

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ÉRIKA BINOTI

**HELMINTOFAUNA DE *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) NO SUL DO ESTADO
DO ESPÍRITO SANTO E DESCRIÇÃO DE LESÕES TECIDUAIS**

ALEGRE-ES

2015

ÉRIKA BINOTI

**HELMINTOFAUNA DE *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) NO SUL DO ESTADO
DO ESPÍRITO SANTO E DESCRIÇÃO DE LESÕES TECIDUAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Orientadora: Prof. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins

Coorientadora: Prof. Dra. Jankerle Neves Boeloni

ALEGRE-ES

2015

ÉRIKA BINOTI

**HELMINTOFAUNA DE *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) NO SUL DO ESTADO
DO ESPÍRITO SANTO E DESCRIÇÃO DE LESÕES TECIDUAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Aprovado em 09 de fevereiro de 2015

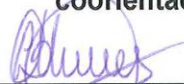
COMISSÃO EXAMINADORA



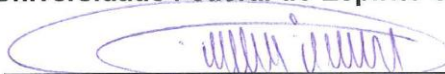
Prof. Dr.: Isabella Vilhena Freire Martins
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof. Dr.: Jankerle Neves Boeloni
Universidade Federal do Espírito Santo
coorientadora



Prof. Dr.: Louísiane Nunes de Carvalho
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr.: Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho
Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro

À Deus, Criador de todas as coisas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, por me proporcionar a realização de mais um sonho. Por colocar em meus caminhos pessoas que me ajudaram a construir tudo o que sou hoje. E a Nossa Senhora das Graças pela constante intercessão.

Aos meus pais, Jussara e Luiz, minha irmã Juliana e cunhado Andres, por me incentivarem e por me ensinar a nunca desistir. E a todos da família que me acompanharam de perto, pelo apoio e orações.

A meu noivo, Maycon, pela paciência, compreensão, confiança e respeito, por sempre me incentivar, trazendo alegrias em todos os momentos.

Aos amigos que torceram por mim, e por estarem sempre presentes. Às amigas de república, Geanine e Débora, pela compreensão e por dividir todos os momentos, e por ser família.

Ao Ministério Universidades Renovadas, pela inexplicável alegria de servir a Deus, e as pessoas que formam o Grupo de Oração Universitário (GOU) em Alegre, por serem meu sustento e por tornar a estadia nessa Cidade mais doce e feliz.

À minha orientadora Isabella, por acreditar em mim, e contribuir com meu crescimento profissional e pessoal, por mostrar o melhor lado da profissão de lecionar, sendo fonte de inspiração, colocando amor em tudo o que faz, com muito entusiasmo e dedicação, e acima de tudo ética e respeito pelos demais.

À minha coorientadora Jankerle, por toda dedicação e companheirismo, por compartilhar conhecimentos e me ajudar com paciência, contribuindo também com meu crescimento pessoal, sendo uma pessoa sempre doce e gentil, e ao mesmo tempo firme e dedicada no que faz, e muita ética. E aos demais professores do programa, por compartilhar conhecimentos e experiências.

Aos amigos e companheiros da pós, Antonio, Moara e Renan, por me ajudarem em todas as etapas deste trabalho. Aos amigos de laboratório pelas trocas de experiência e pela ajuda ao projeto. E a todos os amigos da turma, que tornaram as aulas sempre divertidas.

A Universidade Federal do Espírito Santo, pela oportunidade e acolhimento. A CAPES pelo apoio financeiro, e por incentivar a pesquisa. A empresa CTA Meio Ambiente pelo fornecimento dos materiais necessários a pesquisa. E ao amigo e colaborador Max R. Verneck, por toda a ajuda e contribuição a pesquisa.

RESUMO

BINOTI, ÉRIKA. Helmintofauna de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Sul do Estado do Espírito Santo e descrição de lesões teciduais. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

Dentre as espécies de tartarugas marinhas existentes, todas estão classificadas em algum grau de extinção, inclusive as cinco espécies que ocorrem na costa brasileira. As ameaças são várias, incluindo a ação antrópica, e dentre as enfermidades que as fazem aparecer mortas ou debilitadas nas praias, está o parasitismo. Devido a falta de conhecimento acerca dos patógenos que acometem esses animais, objetivou-se com este estudo avaliar a helmintofauna das tartarugas marinhas da espécie *Chelonia mydas* que vieram a óbito no litoral Sul do Estado do Espírito Santo e descrever as lesões teciduais nos animais parasitados. Foi realizado um estudo retrospectivo utilizando 212 fichas das tartarugas que foram necropsiadas. E um estudo prospectivo, onde das 212 tartarugas, 50 parasitadas foram selecionadas para coleta de amostras de parasitos, e 16 para coleta de amostra de tecidos. Um total de 106 tartarugas apresentou uma ou mais espécies de parasitos. Foram identificados 21 espécies diferentes e um gênero de trematódeos distribuídos em nove famílias. Dentre as espécies identificadas, três delas são relatadas pela primeira vez na costa brasileira, *Deuterobaris intestinalis*, *Enodiotrema reductum* e *Rhytidodoides similis*. Não houve associação significativa do parasitismo com os animais debilitados. Dos tecidos avaliados no exame histopatológico, foram observados ovos de trematódeos, associados ou não a células gigantes, em vários órgãos, principalmente em baço e pulmões. No entanto, as lesões por ovos não foram relacionadas à debilidade ou morte dos animais e não foi possível afirmar que os ovos pertenciam à família Spirorchiidae, devido as lesões serem crônicas e os parasitos adultos desta família não terem sido encontrados em todos os animais que apresentaram os ovos nos tecidos. Estes resultados contribuem de forma importante para o conhecimento da fauna helmintológica das tartarugas marinhas da costa do Espírito Santo.

Palavras-chave: Helmintos; Tartarugas marinhas; Trematodas

ABSTRACT

BINOTI, ÉRIKA. Helminthofauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the South of the State of Espírito Santo and description of tissue lesions. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014.

Among the species of sea turtles that exist, all are classified under some degree of extinction, including the five species that occur along the Brazilian coast. The threats are many, including the anthropic action, and one of the illnesses that make them appear dead or weakened on the beaches, is the parasitism. Due to lack of knowledge about the pathogens that affect these animals, the objective of this study to evaluate the helminthofauna of sea turtles *Chelonia mydas* who came to death in the southern coast of the State of Espírito Santo and describe tissue lesions in animals parasitized. We conducted a retrospective study using 212 chips of turtles that were necropsiadas. And a prospective study, where the 212 turtles, 50 arasitized were selected for gathering samples of parasites, and 16 for sample collection of fabrics. A total of 106 turtles presented one or more species of parasites. 21 different species have been identified and a genus of flukes spread across nine families. Among the species identified, three of them are reported for the first time in the Brazilian coast, *Deuterobaris intestinalis*, *Enodiotrema reductum* and *Rhytidodoides similis*. There was no significant association of parasitism with debilitated animals. The tissue assessed in histopathological examination, although eggs have been observed, associated or not to giant cells in various organs, mainly in spleen and lungs. However, the lesions by eggs were not related to weakness or death of animals and it was not possible to say that the eggs belonged to Spirorchiidae family, due to chronic injuries and the adult parasites of this family have been found in all animals presented the eggs in the tissues. These results contribute so important for the knowledge of the helmintológica fauna of sea turtles off the coast of Espírito Santo.

Keywords: Helminths; Sea turtles; flukes

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
<p>Figura 1- Parasitos encontrados em <i>C. mydas</i> (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) <i>Learedius learedi</i>. Barra = 47,866 μm; B) <i>Calycodes anthos</i>. Barra = 98,647 μm; C) <i>Plesiochorus cymbiformes</i>. Barra= 56,892 μm; D) <i>Neoctangium travassosi</i>. Barra = 136,017 μm; E) <i>Poliangium linguatula</i>. Barra= 40,415 μm; F) <i>Cricocephalus albus</i>. Barra= 69,944 μm. Legenda: VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: Bolsa de Cirrus.....</p>	26
<p>Figura 2 Parasitos encontrados em <i>C. mydas</i> (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) <i>Metacetabulum invaginatum</i>. Barra= 165,343 μm; B) <i>Pleurogonius linearis</i>. Barra= 28,153 μm; C) <i>Pleurogonius longiusculus</i>. Barra=143,02 μm; D) <i>Pronocephalus obliquus</i>. Barra= 38,293 μm; E) <i>Ruicephalus minutus</i>. Barra= 37,345 μm; F) <i>Orchidasma amphiorchis</i>. Barra= 66,59 μm. Legenda: VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: Bolsa de Cirrus.....</p>	27
<p>Figura 3 Parasitos encontrados em <i>C. mydas</i> (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) <i>Shizamphistomum</i> sp. Barra= 113,341 μm; B) <i>Charaxicephalus robustus</i>. Barra= 34,972 μm; C) <i>Cricocephalus megastomum</i>. Barra= 51,349 μm; D) <i>Glyphicephalus lobatos</i>. Barra= 53,223 μm; E) <i>Pronocephalus trigonocephalus</i>. Barra= 49,268 μm; F) <i>Pyelosomum cochlear</i>. Barra= 63,04 μm. Legenda: VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV:</p>	

ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: Bolsa de Cirrus.....

28

Figura 4- Helmintos encontrados em *C. mydas* relatados pela primeira vez na costa brasileira (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) *Deuterobaris intestinalis*. Barra= 135,869 μm ; B) *Enodiotrema reductum*. Barra= 41,031 μm ; C) *Rhytidodoides similis*. Barra= 37,556 μm . Legenda: VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: bolsa de Cirrus.....

30

Figura 5- Descrição histopatológica das lesões observadas em baços e pulmões de *C. mydas*. 3A, 3B, 3C, 3D) Baço com ovos íntegros e degenerados, associados ou não a células gigantes, distribuídos de forma multifocal a coalescente intensa. 3E, 3F, 3G, 3H) Pulmões com ovos íntegros e degenerados, associados ou não a células gigantes, distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (3A) Barra= 78,12 μm ; (3B) Barra= 39,06 μm ; (3C) Barra= 78,12 μm ; (3D) Barra= 39,06 μm ; (3E) Barra= 27,90 μm ; (3F) Barra= 13,95 μm ; (3G) Barra= 19,53 μm ; (3H) Barra= 9,76 μm

32

Figura 6- Descrição histopatológica das lesões observadas em, intestino grosso e encéfalo de *C. mydas*. 4A, 4B) musculatura estriada esquelética com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes (detalhe) distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (4A) Barra= 78,12 μm , (4B) Barra= 39,06 μm . 4C, 4D) Intestino grosso com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (4C) Barra= 78,12 μm , (4D) Barra= 39,06 μm . 4E, 4F) Encéfalo com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a célula gigante. HE, (4E) Barra= 78,12 μm , (4F) Barra= 39,06 μm . 4G, 4H) Encéfalo com

formas parasitárias intravasculares. (4G, 4H) Barra= 39,06
µm.....

33

Figura 7- Descrição histopatológica das lesões observadas em peles,
pâncreas e glândulas adrenais de *C. mydas*. 5A, 5B) Pele com
ovos degenerados distribuídos de forma multifocal discreta. HE,
(5A) Barra= 78,12 µm, (5B) Barra= 39,06 µm. 5C, 5D) Pele com
parasito adulto sobre a epiderme. HE, (5C) Barra= 78,12 µm,
(5D) Barra= 39,06 µm. 5E, 5F) Pâncreas com ovo degenerado
associado a célula gigante. HE, (5E) Barra= 27,90 µm, (5F)
Barra= 13,95 µm. 5G, 5H) Glândulas adrenais com ovos,
íntegros e degenerados, associados a células gigantes. HE,
(5G) Barra= 19,53 µm, (5H) Barra= 9,76 µm

.....

34

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1. Prováveis causas de óbito de tartarugas da espécie <i>Chelonia mydas</i> , segundo dados das fichas cedidas pela empresa CTA-Meio Ambiente, recolhidas no sul do estado do Espírito Santo	24
Tabela 2. Helmintos identificados em <i>Chelonia mydas</i> procedentes da costa Sul do Espírito Santo, e os locais de parasitismo onde foram encontrados	25

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Biologia das tartarugas verdes	15
2.2 Parasitos em répteis	16
2.3 Endoparasitos em <i>Chelonia mydas</i> no Brasil	17
3 METODOLOGIA	21
3.1 Estudo retrospectivo	21
3.2 Estudo prospectivo	21
3.2.1 Montagem de lâminas permanentes e identificação das espécies	22
3.2.2 Análise histopatológicas	22
3.2.3 Análise estatística	23
4 RESULTADOS	24
4.1 Estudo retrospectivo	24
4.2 Estudo prospectivo	25
4.2.1 Parasitos relatados pela primeira vez na costa brasileira	29
4.2.2 Análise histopatológica	31
5 DISCUSSÃO	35
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7 CONCLUSÃO	41
8 REFERÊNCIAS	42
APÊNDICE	46

1 INTRODUÇÃO

Existem cerca de sete espécies de tartarugas marinhas em todos os oceanos, e destas, cinco podem ser encontradas no litoral brasileiro, sendo elas, tartaruga verde ou aruanã (*Chelonia mydas*), tartaruga de couro ou gigante (*Dermochelys coriacea*), tartaruga cabeçuda (*Caretta caretta*), tartaruga de oliva (*Lepidochelys olivacea*) e tartaruga de pente ou verdadeira (*Eretmochelys imbricata*) (MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999).

De acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), a espécie *Chelonia mydas* está atualmente classificada como Vulnerável no Brasil, mas seu estado de conservação é Ameaçada em âmbito internacional (IUCN, 2014). A população brasileira de tartarugas está isolada, e sua classificação como Vulnerável é mantida, pois, as mesmas têm um comportamento onde as fêmeas voltam para se reproduzir na praia onde nasceram, impossibilitando, dessa forma, a migração de adultos de outras regiões para o Brasil (ALMEIDA et al., 2011).

