

Presença de *Hepatozoon* sp. em serpentes recepcionadas em um centro de triagem de animais silvestres na Bahia

Presence of Hepatozoon sp. in snakes received at a wildlife triage center in Bahia

Mayara Alves Horn ¹
Paulo R. Bahiano Ferreira ²
Sandra Eliza Guimarães ¹
Henrique P. Couto Rocha ²
Caio V. A. Barreto de Souza ²
Lara Ramos Nunes ³
Lourdes M. Bezerra Pessoa ⁴

¹ Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Barreiras, BA, Brasil

² Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) Recôncavo - INEMA, Cruz das Almas, BA, Brasil

³ Bióloga autônoma

⁴ Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), Barra, BA, Brasil

*Correspondência: mhorn498@gmail.com

Recebido: 11 jul 2024 | Aceito: 3 nov 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/acad.2024.22008>

Rev. Acad. Ciênc. Anim. 2024;22:e22008

Resumo

Os parasitos sanguíneos que afetam os répteis exibem uma notável diversidade em termos de gêneros e espécies, superando em variedade àqueles que afetam os mamíferos. As hemogregarinas são os parasitos mais comumente encontrados na corrente sanguínea de répteis, sendo o *Hepatozoon* spp. o mais frequente em serpentes. Objetivou-se, assim, investigar a presença de *Hepatozoon* spp. em serpentes recepcionadas no Centro de Triagem de Animais Silvestres, em Cruz das Almas, Bahia, Brasil. O estudo foi realizado entre os

meses de junho e agosto de 2023. Dezesesseis espécimes de serpentes recepcionadas durante o período foram contidos fisicamente e realizou-se a coleta de amostras sanguíneas. Extensões sanguíneas foram confeccionadas e coradas com Panótico Rápido. As lâminas foram examinadas em microscópio óptico com ampliações de 400x e 1000x. A parasitemia foi determinada pela contagem do número de parasitos visualizados em 2.000 eritrócitos, em 20 campos de 100 eritrócitos examinados. Dos 16 animais analisados, cinco (31,25%) apresentaram hemoparasitos do gênero *Hepatozoon*: *Boa constrictor* (n = 2), *Erythrolamprus reginae* (n = 1), *Epicrates assisi* (n = 1) e *Micrurus ibiboboca* (n = 1). A parasitemia média variou entre as espécies: *B. constrictor* (5,0%), *E. reginae* (5,0%), *M. ibiboboca* (2,5%) e *E. assisi* (2,5%). A prevalência de *Hepatozoon* spp. foi significativa, com variações na carga parasitária entre as espécies. Este estudo destaca a necessidade de considerar fatores ambientais e de manejo na prevalência de hemoparasitos em répteis e sugere que certas espécies, como as serpentes, podem ser mais suscetíveis à infecção por *Hepatozoon* spp.

Palavras-chave: Boídeos. Colubridae. Hemoparasitos. Ofídios. Protozoário.

Abstract

Blood parasites that affect reptiles exhibit remarkable diversity in terms of genus and species, surpassing those that affect mammals. Hemogregarines are the most commonly found parasites in the bloodstream of reptiles,

with *Hepatozoon* spp. being the most commonly found parasitizing snakes. The objective of this study was to investigate the presence of *Hepatozoon* spp. in snakes received at the Wildlife Screening Center in Cruz das Almas, Bahia, Brazil. This study was conducted between June and August 2023. Sixteen snake specimens received at the center during the study period were physically restrained and blood samples were collected. Blood smears were prepared and stained with Rapid Panoptic. The slides were examined under an optical microscope at 400× and 1000×. Parasitemia was determined by counting the number of parasites visualized in 2,000 erythrocytes, with 20 fields examined in 100 erythrocytes. Of the 16 animals analyzed, five (31.25%) presented *Hepatozoon* hemoparasites: *Boa constrictor* (n = 2), *Erythrolamprus reginae* (n = 1), *Epicrates assisi* (n = 1), and *Micrurus ibiboboca* (n = 1). The average parasitemia varied among the species: *B. constrictor* (5.0%), *E. reginae* (5.0%), *M. ibiboboca* (2.5%), and *E. assisi* (2.5%). The prevalence of *Hepatozoon* spp. was significant, with variations in the parasite load among the species. This study highlights the need to consider environmental and management factors in the prevalence of hemoparasites in reptiles and suggests that certain species, such as snakes, may be highly susceptible to infection by *Hepatozoon* spp.

