

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise morfológica e morfométrica de hemoparasitos em répteis de vida
livre e cativoiro**

Guilherme Carrara Moreira Paiva

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise morfológica e morfométrica de hemoparasitos em répteis de vida
livre e cativoiro**

Guilherme Carrara Moreira Paiva

Orientador: Prof.^a Dra. Márcia Cristina Cury
Coorientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise morfológica e morfométrica de hemoparasitos em répteis de vida
livre e cativoiro**

Guilherme Carrara Moreira Paiva

Orientador: Prof.^a Dra. Márcia Cristina Cury
Coorientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Instituto de Ciências Biomédicas - ICBIM

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em ___/___/___

Profª. Dra. Celine de Melo

Uberlândia - MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise morfológica e morfométrica de hemoparasitos em répteis de
vida livre e cativoiro**

Guilherme Carrara Moreira Paiva

Aprovado pela banca examinadora em: 28 / 07 / 2017 Nota: 94,00

Uberlândia, 28 de julho de 2017

RESUMO

Dentre o grupo de hemogregarinas, *Haemogregarina* sp. é o gênero mais observado em répteis. Este protozoário é, aparentemente, bem adaptado, causando pouco ou nenhuma alteração clínico-patológica em seus hospedeiros, porém, há casos de anemia hemolítica e infecção crônica relatados. O presente estudo teve como objetivo analisar por morfologia e morfometria os hemoparasitos dos gêneros *Haemogregarina*, *Plasmodium* e *Trypanosoma* em répteis de vida livre e cativo. Um número de 222 répteis (58 crocodilianos, 78 testudines e 86 serpentes) foram utilizados neste estudo. Amostras de sangue foram coletadas nos estados de Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais. Após a coleta, três extensões sanguíneas de cada indivíduo foram feitas, fixadas com metanol absoluto e coradas pelo método Giemsa (10%). As análises morfológicas foram realizadas por microscopia convencional com uma ampliação de 100x. Os parâmetros morfométricos calculados, o comprimento (C), a largura (L) e a área (A) foram realizados com o software *ImageJ*. A média e o desvio padrão foram calculados usando o software *Excel*. Neste trabalho, foi concluído que dentre os gêneros de hemoparasitos em répteis apresentados, as hemogregarinas foram mais prevalentes. No grupo das hemogregarinas, *Haemogregarina* sp. foi observado em testudines e o gênero *Hepatozoon* em crocodilianos e serpentes. A identificação do gênero *Haemogregarina* foi possível através da análise morfológica e morfométrica, das formas evolutivas sanguíneas em testudines. A diversidade morfológica e morfométrica foi verificada em gametócitos de *Hepatozoon* sp. em serpentes.

Palavras-chave: Hemoparasitos, Répteis, Morfologia, Morfometria.

ABSTRACT

Among the group of hemogregarines, *Haemogregarina* sp. is the genus most observed in reptiles. This protozoan is apparently well-adapted, causing little or no clinical-pathological change in its hosts, however, there are cases of hemolytic anemia and chronic infection reported. The aim of the present study was to analyze hemoparasites of the genera *Haemogregarina*, *Plasmodium* and *Trypanosoma* in free-living and captivity reptiles by morphology and morphometry. A total of 222 reptiles (58 crocodylians, 78 testudines and 86 snakes) were used in this study. Blood samples were collected in the states of Mato Grosso, Goiás and Minas Gerais. After collection, three blood smears of each individual were made, fixed with absolute methanol and stained by Giemsa method (10%). The morphological analyzes were performed by conventional microscopy with a magnification of 100x. The calculated morphometric parameters, length (L), width (W) and area (A) were performed with ImageJ software. The mean and standard deviation were calculated using Excel software. In this work, it was concluded that among the genera of hemoparasites in the presented reptiles, hemogregarines were more prevalent. In the hemogregarine group, *Haemogregarina* sp. was observed in testudines, and the genus *Hepatozoon* in crocodylians and snakes. The identification of the *Haemogregarina* genus was possible through the morphological and morphometric analysis of the blood evolutionary forms in testudines. The morphological and morphometric diversity was verified in gametocytes of *Hepatozoon* sp. in snakes.

Key words: Hemoparasites, Reptiles, Morphology, Morphometry.

SUMÁRIO

<i>INTRODUÇÃO</i> -----	02
<i>MATERIAIS E MÉTODOS</i> -----	04
<i>Comitê de ética</i> -----	04
<i>Área de estudo</i> -----	04
<i>Local de estudo</i> -----	05
<i>Autorização</i> -----	07
<i>População de estudo</i> -----	07
<i>Coleta de sangue e Análise das amostras</i> -----	08
<i>Análise morfológica e morfométrica</i> -----	09
<i>Análise Estatística</i> -----	09
<i>RESULTADOS</i> -----	10
<i>Características gerais dos grupos estudados</i> -----	10
<i>Positividade e análise morfológica de hemoparasitos observados</i> -----	13
<i>Análise morfológica e morfométrica de hemogregarinas</i> -----	16
<i>DISCUSSÃO</i> -----	27
<i>CONCLUSÃO</i> -----	30
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> -----	30

1– INTRODUÇÃO

A Classe Reptilia contabiliza 10450 espécies (UETZ; HOŠEK, 2016), sendo subdividida em quatro ordens: Ordem Squamata, a qual engloba serpentes, lagartos e anfisbenídeos; Ordem Crocodylia, jacarés, gaviais e crocodilos; Ordem Testudinata, dos cágados, tartarugas e jabutis e a Ordem Rinocephalia, com uma única família, gênero e espécie, a tuarata (PINCHEIRA-DANOSO, 2013).

Conforme levantamento realizado pela Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH, 2015), o território brasileiro possui 773 espécies de répteis, o que representa 7,4% das espécies conhecidas no mundo. São seis espécies de jacarés (24% da fauna mundial), 36 de testudines (10,4% da fauna mundial), 266 de lagartos (4,2% da fauna mundial), 392 de serpentes (10,9% da fauna mundial) e 73 de anfisbênias (37,4% da fauna mundial).

Essa biodiversidade brasileira é acometida por vários protozoários e helmintos, onde, praticamente, 100% dos répteis de vida livre abrigam algum tipo de parasito. No entanto, a presença destes organismos não está, obrigatoriamente, associada ao desenvolvimento de doença (MOLLER e NIELSEN, 2007), pois, a ação do sistema imune auxilia na superação de alguns dos efeitos gerados pelos parasitos (KLINGENBERG, 2007). Quando há falha do sistema imune, o parasitismo associado a condições de “stress”, como adaptação ao meio cativo, pode levar a demonstrações clínicas e ao agravamento de doenças (NASIRI et al, 2014).

Os parasitos da Subordem Adeleorina e das ordens Haemosporida e Kinetoplastida (Família Trypanosomatidae) são os mais observados em répteis. Entretanto, outros hemoparasitos, como hemococcídios em lagartos, piroplasmídeos, parasitos procariotos (infecção clamidial e por rickettsias) e microfilária em serpentes, quelônios e lagartos, podem acometer esses animais (TELFORD, 2009; URSULA et al., 2014).

Os hemoparasitos pertencentes à Subordem Adeleorina, são considerados os mais comuns, pois infectam todas as ordens de répteis. Esta subordem apresenta as famílias Hemogregarinidae, Hepatozoidae e Karyolypsidae. Todas possuem ciclo de vida heteroxênico e envolvem hospedeiro vertebrado intermediário e hospedeiro invertebrado hematófago e definitivo (sanguessugas, culicídeos, flebotomíneos, carrapatos e ácaros). A transmissão, também, pode ocorrer pelo hospedeiro transporte (como sapos, peixes e pequenos mamíferos), pela ingestão acidental de vetores hematófagos e congenitamente. A distinção morfológica entre essas três famílias ocorre, principalmente, na fase esporogônica no hospedeiro hematófago, sendo, a análise morfológica dos estágios sanguíneos imprescindível, para auxílio no reconhecimento de gêneros e espécies de hemoparasitos (MELLO, 2003; BARTA, 1989; SMITH, 1996; CAMPBELL, 1996).

Embora as análises morfológicas dos estágios de vida dos hemoparasitos auxiliem na caracterização de espécies, estas não são suficientes para diferenciá-las. Principalmente, quando o parasito apresenta grande plasticidade na morfologia dos gametócitos, como nas espécies do gênero *Hepatozoon* (MOÇO, 2012).

Dentre a Ordem Haemosporida (plasmodídeos), o gênero *Plasmodium* é o que acomete serpentes e lagartos. A literatura mundial cita 96 espécies e subespécies descritas de *Plasmodium* spp., sendo a maioria em lagartos. Apenas seis espécies de *Plasmodium* spp. foram descritas em serpentes e nenhuma em crocodilianos (TELFORD, 2009; VARDÓ et al., 2005). Os plasmodídeos, assim como as hemogregarinas (Subordem Adeleorina), têm como hospedeiros invertebrados os culicídeos (*Culex* spp. e *Aedes* spp.) e os flebotomíneos.