KOTAS et al. (2004) relatam que com a modernização e intensificação da atividade pesqueira, a captura incidental de tartarugas marinhas tem sido considerada a maior ameaça tanto para juvenis quanto para adultos destes animais no mundo. Como não conseguem emergir para respirar, acabam morrendo por afogamento ou mutilação causada pelas redes e anzóis (BUGONI et al., 2008).

Nos últimos tempos, tem sido comum observar uma enorme quantidade de tartarugas juvenis sendo encontradas encalhadas nas praias ou flutuando com diminuída mobilidade e reflexos de fuga, e estes animais apresentam uma intensa debilidade, e muitas vezes são encontrados mortos. No entanto, os sinais que apresentam são poucos específicos, como atrofia muscular, fragilidade óssea e anemia, além de muitos ectoparasitas e/ou epibiontes, não caracterizando uma causa específica. É possível observar também infecções secundárias associadas, além de uma grande quantidade de endoparasitos, o que torna difícil estabelecer o que levou a tartaruga ao óbito (WERNECK et al., 2005).

Muitos endoparasitas são encontrados em tartarugas marinhas, onde espécies de trematódeos e nematódeos são identificados com maior frequência, e entre as diversas espécies de parasitos identificados pelo mundo, poucos foram descritos no Brasil, o que sugere que uma grande quantidade de helmintos pode

ainda ser encontrada parasitando tartarugas marinhas na costa brasileira (WERNECK, 2007).

Para as medidas de manejo e conservação destas espécies, o estabelecimento da *causa mortis* é um importante ponto de apoio. Portanto, torna-se indispensável que sejam realizadas mais pesquisas para se diagnosticar as causas de enalhe e morte destes animais, incluindo as parasitoses, para se avaliar o real impacto desta afecção na debilidade dos animais que chegam as praias (DUTRA et al., 2012).

No Espírito Santo não existem dados elucidativos no que diz respeito às principais doenças que acometem as tartarugas marinhas. Os estudos parasitários e anátomopatológicos auxiliam no estabelecimento de diagnósticos precisos bem como de manejo profilático adequado.

Estudos avaliando as parasitoses em *C. mydas*, como os realizados por Werneck (2007, 2011), foram descritos no Brasil, porém em nenhum se pode constatar que a parasitose foi a principal causa da morte destes quelônios marinhos.

A pesquisa objetivou avaliar a helmintofauna das tartarugas marinhas da espécie *Chelonia mydas* e descrever as lesões teciduais nos animais parasitados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia da Tartaruga Verde

Quanto a sua distribuição, *Chelonia mydas* pode ser encontrada desde os trópicos até as zonas temperadas, e dentre as espécies é a que apresenta hábitos mais costeiros, ou seja, é frequentemente observada visitando a costa em maior número, além disso, também ocorre em estuários de rios e lagos. As ilhas oceânicas constituem sua principal área de reprodução, como a Ilha da Trindade (ES), Atol das Rocas (RN) e Fernando de Noronha (PE). Mas, desovas secundárias podem acontecer no litoral brasileiro, como no litoral norte do Estado da Bahia. Ocorrem também ninhos nos Estados do Espírito Santo, Sergipe e Rio Grande do Norte, com menor frequência. As ocorrências não reprodutivas são registradas em toda a costa do Brasil e também nas ilhas (ALMEIDA et al., 2011).

O período de três gerações ultrapassa os 100 anos, pois esta espécie tem um longo ciclo de vida, e só atinge a maturidade sexual entre 20 e 30 anos. Quando filhotes são onívoros, e quando atingem a fase juvenil com carapaça entre 30 e 40 cm de comprimento, tornam-se herbívoros, alimentando-se principalmente de algas. Entretanto, devido a sua grande distribuição, a dieta e suas preferências podem variar de acordo com disponibilidade em cada área. A espécie *C. mydas* sofreu menor impacto antrópico sobre ovos e fêmeas que outras espécies, atribuindo-se isso ao fato de as áreas prioritárias de reprodução estarem localizadas em ilhas oceânicas isoladas, e estas áreas de desova não estão sujeitas à ocupação desordenada da zona costeira (TAMAR, 2014).

Como são animais com alta mobilidade e distribuem-se por amplas áreas geográficas durante todo o seu período de vida, torna-se difícil avaliar quantitativamente as populações de *C. mydas*. Atualmente sua população estimada é de 203 mil fêmeas em idade reprodutiva (TAMAR, 2014).

2.2 Parasitos em répteis

Os parasitos estão presentes em todos os vertebrados, incluindo os répteis, que podem abrigar diversos tipos de parasitos, ou possuírem parasitos específicos (que só ocorrem em determinada espécie). Essa relação pode beneficiar somente o parasito, ou ambos. No entanto, a presença deste pode causar doenças e até provocar a morte do hospedeiro. Parasitos são seres que utilizam outros seres (hospedeiros) para viver, nutrindo-se destes e usando-os como o ambiente em que passam grande parte do tempo, ou mesmo o tempo todo, completando ou vivendo inteiramente seu ciclo de vida (GREINER; MADER, 2006).

O conhecimento sobre os parasitos de répteis é bastante escasso, portanto, em alguns casos, não é possível saber se os parasitos são os agentes causadores das doenças (agentes patogênicos), ou se vivem de forma pacífica no hospedeiro, não lhes causando mal algum. Os répteis podem contrair estes parasitos de formas diferentes, uma vez que estes possuem variados ciclos de vida. A forma mais comum é a contaminação via ingestão da forma infectante do parasito no ambiente, podendo ser os ovos, oocistos ou as larvas; outra forma bem comum é a ingestão dos hospedeiros intermediários (animais que contêm a forma provisória do parasito) e que no momento hospedam o parasito no estágio infectante; ou ainda as larvas infectantes podem penetrar na pele do hospedeiro, ou ser inoculadas por um vetor (GREINER e MADER, 2006).

Como a alimentação é um dos meios mais prováveis para que ocorra a infecção pelos parasitos, é importante saber que as tartarugas marinhas apresentam hábitos alimentares variados, conforme o estágio de sua vida. As tartarugas verdes, por exemplo, quando filhotes são principalmente carnívoras, e quando atingem de 20-25 cm de carapaça, migram para outras partes do oceano, onde começam a se alimentar de algas, tornando-se assim herbívoras (CUBAS; BAPTISTOTTE, 2007). Acredita-se que a partir deste período elas são infectadas, ao, possivelmente, ingerir hospedeiros intermediários contendo formas infectantes dos parasitos (SANTORO et al., 2006).

2.3 Endoparasitos em *Chelonia mydas* no Brasil

Muitos helmintos são encontrados parasitando tartarugas marinhas na Costa Brasileira, compreendendo em sua maioria trematódeos e nematódeos. Foram encontradas em *C. mydas* três espécies de nematódeos: *Kathlania leptura* Rud, 1819; *Sulcascaris sulcata* Rudolphi, 1819; e *Tonaudia freitasi* Vicente e Santos, 1968 (VICENTE et al., 1993).

Xavier (2011) relatou em estudo com 20 *C. mydas* a ocorrência de dois exemplares de nematódeos da Família Anisakidae em fase larval, sendo o primeiro registro de fases larvais de cestódeos parasitando tartarugas marinhas no Brasil, o parasito *Hepatoxylon trichiuri* se encontrava na fase pós-larval aderido a mucosa do intestino grosso, onde este autor acredita que a tartaruga foi infectada por este cestódeo durante o tempo que ficou em tratamento, sendo alimentada com peixes comprados em estabelecimentos comerciais, que possivelmente estariam infectados com este parasito, o parasito adulto não foi encontrado no estudo.

É observado que, mesmo em diferentes fases da vida da tartaruga, a sua helmintofauna apresenta um alto grau de especificidade, e comparada a outras espécies, como *Careta careta* e *Lepidochelys olivacea*, *C. mydas* apresenta uma maior riqueza de espécies e abundância média de helmintos encontrados (WERNECK, 2011), isso se deve possivelmente ao fato dos diferentes hábitos de forragens e as condições do hábitat em que vivem (SANTORO et al., 2006), como *C. mydas* possui hábitos generalistas, estão expostas, portanto, a um número maior de espécies de hospedeiros intermediários potenciais, resultando assim, em uma maior riqueza de espécies (KENNEDY et al., 1986; MARCOGLIESE, 2002, apud SANTORO et al., 2006).

Como o primeiro trematódeo descrito na costa brasileira em *C. mydas*, a espécie *Monostoma trigonocephalum* Rudolphi, 1809, data do ano de 1901, pertencente à Família Pronocephalidae, foi identificado por Braun e depositado no Museu de Viena (RUIZ, 1946, apud WERNECK, 2011).

Em pesquisa publicada por Travassos (1934) apud Werneck (2011), foi listada, por meio de uma revisão bibliográfica, uma relação de parasitos de *C. mydas* pertencentes a superfamília Paramphistomoidea que até então não havia sido relatado na costa brasileira, sendo eles: *Schizamphistoma scleroporium*, *Schizamphistomoides spinulosum*, *Microscaphidium reticulare*, *Microscaphidium*

aberrans, *Polyangium linguatula*, *Polyangium miyajimai*, *Angiodictyum parallelum*, *Octangium sagitta*, *Octangium hasta*, *Octangium proteus* e *Deuterobaris proteus*.

Freitas e Lent (1938) apud Werneck (2011), em uma necropsia realizada num exemplar juvenil de tartaruga marinha proveniente do Rio de Janeiro, observaram a presença de trematódeos que ainda não haviam sido descritos, então os autores os denominaram de *Metacetabulum invaginatium* Freitas & Lent 1938, e a partir dessa nova descoberta criaram uma nova família, a Metacetabulidae. Ainda neste mesmo trabalho, estes autores após pesquisa na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, a partir de exemplares previamente depositados, descreveram outras duas espécies parasitos de tartarugas marinhas que não haviam sido descritas no Brasil, *Orchidasma amphiorchis* Braun, 1899 e *Polyangium linguatula* Looss.

Outra nova espécie de trematódeo foi descrita no Brasil, por Ruiz (1943) apud Muniz-Pereira et al. (2009), que a partir de uma necropsia em uma tartaruga marinha encontrada no litoral Sul paulista, o autor o descreveu como *Neoctangium travassosi*.

Também no litoral de São Paulo, em 2006 foi encontrado no intestino de uma *C. mydas* juvenil um exemplar de *Schizamphistomum scleroporum* (WERNECK et al., 2006a). E neste mesmo ano, em uma pesquisa realizada em 11 exemplares de também juvenis de *C. mydas*, foi observado que seis dessas tartarugas estavam parasitadas com exemplares adultos do trematódeo *Learedius learedi* (WERNECK et al., 2006b).

Outros novos trematódeos foram relatados no Brasil em 2007 por Werneck, de famílias distintas ocorrendo em *Chelonia mydas*, são eles: *Cricocephalus megastomum* e *Microscaphidium reticulare*. Neste mesmo estudo realizado em animais juvenis desta espécie, dos sessenta e dois animais necropsiados, trinta e três apresentaram parasitas da Classe trematoda, das seguintes espécies: *Cricocephalus albus*, *Cricocephalus megastomum*, *Pleurogonius longiusculus*, *Pronocephalus obliquus* (Pronocephalidae), *Deuterobaris proteus*, *Neoctangium travassosi*, *Polyangium linguatula*, *Microscaphidium reticulare* (Angiodictyidae) e *Metacetabulum invaginatium* (Metacetabulidae).

Em pesquisa feita em dois indivíduos juvenis da espécie *C. mydas*, o trematódeo *Monticellius indicum* foi encontrado em coração (WERNECK et al., 2008). E no ano seguinte, este mesmo autor em pesquisa da ocorrência de Spirorchiidae, analisou 171 exemplares de *C. mydas* juvenis, onde encontrou 79

(46,1%) indivíduos positivos, com exemplares das espécies de *L. learedi*, *Neosporichis schistosomatoides* e *M. indicum* (WERNECK et al., 2009).

Muniz-Pereira et al (2009), em um levantamento realizado nos registros disponíveis e relatórios publicados no Instituto Oswaldo Cruz, foram recuperadas informações da Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) dos vertebrados ameaçados de extinção do Brasil, e uma lista foi gerada, contendo informações em nível de Brasil e região Neotropical. Nesta lista estão citadas três das cinco espécies de tartarugas marinhas que ocorrem no Brasil, com seus respectivos parasitos descritos: onde relatou em *Chelonia mydas*: *Anisakis* sp, *Cricocephalus albus*, *Kathlania leptura*, *Learedius learedi*, *Metacetabulum invaginatum*, *Neoctangium travassosi*, *Orchidasma amphiorchis*, *Pleurogonius linearis*, *Pleurogonius lobatus*, *Pleurogonius longiusculus*, *Pleurogonius trigonocephalus*, *Polyangium linguatula*, *Pronocephalus obliquus*, *Pyelosomum crassum*, *Pyelosomum longiusculus*, *Rhytidodes gelatinosus*, *Sulcascaris sulcata*, *Tonaudia freitasi*. Este mesmo levantamento aponta que muitos parasitas que são específicos desses animais também estão em risco de extinção junto com seus respectivos hospedeiros, e sugere que também entrem na lista vermelha da IUCN (International Union for Conservation of Nature).

Outra nova espécie foi relatada em exemplares de *C. mydas* provenientes da Região Sul Fluminense e Norte Paulista em 2010, 11 exemplares de *Amphiorchis indicus* foram resgatados das amostras de fígado e intestino delgado. Esta espécie de trematódeo só havia sido relatada em sua descrição original, quando foi encontrado em um exemplar da espécie *E. imbricata*, sendo então o primeiro relato desta espécie em tartarugas verdes. (WERNECK et al., 2010).