Keywords: Boids. Colubrids. Hemoparasites. Ophidians. Protozoan.

Introdução

O parasitismo é uma relação ecológica em que um organismo, o parasito, vive às custas de outro organismo, conhecido como hospedeiro, obtendo recursos e nutrientes necessários para sua sobrevivência e reprodução, perpetuando a própria espécie (Machado e Castro, 2019; Monteiro, 2022).

Entre os agentes que afetam os répteis, os parasitos sanguíneos exibem uma notável diversidade em termos de gêneros e espécies, superando em variedade àqueles que afetam os mamíferos (Stacy et al., 2011). As hemogregarinas são os hemoparasitos sanguíneos mais comuns encontrados em répteis, principalmente em serpentes, sendo transmitidos por artrópodes e/ou anelídeos ou de forma vertical (Telford, 2009).

O termo hemogregarina é usado para descrever os parasitos sanguíneos pertencentes à subordem Adeleorina do filo Apicomplexa, o qual compreende três gêneros distintos: *Hemogregarina* (família Haemogregarinidae), *Hepatozoon* (família Hepatozoidae) e *Karyolysus* (família Karyolysidae) (Telford, 2009; Campbell, 2015). Infecções por *Hepatozoon* spp. são consideradas como as mais frequentes em serpentes, sendo comumente encontrado em esfregaços sanguíneos, e já foram descritas em mais de 200 espécies (Smith, 1996).

Esses parasitos geralmente não causam alterações patológicas em ofídios, no entanto, é essencial considerar os sinais clínicos e a relação parasito-hospedeiro ao avaliar a patogenicidade desse agente (Telford, 2009; Cubas et al., 2014). Alguns sinais clínicos que as serpentes podem apresentar, quando parasitadas por *Hepatozoon* spp., são anemia, anorexia, apatia e gastroenterite hemorrágica (Greiner e Mader, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de *Hepatozoon* spp. em serpentes recebidas no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), em Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

Material e métodos

O estudo foi realizado no CETAS do Instituto Hídrico e Recursos Renováveis (Inema), em Cruz das Almas, no Recôncavo Sul da Bahia (Figura 1), no período de junho a agosto de 2023.

Os animais que são recebidos no CETAS são provenientes de entrega voluntária, resgate, transferência entre os CETAS estaduais ou por apreensão. Entre as serpentes que participaram do estudo, 6,25% (n = 1) foram por transferência entre os CETAS estaduais, 56,25% (n = 9) por resgate e 37,50% (n = 6) por entrega voluntária. Muitas vezes não se sabe ao certo a origem desses animais, porém a grande maioria é das regiões próximas ao Recôncavo Baiano, onde está inserido o CETAS.

Os procedimentos para realização do estudo foram autorizados pelo Comitê de Ética no Uso Animal da Universidade do Estado da Bahia (CEUA nº 2023.0000675-10) e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade do Ministério do Meio Ambiente (SISBIO nº 86892-2).

