



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CENTRO DE CIÊNCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA ANIMAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SIMONE MOUSINHO FREIRE

**CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA HELMINTOLÓGICA EM *Chelonoidis carbonarius* (SPIX, 1824) e *Chelonoidis denticulatus* (LINNAEUS, 1766) EM CATIVEIRO**

TERESINA – PI  
2016

SIMONE MOUSINHO FREIRE

**CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA HELMINTOLÓGICA EM *Chelonoidis carbonarius* (SPIX, 1824) e *Chelonoidis denticulatus* (LINNAEUS, 1766) EM CATIVEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Área de Concentração: Sanidade e Reprodução Animal

Orientadora: Prof. Dra. Ivete Lopes de Mendonça  
Coorientador: Prof. Dr. Reinaldo José da Silva

TERESINA - PI  
2016

### FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

F866c Freire, Simone Mousinho.  
Caracterização da fauna helmintológica em *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766) em cativeiro / Simone Mousinho Freire. –  
Teresina: 2016.  
65 f.: il.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade  
Federal do Piauí, Teresina-PI, 2016.

Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ivete Lopes de Mendonça  
Co-orientação: Prof. Dr. Reinaldo José da Silva

1. Helmintofauna. 2. Jabutis. 3. Cativeiro. 4. Lesões  
Histopatológicas. I. Título.

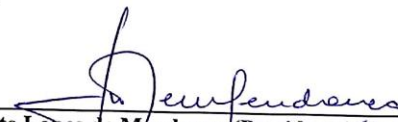
CDD 591.981


CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA HELMINTOLÓGICA EM *CHELONOIDIS*  
*CARBONARIUS* (SPIX, 1824) E *CHELONOIDIS DENTICULATUS* (LINNAEUS,  
1766)

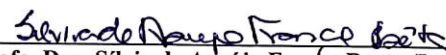
SIMONE MOUSINHO FREIRE

Tese aprovada em: 16/03/2016


Banca Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Ivete Lopes de Mendonça (Presidente) / DCCV/CCA/UFPI

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Karina Rodrigues dos Santos (Interna) / UFPI

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Sílvia de Araújo França Baeta (Interna) / DCCV/CCA/UFPI

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcelo Knoff (Externo) / FIOCRUZ-RJ

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Reinaldo José da Silva (Externo) / UNESP





"Nós seres humanos estamos na natureza para auxiliar o progresso dos animais na mesma proporção que os anjos estão para nos auxiliar. Portanto quem chuta ou maltrata um animal é alguém que não aprendeu a amar. "

Chico Xavier

## DEDICO

Aos meus pais, minha avó Maria e meus irmãos pelo seu caráter, dignidade, dedicação, doação e firmeza para lutar pelos seus objetivos tornando-se exemplos de vida.

A minha filha Alana e meu esposo Edimar, por entender minha ausência em tantos momentos e saber que tudo que faço é para proporcionar-lhes um futuro melhor.

## AGRADECIMENTOS

---

A DEUS, minha força maior.

Aos animais que fizeram parte desta pesquisa sem os quais a mesma não teria sido desenvolvida.

A minha orientadora, prof. Dra. Ivete Lopes de Mendonça, por acreditar em mim e aceitar me orientar e a qual tenho toda admiração e carinho.

Ao prof. Dr. Reinaldo José da Silva, por ter sido tão generoso e amável quando o convidei para coorientação e por me mostrar o fascinante mundo da helmintologia.

Ao Dr. Marcelo Knoff e Dra. Delir Corrêa Gomes, do Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC); à Dra. Jeannie Nascimento dos Santos, Dr. Francisco Tiago de Vasconcelos Melo, Dr. Adriano Penha Furtado, Me. Raul Henrique da Silva Pinheiro e Lucas, do Laboratório de Biologia Celular e Helmintologia; Profa. Dra. Reinalda Marisa Lanfredi, da UFPA, por terem me recebido de braços abertos em seu ambiente de trabalho e terem tido a paciência de ensinar técnicas até então desconhecidas por mim e pelos momentos de alegria proporcionados, em especial na reunião do almoço.

À Dra. Elane Guerreiro Giese, do Laboratório de Ultraestrutura-Laboratório de Histologia e Embriologia Animal/Instituto da Saúde e Produção Animal da UFRA, pela realização da microscopia eletrônica e pelos ensinamentos.

Ao Dr. Filipe Aníbal Carvalho Costa, Dra Lauren e Ma. Kerla Monteiro do Laboratório de Epidemiologia e Sistemática Molecular do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) pela realização do sequenciamento dos parasitas.

Aos meus “eternos orientandos” e hoje queridos amigos Anangela Ravena ou “Ravens”, Adriane Camila ou “Camilinha”, Jéssica Santos ou “Jessiquinha”, Kitawann Tayrone ou “Kitas” e Raimundo Leoberto ou “Leozinho” por crescerem junto comigo e estarem presentes nos momentos mais difíceis e também os mais felizes da minha jornada profissional e por me ensinarem o verdadeiro sentido da palavra AMIZADE.

Aos colegas do Laboratório de Sanidade Animal LASAN/CCA/UFPI, Joilson Ferreira, Fernanda Rocha, Tyssia Alves, Arnon Reis e Marcielly Batista, pelo auxílio importantíssimo nas necropsias e pelos momentos de convivência no laboratório.

Aos meus amigos (as) e aos amores da minha vida, minha filha Alana e meu esposo Edimar Freire pelo amor e compreensão nos momentos de ausência. A todos que, de algum modo contribuíram para realização deste trabalho, meu MUITO OBRIGADA!!!!



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	03
2.1 <i>Chelonoidis carbonarius</i> (Spix, 1824) e <i>Chelonoidis denticulatus</i> (Linnaeus, 1766) .	03
2.2 Parasitismos em <i>Chelonoidis</i> (Fitziger, 1835) .....	07
2.2.1 Família Ascarididae (Baird, 1853) .....	08
2.2.2 Família Atractidae (Travassos, 1919).....	09
2.2.3 Família Strongylidae (Baird, 1853).....	10
<b>3 CAPÍTULO I: Redescrição de <i>Chapiniella diazi</i> (Nematoda: Strongyloidea) de <i>Chelonoidis carbonarius</i> (Spix, 1824) e <i>C. denticulatus</i> (Linnaeus, 1766) da região Neotropical</b> .....	14
Resumo.....	15
Introdução .....	15
Materiais e Métodos .....	16
Resultados .....	19
Discussão.....	26
Referências .....	29
<b>4 CAPÍTULO II: Avaliação histopatológica de intestinos delgado e grosso de jabutis (<i>Chelonoidis carbonarius</i> e <i>Chelonoidis denticulatus</i>) de cativeiro parasitados por helmintos (<i>Chapiniella diazi</i> e <i>Atractis chabaudi</i>)</b> .....	31
Resumo .....	31
Introdução .....	32
Materiais e Métodos .....	32
Resultados .....	34
Discussão .....	38
Conclusões .....	40
Referências .....	40
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE</b> .....	43
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	43
<b>ANEXOS</b>	

## RESUMO

O parasitismo em jabutis é uma área ainda pouco estudada no Brasil e no mundo. As informações a respeito de seus parasitas tornam-se importantes tanto para aqueles animais criados em cativeiro como de ambiente selvagem, pois os parasitas podem ser deletérios para as populações silvestres. Objetivou-se com este trabalho, identificar a helmintofauna de jabutis (*Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766) mantidos em cativeiro no Parque Zoobotânico de Teresina PI, bem como relatar lesões histopatológicas intestinais associadas a este parasitismo. Foram elaborados dois artigos: o primeiro relata a primeira ocorrência de *Chapiniella diazi* Chabaud e Tchepprakoff, 1977 no Brasil e descreve a morfologia do parasito baseado em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura e o segundo descreve as lesões histopatológicas encontradas nos intestinos dos jabutis parasitados. Para a realização do ensaio, 142 jabutis de cativeiro fizeram parte do estudo. Foram realizadas as seguintes análises: teste de Hoffman, Willis Mollay modificado e OPG. Os 12 jabutis mais parasitados pelo exame de fezes, foram eutanasiados para coleta dos parasitas. Os helmintos foram identificados por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Após a necropsia, fragmentos de tecido dos intestinos foram coletados e conservados em formol tamponado (pH=7,4) para exame histopatológico. Os helmintos encontrados nos jabutis foram *Atractis chabaudi* Petter, 1966 e *C. diazi*, contudo a morfologia de *A. chabaudi* será relatado em outro trabalho. As lesões histopatológicas observadas no intestino delgado foram hiperemia difusa, hiperplasia difusa de células caliciformes, edema da submucosa, inflamatório linfocítico na submucosa e áreas focais de hemorragia. No intestino grosso observamos hiperemia que variou de discreta a intensa e enterite transmural granulomatosa focalmente extensa e intensa em um animal.

**Palavras-chave:** helmintofauna, jabutis, cativeiro, lesões histopatológicas.

## ABSTRACT

The parasitism of tortoises is a poorly studied area in Brazil and worldwide. The information about their parasites become important both for those animals bred in captivity as wild as the parasites can be detrimental to wild populations. The objective of this work was to identify the helminth fauna of tortoises *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) and *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766) in captivity at the Zoo and Botanical Park of Teresina PI and report intestinal histopathological lesions associated with this parasitism. Two articles were developed: the first reports the first occurrence of *Chapiniella diazi* Chabaud and Tchepakoff 1977 in Brazil and describes the morphology of parasite based on the light and scanning electron microscopy and the second describes histopathological lesions found in the intestines of infected tortoises. 142 tortoises from captivity were included in the study. The following tests were performed: Hoffman test, Willis modified Mollay and OPG. Twelve tortoises with higher intensity of infection detected by stool examination, they were euthanized for collection of parasites. Helminths were identified by light microscopy and scanning electron microscopy. After necropsy, tissue fragments of intestines were collected and preserved in buffered formalin (pH = 7.4) for histopathological examination. Helminths found in tortoises were *Atractis chabaudi* Petter, 1966 and *C. diazi*, but the morphology of *A. chabaudi* will be reported elsewhere. Histopathological lesions observed in the small intestine were diffuse hyperemia, diffuse hyperplasia of goblet cells, edema of the submucosa, inflammatory lymphocytic in the submucosa and focal areas of hemorrhage. Hyperemia observed in the large intestine which ranged from mild to severe transmural and granulomatous enteritis focally extensive and intense in one animal.

Keywords: helminth fauna, tortoises, captivity, histopathological lesions

## 1 INTRODUÇÃO

---

É cada vez maior o número de pessoas que procuram répteis como animais de companhia, o que tem ocasionado preocupação quanto ao seu impacto na saúde pública, tendo em vista que estes animais podem representar uma fonte potencial de infecção para humanos, na medida em que, por exemplo, eliminam no ambiente micro-organismos oportunistas e patogênicos pelas suas fezes (EBANI et al., 2008). Para isso, devem-se conhecer quais as espécies podem ser mantidas em cativeiro, além de ser fundamental a adoção de práticas apropriadas de criação e procedimentos adequados de quarentena (VILANI, 2007).

Geralmente, répteis selvagens e de cativeiro estão parasitados. Além disso, o estresse do cativeiro e o saneamento impróprio do ambiente de criatório podem causar sérias doenças nesses animais e levá-los inclusive à morte (WILSON; CARPENTER; 1996; FOSTER; SMITH, 2013).

Os jabutis são quelônios de hábitos terrestres, pertencentes à família Testudinidae, a segunda maior família da ordem Testudines em número de espécies (ERNST; BARBOUR; 1989; SBH, 2012). No Brasil, o jabuti piranga, *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) é provavelmente o quelônio que mais tem sido mantido em cativeiro como animal de estimação, devido a fatores culturais e amplo comércio ilegal (PINHEIRO; MATIAS, 2004).

Na lista atual de répteis do Brasil constam 744 espécies, das quais 36 são quelônios. A família Testudinidae está representada, no Brasil, por duas espécies: *C. carbonarius* e *C. denticulatus* (Linnaeus, 1766) (COSTA; BÉRNILS, 2014; NCBI, 2015).

Jabutis são animais onívoros, alimentam-se de carne, frutas doces, verduras e legumes. Possuem hábitos diurnos e gregários (vivem em bandos) e passam o tempo em busca de alimento (JACOBSON, 2007).

No maior centro mundial de criação de animais de estimação, os Estados Unidos, a última pesquisa realizada pela American Pet Products Manufacturers Association apresenta os seguintes dados: jabutis e tartarugas são os mascotes de 40% de todos os proprietários norte-americanos de répteis e anfíbios, percentual esse não atingido por nenhuma outra espécie (PETFRIENDS, 2014).

Os répteis foram o segundo grupo em quantidade de apreensões realizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e instituições parceiras entre 2005 e 2009, representando 16,67% do total de animais apreendidos, perdendo apenas para as aves. Dentre estes répteis encontramos *Chelonoidis* spp. como animais de maior apreensão (DESTRO et al., 2012).

Por ser o jabuti um animal muito utilizado em criações domésticas, embora ainda ilegal no Brasil, o conhecimento dos micro-organismos que estes animais albergam passa a ser importante para auxiliar na orientação dos proprietários quanto aos cuidados e implementação de medidas profiláticas adequadas (DELANEY-JOHNSON, 2006; PESSOA, 2009).

Poucos são os dados na literatura sobre os parasitas que ocorrem em jabutis (*Chelonoidis* spp.), e não sabemos até que ponto estes parasitas podem ser transmitidos ao homem através do convívio com estes animais. Portanto, este trabalho pretende identificar a helmintofauna de jabutis *C. carbonarius* e *C. denticulatus* apreendidos de criatórios domésticos ou oriundos de doações e mantidos em cativeiro no Parque Zoobotânico de Teresina - PI.

Esta tese apresenta a seguinte estrutura formal: resumo, abstract seguido de uma introdução, revisão de literatura; dois capítulos contendo artigos completos e referências bibliográficas da introdução geral. O primeiro capítulo é intitulado **“Redescrição de *Chapiniella diazi* (Nematoda: Strongyloidea) do *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *C. denticulatus* (Linnaeus, 1766) da região Neotropical”** a ser encaminhado para publicação na revista *Folia Parasitologica*. O segundo capítulo intitulado **“Avaliação histopatológica de intestinos delgado e grosso de jabutis (*Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus*) de cativeiro parasitados por helmintos (*Chapiniella diazi* e *Atractis chabaudi*) ”** será encaminhado para a revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Ambos estão estruturados de acordo com as normas das revistas.



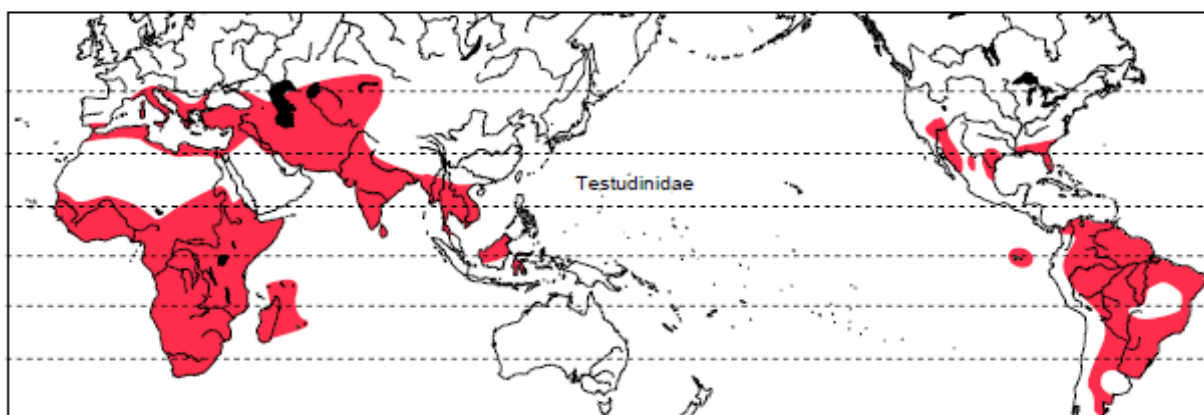
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

---

### 2.1 *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766)

Os jabutis são animais exclusivamente terrestres e a maioria habita regiões tropicais, podendo ser encontrados do Sudeste da América do Norte ao Sudeste da América do Sul, da Euroafrica mediterrânea à Indomálasia, África subsaariana, Madagascar e algumas ilhas oceânicas (Figura 1). *C. carbonarius*, (tartaruga de pé vermelho), também conhecida como jabuti piranga e *C. denticulatus* (tartaruga de pé amarelo) também conhecida como jabuti tinga são répteis comumente encontrados na América do Sul em habitat natural de floresta (VANZOLINI, 1999; FARIA; MARIANA, 2001; GREEN; SPILSBURY; TAYLOR, 2009; VITT; CALDWELL, 2014).

Figura 1-Distribuição geográfica da Família Testudinidae.



Fonte: VITT; CALDWELL, 2014

No Tupi-guarani, o nome jabuti piranga significa “o que come pouco vermelho”. Essa espécie foi originalmente atribuída ao gênero *Testudo* Linnaeus, 1758 por Carl Linnaeus, em 1758. Contudo, em 1835, Leopold Fitzinger a incluiu no gênero *Geochelone* Fitzinger, 1856 para distingui-la das tartarugas terrestres do mediterrâneo. A denominação de *Chelonoidis* Fitzinger, 1835 foi dada posteriormente, indicando ser um subgênero de *Geochelone*, que incluía espécies da América do Sul. Trabalhos realizados por Roger Bour e Charles Crumly em 1982, estabeleceram diversos gêneros de *Geochelones* baseados nas diferenças anatômicas,

especialmente do crânio, dentre eles: *Aldabrachelys* Loveridge & Williams, 1957, *Astrochelys* Gray, 1873, *Cylindraspis* Fitzinger, 1835, *Indotestudo* Lindholm, 1929, *Manouria* Gray, 1854 e *Chelonoidis* Fitzinger, 1835 (BOUR, 1982; VANZOLINI, 1999; JABUTI, 2014\*. Mas a elevação de *Chelonoidis* à categoria de gênero não foi muito aceita por Pritchard e Trebbau (1984) e Iverson (1986).