Em mais um novo relato na costa brasileira, a espécie *Amphiorchis solus* foi encontrado em uma fêmea juvenil de *C. mydas* proveniente do Estado do Ceará, sendo o primeiro relato deste helminto no Brasil e o terceiro relato no mundo (WERNECK, 2011).

Werneck (2011) em estudo realizado com 337 indivíduos juvenis de *C. mydas*, provenientes de seis Estados brasileiros, relata que 171 destas tartarugas albergavam helmintos, sendo encontradas 30 espécies de trematódeos, distribuídos em oito famílias, sendo: Família Microscaphidiidae: *Deuterobaris proteus*, *Octangium hyphalum*, *Neoctangium* sp., *Microscaphidium reticulare*, *Polyangium linguatula*, *Angiodictyum longum*, *Angiodictyum parallelume*; Família Rhytidodidae: *Rhytidodes*

gelatinosus; Família Pronocephalidae: *Ruicephalus minutus*, *Pronocephalus obliquus*, *Charaxicephaloides polyorchis*, *Charaxicephalus robustus*, *Metacetabulum invaginatum*, *Cricocephalus albus*, *Cricocephalus megastomum*, *Rameshwarotrema uterocrescens*, *Pleurogonius longiusculus*, *Pleurogonius trigonocephalus*, *Pleurogonius lobatus*, *Pleurogonius linearis*, *Pyelosomum crassum*, *Pyelosomum cochlear*; Família Cladorchiidae: Subfamília Schizamphistominae: *Schizamphistomum scleroporum*; Família Brachycoeliidae: *Cymatocarpus solearis*; Família Plagiorchiidae: *Enodiotrema* sp.; Família Telorchiidae: *Orchidasma amphirochis*.

No mesmo trabalho, Werneck (2011), relata os parasitos do sistema circulatório: *Learedius learedi*, *Neospororchis schistosomatoides*, *Amphiorchis indicus*, *Monticellius indicum* e *Amphirochis solus*, e também foram encontradas larvas não identificadas de nematódeos. Todas as espécies relatadas já haviam sido descritas em *C. mydas*, porém algumas ainda não tinham sido relatadas ocorrendo no Atlântico Sul Ocidental, são estas: *Octangium hiphalum*, *Angiodictyum longum*, *Angiodictyum parallelum*, *Charaxicephaloides polyorchis*, *Charaxicephalus robustus*, *Rameshwarotrema uterocrescens*, *Pyelosomum cochlear*, *Schizamphistomum scleroporum*, *Cymatocarpus solearis*, *Enodiotrema* sp., *Neospororchis schistosomatoides*, *Amphiorchis indicus*.

E em 2013, Werneck et al. relataram a primeira ocorrência do trematódeo espirorquídeo *Carettacola stunkardi* em *C. mydas* no Brasil e a segunda em tartarugas marinhas, sendo o quarto relato no mundo. Apenas um espécime foi encontrado em um indivíduo juvenil de *C. mydas*, proveniente do litoral Norte do Estado do Espírito Santo, caracterizando dessa forma o último relato publicado de helmintos em *Chelonia mydas* na Costa brasileira.

3 METODOLOGIA

Utilizaram-se as bases físicas e a infraestrutura dos laboratórios de Parasitologia e de Patologia Animal do Hospital Veterinário (HOVET) do Centro de Ciências Agrárias da UFES (CCA-UFES). Os animais e as respectivas coletas foram provenientes da empresa CTA Meio Ambiente. Esta empresa possui uma das bases na praia de Guanabara em Anchieta-ES e é responsável pelo recebimento dos quelônios marinhos e outros animais marinhos que chegam ao Estado do Espírito Santo e Norte do Rio de Janeiro. As coletas descritas a seguir estão de acordo com o Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO número 39329-1).

Os animais utilizados neste estudo para pesquisa da helmintofauna foram as tartarugas marinhas da espécie *Chelonia mydas*, também denominadas tartarugas verdes, que foram encontradas mortas nas areias das praias, ou que vieram a óbito durante tratamento e reabilitação, provenientes da região Sul do Estado do Espírito Santo.

3.1 Estudo retrospectivo

Para realizar o estudo retrospectivo foram utilizados os dados retirados das 212 fichas geradas e preenchidas pela empresa, referentes às tartarugas verdes necropsiadas no período de julho de 2013 a julho de 2014. Os dados utilizados foram: sexo, comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), ausência ou presença de parasitos e locais parasitados pelos mesmos, escore corporal (EC), presença de tumores, resíduos antropogênicos, carga epibiônica e provável *causa mortis*.

3.2 Estudo prospectivo

Das 212 tartarugas necropsiadas, foram selecionadas 50 das que estavam parasitadas para coleta e processamento dos helmintos e 16 para coleta e processamento dos fragmentos teciduais. Foram coletados exemplares de cada

parasito encontrado nos diferentes órgãos, que por sua vez foram fixados em formalina aquosa a 10% e encaminhados para o laboratório de Parasitologia para posterior identificação das espécies. Fragmentos teciduais dos órgãos também foram coletados, fixados em formalina 10% neutra e tamponada, e encaminhados para o laboratório de Patologia Animal.

3.2.1 Montagem de lâminas permanentes e identificação das espécies

Para identificação das espécies de parasitos, foram selecionados os diferentes espécimes encontrados durante os exames necroscópicos e colocados entre lâminas de vidro, para possibilitar uma melhor visualização das estruturas internas dos parasitos após a montagem da lâmina.

Para a realização da montagem permanente, primeiramente os parasitos foram lavados em água corrente, para retirada do excesso de formalina 10%, em seguida foram colocados em solução de ácido acético glacial PA 99,8% (Proquimios, RJ), para que ocorresse a clarificação. Posteriormente, os parasitos devidamente clarificados, foram submetidos à coloração em carmim clorídrico por aproximadamente dois minutos (MONTEIRO, 2011). Depois de serem corados, os parasitos passaram por uma bateria de alcoóis 70, 80, 90% e álcool absoluto, para a desidratação, com duração de 10 minutos cada. Em seguida, os helmintos foram colocados em creosoto de faia (Vetec, RJ) por 10 minutos para a diafanização. Após a diafanização, fez-se a montagem da lâmina com bálsamo do Canadá natural (Alphatec, SP). Posteriormente, a identificação dos parasitos foi realizada pela avaliação da morfologia segundo Werneck (2011).

3.2.2 Análise histopatológica

De 16 dos 50 animais foram coletados fragmentos teciduais de encéfalo, glândulas do sal, coração, pulmões, esôfago, estômago, intestinos delgado e grosso, pâncreas, fígado, baço, adrenais, rins, bexiga, músculo estriado esquelético e pele. Os fragmentos foram processados pelo método rotineiro de inclusão em parafina, foram realizados cortes de três micrômetros e corados pela hematoxilina e eosina.

Em seguida, esses fragmentos foram submetidos à análise histopatológica com observação em microscópio de luz.

3.2.3 Análise Estatística

Para a avaliação dos resultados obtidos foi utilizada a estatística descritiva, e para associação do parasitismo com o estado geral da tartaruga, foi utilizado o teste não paramétrico Qui-quadrado e correção de Yates, no programa BIOESTAT 5.0, com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Estudo retrospectivo

Do total das 212 fichas avaliadas, a média do comprimento curvilíneo de carapaça foi de 0,414 cm, sendo, portanto considerados por esta média, animais juvenis; 80,0% (169/212) animais eram fêmeas, 18,0% (38/212) machos e 2,0% (5/212) não se conseguiu observar o sexo. Das tartarugas avaliadas, 50,0% (106/212) estavam parasitadas, sendo que 58,5% (62/106) albergavam parasitos em mais de uma localidade. Dos animais parasitados, 76,4% (81/106) também apresentavam carga epibiônica, variando de leve a intensa (4,0% leve, 25,0% moderada e 11,3% intensa). Além dos parasitos, 17,0% (18/106) também apresentavam resíduos antropogênicos no trato gastrointestinal (plásticos e fios de nylon), e 30,0% (32/106) destes animais manifestavam tumorações características de fibropapilomatose. Dentre os animais parasitados, estavam com escore corporal (EC) ruim 43,0% (47/106), moderado 27,0% (29/106) e bom 29,0% (30/106), sendo considerados animais debilitados apenas os que apresentaram EC ruim.

A tabela 1 mostra as prováveis causas de óbito das 212 tartarugas que foram necropsiadas, relatados pelas fichas cedidas e preenchidas pela empresa CTA-Meio Ambiente.

Tabela 1. Prováveis causas de óbito de tartarugas da espécie *Chelonia mydas*, segundo dados das fichas cedidas e preenchidas pela empresa CTA- Meio Ambiente, recolhidas no sul do estado do Espírito Santo.

Interação com redes de pesca	119	56,0%
Parasitoses	35	16,5%
Causa indeterminada	25	11,8%
Ingestão de resíduos sólidos	17	8,0%
Processos infecciosos	10	4,7%
Neoplasias	5	2,4%
Processos obstrutivos intestinais	1	0,5%
Total	212	100%

Das 212 tartarugas, 74,5% (158/212) foram encontradas mortas na orla da praia, 21,2% (45/212) vieram a óbito durante o tratamento na base da empresa, 3,3% (7/212) morreram ao chegar à base, após o resgate, e 0,9% (2/212) foram eutanasiadas.

Neste estudo não houve associação estatística entre a debilidade (EC ruim) e o parasitismo ($X^2 = 2,88$ e $p = 0,089$).

4.2 Estudo prospectivo

Das 50 tartarugas que estavam positivas para parasitos, foram identificadas 21 espécies diferentes e um gênero de helmintos, sendo divididos em nove Famílias, e três destas espécies foram relatadas pela primeira vez na costa brasileira, como descrito na tabela 2 e ilustrados nas figuras 1, 2 e 3, além de ectoparasitos como a espécie de sanguessuga *Ozobranchus branchiatus*.

Tabela 2. Helmintos identificados em *Chelonia mydas* procedentes da costa Sul do Espírito Santo, e os locais de parasitismo onde foram encontrados.

Famílias	Espécies de helmintos	N* (%)	Local de Parasitismo
Calycodidae	<i>Calycodes anthos</i>	2%	ID e IG ***
Cladorchiidae	<i>Schizamphistomum</i> sp.	6%	Intestino Delgado
Gongoderidae	<i>Plesiochorus cymbiformes</i>	2%	ID e IG ***
Microscaphidiidae	<i>Angiodictyum longum</i>	2%	Estômago
	<i>Deuterobaris intestinalis</i> **	6%	Intestino Grosso
	<i>Neotangium travassosi</i>	30%	Intestino Grosso
	<i>Polyangium linguatula</i>	2%	Intestino Delgado
Plagiordiidae	<i>Enodiotrema reductum</i> **	2%	ID e IG ***
Rhytidodidae	<i>Rhytidodoides similis</i> **	4%	Vesícula Biliar Vasos sanguíneos
Spirorchiidae	<i>Learedius learedi</i>	16%	sanguíneos
Pronocephalidae	<i>Pronocephalus trigonocephalus</i>	8%	Intestino Delgado
	<i>Ruicephalus minutus</i>	2%	Estômago
	<i>Charaxicephalus robustus</i>	4%	Estômago
	<i>Cricocephalus albus</i>	30%	Estômago
	<i>Cricocephalus megastomum</i>	4%	Intestino Delgado
	<i>Glyphicephalus lobatos</i>	4%	Estômago
	<i>Metacetabulum invaginatam</i>	52%	Intestino Delgado
	<i>Pleurogonius linearis</i>	4%	ID e IG ***
	<i>Pleurogonius longiusculus</i>	4%	ID e IG ***
	<i>Pronocephalus obliquus</i>	22%	ID e IG ***
	<i>Pyelosomum cochlear</i>	8%	Bexiga
Telorchidae	<i>Orchidasma amphiorchis</i>	6%	ID e IG ***