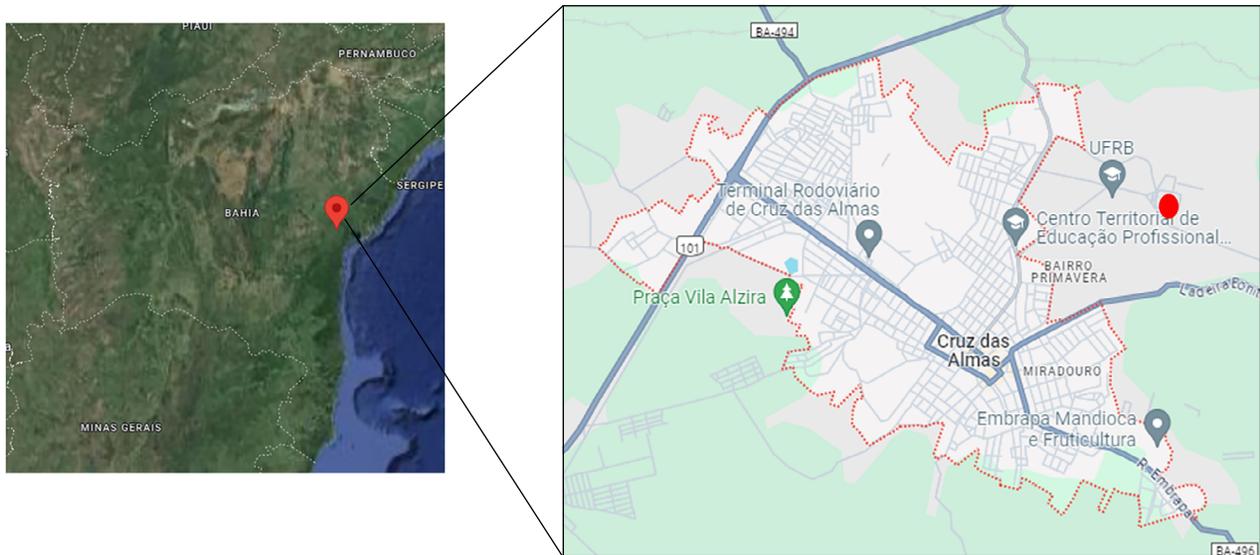


Figura 1 - À esquerda, mapa do estado da Bahia mostrando a localização da cidade de Cruz das Almas; à direita, o Centro de Triagem de Animais Silvestres (ponto vermelho), dentro do território da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Colheita e análise de amostras biológicas

Para o estudo foram realizadas colheitas de amostras de sangue total para a confecção de esfregaços sanguíneos. Após a contenção física, alíquotas sanguíneas foram coletadas através de seringas descartáveis e agulhas hipodérmicas, sendo utilizada para punção sanguínea a veia coccígea caudal ou veia espinhal dorsolateral espinhal. A quantidade da amostra obtida foi de acordo com a espécie e o comprimento total do ofídio, não ultrapassando 1% do peso vivo do animal.

As extensões sanguíneas foram confeccionadas imediatamente após a coleta do sangue, fixadas e coradas com solução Panótico Rápido, totalizando no mínimo dois esfregaços por animal. As lâminas foram examinadas em microscópio óptico com ampliações de 400 e 1000x. Os hemoparasitos encontrados foram identificados e classificados de acordo com Telford (2009), Thrall (2014) e Paiva (2017). A parasitemia foi determinada pela contagem do número de parasitos visualizados em 2000 eritrócitos, em 20 campos de 100 eritrócitos (RBC) examinados, seguindo o proposto por Godfrey et al. (1990).

Análise estatística

Os dados foram tabulados em planilhas do Microsoft Excel 2010, com as informações relativas

às amostras analisadas com os dados dos animais coletados em fichas individuais. Para conhecer a proporção de animais afetados por parasitos em uma população total de animais e por espécie, estimou-se a taxa de prevalência pela fórmula: $\text{prevalência} = (\text{n}^\circ \text{ de amostras positivas} / \text{n}^\circ \text{ total de animais na população}) \times 100$ (OPAS, 2010).

Resultados

As serpentes avaliadas no estudo pertenciam a quatro famílias e 10 espécies diferentes, totalizando 16 animais, como demonstrado na Tabela 1.

As espécies recebidas no CETAS passam por triagem, sendo realizada a avaliação física e clínica. Os animais sem sinais clínicos aparentes foram devolvidos à natureza após a colheita de sangue para o estudo.

Entre as 16 serpentes analisadas, cinco indivíduos apresentaram inclusões eritrocitárias características de infecção por hemoparasitos, havendo uma prevalência de parasitismo de 31,25%. As espécies positivas para *Hepatozoon* sp. foram *Boa constrictor* (n = 2), *Erythrolamprus reginae* (n = 1), *Epicrates assisi* (n = 1) e *Micrurus ibiboboca* (n = 1) (Tabela 2). Esses exemplares se mostraram sadios no exame físico, sem apresentar sintomatologias de parasitismo.

