

Dutra G.H.P., Werneck M.R., Silva A.N.E, Nascimento C.L, 2010. **Lesões histopatológicas da infecção por *Amphiorchis caborojoensis* (Fischthal & Acholonu 1976) em *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus 1758).** Anais do XIII Congresso Abravas. Aquário Municipal de Santos. Avenida Bartolomeu de Gusmão s/nº Ponta da Praia, Santos, SP, Brasil. E-mail: dutra@kingnet.com.br

Introdução: A família Spirorchiidae corresponde a um grupo de trematódeos habitantes de sistema circulatório de quelônios. São conhecidas aproximadamente 100 espécies, distribuídas em 19 gêneros descritos em quelônios terrestres e aquáticos (Platt 2002). Entre este grupo podemos encontrar dez gêneros que são exclusivos de tartarugas marinhas (Smith 1997). Frequentemente a parasitose por membros da Família Spirorchiidae é responsável por causar graves lesões nos hospedeiros e ocasionalmente o óbito dos mesmos. Análises desta associação foram relatadas em *Chelonia mydas* (Greiner et al. 1980, Glazebrook et al. 1981, Glazebrook, et al. 1989, Gordon et al. 1998 e Santoro et al. 2007) *Eretmochelys imbricata* (Glazebrook, et al. 1989) e *Caretta caretta* (Wolke, et al. 1982). Externamente verifica-se emaciação crônica (Glazebrook et al. 1981, Glazebrook, et al. 1989, Gordon et al. 1998). Macroscopicamente observa-se a ocorrência de numerosos nódulos na superfície serosa e mucosa do intestino delgado e grosso (Gordon et al. 1998 e Santoro et al. 2007) de coloração escura com aproximadamente 1-2 mm de diâmetro que quando abertos revelam grande quantidade de ovos dos trematódeos. Microscopicamente há descrições de inflamações crônicas ocasionadas pela ação direta do parasita sobre o tecido (Santoro et al. 2007) e a ação dos ovos que, liberados na corrente sanguínea, penetram em praticamente todos os tecidos dos hospedeiros (Glazebrook et al. 1981). A infecção secundária bacteriana é também um importante achado nestes casos (Glazebrook et al. 1989, Raidal et al. 1998, Gordon et al. 1998). Histologicamente as lesões encontradas são na forma de numerosos nódulos (granulomas) contendo ovos de parasitas e são encontrados no sistema nervoso central, cardiorrespiratório e sistema excretor, além de fígado, baço, intestinos e glândula de sal (Glazebrook et al. 1981, Glazebrook, et al. 1989, Gordon et al. 1998). O objetivo desta nota é descrever as lesões encontradas em um exemplar juvenil de *E. imbricata* encontrada no município de Praia Grande, litoral sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Material e Métodos:** Em 30 de maio de 2009, uma tartaruga juvenil da espécie *E. imbricata* foi encontrada após encalhe de praia em Praia Grande (24°01'49"S 46°28'32"W) apresentava 34 cm de comprimento curvilíneo de carapaça e pesava 4,0 kg foi encaminhada ao Aquário Municipal de Santos para reabilitação, durante a permanência do animal na instituição, uma amostra de sangue foi coletada do seio dorsal cervical e análise radiográfica foi realizada. Após um período de 29 dias, o animal veio à óbito no dia 29 de junho. Na necropsia, amostras de tecido foram coletadas, fixadas em formalina a 10% e processadas histologicamente, cortados em 5 µm e corados por hematoxilina e eosina. Apenas um parasita foi encontrado durante a inspeção do coração. O helminto foi fixado em solução de AFA (álcool 70%, Ácido acético e formol), corado com carmim clorídrico e clarificado com creosoto e analisado em microscópio óptico. **Resultados:** **ANÁLISE CLÍNICA:** Hematologicamente o animal apresentou 40% de hematócrito; Hemoglobina: 12,9 g/dl; 450.000 eritrócitos totais/microlitro; 5250 leucócitos totais/microlitro; monócitos: 8% (420 monócitos/microlitro); linfócitos: 34% (1785 linfócitos/microlitro); eosinófilos: 1% (52 eosinófilos/microlitro); heterófilos: 57 % (2993 heterófilos/microlitro). Radiograficamente o animal apresentava radiopacidade no intestino delgado e notavelmente no ceco indicando um fecaloma, posteriormente confirmado na necropsia. **ANÁLISE NECROSCÓPICA:** Necroscopicamente, a tartaruga apresentava caquexia e intensa congestão de vasos mesentéricos,