N* = porcentagem de tartarugas parasitadas

**Parasitos encontrados pela primeira vez na costa brasileira

*** ID = intestino delgado e IG = intestino grosso

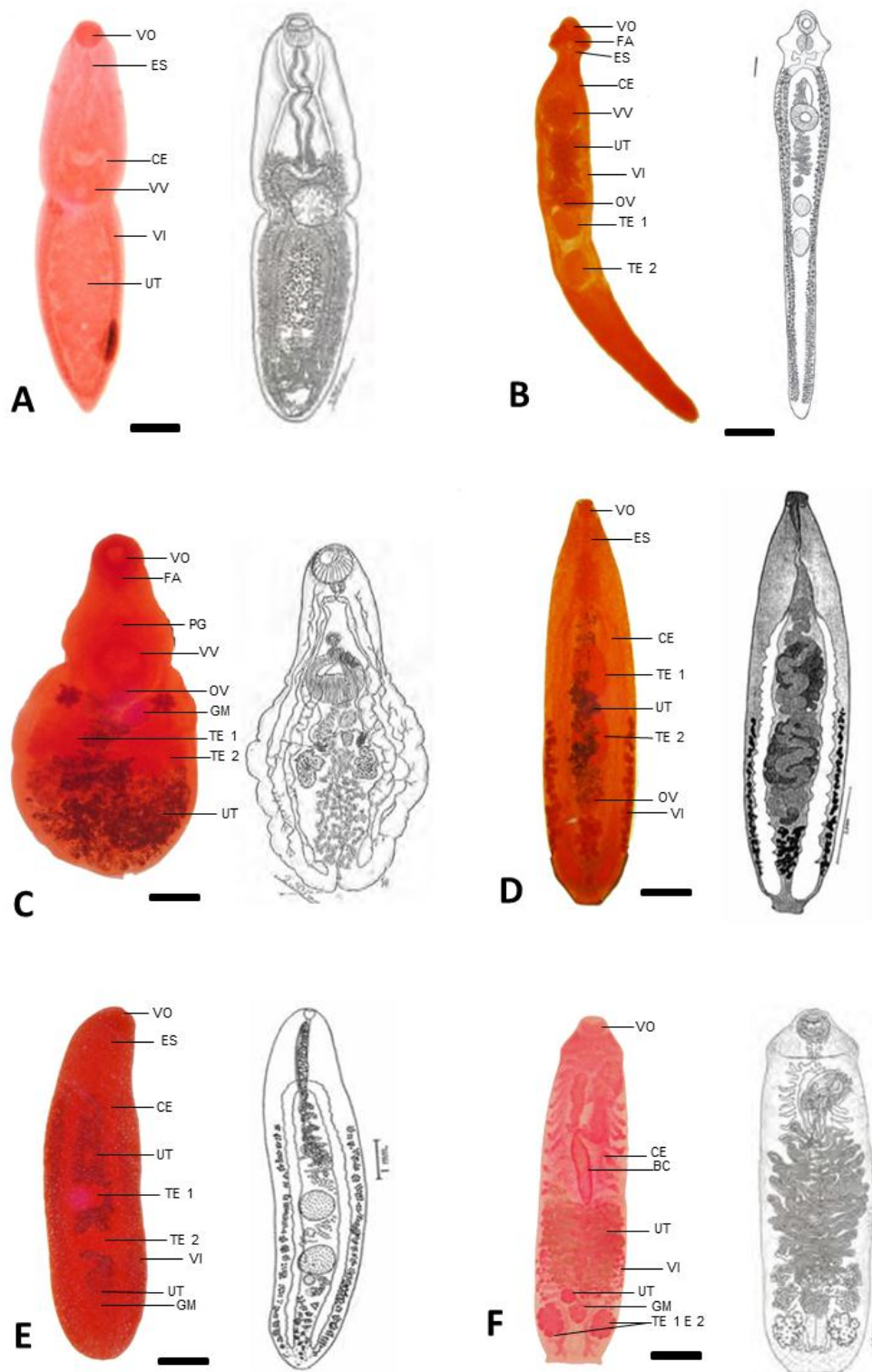


Figura 1- Parasitos encontrados em *C. mydas* (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) *Learedius learedi*. Barra= 47,866 μm ; B) *Calycodes anthos*. Barra= 98,647 μm ; C) *Plesiochorus cymbiformes*. Barra= 56,892 μm ; D) *Neoctangium travassosi*. Barra= 136,017 μm ; E) *Polianguium linguatula*. Barra= 40,415 μm ; F) *Cricocephalus albus*. Barra= 69,944 μm . VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: bolsa de Cirrus.

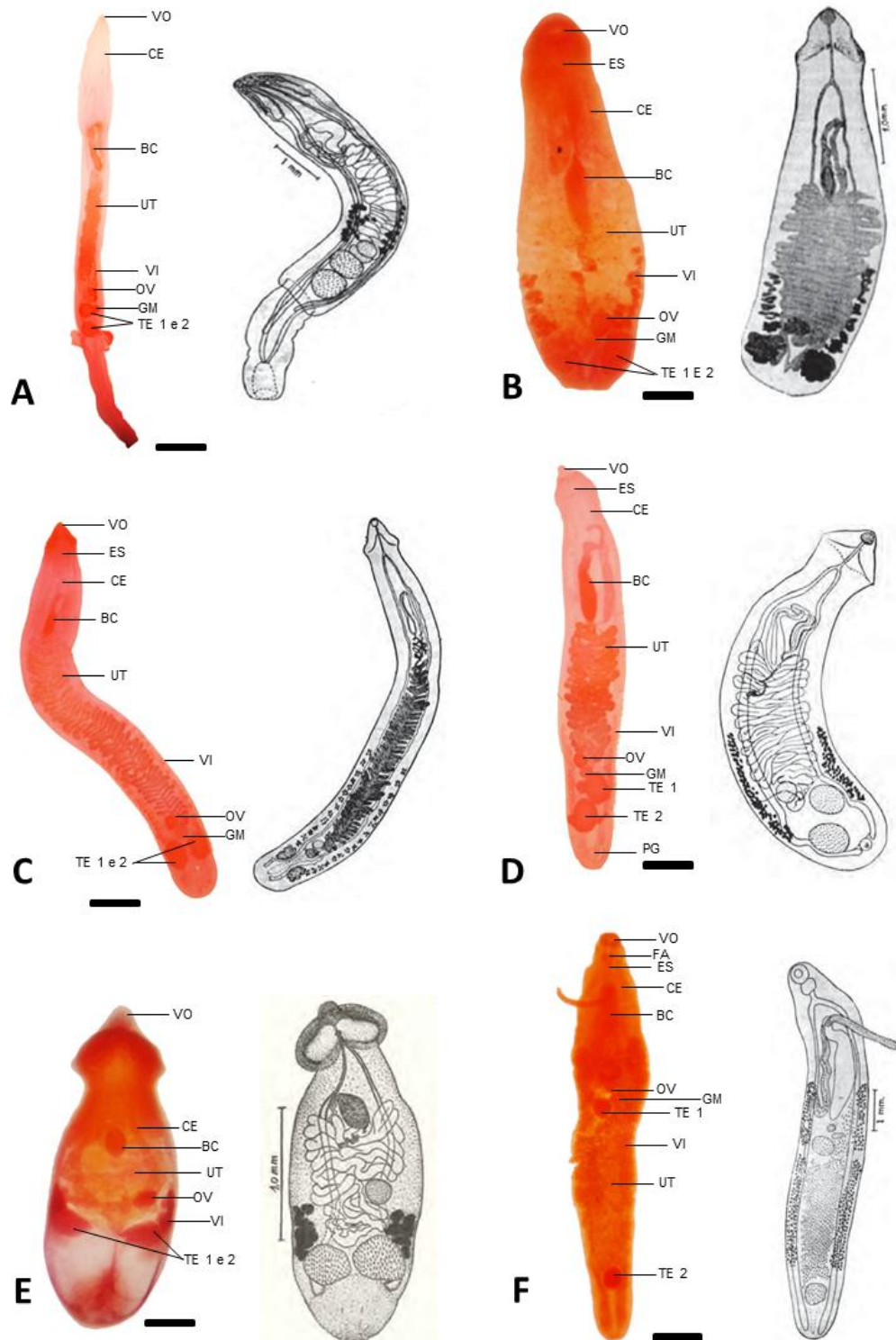


Figura 2- Parasitos encontrados em *C. mydas* (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) *Metacetabulum invaginatum*. Barra= 165,343 μm ; B) *Pleurogonius linearis*. Barra= 28,153 μm ; C) *Pleurogonius longiusculus*. Barra= 143,02 μm ; D) *Pronocephalus obliquus*. Barra= 38,293 μm ; E) *Ruicephalus minutus*. Barra= 37,345 μm ; F) *Orchidasma amphiorchis*. Barra= 66,59 μm . VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: bolsa de Cirrus.

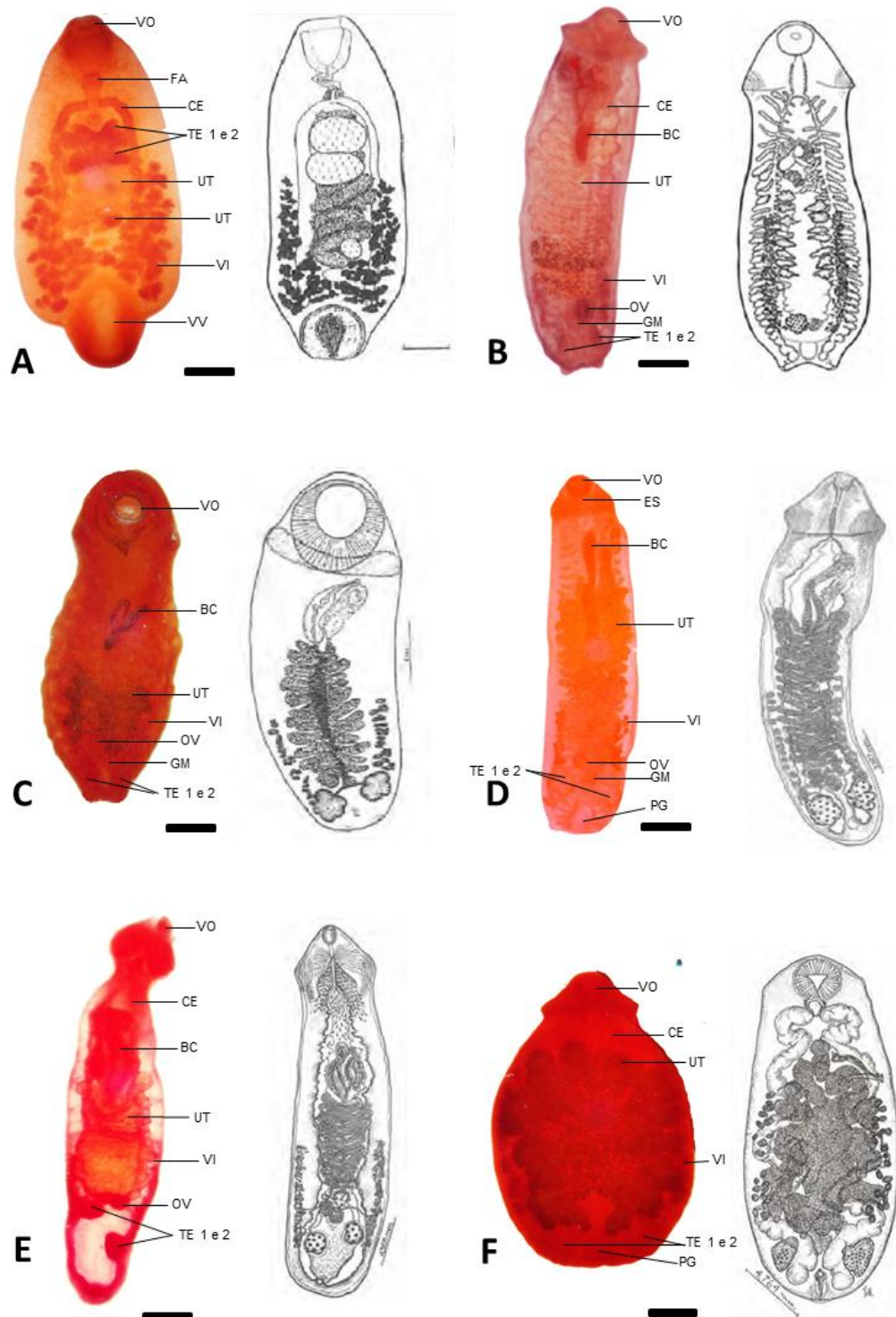


Figura 3- Parasitos encontrados em *C. mydas* (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) *Shizamphistomum* sp. Barra= 113,341 μm ; B) *Charaxicephalus robustus*. Barra= 34,972 μm ; C) *Cricocephalus megastomum*. Barra= 51,349 μm ; D) *Glyphicephalus lobatos*. Barra= 53,223 μm ; E) *Pronocephalus trigonocephalus*. Barra= 49,268 μm ; F) *Pyelosomum cochlear*. Barra= 63,04 μm . VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: bolsa de Cirrus.

4.2.1 Parasitos relatados pela primeira vez na costa brasileira

Dos parasitos identificados, três deles estão sendo relatados pela primeira vez na costa brasileira, são eles: *Deuterobaris intestinalis*, *Enodiotrema reductum* e *Rhytidodoides similis* (Figura 4).

D. intestinalis (Figura 4A) foi descrito por Mehrotra, 1973, pertence à Família Microscaphidiidae Travassos, 1922. Foi relatado por Santoro et al. (2006), na Costa Rica, tem como hospedeiro *C. mydas*, e foi encontrado no intestino (WERNECK, 2011), e neste estudo este espécime foi encontrado no intestino grosso de três indivíduos de *C. mydas*.

E. reductum (Figura 4B) foi descrito por Loss, 1901, pertence à Família Plagiordiidae Luhe, 1901. Foi relatado por Cabalero, 1954, Fischthal e Acholonu, 1976, e Dyer et al., 1995, apud Werneck, 2011, no Panamá e em Porto Rico, nos hospedeiros *C. mydas* e *E. imbricata*, sendo encontrado em intestino delgado e intestinos, e neste estudo também foi encontrado nos intestinos de apenas um indivíduo de *C. mydas*.

R. similis (Figura 4C) foi descrito por Price, 1939, pertence à Família Rhytidodidae Odhner, 1926. Foi relatado por Cabalero, 1954 e Santoro et al. (2006), no Panamá e na Costa Rica, respectivamente, tem como hospedeiro *C. mydas*, e foi encontrado na vesícula biliar (WERNECK, 2011), e neste estudo este espécime também foi encontrado na vesícula biliar de dois indivíduos de *C. mydas*.

