

Avaliação coproparasitológica de *Chelonoidis carbonaria*, Spix, 1824 (Reptilia, Testudinidae) em cativeiro no Espírito Santo.

Coproparasitological evaluation of *Chelonoidis carbonaria*, Spix, 1824 (Reptilia, Testudinidae) in captivity in the Espírito Santo.

Samantha de Souza Rodrigues¹; Evandro Pereira Neto¹, Maria Cristina Valdetaro Rangel^{1*}, João Luiz Rossi Junior^{1,2}, Paulo Ferreira Dias³, Jordana Ferreira Borini², Flaviana Lima Guião Leite^{1,2}, Vinicius Ricardo Cuña de Souza⁴

1. Universidade Vila Velha – UVV, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Av. Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, ES, 29102-920. 2. Universidade Vila Velha – UVV, Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas – Av. Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, ES, 29102-920. 3. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Departamento de Gemologia – Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, Vitória, ES, 29075-910. 4. Universidade Vila Velha – UVV – Av. Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, ES, 29102-920.

*Autor para correspondência: cristina.rangel@yahoo.com.br

Resumo Animais selvagens são mantidos em cativeiro e no convívio com humanos há muito tempo e consideráveis avanços ocorreram no cuidado e manejo destes, mas observa-se a necessidade de mais pesquisas envolvendo suas doenças infecciosas e parasitárias. O manejo correto dos animais em cativeiro e o controle parasitário se faz necessário pelo grande risco de transmissão de doenças, principalmente as zoonoses. Normalmente, o quadro de infecção parasitária é assintomático, porém, em más condições de higiene as doenças parasitárias levam a anorexia, perda de peso, diminuição de apetite e estresse. O objetivo da pesquisa foi verificar quais são os principais parasitos encontrados em quelônios que são mantidos em cativeiro no Projeto CEREIAS – Aracruz (ES). As avaliações foram feitas utilizando-se duas técnicas diferentes, Willis Ritchie, tendo como resultado 73 animais positivos e 22 animais negativos, enquanto que na flutuação foram 31 positivos e 64 negativos. Foram encontrados ovos e larvas de

nematódeos, cestódeos e coccídeos. Os resultados obtidos durante o experimento mostraram que ambas as técnicas deveriam ser utilizadas rotineiramente no controle parasitário desses animais em cativeiro.

Palavras-chaves: helmintos, jabutipiranga, parasitos, répteis, Testudinatas.

Abstract Wild animals are kept in captivity and living with humans for a long time and considerable advances have occurred in the care and management of these, but notes for more research involving their infectious and parasitic diseases are necessary. The correct handling of animals in captivity and parasite control is needed at high risk of transmission of diseases, especially zoonoses. Typically, the above parasitic infection is asymptomatic, but in poor hygiene parasitic diseases lead to anorexia, weight loss, decreased appetite and stress. The objective of the research was to determine the main parasites found

in turtles that are kept in captivity in CEREIAS Project – Aracruz (ES). Evaluations were made using two different techniques, Willis Ritchie, resulting in 73 positive animals and 22 animals negatives, while the fluctuation were 31 positive and 64 negatives. Eggs and larvae of nematodes, cestodes and coccidia were found. The results obtained during the experiment showed that both techniques should be used routinely in parasite control of these animals in captivity.

Keywords: helminths, parasites, red-footed tortoise, reptiles, Testudinatas.

Introdução

Os jabutis são animais terrestres, de corpo compacto, membros locomotores cilíndricos e robustos adaptados para caminhar em ambientes rústicos. As três espécies de ocorrência natural no Brasil são do gênero *Chelonoidis*: *C. carbonaria* e *C. denticulata*, com distribuição ampla; e *C. chilensis*, que é raro, podendo ocorrer apenas no extremo sul do país (Cubas e Baptistotte, 2007). *Chelonoidis carbonaria*, conhecida popularmente como jabutipiranga ou jabuti-dos-pés-vermelhos, vive em florestas tropicais; com dieta preferencialmente onívora (Cubas e Baptistotte, 2007).

