

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

PATOLOGIA DA INFECÇÃO POR TREMATÓDEOS
SPIRORCHIIDAE (DIGENEA: SCHISTOSOMATOIDEA) EM
TARTARUGAS VERDES (*Chelonia mydas*) NA
BACIA DE CAMPOS, RIO DE JANEIRO

Reina Isabel Argueta Cartagena

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**PATOLOGIA DA INFECÇÃO POR TREMATÓDEOS
SPIRORCHIIDAE (DIGENEA: SCHISTOSOMATOIDEA) EM
TARTARUGAS VERDES (*Chelonia mydas*) NA
BACIA DE CAMPOS, RIO DE JANEIRO**

REINA ISABEL ARGUETA CARTAGENA

Sob a Orientação do Professor
Daniel Guimarães Ubiali

Dissertação submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Mestre, no Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária -
Patologia e Ciências Clínicas, Área de
Concentração Patologia Animal

Seropédica, RJ

Agosto de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A481
Cartap Argueta Cartagena, Reina Isabel , 1992-
 PATOLOGIA DA INFECÇÃO POR TREMATÓDEOS SPIRORCHIIDAE
 (DIGENEA: SCHISTOSOMATOIDEA) EM TARTARUGAS VERDES
 (Chelonia mydas) NA BACIA DE CAMPOS, RIO DE JANEIRO /
 Reina Isabel Argueta Cartagena. - La Ceiba,
 Atlántida Honduras, 2022.
 39 f.

 Orientadora: Daniel Guimarães Ubiali.
 Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
 do Rio de Janeiro, Programa de pós graduação em
 Medicina Veterinária Patologia e Ciências Clínicas ,
 2022.

 1. Helminthos. 2. Conservação da biodiversidade. 3.
 Animais marinhos. I. Guimarães Ubiali, Daniel, 1985-,
 orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
 Janeiro. Programa de pós graduação em Medicina
 Veterinária Patologia e Ciências Clínicas III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

REINA ISABEL ARGUETA CARTAGENA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Área de Concentração Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/08/2022

Daniel Guimarães Ubiali. Dr. UFRRJ
(orientador)

José Luis Fernando Luque Alejos. Dr. UFRRJ

Fábio de Souza Mendonça. Dr. UFRPE



Emitido em 2022

TERMO N° 944/2022 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 26/08/2022 08:41)

DANIEL GUIMARAES UBIALI

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matrícula: ###017#8

(Assinado digitalmente em 26/08/2022 09:13)

JOSE LUIS FERNANDO LUQUE ALEJOS

PROPPG (12.28.01.18)

Matrícula: ###427#6

(Assinado digitalmente em 26/08/2022 12:30)

FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA

CPF: ###.###.094-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **944**, ano:
2022, tipo:

TERMO, data de emissão: **25/08/2022** e o código de verificação: **4448b4eb56**

AGRADECIMENTOS

A nossa caminhada pela vida não teria graça sem as pessoas que cruzam o nosso caminho, seja para nos ensinar, fortalecer, ajudar ou deixar uma lição de vida, pois cada uma delas se torna parte de nossas conquistas contribuindo para à formação de cada degrau e alcançar o objetivo almejado. É congratulante saber que o Deus divino e o universo sempre se encarregaram de colocar as pessoas certas em cada jornada desde o início até o fim.

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais, Alfonso Antonio Argueta Acosta e Maria Olivia Cartagena por serem os melhores que alguém poderia ter. Obrigada Pelo apoio, motivação e carinho e principalmente por terem contribuído para que eu pudesse alcançar este objetivo.

Ao meu orientador Daniel Ubiali por ter se dedicado o quanto pode para me orientar no ramo desta pesquisa, auxílio durante a execução do trabalho, fornecimento de material bibliográfico, e o mais importante, por confiar em minha capacidade de vencer mais essa etapa. A sua companheira Bianca Weiss por ter me acolhido quando cheguei em Seropédica, muito obrigada pelo carinho.

As minhas amigas do alojamento feminino da Pós-Graduação, em especial a Mayara Tavares, Eliene Fernandes e Gabriela Pereira obrigada pelo carinho, irmandade e acolhimento.

