

RESEARCH NOTE / NOTA CIENTÍFICA

PHYSA MARMORATA (MOLUSCA: PHYSIDAE) AS INTERMEDIATE HOST OF *ECHINOSTOMA EXILE* (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE) IN BRAZIL

PHYSA MARMORATA (MOLUSCA: PHYSIDAE) AS INTERMEDIATE HOST OF *ECHINOSTOMA EXILE* (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE) IN BRAZIL

Hudson Alves Pinto & Alan Lane de Melo

Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, CP 486, 30123-970, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
E-mail: hudsonalves13@ig.com.br; aldemelo@icb.ufmg.br

Suggested citation: Pinto, HA & Melo, AL. 2012. *Physo marmorata* (Molusca: Physidae) as intermediate host of *Echinostoma exile* (Trematoda: Echinostomatidae) in Brazil. *Neotropical Helminthology*, vol. 6, N° 2, pp. 291-299.

Abstract

Echinostome cercariae with 45 collar spines were found in *Physo marmorata* Guilding, 1828 collected in a water body located in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Metacercariae were obtained experimentally in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) and used to perform the infection of *Columba livia* Gmelin, 1789. Adult parasites recovered in the small intestine of the pigeons at 14 days after infection were identified as *Echinostoma exile* Lutz, 1924. The morphology of cercaria of *E. exile* is described for the first time and *P. marmorata* is reported as the natural first intermediate host of the parasite.

Keywords: cercariae - experimental infection - snails - trematodes.

Resumo

Cercárias do tipo equinostoma apresentando colar cefálico com 45 espinhos foram encontradas em *Physo marmorata* Guilding, 1828 coletadas em coleção aquática localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Metacercárias obtidas experimentalmente em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) foram utilizadas para a infecção de *Columba livia* Gmelin, 1789. Parasitos adultos recuperados do intestino delgado das aves aos 14 dias após a infecção foram identificados como *Echinostoma exile* Lutz, 1924. As características morfológicas das cercárias de *E. exile* são descritas pela primeira vez e *P. marmorata* é relatada como o primeiro hospedeiro intermediário natural do parasita.

Palavras-Chave: cercárias - infecção experimental - moluscos - trematódeos.

INTRODUÇÃO

Os trematódeos pertencentes ao gênero *Echinostoma* Rudolphi, 1809 são parasitos intestinais de aves e mamíferos com ampla distribuição mundial, existindo atualmente mais de 120 espécies nominais descritas (Kostadinova & Gibson, 2000; Kostadinova, 2005). O ciclo biológico desses parasitos envolve três hospedeiros. Cercárias são produzidas em moluscos gastrópodes dulciaquícolas e após emergência formam metacercárias em moluscos ou larvas de anuros, que ao serem ingeridos pelos hospedeiros definitivos desenvolvem-se em parasitos adultos (Esteban & Múñoz-Antoli, 2009; Toledo *et al.*, 2009). Apesar da diversidade de espécies descritas, poucas possuem o ciclo biológico completo conhecido, sendo a maior parte destas contendo 37 espinhos no colar cefálico e pertencente ao complexo *Echinostoma revolutum* (Fried & Graczyk, 2004).

Embora um grande número de espécies de *Echinostoma* seja conhecido ocorrendo na região Neotropical, estudos biológicos das mesmas são relativamente escassos. Adolpho Lutz, um dos pioneiros no estudo de ciclos biológicos de Echinostomatidae no continente americano, elucidou aspectos do ciclo de vida de algumas espécies encontradas em moluscos e aves naturalmente infectados no Brasil e Venezuela (Lutz, 1924, 1928). Posteriormente, contribuições para a elucidação de ciclos biológicos de *Echinostoma* ocorrentes na América do Sul foram realizadas por outros poucos autores (Nasir, 1960, 1964b; Hsu *et al.*, 1968; Lie & Basch, 1966, 1967; Martorelli, 1987; Maldonado Jr *et al.*, 2003) contudo várias outras espécies permanecem com hospedeiros intermediários ou definitivos naturais ainda desconhecidos.