Animais selvagens têm sido mantidos em cativeiro e no convívio de humanos há muitos anos. Consideráveis avanços ocorreram no cuidado e manejo, mas observa-se a necessidade de um incremento nos estudos de enfermidades parasitárias evitando a disseminação de suas doenças. Para isso, conhecer as espécies mantidas em cativeiro, além de seguir as práticas apropriadas de criação e procedimentos adequados de quarentena são essenciais (Vilani, 2007).

Os endoparasitas e ectoparasitas frequentemente são encontrados em ambientes de zoológicos e criadouros conservacionistas, comerciais e científicos. O período de incubação está envolvido desde a infecção dos animais por quaisquer patógenos até a manifestação dos primeiros sinais clínicos da doença (Silva e Corrêa, 2007). Durante a quarentena são feitos exames clínicos e testes diagnósticos, como coproparasitológicos, tratamento com anti-helmínticos e reavaliação coproparasitológica para confirmar a eficácia da terapia (Vilani, 2007).

O protocolo de quarentena tem como objetivo prevenir a introdução de agentes infecciosos e parasitários da população no cativeiro e estabelecer condutas de Medicina Veterinária preventiva para os diferentes grupos animais. Esse programa deve assegurar que apenas

animais sadios sejam incorporados ao acervo (Silva e Corrêa, 2007).

Segundo Oliveira *et al.* (2005) foram encontrados nos quelônios do gênero *Chelonoidis*, ovos e larvas de helmintos e cistos, oocistos e trofozoítos de protozoários. Os helmintos observados com maior frequência foram: strongilídeos e oxiurídeos, e também foram encontrados ascaridídeos e ovos de trematódeos. Com relação aos protozoários, foram detectados *Blastocystis* sp., *Balantidium* sp., *Endolimax* sp., *Eimeria carinii* e trichomonadídeos.

Salizar e Sanchez (2007) registraram a presença dos seguintes nematódeos: *Atractis impura*, Caballero, 1944, esta espécie foi descrita pela primeira vez para a tartaruga terrestre *Gopherus polyphemus* do México. Caracteriza-se por apresentar 10 pares de papilas caudais e ausência de formações vesiculares na região ventral caudal; Família *Ascarididae*, Baird, 1853, *Angusticaecum brevispiculum* (Chapin, 1925).

Foreyt (2005) listou alguns helmintos importantes em répteis selvagens tais como Ascarídeos, *Kalicephalus* spp., Oxiurídeos e *Strongyloides* sp., todos encontrados nos intestinos. Os principais parasitos encontrados nos répteis são: Nematódeos: *Angusticaecum* sp., *Camallanus* sp., *Sprionoura* sp., *Spiroxys* sp., *Kalicephalus* sp., *Protractis* sp.; Trematódeos: *Dictyngium* sp., *Heronimus* sp., *Neopolystoma* sp., *Telorchis* sp.; dentre as Acantocefalos: *Neoechinorhynchus* sp.; dentre os protozoários: *Entamoeba invadens*, *Eimeria* spp., *Balantidium* sp. (Foreyt, 2005).

O objetivo da pesquisa foi verificar quais são os parasitas encontrados em quelônios que são mantidos em cativeiro no Projeto CEREIAS (Centro de Reintrodução de Animais Selvagens), Aracruz (ES), por meio de exames coproparasitológicos. A espécie *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) foi selecionada porque são animais que apresentam estudos escassos, principalmente sobre os aspectos parasitológicos, manejo e conservação.

Material e Métodos

Foram utilizados animais, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA – UVV) número 100/2010, e todos os procedimentos foram autorizados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (064/11-NUFAU/IBAMA/ES 02.009,001702/2009-01) e aprovado pelo Comitê de Ética, Bioética e Bem-Estar Animal da Universidade de Vila Velha. Foram coletadas amostras de 95 animais, com peso variando entre 1,1 e

8,6 Kg, desses: 74 machos e 21 fêmeas. As coletas foram realizadas com a devida autorização da equipe técnica do CERIAS (Centro de Reintrodução de Animais Selvagens).

Para a obtenção do material biológico dos quelônios os mesmos eram alocados, individualmente, em bandejas coletoras com aproximadamente 44x64cm de largura e 18 cm de profundidade, com restrição de espaço. Os espécimes foram identificados pela numeração do CERIAS, para que não houvesse repetição da coleta num mesmo animal. As fezes foram coletadas no momento da defecação e armazenadas em frasco coletor universal, e em seguida alocadas a 4°C, até posterior processamento.