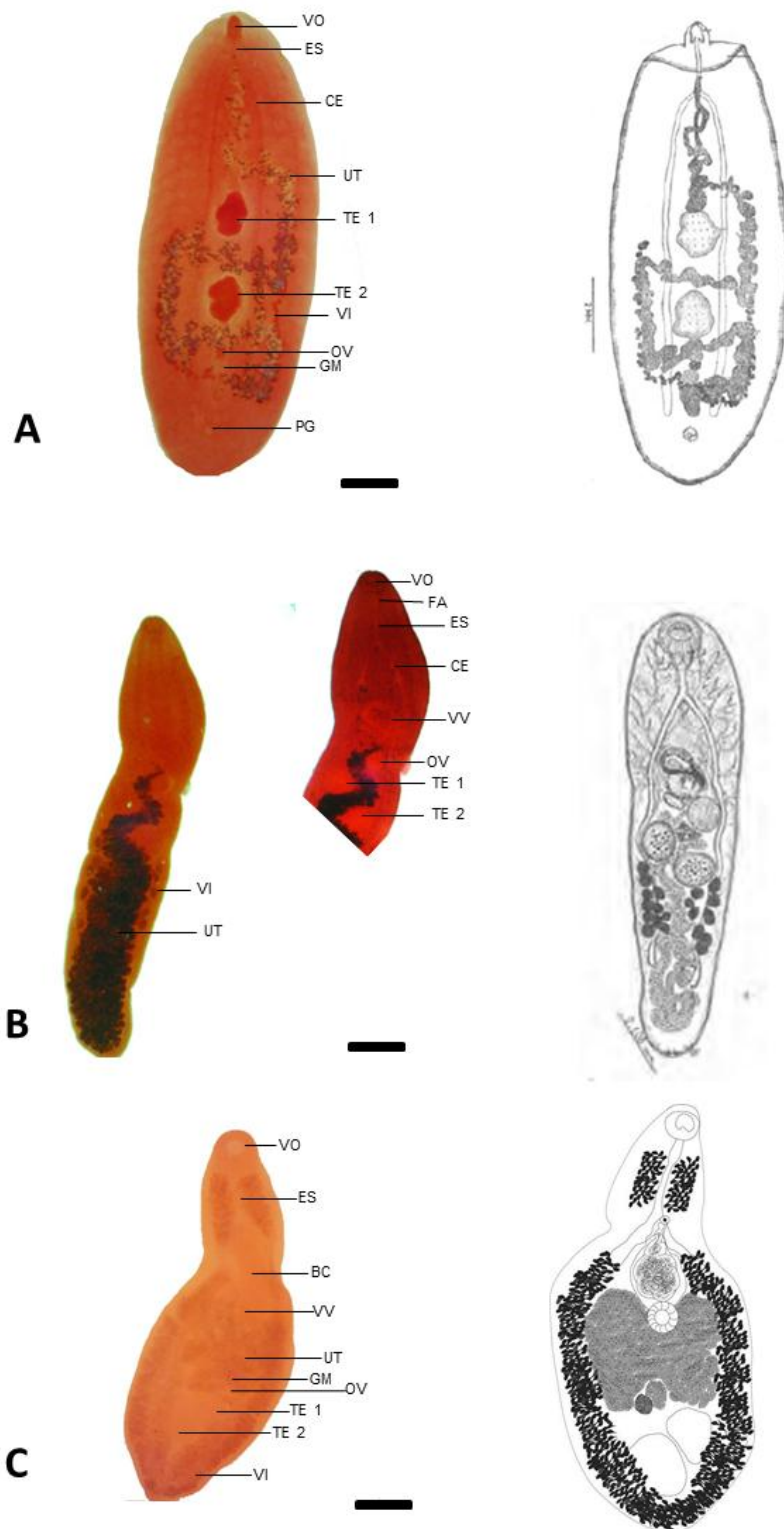


Figura 4- Helmitos encontrados em *C. mydas* relatados pela primeira vez na costa brasileira (Fonte: arquivo pessoal) e seus respectivos desenhos esquemáticos (Fonte: WERNECK, 2011). A) *Deuterobaris intestinalis*. Barra= 135,869 μm ; B) *Enodiotrema reductum*. Barra= 41,031 μm ; C) *Rhytidodoides similis*. Barra= 37,556 μm . VO: ventosa oral; FA: faringe; ES: esôfago; CE: ceco; PG: poro genital; VV: ventosa ventral; UT: útero; VI: vitelo; OV: ovário; TE: testículos; GM: glândula de Mehlis; BC: bolsa de Cirrus.

4.2.2 Análise histopatológica

Foram observados ovos íntegros e degenerados, alguns contendo miracídios, associados ou não a células gigantes, em diversos órgãos como: encéfalo, glândulas do sal, músculo cardíaco, pulmões, esôfago, estômago, intestinos delgado e grosso, pâncreas, fígado, baço, glândulas adrenais, rins, bexiga, músculos estriados esqueléticos e pele. Somente foram observados as formas adultas dos parasitos nos seguintes órgãos: estômago, intestinos delgado e grosso, bexiga e nas câmaras cardíacas.

O baço e os pulmões foram os órgãos que apresentaram a maior quantidade de ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes, predominantemente do tipo corpo estranho, sendo a distribuição multifocal a coalescente intensa no baço (Figuras 5A, 5B, 5C, 5D), e multifocal intensa nos pulmões (Figuras 5E, 5F, 5G, 5H).

Nos demais órgãos avaliados também foram observados ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes, predominantemente do tipo corpo estranho, e apresentaram distribuição: (1) multifocal moderada como observado nos músculos estriados esqueléticos (Figuras 6A, 6B), intestinos delgado e grosso (Figuras 6C, 6D), encéfalo (Figuras 6E, 6F), com formas parasitárias intravasculares (Figuras 6G, 6H) e rins; (2) multifocal discreta como observado na pele (Figura 7A, 7B), com parasito adulto sobre a epiderme (Figura 7C, 7D), glândulas do sal, fígado, estômago, esôfago e músculo cardíaco; e (3) focal discreta como observado no pâncreas (Figuras 7E, 7F) e glândulas adrenais (Figuras 7G, 7H).

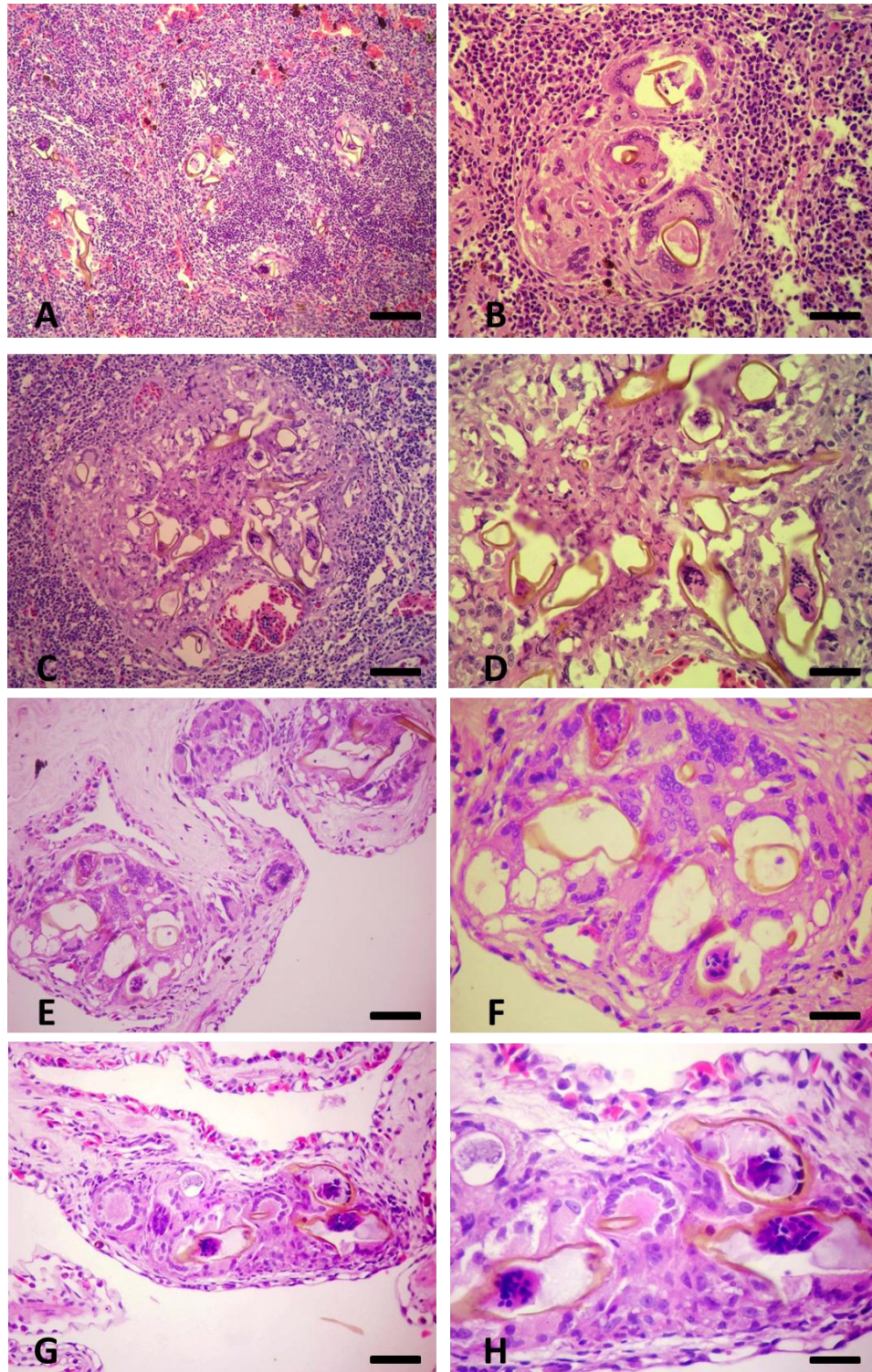


Figura 5- Descrição histopatológica das lesões observadas em baço e pulmões de *C. mydas*. 5A, 5B, 5C, 5D) Baço com ovos íntegros e degenerados, associados ou não a células gigantes, distribuídos de forma multifocal a coalescente intensa. 5E, 5F, 5G, 5H) Pulmões com ovos íntegros e degenerados, associados ou não a células gigantes, distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (5A) Barra= 78,12 μ m; (5B) Barra= 39,06 μ m; (5C) Barra= 78,12 μ m; (5D) Barra= 39,06 μ m; (5E) Barra= 27,90 μ m; (5F) Barra= 13,95 μ m; (5G) Barra= 19,53 μ m; (5H) Barra= 9,76 μ m. FONTE: arquivo pessoal.

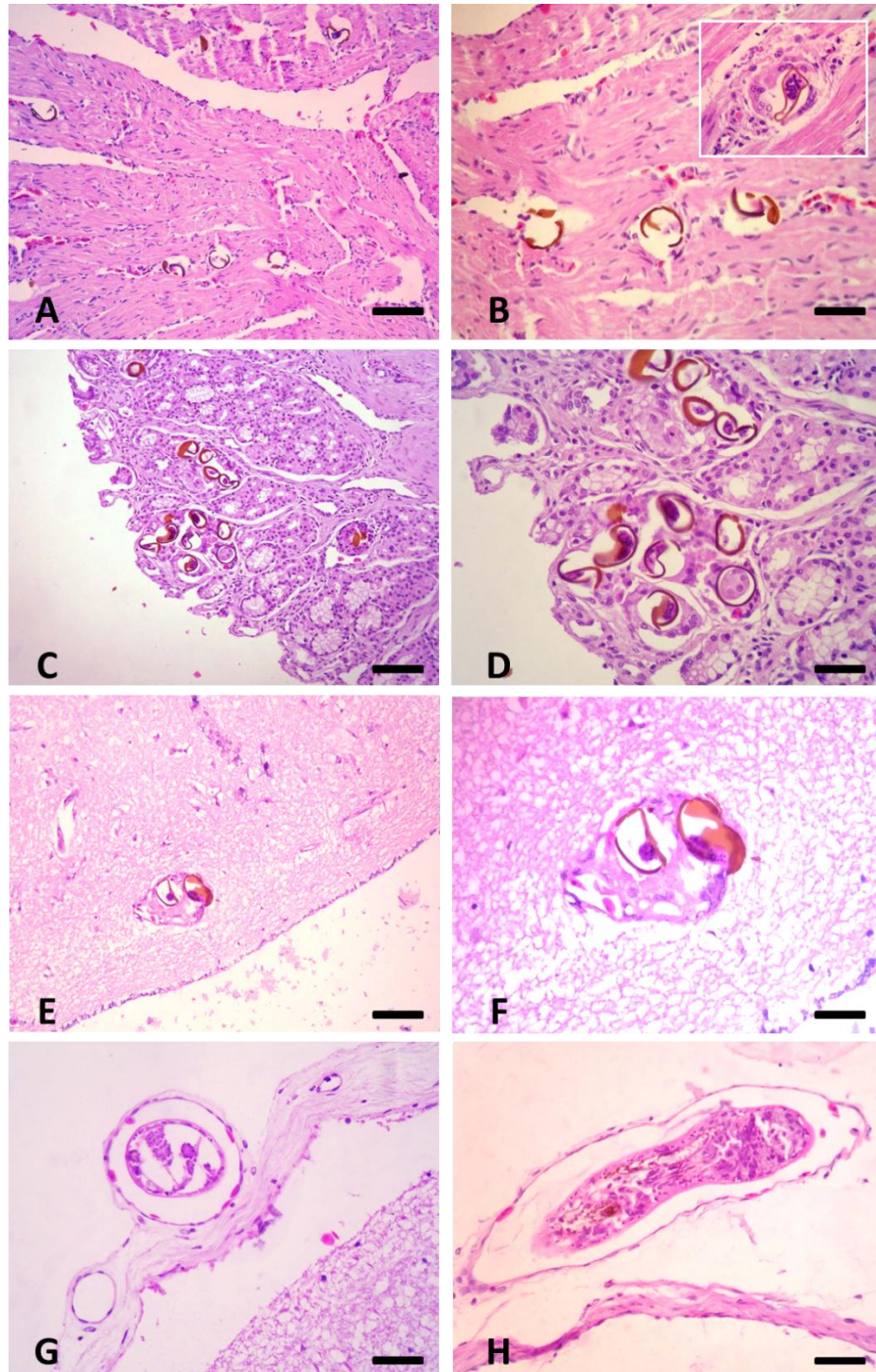


Figura 6- Descrição histopatológica das lesões observadas em músculos estriados esqueléticos, intestino grosso e encéfalo de *C. mydas*. 6A, 6B) Músculos estriados esqueléticos com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes (detalhe) distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (6A) Barra = 78,12 μ m, (6B) Barra= 39,06 μ m. 6C, 6D) Intestino grosso com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a células gigantes distribuídos de forma multifocal moderada. HE, (6C) Barra = 78,12 μ m, (6D) Barra= 39,06 μ m. 6E, 6F) Encéfalo com ovos, íntegros ou degenerados, associados ou não a célula gigante. HE, (6E) Barra= 78,12 μ m, (6F) Barra= 39,06 μ m. 6G, 6H) Encéfalo com formas parasitárias intravasculares. (6G, 6H) Barra= 39,06 μ m. FONTE: arquivo pessoal.