Entre as espécies de *Echinostoma* descritas do Brasil, encontra-se *E. exile* Lutz, 1924, descrita a partir de parasitos adultos obtidos em *Columba livia* Gmelin, 1789 e *Porphyryla martinica* (Linnaeus, 1766) inoculados com metacercárias recuperadas de moluscos naturalmente infectados, sendo as características morfológicas dos estágios larvais ainda desconhecidas.

No presente estudo, exemplares de *Physa marmorata* Guilding, 1828 foram encontrados

albergando larvas do tipo equinostoma que foram utilizadas em estudos experimentais que possibilitaram a identificação de *E. exile*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Durante estudos malacológicos realizados na represa da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil ($19^{\circ}50'18''$ S; $43^{\circ}59'40''$ W) entre maio de 2010 e fevereiro de 2012, um total de 98 exemplares de *P. marmorata* foram coletados com auxílio de puçá em forma de D ou pinças metálicas. Após serem transportados para o laboratório, os moluscos foram colocados individualmente em placas de poliestireno contendo cerca de 5 mL de água isenta de cloro, expostos a fotoestimulação artificial por 2 h e examinados em estereomicroscópio. As cercárias obtidas foram estudadas à fresco com auxílio de corantes vitais (vermelho neutro e sulfato azul do Nilo a 0,05%) e após serem mortas em água a 70°C e fixadas em formalina a 10% (Melo, 2008). Para o estudo de rédias, um exemplar de molusco naturalmente infectado foi esmagado entre placas de vidro e as larvas coletadas com auxílio de micropipeta.

Visando a obtenção de metacercárias, larvas emergidas dos moluscos foram colocadas em contato com 10 exemplares de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) criados e mantidos em laboratório. Cinco dias após infecção (DPI), os moluscos foram esmagados entre placas de vidro e dissecados com auxílio de estiletes. Metacercárias recuperadas no tecido renal destes hospedeiros foram contadas e administradas por via oral (100 metacercárias/animal) a cinco exemplares de pombos domésticos (*C. livia*) e camundongos (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) da linhagem AKR/J. Exames parasitológicos de fezes (sedimentação espontânea) foram realizados a partir de 7 DPI (Lutz, 1919). Os hospedeiros vertebrados foram mortos por deslocamento cervical (em acordo com os princípios éticos preconizados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal local, CETEA, UFMG) aos 14 DPI, sendo as vísceras removidas para placas de Petri contendo solução fisiológica (NaCl 0,85%). Os intestinos foram abertos longitudinalmente e examinados em estereomicroscópio. Os parasitos recuperados foram prensados entre lâminas de vidros, fixados

em formalina a 10% a 70°C e posteriormente corados pelo carmim acetó alúmen, desidratados em série crescente de álcoois, clarificados em creosoto de Faia e montados em lâminas permanentes em bálsamo do Canadá. O estudo do colar cefálico foi realizado de acordo com Fried *et al.* (2009). Ovos do parasito foram isolados das fezes dos animais e mantidos em temperatura ambiente em placa de Petri contendo água destilada. Os estágios evolutivos obtidos foram estudados em microscópio de luz e o registro fotográfico realizado com auxílio de câmera digital Leica acoplada a microscópio de mesma marca. As medidas foram obtidas com auxílio de ocular milimetrada, sendo apresentadas, em micrômetros, pela média seguida do desvio padrão e amplitude entre parênteses. A identificação do parasito foi baseada em critérios morfológicos, sendo realizada de acordo com Kostadinova (2005) para o nível genérico e com Kohn & Fernandes (1975) para a determinação específica. O material estudado foi depositado na coleção do Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados (DPIC), Departamento de Parasitologia, ICB, UFMG, sob número de acesso 2449 e 2455.