Agradeço a todos os companheiros do Setor de Anatomia Patológica, em especial a Gabriela Pereira, Ashley Henrique, Luís Tondo e Marina Souza por terem colaborado para a elaboração desta pesquisa.

A equipe do Centro de reabilitação de animais marinhos CTA obrigada pela confiança e ensinamentos. Agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de executar este projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

CARTAGENA, Reina Isabel Argueta. **Patologia da infecção por Spirorchiidae (Digenea: Schistosomatoidea) em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) na Bacia de Campos, Rio de Janeiro.** 2022. 36p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

A espiroquidíase é uma das doenças mais comuns em tartarugas verdes. Os ovos e a forma adulta dos trematódeos são encontrados principalmente no coração, fígado, pulmão, baço e trato gastrointestinal. O objetivo do presente estudo foi descrever os aspectos patológicos da infecção por trematódeos Spirorchiidae em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) na Bacia de Campos, Rio de Janeiro. O presente trabalho foi baseado na necropsia de 99 tartarugas verdes (*Chelonia mydas*, Chelonidae) no período de abril a dezembro de 2021. Os dados epidemiológicos foram obtidos do Sistema de Informação de Monitoramento da Biotá Aquática (SIMBA). Realizou-se exame histopatológico no Setor de anatomia Patológica (SAP) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ). Os fragmentos de tecidos (papila bucal, esôfago, traqueia, pulmão, coração, rim, bexiga, estômago, fígado, baço, intestinos, gônadas, adrenal, tireoides, pâncreas, glândulas de sal, músculo e pele) foram coletados e fixados em formalina a 10% tamponada, processados rotineiramente para exame histológico. Em 89% (88/99) dos casos, as tartarugas-verdes apresentaram lesões compatíveis com infecção parasitária. Das 88 tartarugas, 87 eram jovens (99%), 75% (66/88) correspondiam a fêmeas, 25% (22/88) a machos. Em 14% (12/88) das tartarugas foram encontrados parasitas adultos e seus ovos causando inflamação granulomatosa. Em 86,4% (76/88) das tartarugas foram encontradas lesões granulomatosas associadas aos ovos dos trematódeos. Os órgãos com maior quantidade de granulomas associados a ovos foram: baço, intestino delgado, adrenal, pâncreas e pulmões. Trematódeos adultos foram principalmente observados nas lesões histológicas, em ordem de ocorrência, no esôfago, estômago e intestino delgado. Do total de tartarugas parasitadas, 33% (29/88) das mortes ocorreram em consequência de múltiplas causas como fraturas, interação com pesca, predação e fibropapilomas. As outras 67% (59/88) apresentaram como causa de morte a doença granulomatosa multissistêmica causada pela infecção por trematódeo da família Spirorchiidae. São apresentadas evidências de que a espiroquidíase é altamente prevalente em tartarugas verdes jovens no Rio de Janeiro, responsável por extensas lesões crônicas, quadro clínico de debilidade e mortalidade significativas.

Palavras-chaves: Biologia marinha, patologia veterinária, parasitas intravasculares.