Tabela 1 - Quantidade de ofídios participantes do estudo (n = 16), distribuídos de acordo com a família e espécie às quais pertencem

Família	Espécie	n
Boidae	<i>Eunectes murinus</i>	1
	<i>Boa constrictor</i>	3
	<i>Epicrates assisi</i>	4
Colubridae	<i>Philodryas olfersii</i>	2
	<i>Philodryas nattereri</i>	1
	<i>Erythrolamprus miliaris</i>	1
	<i>Xenodon merremii</i>	1
	<i>Erythrolamprus reginae</i>	1
Viperidae	<i>Bothrops leucurus</i>	1
	<i>Elapidae</i>	1

Os hemoparasitos encontrados apresentaram morfotipo compatível para o gênero *Hepatozoon* sp. (filo Apicomplexa, família Hepatozoidae), apresentando o formato de "linguiça" e citoplasma de cor roxo pálido, como descrito por Telford (2009), Thrall

(2014) e Paiva (2017) (Figura 2). Observou-se, também, conforme descrito por Thrall (2014), que os achados eritrocitários apresentavam apenas um gametócito.

A parasitemia média encontrada para as espécies positivas foram de *B. constrictor* e *E. reginae*, com 100/2.000 (5,0%), e *M. ibiboboca* e *E. assisi*, com 50/2.000 (2,5%) (Tabela 3).

Tabela 2 - Prevalência de serpentes positivas para infecção por *Hepatozoon* spp. por esfregaço sanguíneo periférico em relação ao total (n = 16) de indivíduos estudados

Hospedeiros	n	%
<i>Boa constrictor</i>	2	12,50
<i>Erythrolamprus reginae</i>	1	6,25
<i>Epicrates assisi</i>	1	6,25
<i>Micrurus ibiboboca</i>	1	6,25
Total	5	31,25

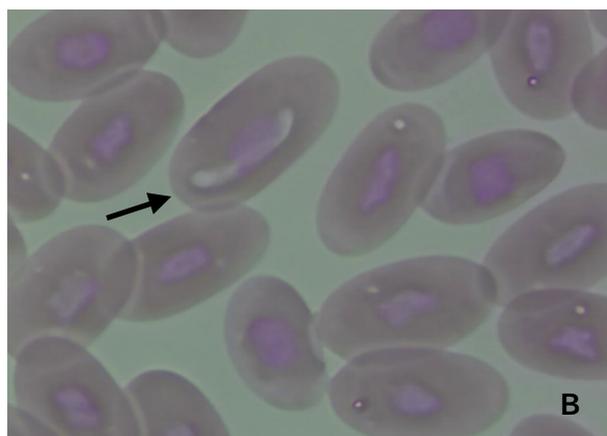
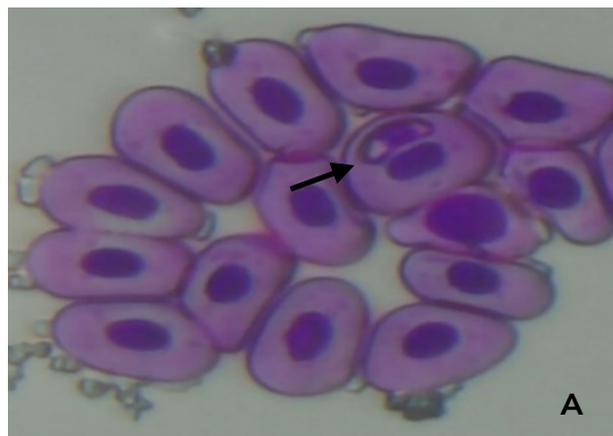


Figura 2 - Microfotografia de extensão de sangue periférico mostrando eritrócitos contendo um gametócito de hemoparasito do gênero *Hepatozoon* spp. (seta) encontrado em *Micrurus ibiboboca* (A) e em *Boa constrictor* (B). Coloração feita com Kit Panótico Rápido. Aumento de 1000x.

