBAN J. F., JR., MADDEN, K. B., SVETIC, A., CHEEVER, A., TROTTA, P. P., GAUSE, W. C., KATONA, I. M. & FINKELMAN, F. D. (1992) The importance of Th2 cytokines in protective immunity to nematodes. *Immunological Reviews* **127**, 205-220.
- VAN BOVEN, M. & WEISSING, F. J. (2004) The evolutionary economics of immunity. *The American Naturalist* **163**, 277-294.
- VAUCHER, C. (1992) Revision of the genus *Vampirolepis* Spasskij, 1954 (Cestoda: Hymenolepididae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **87**, 299-304.

- VIEIRA, M. L., GAMA-SIMÕES, M. J. & COLLARES-PEREIRA, M. (2006) Human leptospirosis in Portugal: a retrospective study of eighteen years. *International Journal of Infectious Diseases* **10**, 378-386.
- VIVES, N. & ZELEDÓN-ARAYA, R. (1957) Observaciones parasitológicas en ratas de San José, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* **5**, 173-194.
- VOGE, M. (1956) A list of nematode parasites from California mammals. *American Midland Naturalist* **56**, 423-429.
- VON ZUBEN, C. J. (1997) Implicações da agregação espacial de parasitas para a dinâmica populacional na interação hospedeiro-parasita. *Revista de Saúde Pública* **31**, 523-530.
- VUKIĆEVIĆ-RADIĆ, O., KATARANOVSKI, D. & KATARANOVSKI, M. (2007) First record of *Mastophorus muris* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spiruroidea) in *Mus musculus* from the suburban area of Belgrade, Serbia. *Archives of Biological Sciences, Belgrade* **59**, 1-2.
- WANLESS, R. M., ANGEL, A., CUTHBERT, R. J., HILTON, G. M. & RYAN, P. G. (2007) Can predation by invasive mice drive seabird extinctions? *Biology Letters* **3**, 241-244.
- WARDLE, R. A. & MCLEOD, J. A. (1952) *The Zoology of tapeworms*. University of Minnesota Press, Minneapolis.
- WATWE, S. & DARDI, C. K. (2008) *Hymenolepis diminuta* in a child from rural area. *Indian Journal of Pathology and Microbiology* **51**, 149-150.
- WEIDMAN, F. D. (1925) Hepaticoliasis, a frequent and sometimes fatal verminous infestation of the livers of rats and other rodents. *The Journal of Parasitology* **12**, 19-25.
- WERTHEIM, G. (1962) A study of *Mastophorus muris* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spiruridae). *Transactions of the American Microscopical Society* **81**, 274-279.
- WHO (1996) *Report of the WHO Informal Consultation on the use of chemotherapy for the control of morbidity due to soil-transmitted nematodes in humans*. World Health Organization, Geneva. WHO/CTD/SIP/96.2.
- WILLIAMS, J. F. & SHEAREER, A. M. (1981) Longevity and productivity of *Taenia taeniaeformis* in cats. *American Journal of Veterinary Research* **42**, 2182-2183.
- WILSON, M. E., LORENTE, C. A., ALLEN, J. E. & EBERHARD, M. L. (2001) *Gongylonema* infection of the mouth in a resident of Cambridge, Massachusetts. *Clinical Infectious Diseases* **32**, 1378-1380.
- WITMER, G. & JOJOLA, S. (2006) What's up with house mice? – a review. *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* **22**, 124-130.
- WITMER, G. W., BOYD, F. & HILLIS-STARR, Z. (2007) The successful eradication of introduced roof rats (*Rattus rattus*) from Buck island using diphacinone, followed by an irruption of house mice (*Mus musculus*). *Wildlife Research* **34**, 108-115.
- WIWANITKIT, V. (2004) Overview of *Hymenolepis diminuta* infection among Thai patients. *Medscape General Medicine* **6**, 7.
- WOBESER, G. & ROCK, T. W. (1973) *Capillaria hepatica* (Nematoda: Trichuridae) in a coyote (*Canis latrans*). *Journal of Wildlife Diseases* **9**, 225-226.