RESULTADOS

Verificou-se 3/98 (3,06%) exemplares de *P. marmorata* infectados por cercárias do tipo equinostoma. Os estudos experimentais possibilitaram a recuperação de metacercárias em todos exemplares de *B. glabrata* e de parasitos adultos no intestino delgado em 2/5 (40%) dos exemplares de *C. livia*, sendo a intensidade de infecção de 3 parasitos em cada animal. Camundongos não foram suscetíveis à infecção experimental. Os dados morfométricos das cercárias ($n=30$), metacercárias ($n=30$) e rédias ($n=10$) obtidas no presente estudo e as medidas relatadas para outras espécies de *Echinostoma* transmitidas por *P. marmorata* no Brasil são apresentadas na tabela 1. As medidas dos parasitos adultos são demonstradas na tabela 2 juntamente com dados de outras espécies de *Echinostoma* transmitidas por *P. marmorata* no Brasil. A análise morfológica dos parasitos adultos obtidos experimentalmente possibilitou a identificação da espécie abaixo caracterizada:

Echinostoma exile Lutz, 1924
(Figuras 1-8, Tabelas 1 e 2)

Hospedeiro intermediário natural: Physa marmorata (novo hospedeiro).

Segundo hospedeiro intermediário experimental: Biomphalaria glabrata.

Hospedeiro definitivo experimental: Columba livia.

Hospedeiro definitivo natural: desconhecido.

Caracterização morfológica

Cercárias (Figs. 1-3): Larva do tipo equinostoma. Cauda simples. Corpo coberto por pequenos espinhos. Colar cefálico bem desenvolvido, interrompido ventralmente, contendo 45 espinhos. Ventosa oral subterminal. Ventosa ventral esférica, pós-equatorial. Faringe muscular. Esôfago longo estendendo-se até a ventosa ventral e bifurcando-se formando cecos que alcançam a extremidade posterior. Grande quantidade de células cistogênicas ocupando toda a extensão abaixo da faringe. Quatro poros glandulares foram visualizados na extremidade anterior à ventosa oral. Primórdio genital formado por duas massas celulares localizadas imediatamente na região anterior e posterior da ventosa ventral, conectadas por um canal celular que passa dorsalmente à ventosa ventral. Cauda cilíndrica, pouco maior que o corpo, sem membranas natatórias. Canais excretores principais dilatados na região entre a faringe e a ventosa ventral e contendo numerosas concreções circulares. Células flamas de difícil visualização. As cercárias emergem após fotoestimulação.

Metacercárias (Fig. 4): Cistos com formato esférico. Membrana cistogênica hialina e fina. A larva ocupa todo o espaço do cisto e apresenta colar cefálico com 45 espinhos e concreções circulares visíveis.

Rédias (Fig. 5): Larvas de coloração amarela pálida. Presença de colar na região anterior Faringe muscular, terminal. Ceco ocupando o terço anterior do corpo. Processo ambulatorial localizado no terço posterior do corpo.

Parasitos adultos (Figs. 6-9): Corpo alongado, tegumento espinhoso, principalmente no terço anterior. Colar cefálico com 45 espinhos, 2 grupos

de 5 espinhos angulares maiores. Espinhos dorsais em fileira dupla, sendo os espinhos oral e aboral de tamanho semelhante. Ventosa oral subterminal. Faringe muscular, esôfago curto bifurcando-se na região anterior da ventosa ventral. Cecos longos, alcançando a extremidade posterior do corpo. Ventosa ventral esférica, localizada próxima à ventosa oral. Testículos alongados, em tandem, na

região pós-equatorial, pós-ovariana e intercecal. Ovário esférico, pré-testicular, pré-equatorial. Vitelária folicular, bilateral, sem campos coincidentes, ocupando toda a extensão abaixo da ventosa ventral. Bolsa do cirro volumosa, na margem anterior da ventosa ventral. Poro genital próximo à bifurcação esofágiana. Poro excretor terminal.