As avaliações foram realizadas por meio de exames coproparasitológicos utilizando duas técnicas: Flutuação (Willis, 1921) e outra de Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948), para detectar ovos (pesados e leves) e larvas. Os exames foram realizados no Laboratório Clínico da Universidade Vila Velha (UVV) e os resultados foram repassados à equipe técnica do CERIAS, para que pudessem ser utilizados na rotina do Projeto.

Os parasitos foram observados por meio de microscópio óptico Nikon® YS100, utilizando as objetivas de 4x, 10x e 40x. A máquina fotográfica utilizada foi Samsung Lens® S860®, zoom 6.3 – 18.9 mm, 8.1 megapixels. A identificação dos parasitos, até o nível taxonômico de espécie, por meio de observação de ovos é de difícil realização porque os ovos apresentam características semelhantes, e seriam necessárias amostras de parasitos adultos, por tanto foi realizada triagem das classes taxonômicas que foram encontradas e essa determinação foi realizada por meio da descrição feita por Sloss; Kemp; Zajac (1999), Foreyt (2005), Cubas; Silva; Catão-Dias (2007).

Resultados

A técnica de Flutuação simples (Willis, 1921) foi realizada em todas as 95 amostras de fezes coletadas e em 31 delas foram encontrados ovos de helmintos. Nessa técnica, os ovos observados em maior quantidade foram de nematódeos e cestódeos, sendo que o primeiro grupo foi maior numericamente (Figura 1).

Foi realizada a técnica de Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948) em todas as 95 amostras de fezes, onde 73 dessas estavam positivas para ovos e/ou larvas. Os ovos observados nessa técnica foram de nematódeos e cestódeos, este último em elevada quantidade. Dos 95

animais estudados, foi verificado que 77 deles estavam parasitados, o que foi concluído por meio de resultado positivo em uma das técnicas ou ambas.

De acordo com os resultados obtidos neste experimento, a técnica de Ritchie (1948) foi mais sensível (76,9% positivos) em comparação a técnica de Willis (1921) (32,6% positivos), o que não descarta a utilização das duas técnicas associadas, dando um resultado mais amplo e seguro, já que os ovos mais leves dificilmente são detectados por meio da técnica de Ritchie (1948), utilizada para explorar ovos mais densos e larvas de helmintos, enquanto a técnica de Willis (1921) é mais sensível para a detecção de ovos mais leves (Figura 1).

Pode-se perceber o quanto a associação de duas técnicas com finalidades diferentes foi útil para o experimento. Na técnica de Flutuação simples (Willis, 1921) dos 95 animais examinados, somente 31 estavam positivos, mas ao realizarmos a técnica de Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948) nos mesmos 95 animais foram visto que 73 estavam positivos.

De acordo com o teste do Qui-quadrado, quando relacionamos a técnica de Flutuação simples (Willis, 1921) com a técnica de Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948), com um grau de liberdade, a resposta foi altamente significativa ($p \leq 0,05$), tendo como resultado uma significância de $p < 0,01$, como mostra a Tabela 1.

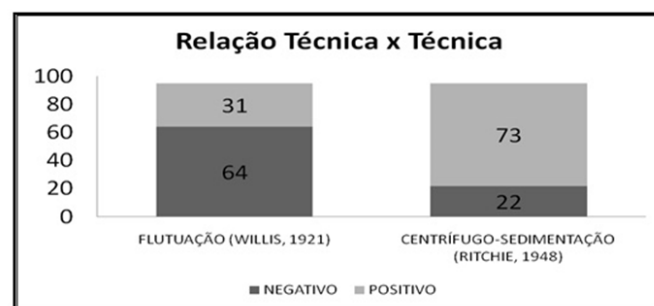


Figura 1 Comparação entre número de amostras positivas e negativas pelas técnicas de Flutuação simples e Centrífugo-sedimentação das amostras fecais de *Chelonoidis carbonaria*.