Tabela 3 - Análise descritiva com a parasitemia, porcentagem de hemácias parasitadas e o desvio-padrão de hemoparasitos nas serpentes que estavam positivas para *Hepatozoon* spp.

Espécie	n	Parasitemia	Hemácias parasitadas (%)	Desvio-padrão
<i>Boa constrictor</i>	2	100/2.000	5,0	± 1,25%
<i>Erythrolamprus reginae</i>	1	100/2.000	5,0	
<i>Micrurus ibiboboca</i>	1	50/2.000	2,5	
<i>Epicrates assisi</i>	1	50/2.000	2,5	

Discussão

Os hemoparasitos são frequentemente encontrados em répteis e, apesar de serem achados acidentais, podem causar doenças como anemia hemolítica. Hemogregarinas, tripanossomas e *Plasmodium* são achados comuns de hemoprotozoários nesses animais, sendo que o primeiro grupo possui maior prevalência (Thrall, 2014; Vickie, 2015).

No presente estudo, observou-se prevalência de 31,25% de serpentes infectadas por *Hepatozoon* spp., indicando uma presença significativa desse parasito nas serpentes analisadas de diferentes origens do território baiano. Esses achados corroboram os trabalhos de Telford (2009) e Cubas et al. (2014), que apontam ser frequente a presença de hematozoários do gênero *Hepatozoon* em serpentes.

Em um estudo com 25 serpentes de cativeiro no Rio Grande do Sul (Bilhalva, 2016), observou-se prevalência de parasitismo por *Hepatozoon* sp. de 4%, o que demonstra uma discrepância significativa com o presente estudo. Isto pode estar diretamente relacionado a uma maior exposição a vetores ou ambientes que sejam propícios à infecção pelo *Hepatozoon* sp. em serpentes de vida livre, como as do presente estudo.

Prevalências similares às encontradas no presente estudo também foram observadas em estudos realizados em serpentes de vida livre no estado de Minas Gerais (Paiva, 2017), onde observou-se prevalência de 29,06% de *Hepatozoon* spp., e no estado de São Paulo, com taxas de infecção entre 13,80% (Moço et al., 2007) e 16,40% (O'Dwyer et al., 2003). Nota-se que a prevalência encontrada pelos últimos autores é aproximadamente metade da porcentagem identificada na presente pesquisa. Essas variações podem ser atribuídas a diferenças na localização geográfica, visto que a pesquisa em questão ocorreu no Nordeste e os demais estudos em estados do Sudeste.

O ciclo de vida do protozoário *Hepatozoon* sp. envolve um hospedeiro definitivo, como carrapatos, mosquitos e moscas, e um hospedeiro intermediário, como os mamíferos e répteis (Baneth e Shkap, 2003). No carrapato ocorre a fase sexual, onde o protozoário forma oocistos com esporozoítos. A infecção no vertebrado ocorre pela ingestão do invertebrado infectado, liberando esporozoítos que invadem tecidos como fígado e músculos, desenvolvendo-se

em merozoítos e posteriormente em gamontes dentro dos leucócitos. Então, quando o hospedeiro definitivo se alimenta do sangue do vertebrado infectado, o ciclo se reinicia (Moço, 2008).

A parasitemia média encontrada nas espécies do presente estudo foram diferentes daquelas encontradas em outros estudos. O'Dwyer et al. (2004) relataram uma parasitemia total de 56,6% em *Crotalus durissus terrificus*, sugerindo uma alta carga parasitária em algumas espécies específicas de serpentes. Alguns outros estudos relataram baixa parasitemia, como o apresentado por Úngari et al. (2021), em que obteve-se apenas 0,25% em serpentes da espécie *Dipsas mikanii*. Essas diferenças podem estar influenciadas pela resposta imunológica das serpentes, suscetibilidade genética, diferentes hábitos alimentares e diferentes ocupações de espaços, o que impacta na exposição aos vetores e hemoparasitos.