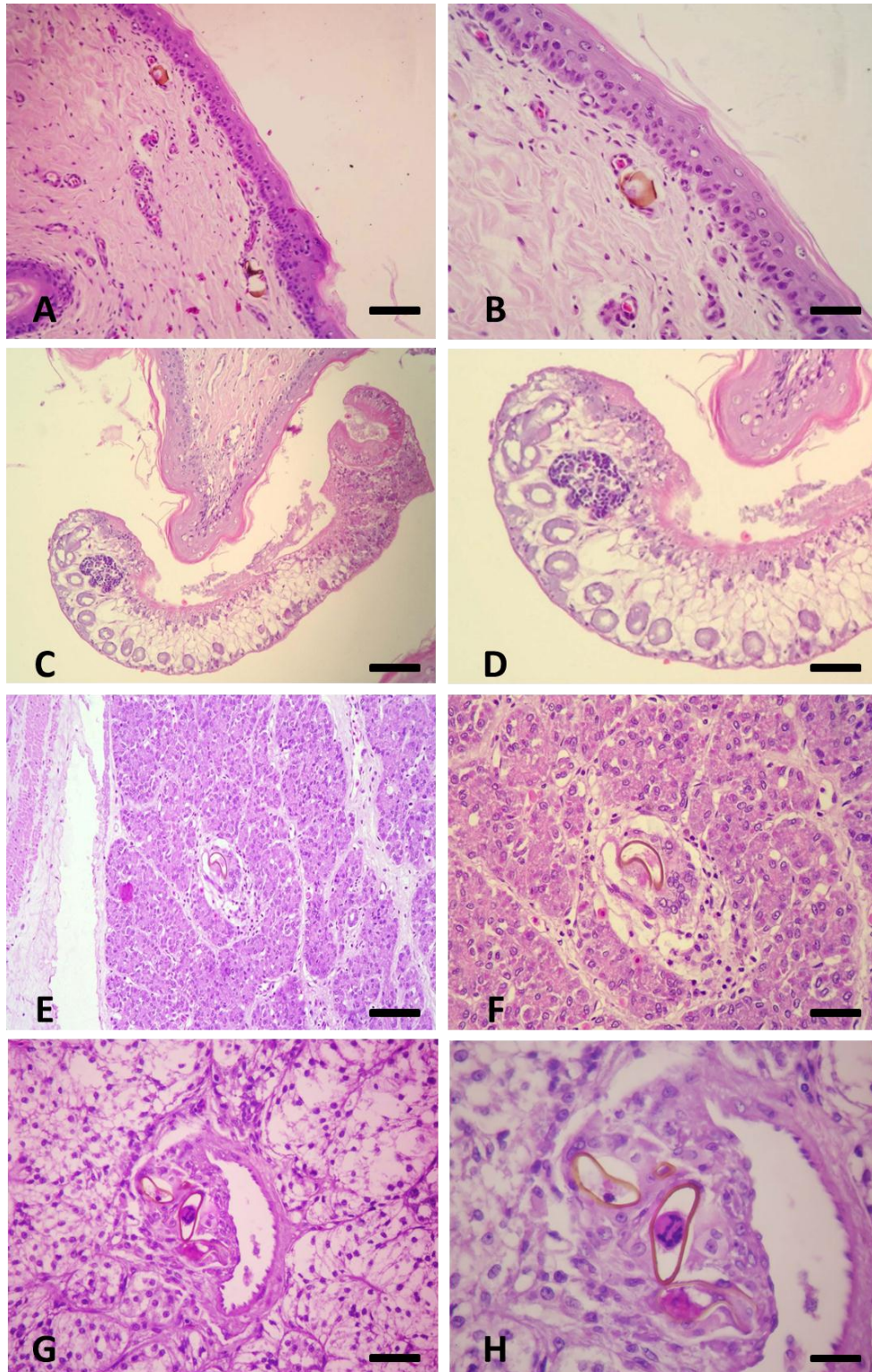


Figura 7- Descrição histopatológica das lesões observadas em pele, pâncreas e glândulas adrenais de *C. mydas*. 7A, 7B) Pele com ovos degenerados distribuídos de forma multifocal discreta. HE, (7A) Barra= 78,12 μ m, (7B) Barra= 39,06 μ m. 7C, 7D) Pele com parasito adulto sobre a epiderme. HE, (7C) Barra= 78,12 μ m, (7D) Barra= 39,06 μ m. 7E, 7F) Pâncreas com ovo degenerado associado a célula gigante. HE, (7E) Barra= 27,90 μ m, (7F) Barra= 13,95 μ m. 7G, 7H) Glândula adrenal com ovos, íntegros e degenerados, associados a células gigantes. HE, (7G) Barra= 19,53 μ m, (7H) Barra= 9,76 μ m. FONTE: arquivo pessoal.

5-DISCUSSÃO

A maior parte das tartarugas necropsiadas foram fêmeas (80%), enquanto estudo realizado por Santoro et al. (2006) na Costa Rica, 100% eram fêmeas. Os autores utilizaram as tartarugas adultas que estavam nidificando no litoral da Costa Rica, e no presente estudo foram utilizados animais juvenis que utilizam da costa do Espírito Santo para alimentação. Foi possível, portanto, constatar que o número de fêmeas é maior comparado ao número de machos, dentre os juvenis que frequentam a costa para alimentação e são vítimas de algum acometimento que acaba os levando a morte. Resultado preocupante, uma vez que, uma grande quantidade de fêmeas está morrendo antes mesmo de chegar à idade reprodutiva, o que agrava a condição de vulnerabilidade a extinção desta espécie.

Werneck (2007) encontrou 53,2% das tartarugas analisadas parasitadas, e Werneck (2011) a prevalência de 50,7% das *C. mydas* avaliadas apresentando parasitos. Resultado este que corrobora a este estudo, e demonstra que as tartarugas desta espécie albergam parasitos com alta frequência, pois em todos os estudos foram encontrados a carga parasitária em mais que a metade dos animais.

Quanto à associação das espécies, Werneck (2007) encontra 39,4% das tartarugas apresentando apenas uma espécie parasitária e 60,6% com associação, assemelhando-se a este estudo. Considerando que a maioria das tartarugas possui mais de uma espécie de helminto causando o quadro parasitário, é possível dizer que isto contribui para um agravamento da situação, pois dependendo do ciclo de vida do parasito e sua forma de alimentação, a tartaruga pode ser mais prejudicada com essa associação.

Observa-se que os emalhes por redes de pesca são os maiores causadores de mortes nas tartarugas verdes, seguidos pelas parasitoses no litoral do ES. Diferente do estudo realizado em 100 tartarugas verdes na Austrália, onde se constatou que 41,8% das tartarugas morreram pelas lesões associadas aos parasitos da família Spirorchiidae, sendo neste caso a razão principal pelas mortes, 11,8% por impactações gastrintestinais, 7,2% por ações antrópicas como asfixia por emalhes em redes de pesca, 5,2% por traumas e 5,2% por infecções microbianas (FLINT et al., 2010). Mesmo os afogamentos por redes de pesca e as parasitoses sendo as principais causas de óbitos entre as tartarugas, seguidos também da

ingestão de resíduos sólidos, a casuística vai depender do local estudado, pois os fatores de risco diferem de lugar para lugar.

Neste estudo não houve associação estatística entre a debilidade (EC ruim) e o parasitismo. Werneck (2007) relata que das 33 tartarugas positivas para parasitos, de um total de 62, quatro (12,1%) foram encaminhados com sinais de debilidade e 29 (87,9%) após emaranhamento em redes de pesca e afogamentos, demonstrando que apesar do parasitismo ter uma frequência considerável, a maioria das tartarugas resgatadas, e que estão parasitadas, não apresentam sinais de debilidade. No entanto, sugere-se mais pesquisas com tartarugas marinhas debilitadas e parasitadas, pois mesmo que os resultados de ambos os trabalhos mostrem que a maioria dos animais parasitados não estão debilitados, não se pode excluir o fato de que grande parte das tartarugas debilitadas apresentam uma elevada carga parasitária.

Santoro et al. (2006) também encontraram apenas trematódeos digenéticos, sendo 29 espécies em seis famílias, e destas espécies 12 são coincidentes com os achados deste estudo; Werneck (2007) relatou nove espécies e três famílias, onde sete espécies são coincidentes com os achados deste estudo; e por fim, Werneck (2011) relatou 30 espécies em nove famílias e larvas de nematódeos não identificados, e 14 das espécies relatadas coincidem com os achados deste estudo. Isso demonstra que, apesar dos estudos terem sido realizados em Estados e até Países diferentes, há uma semelhança nos achados dos endoparasitos, e existem algumas espécies que são comumente encontradas em *C. mydas*. Sugerindo que estes animais possivelmente frequentaram os mesmos locais de alimentação, onde ingeriram os hospedeiros intermediários que albergavam a forma infectante desses trematódeos.

O parasito mais observado nas tartarugas foi o *Metacetabulum invaginatum*, seguido por *Neoctangium travassosi*, *Cricocephalus albus* e *Pronocephalus obliquus*. Resultado similar foi encontrado por Werneck (2011), em que três dos parasitos mais prevalentes corroboram este estudo, sendo o mais prevalente *Learedius learedi* seguido por *Cricocephalus albus*, *Metacetabulum invaginatum*, *Neoctangium travassosi* e *Neospirochis schistosomatoides*, e também corroboram a pesquisa de Werneck (2007), em que os mais prevalentes foram o *Neoctangium travassosi*, *Deuterobaris proteus* e *Metacetabulum invaginatum*. Assim, conclui-se

que os parasitos *M. invaginatum* e *N. travassosi* são as espécies mais frequentemente encontrados em *C. mydas* na costa brasileira.

A Família mais representada foi a Pronocephalidae, com 11 espécies, resultado também observado por Santoro et al. (2006) e Werneck (2011), com 15 e 14 espécies dessa família, respectivamente, podendo-se ressaltar que os espécimes desta família são os parasitos mais encontrados em *C. mydas*.

Alguns autores também têm relatado novas espécies desses trematódeos digenéticos parasitando tartarugas verdes no Brasil, incluindo achados no Espírito Santo (WERNECK, 2007, 2011; WERNECK et al, 2013), além de novas espécies no Atlântico Sul Ocidental (SANTORO et al., 2006, 2009), onde algumas coincidem com os achados do Brasil e deste estudo. Constata-se a necessidade de mais pesquisas sobre os parasitos de *C. mydas* no país, pois se acredita que muitas outras espécies que ainda não foram relatadas podem ocorrer nestes animais, visto sua intensa atividade de migração, e comparando com inúmeras espécies já descritas em outros países.

Nenhum nematódeo ou cestódeo foi encontrado dentre os parasitos coletados neste estudo, porém Xavier (2011), em estudo onde analisou o trato gastrointestinal de 20 *C. mydas* no Rio Grande do Sul, identificou dois nematódeos anisquídeos em fase larval no estômago e pela primeira vez no Brasil registrou um cestódeo parasitando tartarugas marinhas, que se encontrava em fase pós-larval aderido a serosa do intestino grosso.

Santoro et al (2007) em estudo realizado com 47 tartarugas verdes adultas na Costa Rica, constataram que as lesões associadas à parasitos da Família Spirorchiidae continham inflamação aguda e crônica, sincício de células gigantes e infiltrado linfocítico cercado por fibrose reativa, e também colônias bacterianas mistas foram frequentemente encontradas associadas a parasitos e seus ovos em tecidos cardiovasculares, gastrintestinais e pulmonares. Resultados semelhantes a este estudo, porém somente foi encontrada uma colônia bacteriana em tecidos de um animal, e não estava associada à lesão pelos ovos ou parasitos.

Neste mesmo trabalho, Santoro et al. (2007) concluíram que as lesões causadas pelos espiroquídeos produziram pouco impacto na saúde dos animais, pois eram adultos, e tais lesões somente poderiam afetar as comunidades juvenis contribuindo com seu encalhe e morte, pois os animais jovens não têm uma boa imunidade adquirida. Na pesquisa atual, mesmo as tartarugas sendo juvenis, as

lesões causadas pelos ovos dos parasitos provavelmente não contribuíram para a eventual morte destes animais, como também foi constatado por Innis et al. (2009), que descreveram que a severidade das lesões diagnosticadas em estudo com 28 tartarugas (*Lepdochelis kempii*) em Massachusetts, dentre elas, lesões por parasitos, não foram, sozinhas, suficientes para causar a morte dos animais, sugerindo fatores adicionais, como distúrbios metabólicos, respiratórios, eletrolíticos, hipotermia e afogamentos. Mostrando que, mesmo as lesões por ovos de parasitos serem frequentemente encontradas nos tecidos das tartarugas, elas isoladas possivelmente não são responsáveis pela morte destes animais.