presença de nódulos (granulomas miliars) lineares de coloração enegrecida em serosa duodenal com 1-2 mm de diâmetro (Figura 1). Fecalomas compostos por pequenos bivalves foram encontrados no trajeto entre o duodeno e o ceco. O fígado apresentava-se com bordos arredondados, coloração vinhosa, aspecto marmorizado e pigmentação melânica sob a cápsula de Glisson. Ao corte, as trabeculações sinusoidais estavam evidentes e havia a drenagem de moderada quantidade de sangue das trabeculações. ANÁLISE PARASITOLÓGICA: Os granulomas miliars evidenciaram ao corte grande quantidade de ovos fusiformes de tremátodos pertencem a família Spirorchidae (Figura 2). Foi observado um indivíduo adulto de tremátodo no interior do cavum pulmonale, identificado posteriormente como *Amphiorchis caborojoensis* Fischthal & Acholonu, 1976. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA: Histopatologicamente, verificou-se uma severa duodenite mononuclear com necrose de vilosidades associada a presença de grande quantidade de ovos de tremátodos contendo miracídeos, sob infiltração mononuclear (linfoplasmocitária) em submucosa com discreta infiltração heterofílica (Figura 3). Ao redor da submucosa, havia acentuada fibroplasia (proliferação de fibroblastos) com fibras orientadas de forma desorganizada. O pulmão apresentava marcada pneumonia intersticial parasitária, em alguns pontos, com infiltração heterofílica e ovos contendo miracídeos, em outros, pneumonia intersticial com infiltração mononuclear com grande número de ovos íntegros contendo miracídeos (Figura 6), e em outros pontos com clara formação mononuclear epitelióide e de células gigantes (Figura 5). Nas áreas de maior inflamação, observa-se a presença de hemossiderina no interior de macrófagos. Baço apresentava rarefação linfocitária de centros germinativos, intensa hemossiderose e moderada congestão, especialmente na região medular. O coração apresentava intensa miocardite mononuclear, com baixo número de ovos contendo miracídeo. Fígado apresentava moderada hepatite mononuclear mediozonal e periportal com baixo número de ovos de tremátodos associados a intensa hemossiderose e melanomacrófagos (Figura 4). Cordões de hepatócitos apresentando células em degeneração microvacuolar e hidrópica. Numa localização mediozonal, havia hepatite crônica com início de formação de célula gigante tipo corpo estranho contígua a ovos degenerados.

Discussão: Neste relato pode-se observar que os valores hematológicos obtidos estavam dentro dos padrões de normalidade, à despeito da parasitose, não se observou eosinofilia, interpretada como devido a uma baixa celularidade medular de reserva para estes granulócitos. Em nossa amostra foi observada que externamente a tartaruga analisada apresentava-se com a diminuição da musculatura do pescoço, regiões axilares e inguinais, além de regiões do plastrão com aspecto aprofundado, caracterizado inespecificamente como quadro de emaciação e caquexia, estes mesmos sinais já relatados em outros casos de lesões por Spirorchidae (Glazebrook et al. 1981, Glazebrook et al. 1989, Gordon et al. 1998). Apenas sete espécies distribuídas entre os gêneros: *Amphiorchis* Price 1933, *Hapalotrema* Looss 1899, *Learedius* Price 1934 e *Caretta* foram relatados em exemplares de *E. imbricata*. Todos distribuídos no oceano Pacífico, Índico, Atlântico Norte (Smith 1997) e mais recentemente Atlântico Sul (Werneck et al. 2008). A espécie *A. caborojoensis* foi apenas relatada em exemplares de *E. imbricata* encontrados na Costa Rica (Fischthal and Acholonu, 1976; Dyer et al. 1995) e no Brasil (Werneck., et al. 2008). Sendo este relato a segunda ocorrência deste helminto em animais encontrados na costa Brasileira. Os ovos encontrados nos granulomas, foram descritos com sendo do tipo I por Wolke et al. 1982 e são supostamente da espécie *A. caborojoensis*, achados semelhantes no mesmo hospedeiro e com a mesma espécie de helminto foram relatados por Werneck et al. 2008. Os vasos sanguíneos mesentéricos apresentavam congestão, o que pode estar relacionada