*Chelonoidis* é representado por quatro espécies da América do Sul, sendo estas: *C. carbonarius*, *C. denticulatus*, *C. chilensis* Gray, 1870 e *C. nigra* Quoy e Gaimard, 1824, sendo a última exclusiva das Ilhas de Galápagos (SILVA, 2011). A elevação ao *status* de gênero foi defendida quando Le et al. (2006) realizaram um trabalho de análise filogenética dos Testudines, que representa a mais abrangente amostragem taxonômica para esse grupo. Até então, *Chelonoidis* era considerado um subgênero de *Geochelone*.

*Chelonoidis* tem sua origem evolutiva a partir de uma espécie de tartaruga terrestre africana do gênero *Kinixys*. Estes animais provavelmente saíram do litoral do Congo e chegaram a costa do Nordeste brasileiro trazido pelas correntes marítimas. Aqui se adaptaram e deram origem ao “*Chelonoidis* ancestral”, que por sua vez se dividiu em outras espécies, dirigindo-se umas para o Norte e outras para o Sul da América do Sul durante o período oligoceno, compreendido entre 38 e 22,5 milhões de anos atrás. Este gênero distingue-se dos demais por abrigar espécies de tartarugas com ausência da placa nugal da carapaça e presença de placa supra caudal, além das diferenças no crânio (FRITZ;BININDA-EMONDS, 2007; JABUTI\* , 2014).

Atualmente, existem dois grandes grupos de *Chelonoidis*: o grupo carbonaria e o grupo chilensis. O grupo carbonaria é representado pela espécie *Chelonoidis hesterna* que viveu aproximadamente 5 milhões de anos atrás, na região amazônica, originando os atuais jabutis tinga e os jabutis piranga que também adaptaram a regiões de campos e cerrados (CACCONI et al., 1999).

O grupo carbonaria foi originalmente identificada por Johann Baptist Von Spix em 1824 e significa “similar a carvão” devido a coloração escura do carvão que também apresenta manchas brilhantes (FARIA; MARIANA, 2001). Pesquisas envolvendo DNA mitocondrial e nuclear

\* JABUTI Piranga e jabuti Tinga. Disponível em: <<http://higoranimaais.no.comunidades.net/index.php?pagina=1280545088>>. Acesso em: 18 de maio, 2014.

relataram cinco genótipos diferentes nesta espécie (VARGAS-RAMÍREZA; CASTANÕ-MORAB;FRITZA, 2008).

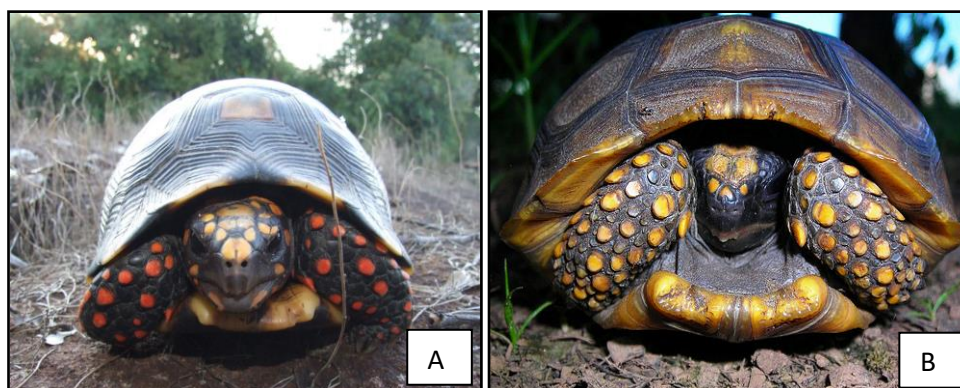
*Chelonoidis carbonarius* é neotropical, encontrado no Sudeste do Panamá, Colômbia (Oeste dos Andes, em Chocó), a Leste dos Andes, na Colômbia, Venezuela, Guiana, Guiana Francesa, Suriname, Brasil (nas partes orientais da Bacia Amazônica, Rio Grande do Sul, Goiás, Espírito Santo etc.), Peru, Bolívia, Paraguai, Argentina, Trinidad, Ilhas Virgens (St. Croix); e algumas Ilhas do Caribe e Nicarágua (JABUTI, 2014; SANTOS et al, 2014; VITT; CALDWELL, 2014; THE REPTILE DATABASE, 2015).

Os jabutis pirangas possuem em média 30-35 cm de comprimento. Os machos são maiores que as fêmeas, em média 30,4 cm, e as fêmeas 28,9 cm. Esses animais podem atingir um máximo de 40-50 cm, uma vez que eles não param de crescer. A carapaça é forte e convexa, de cor cinza, marrom ou preta, com desenhos simétricos vermelhos ou amarelados. Seu plastrão apresenta a mesma coloração escura, com forma côncava nos machos (PRITCHARD, 1979; PRITCHARD; TREBBAU, 1984; ERNEST; BARBOUR, 1989; JABUTI, 2014\*).

*Chelonoidis denticulatus* é popularmente conhecida como jabuti tinga. No tupi guarani significa “o que come pouco branco”, e em inglês é conhecida como *yellow-footed tortoise*, devido a coloração amarelo de suas escamas nas patas e cabeça. Está associada a regiões de floresta tropical úmida e subtropicais (PRITCHARD;TREBBAU, 1984; SWINGLAND; KLEMENS, 1989) (Figura 2).

\* JABUTI Piranga e jabuti Tinga. Disponível em: <<http://higoreanimalis.no.comunidades.net/index.php?pagina=1280545088>>. Acesso em: 18 de maio, 2014.

Figura2- Exemplos de Jabutis do Brasil. A) Piranga (*C. carbonarius*)  
B) Tinga (*C. denticulatus*).



Fonte:

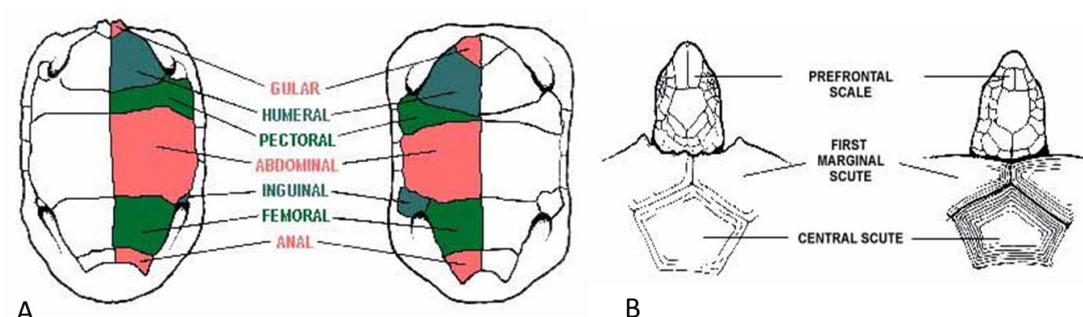
[http://www.herpetofauna.com.br/Chelonoidis\\_carbonaria.jpg](http://www.herpetofauna.com.br/Chelonoidis_carbonaria.jpg);

[https://farm9.staticflickr.com/8485/8157902597\\_2926991719.jpg](https://farm9.staticflickr.com/8485/8157902597_2926991719.jpg)

Essa espécie é muito semelhante ao jabuti piranga, especialmente porque nesta existe uma variedade que também apresenta escamas amareladas. Entretanto, algumas diferenças precisam ser relatadas: no jabuti tinga, as escamas das patas e da cabeça são amareladas, mas o nariz é preto, e a coloração é mais clara na maior parte (GEOCHELONE, 2014; JABUTI, 2014). Além disso, o jabuti piranga possui no plastrão a sutura gular curta, sutura mediana femoral geralmente mais longa que sutura mediana umeral, e a sutura inguinal bastante significativa. Ademais, apresenta pré-frontais pequenas e partidas. Já o jabuti tinga apresenta escudo gular curto em relação à porção posterior da carapaça, sutura mediana umeral geralmente mais longa que sutura mediana femoral, inguinal bastante insignificante e pré-frontais alongadas. Observa-se ainda que a carapaça dos jabutis pirangas possui laterais paralelas e o macho do jabuti tinga um formato de sino (HAGAN, 2015) (Figura 3).

A maioria dos jabutis é herbívora, alimentando-se de folhas, sementes, folhagem e frutos, principalmente de Anacardiaceae, Annonaceae, Bromeliaceae, Lecythidaceae, Melastomataceae, Moraceae, Passifloraceae, Palmae, Rubiaceae, e Sapotaceae, e ainda de insetos e carniça. Contudo, *C. carbonarius* é onívoro oportunista, alimentando-se do que encontrar pelo chão (MOSKOVITS; 1985; MOSKOVITS; BJORNDAL, 1990; MARK; MITCHELL; TULLY, 2009; VITT; CALDWELL, 2014).

Figura 3 - Diferenças anatômicas entre *Chelonoidis denticulatus* e *Chelonoidis carbonarius*. A) posições das suturas do plastrão. B) diferença entre os sulcos da carapaça.



<i>Chelonoidis denticulatus</i> (direita)	<i>Chelonoidis carbonarius</i> (esquerda)
Sutura medial do úmero geralmente maior que a sutura femoral mediana	Sutura mediana femoral maior que a sutura medial do úmero
Inguinal quase imperceptível	Sutura inguinal conspícua
Prefrontais alongadas	Pefrontais pequenas e divididas
Poucos sulcos concêntricos	Bastante sulcos concêntricos

Fonte: HAGAN, 2015(modificado).

O comércio ilegal, a perda de habitat e fatores culturais envolvendo a criação domiciliar ilegal são fatores que podem ameaçar a extinção dos jabutis tinga e piranga, já sendo bastante difícil encontrá-los em ambiente selvagem. *C. denticulatus* é considerada vulnerável pela lista vermelha da International Union for Conservation of Nature -IUCN (IUCN, 2015).

## 2.2 Parasitismo em *Chelonoidis* Fitzinger, 1835

Répteis são hospedeiros comumente parasitados apresentando, em geral, certa resistência ao parasitismo (VITT; CALDWELL, 2014). Os endoparasitas mais frequentes são protozoários, nematóides, trematódeos e cestóides (WILSON; CARPENTER, 1996). A maioria das infecções parasitárias em répteis é assintomática. Os sinais clínicos surgem quando o “equilíbrio” entre parasita/hospedeiro é quebrado e deve-se, em sua maioria, ao comprometimento imunológico, fazendo com que a infecção se evidencie (JACOBSON, 2007; MARTÍNEZ, 2007). As alterações comumente observadas são anemia, anorexia, redução da sobrevivência e competitividade, e para as fêmeas, redução da fecundidade (VITT; CALDWELL, 2014). O cativeiro é considerado um fator estressante e pode levar a doenças graves nestes animais (ALMOSNY; MONTEIRO, 2009).



Muitos nematoides como os da família Ascarididae, Cobboldinidae e Atractidae têm sido descritos na literatura mundial parasitando répteis, no entanto, há poucas revisões na literatura, especialmente de jabutis. A maioria dos trabalhos sobre parasitologia de quelônios foi realizado com espécies de tartarugas marinhas, principalmente *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758. Alguns dos parasitas são encontrados na cavidade oral, bexiga urinária, pulmões, intestino, cavidade nasal, faringe, estômago e esôfago (DEAKINS, 1980), com poucas referências na literatura para a ocorrência em *Chelonoidis*.

Vicente et al. (1993), citam que ocorrem no Brasil 121 espécies de nematoides parasitas de répteis, pertencentes a 17 superfamílias, 23 famílias e 55 gêneros. Para a espécie *C. denticulatus*, relatam parasitas da família Ascarididae como a espécie *Angusticaecum brevispiculum* Chapin, 1925; Família Strongylidae, *Chapiniella variabilis* (Chapin, 1925) Yamaguti, 1961 e *Sauricola sauricola* Chapin, 1925; Família Atractidae, *Klossinemella travassosi* Costa, Motta & Gomes, 1968, *Labduris gulosa* (Rudolphi, 1819) Schneider, 1866, *Labduris irineuta* Costa, 1961 e *Labduris zschokkei* Linstow, 1899.

Rosa et al. (2014) relataram alterações anatomopatológicas provocando lesões gastrintestinais em *C. denticulatus* de um mercado na cidade de Iquitos, no Peru, e relataram a ocorrência dos nematoides atractideos *L. gulosa*, *L. zschokkei*, *L. irineuta*, *Atractis marquezii*, *K. travassosi*, dos estrombilídeos *S. sauricola*, *C. variabilis*, dos ascarídeos *Angusticaecum holopteron* Rudolphi, 1819 e *Ophidascaris arndti* Sprehn, 1929 e dos trematodeos *Halltrema avitellina* Lent & Freitas, 1939 e *Helicotrema spirale* Diesing, 1850.

Muniz-Pereira et al. (2009) listaram a ocorrência dos seguintes parasitas em *C. denticulatus*: *A. brevispiculum*, *C. variabilis*, *H. spirale*, *K. travassosi*, *L. gulosa*, *L. irineuta*, *L. zschokkei*, *Ophiotaenia lopesi* Rego, 1967 e *S. sauricola*.

A seguir discutiremos as principais famílias de parasitas que ocorrem em répteis.

### **2.2.1 Família Ascarididae Baird, 1853**

Ascarididae inclui parasitas de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e raramente de peixes. Seus representantes possuem lábios proeminentes, sistema excretor em forma de diapasão, poro excretor ao nível do anel nervoso, cutícula não espinhosa, esôfago com ou sem ventrículo. Este desprovido de apêndice ventral ou, por vezes, com dois apêndices anteriores e três posteriores.

Nos machos o gubernáculo pode estar presente ou ausente e as fêmeas podem ser didelfas ou polidelfas (ROSA et al., 2014).

*Angusticaecum* sp foi observado parasitando *C. denticulatus* no Pará. Seus representantes caracterizam-se por apresentarem lábios com fileiras de dentes; interlábios ausentes, esôfago sem ventrículo ou bulbo posterior, ocupando aproximadamente 1/5 do corpo, ceco intestinal presente, grande e afilado. Machos com asa caudal presente ou ausente, com seis ou sete pares de papilas pré-anais e um número variável de pós-anais. Os espículos são iguais e o gubernáculo ausente. As fêmeas possuem a vulva na parte posterior do corpo (VICENTE et al., 1993).

### 2.2.2 Família Atractidae (Railliet & Henry, 1917 subfamília) Travassos, 1919

Dentre os parasitas da família Atractidae Travassos (1919) descritos em jabutis, destacam-se os gêneros *Klossinemella* Costa, 1961, *Atractis* Dujardin, 1845, *Labiduris* Schneider, 1866 (VICENTE et al., 1993).

O gênero *Klossinemella* possui descritas três espécies assinaladas no Brasil: *K. iheringi* Travassos, Artigas & Pereira 1928, *K. concilliatu*s Alho, 1964, encontrado no estômago de *Podocnemis expansa* e *Klossinemella. travassosi* Costa, Motta & Gomes, 1968, encontrada no intestino grosso de *Geochelone denticulata* Fitzinger 1836 (= *C. denticulatus*). Caracterizam-se por apresentar ciclo evolutivo direto, o qual poderá haver multiplicação no interior do tubo digestivo do próprio hospedeiro. Além disso são ovovivíparos e a larva L3 se desenvolve ainda no útero das fêmeas. A transmissão ocorre pela liberação de larvas e adultos através das fezes dos hospedeiros (VICENTE et al., 1993; PETTER, 2002).

Em um trabalho de revisão de *Klossinemella*, Costa e Bernils (1968) afirmaram que a subfamília Klossinemellinae abriga um único gênero que é o *Klossinemella*. Como característica desta subfamília os nematoides apresentam boca bilabiada, bilobada com aspecto de boca, tetralabiada e apresentando interlábios com formações quitinizadas. Esôfago constituído por duas porções bem diferenciadas, a anterior muscular e a posterior globular com uma dilatação bulbar dotada de válvulas. São nematoides parasitas gastrintestinais de peixes e tartarugas na América do Sul (MORAVEC; THATCHER, 1997).

Atractidae inclui ainda espécies de dois gêneros já descritos em quelônios: *Atractis* e *Labiduris* (ANDERSON et al., 2009). Os representantes de *Atractis* caracterizam-se por

possuírem corpo cilíndrico. Boca com seis lábios indistintos. Cápsula bucal ausente. Esôfago dividido em duas partes, sendo a anterior cilíndrica, muscular com lúmen fortemente quitinizado, circundado anteriormente por um anel nervoso e terminado num bulbo provido de aparelho valvular. Poro excretor pós-esofágico. Machos com a extremidade anterior curvada em espiral. Cauda com constrição após o ânus que forma um processo cônico subulado, longo. Asa caudal ausente. Em adição às quatro papilas caudais ventrais, há diversos pares de papilas laterais. Espículos desiguais, dissemelhantes. Gubernáculo presente. Fêmeas com cauda alongada, cônica ou subulada. Vulva próxima ao ânus. Vivíparas. Parasitas de lagartos e tartarugas (VICENTE et al., 1993; ANDERSON et al., 2009). Dentre as espécies assinaladas no Brasil temos *Atractis cruciata* Linstow, 1902 e *Atractis. trematophila* Travassos, 1934 (VICENTE et al., 1993).