Entre as técnicas de Flutuação simples (Willis, 1921) e Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948), a última apresentou uma resposta altamente significativa. Na técnica de Flutuação simples, dos 74 machos, 67,57% estavam negativos e 32,43% positivos, e dentre as 21 fêmeas, 33,33% negativas e 66,67% positivas (Tabela 1). Na técnica de Centrífugo-sedimentação, do total de machos, 75,68% estavam positivos e 24,32% negativos, e dentre as fêmeas, 80,95% estavam positivas e 19,05% negativas (Tabela 1).

Amostras	Flutuação		Centrífugo-sedimentação		Comparação entre Técnicas	
	Positivo (%)	Negativo (%)	Positivo (%)	Negativo (%)	χ^2	<i>p</i>
Total (N = 95)	32,63	67,37	76,84	23,16	37,47	< 0,001
Machos (N = 74)	32,43	67,57	75,68	24,32	27,86	< 0,001
Fêmeas (N = 21)	66,67	33,33	80,95	19,05	1,109	0,292
Comparação entre Machos e Fêmeas						
χ^2	7,99		0,256			
<i>p</i>	0,005		0,613			

Tabela 1 Comparação entre as técnicas de Flutuação simples e Centrífugo-sedimentação e comparação entre machos e fêmeas, a partir de amostras fecais de *Chelonoidis carbonaria*.

Também utilizando o teste do Qui-quadrado, em que relacionamos Sexo X Resultado, não houve diferenças significativas entre os parâmetros na técnica de Flutuação simples ($p > 0,9$), como também na técnica de Centrífugo-sedimentação ($p > 0,6$) (Tabela 1).

Foram confrontados os resultados de Técnica X Sexo, primeiro com os dados dos machos e novamente os resultados foram altamente significantes, com $p < 0,01$, mostrando que a técnica de Centrífugo-sedimentação foi mais sensível do que a técnica de Flutuação, podendo ser explicado pelo número de machos. Dos 74 machos, na técnica de Flutuação simples, 24 estavam positivos, enquanto que na técnica de Centrífugo-sedimentação, dos mesmos 74 machos, 56 estavam infectados (Tabela 1).

Utilizando os resultados obtidos na relação Técnica X Sexo, para as fêmeas: das 21 fêmeas na técnica de Flutuação simples, 7 estavam positivas, enquanto que na técnica de Centrífugo-sedimentação 17 deram resultado positivo para presença de helmintos. O teste do Qui-quadrado revelou diferença estatística significativa na relação Técnica X Sexo (Fêmea), com $p < 0,01$.

Apesar da técnica de Centrífugo-sedimentação ter mostrado mais sensível que a técnica de Flutuação, alguns dos resultados divergiram em alguns animais deram positivo na técnica de Flutuação simples, mas negativo na de Centrífugo-sedimentação.

Foram encontrados ovos de nematódeos (Figuras 2A, 2B, 2C e 2D), cestódeos (Figuras 3A, 3B, 3C, 3D, 4A e 4B), larva de nematódeo (Figura 4C) e oocistos de coccídeos (Figura 4D). Os ovos de helmintos mais observados durante o estudo foram de nematódeos e cestódeos.

A identificação taxonômica dos helmintos encontrados em gênero e espécie não foi realizada, pois para isso, seria necessária a realização de uma minuciosa necropsia parasitológica, para obtenção de exemplares adultos destes parasitos. Em virtude disso, estes só foram

identificados por filo e classe, ajudando assim na prescrição medicamentosa dos animais.

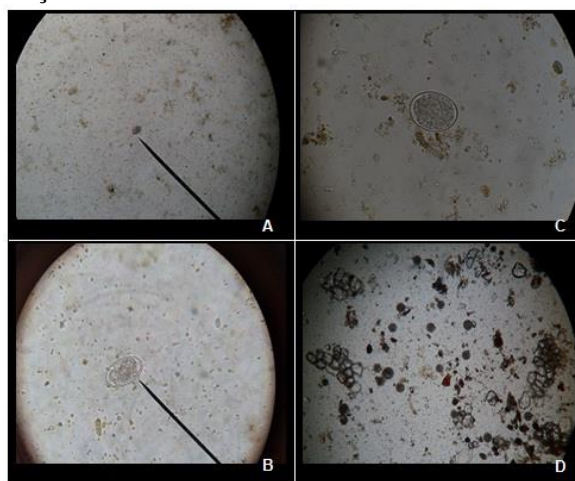


Figura 2 Ovos de Nematódeos (A) Aumento de 10x; (B) Aumento de 40x; (C) Aumento de 40x; (D) aumento de 10x. Fonte: Samantha de Souza Rodrigues.