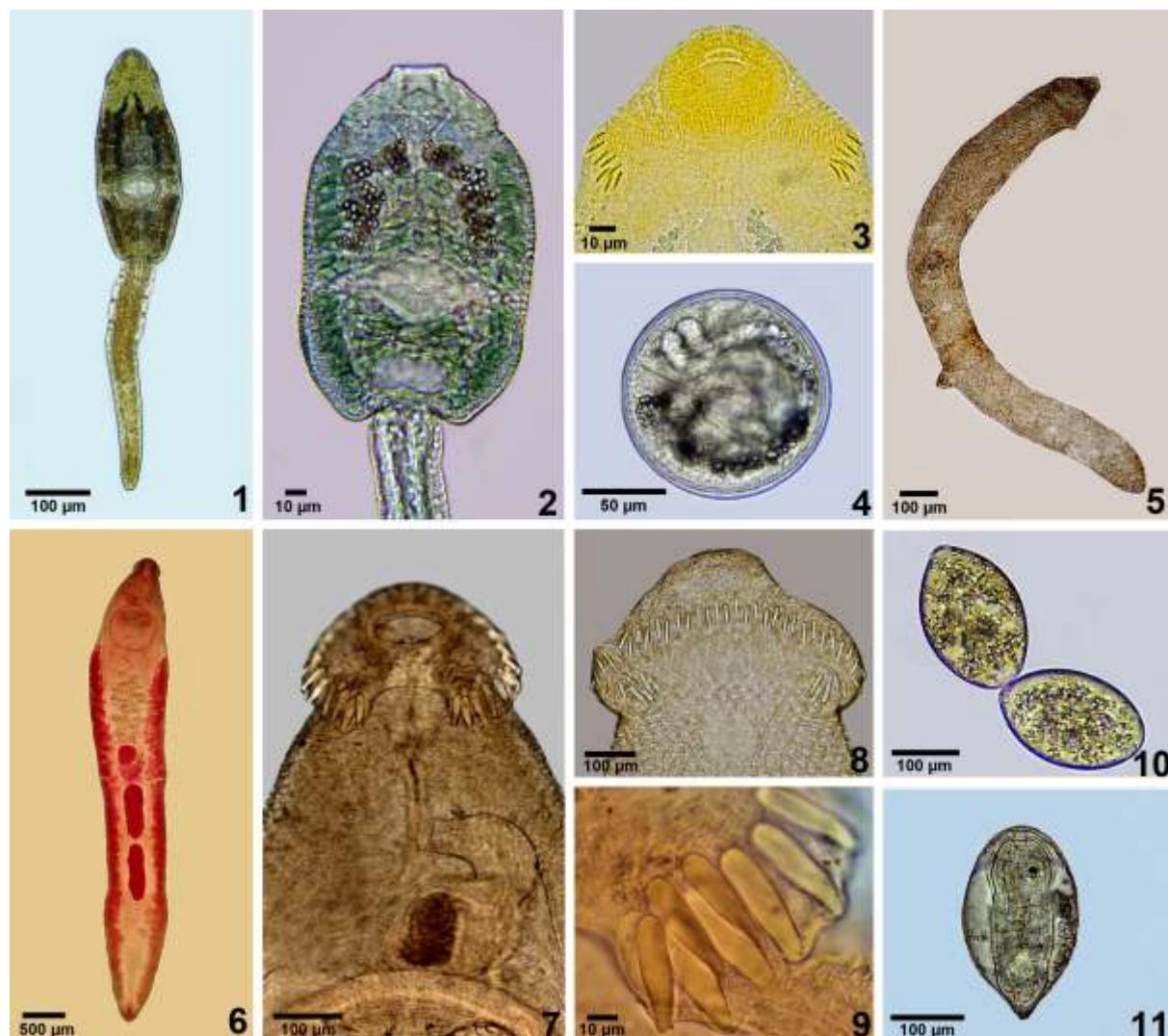


Figura 1-11: *Echinostoma exile*: (1) Cercária emergida de *Physa marmorata* coletadas na represa da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. (2) Detalhe do corpo cercariano corado pelo sulfato azul do Nilo. (3) Detalhe do colar de espinhos da cercária. (4) Metacercária obtida experimentalmente em *Biomphalaria glabrata*. (5) Rédia recuperada de *P. marmorata* naturalmente infectada. (6) Parasito adulto obtido de *Columba livia* experimentalmente infectado. (7) Detalhe da extremidade anterior e da bolsa do cirro. (8) Detalhe do colar cefálico e disposição dos espinhos. (9) Detalhe dos espinhos angulares. (10) Ovos do parasito obtidos das fezes de *C. livia* experimentalmente infectado. (11) Ovo maduro com miracídio formado após 12 dias de incubação a temperatura ambiente.