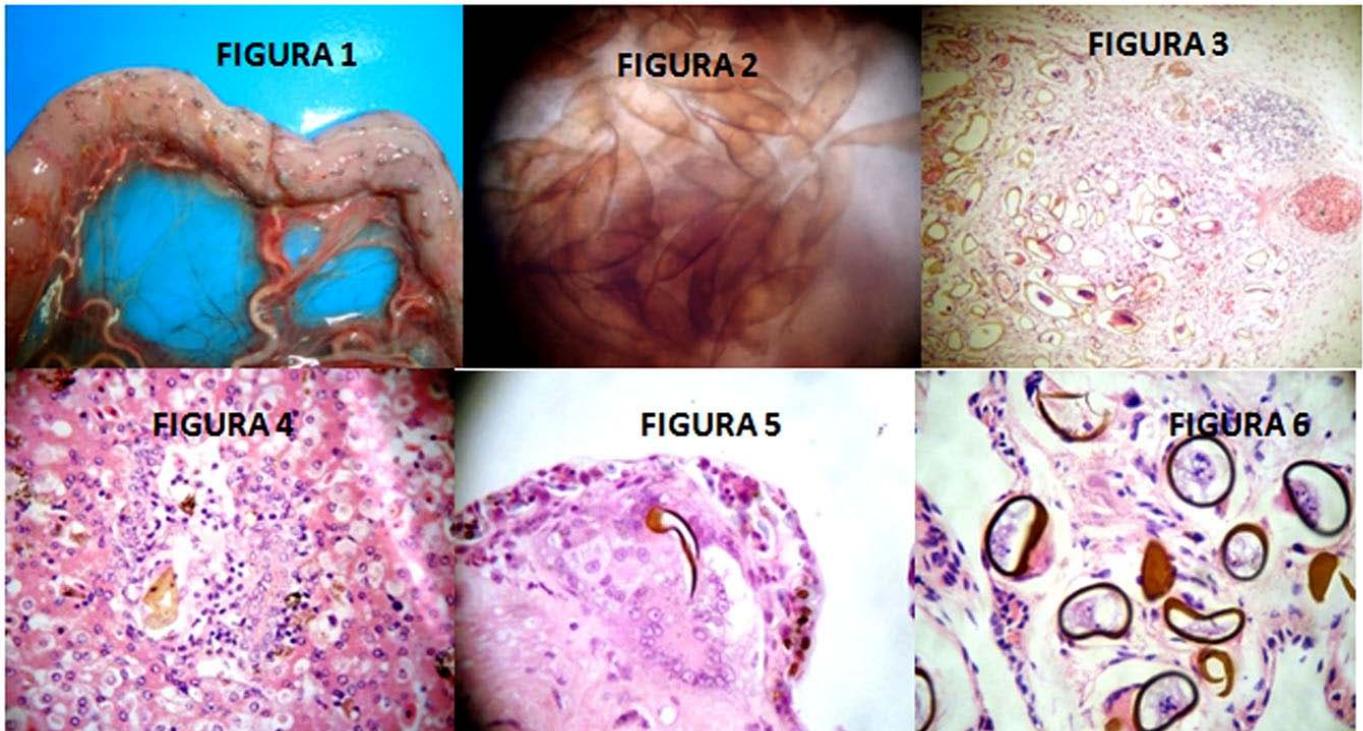


Figura 1- Duodeno de *E. imbricata* com lesões nodulares enegrecidas de 1-2 mm de diâmetro na serosa; Figura 2- Fotomicrografia citológica de decalque de nódulos enegrecidos da serosa duodenal de *E. imbricata* contendo ovos de tremátodos da família Spirorchidae. 400X; Figura 3- Fotomicrografia de duodeno de *E. imbricata* com acentuado infiltrado mononuclear de distribuição multifocal associado ao grande número de ovos de tremátodo. 400X. HE ; Figura 4- Fotomicrografia de fígado de *E. imbricata* com discreta infiltração mononuclear de distribuição focal mediozonal associada a presença de ovos de tremátodo e hemossiderose. 400X HE; Figura 5- Fotomicrografia de pulmão de *E. imbricata* com moderado infiltrado mononuclear no interstício e formação de células gigantes associadas aos ovos de tremátodos. 400 X HE ; Figura 6- Fotomicrografia de pulmão de *E. imbricata* com moderado infiltrado inflamatório intersticial mononuclear associado a grande quantidade de ovos de tremátodo. 1000X HE.

com os achados de miocardite, induzindo congestão passiva crônica assim como relatados por Wolke et al. 1982 e com Rand & Wiles, 1985. A presença de nódulos lineares de coloração enegrecida, associada aos achados de ovos fusiformes é consistente com infecção por digenéticos Spirorchidae (Wolke et al. 1982, Rand & Wiles 1985, Gordon et al. 1998, Cordero-Tapia et al. 2004, Werneck et al. 2006). O segmento intestinal com maior número de granulomas foi o duodeno, cujo aspecto histológico traduziu-se em severa duodenite mononuclear com necrose de vilosidades associada a presença