Nematoides do gênero *Labiduris* caracterizam-se por apresentarem boca com três lábios proeminentes: um dorsal e dois subventrais. Lábios subventrais separados da dorsal por depressões relativamente rasas, mas profundamente dividido um do outro; com bordas medianas livres, curvadas sobrepostas, cada uma provida posteriormente de uma franja crenulada. Cavidade bucal curta. Esôfago consistindo de duas partes: a parte posterior terminando por um bulbo, que por sua vez é seguido por outro bulbo maior contendo válvulas. Machos possuindo cauda com forte constrição após a cloaca, terminando em ponta delgada de comprimento variado nas espécies. De cada lado da cloaca há um processo proeminente em forma de corneta, e na base desse processo há grandes papilas pares. Em adição a estas papilas, existem três a quatro pares de papilas pré-anais e um certo número de pós-anais. Espículos iguais, gubernáculo ausente. Fêmeas com cauda longa cônica e vulva próxima ao ânus. Vivíparas. São parasitas de tartarugas, e no Brasil foram descritas três espécies: *L. gulosa*, *L. irillella* e *L. zschokkei*, todos parasitando o intestino de *C. denticulatus* (VICENTE et al., 1993).

### **2.2.3 Família Strongylidae Baird, 1853**

A família Strongylidae caracteriza-se por apresentar parasitas de corpo espesso, com cavidade oral bem desenvolvida, geralmente circundada por coroa radiata. Quando adultos, esses parasitas habitam o trato digestivo, principalmente o ceco e o cólon (FORTES, 2004). Seus representantes, em sua maioria, possuem ovojetor tipo I (possuem forma de Y ou aberto em arranjo linear, com vulva anterior) e raio dorsal tipo I (com três ramos de cada lado da fissura mediana). Fazem exceção a esta regra, seis gêneros australianos que possuem ovojetor tipo I, contudo os raios dorsais são do tipo II (com dois ramos de cada lado da fissura mediana)

(OLSEN, 1974; LICHTENFELS, 1980; SMYTH, 1994; LICHTENFELS; KHARCHENKO; DVOINOS, 2008).

Essa família possui três subfamílias: Strongylinae Railliet, 1885, Cyathostominae Nicoll, 1927 e Phascolostromylinae Lichtenfels, 1980. Essas três subfamílias distinguem-se entre si pelas características da cápsula bucal (LICHTENFELS, 2009).

Membros da subfamília Strongilinae possuem cápsulas bucais longas, são referidos como “grandes estrongilos” e são principalmente parasitas do intestino grosso de equinos, elefantes, marsupiais australianos e avestruzes. Duas coroas lamelares estão presentes na região cefálica e não possuem sulco cervical ventral (FORTES, 2004; LICHTENFELS, 2009; BOWMAN, 2010).

Em Phascolostromylinae, os parasitas possuem cápsulas bucais curtas, cilíndrica ou globular; calha dorsal presente; raio externo dorsal que se forma a partir do raio dorsal; raios dorsais são do tipo II. São parasitas de marsupiais australianos, com apenas quatro gêneros descritos: *Phascolostromylus* Canavan, 1931, *Oesophagostomoides* Schwartz, 1928 emend. Beveridge, 1978, *Macropostromyloides* Yamaguti 1961 emend. Beveridge & Mawson, 1978, *Paramacropostromylus* Johnston & Mawson, 1940 emend. Beveridge & Mawson, 1978 (LICHTENFELS, 1980; BEVERIDGE, 1987; LICHTENFELS et al, 2008).

Em Cyathostominae, os parasitas possuem cápsulas bucais curtas ou ausentes, sulco cervical ventral ausente, conduto da glândula esofagiana dorsal curta ou ausente e não atinge a borda anterior da cápsula bucal; ovojetor e raios dorsais são do tipo I (FORTES, 2004; LICHTENFELS, 2009). São conhecidos como “pequenos estrôngilos” e são parasitas dos intestinos de cavalos, elefantes, porcos, marsupiais e tartarugas. Todos os ciatostomíneos possuem coroas lamelares externas e internas diferentes e seus elementos foliares diferem em número e tamanho. A grande maioria dos ovos liberados nas fezes de equinos naturalmente infectados são de pequenos estrôngilos. Esses superam os grandes estrôngilos (Strongilinae) tanto em número de espécies quanto em número de indivíduos. As larvas de ciatostomíneos não migram pela membrana mucosa do ceco e do cólon, e há muito mais larvas do que parasitas adultos e, conforme atinjam a maturidade, vão sendo eliminadas pelas fezes (CORNING, 2009; BOWMAN, 2010).

Cyathostominae pode ainda ser classificada em seis tribos: Cyathostominae, Eucyathostominae, Sauricolinae, Kiluluminae, Quiloniinae e Murshidiinae. Na tribo

Cyatostominea encontramos ciatostomíneos parasitas de equídeos, que apresentam coroa radiata interna e externa, ovojetores bem desenvolvidos e paralelos, espículos sem ala, gubernáculo sólido com sulco ventral. Eucyatostominea caracteriza-se por acolher ciatostomíneos, parasitas de ungulados da América do Sul, América do Norte e Europa com coroa radiata interna, inflação cuticular restrita a região cervical e anelações cuticulares finas. Na tribo Kiluluminea, encontramos raios externo dorsais originando-se separadamente dos raios dorsais; os elementos da coroa radiata e lábios cuticulares variam de 6-8 e são parasitas de rinocerontes e antas da América do Sul. Na tribo Quiloniinea, os parasitas não possuem inflação cuticular, os ovojetores são pequenos e completamente opostos e os elementos da coroa radiata são numerosos. Na tribo Murshidiinea, os ovojetores são em forma de Y, são parasitas de elefantes, rinocerontes, antas da América do Sul e javalis. A tribo Sauricolinea é única que alberga parasitas descritos em répteis (tartarugas e jabutis). Nessa tribo, o raio externo dorsal origina-se a partir do raio dorsal, a coroa radiata possui numerosos elementos foliares (18 a 36), divertículo intestinais às vezes presente, e o inchaço cuticular envolve todo o corpo. Essa tribo inclui apenas os gêneros *Sauricola* Chapin, 1924, cujos parasitas possuem esôfago curto, espesso e cilíndrico; raios dorsais simétricos com dois ramos bidigitados, e o gênero *Chapiniella* Yamaguti, 1961, com esôfago delgado, ligeiramente alargado na extremidade posterior; raios dorsais assimétricos com três ramos e alguns bifurcados (LICHTENFELS, 2009).

Ciatostomíneos têm seis estágios de vida em ciclo direto que incluem: ovos, larvas de primeiro estágio (L1), larvas de segundo estágio (L2), larvas de terceiro estágio (L3), larvas de quarto estágio (L4), larvas de quinto estágio (L5) e adultos. Os parasitas adultos vivem no lúmen intestinal, onde produzem ovos que são eliminados nas fezes. Em condições favoráveis, os ovos eclodem no meio ambiente, onde o parasita se desenvolve de L1 a L3. As formas infectantes (L3) são ingeridas com o alimento. No tubo digestivo, principalmente do cólon maior e ceco, essas larvas atravessam o epitélio intestinal e penetram a lâmina própria e submucosa. Nesses locais, desenvolvem-se em L4 e emergem para o lúmen em sua forma madura. As larvas remanescentes na parede intestinal formam cistos e entram em hipobiose, podendo permanecer assim por até dois anos (LYONS; DRUDGE; TOLLIVER, 2000).

*Chapiniella* inclui somente seis espécies descritas, das quais *Chapiniella variabilis* Chapin 1924, *Chapiniella larensis* Diaz-Ungria e Gallardo, 1968 e *Chapiniella diazi* Chabaud e Tchepprakoff, 1977 foram descritas em jabutis da América do Sul (*Chelonoidis denticulatus* Linnaeus, 1766). Somente *Chapiniella chitwoodae* Lichtenfels e Stewart, 1981 e *Chapiniella*



*galati* Lichtenfels e Stewart, 1981 foram descritos em *Gopherus polymodermus* oriundos América do Norte e a espécie *Chapiniella jellisoni* Lichtenfels e Stewart 1981 em uma tartaruga não identificada da Ásia (CHAPIN 1924, DIAZ-UNGRIA; GALLARDO, 1968, CHABAUD; TCHEPRAKOFF, 1977, LICHTENFELS; STEWART, 1981).



*Chegará o dia em que todo homem conhecerá o íntimo dos animais. Nesse dia, um crime contra um animal será considerado um crime contra a própria humanidade.*

*Leonardo da Vinci*

### 3 CAPÍTULO I

---

**Redescricao de *Chapiniella diazi* (Nematoda: Strongyloidea) de *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *C. denticulatus* (Linnaeus, 1766) da região Neotropical**

**Simone Mousinho Freire<sup>1</sup>, Anangela Ravena da Silva Leal<sup>1</sup>, Reinaldo José da Silva<sup>2</sup>, Marcelo Knoff<sup>3</sup>, Delir Corrêa Gomes<sup>3</sup>, Jeannie Nascimento dos Santos<sup>4</sup>, Elane Guerreiro Giese<sup>5</sup> e Ivete Lopes de Mendonça<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, s/n - Iningá, Teresina, Piauí, 64049-550, Brazil;

<sup>2</sup>Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres, Instituto de Biociências, Departamento de Parasitologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rubião Junior, Botucatu, SP, 18618970, Brazil;

<sup>3</sup>Laboratório de Helminthos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Av. Brasil, 4365. Pavilhão Cardoso Fontes, 3º andar, sala 55, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil;

<sup>4</sup>Laboratório de Biologia Celular e Helminthologia “Profa. Dra. Reinalda Marisa Lanfredi”, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil;

<sup>5</sup> Laboratório de Histologia e Embriologia Animal, Instituto de Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Montese, 66077-901, Belém, PA, Brazil

25  
26 **Resumo.** Espécimes de jabutis, *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e *C. denticulatus*  
27 (Linnaeus, 1766) (Testudinidae), procedentes do Parque Zoobotânico, no Município de Teresina,  
28 Estado do Piauí, Brasil, estavam parasitados com o nematoide estrombilídeo *Chapiniella diazi*  
29 (Chapin, 1924) Chabaud e Tcheprakoff, 1977 que é redescrito aqui. Novos detalhes da  
30 extremidade anterior, poro excretor e extremidade posterior do macho e fêmea são apresentados.  
31 Esses detalhes estão relacionados principalmente com as papilas cefálicas, elementos foliares das  
32 coroas externas e internas, anel nervoso, poro excretor, deirídeos, e extremidades posteriores de  
33 machos e fêmeas. A ocorrência de *C. diazi* é expandido para outro país da América do Sul.

34

### 35 **Introdução**

36 O presente estudo relata a ocorrência de *Chapiniella diazi* Chabaud e Tcheprakoff, 1977, que  
37 foram coletados no intestino grosso de 12 jabutis, 6 *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) e 6 *C.*  
38 *denticulatus* (Linnaeus, 1766) (Testudines: Cryptodira: Testudinidae) oriundos do Parque  
39 Zoobotânico, Município de Teresina, Estado do Piauí, Brasil.

40 O jabuti *C. carbonarius* ocorre a partir da região meridional da América Central (sudeste do  
41 Panamá) da metade Norte da América do Sul (Oeste dos Andes, em Chocó na Colômbia e a  
42 Leste dos Andes na Colômbia, Venezuela e Guianas, a Leste do Brasil, ao Sul do Rio de Janeiro,  
43 e de Oeste a Leste da Bolívia, Paraguai e Norte da Argentina), Trindade e algumas ilhas das  
44 Pequenas Antilhas. *Chelonoidis denticulatus* ocorre na metade norte da América do Sul a Leste  
45 dos Andes e Ilha Trindade (Fritz e Havas, 2007).

46 Somente dois gêneros de nematoides estrombilídeos, ambos da subfamília Cyathostominae  
47 Nicoll, 1927, e da tribo Sauricolina Popova de 1952, têm sido relatados em répteis (*Sauricola*  
48 Chapin, 1924 e *Chapiniella* Yamaguti, 1961, emend. Lichtenfels, 1980). *Chapiniella* foi  
49 redefinido por Lichtenfels e Stewart em 1981, quando afirmam ter esôfago delgado

50 (comprimento seis vezes maior que a largura), ligeiramente alargado posteriormente, e os  
51 machos com raio dorsal bursal com ramo bifurcado central e ramos laterais emparelhados que  
52 normalmente se bifurcam perto das extremidades distais (Lichtenfels e Stewart, 1981;  
53 Lichtenfels, 2009).

54 Entre as seis espécies de *Chapiniella* conhecidas, três foram descritas em jabutis *C.*  
55 *denticulatus* da América do Sul, uma espécie, *C. variabilis* Chapin 1924, no Estado do Pará,  
56 Brasil, e os outros dois da Venezuela, *C. larensis* Diaz-Ungria e Gallardo, 1968 e *C. diazi*  
57 (Chapin, 1924; Diaz-Ungria e Gallardo, 1968; Chabaud e Tchepprakoff, 1977; Vicente et al,  
58 1993). As outras três espécies, *C. chitwoodae* Lichtenfels e Stewart, 1981 e *C. galatii* Lichtenfels  
59 e Stewart de 1981 foram descritos na tartaruga de Gopher, *Gopherus polymodemus* (Daudin,  
60 1802) [= *Gopherus polymodemus* (Daudin, 1801)] (Testudines, Cryptodira, Testudinidae) da  
61 Georgia, EUA, e *C. jellisoni* Lichtenfels e Stewart, 1981 em uma tartaruga não identificada do  
62 Sudeste Asiático (Lichtenfels e Stewart, 1981).

63 O presente trabalho contribui com novos dados morfológicos sobre a espécie, a fim de  
64 elucidar alguns detalhes importantes e melhorar a descrição de *C. diazi*, e amplia a ocorrência  
65 desta espécie na América do Sul para o Brasil, uma vez que reporta pela primeira vez a  
66 ocorrência desta espécie em jabutis brasileiros, especificamente no Piauí.

67

## 68 **MATERIAIS E MÉTODOS**

69 De junho de 2014 a junho de 2015, foram realizados exames parasitológicos em 142  
70 jabutis, sendo 40 *C. denticulatus*, 102 *C. carbonarius* mantidos em cativeiro no Parque  
71 Zoobotânico no Município de Teresina, Estado do Piauí, Brasil (latitude 05°04'10"S; Longitude  
72 42°76' 87" W). Os 12 jabutis, 6 *C. carbonarius* e 6 *C. denticulatus*, mais parasitados foram



73 eutanasiados, para o primeiro estudo da helmintofauna de jabutis no Piauí. O estudo foi  
74 desenvolvido no Laboratório de Sanidade animal –LASAN da Universidade Federal do Piauí.

75 A identificação dos quelônios foi realizada de acordo com Fritz e Havas (2007), Olson e  
76 David (2014) e Costa e Bernils (2015). Para sedação dos animais foram usados uma associação  
77 de quetamina (15 mg / kg) e xilazina (10 mg / kg) por via intramuscular, e a eutanásia, ocorreu  
78 depois de 45 min, com uma sobredosagem de tiopental de sódio a 1% diluído em 20 ml de água  
79 destilada a uma dose de 3 ml, correspondendo a 250 mg do produto e aplicado 25 mg / kg por via  
80 intravenosa.

81 Os animais foram necropsiados e os nematoides coletados foram colocados em placas de  
82 Petri com solução de NaCl a 0,65%, fixados em AFA quente (2% de ácido acético glacial, 3% de  
83 formaldeído e 95% de etanol 70°GL), conservados em uma solução de etanol 70 ° GL acrescido  
84 de 5% de glicerina e clarificados com lactofenol de Amman, tal como descrito por Knoff e  
85 Gomes (2012).

86 A classificação taxonômica dos nematoides foi realizada de acordo com Lichtenfels e  
87 Stewart (1981), Lichtenfels (2009) e De Ley e Blaxter (2004). Foram analisadas 20 amostras de  
88 *C. diazi* para o hospedeiro *C. carbonarius*, sendo 10 exemplares machos e 10 fêmeas e também  
89 20 amostras para o hospedeiro *C.denticulatus*, sendo 10 exemplares machos e 10 fêmeas. As  
90 amostras foram analisadas por microscopia de campo claro. Análises morfométricas e os  
91 desenhos dos exemplares de *C. diazi* foram realizadas com o auxílio de um tubo de desenho  
92 ligado ao microscópio de campo claro Olympus BX41 do Laboratório de Helminhos Parasitos de  
93 Vertebrados do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC).

94 As medições são expressas em milímetros (mm), com as médias entre parênteses, a  
95 menos que indicado de outra forma; imagens foram obtidas usando um sistema de análise de  
96 imagem com câmera digital Canon (Power Shot A640) acoplado ao microscópio Zeiss Axiophot.

97           Foram mensurados para ambos os exemplares de *C. diazi* o comprimento do corpo,  
98 diâmetro e profundidade da cápsula bucal, comprimento do esôfago, largura das anelações  
99 cuticulares, distância do anel nervoso, poro excretor e deirídios à região anterior do corpo. Para  
100 os machos mensurou-se comprimento dos espículos e gubernáculo, comprimento do cone genital  
101 e comprimento do raio dorsal. Para as fêmeas, distância da vulva ao ânus, comprimento da  
102 vagina, comprimento do vestíbulo, comprimento combinado do esfíncter e infundíbulo,  
103 comprimento e largura do ovo e ainda comprimento da cauda.

104           Para a caracterização topográfica da superfície cuticular, nematoides foram analisados  
105 utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV). As amostras foram fixadas em 2,5%  
106 de glutaraldeído com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,4), fixadas em 1% de tetróxido de  
107 ósmio, desidratadas em séries de etanol (até 100 ° GL) secas em ponto crítico com CO<sub>2</sub> e  
108 montadas em bases, revestidas em ouro, examinadas e fotografadas, usando microscópio  
109 eletrônico de varredura VEGA-3 LM Tescan, com pelo menos 15 kV de tensão de aceleração.