Ovos (Figs. 10-11): Foram recuperados das fezes de *C. livia* a partir de 14DPI. Apresentam formato oval, opérculo e coloração amarelo-amarronzada, sendo liberados não embrionados. A manutenção

dos mesmos em temperatura ambiente possibilitou a formação e eclosão de miracídios a partir de 12 dias de incubação.

Tabela 1. Dados morfométricos de estágios larvais de *Echinostoma exile* e de outras espécies de *Echinostoma* encontradas em *Physa marmorata* no Brasil. Medidas em micrômetros. C= comprimento, L= largura, N= número.

| Espécie | | <i>Echinostoma exile</i> | <i>E. rodiguesi</i> | <i>E. luisreyi</i> |
|---------------------|---|--------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Referência | | Presente estudo | Hsu et al. (1968) | Maldonado Jr. et al. (2003) |
| <i>Cercária</i> | | | | |
| Corpo | C | 343 ± 16 (307-375) | 480-546 | 417 ± 56 (326-482) |
| | L | 124 ± 8 (109-136) | 189-228 | 181 ± 34 (139-252) |
| Cauda | C | 388 ± 28 (334-437) | 540-642 | 545 ± 84 (391-673) |
| | L | 44 ± 3 (37-53) | 45-57 | - |
| Ventosa oral | C | 43 ± 2 (37-50) | 51-63 | 57 ± 8 (48-69) |
| | L | 41 ± 2 (38-43) | 48-60 | - |
| Faringe | C | 23 ± 3 (17-28) | 30-36 | 21± 7 (13-30) |
| | L | 15 ± 2 (12-18) | 24-30 | - |
| Ventosa ventral | C | 57 ± 7 (42-67) | 63-78 | 71 ± 9 (61-87) |
| | L | 64 ± 5 (53-75) | 66-81 | - |
| Espinhos | N | 45 | 37 | 37 |
| <i>Metacercária</i> | | | | |
| | C | 140 ± 3 (137-143) | 138-168 | 171 ± 7 (184-160) |
| | L | 137 ± 9 (116-150) | - | - |
| Parede cística | L | 4 ± 1 (3-5) | 7 | 9 ± 2 (7-11) |
| <i>Rédia</i> | | | | |
| | C | 1602 ± 138 (1375-1602) | - | - |
| | L | 203 ± 28 (171-203) | - | - |
| Faringe | C | 56 ± 7 (48-56) | - | - |
| | L | 54 ± 7 (45-54) | - | - |

Tabela 2. Dados morfométricos de *Echinostoma exile* adultos obtidos experimentalmente e medidas dos espécimes da descrição original e de outras espécies de *Echinostoma* transmitidas por *Physa marmorata* no Brasil. Medidas em micrômetros. C=comprimento, L=largura, N=número.

| Espécie | <i>Echinostoma exile</i> | | <i>E. rodiguesi</i> | <i>E. luisreyi</i> |
|---------------------|--|--|--|-----------------------------------|
| Referência | Presente estudo | Kohn & Fernandes (1975) | Hsu <i>et al.</i> (1968) | Maldonado Jr <i>et al.</i> (2003) |
| Hospedeiros | <i>Columba livia</i> | <i>C. livia</i> | <i>C. livia, Gallus gallus, Mesocricetus auratus, Mus musculus</i> | <i>M. musculus</i> |
| Corpo | C 5743 ± 1148 (4563-6926) L 1040 ± 350 (702-1390) | 5297 ± 722 (4250-5910) 818 ± 64 (750-900) | 3874-6800 545-1291 | 5250-6500 1083-2250 |
| Ventosa oral | C 131 ± 14 (116-150) L 145 ± 20 (123-171) | 107 ± 13 (90-120) 112 ± 15 (90-120) | 144-276 132-240 | 133-208 200-292 |
| Espinhos | N 45 C 44 ± 3 (40-50) | 43-45 28-54 | 37-41 60-96 | 37 40-75 |
| Faringe | C 126 ± 37 (89-184) L 94 ± 36 (61-137) | 105 ± 19 (90-130) 98 ± 10 (90-110) | 105-252 102-204 | 142-233 91-150 |
| Esôfago | C 225 ± 19 (205-239) | 185 ± 48 (130-230) | 240-480 | 150-383 |
| Ventosa ventral | C 555 ± 137 (409-717) L 579 ± 121 (430-717) | 552 ± 76 (460-620) 515 ± 78 (400-570) | 408-840 432-720 | 517-892 542-975 |
| Ovário | C 205 ± 88 (116-320) L 230 ± 107 (116-375) | 255 ± 61 (180-310) 198 ± 29 (160-220) | 168-300 144-360 | 125-358 225-500 |
| Testículo anterior | C 576 ± 187 (389-819) L 276 ± 61 (212-375) | 585 ± 110 (440-700) 290 ± 42 (250-350) | 204-444 180-384 | 225-483 417-825 |
| Testículo posterior | C 608 ± 239 (382-887) L 250 ± 54 (191-321) | 652 ± 90 (530-730) 288 ± 30 (250-320) | 249-588 168-384 | 433-825 317-858 |
| Bolsa do cirro | C 157 ± 41 (102-211) L 277 ± 80 (177-375) | 158 ± 31 (130-200) 368 ± 138 (190-500) | - - | - - |
| Ovos | C 106 ± 3 (101-111) L 67 ± 3 (63-75) | 105 ± 12 (93-121) 58 ± 4 (56-65) | 96-128 56-68 | 83-100 33-41 |