de grande quantidade de ovos de tremátodos contendo miracídeos, sob infiltração mononuclear (linfoplasmocitária) e heterofílica (Wolke et al. 1982) com relação a fase exsudativa/ produtiva em infiltrados mais intensos e com maior número de ovos. Sob este mesmo prisma, verificaram-se três tipos de achados na histopatologia do pulmão, sem granulomas observáveis necroscopicamente, achados de pneumonia intersticial parasitária, em alguns pontos, com infiltração heterofílica e ovos contendo miracídeos (fase exsudativa), em outros, pneumonia intersticial com infiltração mononuclear com grande número de ovos íntegros contendo miracídeos (fase produtiva), e em outros pontos com clara formação mononuclear epitelióide e de gigantócitos. Nas áreas de maior inflamação, observou-se a presença de hemossiderina no interior de macrófagos, como resultado congestivo (Wolke et al. 1982, Rand & Wiles 1985). A histopatologia do fígado revelou achados similares aos trabalhos de Wolke et



al. 1982, Rand & Wiles 1985, em que a presença de melanomacrófagos associados a hepatite parasitária mononuclear foi observada, além de hemossiderose, indicando a tendência a uma cronicidade das lesões. Julga-se que a rarefação linfóide observada no baço contribua para a imunossupressão e para a predisposição às lesões de Spirorchidae (Aguirre et al. 1998). Este trabalho relata as lesões histopatológicas em um exemplar de tartaruga marinha associada à infecção por parasitas da Família Spirorchidae encontrado na costa brasileira, contribuindo assim para o maior conhecimento sobre os processos patogênicos nos animais desta região.