A Família Trypanosomatidae (Ordem Kinetoplastida) é a terceira a possuir maior número de parasitos em répteis. Cerca de 80 espécies de *Trypanosoma* spp. foram

descritas, na qual 11 parasitam testudines, 48 lagartos, 20 serpentes e duas crocodilianos. Vetores hematófagos, como insetos, carrapatos e sanguessugas são responsáveis por transmitir esse gênero. Embora, esse grupo apresente evidente distinção morfológica em comparação com outros hemoparasitos, as informações sobre o ciclo de vida são escassas. Por existir grande variabilidade na forma entre as espécies do gênero *Trypanosoma*, a análise morfológica é útil na identificação do gênero e espécie. Normalmente uma espécie pode ser distinguida de outras, especialmente no caso de tripanosomas de lagartos. (FERMINO et al., 2013; TELFORD, 2009).

Em relação às alterações clinico-patológicas causadas por hematozoários em répteis, os hospedeiros naturais parecem estar adaptados (MOÇO, 2008), porém, casos de anemia hemolítica podem ser observados (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994; CAMPBELL, 1996). Luz et al. (2012), comentaram que em hospedeiros não naturais, em condições de cativeiro, e sem um rígido controle parasitológico, a patogenia desses hematozoários pode alcançar proporções significativas, justificando-se a necessidade de um bom diagnóstico para evitar a disseminação da doença dentro do criadouro.

A saúde de um réptil cativo está diretamente relacionada ao modo ao qual é criado (MADER, 1996). Recintos impróprios, com péssimas condições sanitárias, podem levar a inúmeros problemas de saúde, sendo a dieta imprópria a segunda causa de morbidade e mortalidade nesses animais (MESSONIER, 1999).

Santos et al. (2005), enfatizam que quando um novo indivíduo é introduzido em ambiente cativo, cuidados especiais devem ser realizados. O controle de vetores e desinfecção sistemática dos recintos são necessários para diminuir a infecção nos animais e a contaminação ambiental (WOZNIAK et al., 1998).

A análise morfológica dos protozoários intraeritrocitários por extensões sanguíneas e/ou parasitos móveis circulantes como tripanossomatídeos e microfilárias, possibilita o

diagnóstico de hemoparasitos em répteis (CAMPBELL, 1996; O'DWYER et al., 2003), assim como, a análise histológica dos órgãos internos (TELFORD, 1984). Além disso, a morfologia visível sob microscopia de luz, é essencial na definição e descrição de gêneros/espécies, independente da relevância que possa possuir para as relações genéticas entre a fauna. Essa descrição deve ser baseada em métodos de mensuração dos estádios sexuais e assexuais, gametócitos e merontes. (TELFORD, 2009).

Segundo Moço et al. (2002), a análise morfométrica permite uma avaliação mais detalhada da morfologia celular, incluindo medidas lineares e de área, bem como, a caracterização das espécies a que pertencem os hemoparasitos e a análise das alterações morfológicas eritrocíticas induzidas pela presença dos parasitas.

A compreensão da interação parasito-hospedeiro é importante para o conhecimento das formas evolutivas do hemoparasitismo em répteis e as implicações sobre a saúde desses hospedeiros. Devido à grande plasticidade da forma entre os estádios evolutivos de algumas ordens de hematozoários, as análises morfológicas e morfométricas dos principais hemoparasitos fazem-se essenciais para o auxílio na distinção entre cada gênero, diagnóstico e caracterização morfológica entre espécies, bem como, para o entendimento das alterações morfológicas produzidas por estes sobre os eritrócitos dos hospedeiros. Essa necessidade de distinguir gêneros e espécies, deve-se a influência que esses hemoparasitos apresentam à saúde, comportamento, reprodução e ecologia de seus hospedeiros.

Este trabalho teve como objetivos, analisar e comparar por morfologia e morfometria os hemoparasitos dos gêneros *Haemogregarina*, *Plasmodium* e *Trypanosoma* em répteis de vida livre e cativo.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Comitê de Ética

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética na Utilização Animal – CEUA e aprovado sob protocolo de número 032/16 (ANEXO 1).

2.2 - Local de Estudo

O presente estudo foi desenvolvido em sete locais distribuídos entre os Estados de Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. As características de cada um estão descritas a seguir:

- **Estado de Minas Gerais**

Laboratório de Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS): Pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, atende animais silvestres com problemas de saúde trazidos pelos tutores e também àqueles apreendidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e pela Polícia Militar Ambiental. O laboratório é coordenado pelo Professor Dr. André Luiz Quagliatto Santos (CRMV-MG 2401).

Zoológico do Parque do Sabiá: Localiza-se dentro do Parque do Sabiá em Uberlândia, Minas Gerais. Possui mais de 200 espécies de animais, dentre elas répteis, estando sob controle e autorização do IBAMA, o qual é responsável pela fiscalização e condições oferecidas à criação de animais. O zoológico do Parque do Sabiá obedece à legislação e zela pelo bom estado de preservação dos animais.

Jardim Zoológico de Belo Horizonte: Possui cerca de três mil animais de mais de 250 espécies (entre aves, répteis, mamíferos e peixes) representantes dos cinco continentes. Para proporcionar uma alimentação adequada e assegurar a saúde e o bem-

estar dos animais, o Zoológico conta com profissionais habilitados que atuam em diferentes áreas e com infraestrutura que permite o desenvolvimento de atividades educativas e projetos. O Zoológico possui Certificado de Regularidade, concedido às instituições que atendem as exigências quanto às instalações, medidas higiênico-sanitárias e segurança. Recentemente, atingiu os padrões mais elevados nas atividades referentes à qualidade técnica, infraestrutura, e relevância dos programas de pesquisa científica e conservação da fauna.

Fundação Ezequiel Dias (FUNED): É especializada na produção e pesquisa de soros antipeçonhentos no Brasil, oferece informações sobre cobras, aranhas e escorpiões, bem como cuidados para a prevenção de acidentes com esses animais. O Serviço de animais peçonhentos é referência no assunto em Minas Gerais e no Brasil e tem como missão contribuir para o desenvolvimento biotecnológico da FUNED pelo fornecimento de venenos de origem animal, além de gerar e difundir o conhecimento sobre animais peçonhentos. É responsável também, pela manutenção dos animais em cativeiro, na extração e preparação de venenos para a produção de soros e pesquisa, e no atendimento ao público.

- **Estado de Mato Grosso**

No Estado do Mato Grosso, foram escolhidas as áreas dos Bancos de Areia do Rio Vermelhos, Sítio Duas Minas e proximidades, cujas coordenadas são 14°45'40,2" latitude Sul e 51° 32'40,82" de longitude Oeste.

- **Estado de Goiás**

No Estado de Goiás, a Fazenda Boa Esperança e entorno (coordenadas 15°08'35,50" latitude Sul e 51°08'45,6" de longitude Oeste) foram os locais da pesquisa.

Tanto as áreas do Mato Grosso, como de Goiás foram escolhidas por serem parceria com o LAPAS, facilitando a autorização, e por conhecimento prévio da presença de vários grupos de répteis.

2.3 – Autorização

Antes do início do projeto, foi realizada reunião com o responsável pelo LAPAS, para explicar os objetivos e procedimentos necessários para efetivação do presente estudo e obter a devida autorização, permitindo realização da pesquisa com répteis (ANEXO 2).

Para obtenção da permissão de coleta de sangue de répteis pertencentes ao Zoológico do Parque do Sabiá, localizado em Uberlândia, Jardim Zoológico de Belo Horizonte e Fundação Ezequiel Dias, localizado em Belo Horizonte, foi enviado este projeto para análise e aceite (ANEXO 3).

2.4 - População de estudo

Os répteis utilizados para coleta de amostras sanguíneas pertencem aos grupos dos testudines, crocódilianos e serpentes, os quais, de acordo com as origens, foram classificados como:

- **Répteis de cativeiro**

Foram considerados répteis de cativeiro aqueles que estavam no LAPAS, nos zoológicos e na FUNED há mais de seis meses, ou nascidos nesses ambientes.

- **Répteis de vida livre**

Répteis de vida livre foram considerados aqueles apreendidos pelo IBAMA e Polícia Militar Ambiental, fazendeiros e comunidade, sem histórico domiciliar, que forem levados ao LAPAS e para a FUNED. Esses animais, ao chegarem nesses locais, são submetidos a exames clínicos e laboratoriais, e em seguida, soltos na natureza.

Foram também considerados de vida livre os provenientes das áreas de Mato Grosso e Goiás. Os animais foram capturados seguindo normas semiológicas, sendo colhidas amostras sanguíneas.