WRIGHT, S. & BROWN, R. (2000) Maternal behavior, paternal behavior, and pup survival in CD-1 albino mice (*Mus musculus*) in three different housing conditions. *Journal of Comparative Psychology* **114**, 183-192.

YOKOBORI, K., NOGAMI, S., INOUE, I., SHIMIZU, H., IWATA, R. & YAMADA, F. (1993) Parasitic fauna of wild animals in Minakami, Gunma prefecture. *Bulletin of the College of Agriculture and Veterinary Medicine - Nihon University* **50**, 80-84.

YOKOGAWA, S. (1925) On a new species of nematode, *Gongylonema orientale*, found in Formosa. *The Journal of Parasitology* **11**, 195-200.

YOKOHATA, Y., ABE, H., JIANG, Y-P. & KAMIYA, M. (1989) Gastrointestinal helminth fauna of Japanese moles, *Mogera* spp. *Japanese Journal of Veterinary Research* **37**, 1-13.

ZAR, J. H. (1996) *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

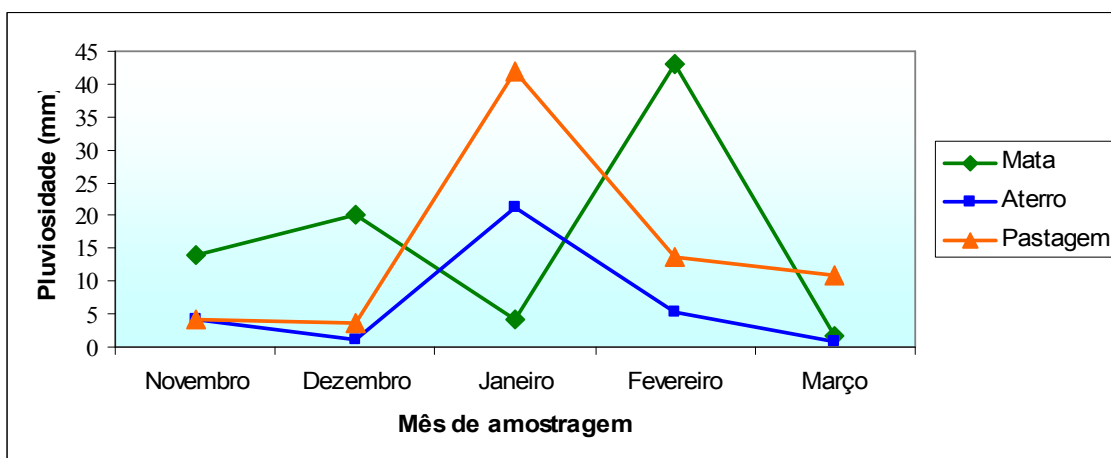
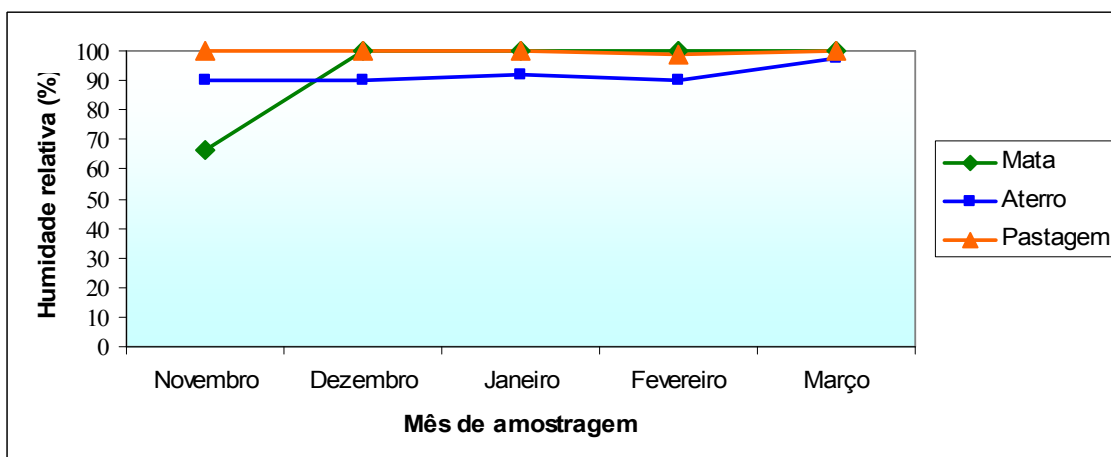
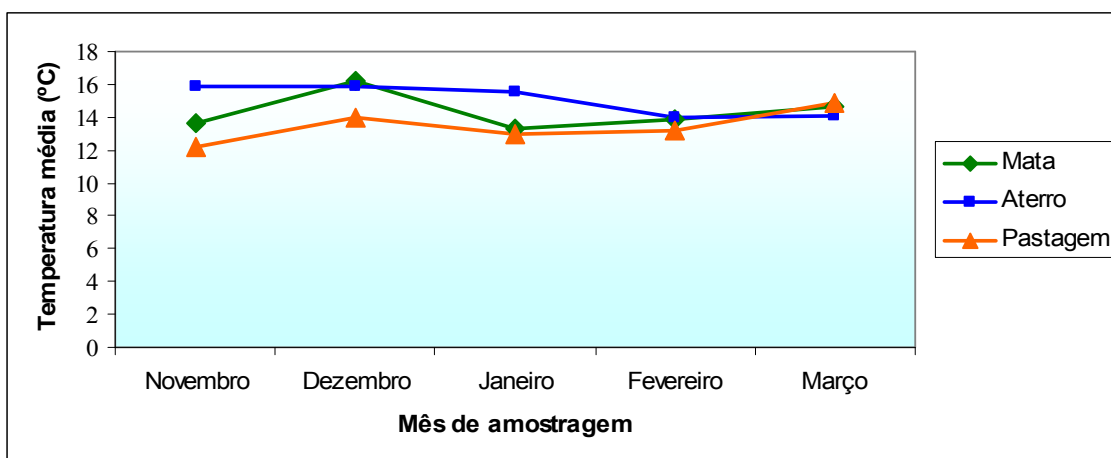
ZUK, M. (1990) Reproductive strategies and disease susceptibility: an evolutionary viewpoint. *Parasitology Today* **6**, 231-233.