Em pesquisa realizada por Santoro et al. (2006) em 40 tartarugas marinhas verdes na Costa Rica, os autores relataram que quatro espécies de espiroquídeos, dentre eles *L. learedi*, infectaram mais que 50,0% dos hospedeiros avaliados, sendo essa espécie em questão a mais prevalente (92,5%) e o segundo parasito mais abundante. Os mesmos autores relatam em estudo com 47 tartarugas no Caribe, que em 39 foram encontrados parasitos espiroquídeos, dentre os quais o *L. learedi* estava presente em todos os 39 animais, e em pesquisa feita por Werneck (2011), das 171 tartarugas verdes analisadas, 79 (46,1%) estavam parasitadas com exemplares de espiroquídeos, sendo os índices mais altos de prevalência, abundância média e intensidade média de infecção observados na espécie *L. learedi*. Porém, neste estudo, apenas 19 (9%) das 212 tartarugas apresentaram o parasito adulto nas câmaras cardíacas, mostrando que os parasitos da família Spirorchiidae não são frequentes nas tartarugas no Sul do ES.

Apenas foi encontrado o parasito adulto do espiroquídeo *Learedius learedi*, e somente em vasos sanguíneos e em nenhum outro órgão. No entanto, não foram todas as tartarugas que apresentaram as lesões pelos ovos que também tinham o adulto. Porém, Werneck et al. (2006 b) concluíram que o coração é o órgão de eleição para o diagnóstico dos espiroquídeos, e que quando encontrado o parasito no coração é observado também o parasito adulto em outros órgãos. O mesmo não acontece quando não se encontra o parasito no coração, o que ocorreu nas tartarugas avaliadas nessa pesquisa, constatando-se não ser possível afirmar que os ovos encontrados nos tecidos avaliados são ovos pertencentes à Família Spirorchiidae.

Muitos estudos relacionam as lesões pelos ovos dos parasitos encontradas nos tecidos com o parasitismo por trematódeos da família Spirorchidae (GORDON et

al., 1998; SANTORO et al., 2007; STACY, 2008; WERNECK et al., 2011; DUTRA et al., 2012). Entretanto, neste estudo, das 16 tartarugas que tiveram os tecidos avaliados, somente em quatro tartarugas foi observado o espiroquídeo adulto, ressaltando que as lesões por ovos podem nem sempre estar associadas aos espiroquídeos apenas, levantando a hipótese de que ovos de outros parasitos não espiroquídeos possam também estar presentes ocasionando lesões nos tecidos.

Algumas pesquisas das citadas acima (SANTORO et al., 2007; DUTRA et al., 2012) classificam os ovos nos achados histopatológicos segundo a classificação proposta por Wolke (1982), que em estudo realizado na Costa Atlântica com 43 tartarugas da espécie *Caretta caretta*, identifica três tipos de ovos (Tipo 1, 2 e 3) aderidos a mucosa intestinal, recuperados após um raspado, e diz se encaixar nas descrições de ovos de espiroquídeos. Porém, este mesmo autor afirma ser difícil diferenciar histopatologicamente os três tipos, podendo-se verificar com maior facilidade quanto se trata de infecção aguda, sendo improvável a diferenciação quando a infecção é crônica, devido o fato de que as cascas dos ovos começam a se desintegrar como consequência da resposta inflamatória.

Neste presente estudo, não foi possível classificar os ovos encontrados nas lesões dos tecidos segundo a classificação de Wolke (1982), pelos ovos estarem nos cortes histológicos e por serem lesões crônicas, não se podendo afirmar que trata-se de ovos de espiroquídeos. Sugere-se que sejam feitos mais estudos a cerca do tipo de ovo encontrado nas lesões teciduais de tartarugas marinhas e o parasito a qual pertence o ovo, além de conhecer a morfologia de ovos de outras famílias dos trematodas, pois não é possível dizer que as lesões são causadas por ovos de espiroquídeos, quando não se tem como afirmar o tipo do ovo e também pelo fato de, como, por exemplo, neste estudo não terem sido encontrados espiroquídeos adultos em todas as tartarugas que apresentaram os ovos nos tecidos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos e, comparando com os dados disponíveis na literatura consultada, é possível observar que as tartarugas que utilizam a costa brasileira, em especial a costa do Espírito Santo, são ricas em fauna helmintológica. Neste estudo constatou-se que das 212 fichas das tartarugas avaliadas, 106 estavam parasitadas, mostrando que é frequente as tartarugas apresentarem uma carga parasitária, e também foi observado que dentre os animais parasitados, apresentavam também outros acometimentos, como carga epibiônica elevada e presença de tumores.

Foram identificadas 21 espécies e um gênero de parasitos da Classe trematoda, pertencentes a nove famílias diferentes, e três helmintos estão sendo relatados pela primeira vez no Brasil. Isso mostra que ainda há muito a se pesquisar nesta área, pois há uma grande quantidade de tartarugas marinhas que vem a óbito na costa brasileira, e pouco se sabe sobre as cargas parasitárias, as espécies de parasitos e se existe relação entre a carga parasitária e a *causa mortis* desses animais. Assim, esta pesquisa contribui de forma importante para o conhecimento sobre a carga parasitária em tartarugas verdes no Brasil.

Na avaliação histopatológica foi possível identificar algumas lesões nos animais que tiveram os tecidos avaliados, e também a presença de ovos de parasitos, sendo em maior prevalência no baço e pulmões. Entretanto, estas lesões não estavam relacionadas com a morte desses animais, visto não apresentar uma severidade elevada e que pudesse levar a tartaruga ao óbito. E também não foi possível afirmar que as lesões e os ovos associados pertencem à família Spirorchiidae, pois a identificação foi feita em cortes histológicos e as lesões eram crônicas, além dos parasitos adultos desta família não terem sido encontrados em todos os animais que apresentaram os ovos nos tecidos.

7 CONCLUSÕES

A fauna helmintológica encontrada em tartarugas da espécie *Chelonia mydas* que ocorrem no sul do Estado do Espírito Santo é abundante, sendo promissor e preciso mais pesquisas neste campo, pois neste estudo foram encontradas várias espécies de trematódeos, dentre os quais espécies novas que ainda não haviam sido relatados no Brasil, sendo elas: *Deuterobaris intestinalis*, *Enodiotrema reductum* e *Rhytidodoides similis*.

As lesões teciduais em *Chelonia mydas* que ocorrem no Sul do Estado do Espírito Santo, mesmo na presença de ovos de trematodas, não estão relacionadas à debilidade ou morte dos animais.

8 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, 1 ed., v. 1, p. 18-25, 2011.

BUGONI, L.; et al. Potencial bicatch of sea birds and turtles in hook-and-line fisheries of the Itaipava fleet, Brazil. **Fisheries Research** v. 90, p. 217-224, 2008.

CUBAS, P. H.; BAPTISTOTTE, C. *Chelonia* (Tartaruga, Cágado, Jabuti). In:_____ CUBAS, P. H **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, cap. 9, p.86-119, 2007.

DUTRA, G. H. P.; et al. Lesões macroscópicas e histopatológicas da infecção por helmintos da Família Spirorchidae em *Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae): relato de um caso no litoral brasileiro. **Natural Resources**, Aquidabã, v.2, n.1, p.83-89, 2012.

FLINT, M.; et al. Health surveillance of stranded green turtles in Southern queensland, Australia (2006–2009): an epidemiological analysis of causes of disease and mortality. **EcoHealth** v 7, p. 135–145, 2010.

GORDON, A. N.; KELLY, W. R.; CRIBB, T. H. Lesions Caused by Cardiovascular Flukes (Digenea: Spirorchidae) in Stranded Green Turtles (*Chelonia mydas*). **Veterinary Pathology**, v. 35, p. 21-30, 1998.

GREINER, C.; MADER, D. R. Parasitology. In: Mader, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. Sauders Elsevier. 2 ed, cap. 21, p. 343-345, 2006.

INNIS, C.; et al. Pathologic and parasitologic findings of cold-stunned Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*) stranded on cape cod, Massachusetts, 2001–2006. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), p. 594–610, 2009.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/search>>. Acesso em 12 Ago 2014.

KOTAS, J. E.; et al. Incidental capture of loggerhead (*Caretta caretta*) and leatherback (*Dermochelys coriacea*) sea turtles by the pelagic longline fishery off southern Brazil. **Fishery Bulletin**. v. 102, p. 393–399, 2004.

MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G.G. Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto Tamar-Ibama. **Biological Conservation**. v. 91, p. 35-41, 1999.

MONTEIRO, S. G. Técnicas laboratoriais. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, cap. 29, p. 301-312, 2011.

MUNIZ-PEREIRA, L. C.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. Checklist of helminth parasites of threatened vertebrate species from Brazil. **Zootaxa**, v. 2123, p. 1–45, 2009.

SANTORO, M., et al. Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 1202-1206, 2006.

SANTORO, M., et al. Spirorchiidiosis (Digenea: Spirorchidae) and lesions associated with parasites in Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*). **Veterinary Record**, v. 161, p. 482-486, 2007.

SANTORO, M.; MATTIUCCI, S. Sea Turtle Parasites. **Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America**. p. 507-519, 2009

STACY, B. A. **Spirorchiid trematodes of sea turtles in Florida: associated disease, diversity, and life cycle studies**. 2008. 248 f. Dissertação (Doutorado) Universidade da Flórida. Flórida-EUA. 2008.

TAMAR. Projeto Tamar: **Tartaruga verde**. Disponível em <<http://www.tamar.org.br/tartaruga.php?cod=20> > Acesso em: 05 de ago. 2014.

VICENTE, J. J., et al. Nematóides do Brasil. Parte III: Nematóides de répteis. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 10, n. 1, p.19- 168, 1993.

WERNECK, M. R.; et al. Helmintofauna de *Chelonia mydas* necropsiadas na Base do Projeto Tamar-Ibama em Ubatuba – SP. In: **Anais IX Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens**. São José do Rio Preto: UNIRP, p. 42, 2005.

WERNECK, M. R.; et al. Primeiro registro da ocorrência de *Schizamphistomum scleroporium* (Creplin, 1844) (Digenea: Paramphistomidae), em *Chelonia mydas* (L.) na costa brasileira. In: **Anais III Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia**. Ubatuba: SP. 2006a.

WERNECK, M. R.; et al. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchiidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae) in Brazil: case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 58, p. 550-555. 2006b.

WERNECK, M. R. **Helmintofauna de *Chelonia mydas* necropsiadas na Base do Projeto Tamar-Ibama em Ubatuba, Estado de São Paulo, Brasil**. 2007. 50 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. 2007.

WERNECK, M. R.; et al. First report of *Monticellius indicum* Mehra, 1939 (Digenea: Spirorchiidae) infecting *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines: Chelonidae) from Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. v. 68, p. 455 - 456, 2008.

WERNECK, M. R.; et al. Infecção por trematódeos digenéticos da família Spirorchiidae em tartarugas verdes (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) no Brasil. In: **Anais V Jornada de Conservación e Investigación de tortugas Marinas del Atlántico Sur Occidental**, Mar del Plata. Argentina: PRICTMA. p. 106-109, 2009.

WERNECK, M. R.; et al. Ocorrência de *Amphiorchis indicus* Gupta e Mehrotra, 1981 (Digenea, Spirorchiidae) infectando tartaruga marinha verde *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) no Brasil. In: **Anais XVI Congresso**

Brasileiro de Parasitologia veterinária, Campo Grande, MS, 11 A 14 DE Outubro 2010. CBPV, 2010.

WERNECK, M. R. **Estudo da Helmintofauna de Tartarugas Marinhas Procedentes da Costa brasileira. Botucatu-SP.** 2011. 147 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. 2011.

WERNECK, M. R.; et al. Occurrence of *Amphiorchis solus* Simha e Chattopadhyaya, 1970 (Digenea, Spirorchiidae) infecting Green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. **Comparative Parasitology.** v. 78, p. 200 – 203, 2011.

WERNECK, M. R.; et al. Report of *Carettacola stunkardi* (Martin & Bamberger, 1952) Dailey, Fast & Balazs, 1991 (Digenea: Spirorchiidae) infecting Green Turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. **Brazilian Journal of Biology.** v. 73, n. 3, p. 675-676, 2013.

WOLKE, R. E. Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): pathology. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 18, n. 2, April, 1982.

XAVIER, R. A. **Análise da Fauna Parasitológica Gastrointestinal de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no litoral Norte e médio do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2011. 47 f. Monografia (Graduação Ciências Biológicas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Imbé- RS. 2011.

APÊNDICE

APÊNDICE- Trabalho aceito pela revista *Comparative Parasitology*

Research Note

Occurrence of *Rhytidodoides similis* Price, 1939 (Digenea: Rhytidodidae) and lesions due to spirorchiid eggs in a Green Turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil.

Max R. Werneck^{1,5}, Érika Binoti², Isabella V. f. Martins³, Antonio de Calais Junior², Moara C. Gomes², Jankerle N. Boeloni³, Alessandro Trazi⁴ and Bruno Berger⁴.

¹ BW Consultoria Veterinária, Rua Ponciano Eugênio Duarte n.º 203, Centro, Ubatuba, SP, CEP 11680-000, Brazil. (max@bwvet.com.br),

² Mestrando em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) (erikabinoti.mv@hotmail.com, vetcalais@gmail.com, moaracgomes@yahoo.com.br),

³ Professora Adjunta do Departamento de Medicina Veterinária e do programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) (isabella.martins@ufes.br), and

⁴ Serviços em Meio Ambiente, CTA, Rua Saturnino Rangel Mauro 283, Pontal de Camburi, Vitória, ES, CEP 29062-030, Brazil. (alessandro@cta-es.com.br, bruno.berger@cta-es.com.br)

⁵ Corresponding author

ABSTRACT: This paper describes the first occurrence of *Rhytidodoides similis* Price, 1939 parasitizing a juvenile green turtle (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) found on the coast of Brazil. This parasite is known only from *C. mydas*, with previous reports of occurrences in the liver and gall bladder of green sea turtles found in the USA, Panama and Costa Rica. In this case, no gross or microscopic lesions were found on the liver associated with *R. similis*. However, microscopic analysis of the liver revealed granulomas of trematode eggs consistent with spirorchiids. This note is the first report of *R. similis* and lesions due to spirorchiid eggs in *C. mydas* from Brazil.

