

CAPÍTULO 4

ANÁLISE DE COPROCULTURA PARA IDENTIFICAÇÃO DE LARVAS DE *STRONGYLUS* SPP. EM *HYDROCHOERUS HYDROCHAERIS*

Data de aceite: 02/05/2024

Larissa Ricardo Leite

Universidade Estadual de Maringá,
Maringá-PR,
<https://lattes.cnpq.br/6959683432677171>

Lucas Alexandre Ferri de Andrade

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<https://lattes.cnpq.br/0427518031028786>

Ana Carolina Horta

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/9409154022597236>

Maria Eduarda Araujo Ribeiro

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/1252514425155736>

Lilian Yukari Akiyama Rosa

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/3229175648535048>

Bianca Angeli Pelissari Cidade

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/8269652592984342>

Wesley Juan de Moraes Pierobom

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR

<https://lattes.cnpq.br/4830882432900919>

Amanda Cristina Pereira

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/4690163745977930>

Alexandre do Sacramento Alves Anselmo

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/0735585755581763>

Gracielle Caroline Mari

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/4005784245705717>

Bruna Stephane Grion de Souza

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/3391719306144584>

Stefania Caroline Claudino da Silva

Universidade Estadual de Maringá
Maringá-PR
<http://lattes.cnpq.br/4435687970125195>

RESUMO: As capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) são animais amplamente distribuídos nas regiões da América do Sul e Central, sendo mamíferos semi-aquáticos. Devido à sua natureza sociável e comportamento de trânsito, esses animais estão suscetíveis a serem portadores e transmissores de diversos parasitas, incluindo nematóides, cestóides e trematóides. A técnica de coprocultura, feita a partir do cultivo das fezes do animal em estudo, de tal forma a incubar os ovos do parasita, para se obter sua larva (L2), esta técnica desempenha um papel fundamental na identificação de larvas desses parasitas. No caso do nematóide *Strongylus spp.*, a análise é realizada por meio de um microscópio, começando com a objetiva de 10x e, posteriormente, alternando para a lente de 40x para uma identificação mais detalhada das estruturas das larvas. Uma característica distintiva desse parasita é a ausência de uma bainha na cauda das larvas. Além disso, essas larvas têm um tamanho médio que varia entre 570 a 700 μm , e seu esôfago representa aproximadamente um terço de seu comprimento total, sendo classificado como relativamente curto em comparação com outras espécies. Este estudo identificou a presença de parasitas *Strongylus spp.* em capivaras de vida livre na cidade de Maringá, no estado do Paraná, por meio da análise de coprocultura. No entanto, ressalta-se a necessidade de conduzir mais pesquisas para compreender a incidência desses parasitas nessas populações de animais e determinar os tratamentos adequados, caso sejam necessários. Essa investigação é crucial para preservar a saúde das capivaras e contribuir para a conservação desses animais na região.

PALAVRAS-CHAVE: Capivara. Parasitologia. Nematóide. Verminose. Animais Selvagens.

COPROCULTURE ANALYSIS FOR IDENTIFICATION OF *STRONGYLUS* SPP. LARVAE IN *HYDROCHOERUS HYDROCHAERIS*

ABSTRACT: Capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) are widely distributed animals in South and Central America, being semi-aquatic mammals. Due to their sociable nature and transit behavior, these animals are susceptible to carrying and transmitting various parasites, including nematodes, cestodes, and trematodes. The coproculture technique, performed by cultivating the feces of the study animal to hatch parasite eggs and obtain their larvae (L2), plays a crucial role in identifying larvae of these parasites. In the case of the nematode *Strongylus spp.*, analysis is conducted using a microscope, starting with a 10x objective and then switching to a 40x lens for a more detailed identification of larval structures. A distinctive characteristic of this parasite is the absence of a sheath on the tail of the larvae. Additionally, these larvae have an average size ranging from 570 to 700 μm , and their esophagus represents approximately one-third of their total length, classified as relatively short compared to other species. This study identified the presence of *Strongylus spp.* parasites in free-living capybaras in the city of Maringá, Paraná state, through coproculture analysis. However, further research is needed to understand the incidence of these parasites in these animal populations and determine appropriate treatments if necessary. This investigation is crucial for preserving the health of capybaras and contributing to the conservation of these animals in the region.

KEYWORDS: Capybara. Parasitology. Nematode. Helminthiasis. Wild Animals.