110           A prevalência (P), intensidade média (IM), intensidade relativa (IR) e abundância média  
111 (AM) foram obtidos como descrito por Bush et al. (1997).

112           Os espécimes representativos (vouchers) foram depositados na Coleção Helminológica  
113 do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Este  
114 estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal  
115 do Piauí, Teresina, Estado do Piauí, Brasil, número 09/2015, e pelo Sistema de Autorização e  
116 Informação em Biodiversidade (SISBIO) número 44.782-1.

117

118

119

120

121 **RESULTADOS**

122 **Identificação morfológica**

123 Todos os hospedeiros (100%) estavam parasitados com adultos de nematoides. Um total  
124 de 7.333 nematoides adultos foram coletados, 4.500 de seis *C. carbonarius* e 2.833 de seis *C.*  
125 *denticulatus*. Todos estavam vivos e apresentaram alta motilidade. Eles foram identificados  
126 como a espécie descrita abaixo.

127 **Ordem: Rhabditida** Chitwood, 1933

128 **Subordem: Rhabditina** Chitwood, 1933

129 **Infraordem: Rhabditomorpha** De Ley e Blaxter, 2002

130 **Superfamília: Strongyloidea** Baird, 1853

131 **Família: Strongylidae** Baird, 1853

132 **Subfamília: Cyathostominae** Nicoll, 1927

133 **Tribo: Sauricolinae** Popova, 1952, emend. Lichtenfels, 1980

134 **Gênero: *Chapiniella*** Yamaguti, 1961, emend. Lichtenfels, 1980, redef. Lichtenfels e Stewart,  
135 1981

136 **Espécie: *Chapiniella diazi*** Chabaud e Tcheprakoff, 1977 (Figs. 1-10)

137 **Descrição geral:** Nematoides pequenos, finos, com inflação cuticular marcada por anelações  
138 grossas. Quatro papilas cefálicas submedianas com extremidades digitiformes alongadas. Duas  
139 papilas laterais (anfídios) ligeiramente elevadas. Cápsula bucal curta e rasa, larga e com formato  
140 de anel, com 30 delgados elementos foliares na coroa externa e 30 elementos foliares curtos na  
141 coroa interna visíveis por microscopia de campo claro, inseridos alternadamente na base da  
142 cápsula bucal; limite da abertura bucal dividida pelos prolongamentos dos elementos foliares da  
143 coroa externa. Sulco dorsal ausente. Esôfago delgado e longo, comprimento seis vezes maior que  
144 a largura, ligeiramente alargado posteriormente. Anel nervoso no meio do esôfago, onde existe

145 um ligeiro estreitamento da sua largura. Poro excretor, ventral e papilas cervicais (deirídios) em  
146 formato de cerdas (há uma distância de uma anelação abaixo do poro excretor) laterais, perto da  
147 base do esôfago. Espículos alados com pontas ligeiramente curvas, 23,33-28,57% (24,05%) de  
148 comprimento do corpo. Gubernáculo curto, com forma de calha na região proximal, grosso,  
149 esponjoso, com uma porção levemente esclerotizada na porção distal, fina, com uma placa  
150 densamente esclerotizada com membranas laterais; porção proximal com a projeção mediana  
151 entre os espículos. Cone genital carrega duas papilas digitiformes dorsolaterais, duas papilas  
152 internodorsais em forma de pêra, e uma projeção triangular ventral com saia membranosa. Lobo  
153 dorsal da bolsa copulatória maior que os lobos laterais; lobo dorsal não separado dos laterais;  
154 lobos laterais não completamente separados ventralmente. Todos os raios da bolsa chegam a  
155 tocar a borda, exceto os raios externodorsais e os externolaterais. Raios ventroventrais e  
156 lateroventrais são paralelos, curvados ventralmente. Raio bursal dorsal com ramo bifurcado  
157 central e ramos laterais emparelhados que se bifurcam perto das extremidades distais. Raios  
158 externodorsais originários do tronco do raio dorsal. Papilas pré-bursais presente, sendo duas  
159 papilas na superfície dorsal da bolsa copulatória próximas da borda, ao nível dos raios  
160 externodorsais. Cauda da fêmea curta; vulva perto do ânus; ovojetores paralelos, com os  
161 músculos finos. Ovojetores longos, esfíncteres e infundíbulos não marcadamente diferenciados,  
162 juntamente ocupam 2,7-5,5% do comprimento do corpo. Ovos grandes, não embrionados.

163

Tabela1- Dados morfométricos de espécimes de *Chapiniella diazi* para os hospedeiros *Chelonoidis carbonarius* e *C. denticulatus*

Características morfológicas	Machos de <i>C. diazi</i> para o hospedeiro <i>C. carbonarius</i>	Machos de <i>C. diazi</i> para o hospedeiro <i>C. denticulatus</i>	Fêmeas de <i>C. diazi</i> para o hospedeiro <i>C. carbonarius</i>	Fêmeas de <i>C. diazi</i> para o hospedeiro <i>C. denticulatus</i>
Comprimento total	3,85-7,52 (5,62)	5,3-6,9 (6,14)	5,62-9,70 (7,70)	7,25-9,07 (7,90)
Comprimento do esôfago	0,32-0,46 (0,37)	0,31-0,47 (0,41)	0,35-0,61 (0,45)	0,42-0,51 (0,45)
Distância da extremidade anterior ao anel nervoso	0,20-0,29 (0,25 n = 6)	0,214-0,231 (0,219)	0,164-0,237 (0,201) n=5	0,200-0,269 (0,231)
Distância da extremidade anterior ao poro excretor	0,33-0,65 (0,43) n = 8	0,420-0,510 (0,450) n=3	0,37-0,58 (0,48) n=8	0,46-0,53 (0,48), n=6
Distância da extremidade anterior a papila cervical (deirídios)	0,35-,54 (0,43) n = 7	0,41-0,52 (0,43) n=3	0,37-0,56 (0,46) n=6	0,43-0,55 (0,49) n=7
Profundidade da cápsula bucal	5-15 (9) µm	12,5-20 (14) µm n=9	5-10 (10) µm	10-40 (30) µm
Diâmetro da cápsula bucal	22-47 (33) µm	35-55 (46) µm n=9	25-50 (40) µm	40-80 (60) µm
Largura do corpo na base do colar cefálico	0,47-,120 (0,067)	0,06-0,09 (0,07) n=7	0,05-0,08 (0,07)	0,07-0,08 (0,08)
Largura do corpo na base do esôfago	0,140-,260 (0,190)	0,20-0,32 (0,25) n=8	0,13-0,37 (0,32)	0,20-0,29 (0,23)
Largura do corpo no meio do corpo	0,210-0,420 (0,300)	0,26-0,47 (0,35)	0,28-0,50 (0,40)	0,34-0,59 (0,44)
Largura das anelações cuticulares na base do esôfago	0,027-0,067 (0,04)	0,037-0,072 (0,05) n=8	0,025-0,090 (0,050)	0,05-0,06 (0,05) n=8
Largura das anelações cuticulares no meio do corpo	0,02-0,08 (0,04)	0,04-0,09 (0,06)	0,02-0,10 (0,05)	0,05-0,08 (0,06) n=6
Comprimento do espículo	1,10-1,81 (1,34)	1,30-1,61 (1,49)	-	-
Largura nas extremidades proximais do espículo	0,010-0,020 (0,013)	0,015-0,020 (0,018)	-	-
Comprimento do gubernáculo	0,05-0,11 (0,07, n=7).	0,087-0,125 (0,097) n=8	-	-
Comprimento do cone genital	0,02-0,03 (0,02, n=8)	0,02- 0,03 (0,02) n=4	-	-
Comprimento do raio dorsal	0,12-0,22 (0,16, n=9)	0,13-0,22 (0,17) n=9	-	-
Distância dos raios externos partir da extremidade distal	0,19-0,26 (0,21, n=7)	0,10-0,20 (0,12) n=8	-	-
Distância da vulva ao ânus	-	-	0,025-0,100 (0,050)	0,030-0,060 (0,04) n=8
Comprimento da vagina	-	-	0,050-0,055 (0,052) n=3	0,050-0,055 (0,052) n=3

Comprimento do vestíbulo	-	-	0,05-0,10 (0,09) n=7	0,075-0,100 (0,08) n=7
Comprimento combinado do esfíncter e infundíbulo	-	-	0,200-0,500 (0,300) n=2	0,200-0,500 (0,300) n=4
Comprimento do ovo	-	-	0,060-0,080 (0,070) n=20	0,060-0,080 (0,070) n=20
Largura do ovo	-	-	0,040-0,045 (0,044) n=20	0,040-0,045 (0,044) n=20
Comprimento da cauda	-	-	0,197- 0,200 (0,19)	0,20- 0,205 (0,2)
				170

Legenda: todos os dados estão em milímetros, salvo indicação ao contrário. Entre parênteses estão as médias das medidas. N=número de espécimes analisados, quando não explicitado, entenda-se 10 espécimes.

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

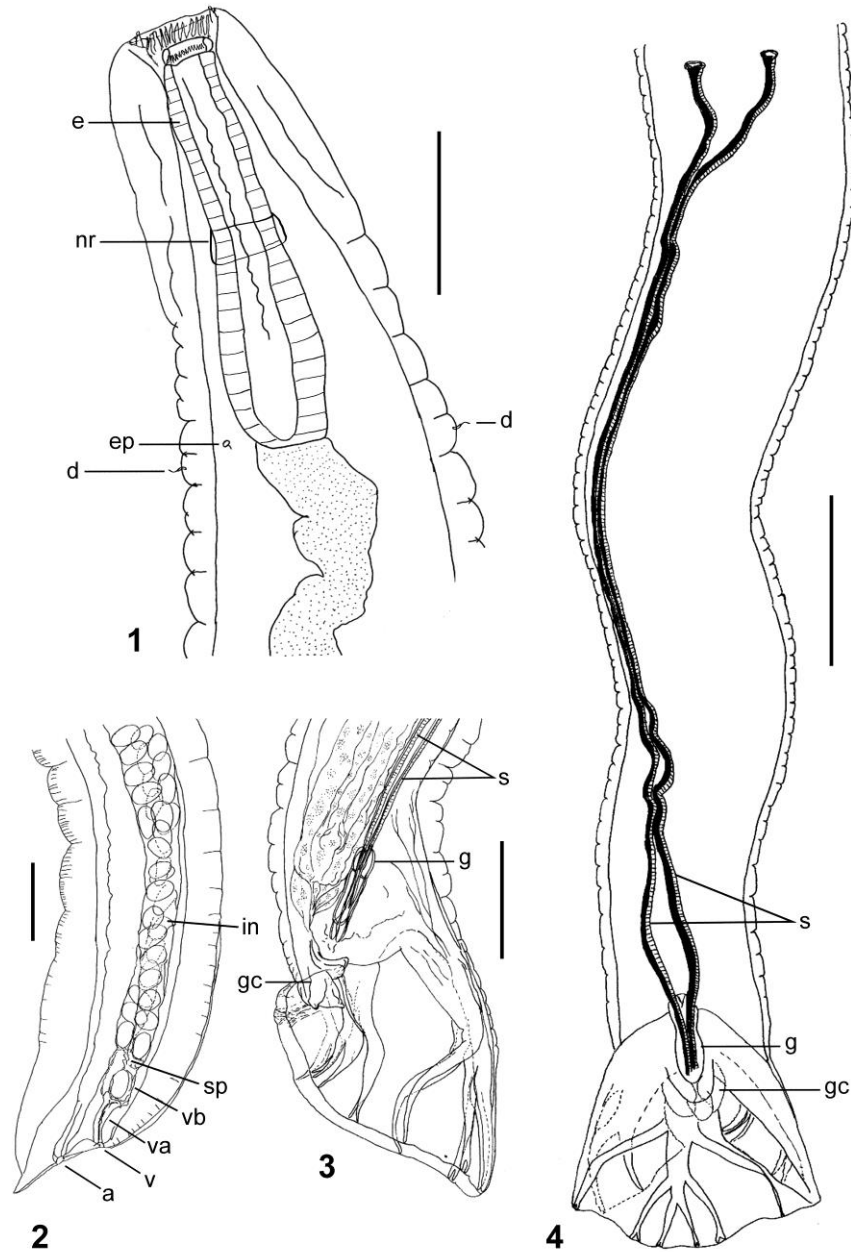
184

185

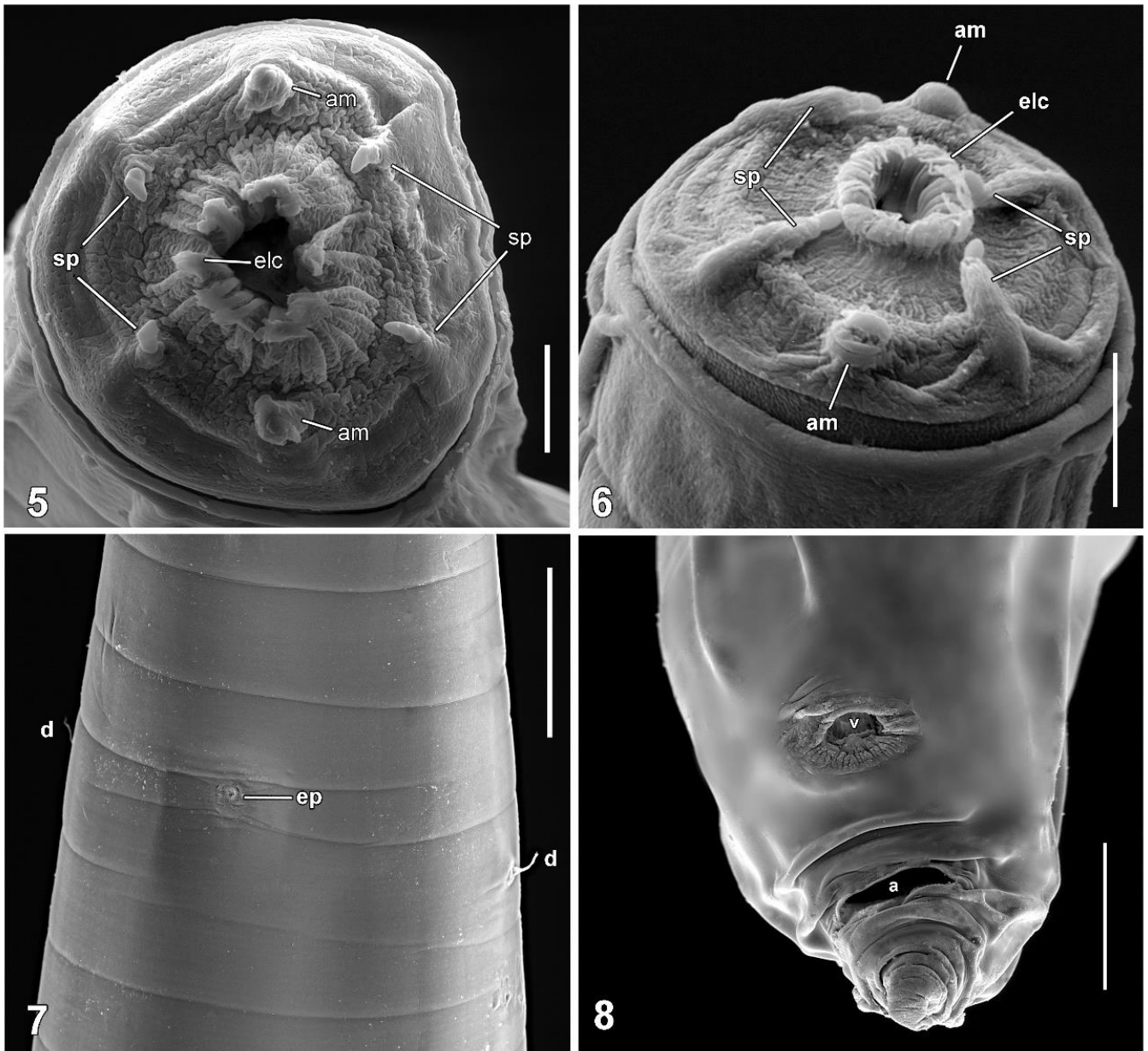
186

187

188

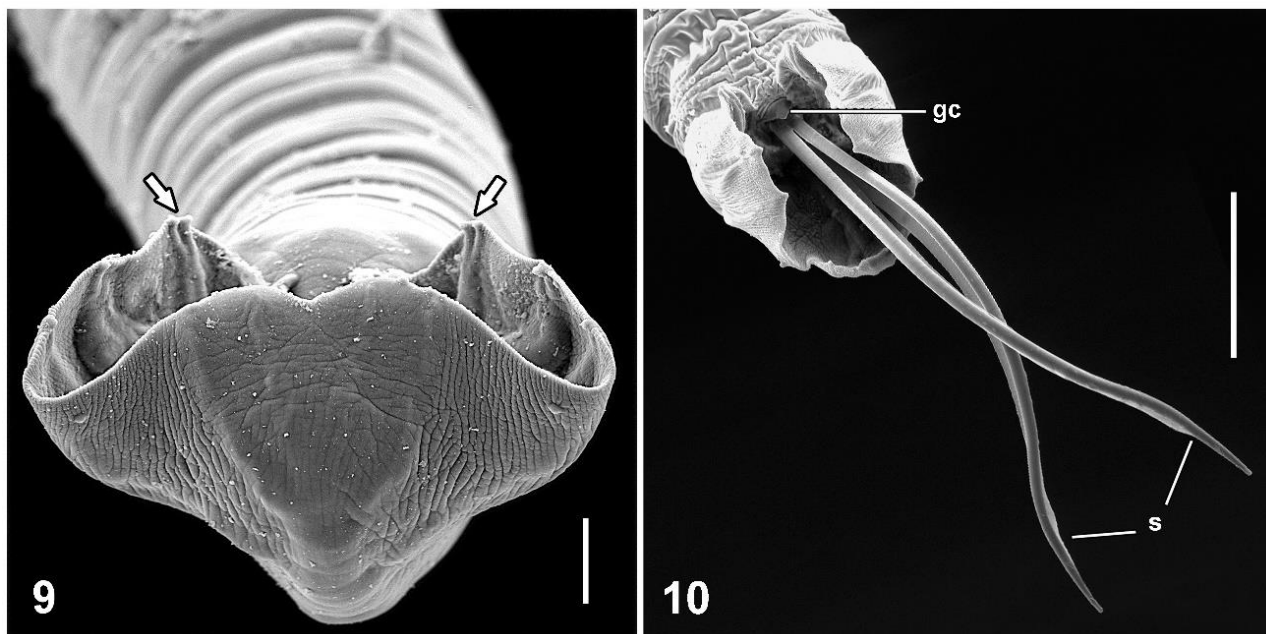


**Figs. 1-4.** *Chapiniella diazi* coletados de *Chelonoidis carbonarius*. **Fig. 1.** Macho, extremidade anterior, mostrando cápsula bucal, esôfago (e), anel nervoso (nr), papila cervical - deirídio (d), e poro excretor (ep), vista lateroventral. **Fig. 2.** Fêmea, extremidade posterior, mostrando o ânus (a), vulva (v), vagina (va), vestibulo (vb), esfíncter (sp), infundíbulo (in) e ovos, vista lateral. **Fig. 3.** Macho, extremidade posterior, mostrando bolsa copulatória, cone genital (gc), gubernáculo (g) e porção distal dos espículos (sp), vista lateral. **Fig. 4.** Macho, extremidade posterior, mostrando bolsa copulatória, cone genital (gc), gubernáculo (g) Espículos inteiros (sp), vista dorsal. Escala das barras: Fig. 1 = 100  $\mu\text{m}$ ; Figs. 3-4 = 200  $\mu\text{m}$ .