2.5 - Coleta de sangue e armazenamento das amostras

Para a coleta do sangue, os animais foram submetidos à contenção física com equipamentos apropriados, seguindo normas semiológicas para cada grupo de répteis (serpentes, crocodilianos e testudines). A coleta foi realizada por venopunção do seio vertebral cervical em serpentes, venopunção subcarapacial ou braquial em testudines e venopunção caudal ventral em crocodilianos. A amostra sanguínea foi obtida utilizando-se seringas de 3 mL e agulhas de 26 g1/2” descartáveis. O volume sanguíneo foi de acordo com o gênero e tamanho do animal, não ultrapassando a 2 mL. O sangue coletado foi colocado em tubo de poliestireno contendo EDTA (anticoagulante), transportado ao Laboratório de Parasitologia da UFU em caixas de isopor, e posteriormente, armazenado a -20° C.

Uma gota (5 µL) da amostra sanguínea foi colocada sobre lâmina para confecção das extensões sanguíneas. De cada animal, foram confeccionadas duas a cinco extensões. Essas, posteriormente, foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia da UFU. No laboratório, foram coradas com May-Grünwald-Giemsa de acordo com Ferreira Neto et al. (1982). Após completa secagem, essas foram analisadas em

microscopia óptica sob o aumento de 100x com auxílio de óleo de imersão, por três pessoas diferentes, para aumentar a confiança nos resultados. A identificação dos parasitos seguiu Telford (2009).

2.6- Análise Morfológica e Morfométrica

A análise morfológica dos hemoparasitos foi feita em microscópio óptico, nos aumentos de 40 e 100x, com óleo de imersão. Com o auxílio do programa de processamento de imagens *ImageJ* (Wayne Rasband, National Institutes of Health (NIH), USA), as diferenças morfológicas foram avaliadas.

A análise morfométrica dos hemoparasitos foi feita com o auxílio do programa *ImageJ*. Os parâmetros morfométricos avaliados foram comprimento (maior medida linear interna entre as extremidades do hemoparasito), largura (medida linear interna da região central do hemoparasito) e área dos hemoparasitos. Os resultados foram descarregados no *software* Microsoft Excel e analisados estatisticamente.

3-ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Para avaliação das variações morfológicas dos hemoparasitos dentro e entre os grupos de répteis (serpentes, crocodilianos e testudines), foi utilizado o programa *ImageJ*.

Para comparação da diferença entre as médias morfométricas dos hemoparasitos dentro e entre os grupos de répteis, foi utilizado o teste de variância ANOVA, com nível de significância de 5%.

4 - RESULTADOS:

4-1 – Características gerais dos grupos estudados:

De um total de 222 répteis utilizados neste projeto, 58 (26,13%) pertencem ao grupo dos crocodilianos, 78 (35,14%) ao grupo dos testudines e 86 (38,73%) ao das serpentes. Destes, 106 (47,74%) são de ambiente de cativeiro, dos quais, 18 (16,98%) pertencem ao grupo dos crocodilianos, 46 (43,4%) ao grupo dos testudines e 42 (39,62%) ao das serpentes.

Das espécies de crocodilianos de cativeiro (n=18), cuja procedência foi o LAPAS, 11 (61,11%) são da espécie *Caiman crocodilus*, seis (33,34%) *Paleosushus palpebrosus* e uma (5,55%) pertence à espécie *Caiman latirostris*.

Das espécies de testudines de cativeiro (n=46), cuja procedência foi o LAPAS, 23 (50%) são da espécie *Trachemys dorbigni*, sete (15,22%) *Podocnemis unifilis*, cinco (10,87%) *Phrynops geoffroanus*, cinco (10,87%) *Trachemys elegans*, quatro (8,70%) *Chelonoidis* sp. e duas (4,34%) *Kinostemon scorpioides*.

Das espécies de serpentes de cativeiro procedentes do LAPAS (n=20), 13 (65%) pertencem à espécie *Boa constrictor*, cinco (25%) à *Epicrates crassus*, uma (5%) à *Eucnetes murinus* e uma (5%) à *Python* sp. Das serpentes providas da FUNED (n=22), sete (31,81%) pertencem à espécie *Bothrops jararacuçu*, cinco (22,72%) à *Bothrops alternatus*, cinco (22,72%) à *Bothrops moojeni* e cinco (22,72%) à *Crotalus durissus*.

Todos os crocodilianos e testudines de cativeiro são do LAPAS. Das 42 serpentes de cativeiro, 22 (52,38%) são da FUNED e 20 (47,62%) do LAPAS. A Tabela 1 mostra a quantidade de animais de cativeiro, o número de espécies por grupos e o local de procedência.

Tabela 1. Principais espécies de répteis de cativeiro que fizeram parte da pesquisa, no período de outubro de 2015 a julho de 2016, cujas procedências são LAPAS e FUNED.

GRUPO	ESPÉCIE	Nº	LOCAL
CROCODILIANOS	<i>Caiman crocodilus</i>	11	MG- LAPAS
	<i>Caiman latirostris</i>	1	MG- LAPAS
	<i>Paleosushus palpebrosus</i>	6	MG- LAPAS
TESTUDINES	<i>Phrynops geoffroanus</i>	5	MG- LAPAS
	<i>Podocnemis unifilis</i>	7	MG- LAPAS
	<i>Trachemys dorbigni</i>	23	MG- LAPAS
	<i>Trachemys elegans</i>	5	MG- LAPAS
	<i>Chelonoidis</i> sp.	4	MG- LAPAS
	<i>Kinostemon scorpioides</i>	2	MG- LAPAS
	<i>Epicrates crassus</i>	5	MG- LAPAS
	<i>Boa constrictor</i>	13	MG- LAPAS
SERPENTES	<i>Bothrops alternatus</i>	5	MG – FUNED
	<i>Bothrops moojeni</i>	5	MG – FUNED
	<i>Bothrops jararacuçu</i>	7	MG – FUNED
	<i>Crotalus durissus</i>	5	MG – FUNED
	<i>Eucnetes murinus</i>	1	MG- LAPAS
	<i>Phython</i> sp.	1	MG- LAPAS

Dos 116 répteis de vida livre, 40 (34,49%) pertencem ao grupo dos crocodilianos, 32 (27,58%) ao grupo dos testudines e 44 (37,93%) ao das serpentes. Todos os crocodilianos eram do Estado do Mato Grosso (MT), os testudines do Estado de Goiás (GO) e todas as serpentes vieram da FUNED.

Todas os crocodilianos de vida livre (n=40), cuja procedência foi o Estado do Mato Grosso (MT), pertencem à espécie *Caiman crocodilus*.

Dos testudines de vida livre (n=32), cuja procedência foi o Estado de Goiás (GO) 31(96,87%) pertencem à espécie *Podocnemis unifilis* e um (3,13%) à *Podocnemis expansa*.

Das serpentes de vida livre (n=44), cuja procedência foi a FUNED, 36 (81,82%) pertencem à espécie *Crotalus durissus*, três (6,82%) à *Oxyrhopus* sp., duas (4,54%) à *Philodryas* sp., duas (4,54%) à *Xenodon moojeni* e uma (2,28%) à *Bothrops alternatus*. A Tabela 2 mostra a quantidade de animais de vida livre, o número de espécies por grupos e o local de procedência.

Tabela 2. Principais espécies de répteis de vida livre que fizeram parte da pesquisa, no período de janeiro a julho de 2016, cujas procedências são Mato Grosso, Goiás e FUNED.

GRUPO	ESPÉCIE	Nº	LOCAL
CROCODILIANOS	<i>Caiman crocodilus</i>	40	MT
	<i>Podocnemis unifilis</i>	31	GO
TESTUDINES	<i>Podocnemis expansa</i>	1	GO
	<i>Oxyrhopus</i> sp.	3	FUNED -MG
SERPENTES	<i>Philodryas</i> sp.	2	FUNED -MG
	<i>Xenodon moojeni</i>	2	FUNED -MG
	<i>Bothrops alternatus</i>	1	FUNED -MG
	<i>Crotalus durissus</i>	36	FUNED -MG

A Tabela 3 mostra a prevalência de hemoparasitos em cada grupo de répteis e de acordo com suas origens (vida livre e cativo). Dos 40 crocodilianos de vida livre avaliados, 31 (77,5%) foram positivos para pelo menos um hemoparasito. Dos 18 crocodilianos de cativo, 10 (55,55%) foram positivos. Dos 32 testudines de vida livre, 31 (96,87%) foram positivos. Dos 46 testudines de cativo, apenas 5 (10,86%) foram positivos. Das 44 serpentes de vida livre avaliadas, 20 (45,45%) foram positivas.

Das 42 serpentes de cativeiro, somente 5 (11,90%) foram positivas. Dos 222 répteis analisados neste trabalho, 102 (45,95%) indivíduos foram positivos para pelo menos um hemoparasito.

Tabela 3. Prevalência de hemoparasitos por grupos e origem dos répteis (vida livre e cativeiro), que fizeram parte da pesquisa, no período de outubro de 2015 a julho de 2016, cujas procedências são Mato Grosso, Goiás, LAPAS e FUNED.