INTRODUÇÃO

As capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) são animais que fazem parte do ciclo de vida de diversas espécies de helmintos, além de serem sociáveis que vivem em bando e habitam locais favoráveis à transmissão destes parasitos. O objetivo deste estudo foi realizar a análise de coprocultura utilizando amostras de fezes de capivaras, com o propósito de identificar a fauna endoparasitária da população de capivaras de Maringá, Paraná – Brasil, entre a data 11 de janeiro.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Hydrocaheris hydrochaeris é considerado o maior roedor do mundo, sendo é distribuído pela Américas do Sul e Central (NOWAK & PARADISO, 1986). Apesar de seus hábitos semiaquáticos, esse animal desempenha um papel crucial no ecossistema como consumidor primário, mas o conhecimento sobre os parasitas que a seletam como hospedeiro na natureza ou em cativeiro é limitado (ARAGÃO, 1936). Devido aos seus hábitos aquáticos, as capivaras são suscetíveis a infecções, uma vez que compartilham áreas de descanso com outros animais (VIEIRA et al., 2006).

Dentro desse ambiente propício a parasitas, como o *Strongyloides chapini*, muitos helmintos estão envolvidos no ciclo de vida das *Hydrocaheris hydrochaeris*, sendo o *Strongyloides chapini* (*Rhabditoidea: Strongyloididae*) um exemplo notável. Este é o único nematóide da ordem *Rhabditida* que parasita o estômago e o intestino da *H. hydrochaeris* (VIEIRA et al, 2006).

Embora a pesquisa moderna esteja cada vez mais focada em métodos sorológicos e moleculares para o diagnóstico de helmintos, a análise de fezes, como a coprocultura, é o método de rotina mais comum para detecção destes parasitas (TAYLOR et. al, 2017). Para amostras de fezes de animais de grande porte, é recomendável coletá-las diretamente do reto do animal e examiná-las enquanto ainda estão frescas (TAYLOR et. al, 2017) Se a coleta direta não for viável, as fezes podem ser colhidas do chão, desde que sejam manipuladas com materiais adequados, como luvas de plástico, a menos que sejam examinadas no mesmo dia, as fezes devem ser refrigeradas (TAYLOR et. al, 2017).

O *Strongyloides stercoralis* é um helminto intestinal que parasita capivaras e seres humanos por meio do contato com o solo contaminado por suas larvas. Esse tipo de parasita é transmitido por animais e pessoas que vivem em áreas endêmicas nos trópicos e subtópicos. Os sintomas da estrogiloidíase incluem manifestações cutâneas e gastrointestinais, embora na maioria dos casos a infecção seja assintomática, podendo ser identificada pela elevação dos níveis de eosinófilos no sangue (GREAVES et. al., 2013). É importante realizar exames em indivíduos que vivem em áreas endêmicas desse helminto, pois a infecção pode persistir no intestino por décadas. Indivíduos com estrogiloidíase

crônica, têm um risco aumentado de desenvolver sepse e falência de múltiplos órgãos. No entanto, se o parasita for identificado em exames de rotina, pode ser facilmente tratado com medicamentos helmínticos orais (GREAVES et. al., 2013).

METODOLOGIA

A coleta ambiental das amostras fecais recém-emitidas pela capivara de vida livre ocorreu em Maringá, no estado do Paraná (Latitude: -23.4273, Longitude: -51.9375, coordenadas geográficas 23° 25' 38" Sul e 51° 56' 15" Oeste), no dia 11 de janeiro de 2023. Ressalta-se que a pesquisa não necessitou de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – UEM), uma vez que não envolveu contato direto ou qualquer forma de interação com os animais.

A amostra foi adequadamente acondicionada em recipientes de polietileno de alta densidade, equipados com tampas de rosca, visando à preservação da sua integridade. Posteriormente, foram devidamente identificadas e armazenadas em um refrigerador apropriado. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia e Reprodução Animal, localizado no Departamento de Zootecnia (DZO), na sala 008 do edifício J57 da Universidade Estadual de Maringá, onde foram submetidas à análise.

Para a identificação das larvas de parasitas intestinais, utilizou-se a técnica de coprocultura modificada (figura 1). Foi pesada uma quantidade de 20 a 30 gramas da amostra de fezes, que foi transferida para um recipiente tipo Becker, alternando camadas de fezes e papel, utilizado como substrato para as larvas quando eclodissem. Em seguida, o Becker foi coberto com uma placa de Petri para evitar que as larvas escapassem durante o período de incubação, que se estendeu por 7 dias.