**Figs. 5-8.** *Chapiniella diazi* coletados de *Chelonoidis carbonarius* (Cc) e *C. denticulatus* (Cd) por MEV. **Figs. 5-6.** Macho e fêmea (Cc), extremidade cefálica, mostrando quarto papilas submedianas com formato digitiforme (sp), dois anfídios ligeiramente elevados com aberturas em format de C (am), e elementos foliares da coroa externa (elc), e suas extensões cuticulares subjacentes, vista enface. **Fig. 7.** Fêmea (Cc), parte da região anterior mostrando poro excretor (ep) e deirídios, vista ventral. **Fig. 8.** Fêmea (Cd), cauda mostrando a vulva (v) e ânus (a), vista ventral. Escala da barra: Fig. 5-6 = 10  $\mu$ m; Fig. 7 = 50  $\mu$ m; Fig. 8 = 40  $\mu$ m.





**Figs. 9-10.** *Chapiniella diazi* coletados de *Chelonoides carbonarius* por MEV. **Fig. 9.** Macho, cauda, mostrando bolsa copulatória, com duas papilas na superfície dorsal, e raios ventroventrais bifurcados próximo das extremidades distais (indicado por setas), ao lado dos raios ventrolaterais com as mesmas características, vista dorsal e ventral. **Fig. 10.** Macho, cauda, mostrando bolsa copulatória, com duas papilas, na superfície dorsal, cone genital (gc), e espículos extrovertidos, vista ventral. Escala da barra: Fig. 9 = 20  $\mu\text{m}$ ; Fig. 10 = 100  $\mu\text{m}$ .

191 Hospedeiros: *C. carbonarius* (*Cc*) e *C. denticulatus* (*Cd*).

192 Localização: Teresina, Estado do Piauí, Brasil (latitude 5.041087S; longitude 42.768729W),  
193 espécimes foram coletados em junho de 2015.

194 Índices parasitários: P = 100%, IM = 833.3, AM = 833.3, IR = 500-1,500 (*Cc*); P = 100%, IM =  
195 472,2, AM = 472,2, IR = 333-500 (*Cd*).

196 Sítio de infecção: intestino grosso de ambos os hospedeiros.

197 Espécimes depositados: 38142 (6 machos e 6 fêmeas) (*Cc*), material líquido; CHIOC 38143 (2  
198 machos e 5 fêmeas) (*Cd*); material líquido, vouchers.

199

200 **Discussão.** Dados morfométricos e morfológicos dos espécimes de nematoides adultos  
201 coletados de *C. carbonarius* e *C. denticulatus* do Piauí, Brasil concorda com a descrição original  
202 de *C. diazi* baseado em adultos recuperados de *C. denticulatus* (= *Testudo denticulata* L.) a partir  
203 da região de Barqisimeto, Venezuela (Chabaud e Tchepprakoff, 1977). Quando os espécimes de  
204 Chabaud e Tchepprakoff foram comparados com os espécimes brasileiros, estes apresentam  
205 comprimentos dentro das amplitudes de variações do tamanho do corpo, espículos e  
206 gubernáculo, que foram consideradas como variação intraespecífica, tendo em vista que os  
207 espécimes menores do presente trabalho apresentaram o mesmo tamanho dos espécimes  
208 venezuelanos. Também observamos o mesmo padrão de morfologia e distribuição das papilas  
209 cefálicas, na cápsula bucal com 30 elementos foliares delgados e longos da coroa externa, no  
210 esôfago, no poro excretor, nas papilas ventrais e cervicais (deirídios), nas estruturas do macho,  
211 tais como espículos, cone genital, gubernáculo, lobos dorsal e laterais da bolsa copulatória, nos  
212 raios da bolsa, nas estruturas da fêmea, como a cauda curta, vulva, ânus, ovojetores e ovos, com  
213 exceção da localização do anel nervoso. Na descrição original o anel nervoso foi descrito e  
214 desenhado com sua localização no final do esôfago "... Anneau nerveux encerclant la fin de  
215 l'oesophage ..." Chabaud e Tchepprakoff (1977, Fig. 1 C, p. 766-767). No entanto, no presente  
216 estudo foi observado a localização do anel nervoso no meio do esôfago, onde existe um ligeiro

217 estreitamento da sua largura meio do esôfago. Na verdade, em muitos espécimes o anel nervoso  
218 é difícil de observar, e adicionalmente, na junção com o intestino, na base do esôfago, por vezes,  
219 forma-se uma dobra dando a impressão de algo que envolve, isto pode dar a impressão de anel  
220 nervoso. Isto poderia explicar este equívoco na descrição original.

221 A principal característica distinguível de *C. diazi* das outras cinco espécies de *Chapiniella*  
222 são as coroas foliares de 30 elementos cada, na extremidade cefálica, que é o mesmo número  
223 observado nos espécimes do presente estudo, reforçando a nossa identificação, uma vez que nas  
224 outras espécies do gênero este número varia de 17-24 (Chapin, 1924; Diaz-Ungria e Gallardo,  
225 1968; Chabaud e Tchepprakoff, 1977; Lichtenfels e Stewart, 1981).

226 Com base nas observações por microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura  
227 (MEV) novos detalhes da morfologia da espécie foram dados. Na extremidade anterior, foi  
228 possível mostrar as características morfológicas e a localização de duas papilas submedianas  
229 com pontas digitiformes e anfídios com aberturas em forma de C nas superfícies subventrais, e  
230 duas papilas submedianas na superfície dorsal, formando uma subdivisão hexagonal entre as  
231 papilas na extremidade cefálica que estavam distribuídos simetricamente com 5 elementos, dos  
232 30 elementos foliares da coroa externa, entre cada intervalo formado pelas papilas cefálicas e os  
233 anfídios. Estudo utilizando MEV mostra um padrão semelhante da extremidade cefálica na  
234 descrição do *C. Chitwoodae* e *C. gallatii* (1981) parasitas da tartaruga Gopher, *G. polymodemus*  
235 da Geórgia, EUA, diferenciando as espécies com 19 e 17 elementos foliares das coroas,  
236 respectivamente (Lichtenfels e Stewart, 1981).

237 Nos espécimes brasileiros, foram observados por MEV a morfologia rasa e arredondada da  
238 superfície do poro excretor, deirídios em forma de cerdas há distância de uma anelação abaixo  
239 do poro excretor. Na cauda da fêmea foram mostradas as superfícies em torno da vulva com  
240 corrugações e em torno do ânus liso. Na extremidade posterior do macho foram observados que

241 a bolsa copulatória é curvada ventralmente, com o lobo dorsal não separado dos laterais; lobos  
242 laterais não completamente separados ventralmente; e foi possível observar pela MO e MEV o  
243 raio dorsal bursal com ramo bifurcado central e os ramos laterais pareados bifurcando perto das  
244 suas extremidades distais. Além disso foi demonstrado por MEV a presença de duas papilas na  
245 superfície dorsal da bolsa copulatória perto da borda ao nível dos raios externodorsais, uma  
246 característica não relatada em descrições anteriores do gênero. Em um espécime que tinha  
247 espículos alados extrovertidos, foi observado por MEV, que os mesmos estavam ligeiramente  
248 recurvados na extremidade distal.

249 *Chapiniella diazi* havia sido relatada apenas em *C. denticulatus* da Venezuela (Chabaud  
250 e Tchepprakoff, 1977). Portanto, este é o primeiro relato de *C. diazi* parasitando jabutis  
251 brasileiros, ampliando a ocorrência na América do Sul e *C. carbonarius* como um novo  
252 hospedeiro.

253 Neste estudo, os índices parasitários de *C. diazi* nas espécies de jabutis apresentaram-se  
254 bem elevad, tendo em vista que eles foram selecionados a partir do grupo de 142 jabutis,  
255 vivendo no mesmo cativeiro de 225 m<sup>2</sup>. Isso pode encontrar uma explicação no fato das espécies  
256 de *Chapiniella* terem um ciclo de vida direto (Mader 2006), o que poderia facilitar a propagação  
257 deste nematoide entre estas espécies de jabutis. De acordo com Primack e Rodrigues (2001) o  
258 agrupamento de indivíduos pode ocasionar pressão direta e crescente de parasitas e doenças.  
259 Quando uma população hospedeira é colocada em uma área de tamanho reduzido, como é o caso  
260 dos animais do nosso estudo que viviam em cativeiro, pode haver diminuição da qualidade do  
261 habitat e da disponibilidade de alimento, o que gerará um teor nutricional baixo, animais  
262 desnutridos, e conseqüentemente maior suscetibilidade a infecções. Esse agrupamento em grande  
263 quantidade pode levar ao estresse social em uma população, seguido de queda da resistência a  
264 doenças. Portanto, sugerimos melhor gerenciamento dos hospedeiros, com aplicação de anti-

265 helmínticos e redução do número de répteis por m<sup>2</sup>, aumentando o espaço disponível para eles, a  
266 fim de evitar índices parasitários mais elevados, o que poderia comprometer a saúde desses  
267 répteis no Parque Zoobotânico de Teresina.

268 **Agradecimentos.** Para Rodrigo Baptista Schmidt do Serviço de Produção e Processamento  
269 de Imagem Científica, COI, FIOCRUZ, pelo processamento de imagens, Conselho Nacional de  
270 Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq, pelo apoio financeiro parcial. Para Joilson  
271 Ferreira Batista, Fernanda Oliveira Rocha e Kitawann Tayrone de Sousa Nunes Cardoso pela  
272 ajuda nas necropsias. Para Dra Elane Guerreiro Giese do Laboratório de Histologia e  
273 embriologia Animal (LHEA/ISPA/UFRA) pelo uso do microscópio eletrônico de varredura  
274 VEGA3/TESCAN.

275

## 276 REFERÊNCIAS

277 BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.M., SHOSTAK A.W. 1997: Parasitology meets ecology on  
278 its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 83: 575-583.

279 CHABAUD A.G., TCHEPRAKOFF R. 1977: Sur *Chapiniella diazi* n. sp., strongylide parasite de  
280 *Testudo denticulata* au Vénézuéla. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.* 3e sér., n°. 469, Zool., 326:  
281 765-769.

282 CHAPIN E.A. 1924: Nematode parasites of the Brazilian land tortoise, *Testudo denticulata*. *U. S.*  
283 *Nat. Mus. Bull.* 65, art13: 1-6.

284 COSTA, H. C. AND BÉRNILS, R. S. 2015. Mudanças taxonômicas. *Herpetologia Brasileira* 4: 75-  
285 93.

286 DE LEY P., BLAXTER M. 2004: A new system for Nematoda: combining morphological  
287 characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. In: COOK R.,

- 288 HUNT D.J. eds. Nematology Monographs and Perspectives. vol. 2. E.J. Brill, Leiden, pp. 633-  
289 653.
- 290 DIAZ-UNGRIA C., GALLARDO M.F.Z. 1968: Nematodes de reptiles Venezolanos, con descripcion  
291 de varias especies nuevas. Bol. Soc. Ven. Cienc. Nat. 27: 550-570.
- 292 FRITZ, U., HAVAŠ, P. 2007. Checklist of chelonians of the world. Vertebrate Zoology, 57: 149-  
293 368.
- 294 KNOFF M., GOMES D.C. 2012: Metodologia básica para coleta e processamento de helmintos  
295 parasitos. In: MOLINARO E.M., CAPUTO L.F.G., AMENDOEIRA M.R.R. eds, Conceitos e  
296 métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. Volume 5. EPSJV, Rio de  
297 Janeiro, pp. 251-281.
- 298 LICHTENFELS J.R. 2009: 5 Strongylida. Stroglyoidea. In: Anderson R.C, Chabaud A.G.,  
299 Willmott S. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates Archival volume. CABI  
300 Publishing, Wallingford and Cambridge, pp. 69-109.
- 301 LICHTENFELS J.R., STEWART T.B. 1981: Three New Species of *Chapiniella* Yamaguti, 1961  
302 (Nematoda: Strongyloidea) from Tortoises. Proc. Helminthol. Soc. Wash. 48: 137-147
- 303 MADER D.R. 2006: Reptile Medicine and Surgery. 2st ed. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1242  
304 pp.
- 305 OLSON S.L., DAVID N. 2014: The gender of the tortoise genus *Chelonoidis* Fitzinger, 1835  
306 (Testudines: Testudinidae). Proc. Biol. Soc. Wash. 126: 393-394.
- 307 PRIMACK B.R., RODRIGUES E. 2001: Ameaças a diversidade biológicas. In: PRIMACK R.B,  
308 Rodrigues E. editors. Biologia da Conservação, cap. 2. Vida, Londrina, pp. 69-134.
- 309 VICENTE J.J., RODRIGUES H.O., GOMES D.C., PINTO, R.M. 1993: Nematoides do Brasil. Parte  
310 III. Nematoides de répteis. Rev. Brasil. Zool. 10: 19-168.



*Não há diferenças entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais. Os animais, como os homens, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento.*

*Charles Darwin*

## 4 CAPÍTULO II

---

### **Avaliação histopatológica de intestinos delgado e grosso de jabutis (*Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus*) de cativeiro parasitados por helmintos (*Chapiniella diazi* e *Atractis chabaudi*.)**

Simone Mousinho Freire<sup>2\*</sup>, Anangela Ravena da Silva Leal<sup>2</sup>, Joilson Ferreira Batista<sup>2</sup>, Fernanda Oliveira Rocha<sup>2</sup>, Silvia de Araújo França Baêta<sup>3</sup>, Ivete Lopes de Mendonça<sup>2</sup>.

**ABSTRACT.** Freire S.M., Leal A.S., Batista J.F., Rocha F.O., Baêta S.A.F. & Mendonça I.L. **Histopathological evaluation of small and large intestines of tortoises (*Chelonoidis carbonarius* and *Chelonoidis denticulatus*) of captivity infected with helminths (*Chapiniella diazi* and *Atractis chabaudi*)** Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, s/n - Ininga, Teresina, Piauí, 64049-550, Brasil; 55 (86) 32245517, [simoneuespi@gmail.com](mailto:simoneuespi@gmail.com)

This study aimed to identify and describe intestinal lesions caused by helminths in tortoises (*Chelonoidis carbonarius* and *Chelonoidis denticulatus*) kept in captivity. Were collected twelve gastrointestinal tracts of land turtles kept in captivity in the Zoobotanical Park of Teresina, Piauí. The parasitological evaluation of 142 tortoises revealed that 100% of them were infected with helminths (ascarids and strongyles), which were later identified as *Atractis chabaudi* and *Chapiniella diazi* through light and electron microscopy. Twelve more infected animals were euthanized, necropsied and samples of small and large intestines were collected and evaluated histopathology. Macroscopic analysis showed that 100% of the small and large intestine intestines had some pathological changes such as hyperemia, which was observed in 100% of the assessed intestines. Histopathological changes were observed in the small and large intestine in 100% of animals. In the small intestine hyperemia was observed (100%), diffuse goblet cell hyperplasia (75%), and submucosal edema (8.3%). In the large intestine was observed hyperemia which ranged from mild to severe in all samples, and focally extensive granulomatous enteritis transmural and severe in an animal.

INDEX TERMS: intestinal lesions, chelonia, captivity.