GRUPOS / ORIGEM	Nº DE RÉPTEIS	INDIVÍDUOS POSITIVOS
CROCODILIANOS		
Vida livre	40	31 (77,5%)
Cativeiro	18	10 (55,55%)
TESTUDINES		
Vida livre	32	31 (96,87%)
Cativeiro	46	5 (10,86%)
SERPENTES		
Vida livre	44	20 (45,45%)
Cativeiro	42	5 (11,90%)
TOTAL	222	102

4.2 – Positividade e análise morfológica de hemoparasitos observados:

Do total de 222 répteis analisados, 102 (45,94%) foram positivos para hemogregarinas (Tabela 4). Em testudines, o gênero *Haemogregarina* foi observado em 36 (46,15%) animais, sendo 35 (44,87%) das espécies *Podocnemis unifilis* e um (1,28%) de *Podocnemis expansa*. Nos crocodilianos, o gênero *Hepatozoon* foi observado em 41 (70,68%) animais, todos da espécie *Caiman crocodilus*. Em serpentes, o gênero *Hepatozoon* foi observado em 25 (29,06%) amostras das espécies *Crotalus durissus*, *Bothrops alternatus*, *Bothrops moojeni* e *Boa constrictor*.

Além das hemogregarinas, também foram observados outros hemoparasitos tais como, o gênero *Trypanosoma* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae), em 18 (8,10%) crocodilianos e serpentes (Figura 1). *Plasmodium* sp. (Apicomplexa: Haemosporida: Plasmodiidae) em 13 (1,35%) testudines da espécie *Podocnemis unifilis* e crocodilianos da espécie *Caiman crocodilus* (Figura 2).

Tabela 4. Parasitos observados nas extensões sanguíneas de répteis de vida livre e cativo, nos anos de 2015 e 2016.

Parasitos	Positividade (%)	Hospedeiros
<i>Hepatozoon</i> sp.	66 (29,72%)	Crocodylianos e Serpentes
<i>Haemogregarina</i> sp.	36 (16,21%)	Testudines
<i>Trypanosoma</i> sp.	18 (8,10%)	Crocodylianos e Serpentes
<i>Plasmodium</i> sp.	13 (1,35%)	Testudines e Crocodylianos
Coinfecções		
<i>Hepatozoon</i> sp. + <i>Trypanosoma</i> sp.	2 (0,9%)	Crocodyliano e serpente
<i>Hepatozoon</i> sp. + <i>Plasmodium</i> sp.	4 (1,8%)	Crocodylianos
<i>Trypanosoma</i> sp. + <i>Plasmodium</i> sp.	1 (0,45%)	Crocodyliano
<i>Haemogregarina</i> sp. + <i>Trypanosoma</i> sp.	1 (0,45%)	Testudine
<i>Haemogregarina</i> sp. + <i>Plasmodium</i> sp.	1 (0,45%)	Testudine
Nº amostral	222	

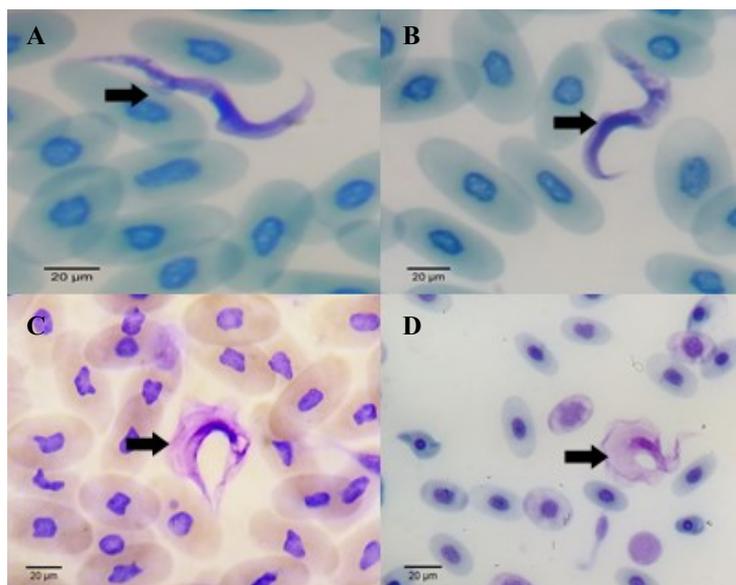


Figura 1. Tripomastigotas do gênero *Trypanosoma* em crocodilianos da espécie *Caiman crocodilus* (A-B) e em serpentes da espécie *Crotalus durissus* (C-D) (parasitos indicados por setas. Escala: 20 μm.

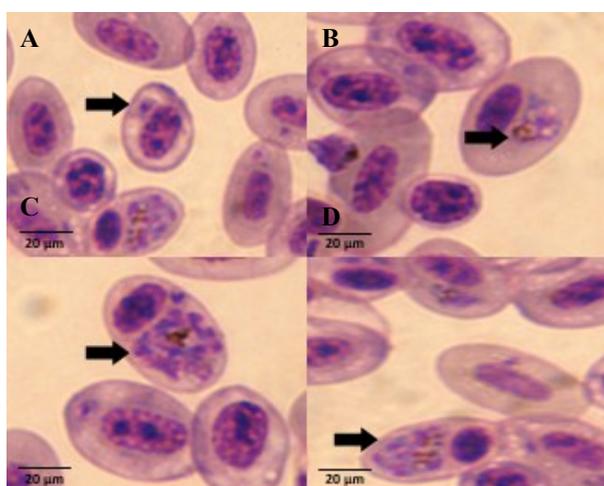


Figura 2. Formas evolutivas sanguíneas de *Plasmodium* sp. (Apicomplexa: Haemosporida: Plasmodidae) em testudines da espécie *Podocnemis unifilis* (A-B) e em crocodilianos da espécie *Caiman crocodilus* (C-D); A) Esquizonte jovem; B) Gamonte maduro; C-D) Esquizontes maduros (parasitos indicados por setas). Escala: 20 μm.

4.3 – Análise morfológica e morfométrica de hemogregarinas:

- *Haemogregarina* sp. em testudines.

Foram encontradas nas extensões sanguíneas de *Podocnemis unifilis* formas evolutivas de trofozoítos, pré-merontes, merontes primários eritrocíticos (micromerontes), merontes secundários eritrocíticos (macromerontes), microgametócitos e macrogametócitos. Dentre essas, as mais observadas foram macrogametócitos e microgametócitos. Em *Podocnemis expansa*, foram observados somente macrogametócitos e microgametócitos. No que tange os merontes eritrocíticos secundários, observou-se formas morfológicas iniciais (9-15 núcleos) e formas morfológicas com intensa divisão da cromatina nuclear (>50 núcleos) (Figura 3).

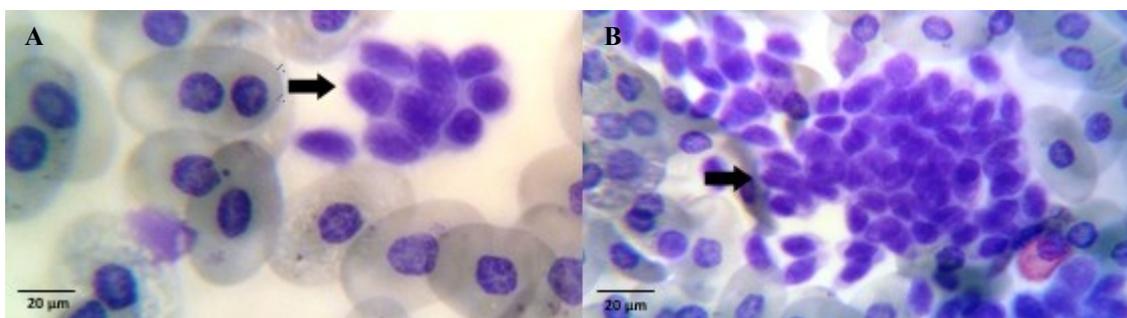


Figura 3. Macromerontes observados em extensões sanguíneas de testudines. (A): formação inicial com 9-15 núcleos; (B) intensa divisão da cromatina nuclear (>50 núcleos); Parasitos indicados por setas. Escala: (A) 10µm; (B) 20 µm.

Observou-se microgametócitos parasitando individualmente ou, com até três formas em um único eritrócito. Foram encontradas duas morfologias de microgametócitos (Micro1 e Micro2) e duas de macrogametócitos (Macro1 e Macro2) (Figura 4 e Tabela 5).

Os dados morfométricos foram obtidos para todas as formas evolutivas observadas. Entretanto, em algumas formas evolutivas, não foi possível apresentar os cálculos morfométricos do núcleo do parasito (área, comprimento e largura), devido à ausência de cromatina nuclear definida (Tabela 6 e Tabela 7).