Após a incubação, foi adicionada cuidadosamente água destilada ao Becker. Em seguida, com o auxílio da placa de Petri cobrindo a boca do recipiente, este foi invertido, de modo a posicionar a parte inferior para cima. Essa operação permitiu que as larvas presentes nas amostras emergissem à superfície da água ao longo de um período de 15 minutos, conforme descrito por UENO & GONÇALVES em 1970.

Uma vez as larvas na superfície da água, uma pipeta foi utilizada para retirar uma pequena quantidade do líquido contendo as larvas, que foi então transferida para uma lâmina de microscópio, coberta com uma lamínula. Para a observação das larvas, empregou-se um microscópio Motic BA210S LED BINO (Microscópio Binocular com Iluminação LED), equipado com lentes objetivas de 40 vezes e 100 vezes, com óleo de imersão, a fim de obter imagens mais nítidas e detalhadas do parasita, onde encontrou-se a larva usando a primeira e a segunda para verificar as suas estruturas e identificação das mesmas.

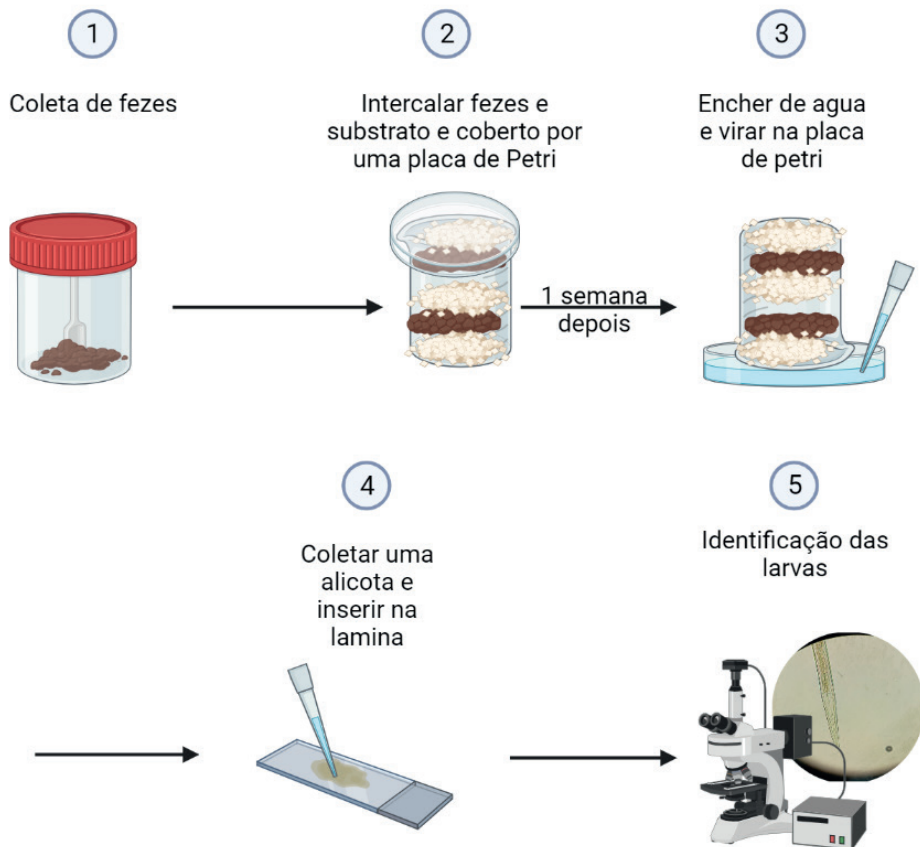


Figura 1- Esquema da identificação pelo método da coprocultura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise de coprocultura foi possível encontrar larvas rabbitiformes de *Strongyloides spp.* de segundo estágio (L2), com seu vestíbulo bucal curto (figura 2), facilitando a visualização de sua cauda pontiaguda (figura 3). No terceiro estágio larval, esses nematoides se mostram muito ágeis com movimentos ondulatórios e possuem em sua morfologia, principalmente uma abertura oral, um esôfago filariforme do tipo rabbitoide, primórdios genitais, poro anal, células intestinais, um poro excretor, o intestino e uma cauda de fácil visualização, totalizando assim em um comprimento total de 570-700um (UENO & GONÇALVES, 1970).