**RESUMO.** [Avaliação histopatológica de intestinos delgado e grosso de jabutis (*Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus*) de cativeiro parasitados por helmintos (*Chapiniella diazi* e *Atractis chabaudi*)]. Este trabalho teve como objetivo identificar e descrever lesões intestinais ocasionadas por helmintos em jabutis (*Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus*) mantidos em cativeiro no Parque Zoobotânico de Teresina, Piauí. A avaliação parasitológica de 142 destes animais revelou que 100% deles estavam parasitados por helmintos (ascarídeos e estrombilídeos), que posteriormente foram identificados como *Atractis chabaudi* e *Chapiniella diazi*, por meio de microscopia de luz e eletrônica. Os 12 animais mais parasitados foram eutanasiados, necropsiados e amostras de intestinos delgado e grosso foram coletadas e avaliadas a histopatologia. A análise macroscópica mostrou que 100% dos intestinos delgado e intestino grosso apresentavam alguma alteração patológica, como hiperemia, que foi observada em 100% dos intestinos avaliados. Alterações histopatológicas foram observadas no intestino delgado e grosso em 100% dos animais. No intestino delgado observou-se hiperemia (100%), hiperplasia difusa de células caliciformes (75%), e edema de submucosa (8,3%). No intestino grosso observou-se hiperemia que variou de discreta a intensa, em todas as amostras, e enterite transmural granulomatosa focalmente extensa e intensa, em um animal.



TERMOS DE INDEXAÇÃO: lesões intestinais, quelônios, cativo.

## INTRODUÇÃO

Os jabutis são quelônios de hábitos terrestres, pertencentes à família Testudinidae, a segunda maior família da ordem Testudines em número de espécies (Ernst & Barbour 1989). No Brasil as espécies de jabutis existentes são *Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus* (Costa & Bénils 2014). Embora sejam animais considerados silvestres e cujo comércio seja ilegal, é muito comum a criação destas espécies em ambiente domiciliar. *Chelonoidis denticulatus* está listada no apêndice II da CITES como vulnerável pela União Mundial de Conservação (IUCN 2016).

Muitos nematoides têm sido descritos na literatura mundial parasitando répteis (Jacobson 2007), no entanto há poucas revisões na literatura, especialmente de jabutis. A maioria dos trabalhos sobre parasitologia de quelônios é relacionado a espécies de tartarugas marinhas, principalmente *Chelonia mydas*. Os nematoides mais comuns relatados em quelônios terrestres são oxiurídeos, ascarídeos, ancilostomídeos e estrombilídeos (Hedley et al., 2013). Alguns helmintos já relatados são *Labiduris gulosa*, *Labiduris zschokkei*, *Labiduris irineuta*, *Atractis marquezii*, *Atractis thapari*, *Atractis morinae*, *Klossinemella travassosi*, *Sauricola sauricola*, *Chapiniella variabilis*, *Angusticaecum holopterum*, *Ophidascaris arndti*, *Angusticaecum brevispiculum*, *Helicotrema spirale*, *Labiduris gulosa*, *Labiduris irineuta*, *Ophiotaenia lopesi* e *Sauricola sauricola* (Bouamer & Morand 2006, Muniz-Pereira et al. 2009, Julca et al. 2014).

O parasitismo em répteis é tido com assintomático. Somente quando esta relação parasito-hospedeiro é quebrada, como no caso de altas cargas parasitárias é que os sinais clínicos aparecem (Keymer 1978, Rose 2005, Martinez 2007, Hedley et al. 2013). Há relatos de ulcerações, colite verminótica, espessamento da mucosa do ceco e cólon, focos hemorrágicos e congestão ocasionados pela presença de ascarídeos e oxiurídeos no intestino grosso de quelônios terrestres (Rideout et al. 1987, Frye 1991, Julca et al. 2014).

A pesquisa de parasitas em animais silvestres é uma ferramenta para o estudo sanitário de uma população e da qualidade do ambiente podendo assim compreender determinadas relações entre os parasito-hospedeiro e o meio ambiente em que vivem (Almonsay & Santos 2002).

Neste trabalho buscamos identificar parasitas gastrintestinais e descrever as lesões histopatológicas observadas em intestinos de *C. carbonarius* e *C. denticulatus* mantidos em cativeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Aspectos Éticos.** O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal do Piauí e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) através dos pareceres 093/14 e 44782-1 respectivamente, estando em conformidade com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

**Origem dos animais.** Os jabutis de cativeiro eram oriundos do Parque Zoobotânico de Teresina-PI, localizado a 5°04'10"S de latitude e 42°76'87"W de longitude.

O recinto onde se localizam os animais de cativeiro possui um espaço totalmente aberto com uma área total de 225 m<sup>2</sup>. Neste espaço os jabutis-tinga (*C. denticulatus*) dividem espaço com jabutis-piranga (*C. carbonarius*). As instalações onde os animais ficavam alojados possui um comedouro, bebedouro e uma área livre coberta.

**Análise Parasitológica.** Foram avaliados um total de 142 jabutis sendo 40 *C. denticulatus*, 102 *C. carbonarius* mantidos em cativeiro no Parque Zoobotânico de Teresina entre junho de 2014 a junho de 2015.

Para permitir a coleta adequada das fezes os animais foram colocados em decúbito dorsal em bacias de plástico 44x64 cm de 18 cm de profundidade, com restrição de espaço. Por se tratar de uma posição desconfortável para o animal, como resposta ao estímulo de estresse o animal defeca e então neste momento suas fezes foram colhidas. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Sanidade Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Todos os animais foram avaliados por exames parasitológicos pelos métodos de Hoffman (1987), Técnica de Willis-Mollay (1921) modificado usando solução de sacarose e técnica coprocologica de OPG segundo Gordon e Whitlok (1939).

**Eutanásia dos animais.** Os 12 jabutis mais parasitados (sendo 6 *C. carbonarius* e 6 *C. denticulatus*) por qualquer um dos métodos coproparasitológicos, foram eutanasiados. Utilizou-se uma associação anestésica

de ketamina (15 mg/Kg) (Vetnil) e xilazina 2% (10 mg/Kg) (Agener União), por via intramuscular. Após 45 min a indução da morte se deu com sobredose de tiopental sódico (25 mg/kg) (THIOPENTAX®, Cristália) por via endovenosa (veia braquial).

Durante a necropsia e retirada do plastrão foi realizada uma avaliação macroscópica à procura de helmintos ou qualquer anormalidade sugestiva de parasitismo na superfície dos órgãos, no tecido muscular esquelético, no tecido subcutâneo e na própria cavidade celomática. Os órgãos foram separados individualmente em placas de petri contendo solução salina 0,9% de NaCl e examinados em microscópio estereoscópico.

**Fixação e Identificação dos Parasitas.** Os helmintos coletados foram lavados em solução salina e em seguida uma parte deles foi fixado com álcool 70% quente segundo protocolo de Amato et al (1991) e outra parte fixados em AFA (2% ácido acético glacial, 3% de formaldeído e 95% de etanol 70°GL).

Em seguida os helmintos foram desidratados em série alcoólica, clarificados com lactofenol de Aman e montados em lâminas temporárias para análise em microscópio de luz.

A identificação das espécies de helmintos foi baseada em dados morfológicos e morfométricos como comprimento e largura do corpo, posição do poro excretor e papila cervical, diâmetro e profundidade da cápsula bucal, número de elementos foliares e dimensões do esôfago, espículo, gubernáculo, raios e cauda, quantidade e disposição das papilas caudais, usando para isso, as chaves de identificação de nematoides de Yamaguti (1961), Anderson et al. (2009), Vicente et al. (1993), Skrjabin et al. (1969a e 1969 b) e artigos com descrições específicas de espécies.

Para as imagens por microscopia de luz usou-se o microscópio com sistema de análise de imagens Leica Qwin D-1000, versão 4.1, do Setor de Patologia Animal, do CCA/UFPI.

Para microscopia eletrônica de varredura (MEV), os helmintos foram fixados em 2.5% glutaraldeído com 0.1 M tampão cacodilato de sódio (pH 7.4), pós-fixados em 1% tetróxido de ósmio, desidratados em série alcoólica, secos em ponto crítico com CO<sub>2</sub>, montadas em bases, revestida por borrifamento com ouro e examinados usando microscópio eletrônico de varredura VEGA-3 (Tescan) do Laboratório de Ultra-estrutura/Laboratório de Histologia e Embriologia animal/Instituto da Saúde e Produção Animal/Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA).

**Determinação da carga parasitária.** Para determinação da carga parasitária o conteúdo dos tratos gastrintestinais foi lavado com 500 mL de solução fisiológica a 0,9%. Em seguida retirou-se 1 mL desta solução para a contagem dos parasitas conforme a quantidade de espécimes. Posteriormente a carga parasitária total foi calculada multiplicando o número de indivíduos por mL e depois multiplicado pelo volume total do conjunto.

A carga parasitária foi classificada segundo Julca et al. (2014), no qual a quantidade de helmintos presente nos animais é estipulada nos seguintes valores: mínima (1-100), moderada (100-500) e abundante (maior que 500).

**Análise histopatológica dos órgãos.** Imediatamente após a eutanásia dos animais, os mesmos foram necropsiados e foram colhidos fragmentos do intestino delgado e intestino grosso, das regiões mais hiperêmicas, para realização de análise histopatológica (Welsh & Sobotta 2009). O tecido foi fixado em formol a 10% tamponado com fosfato 0,01M pH 7,4 (Mikel 1994). Os tecidos fixados em formol tamponado foram processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina, cortados a 5 µm e corados por Hematoxilina-Eosina (H-E) (Luna 1968) para exame em microscópio de luz.

Os resultados dos exames histopatológicos foram analisados de forma descritiva, mensurando-se a localização (mucosa, submucosa, muscular, serosa e transmural), distribuição (focal, multifocal e difusa) e intensidade (normal, mínima, moderada e intensa) da lesão.

## RESULTADOS

### Infecção parasitária

Os 142 jabutis do estudo apresentaram ovos de helmintos (*Atractis chabaudi*, *Chapiniella diazi*) em pelo menos um dos testes parasitológicos realizados (Fig.1).

Dos métodos utilizados, a técnica de Willis foi a que apresentou melhor resultado para presença de ovos.

Dos 12 jabutis necropsiados 100% apresentaram parasitas no intestino grosso e 04 (33,33%) no intestino delgado. Nos demais órgãos não foram encontrados parasitas.

Os helmintos identificados na necropsia foram *Atractis chabaudi* (Petter,1966) e *Chapiniella diazi* (Chabaud e Tchepprakoff, 1977), sendo o primeiro encontrado tanto no intestino grosso quanto no intestino delgado dos animais. *Chapiniella diazi* foi encontrado apenas no intestino grosso.

### Carga parasitária

Para o parasita *A. chabaudi* a carga parasitária encontrada no intestino grosso foi abundante, variando de 5.500 a 588.500 (média de 124.152 parasitas) e de 0-7500 no intestino delgado (média de 1.541 parasitas). *Chapiniella diazi* foi encontrado somente no intestino grosso com carga parasitária abundante variando de 333,3 a 1500 (média de 652,7).

### Achados anatomopatológicos

Durante a avaliação macroscópica, 100% (12/12) das amostras de intestino delgado apresentaram alteração, incluindo hiperemia 100% (12/12) e edema de parede em 8,3% (1/12). Dentre as amostras de intestino grosso, 100% (12/12) apresentaram lesão, caracterizadas por hiperemia em 91,6% (11/12), conteúdo pastoso de coloração amarelada em 8,3% (1/12) e mucosa irregular pela presença de nódulos milimétricos macios e esbranquiçados em 8,3% (1/12).

### Achados histopatológicos

A avaliação histopatológica do intestino delgado revelou alteração em todos os animais, incluindo hiperemia difusa variando de moderada 66,6% (8/12) a intensa 33,3% (4/12), hiperplasia de células caliciformes difusa discreta em 25% (3/12), moderada 50% (6/12) e intensa 16,6% (2/12), edema de submucosa difuso moderado, infiltrado inflamatório linfocítico na submucosa superficial focal moderado e áreas focais de hemorragia em 8,3%(1/12). Acúmulo intracitoplasmático de pigmento granular marrom acobreado foi observado em áreas focais de enterócitos em 8,3%(1/12) e macrófagos 8,3% (1/12) em quantidade moderada (Fig.2).

No intestino grosso, a histopatologia revelou hiperemia que variou de discreta 25% (3/12), moderada 41,6 % (5/12) a intensa 8,3% (1/12), enterite transmural granulomatosa focalmente extensa e intensa em 8,3 % (1/12), edema difuso moderado de submucosa em 8,3 % (1/12), edema difuso discreto de submucosa em 16,6% (2/12), discreto infiltrado inflamatório eosinofílico na submucosa focal em 16,6% (2/12). Semelhante ao que foi observado no intestino delgado, nas amostras de intestino grosso também foi observado acúmulo intracitoplasmático de pigmento granular marrom acobreado em áreas focais de macrófagos em 41,6% (5/12) em quantidade moderada (Fig. 3).

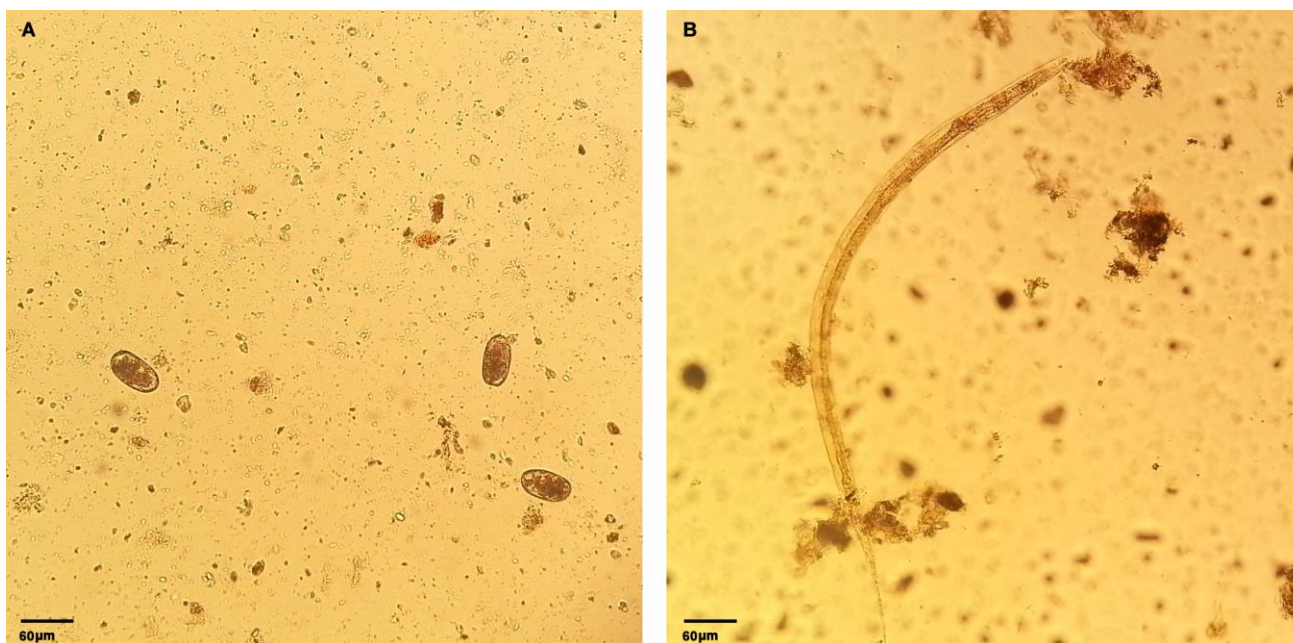


Fig. 1. Ovos de helmintos encontrados em jabutis de cativeiro, microscopia de luz. (A) ovos de *Chapiniella diazi*. (B) larva de *Atractis chabaudi*. escala das barras 60 $\mu$ .