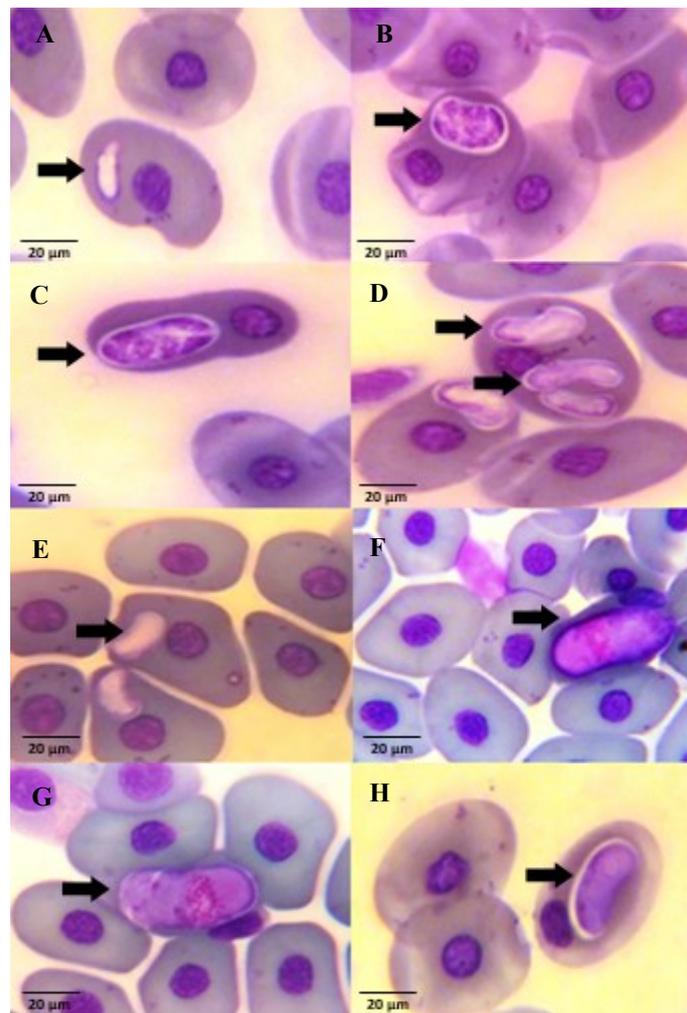


Figura 4. Estágios evolutivos de *Haemogregarina* sp. no sangue de *Podocnemis unifilis* (indicados por setas): A) trofozoíto; B) pré-meronte; C) meronte primário eritrocítico; D) Microgametócitos (Micro1); E) Microgametócitos (Micro2); F-G) Macrogametócitos (Macro1); H) Macrogametócitos (Macro2). Escala: 20 µm.

Tabela 5. Características morfológicas das formas evolutivas de *Haemogregarina* sp. observadas por microscopia óptica nas extensões sanguíneas de testudines de vida livre e cativeiro, dos Estados de Goiás e Minas Gerais, nos anos de 2015 e 2016.

Formas evolutivas	Características morfológicas
Trofozoítos	Pequenos e alongados Núcleo não evidenciado Vacúolo citoplasmático
Pré merontes	Formato arredondado e recurvado Cromatina nuclear dispersa por todo citoplasma Presença de envoltório parasitóforo
Merontes eritrocíticos primários (Micromerontes)	Robustos com suave curvatura Divisão nuclear evidenciada, núcleos pequenos Envoltório parasitóforo
Microgametócitos	Recurvados em forma de foice Vacúolo parasitóforo Duas formas morfológicas (Micro1 e Micro2)
Macrogametócitos	Deslocamento do núcleo celular para as laterais Envoltório parasitóforo Duas formas morfológicas (Macro1 e Macro2)
Merontes eritrocíticos secundários (Macromerontes)	Maiores que os micromerontes Intensa divisão nuclear Núcleos largos, redondos e cromatina densa Presença de 9 a mais 50 núcleos

Tabela 6. Dados morfométricos das formas evolutivas de *Haemogregarina* em testudines de vida livre e cativeiro.

	Trofozoíto			Pré-meronte			Merontes eritrocíticos primários		
	CP	LP	AP	CP	LP	AP	CP	LP	AP
M	8.78	4.06	23.19	11.03	7.93	30.04	16.43	8.74	48
DP	2.5	0.66	2.097	1.94	1.65	1.32	1.83	0.84	1.67
MÍN	7.15	3.34	21.08	9.66	6.37	28.5	15.06	8.2	47.12
MÁX	12.68	4.65	24.33	12.41	8.44	31.46	18.89	10.42	49.89

CP (Comprimento do corpo do parasito), LP (Largura do corpo do parasito), AP (Área do parasito), M (Média), DP (Desvio Padrão), MN (Mínima), MÁX (Máxima). Medidas lineares em μm e medidas das áreas em μm^2 .

Tabela 7. Dados morfométricos das formas evolutivas do gênero *Haemogregarina* em testudines de vida livre e cativeiro.

	Macrogametócito (Macro1)						Macrogametócito (Macro2)						Microgametócito (Micro1)						Microgametócito (Micro2)					
	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN
M	20.5	8.12	44.6	7.94	4.3	24.6	18.8	5.6	39.5	4.0	3.6	14.1	8.66	4.3	15.1	-	-	-	11.4	4.1	23.3	4.96	0.43	2.4
DP	0.82	0.76	6.01	0.76	0.0	0.9	1.3	0.8	2.9	0.6	0.3	1.74	1.58	1.5	2.4	-	-	-	3.29	0.6	2.4	1.9	0.46	1.39
MIN	19.8	6.79	30.9	6.48	3.18	19.2	17.4	4.3	37.5	3.1	2.99	11.5	4.71	2.5	9.4	-	-	-	9.45	3.5	10.7	2.13	0.03	0.85
MAX	20.9	10.0	58.3	9.31	5.29	30.0	19.2	6.9	40.9	4.86	3.99	15.8	13.8	11	20.8	-	-	-	14.1	5.2	27.5	7.94	0.69	3.55

CP (Comprimento do corpo do parasito), LP (Largura do corpo do parasito), AP (Área do parasito), CN (Comprimento do núcleo do parasito), LN (Largura do núcleo do parasito), AN (Área do núcleo do parasito), M (Média), DP (Desvio Padrão), MIN (Mínima), MÁX (Máxima).
Medidas lineares em μm e medidas das áreas em μm^2 .

- *Hepatozoon* sp. em crocodilianos.

Foi possível identificar gametócitos extraeritrocíticos e intraeritrocíticos. Nas extensões sanguíneas estavam presentes até duas formas por eritrócito, denominadas gametócitos duplos (Figura 5 e Tabela 8).

Os dados morfométricos foram obtidos dos gametócitos extraeritrocíticos e intraeritrocíticos. Nos gametócitos intraeritrocíticos observou-se quatro variáveis nas características morfológicas: a) dobramento, b) cromatina nuclear dispersa. c) presença de vacúolos citoplasmáticos e d) gametócitos maduros. Na variação morfológica b. não foi possível obter cálculos morfométricos do núcleo do parasito (área, comprimento e largura) (Tabela 9 e Tabela 10).

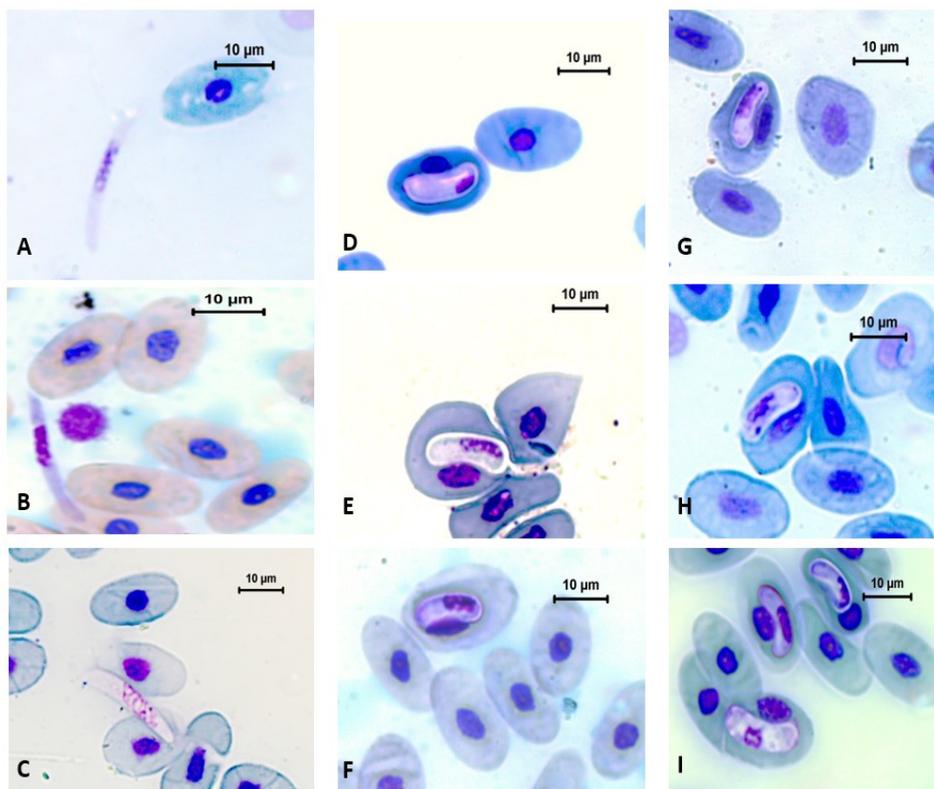


Figura 5. Gametócitos extraeritrocíticos e intraeritrocíticos de *Hepatozoon* em *Caiman crocodilus* de vida livre e cativo. A-B) Gametócitos extraeritrocíticos, ou formas livres; C-I) Gametócitos intraeritrocíticos. Escala: 10 µm.