Figura 2- Vestíbulo bucal curto de Larva de strongyls spp, vista do microscopio na objetiva de 40x

Fonte: Acervo pessoal

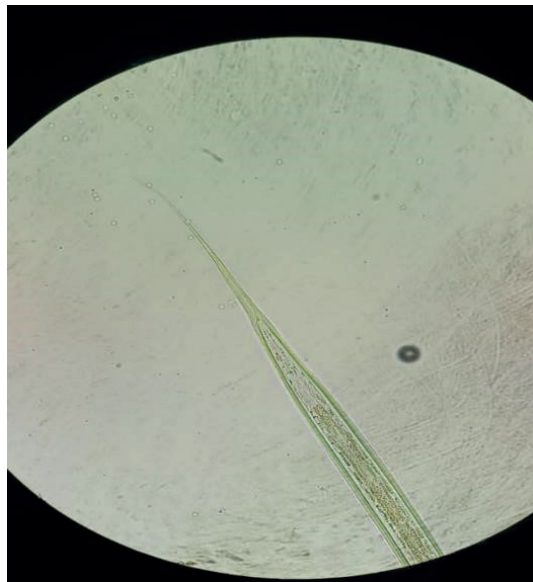


Figura 3- Cauda pontiaguda de Larva de strongyls spp, vista do microscopio na objetiva de 40x.

Fonte: Acervo pessoal

As larvas Rhabditiformes de segundo estágio apresentam um corpo afilado e suas extremidades anteriores contendo os lobos dorsal e ventral, além da cavidade bucal que está mais evidente (figura 2) e sua cauda pontiaguda (figura 3) (VIEIRA et. Al, 2006). Várias dessas espécies já foram relatados em outros trabalhos a seguir, colaborando com os resultados.

Estudos realizado por SANTOS (2008) com o objetivo de contribuição para as características de *Strongyloides spp*, foram realizadas coproculturas para obtenção das larvas machos e fêmeas de vida livre, nas quais forma morfológicamente analisadas.

De acordo com OLIVEIRA (2019) em “Métodos de diagnóstico para estrogiloidíase humana”, as características morfológicas dos parasitas são muito importantes para definição do diagnóstico. As larvas rabditóides medem aproximadamente 385 mm de comprimento por 21 mm de largura, seus esôfagos do tipo rabditóide, que está dividido em três partes: corpo, istmo e bulbo, ocupando 25% do comprimento do seu corpo (UENO & GONÇALVES, 1970).

Estudando a morfologia desse helminto em suas fases evolutivas que são vistas em seus ciclos evolutivos: fêmea partenogenética parasita, larva rabditóide, larva filarióide, macho e fêmea de vida livre. A fêmea parasita é encontrada no duodeno e na porção superior do jejuno, porém há casos de terem sido encontradas desde a porção pilórica do estômago até o intestino grosso (MACEDO, 2017).

Esses parasitas atingem exclusivamente animais jovens, por não estarem desenvolvidos 100% ou animais com baixa imunidade, onde o corpo apresenta maior dificuldade em combater os agentes. A penetração das larvas pode causar dermatite localizada, irritação e inflamação local. São parasitas facultativos, pois podem sobreviver sem o hospedeiro. As fêmeas têm um tamanho muito pequeno e seu esôfago é filariforme ocupa um terço do corpo (MARTINS, 2019).