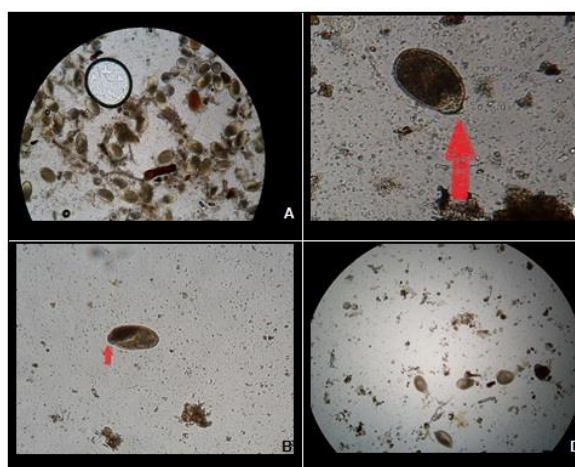


Figura 3 Ovos de nematódeos e cestódeos presentes nas fezes de *Chelonoidis carbonaria*. (A) Nematódeos e cestódeos em aumento de 10x; (B) Cestódeo visualizado no aumento de 10x, com destaque para o opérculo; (C) Destaque do opérculo do cestódeo em aumento de 40x; (d) Ovos de cestódeos em aumento de 10x. Fonte: Samantha de Souza.

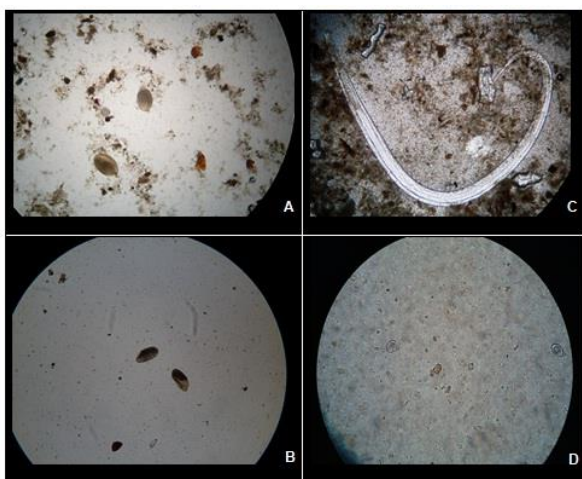


Figura 4 Ovos de Cestódeos, larva de Nematódeo e oocistos. (A) Ovos de cetódeos em aumento de 10x; (B) Ovos de cestódeos em aumento de 10x; (C) Larva de Nematódeo em aumento de 10x; (D) Oocisto de coccídeo em aumento de 4x. Fonte: Samantha de Souza Rodrigues.

Discussão

Os resultados obtidos durante o experimento mostraram que ambas as técnicas deveriam ser utilizadas rotineiramente para auxílio no controle parasitário dos animais em cativeiro, cada uma com seu objetivo: encontrar um determinado grupo de helmintos; a de flutuação simples para encontrar ovos menos densos e de centrífugo-sedimentação para ovos mais densos e larvas. Se fosse utilizada somente uma das técnicas o resultado poderia não ser o mesmo, pois o número de animais com resultado positivo para presença de helmintos na técnica de flutuação foi baixo, se comparado com a técnica de centrífugo-sedimentação (Figura 1).

Assim como afirmaram, Salizar & Sanchez (2007); Foreyt (2005); e Oliveira *et al.* (2005), foram encontrados larvas e ovos de nematódeos, oocistos, também foi observada a presença de ovos de cestódeos.