DISCUSSÃO

Entre as espécies de *Echinostoma* apresentando 45 espinhos no colar cefálico, *E. gotoi* Ando & Ozaki, 1923, *E. macrorchis* Ando & Ozaki, 1923 e *E. murinum* (Tubangui, 1931) foram relatadas em mamíferos na Ásia (Ando & Ozaki, 1923; Yamaguti, 1958), e *E. siticulosum* Dietz, 1909 foi descrita de aves (*Crypturellus* spp.) no Brasil (Travassos *et al.*, 1969). Esta última espécie difere

de *E. exile* por diferenças nos espinhos tegumentares, pela posição dos testículos e por apresentar colar cefálico com quatro espinhos angulares (Lutz, 1924; Travassos *et al.*, 1969). Outra espécie descrita do Brasil, *E. neglectum* Lutz 1924, também obtida experimentalmente, apresenta uma ampla variação no número de espinhos cefálicos (37 a 45), além de apresentar uma área de confluência da vitelária na região posterior aos testículos (Kohn & Fernandes, 1975).

características não verificadas nos exemplares obtidos no presente estudo. Quanto aos demais estágios de desenvolvimento, apenas *E. macrorchis* e *E. murinum* possuem ciclos biológicos conhecidos, sendo transmitidas por moluscos planorbídeos (respectivamente *Gyraulus chinensis* (Dunker, 1848) e *G. convexiusculus* (Hutton, 1849)) na Ásia e possuem cercárias com medidas significativamente menores que as obtidas para *E. exile* (Joe, 1967; Lo, 1995).

As cercárias de *E. exile* encontradas em *P. marmorata* no presente estudo possuem características morfológicas compatíveis com o grupo Coronata, caracterizado pela presença de grande número de células cistogênicas no corpo e cauda sem membranas natatórias (Dawes, 1946). Entre as cercárias de equinostomatídeos com 45 espinhos relatadas em moluscos no continente americano, as cercárias de *E. exile* assemelham-se às larvas de espécies do gênero *Echinoparyphium* Dietz, 1909 relatadas em *Physa* spp. nos EUA (Fried et al., 1998; Kanev et al., 2008). Contudo, as características dos parasitos adultos obtidos experimentalmente, como a posição anterior da ventosa ventral, a extensão da vitelária e do útero, e a presença de espinhos dorsais oral e aboral do mesmo tamanho, são compatíveis com as verificadas em espécies de *Echinostoma* (Kostadinova, 2005). Outras duas larvas do tipo equinostoma com 45 espinhos no colar cefálico foram relatadas em moluscos na Venezuela, *Cercaria penalveri* descrita de *Lymnaea columella* Say, 1817 por Nasir (1964a), que difere das larvas de *E. exile* por apresentar seis espinhos angulares e medidas significativamente menores, e *Echinocercaria* sp. I encontrada em *B. glabrata* por Ostrowski de Núñez (1981) que possui apenas três espinhos angulares, células cistogênicas dispostas lateralmente ao corpo e membranas natatórias na cauda.