ZUK, M. (2009) The sicker sex. *PLoS Pathogens* **5**, 1-3.

CAPÍTULO 7

ANEXOS

ANEXO 1. DADOS CLIMÁTICOS



ANEXO 2. PREPARAÇÃO DE CORANTES, SOLUÇÕES E REAGENTES

Para a preparação de:

- 1 L de **Soro Fisiológico a 0,9%**:

Água destilada	1 L
Cloreto de sódio (NaCl)	9 g

Agitar mecanicamente até à dissolução do cloreto de sódio.

- 1 L de **Solução de Formol a 5%**:

Água destilada	865 mL
Solução Stock de formol a 37%	135 mL

Juntar os componentes e homogeneizar.

- **Gel de Glicerina** (Índice de refração – 1,47):

Gelatina	10 g
Água destilada	60 mL
Glicerina	70 mL
Fenol (C ₆ H ₅ OH)	0,25 g

Dissolver a gelatina em água destilada em banho-maria. Adicionar a glicerina e o fenol, homogeneizar bem e transferir para recipiente apropriado.

- **Corante Paracarmim de Mayer:**

Ácido carmínico (C ₂₂ H ₂₀ O ₁₃)	1 g
Cloreto de alumínio (AlCl ₃)	0,5 g
Cloreto de cálcio (CaCl ₂)	4 g
Álcool a 70%	100 mL

Dissolver os componentes em álcool a 70% com um ligeiro aquecimento. Deixar assentar e filtrar.