Conclusão

Deetectou-se a presença do protozoário *Hepatozoon* spp. em serpentes que foram recebidas no CETAS-Cruz das Almas. Entre as 16 serpentes que participaram do estudo, cinco estavam positivas para o parasito e todas se mostravam saudáveis, corroborando a literatura científica. Além disso, caracterizou-se um baixo índice de parasitemia. Conclui-se, assim, que o ciclo de transmissão de *Hepatozoon* spp. está presente em diferentes espécies de serpentes e habitats do território baiano, sendo de extrema importância estudos com maior detalhamento taxonômico por meio de testes moleculares.

Agradecimentos

Ao CETAS/Inema de Cruz das Almas, por cederem o espaço para que a pesquisa ocorresse, assim como aos médicos veterinários e colaboradores envolvidos.

Referências

Baneth G, Shkap V. Monozoic cysts of *Hepatozoon canis*. J Parasitol. 2003;89(2):379-81.

- Bilhalva LC. Frequência e identificação de hemoparasitos em serpentes da família Viperidae mantidas em cativeiro em Porto Alegre, Rio Grande do Sul [monografia]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2016.
- Campbell TW. Exotic animal hematology and cytology. 4 ed. Hoboken, New Jersey: Wiley Blackwell; 2015.
- Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária - 2 Vol. São Paulo: GEN; 2014.
- Godfrey Jr RD, Pence DB, Fedynich AM. Effects of host and spatial factors on a haemoproteid community in mourning doves from western Texas. *J Wildl Dis.* 1990;26(4):435-41.
- Greiner E, Mader D. Parasitology. In: Mader D. Reptile medicine and surgery. 2 ed. Florida: Saunders Elsevier; 2006.
- Machado C, Castro BB. Relações hospedeiro-parasita. *Rev Ciencia Elem.* 2019;7(4):076.
- Moço TC. Prevalência de *Hepatozoon* spp. em serpentes e caracterização morfológica, morfométrica e molecular de *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidea) de *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae) naturalmente infectadas [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2008.
- Moço TC, O'Dwyer LH, Barrella TH, Trombeta AM, Campagner M, Garzzesi B, et al. Prevalência de infecção por *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) em serpentes brasileiras recém capturadas. In: 31º Congresso da Sociedade de Zoológicos do Brasil [...] Anais. São Paulo; 2007.
- Monteiro SG. Parasitologia na medicina veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca; 2022.
- O'Dwyer LH, Moço TC, Barrella TH, Vilela FC, Silva RJ. Prevalence of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) among recently captured Brazilian snakes. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2003;55(3):309-14.
- O'Dwyer LH, Moço TC, Silva RJ. Description of the gamonts of a small species of *Hepatozoon* sp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) found in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae). *Parasitol Res.* 2004;92(2):110-2.
- Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS. Módulos de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades. Módulo 3: Medição das condições de saúde e doença na população. Brasília: OPAS; Ministério da Saúde; 2010.
- Paiva GCM. Análise morfológica e morfométrica de hemoparasitos em répteis de vida livre e cativeiro [trabalho de conclusão de curso]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2017.
- Smith TG. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). *J Parasitol.* 1996;82(4): 565-85.
- Stacy NI, Alleman AR, Saylor KA. Diagnostic hematology of reptiles. *Clin Lab Med.* 2011;31(1):87-108.
- Telford SR. Hemoparasites of the Reptilia - Color atlas and text. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2009.
- Thrall MA. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca; 2014. p. 239-55.
- Úngari LP, Netherlands EC, Alcantara EP, Emmerich E, Silva RJ, O'Dwyer LH. Description of a New Species *Hepatozoon quagliattus* sp. nov. (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae), infecting the Sleep Snake, *Dipsas mikanii* (Squamata: Colubridae: Dipsadinae) from Goiás State, Brazil. *Acta Parasitol.* 2021;66:871-80.
- Vickie DVMJ. Reptile clinical pathology. Building Exotics Excellence: One City, One Conference. ExoticsCon 2015 Preconference Proceedings. 2015. p. 155-62.