No Brasil, apesar de cerca de 20 espécies de *Echinostoma* terem sido relatadas em diferentes espécies de hospedeiros vertebrados (Travassos et al., 1969; Thatcher, 1993), os moluscos transmissores são conhecidos para poucas espécies. No presente estudo, *P. marmorata* é relatada como primeiro hospedeiro intermediário natural do *E. exile*. Outras três espécies, *E. nephrocystis* Lutz, 1924, *E. rodiguesi* Hsu &

Basch, 1968 e *E. luisreyi* Maldonado Jr et al., 2003, possuem espécies de moluscos do gênero *Physa* Draparnaud, 1801 como hospedeiros intermediários naturais. As cercárias destas espécies diferem das larvas de *E. exile* principalmente pela presença de colar cefálico com 37 espinhos e disposição das células cistogênicas, sendo as larvas de *E. rodiguesi* e *E. luisreyi* significativamente maiores (Lutz, 1924; Hsu et al., 1968; Maldonado Jr et al., 2003). Quanto aos demais estágios de desenvolvimento, metacercárias apresentando 45 espinhos no colar cefálico e com medidas semelhantes às de *E. exile* foram relatadas em *B. glabrata* em localidades do estado de Minas Gerais (Ruiz, 1952), sendo possivelmente coespecíficas com *E. exile*. Em relação aos parasitos adultos, as características biológicas e morfológicas estão em acordo com as relatadas para *E. exile* por Lutz (1924) e por Kohn & Fernandes (1975).

Estudos visando avaliar os hospedeiros definitivos naturais de *E. exile* bem como a elucidação dos ciclos biológicos de outras espécies de Echinostomatidae neotropicais são ainda necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ando, R & Ozaki, Y. 1923. On four new species of trematodes of family Echinostomatidae. Dobutsugaku Zasshi, vol. 35, pp. 108-119.
- Dawes, B. 1946. The Trematoda, with special reference to British and Europeans forms. Cambridge University Press, London.
- Esteban, JG & Muñoz-Antoli, C. 2009. Echinostomes: Systematics and life cycle. In Fried, B & Toledo, R. The biology of echinostomes. From the molecule to the community. Springer, New York.
- Fried, B & Graczyk, TK. 2004. Recent advances in the biology of *Echinostoma* species in the "revolutum" group. Advances in Parasitology, vol. 58, pp 139-95.
- Fried, B, Frazer, BA & Kanev, I. 1998. Comparative observations on cercariae and metacercaria of *Echinostoma trivolvis* and *Echinoparyphium* sp. Journal of Parasitology, vol. 84, pp. 623-626.
- Fried, B, Kanev, I & Reddy, A. 2009. Studies on collar spines of echinostomatid trematodes.