- **Álcool a 30%:**

Álcool a 80%	30 mL
Água destilada	50 mL

Juntar os componentes e homogeneizar.

▪ **Álcool a 50%:**

Álcool a 80% 50 mL

Água destilada 30 mL

Juntar os componentes e homogeneizar.

▪ **Álcool Isopropílico a 90%:**

Álcool isopropílico (concentrado) 90 mL

Água destilada 10 mL

Juntar os componentes e homogeneizar.

▪ **Álcool Clorídrico a 50%:**

Álcool a 80% 100 mL

Água destilada 60 mL

Ácido clorídrico (concentrado) 2 mL

Juntar os componentes e homogeneizar.

ANEXO 3. CLASSIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES HELMINTAS

CLASSE CESTODA

- Superfam. Hymenolepidoidea Spasskii, 1949
 Fam. Hymenolepididae Ariola, 1899
 Subfam. Hymenolepidinae Perrier 1897
 Gén. *Hymenolepis* Weinland, 1858
 Hymenolepis diminuta (Rudolphi, 1819) Blanchard, 1891
 Gén. *Rodentolepis* Spasskii, 1954
 Rodentolepis nana (von Siebold, 1852) Spasskii, 1954
- Superfam. Taenioidea (Ludwig, 1886)
 Fam. Taeniidae Ludwig, 1886
 Subfam. Taeniinae Perrier, 1897
 Gén. *Cysticercus* Rudolphi, 1801
 Cysticercus fasciolaris (Rudolphi, 1808), forma larvar de *Taenia taeniaeformis*
 (Batsch, 1786) Wolffügel, 1911

FILO NEMATODA

- Superfam. Trichinelloidea Hall, 1916
 Fam. Capillariidae (Neveu-Lemaire, 1936)
 Subfam. Capillariinae Railliet, 1915
 Gén. *Aonchotheca* Lopez-Neyra, 1947
 Aonchotheca annulosa (Dujardin, 1845)
 Gén. *Calodium* Dujardin, 1845
 Calodium hepaticum (Bancroft, 1893)
 Gén. *Eucoleus* Dujardin, 1845
 Eucoleus gastricus (Baylis, 1926)
- Fam. Trichuridae (Ransom, 1911)
 Subfam. Trichurinae Ransom, 1911
 Gén. *Trichuris* Roederer, 1761
 Trichuris muris (Schrank, 1788) Hall, 1916

- Superfam. Spiruroidea (Oerley, 1885)
Fam. Gongylonematidae (Sobolev, 1949)
Subfam. Gongylonematinae (Hall, 1916)
Gén. *Gongylonema* Molin, 1857
Gongylonema neoplasticum (Fibiger et Ditlevsen, 1914)
Fam. Spirocercidae (Chitwood et Wehr, 1932)
Subfam. Mastophorinae Quentin, 1970
Gén. *Mastophorus* Diesing, 1853
Mastophorus muris (Gmelin, 1790)
- Superfam. Heterakoidea Railliet et Henry, 1912
Fam. Heterakidae Railliet et Henry, 1912
Subfam. Heterakinae Railliet et Henry, 1912
Gén. *Heterakis* Dujardin, 1845
Heterakis spumosa (Schneider, 1866)
- Superfam. Trichostrongyloidea Cram, 1927
Fam. Heligmonellidae (Skrjabin et Schikhobalova, 1952) Durette-Desset et Chabaud, 1977
Subfam. Nippostrongylinae Durette-Desset, 1971
Gén. *Nippostrongylus* Lane, 1923
Nippostrongylus brasiliensis (Travassos, 1914) Travassos et Darriba, 1929
- Superfam. Oxyuroidea Railliet, 1916
Fam. Syphaciidae Skrjabin et Schikhobalova, 1951
Subfam. Syphaciinae Railliet 1916
Gén. *Syphacia* Seurat, 1916
Syphacia obvelata (Rudolphi, 1802) Seurat, 1916