Referências: Aguirre A.A., Spraker T.R., Balazs G. H., Zimmerman B. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from Hawaiian Islands. *Journal of Wildlife Diseases*, 34(1): 91-98. Cordero-Tapia A., Gardner S. C., Arellano-Blanco J., Inohuye-Rivera R. B. 2004. *Learedius learedi* infection in black turtles (*Chelonia mydas agassizii*), Baja California Sur, Mexico. *Journal of Parasitology*. 90(3): 645–647. Dyer W. G., Williams Jr, E. H., Bunkley-Williams L. 1995. Digenea of the green turtle (*Chelonia mydas*) and the leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) from Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science*. 31(3-4): 269-273. Fischthal J.H., Acholonu A.D. 1976. Some digenetic trematodes from Atlantic Hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata imbricata* (L.) from Puerto Rico. *Journal of Helminthology Society of Washington*, 43: 174-185. Glazebrook J.S., Campbell R.S., Blair D. 1981. Pathological changes associated with cardiovascular trematodes (Digenea: Spirorchidae) in green sea turtle *Chelonia mydas* (L.). *Journal of Comparative Pathology*, 9: 361-368. Glazebrook J.S., Campbell R.S., Blair D. 1989. Studies on cardiovascular flukes (Digenea: Spirorchidae) infections in sea turtles from the Great Barrier Reef, Queensland, Australia. *Journal of Comparative Pathology*, 101: 231-250. Gordon A. N., Kelly W. R., Cribb T.H. 1998. Lesions Caused by Cardiovascular Flukes (Digenea: Spirorchidae) in Stranded Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Pathology* 35:21-30. Greiner E.C., Forrester D.J., Jacobson E.J. 1980 Helminths of mariculture-reared Green turtles (*Chelonia mydas mydas*) from Grand Cayman, British West Indies. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 47: 142-144. Inohuye-Rivera R.B., Cordero-Tapia A., Arellano-Blanco J., Gardner S.C. 2004. *Learedius learedi* Price, 1934 (Trematoda: Spirorchidae), in black turtle (*Chelonia mydas agassizii*) hearts from Magdalena Bay, Baja California Sur, Mexico. *Comparative Parasitology*. 71(1): 37–41. Platt T.R. 2002. Family spirorchidae Stunkard, p.453-467. In: Gibson D.I., Jones, A. & Bray R.A. (Eds.), *Keys to the Trematoda*. CABI Publishing, London. Raidal S.R., Ohara M, Hobbs R.P., Prince P. 1998. Gram-negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Australian Veterinary Journal*. 76(6): 415-417. Rand T.G., Wiles M. 1985. Histopathology of Infections by *Learedius learedi* Price, 1934 and *Neosporichis schistosomatoides* Price, 1934 (Digenea: Spirorchidae) in Wild Green Turtles, *Chelonia mydas* L., from Bermuda. *Journal of Wildlife Diseases*. 21(4): 461-463. Santoro M., Morales J.A., Rodrigues-Ortiz B. 2007. Spirorchidiosis (Digenea: Spirorchidae) and lesions associated with parasites in caribbean green turtles (*Chelonia mydas*). *The Veterinary Record*, 161: 482-486. Smith J. W. 1997. The blood flukes of cold-blood vertebrates. *Helminthological Abstracts*, 66: 329-344. Werneck M.R., Becker J.H., Gallo B.G., Silva R.J. 2006. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae) in Brazil: case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58 (4): 550-555. Werneck M. R. 2007. Helminthofauna de *Chelonia mydas* necropsiadas na base do Projeto Tamar- IBAMA em Ubatuba – SP. Dissertação (mestrado). Instituto de Biociências de



Botucatu. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 48 p. Werneck M.R., Gallo B.G., Silva, R.J., 2008. Spirorchiids (Digenea: Spirorchiidae) infecting a Hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus 1758) from Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60 (3): 663-666. Wolke RE., Brooks R., George A. 1982. Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): pathology. *Journal of Wildlife Diseases*. 18(2):175-185. Termos de indexação: *Eretmochelys imbricata*, *Amphiorchis caborojoensis*, histopatologia.



XIII Congresso e XIX Encontro da Associação Brasileira de
Veterinários de Animais Selvagens - 2010
Métodos de Diagnóstico da Medicina de Animais Selvagens

DE 18 A 22 DE OUTUBRO 2010 / HOTEL OROTUR
CAMPOS DO JORDÃO - SP