- Parasitology Research, vol. 105, pp. 605-608.
- Hsu, KC, Lie, KJ & Basch, PF.** 1968. *The life history of Echinostoma rodriguesi sp. n. (Trematoda: Echinostomatidae)*. Journal of Parasitology, vol. 54, pp. 333-339.
- Kanev, I, Fried, B & Radev, V.** 2008. *Identification problems with species in the Echinoparyphium recurvatum complex from physid snails in the USA*. Parasitology Research, vol. 103, pp. 963-965.
- Kohn, A & Fernandes, BMM.** 1975. *Sobre as espécies de Echinostoma (Rudolphi, 1809) descritas por Adolpho Lutz em 1924*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 73, pp 77-89.
- Kostadinova, A.** 2005. *Family Echinostomatidae Looss, 1899*. In Jones, A, Gibson, DI & Bray, R. (eds.). *Keys to the Trematoda*, Volume 2. CBA International and The Natural History Museum, London.
- Kostadinova, A. & Gibson, DI.** 2000. *The systematics of the echinostomes*. In Fried, B & Graczyk, TK. (eds). *Echinostomes as experimental models for biological research*. Kluwer Academic Publishers, Norwell.
- Joe, LK.** 1967. *Studies on Echinostomatidae (Trematoda) in Malaya. XV. The life history of Echinostoma murinum (Tubangui, 1931)*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, vol. 34, pp. 139-143.
- Lie, KJ & Basch, PF.** 1966. *Life history of Echinostoma barbosai sp. n. (Trematoda: Echinostomatidae)*. Journal of Parasitology, vol. 52, pp. 1052-1057.
- Lie, KJ & Basch, PF.** 1967. *The life history of Echinostoma paraensei sp. n. (Trematoda: Echinostomatidae)*. Journal of Parasitology, vol. 53, pp. 1192-1199.
- Lo, CT.** 1995. *Echinostoma macrorchis: life history, population dynamics of intramolluscan stages, and the first and second intermediate hosts*. Journal of Parasitology, vol. 81, pp 569-576.
- Lutz, A.** 1919. *O Schistosomum mansoni e a schistosomatose, segundo observações feitas no Brasil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 11, pp. 121-155.
- Lutz, A.** 1924. *Estudos sobre a evolução dos endotrematodes brasileiros*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 17, p. 55-57.
- Lutz, A.** 1928. *Estudios sobre trematodos observados en Venezuela*. In *Estudios de zoología y parasitología venezolanas*. Publicado pelo autor, Rio de Janeiro.
- Maldonado Jr, A, Vieira, GO & Lanfredi, RM.** 2003. *Echinostoma luisreyi n sp. (Platyhelminthes: Digenea) by light and scanning electron microscopy*. Journal of Parasitology, vol. 89, pp. 800-808.
- Martorelli, SR.** 1987. *Estudios parasitológicos en biótopos líticos de la República Argentina. IV. El ciclo biológico de Echinostoma parcespinosum Lutz, 1924 (Digenea) parásito de Rallus maculatus maculatus y Rallus sanguinolentus sanguinolentus (Aves: Rallidae)*. Revista del Museo de La Plata, Zoología, vol. 14, pp. 47-56.
- Melo, AL.** 2008. *Formas larvais de trematódeos encontradas em moluscos límnicos*. In Amaral, RS, Thiengo, SC & Pieri, OS. (eds.). *Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: programa de vigilância e controle da esquistossomose (PCE)*, 2nd Ed. Ministério da Saúde, Brasília.
- Nasir, P.** 1960. *Studies on the life history of Echinostoma nudicaudatum n. sp. (Echinostomatidae: Trematoda)*. Journal of Parasitology, vol. 46, pp. 833-847.
- Nasir, P.** 1964a. *Studies on freshwater larval trematodes. Part II. A new echinostome cercaria, C. penalveri, from Venezuela*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, vol. 31, pp. 34-36.
- Nasir, P.** 1964b. *Studies on freshwater larval trematodes. Part. VI. Experimental observations on various stages in the life cycle of Echinostoma donosoi. n. sp. (Echinostomatidae: Trematoda) from Venezuela*. Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad del Oriente, vol. 3, pp. 144-167.
- Ruiz, JM.** 1952. *Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematódeos brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte e Jaboticatubas, estado de Minas Gerais*. Memórias do Instituto Butantan, vol. 24, pp. 45-62.
- Ostrowski de Núñez, M.** 1981. *Trematodos larvales de Venezuela. Cercarias*

- pertenecientes a la Superfamilia Echinostomatoidea.* Annales do Instituto de Biología Universidade Autonóma de México, vol. 52, pp. 51-62.
- Thatcher, VE.** 1993. *Trematódeos neotropicais.* Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Toledo, R, Esteban, JG & Fried, B.** 2009. *Recent advances in the biology of echinostomes.* Advances in Parasitology, vol. 69, pp. 147-204.
- Travassos, L, Freitas, JFT & Kohn, A.** 1969. *Trematódeos do Brasil.* Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 67, pp. 1-886.
- Yamaguti, S.** 1958. *Systema Helminthum, 1 - Part I. The digenetic trematodes of vertebrates.* Interscience Publishers, New York.

Received, October 6, 2012.
Accepted, December 7, 2012.

Author for correspondence / Autor para correspondencia

Hudson Alves Pinto

Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. CP 486, 30123-970, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

E-mail /correo electrónico:
hudsonalves13@ig.com.br