Durante a quarentena, os animais recebem medicamentos para controle de endo e ectoparasitos, porém, a técnica realizada pelo CEREIAS para detecção desses helmintos é a de flutuação simples, que é sensível para um determinado grupo de helmintos, com ovos leves, fazendo com que outros grupos passem despercebidos, dando uma falsa impressão de que os animais estão devidamente tratados. Esta técnica mostrou-se pouco sensível, os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que mesmo com resultado negativo, ao ser realizada a técnica de Centrífugo-

sedimentação, o resultado foi diferente. Isso ocorreu, pois essa última técnica tem o objetivo de encontrar outros grupos de helmintos com ovos mais densos e também larvas. Assim, os animais passavam por tratamentos medicamentosos que eram direcionados somente ao que era encontrado, fazendo com que os tratamentos mais específicos não fossem realizados. Em seguida os animais eram encaminhados para os recintos teoricamente “livres de helmintos”, o que potencialmente acabava infectando os demais.

É necessária a adoção de uma nova técnica de detecção de helmintos, utilizando-se duas ou mais técnicas coproparasitológicas, dando um resultado mais sensível e específico. A adoção de técnicas que atendam a finalidades diferentes é sugerida, neste caso, a de Ritchie (1948), que se mostrou mais sensível, pois alcançou seu objetivo, não descartando a técnica de Willis (1921), que também obteve sua finalidade, apesar de simples se comparada com técnica anterior. Sabe-se que o equipamento (centrífuga) necessário para a realização da técnica de Ritchie (1948) possui valor elevado, tornando difícil sua realização nos centros de reintrodução. Existem outras técnicas que podem ser utilizadas com a mesma finalidade como é o caso da técnica de Hoffmann (1934), que é mais lenta, mas funciona bem para ovos mais densos. Pensando na otimização da vida desses animais em não proliferação de doenças, essas técnicas poderiam ser realizadas em parceria com instituições de ensino.

Conclusão

Os exames coproparasitológicos realizados no presente estudo demonstraram que mesmo esses animais vermifugados durante o período de quarentena, muitos estavam parasitados por um ou mais espécies de helmintos. A maioria dos animais estava infectada pelos helmintos que continham ovos mais densos, porque, ao serem tratados com anti-helmínticos, os mesmos eram específicos para parasitos encontrados na técnica de Flutuação simples (Willis, 1921).

Conclui-se que a técnica de Flutuação simples (Willis, 1921), realizada no Centro de Reintrodução de Animais Selvagens, foi sensível para os helmintos que produzem ovos menos densos, enquanto que os helmintos que produzem ovos mais densos passavam despercebidos, por isso foram encontrados muitos animais positivos ao se realizar a técnica de Centrífugo-sedimentação (Ritchie, 1948). As duas técnicas, flutuação simples e centrífugo-sedimentação, embora atendam a diferentes finalidades,

se tornam complementares para a melhora do manejo sanitário de animais selvagens em cativeiro.

Referências

- Cubas PH, Baptistotte. (2007) C. Chelonia Tartaruga, cágado, jabuti. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca. 86-119. ISBN 857241-649-8.
- Cubas ZS, Silva, JCR, Catão-Dias JL (2007) **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca. 1354p. ISBN 85-7241-649-8.
- Foreyt WJ (2005) **Parasitologia veterinária: manual de referência** 5. ed. São Paulo: Editora Roca Ltda. 2005. 240p. ISBN 85-7241-555-6.
- Oliveira RT, Mundim AV, Mundim MJS (2005) Endoparasitas em jabutis (*Geochelone carbonaria* e *Geochelone denticulata*) em cativeiro. **Revista eletrônica PROPP**. UFU.
- Rithchie LS (1948) An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the United States Army Medical Department**, (8): 326.
- Salizer P, Sanchez L. (2007) Nuevos registros de nematodos en dos espécies de tortugas (Reptilia: Testudines) en el Perú. **Neotropical Helminthology**, 1(1), p. 43-46.
- Silva JCR; Corrêa, SHR (2007) **Manejo Sanitário e Biossegurança**. In: Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca. 1226-1244. ISBN 85-7241-649-8.
- Sloss MW; Kemp, RL; Zajac, AM (1999) **Parasitologia Clínica Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Editora Manole Ltda. 198. ISBN 85-205-0808-7.
- Willis II (1921) A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **The Medical Journal of Australia**, 8: 375-376.
- Vilant GOC. (2007) Estrutura hospitalar, quarentenário e centros de triagem. In: Cubas, ZS, Silva, JCR, Catão Dias JL. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca. Cap 5, 33-42.