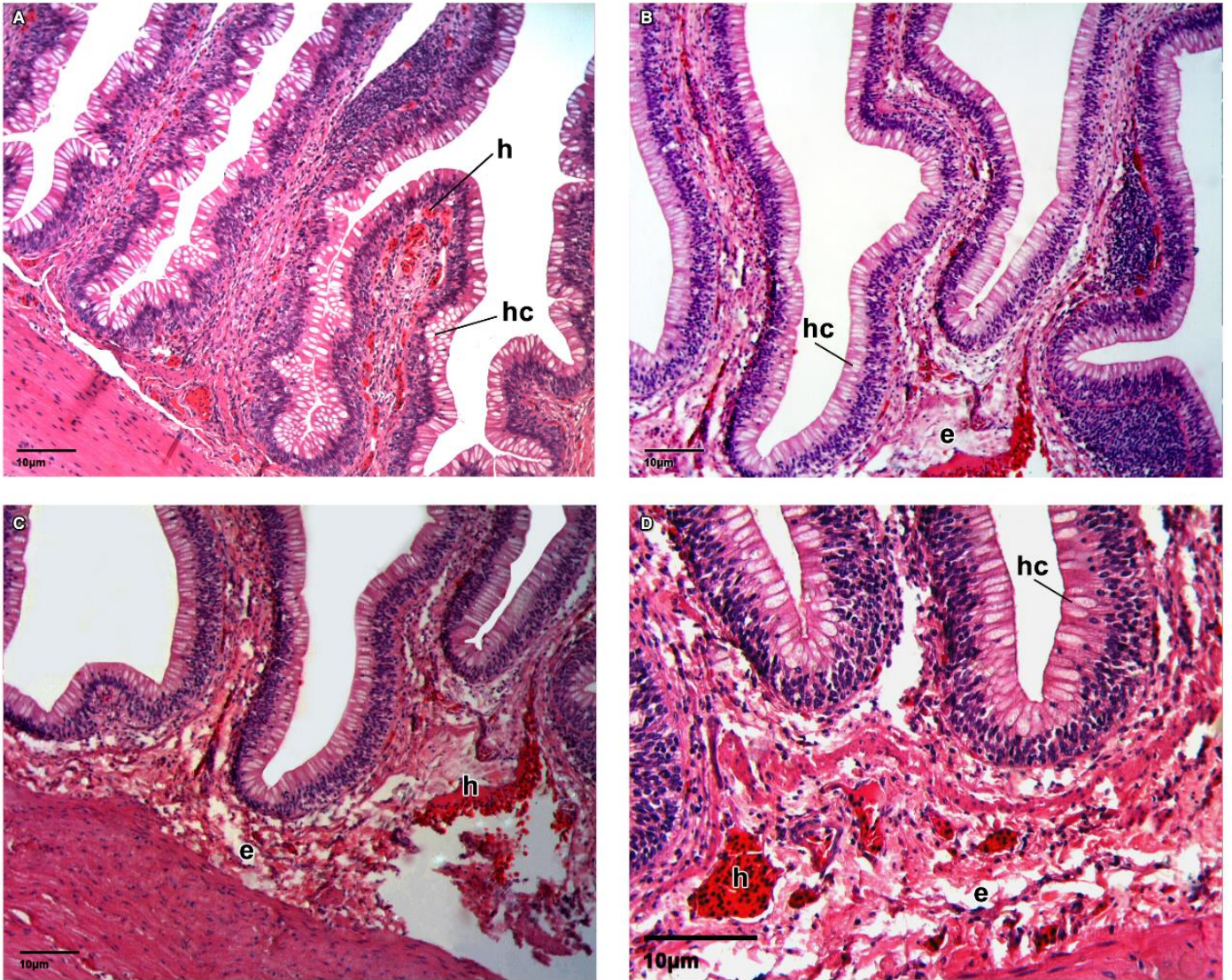


Fig.2. Intestino delgado de jabuti. A) Hiperemia (h) e hiperplasiade células caliciformes (hc), HE. B) hiperplasia de células caliciformes (hc) e edema de submucosa (e), HE. C) hiperemia (h), HE. D) hiperemia (h), hiperplasia de células caliciformes (hc) e edema de submucosa (e) HE. Escala das barras 10µ



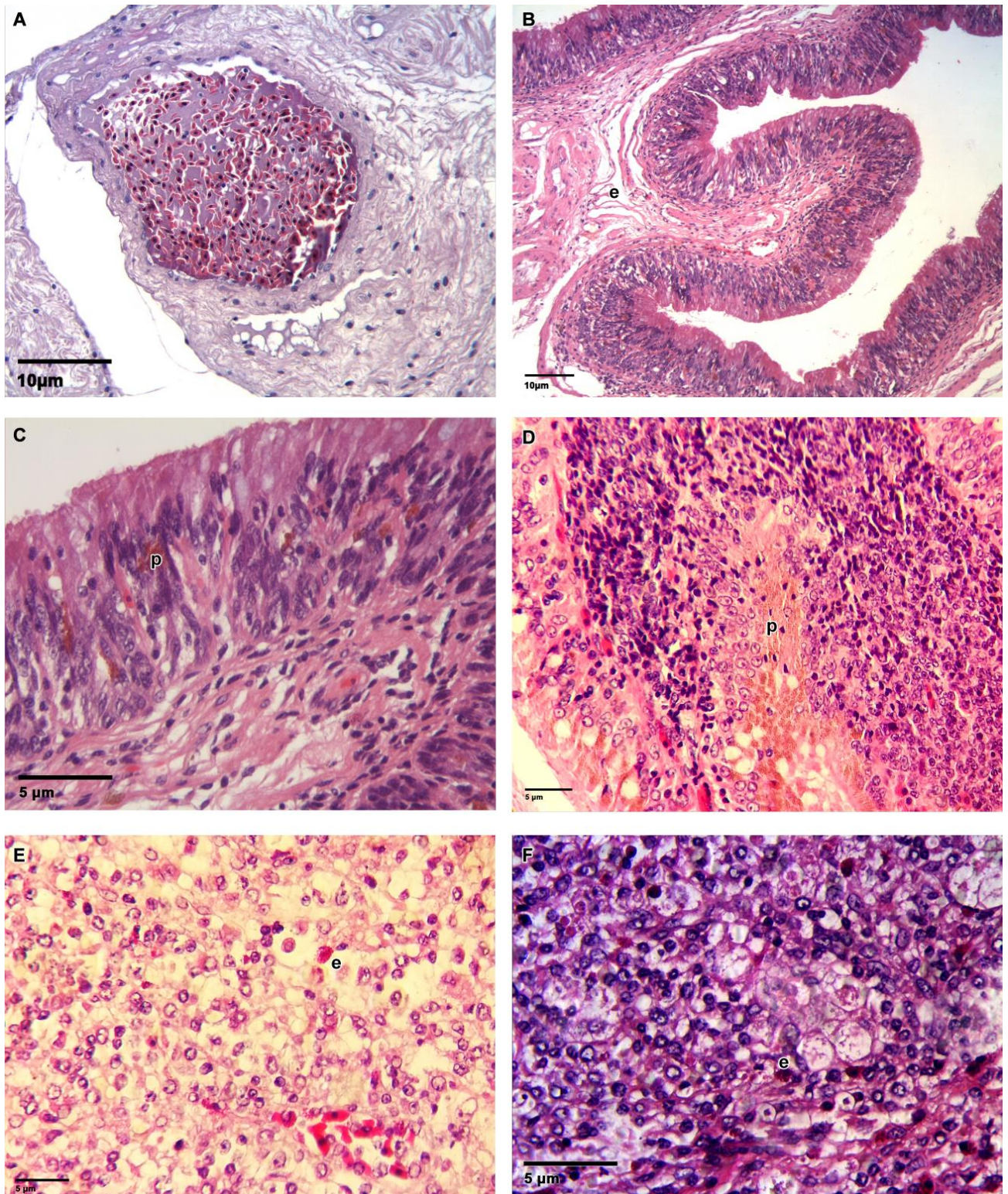


Fig.3. Intestino grosso de jabuti. A) Hiperemia , HE,escala da barra 10μ. B) edema de submucosa (e), HE, escala da barra 10μ. C-D) acúmulo intracitoplasmático de pigmento granular marrom acobreado (p), HE, escala da barra 5μ. E-F) enterite transmural , mostrando infiltrado eosinofílico (e) HE, escala da barra 5μ.



## DISCUSSÃO

Nos últimos anos a criação de répteis como animais de estimação aumentou significativamente, tendo gerado o aparecimento de novos ecossistemas que devem ser investigados para avaliar o risco a eles relacionados. Dentre estes animais os quelônios têm se destacado e, aliado ao comércio ilegal, fez surgir um problema que tem se tornado comum, que é o abandono destes animais em áreas públicas e a mistura de espécies diferentes vivendo no mesmo local. Nesse contexto de mudança ecológica envolvendo animais exóticos, o homem e agentes microbiológicos, têm-se ainda um conhecimento limitado sobre suas consequências (Hassl & Benyr 2003, Marenzoni 2015).

Acredita-se que todos os répteis que vivem em estado selvagem abrigam parasitas, entretanto sua intensidade parasitária é geralmente baixa, diferente do que ocorre em cativeiro, onde a diminuição do espaço e o convívio com vários animais fazem com que a concentração dos parasitas seja muito maior (Telford 1971, Klingenberg 1993). Parasitas de répteis mantidos em cativeiro, tais como jardins zoológicos, fazendas ou como animais domésticos, estão entre os patógenos mais frequentemente encontrados e podem induzir efeitos prejudiciais a estes animais (Greiner et al. 2006, Rataj et al. 2011).

Em nosso estudo a técnica de OPG foi utilizada para inicialmente, através dos ovos, determinar a carga parasitária dos jabutis, pois até então não se sabia quais espécies de parasitas poderiam ser encontradas até o momento da necropsia. Esta técnica também foi utilizada por Traversa et al. (2008) afim de determinar a carga parasitária de *Testudo hermanni*, *Testudo graeca* e *Testudo marginata* na Itália.

Em um trabalho realizado com *T. hermanni*, *T. marginata*, *T. graeca*, e *T. horsfieldii* de cativeiro, Marenzoni et al. (2015) verificaram presença de ovos de ascarídeos 7,9% (3/38) nestes animais. Em nosso estudo 100% (n=142) dos jabutis apresentaram ovos de ascarídeos e estrogilídeos. Isso ocorre porque ambas as espécies *C. carbonarius* e *C. denticulatus* são mantidos juntos em um terrário, o que justifica a prevalência desses parasitas. Além disso os parasitas encontrados realizam ciclo direto tendo o solo como a principal fonte de contaminação (Wilson & Carpenter 1996, Papini et al. 2011, Pierezan et al. 2009). A introdução de quelônios de diferentes origens em um mesmo ambiente aumenta o risco de novos agentes patogênicos (Marenzoni 2015), e o ambiente de cativeiro reduz a qualidade do habitat e a disponibilidade de alimento, o que acarreta um teor nutricional baixo, animais desnutridos, e consequentemente maior suscetibilidade a infecções (Primack & Rodrigues 2001)

*Chapiniella diazi* pertence à subfamília Cyatostominae e larvas de ciatostomíneos não realizam migração pela mucosa do ceco e cólon. Porém em grandes quantidades podem ocasionar diarreia aquosa associada com inflamação grave da membrana mucosa do ceco e cólon. As lesões constituem em colite granulomatosa e massas de larvas de ciatostomíneos ficam embebidas na membrana da mucosa. A maioria dos vermes é imatura e por isso a contagem de ovos são enganosamente baixas (Bowman 2010). Trabalhos realizados com jabutis mostram que nematoides tem sido observados em animais com colites (Schumacher 2006). A carga parasitária observada tanto para *Atractis chabaudi* quanto para *Chapiniella diazi* foi abundante, o que explica a hiperemia no intestino delgado e grosso.

A quantidade de parasitas encontrada nos nossos animais foi maior no intestino grosso, o que corrobora com Petter (1966), Iverson (1982), Roca (1999) e Juca et al. (2014), que demonstraram que o intestino grosso foi a região onde foram observadas infecções maciças de helmintos, principalmente devido a riqueza de material a ser digerido neste ambiente.

Numa revisão sobre doenças causadas por endoparasitas em répteis, Wilson e Carpenter, 1996 relatam que ascarídeos e estrombilídeos são parasitas comuns de répteis de cativeiro sendo responsáveis por diversas lesões nestes animais quando a carga parasitária é elevada. As lesões já relatadas nestes animais são gastroenterite com necrose e ulceração do estômago e mucosa intestinal, inflamação granulomatosa e espessamento da parede intestinal. Ascarídeos podem causar lesões quer como larvas, através da migração visceral ou como adultos, fixados na mucosa gastrintestinal (Jacobson 2007). Em nossos estudos observamos espessamento de parede intestinal, hiperplasia de células calciformes, edema de submucosa e infiltrado linfocítico no intestino delgado e hiperemia e enterite transmural granulomatosa no intestino grosso, lesões estas que podem estar relacionadas com a presença de *A. chabaudi* (ascarídeo) e *C. diazi* (estrombilídeo). Em equinos, onde os ciatostomíneos são mais estudados, achados de necropsia mostram inflamação do cólon e / ou ceco. Na mucosa existe hiperemia, hemorragia, congestão, ulceração ou necrose. Em casos mais crônicos pode ser observado espessamento da mucosa. Na histopatologia, pode haver uma resposta celular inflamatória com populações mistas de células mononucleares e polimorfonucleares, como eosinófilos. A resposta pode concentrar-se em torno das larvas na submucosa, ou pode ser mais difusa que envolve a lâmina da mucosa própria, bem como a submucosa (Corning 2009). Em outros estudos foi observado enterite hemorrágica ou fibrinosa no ceco e em outras partes do intestino grosso (Bodecek et al. 2010), enterite não supurativa e infiltração de eosinófilos, linfócitos e macrófagos na mucosa intestinal e submucosa, bem como granulomas focal e multifocal (Oryan et al. 2013).

*Chapiniella variabilis* foi relatado causando granulomas eosinofílicos na mucosa do intestino grosso em *C. denticulatus* no Peru (Juca et al. 2014), por ser ciatostomíneo esse parasito na fase larval penetra na mucosa intestinal migrando pela submucosa ou muscular onde formam nódulos e, posteriormente, retornam à luz intestinal (Bowman, 2010). Contudo, não foram encontrados parasitas nos nódulos presente no intestino grosso dos jabutis analisados.

Estruturas nodulares de coloração amarelada também foram encontradas em esôfago, intestino, estômago e fígado de serpentes parasitas com estrombilídeos. Alguns destes nódulos continham nematoides enrolados e em outros apenas um material espesso amarelado. Microscopicamente, os nódulos foram considerados granulomas em diferentes estágios de maturação, localizados no tecido adiposo subcutâneo, na subserosa do intestino delgado e intestino grosso e também na subserosa do fígado (Mihalca 2007). Um dos animais avaliados neste estudo apresentava mucosa do intestino grosso irregular pela presença de nódulos milimétricos, esbranquiçado e firme, mas não foram encontrados nematoides na histopatologia dessas áreas.



## CONCLUSÕES

Neste trabalho relatamos pela primeira vez a ocorrência de *Chapiniella diazi* em jabutis brasileiros.

Lesões anatomopatológicas e histopatológicas observadas no intestino grosso de *C. carbonarius* e *C. denticulatus* podem estar relacionadas a presença dos helmintos *Atractis chabaudi* e *Chapiniella diazi* devido à alta carga parasitária encontrada.

As lesões histopatológicas observadas por ciatostomíneos de jabutis assemelham-se às lesões encontradas por ciatostomíneos em equídeos.

*Atractis chabaudi* foi encontrado parasitando intestino delgado e grosso de *C. carbonarius* e *C. denticulatus* provenientes de cativeiro do Parque Zoobotânico de Teresina-Piauí. *Chapiniella diazi* entretanto, foi encontrado somente no intestino grosso.

**Agradecimentos.** Agradecemos a Dra. Elane Guerreiro Giese do Laboratório de Ultraestrutura-Laboratório de Histologia e Embriologia Animal/Instituto da Saúde e Produção Animal da UFRA, pela realização da microscopia eletrônica

**Declaração de conflito de interesse.** O autor (s) declara que não há quaisquer potenciais conflitos de interesses no que diz respeito à pesquisa, a autoria, e / ou publicação deste estudo  
A contribuição dos autores para publicação do artigo:

Simone Mousinho Freire: Executora e responsável por todas as etapas do estudo (doutoranda)

Anangela Ravena da Silva Leal: Executora da coleta de amostras e processamento (mestranda)

Joilson Ferreira Batista: Executor da coleta de amostras.

Fernanda Oliveira Rocha: Executora da coleta de amostras.

Silvia de Araújo França Baêta: Responsável pela análise histopatológica

Ivete Lopes de Mendonça: Professora orientadora

## REFERÊNCIAS

- Almonsay N.R.P. & Santos L.C. 2002. Laboratory Support in Wild Animal Medicine. In Fowler ME, Cubas ZS, ed. Biology, Medicine and surgery of south american wild animals. Iowa State: University Press:500-503.
- Amato J.F.R., Boeger W.A. & Amato SB. 1991. Protocolos para laboratório – Coleta e processamento de parasitos de pescado. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária UFRRJ.
- Anderson R.C., Chabaud A.G. & Willmott S. 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Archival Volume. UK: CAB International, Wallingford.
- Bodecek P., Jahn O., Dobesova E. & Vavrouchova A. 2010. Equine cyathostomosis: case reports. Vet Med. 55:187-193.
- Bouamer S. & Morand S. 2006. Nematodes parasites of testudinidae (chelonina): list of species and biogeographical distribution. Anna l e S Zoologi C I. 56(2): 225-240.
- Bowman D.D. 2010. Parasitologia veterinária de Georgis. 9. ed. Rio de Janeiro,RJ:Elsevier.
- Chabaud A.G. & Tchepprakoff R. 1977. Sur Chapiniella diazi n. sp., strongylide parasite de Testudo denticulata an Venezuela. Bull.Mus. Natl. Hist. Nat. 3e ser., N°. 469, Zool. 326: 765-769.
- Corning S. 2009. Review Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. Paras Vect. 2(2):1-6.
- Costa H.C. & Bérnils R.S. 2014. Répteis brasileiros: Lista de espécies. Herpetol Bras.3:3.
- Ernst C.H. & Barbour R.W. 1989. Turtles of the world. Washington: Smithsonian Institution Press.