Key words: *Chelonia mydas*, Helminth fauna, hepatic lesions, marine turtle, parasitology, *Rhytidodoides similis*, Rhytidodidae, Spirorchiidae; Trematoda.

The family Rhytidodidae Odhner, 1926 is represented only by the genera *Rhytidodes* and *Rhytidodoides*, both of which have been found in the intestines and gall bladder of sea turtles (Blair, 2005). The genus *Rhytidodoides* has only three known species: *R. intestinalis* Price, 1939 and *R. similis* Price, 1939 described on a green turtle, *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758, found in the USA, and *R. pricei* Mehrotra and Gupta, 1978 described on a green turtle found in the Gulf of Mannar, India.

Spirorchiids (Family Spirorchiidae Stunkard 1921) are a group of trematodes that inhabit the circulatory, lymphatic and nervous system of turtles. The family has approximately 100 species grouped into 19 genera (Platt, 2002), ten of which are parasites of sea turtles and have been described in *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758, *Caretta caretta* Linnaeus, 1758 and *Eretmochelys imbricata* Linnaeus, 1766 (Smith 1997).

The parasitosis impact by the members of the family Spirorchiidae results in lesions due to eggs depositing in the blood stream, embolism and tissues accumulation, causing inflammatory lesions (Santoro et al., 2007; Stacy et al., 2010; Chen et al., 2012) which can contribute to or even cause the host death (Gordon et al., 1998).

The present note reports the occurrence of *R. similis* in a green turtle from Brazilian coast and the hepatic lesions caused by spirorchiid eggs in the same host. A moribund green turtle was found on Guarapari Beach in the state of Espírito Santo, Brazil (20° 39'40.38"S, 40° 29'42.33"W) in September 2013, measuring 43.1 cm in curved carapace length (CCL) and weighing 8.9 kg. The turtle was emaciated and lethargic and died on the first day of treatment. Necropsy was performed immediately. Only liver samples were fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned (5 µm) and stained with hematoxylin and eosin (HE) and Masson's trichrome stain for subsequent microscopic analysis. The gall bladder histopathological analysis was not made, because unfortunately it was inadvertently discarded after the liver collection.

Four specimens of *R. similis* (Figure 1) were found in the gall bladder. The parasites were placed in saline solution. Two were fixed in a 10% formalin solution and stained with eosin. The other two were fixed in 70% alcohol, stained with carmine and cleared with eugenol. Morphometric data were determined with the aid of an image analysis program (ImageJ, National Institutes of Health). Drawings were

made using a drawing tube. The specimens were deposited in the Helminth Collection of the Institute of Biosciences of the Paulista State University, of São Paulo State, Brazil (CHIBB number 7460). Analyses of the parasites were authorized by federal licenses for activities with scientific purposes (SISBIO 30600-1 and 9329-1).

A taxonomic key (Blair, 2005), the original description (Price, 1939), comments by Smith et al. (1941) and the redescription by Caballero (1954) were used for morphological (Fig. 1) and morphometric comparisons (Table 1).

Macroscopic analysis of the liver revealed no abnormalities on the shape, color and size (see Wyneken 2001). However, the microscopic analysis revealed granulomas containing a moderate number of trematode eggs, which had a birefringent wall and a brownish coloration. These eggs were completely surrounded by multinucleated foreign-body giant cells (Fig. 2).

The genus *Rhytidodoides* was originally described by Price (1939) to house *R. intestinalis* and *R. similis*, which were collected from the intestine and gall bladder respectively of a green turtle found in the USA. The descriptions were based on only two specimens of each species.

After the original description (Price, 1939) *R. similis* was found in the gall bladder of *C. mydas* in the New York Aquarium, but little morphometric information was reported (Nigrelli, 1940). Later the author mentioned that *R. similis* occurred in 65% of the turtle gall bladders analyzed, but offered no additional information (Nigrelli, 1941).

Smith et al. (1941) reported the occurrence of *R. similis* and lesions in gall bladder associated with these flukes, the walls of infected gall bladders were thickened with papillary hyperplasia of the mucous membrane of the gall bladder, an evident increase in the amount of connective tissue, the infiltration of lymphoid cells, dilation of capillary and lymphatic vessels and an increase in mucus production and the presence of trematode eggs in the liver. However, the authors did not clearly specify the characteristics of these eggs, reporting only that they were surrounded by epithelioid cells and/or giant cells.

In the same host species found in Panama, Caballero (1954) reported one specimen of *R. intestinalis* and redescribed *R. similis* based on 16 specimens collected from the biliary ducts. He also reported a histopathological analysis of liver samples, in which the formation of papillomas and the proliferation of connective

tissue were found, evidencing leukocyte infiltration with the migration of plasmocytes and eosinophils.

Mehrotra and Gupta (1978) found a specimen of the genus *Rhytidodoides* in a green turtle found in the Gulf of Mannar, India, and described *R. pricei*. Based on an analysis of manuscripts by Price (1939) and Caballero (1954) as well as morphometric variations, Mehrotra and Gupta (1978) determined that the species found by Caballero (1954) (regarded by him as representing *R. intestinalis*) was actually identical to *R. pricei*. Thus, despite the small number of specimens analyzed to date, only *R. intestinalis*, *R. similis* and *R. pricei* are reported for the genus.

Santoro et al. (2006) reported the occurrence of *R. similis* in 25% of nesting green sea turtles in Costa Rica, with a mean infection intensity of 10.6 ± 11.3 (range: 1 to 34 specimens). The authors report inflammation of the gall bladder, abnormalities in the mucous layer and a small number of leukocytes associated with these lesions (Santoro et al., 2007).

Analyzing 74 individuals of *C. mydas* on the coast of the state of Florida (USA) between 1991 and 2006, Greiner (2013) reported the occurrence of 304 specimens of *R. similis* in the liver and gall bladder of 16 hosts (prevalence: 21.6%), with a mean intensity of 19.0 (range: 1 to 98 specimens).

The genus *Rhytidodoides* is considered restricted to *C. mydas*, and *R. similis* has been reported in sea turtles in the USA (Price, 1939; Nigrelli, 1940 and 1941; Greiner, 2013), Panama (Caballero, 1954), Costa Rica (Santoro et al., 2006; Santoro et al., 2007) and Brazil (present report).

Despite the lack of macroscopic indications of infection in the liver, the microscopic analysis revealed granulomatous lesions with foreign-body giant cells surrounding trematode eggs (fig. 2) consistent with the family Spirorchiidae (Santoro et al., 2007). The eggs were classified as type I (see Wolke et al., 1982), produced by the genera *Learedius*, *Monticellius* and *Hapalotrema*, which all have been reported for *C. mydas* (Smith, 1997). These three genera have been described in Brazil: *Learedius learedi* Price 1934 has been found in *C. mydas* (Werneck et al., 2006), *Monticellius indicum* Mehra 1939 has found in *C. mydas* (Werneck et al., 2008) and *E. imbricata* (Werneck et al., 2015) and *Hapalotrema postorchis* Rao 1976 has been found in both *E. imbricata* (Werneck et al., 2014) and *C. mydas* (M. R. Werneck, personal observation).

Pathological changes induced by spirorchiid eggs have been reported by other authors (Gordon et al. 1998; Santoro et al. 2007; Stacy et al., 2010; Chen et al., 2012) and are potentially debilitating or fatal. We considered this occurrence as an incidental finding (see appendix 1 in Stacy et al., 2010) and in our case we cannot affirm that the eggs are responsible for the death. This note is the first report of spirorchiid eggs lesions in *C. mydas* from Brazil.

The morphometric analysis (Table 1) revealed higher Pharynx length and width, anterior testes length and cirrus sac length and width as well as lower Mehlis' gland width and egg width in comparison to the specimens analyzed by Price (1939), Smith et al. (19412) and Caballero (1954). However, we regard these differences merely as morphometric variations within the species.

The little information on these helminthes and species descriptions based on a small number of specimens (see Price, 1939; Mehrotra & Gupta, 1978) underscores the need for further comparative work to clarify the validity of species in the genus *Rhytidodoides*.

This note report the first occurrence of *R. similis* in green turtle from Brazil and it is the first evidence of lesions by Spirorchiids eggs in this host and region. These findings represent a important information about sea turtle parasites.

The authors wish to express their special thanks to Dr. Paula Baldassin and Dr. David Blair for critical reading and suggestions to improve the manuscript, Olé Web Designer staff, Marcella Baldassin and José Carlos Barroso. The biological samples were obtained through the Beach Monitoring Project of the Espírito Santo state and northern portion of the Campos Basin, which is a requirement established by the federal environmental licensing division of the Brazilian environmental agency IBAMA. Erika Binoti had a financial support by CAPES.

LITERATURE CITED

Blair, D. 2005. Family Rhytidodidae Odner, 1926. Pages 123125. *In* A. Jones, R. A. Bray and D. I. Gibson, eds. Key to the trematodes vol. 2. CABI Publishing, London, United Kingdom.

Caballero, y C. E. 1954. Helmintos de la Republica de Panamá. X. Alguns Tremátodos de *Chelone mydas* (L.) tortuga marina comestible Del Océano Pacífico

Del Norte. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México 8:31-58.

Chen, H., R. J. Kuo, T. C. Chang, C. K. Hus, R. A. Bray, and I. J. Cheng. 2012. fluke (Spirorchiidae) infections in sea turtles stranded on Taiwan: prevalence and pathology. *Journal of Parasitology* 98:437-439.

Gordon, A. N., W. R. Kelly, and T. H. Cribb. 1998. Lesions caused by cardiovascular flukes (Digenea: Spirorchiidae) in stranded green turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Pathology* 35:21-30.

Greiner, E. C. 2013. Parasites of marine turtles. Pages 427-446 in J. Wyneken, K. J. Lohmann and J. A. Lutz eds. *The biology of sea turtles*. vol.II. CRC Press, USA..

Mehrotra, V., and N. K. Gupta. 1978. On the status of “*Rhytidodoides intestinalis* Price, 1939” of Caballero 1954 (trematoda, Rhytidodidae) *Acta parasitologica Polonica* 25:207-210.

Nigrelli, R. F. 1940. Observations on trematodes of the marine turtle, *Chelonia mydas* *Anatomical Record Philadelphia*, 78:178

_____. 1941. Parasites of the Green turtle, *Chelonia mydas* (L.) with special references to the rediscovery of trematodes described by Looss from this host species. *Journal for Parasitology* 27:15-16.

Platt, T. R. 2002. Family Spirorchiidae Stunkard. Pages 453–467 in D. I. Gibson, A. Jones, and R.A. Bray, eds. *Keys to the Trematoda*. CABI Publishing, London.

Price, E. W. 1939. A new genus and two new species of digenetic trematodes from a marine turtle. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 6:24-25.

Santoro, M., E. C. Greiner, J. A. Morales, and B. Rodríguez-Ortiz. 2006. Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *Journal of Parasitology* 92:1202-1206.

Santoro, M., J. A. Morales, and B. Rodríguez-Ortiz. 2007. Spirorchiidiosis (Digenea: Spirorchiidae) and Lesions associated with parasites in Caribbean Green turtles (*Chelonia mydas*). *The Veterinary Record* 161:482-486.

Smith, G. M., C. W. Coates, and R. F. Nigrelli. 1941. A papillomatous disease of the gallbladder associated with infection by flukes, occurring in the marine turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus). *Zoologica* 26:13-16.

Smith, J. W. 1997. The blood flukes (Digenea: Sanguinicolidae and Spirorchidae) of cold-blooded vertebrates: Part 2. *Helminthological Abstracts* 66:329-344.

- Stacy, B. A., A. M. Foley, E. Greiner, L. H. Herbst, A. Bolten, P. Klein, C. A. Manire, and E. R. Jacobson.** 2010. Spirorchidiasis in stranded loggerhead *Caretta caretta* and green turtles *Chelonia mydas* in Florida (USA): host pathology and significance. *Diseases of Aquatic Organisms* 89:237-259.
- Werneck, M. R., B. Gallo, and R. J. Silva.** 2008. First report of *Monticellius indicum* Mehra, 1939 (Digenea: Spirorchidae) infecting *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines: Cheloniidae) from Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 68:455-456.
- Werneck, M. R., J. H. Becker, B. G. Gallo, and R. J. Silva.** 2006. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil: case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 58:550-555.
- Werneck, M. R., P. Baldassin, F. T. D`Azeredo, A. Trazi, and B. Berguer.** The Hawksbill Sea Turtle *Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) as new host of *Hapalotrema postorchis* Rao, 1976 (Digenea: Spirorchidae). *Comparative Parasitology* 81:75-78.
- Werneck, M. R., V. R. Souza, A. Trazzi, and B. Berguer.** 2015. *Monticellius indicum* Mehra, 1939 (Digenea: Spirorchidae) in a Hawksbill Turtle, *Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil. *Comparative Parasitology* 82: in press.
- Wolke, R. E., R. Brooks, and A. George.** 1982. Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): pathology. *Journal of Wildlife Diseases* 18:175-185.
- Wyneken, J.** 2001 The anatomy of sea turtle. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. 172p.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. *Rhytidodoides similis* Price, 1939 (Digenea: Rhytidodidae) from *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil.

Figure 2. Liver with Granulomatous lesions with foreign-body giant cells (arrow) surrounding trematode eggs compatible with spirorchids.