Strongyloides spp. foi descrito como parasita de capivara sendo relatado no Brasil por YAMAGUTI (1961) e no estado de Mato Grosso do Sul por NASCIMENTO et. al (1991) e por COSTA & CATTO (1994) com prevalência de 47,8%. *Strongyloides sp.* foi citado no Brasil por ARANTES et al. (1985) e por SINKOC (1997) sendo encontrado por este autor no estado do Rio Grande do Sul com prevalência de 62,50%. COSTA & CATTO (1994) observaram uma diferença bem significativa na prevalência de *Strongyloides sp.* entre animais jovens (com valores de 100%) e animais adultos (com 9%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A coprocultura se trata de uma metodologia muito utilizada para o diagnóstico de infecções por helmintos, na qual realiza a identificação precisa de parasitas e orienta o tratamento adequado. Este estudo realizado com *H. hydrochaeris* obteve a presença de uma espécie de parasita em estágio larval, a qual foi identificada com base nas características morfológicas, sendo larvas rhabditiformes de *Strongyloides* sp. Portanto, este estudo demonstra o quanto a coprocultura, quando utilizada adequadamente, desempenha um papel fundamental na mitigação dessas infecções e na promoção da saúde intestinal.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, H. de B. **Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 759-844, 1936.
- ARANTES, I. G.; NASCIMENTO, A.A. DO; ARTIGAS, P. DE T.; **MACEDO, N.A. DE Trichostrongyloidea Cram 1927 parasitos de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766) provenientes do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil**. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 10., 1985, Jaboticabal, SP. Resumos. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, 1985b. P.68.
- COSTA, C. A. F.; CATTO, J. B. **Helmintos parasitos de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na sub-região da Nhecolândia, Pantanal Sul-Mato-grossense**. Rev. Bras. Biol., 54:39-48, 1994.
- GREAVES, D.; COGGLE, S.; POLLARD, C.; ALIYU, S. H.; MOORE, E. M. **Strongyloides stercoralis infection**, 2013. Disponível em: <<https://www.bmj.com/content/t347/bmj.f4610>>. Acesso em: 03 out. 2023.
- MACEDO, H. W. DE. **Apostila de Parasitologia Humana Parte II Helmintos**, 2017. Disponível em: <https://www.professores.uff.br/yaraadami/wpcontent/uploads/site_s/155/2017/10/12ApostHWM_Paraso_Parte_II_-_S.stercoralis_R1.pdf>. Acesso em: 02 Out. 2023.
- MARTINS, I. V. F. **parasitologia-veterinaria_livro-digital**, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/11421/1/parasitologia-veterinaria_livro-digital.p df>. Acesso em: 05 Out. 2023.
- NASCIMENTO, A. A.; TEBALDI, J. H.; ASCARI, H.; ARANTES, I. G. **Helmintos parasitos de *Hydrochaeris hydrochaeris* Hydrochaeris (Linnaeus, 1766) no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil**. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 1991, São Paulo. Anais. Ver. Bras. Parasitol. Vet., v.1, n.0, p.3, 1991. Resumo 49.
- NOWAK, R.M., PARADISO, J.L. **Walker's Mammals of the World**. 3.ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1986. 1500 p.
- OLIVEIRA, B.B. **Métodos de diagnóstico para estrogiloidiase humana**, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/43196>>. Acesso em: 01 out. 2023.
- SANTOS, K. R. **Caracterização morfológica e molecular de *Strongyloides ophidiae* (nematoda, strongyloidiidae) parasitas de serpentes**. 2008. Disponível em: <http://MetodosDiagnosticoEstrongiloidiase_Oliveira_2019-2.pdf>. Acesso em: 4 out. 2023.

SINKOC, A.L. **Helmintos e artrópodos parasitos de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* L.1786) em área de exploração pecuária na Região do Banhado do Taim, Rio Grande, RS, Brasil.** Porto Alegre: 1997. 89p. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Univ. Fed. RioGrande do Sul].

TAYLOR, M A.; COOP, R L.; WALL, R L. **Parasitologia Veterinária, 4ª edição. [GUANABARA KOOGAN]: Grupo GEN, 2017. E-book.** ISBN 9788527732116. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732116/>>. Acesso em: 01 out. 2023.

UENO, H., GONÇALVES, P. C. **MANUAL PARA DIAGNOSTICO DAS HELMINTOSES DE RUMINANTES.** Japan international cooperation agency. Ed. 2, pg. 28-49, 1970.

VIEIRA, F. M., LIMA, S. S., BESSA, E. C. A. **MORFOLOGIA E BIOMETRIA DE OVOS E LARVAS DE *Strongyloides* sp. GRASSI, 1879 (RHABDITOIDEA: STRONGYLOIDIDAE) PARASITO GASTROINTESTINAL DE *Hydrochaeris hydrochaeris* (LINNAEUS, 1766) (RODENTIA: HYDROCHAERIDAE), NO MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2006, 15(1), 7-12. ISSN: 0103-846X. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=397841457002>>. Acesso em: 30 set. 2023.

YAMAGUTI, S. **Systema helmintum: the nematodes of vertebrates.** New York: Interscience, 1961. V.3, 1261p.