- Frye F.L. 1991. Applied clinical nonhemic parasitology of reptiles. In: Frye FL, ed Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry. 2th ed. Krieger, Florida: Malabar. 281-325.
- Gordon H. McL & Whitlock H.V. 1939. A new technique four counting nematode eggs in sheep faeces. J Sci Ind Res. 12(1): 50-52.
- Greiner E.C. & Mader D.R. 2006. Parasitology. In Mader DR (ed) Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. St.Louis, US: Saunders Elsevier. 343-364.
- Hassl A. & Benyr G. 2003. Hygienic evaluation of terraria inhabited by amphibians and reptiles: cryptosporidia, free-living amebas, salmonella. Wien Klin Wochenschr. 115 (Suppl 3):68-71.
- Hedley J, Eatwell K. & Shaw D.J. 2013. Gastrointestinal parasitic burdens in UK tortoises: a survey of tortoise owners and potential risk factors. Vet Rec.173:525.
- Hoffmann R.P. 1987. Diagnóstico de Parasitismo Veterinário. Rio de Janeiro: Sulina.
- IUCN 2016. Red List of Threatened species. Acesso em: 13janeiro,. Disponível em <<http://www.iucnredlist.org/details/9008/0>>
- Iverson J.B. 1982. Adaptations to herbivore in iguane lizards. In: Burghardt GM, Rand AS, ed. Iguanas of the world: their behavior, ecology and conservation. New York, USA: Noyes Publ. 60-76.
- Jacobson E.R. 2007. Parasites and Parasitic Diseases of Reptiles. In Jacobson ER, ed. Infectious diseases and pathology of reptiles, color atlas and text. United States of America: CRC Press. 571- 597.
- Julca R.R., Casas E.A., Chavera A.C., Sánchez L.P., Sánchez N.P. & Batalla L.L. 2014. Descripción anatomopatológica de lesiones por helmintos gastrointestinales en tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*). Rev Inv Vet Perú. 25(1): 37-50.
- Keymer I.F. 1978. Diseases of chelonians: (1) Necropsy survey of tortoises. Vet Rec. 103:548-552.
- Klingenberg R.J. 1993. Understanding reptile parasites: a basic manual for herpetoculturists & veterinarians Lakeside, CA, USA: Advanced Vivarium Systems.
- Luna, G. L. 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3 th ed. New York: McGraw Hill.
- Marenzoni M.L., Zicavo A., Veronesi F., Morganti G., Scuto S., Coletti M., Passamonti F., Santoni L., Natali M. & Moretta I. 2015. Microbiological and parasitological investigation on chelonians reared in Italian facilities. Vet. Ital. 2015; 51:173-178.
- Martínez A. 2007. Parásitos digestivos en reptiles. Argos, Inf vet. 88:48.
- Mihalca A.D., Fictum P., Škoric M., Sloboda M., Karvemo S., Ghira I., Carlsson M. & Modry D. 2007. Severe Granulomatous Lesions in Several Organs from Eustrongylides Larvae in a Free-ranging Dice Snake, *Natrix tessellata*. Vet Pathol. 44:103-105.
- Mikel, U.V. 1994. Advanced laboratory methods in histology and pathology. Washington DC: American Registry of Pathology.
- Muniz-Pereira L.C, Vieira F.M. & Luque J.L. 2009. Checklist of helminth parasites of threatened vertebrate species from Brazil. Zootaxa. 2123:1-45.
- Oryan G., Farjani K. & Rajabloo M. 2013. Larval cyathostomiasis in a working donkey. J Parasit Dis. 39(2):324-7
- Papini R., Manetti C. & Mancianti F. 2011. Coprological survey in pet reptiles in Italy. Vet Rec. 169:207

- Petter A.J. 1966. Equilibre des especes dans les populations the nematodes parasites du colon des tortues terrestres. Mem Mus Nat Hist Ser A Zool. 39: 1-252.
- Pierezan F., Rissi D.R., Oliveira Filho J.C., Lucena R.B., Tochetto C. Flores M.M., Rosa F.B. & Barros C.S.L. 2009. Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em eqüinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 29(5):382-386.
- Primack B.R. & Rodrigues E. 2001. Biologia da Conservação. Londrina, PR: Midiograf.
- Rataj A.V., Lindtner-Knific R., Vlahović K., Mavri U. & Dovč A. 2011. Parasites in pet reptiles. Acta Vet Scand. 53:33.
- Rideout B.A., Montali R.J., Phillips L.G. & Gardiner C.H. 1987. Mortality of captive tortoises due to viviparous nematodes of the genus *Protractis* (Family *Atractidae*). J Wildl Dis. 23:103-108.
- Roca V. 1999. Relación entre las faunas endoparasitas de reptiles y su tipo de alimentación. Rev Esp Herp. 13(1):101-121.
- Rose K. Common Diseases of Urban Wildlife Reptiles. The Australian Registry of Wildlife Health. 2005.
- Schumacher J. Selected Infectious Diseases of Wild Reptiles and Amphibians. J Exotic Pet Med. 2006;15: 18-24
- Skrjabin K.I., Shikhobalova N.P., Schulz R.S., Popova T.I., Boev S.N. & Delyamure S.L. 1969<sup>a</sup>. Key to Parasitic Nematoda: volume 1 Spirurata and filariata. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations.
- Skrjabin K.I., Shikhobalova N.P., Schulz R.S., Popova T.I., Boev S.N. & Delyamure S.L. 1969<sup>b</sup>. Key to Parasitic Nematoda: volume 3 Strongylata. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations.
- Telford, S.R. 1971. Parasitic diseases of reptiles. J Am Vet Med Ass. 159:1644-1652
- Traversa D., Iorio R., Otranto D., Modrý D. & Slapeta J. 2008. Cryptosporidium from tortoises: genetic characterisation, phylogeny and zoonotic implications. Mol Cell Probes. 22:122-128.
- Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. Nematoides do Brasil, Parte III, Nematoides de répteis. Rev Bras Zool. 1993; 10: 150.
- Welsch U. & Sobotta J. 2009. Histología. 2 th ed. Espanha: Médica Panamericana.
- Willis H.H. 1921. A simple levitation method for the detection of wookworm ova. Med J Aust. 8:375-376.
- Wilson S.C. & Carpenter J.W. 1996. Endoparasitic diseases of reptiles. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine. 5: 64-74
- Yamaguti S. 1961. Systema Helminthum, Nematodes, Vol.III, Part I, New York & London: Interscience Publishers.

### Legenda das figuras

Fig. 1. Fig. 1. Ovos de helmintos encontrados em jabutis de cativeiro, microscopia de luz. (A) ovos de *Chapiniella diazi*. (B) larva de *Atractis chabaudi*. escala das barras 60 $\mu$ .

Fig.2. Intestino delgado de jabuti. A) Hiperemia (h) e hiperplasiade células caliciformes (hc), HE. B) hiperplasia de células caliciformes (hc) e edema de submucosa (e), HE. C) hiperemia (h), HE. D) hiperemia (h), hiperplasia de células caliciformes (hc) e edema de submucosa (e) HE. Escala das barras 10 $\mu$ .

Fig.3. Intestino grosso de jabuti. A) Hiperemia , HE,escala da barra 10 $\mu$ . B) edema de submucosa (e), HE, escala da barra 10 $\mu$ . C-D) acúmulo intracitoplasmático de pigmento granular marrom acobreado (p), HE, escala da barra 5 $\mu$ . E-F) enterite transmural , mostrando infiltrado eosinofílico (e) HE, escala da barra 5 $\mu$ .

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

Neste trabalho foi analisada a fauna helmintológica de *Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus* mantidos em cativeiro no Parque Zoobotânico de Teresina-PI. Foram identificados dois helmintos sendo eles *Atractis chabaudi* e *Chapiniella diazi*, sendo que *A. chabaudi* foi encontrado parasitando intestino delgado e grosso dos jabutis enquanto que *C. diazi* estava presente somente no intestino grosso.

Lesões anatomopatológicas e histopatológicas foram observadas no intestino grosso de *C. carbonarius* e *C.denticulatus* e é provável que estejam relacionadas a presença dos helmintos *A. chabaudi* e *C. diazi* devido à alta carga parasitária encontrada.

Apresentamos o primeiro relato de *Chapiniella diazi* no Brasil.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

- 1 ALMOSNY, N.R.P.; MONTEIRO, A.O. Patologia Clínica. In: CUBAS, Z. S.; ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G.; WILLMOTT, S. **Keys to the nematode parasites of vertebrates**. Archival Volume, CAB International, Wallingford (UK), 2009,463 pp.
- 2 BEVERIDGE, I. The systematic status of Australian Strongyloidea (Nematoda). **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle** , Paris, 4e sér., 9, , section A, ft" 1 : 107-126, 1987.
- 3 BOUR, R.; CRUMLY, C. A cladistic analysis of Geochelone using cranial osteology. **Journal of Herpetology**. V. 16, n° 3,1982.

- 4 BOWMAN, D.D. **Parasitologia veterinária de Georgis**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.783 p
- 5 CACCONI, A., *et al.* Origin and evolutionary relationships of giant Galápagos tortoises. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n°. 23, 1999.
- 6 CHABAUD, A. G.; TCHEPRAKOFF, R. Sur *Chapiniella diazi* n. sp., strongylide parasite de *Testudo denticulata* an Venezuela. **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle**, 3e ser., No. 469, Zoologie 326, 765-769, 1977.
- 7 CHAPIN, E.A. Nematode parasites of the Brazilian land tortoise, *Testudo denticulata*. **Bulletin United States National Museum** 2526, 65, 1-6, 1924.
- 8 CORNING, S. Review Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. **Parasites & Vectors**, v.2(Suppl 2), 1-6,2009.
- 9 COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis brasileiros: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**. v.3 n.3, 2014. Disponível em: <  
<http://www.sbherpetologia.org.br/index.php/repteis> > Acesso em 06 de julho de 2015.
- 10 DEAKINS, D.E. Helminth diagnosis and tratmente in captive reptiles. In: Murphy, J.B. and Collins, J.T. (Eds) **Reproductive Biology and Diseases of Captive Reptiles**, Kansas – USA, 1980. p. 249-253.
- 11 DELANEY-JOHNSON C.A. Reptile zoonoses and threats to public helth. In: MADER DR, editor. **Reptile medicine and surgery**. 2a ed. Londres: W.B. Saunders; 2006. p. 1017-30.
- 12 DESTRO, G.F.G. et al. **Efforts to Combat Wild Animals Trafficking in Brazil**. Biodiversity, Book 1, chapter XX, 2012.
- 13 DIAZ-UNGRIA, C.; GALLARDO M. F. Z. Nematodes de reptiles Venezolanos, con descripcion de varias especies nuevas. **Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales**, 27 (113-114), 550-570,1968.

- 14 EBANI V., et al. Pseudomonas and Aeromonas isolates from domestic reptiles and study of their antimicrobial in vitro sensitivity. **Veterinary Research Communications**, v.32 (Suppl 1), p. 195-8, 2008.
- 15 ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the world**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1989. 313 p.
- 16 FARIA, T.N.; MARIANA, A.B. Origens e ramificações das artérias aortas esquerda e dorsal do jabuti (*Geochelone carbonaria*, Spix, 1824). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, p.155-159, 2001.
- 17 FRITZ, U.; BININDA-EMONDS, O.R.P. When genes meet nomenclature: tortoise phylogeny and the shifting generic concepts of *Testudo* and *Geochelone*. **Zoology**, v.110, n° 4, p. 298–30, 2007.
- 18 FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 4 ed. ver.ampl. São Paulo: ícone, 2004 pp 254-266.
- 19 FOSTER E SMITH. **Common Internal Parasites in Turtles and Tortoises**, 2013. Disponível em: < <http://www.peteducation.com/article.cfm?c=17+1797&aid=942> >. Acesso em: 18 de maio de 2014.
- 20 GEOCHELONE. Disponível em:< <http://www.geochelone.com.br/bras/caracteristicas.cfm>.> Acesso em: 18 de maio, 2014.
- 21 GREEN, J.; SPILSBURY, R.; TAYLOR, B. **Exploring the world of reptiles and amphibians**. The Brown Reference Group plc. 2009. p.371
- 22 HAGAN, J.W. **Differentiating *Geochelone denticulata* and *Geochelone carbonaria***. Disponível em: < <http://www.tortoise.org/archives/carbdent.html#top> > acesso em 16 de novembro de 2015.
- 23 IVERSON, J. B. **A checklist with distribution maps of the turtles of the world**. Richmond, IN: Paust Printing, 1986.
- 24 IUCN. **Red List of Threatened Species**. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). IUCN. Red List of Threatened Species. Acesso em 21 de nov. 2015

- 25 JACOBSON E.R. **Infectious diseases and pathology of reptiles, color atlas and text.** United States of America: CRC Press, 2007. 586p
- 26 LYONS, E.T; DRUDGE J.H.; TOLLIVER, S.C. Larval Cyathostomiasis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.16, p.501-513, 2000.
- 27 LE, M et al. Molecular phylogeny of tortoises (Testudines: Testudinidae) based on mitochondrial and nuclear genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.2, p.517-531, 2006.
- 28 LICHTENFELS J.R. Keys to genera of the superfamily Strongyloidea. N° 7. In: Anderson RC, Chabaud AG, Willmott S, editors. **Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates (Archival volume)**. UK: Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, pp.69-109,1980.
- 29 . LICHTENFELS J. R; STEWART T. B. Three New Species of *Chapiniella* Yamaguti, 1961 (Nematoda: Strongyloidea) from Tortoises. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**. 48(2), pp. 137-147,1981.
- 30 LICHTENFELS, J.R.; KHARCHENKO, V.A.; DVOINOS, G.M.. Ilustraded identification Keys to strongylid parasites (Strogylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Veterinary parasitology**, 156,4-161, 2008.
- 31 LICHTENFELS, J.R. Strongylida: Strongyloidea. In Anderson, R.C., Chabaud,A.G.,& Willmott,S (*Eds*) **Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates**. Archival Volume. CAB International, Wallingford (UK), 2009.
- 32 MARTÍNEZ A. Parasitos digestivos en reptiles. **Argos, Informativo veterinário**, v. 88, p. 48, 2007. Disponível em: <<http://argos.grupoasis.com/bibliografias/88.pdf>> Acesso em: 18de maio, 2014
- 33 MARK A. MITCHELL, T.; TULLY N. **Manual of exotic pet practice**. Elsevier Health Sciences, 2009
- 34 MORAVEC, F.; THATCHER, V.E. New data on the morphology and systematic status of *Klossinemella iheringi* (Nematoda: Atractidae) from an Amazonian serrasalmid fish. **Folia Parasitológica**, v.44, p. 48-54, 1997.

- 35 MOS- KOVITS, D. K. 1985. **The Behavior and Ecology of the Two Amazonian Tortoises, *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata*, in Northwestern Brazil.** Ph.D. Dissertation, University of Chicago, Illinois. SBH (2010). Sociedade Brasileira de Herpetologia. Lista Completa de Répteis do Brasil. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br>> Acesso em: 27 de abril. 2014.
- 36 MOSKOVITS, D. K.; K. A. BJORN DAL. Diet and food preferences of the tortoises *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata* in northwestern Brazil. **Herpetologica**, v. 46, n°2, p. 207–218. 1990.
- 37 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.
- 38 NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLOGY INFORMATION (NCBI): NCBI Taxonomy. Disponível em < <http://www.gbif.org/species/104104861>> acesso em 15 de nov de 2015.
- 39 OLSEN, O.W. **Animal Parasites: Their Life Cycles and Ecology.** Baltimore: University Park Press, pp 417, 1974.
- 40 PESSOA C.A. **Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica em fezes de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial risco à saúde humana.** São Paulo, SP. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2009.
- 41 PETFRIENDS. **Jabutis: aparência divertida e temperamento pacato.** Disponível em < [http://www.petfriends.com.br/enciclopedia/esp\\_repteis/repteis\\_enciclopediajabuti.htm](http://www.petfriends.com.br/enciclopedia/esp_repteis/repteis_enciclopediajabuti.htm)> acesso em: 02 de jun, 2014.
- 42 PETTER A. J. Équilibre des espèces dans les populations de nematodes parasites du colon des tortues terrestres. Memoires du Museum national d'Histoire Naturelle., Zoology, v. 39,p.1-245: in Gonzáles-solis D.; Moravec S. **A new atractid nematode, *Atractis vidale* sp.n (Nematoda: Atractidae) from cichlid fishes in southern México.** Folia parasitologica, v.49, p. 227-230, 2002.
- 43 PINHEIRO, F.P.; MATIAS, C.A.R. Fauna silvestre apreendida e resgatada no estado do Rio e Janeiro no ano de 2003. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS DO BRASIL, 28. 2004, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** Rio de Janeiro: Fundação RIOZOO, 2004.



- 44 PRITCHARD, P. C. H.; P. TREBBAU. **The turtles of Venezuela. Contributions to Herpetology**. N°. 2. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. Ohio: Athens, 1984.
- 45 PRITCHARD, P.C.H. **Encyclopedia of Turtle**, ed. T. F. H. Publication Ltda., p.179-183, 752-755, 1979.
- 46 ROSA, J.R. et al. Descrição anatomopatológica de lesões por helmintos gastrointestinais em tortugas motelo (*Chelonoidis denticulatus*). **Revista de Investigações Veterinárias del Perú**, v.25, n°1p. 37-50, 2014.
- 47 SANTOS, D.L. et al. Amphibians and reptiles from southeastern Goiás, Central Brazil. **Check List** 10(1): 131–148, 2014.
- 48 SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA (SBH). **Lista Completa de Répteis do Brasil**. 2012. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br/>>. Acesso em: 27 de abril.2014
- 49 SILVA, TIAGO LUCENA. ESTUDO MORFOLÓGICO E CITOGENÉTICO EM DUAS ESPÉCIES DE JABUTIS DO GÊNERO *Chelonoidis* (FITZINGER, 1835) (testudines). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto: [s.n.], 2011.
- 50 SMYTH D. **Introduction to animal parasitology**. 3rd. ed. New York: Cambridge University Press, 1994, pp. 418,
- 51 SWINGLAND, I. R., KLEMENS, M.L.W. **The Conservation Biology of Tortoises**. Occasional Papers of the IUCN Species Survival Commission (SSC). n° 5. 1989
- 52 THE REPTILE DATABASE. *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824), disponível em: <http://reptile-database.reptarium.cz/species?genus=Chelonoidis&species=carbonarius> acesso em 15 de novembro de 2015.
- 53 VANZOLINI, P.E. A note on the reproduction of *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata* (Testudines, Testudinidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 59(4): 593-608,1999.

- 54 VARGAS-RAMÍREZA, M.; CASTAÑÓN-MORAB, O.V.; FRITZA, U. Molecular phylogeny and divergence times of ancient South American and Malagasy river turtles (Testudines: Pleurodira: Podocnemididae). **Organisms, Diversity & Evolution**, v.8, p. 388–398, 2008.
- 55 VICENTE et al. NEMATÓIDES DO BRASIL. PARTE 11I: NEMATÓIDES DE RÉPTEIS. *Revista brasileira de Zoologia*, v. 10, n°1, p. 19-168, 1993.
- 56 VILANI, R. G. O. C. Estrutura hospitalar, quarentenário e centros de triagem. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. Cap 5, p. 33-42.
- 57 VIT L.J.; CALDWELL, J.P.. **Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles**. Fourth Edition, London: Academic Press, 2014, pp 537.
- 61 WILSON, S. C.; CARPENTER, J.W. Endoparasitic Diseases of Reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 5, n° 2, p.64- 74, 1996.

## ANEXOS