Tabela 8. Características morfológicas das formas evolutivas de *Hepatozoon* sp. observadas por microscopia óptica nas extensões sanguíneas de crocodilianos de vida livre e cativo, dos Estados de Goiás e Minas Gerais, nos anos de 2015 e 2016.

Formas evolutivas sanguíneas		Características morfológicas
Gametócito Extraeritrocítico (A,B)	Núcleo Citoplasma Forma	Disposição mediana e cromatina densa Uniforme, sem granulações e vacúolo Alongada e fina
Gametócito Intraeritrocítico	Núcleo Citoplasma Forma	Disperso por todo o citoplasma Denso e concentrado Localização centro lateral Presença ou ausência de vacúolos citoplasmáticos Em dobramento Alongada e não recurvada Extremidades iguais Presença ou ausência de envoltório

Tabela 9. Dados morfométricos dos gametócitos extraeritrocíticos de *Hepatozoon* em crocodilianos da espécie *Caiman crocodilus* de vida livre e cativo.

Gamontes extraeritrocíticos						
	CP	LP	AP	CN	LN	AN
M	21.57	3.64	52.01	8.85	3.05	24.95
DP	2.79	1.97	4.65	2.24	1.60	6.76
MÍN	14.76	1.80	49.75	6.12	1.07	18.1
MÁX	29.22	5.48	55.31	13.59	9.45	38.7

CP (Comprimento do corpo do parasito), LP (Largura do corpo do parasito), AP (Área do parasito), M (Média), DP (Desvio Padrão), MN (Mínima), MÁX (Máxima). Medidas lineares em μm e medidas das áreas em μm^2 .

Tabela 10. Dados morfométricos das formas evolutivas de *Hepatozoon* em crocodilianos da espécie *Caiman crocodilus* de vida livre e cativo.

	Macrogametócito (Macro1)						Macrogametócito (Macro2)						Microgametócito (Micro1)						Microgametócito (Micro2)					
	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN
M	20.0	2.9	39.48	5.76	2.0	8.83	11.81	3.61	39.85	-	-	-	12.25	4.68	51.27	7.0	2.1	7.9	12.1	3.18	29.0	6.94	2.15	12.68
DP	4.44	0.74	3.77	0.68	0.17	0.0	1.52	0.92	5.84	-	-	-	1.53	0.47	3.56	2.8	1.9	0.5	1.36	0.8	11.3	2.22	0.64	4.3
MIN	10.38	2.1	36.32	5.28	1.9	8.84	9.1	1.56	36.0	-	-	-	10.3	4.0	48.8	13.8	1.3	7.1	9.53	1.24	22.8	3.15	1.0	6.4
MAX	24.8	4.23	40.57	6.25	2.16	8.82	14.51	4.84	42.75	-	-	-	15.54	5.3	54.6	5.2	2.9	15.5	24.1	8.73	51.3	15.77	3.4	24.4

CP (Comprimento do corpo do parasito), LP (Largura do corpo do parasito), AP (Área do parasito), CN (Comprimento do núcleo do parasito), LN (Largura do núcleo do parasito), NA (Área do núcleo do parasito), M (Média), DP (Desvio Padrão), MIN (Mínima), MÁX (Máxima).
Medidas lineares em μm e medidas das áreas em μm^2 .

- *Hepatozoon* sp. em serpentes.

Nos eritrócitos das serpentes foram observados até dois gametócitos de *Hepatozoon* sp. em cada eritrócito. Esses gametócitos estavam presentes em serpentes peçonhentas e não peçonhentas tanto de vida livre como de cativeiro (Figura 6). Nos gametócitos intraeritrocíticos, observou-se cinco variações nas características morfológicas, denominadas M1, M2, M3, M4 e M5 (Tabela 11). Todas as variações das características morfológicas foram submetidas a morfometria. Na M4 não foi possível obter o cálculo morfométrico do núcleo do parasito (área, comprimento e largura) devido ao formato indefinido do mesmo (Tabela 12).

Das cinco variações nas características morfológicas observadas nas extensões sanguíneas, os cálculos resultaram em três variáveis significativas. Embora M3 e M4 sejam morfologias diferentes, apresentaram mesmas variáveis relacionadas ao parasito. Também observado em M1, M2 e M5, essas três morfologias apresentaram mesmas variáveis relacionadas ao parasito. Em relação as medidas do núcleo do parasito, M1 e M2 apresentaram mesma variáveis, entretanto, as médias da área e do comprimento do núcleo do parasito diferiram com as de M5, este apresentou medidas um pouco menor às médias obtidas em M1 e M2. (Tabela 12).

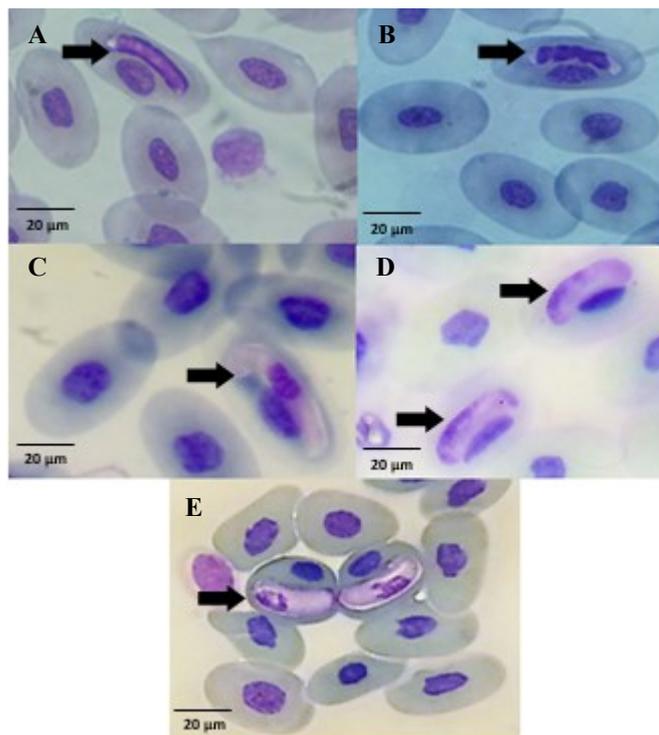


Figura 6. Variáveis nas características morfológicas de gametócitos intraeritrocíticos do gênero *Hepatozoon* em serpentes de vida livre e de cativeiro. A) M1: *Crotalus durissus* de vida livre; B) M2: *Crotalus durissus* de vida livre; C) M3: *Bothrops moojeni* de cativeiro; D) M4: *Boa constrictor* de cativeiro; E) M5: *Crotalus durissus* de cativeiro. Escala: 20 µm.

Tabela 11. Características morfológicas das formas evolutivas de *Hepatozoon* sp. observadas por microscopia óptica nas extensões sanguíneas de serpentes de vida livre e cativo, dos Estados de Goiás e Minas Gerais, nos anos de 2015 e 2016.

Gametócitos intraeritrocíticos					
	M1	M2	M3	M4	M5
Núcleo	Alongado, cromatina nuclear densa e compacta	Alongado, cromatina nuclear em forma de zigue-zaque	Alongado, margeando o corpo do parasito	Formato, disposição e cromatina incertos	Largo, ovalado, disposição mediana
Citoplasma	Uniforme e sem granulações	Vacúolos citoplasmáticos	Uniforme e sem granulações	Uniforme e sem granulações	Uniforme e sem granulações
Forma	Comprida e fina	Menos e mais larga que a M1	Alongada e com extremidade linear	Comprida e robusta, com extremidades abauladas	Comprida e robusta, com leve curvatura

Tabela 12. Dados morfométricos de cinco variações morfológicas (M1, M2, M3, M4 e M5) de gametócitos intraeritrocíticos de *Hepatozoon* em serpentes de vida livre e cativo.

Gamontes intraeritrocíticos																											
	(M1)						(M2)						(M3)						(M4)			(M5)					
	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CN	LN	AN	CP	LP	AP	CP	LP	AP	CN	LN	AN
M	8.78	4.06	23.19	11.03	7.93	16.43	8.78	4.06	23.19	11.03	7.93	16.43	8.78	4.06	23.19	11.03	7.93	16.43	8.78	4.06	23.19	8.78	4.06	23.19	11.03	7.93	16.43
DP	2.5	0.66	2.097	1.94	1.65	1.83	2.5	0.66	2.97	1.94	1.65	1.83	2.5	0.66	2.097	1.94	1.65	1.83	2.5	0.66	2.097	2.5	0.66	2.097	1.94	1.65	1.83
MIN	7.15	3.34	21.08	9.66	6.37	15.06	7.15	3.34	21.08	9.66	6.37	15.06	7.15	3.34	21.08	9.66	6.37	15.06	7.15	3.34	21.08	7.15	3.34	21.08	9.66	6.37	15.06
MÁX	12.68	4.65	24.33	12.41	8.44	18.89	12.68	4.65	24.33	12.41	8.44	18.89	12.68	4.65	24.33	12.41	8.44	18.89	12.68	4.65	24.33	12.68	4.65	24.33	12.41	8.44	18.89
Média \pm desvio padrão (M \pm SD)																											
	(M1)						(M2)						(M3)						(M4)			(M5)					
C.P	19.0 \pm 2.04 ^a						17.9 \pm 1.29 ^a						14.7 \pm 2.04 ^c						14.3 \pm 3.02 ^c			19.1 \pm 3.5 ^a					
L.P	3.25 \pm 1.25 ^a						3.55 \pm 1.57 ^a						2.39 \pm 2.04 ^c						2.5 \pm 0.9 ^c			4.8 \pm 1.10 ^a					
A.P	70.3 \pm 2.51 ^a						68.9 \pm 2.32 ^a						41.07 \pm 2.04 ^c						39.9 \pm 3.7 ^c			71.0 \pm 1.9 ^a					
C.N	18.1 \pm 3.10 ^a						16.52 \pm 2.60 ^a						4.21 \pm 2.04 ^c						-			7.56 \pm 0.51 ^b					
L.N	2.3 \pm 0.80 ^a						1.9 \pm 0.70 ^a						0.79 \pm 2.04 ^c						-			1.79 \pm 0.46 ^a					
A.N	24.84 \pm 2.28 ^a						23.58 \pm 2.26 ^a						6.41 \pm 2.04 ^c						-			17.83 \pm 1.97 ^b					

CP (Comprimento do corpo do parasito), LP (Largura do corpo do parasito), AP (Área do parasito), CN (Comprimento do núcleo do parasito), LN (Largura do núcleo do parasito), AN (Área do núcleo do parasito), M (Média), DP (Desvio Padrão), MIN (Mínima), MÁX (Máxima). Medidas lineares em μm e medidas das áreas em μm^2 . As medidas de comprimento, largura e área do parasito estão representadas por média \pm desvio padrão (SD). As medidas com mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Turkey.

5 - DISCUSSÃO:

Nas amostras sanguíneas de testudines, formas evolutivas como trofozoítos, pré-merontes, merontes primários eritrocíticos, merontes secundários eritrocíticos, microgametócitos e macrogametócitos, foram observadas por meio da análise morfológica. A presença de diferentes formas evolutivas está diretamente relacionada com a continuidade da infecção nos hospedeiros.

Na literatura presente, poucos trabalhos identificaram somente o gênero, baseados, principalmente nas formas evolutivas sanguíneas em testudines. Soares et al. (2014), executaram caracterização morfológica e morfométrica das formas evolutivas sanguíneas. Contudo, somente microgametócitos, macrogametócitos e merontes foram observados em suas análises.

Nessa pesquisa foi observado que os trofozoítos de *Haemogregarina* apresentaram único vacúolo citoplasmático em uma das extremidades, diferente dos observados por Devoráková et al. (2013), os quais possuíam mais de um vacúolo. De forma complementar, Telford et al. (2009) relataram presença de núcleo evidenciado, enquanto que Devoráková et al. (2013) observaram em *Haemogregarina stepanowi* núcleo não evidenciado, como no presente estudo.

As médias morfométricas de comprimento e largura dos trofozoítos nessa pesquisa condizem com de outras espécies de *Haemogregarina* descritas na literatura. Devoráková et al. (2013) relataram essas formas evolutivas de *Haemogregarina stepanowi* em testudines, com medidas morfométricas de $9.6 \pm 1.3 \times 5.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$. Os pré-merontes identificados nesse estudo diferem na morfologia dos citados na literatura. A morfometria foi similar em comprimento, mas diferente em largura dos registros feitos por Devoráková et al. (2013).

Análise morfológica e morfométrica de micromerontes foi realizada por Soares et al. (2014), também em *P. uniflilis*. Foi relatada presença de 5-10 núcleos, com comprimento e largura de $28.34 \pm 2.28 \times 14.5 \pm 1.0 \mu\text{m}$, respectivamente. Os micromerontes do presente estudo apresentaram medidas morfométricas inferiores, além de possuir 4-7 núcleos.

As análises dos microgametócitos e macrogametócitos foram equivalentes à de Soares et al. (2014), os quais relataram duas características morfológicas de microgametócitos e macrogametócitos.

A partir das semelhanças morfológicas e morfométricas observadas entre o presente estudo e o de Soares et al. (2014), pode-se inferir que as hemogregarinas pertencem à mesma espécie.

Com relação aos macromerontes, foi observada semelhança, quando comparados com os de Telford et al. (2009) em trabalho com testudines aquáticos, havendo pequena diferença no número de núcleos. A principal diferenciação dessas estruturas para os micromerontes é a quantidade de núcleos. Conforme ocorre divisão da cromatina nuclear, observa-se até 150 núcleos ou mais, no presente estudo igual ou superior a 50. Neste caso, pode ocorrer ruptura da membrana celular do eritrócito.

Há dois relatos de macromerontes no sangue de testudines, descritos por Telford et al. (2009) e Koidzumi (1910). De acordo com esses autores, a provável explicação para ocorrência dessas estruturas com intensa divisão da cromatina nuclear é o não sequestro/alojamento dos micromerontes nos órgãos como o fígado e baço, por exemplo, para o início da merogonia; ou a inexistência de merogonia nos tecidos.

Deve-se destacar que a análise do conjunto morfológico e morfométrico das formas evolutivas de *Haemogregarina* em testudines nesse estudo são inéditas na literatura. Por meio das análises de *Hepatazoon* sp. em crocodilianos, foi possível observar quatro

características morfológicas de gametócitos intraeritrocíticos, em um mesmo hospedeiro. Hull e Camin (1960), descreveram que essas variações morfológicas de gametócitos podem ser uma única espécie com estádios evolutivos distintos, até atingirem a fase de maturação.

Pelas análises morfológicas e morfométricas dos gametócitos intraeritrocíticos e extraeritrocíticos do presente estudo, juntamente com informações epidemiológicas e de outros trabalhos, foi possível identificar a espécie *Hepatozoon caimani*.

Autores como Santos (2014) e Lainson et al. (2003) relataram dados morfométricos e morfológicos para gametócitos maduros de *Hepatozoon caimani*. Os trabalhos relataram presença do envoltório parasitóforo, assim como, deslocamento do núcleo celular para a extremidade do eritrócito.

Os autores Lainson et al. (2003) relataram somente uma forma morfológica de gametócito, semelhante aos gametócitos maduros observados nesse estudo, cujas medidas de comprimento e largura para o corpo do hemoparasito foram de 12.15 x 4.3 (10 x 3.75- 13.75 x 3.75) μm , semelhante ao calculado no presente estudo.

Nas análises de hemoparasitos do gênero *Hepatozoon sp.* em serpentes, foi possível observar cinco características morfológicas, das quais, M1 e a M2 estão presentes em serpentes de vida livre da espécie *Crotalus durissus*. A M2 apresentou vacúolos citoplasmáticos e núcleo com formato e dimensões menores que a M1. Todas as medidas morfométricas de M1 foram superiores às de M2, mas pelos cálculos estatísticos das medidas não foram observadas diferença significativa.

Os cálculos estatísticos das variações entre M1, M2 e M5 não foram significantes, mesmo M5 apresentando todas as medidas morfométricas do corpo do parasito superiores a M2 e todas as medidas morfométricas do núcleo do parasito inferiores a

M1. Vale ressaltar, que assim como M1 e M2, as serpentes parasitadas com M5 são da mesma espécie (*Crotalus durissus*), mas cativas.

As características morfológicas observadas em M3 e M4 divergem, principalmente do núcleo: presença de núcleo com formato definido (M3) e núcleo com formato não definido (M4). Entretanto, as medidas morfométricas do corpo do parasito foram semelhantes e não houve diferença significativa entre as variações.

6 - CONCLUSÃO:

Dentre os gêneros de hemoparasitos em répteis apresentados neste estudo, as hemogregarinas foram mais prevalentes.

No grupo das hemogregarinas, o gênero *Haemogregarina* foi observado em testudines e o gênero *Hepatozoon* em crocodilianos e serpentes.

As análises morfológicas e morfométricas dos gametócitos extraeritrocíticos e intraeritrocíticos, permitiram identificar a espécie *Hepatozoon caimani* em crocodilianos.

Através da análise morfológica e morfométrica, das formas evolutivas sanguíneas em testudines, foi possível identificar o gênero *Haemogregarina*.

Diversidade morfológica e morfométrica foi verificada em gametócitos de *Hepatozoon* sp. em serpentes.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BARTA, J.R. Phylogenetic analysis of the class Sporozoea (phylum Apicomplexa Levine, 1970): evidence for the independent evolution of heteroxenous life cycles. **J. Parasitol.** v. 75, n.2, p. 195-206, 1989.

CAMPBELL, T.W. Clinical pathology. In: MADER D.R. (Ed.), **Reptile Medicine and Surgery.** p. 248-257, Philadelphia, 1996.

De BIASI, P. et al. Presença de *Hepatozoon plimmeri* (Sambon, 1909)-Coccidia, Haemogregarinidae-em exemplar de *Bothrops jararaca* (Wied, 1984)-Serpentes, Viperidae, Crotalinae-mantido em cativeiro. *Memórias do Instituto Butantan* v.55, p. 117-121, 1989.

DEVORÁKOVÁ, N.; KVICEROVÁ, J.; PAPOUSEK, I. JAVANV=BAKHT, H.; TIAR, G.; KAMI, H.; SIROKÝ,O. Haemogregarines from western Palearctic freshwater turtles (genera *Emys*, *Mauremys*) are coespecific with *Haemogregarina stepanowi* Denilewsky, 1885. **Parasitology**, v.141, p. 522-530, 2013.

FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. *Patologia clínica veterinária.* Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 279p.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. *Manual de Hematologia Veterinária.* São Paulo: Varela, 1994. p.132-133.

KLINGENBERG, Roger J. **Understanding reptile parasites.** 2. ed. Singapore: Advanced Vivarium Systems, 2007. 200 p.

LAINSON, R.; PAPERNA, I.; NAIFF, R.D. Development of *Hepatozoon caimani* (Carini, 1909) Pessoa, De Biasi and De Sousa, 1972 in the Caiman crocodilus, the frog *Rana catesbiana* and the mosquito *Culex fatigans*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.98, p.103-113, 2003.

LEAL, D.D.M. **Ocorrência de hemoparasitos dos gêneros *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Tripanosomatidae) e hemogregarinas em Anuros dos Estados de**

São Paulo e Mato Grosso do Sul. 2007. 47p. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2007.

LUZ, M. A. et al. Determinação de hemogregarina em *Boa constrictor constrictor* mantidos em cativeiro. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 8, p. 781-785, ago. 2012.

MACHADO, C.C. **Infecção pelo gênero Hepatozoon em serpentes.** 2005. 20 p. Monografia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2005.

MADER, D.R. **Reptile medicine and surgery.** Philadelphia: Saunders, 1996. 512p.

MESSONIER, S. **Common reptile disease and treatment.** Cambridge, Massachusetts: Walsnorth, 1999. 74 p

MELLO, E.M. **Endo e ectoparasitos de serpentes *Crotalus durissus* Linnaeus, 1758 (Viperidae) de algumas localidades de Minas Gerais.** Dissertação de Mestrado em Parasitologia - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

MOÇO, Tatiana Cristina. **Prevalência de *Hepatozoon* spp. em serpentes e caracterização morfológica, morfométrica e molecular de *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) de *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae) naturalmente infectadas.** 2008. 67 p. Dissertação de Mestrado em Biologia Geral e Aplicada, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

MOLLER, A. P., NIELSEN, J. T., 2007. Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. **Ecology**, v.88, p.871-881.

NASIRI, V. et al. A description of parasites from Iranian snakes. **Exp. Parasitol.** v.147, p.7-15, 2014.

O'DWYER, L. H. et al. Prevalência de *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) em serpentes recém-capturadas no Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.55, n.3, Belo Horizonte, 2003.

PESSOA S.B.; CAVALHEIRO J. Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. IX – Sobre a hemogregarina de *Helicops carinicauda* (Wied.). **Mem. Inst. Butantan.** v. 15, p. 161-168, 1969a.

PESSOA S.B.; CAVALHEIRO J. Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. VIII – Sobre a evolução da “*Haemogregarina miliaris*” na sanguessuga “*Haementeria lutzii*”. **Rev. Bras. Biol.**, v. 29, n. 4, p. 451-458, 1969b.

PINCHEIRA-DANOSO, D. et al. Global Taxonomic Diversity of Living Reptiles. **Plos One.** v.8, n.3, março 2013.

SANTOS, M. M. V.; O'DRYER, L. H.; SILVA, R. J. Sasonal variation of *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) parasitemia from *Boa constrictor amarali* (Serpentes, Boidae) and *Hydrodynastes gigas* (Serpentes, Colubridae), 2005.

SANTOS, P.S. ***Hepatozoon caimani: caracterização morfológica e molecular.*** Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2014.

SMITH, G.T. The genus hepatozoon (APICOMPLEXA: ADELEINA). **The journal of Parasitology.** v.82, p.565-585, 1996.

SOARES, P.; BRITO, E.S.; PAIVA, F.; PAVAN, D.; VIANA, L.A.; *Haemogregarina* spp. in wild population from *Podocnemis unifilis* Trschel, 1848 in Brazilian Amozonia, **Parasitology Research**, v.80, p.4499-4503, 2014.

TELFORD, S.R. Jr. Hemoparasites of reptiles. In. Diseases of amphibians and reptiles, G. L. Hoff, F.L. Frey, and E.R. Jacobson (eds.) **Plenun Press**, New York. p. 385-517, 1984.

TELFORD, S.R. Jr. Hemoparasites of the reptilia. **Color Atlas and Text.** 2009.

UETZ, Peter; HOŠEK, Jirí. The reptile database. 2016. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org/>>. Acesso em: 17 dez. 2016.

URSULA, H. et al. Blood parasites in reptiles imported to Germany. **Parasitol Res.** v.113,p. 4587-4599, 2014.

VARDO, A.M.; WARGO, A.R.; SCHALL, J.J. PCR Detection of lizard malaria parasites: Prevalence of *Plasmodium* infections with low-level parasitemia differs by site and season. **J. Parasitol.** v.91, n.6, p.159-1511, 2005.

WOZNIAK, E.J. et al. Granulomatous hepatitis associated with *Hepatozoon* sp. meronts in a southern water snake (*Nerodia fasciata pictiventris*). **Jounal of Zoo and Wildlife Medicine.** v. 29, n.1, p.68-71, 1998.

8 – ANEXOS

ANEXO 1:



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado “Análise morfológica e caracterização molecular de hemoparasitos de répteis de vida livre e cativoiro”, protocolo nº 032/16, sob a responsabilidade de **Márcia Cristina Cury** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião de **03 de junho de 2016**.

(We certify that the project entitled “Análise morfológica e caracterização molecular de hemoparasitos de répteis de vida livre e cativoiro”, protocol 032/16, under the responsibility of Márcia Cristina Cury - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of June 03rd, 2016).

Vigência do Projeto	Início: 15/06/2016 Término: 15/02/2017
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Espécie Silvestre brasileira – Réptil Réptil – serpentes, Testudines, crocodilianos, lagartos
Número de animais	-
Peso / Idade	-
Sexo	-
Origem / Local	Laboratório de Pesquisa e Ensino em Animais Silvestres (LAPAS-UFU) e Fundação Ezequiel Dias (FUNED)
Número da Autorização SISBIO	51398-1
Atividade(s)	-

Uberlândia, 10 de junho de 2016.

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU

ANEXO 2:

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais
Silvestres**

**AUTORIZAÇÃO**

Uberlândia, 11 de junho de 2015.

Autorizo as pesquisadoras Márcia Cristina Cury e Leticia Pereira Úngari utilizar os répteis do acervo do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres para realização da pesquisa “Análise morfológica e caracterização molecular de hemoparasitos em répteis de vida livre e cativoiro”.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'André Quagliatto Santos'.

Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Coordenador técnico do Laboratório de
Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres

ANEXO 3:

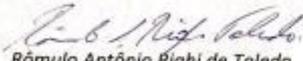
 FUNED Fundação Ezequiel Dias	Participar do fortalecimento do Sistema Único de Saúde, protegendo e promovendo a saúde
---	--

Termo de Compromisso

O Serviço de Animais Peçonhentos - SAP da Fundação Ezequiel Dias - Funed, está trabalhando conjuntamente no Projeto de Pesquisa do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, da Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas.

O Serviço de Animais Peçonhentos da Funed, aceita contribuir com amostras de sangue das serpentes de cativeiro para o projeto, devidamente licenciado pelos órgãos competentes. Projeto de Análise Morfológica e Caracterização Molecular de Hemoparasitos em répteis de vida livre e cativeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre da aluna Leticia Pereira Úngari, tendo como orientadora a Professora Dr.^a Márcia Cristina Cury e Co-orientador o professor Dr. André Luiz Quagliatto Santos, ambos catedráticos da Universidade federal de Uberlândia – UFU.

Belo horizonte, 07 de Outubro de 2015.


Rômulo Antônio Righi de Toledo
Chefe do Serviço de Animais Peçonhentos
Divisão de Produção Animal
Diretoria Industrial

Bica Conde Pereira Carneiro, nº 80 - Gameleira
Belo Horizonte - MG - CEP 30.510-010
www.funed.mg.gov.br
e-mail: atendimento@funed.mg.gov.br
Tel. (0800 251 1980)