ABSTRACT

CARTAGENA, Reina Isabel Argueta. **Pathology of Spirorchidae (Digenea: Schistosomatoidea) infection in green turtles (*Chelonia mydas*) on Campos Basin, Rio de Janeiro.** 2022. 36p. Dissertation (Master's degree in Veterinary Medicine). Veterinary Institute, Postgraduate Program in Veterinary Medicine - Pathology and Clinical Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Spirorchidiasis is one of the most common diseases in green turtles. Eggs and the adult form of trematodes are mainly found in the heart, liver, lung, spleen, and gastrointestinal tract. The present study aimed to describe the pathological aspects of Spirorchidae trematode infection in green turtles (*Chelonia mydas*) in the Campos Basin, Rio de Janeiro. The current study was based on the necropsy of 99 green turtles (*Chelonia mydas*, Cheloniidae) from April to December 2021. Epidemiological data were obtained from the Aquatic Biota Monitoring Information System (SIMBA). A histopathological examination was performed at the “Setor de Anatomia Patológica” (SAP) from “Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro” (UFRuralRJ). Tissue fragments (buccal papilla, esophagus, trachea, lung, heart, kidney, bladder, stomach, liver, spleen, intestines, gonads, adrenal, thyroid, pancreas, salt glands, muscle, and skin) were sampled for histological examination. The green turtles had lesions compatible with parasitic infection in 89% (88/99) cases. Out of 88 turtles, 87 were juveniles (99%), 75% (66/88) were females, and 25% (22/88) were males. Adult parasites and their eggs were found to cause granulomatous tissue reactions in 14% (12/88) of turtles. Egg-associated granulomatous inflammation was found in 86% (76/88) of the turtles. The organs with the highest number of egg-associated granulomas in order of occurrence were: the spleen, small intestine, adrenal gland, pancreas, and lungs. The adult trematodes were observed in histological lesions in order of occurrence, mainly in the esophagus, stomach, and small intestine. Out of the total number of turtles parasitized, 33% (29/88) of deaths occurred due to multiple causes such as fractures, interaction with fishing, predation, and fibropapillomas. The other 67% (59/88) presented multisystemic granulomatous disease caused by Spirorchidae infection as a cause of death. Evidence is presented that spirorchidiasis is highly prevalent in young green turtles, is responsible for extensive chronic lesions, and responsible for significant debilitation and mortality.

Keywords: Marine biology, veterinary pathology, blood fluk

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Aspectos gerais das tartarugas marinhas.....	10
2.2 Espécie <i>Chelonia mydas</i>	10
2.2.1 Características básicas.....	10
2.2.2 Comportamento alimentar e dieta	11
2.3 Parasitas e parasitismo	12
2.3.1 Parasitismo em Tartarugas verdes.....	12
2.3.2 Subclasse Digenea	13
2.4 Espirorquidíase.....	14
2.4.1 Ciclo de vida dos espirorquídeos em tartarugas de água doce.....	15
2.4.2 Ciclo de vida em doenças, controle e epidemiologia.....	16
2.4.3 Disseminação dos ovos.....	16
2.5 Sinais clínicos e diagnóstico.....	17
2.5.1 Patologia.....	18
2.6 Diagnóstico de espirorquidíase.....	19
2.6.1 Diagnóstico <i>post mortem</i>	19
2.6.2 Copromicroscopia.....	19
2.6.3 Diagnóstico baseado em sorologia.....	20
2.6.4 Diagnóstico molecular	20
2.7 Tratamento	21
2.8 Mortalidade	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
ANEXO I - Artigo publicado na revista Pesquisa Veterinária Brasileira	33

1 INTRODUÇÃO

No mundo existem inúmeras ameaças às populações de tartarugas-marinhas, muitas das quais são causadas pelo homem. No entanto, existem também ameaças naturais, como as infecções causadas por patógenos e parasitas (GREINER, 2013). É possível observar também infecções secundárias associadas, além de uma grande quantidade de endoparasitos, o que tornou difícil estabelecer o que levou a tartaruga a óbito (WERNECK; SILVA, 2015). Muitos endoparasitas são encontrados em tartarugas marinhas, onde espécies de trematódeos e nematódeos são identificados com maior frequência, e entre as diversas espécies de parasitas identificados pelo mundo (WERNECK; GREINER 2018).

O conhecimento da diversidade de parasitas e ciclos de vida é essencial para estudos ecológicos e epidemiológicos. Os parasitas digenéticos têm ciclos de vida complexos envolvendo um ou mais hospedeiros intermediários. Além disso, a ampla quantidade de potenciais hospedeiros no meio marinho significa, uma tarefa difícil identificar hospedeiros intermediários e ciclos de vida de espiroquídeos marinhos. E a maioria das investigações dos ciclos de vida dos espiroquídeos até o momento se concentrou em espécies de água doce, que recentemente nada era conhecido sobre os ciclos de vida dos espiroquídeos.

Os animais encalhados geralmente hospedam uma abundante e diversificada fauna de endoparasitas, que apresentam adaptação ao ambiente marinho e aos hábitos migratórios de seus hospedeiros (GREINER, 2013). Ressalta-se que ações antrópicas também podem influenciar no parasitismo das tartarugas, ao exercer pressão no ciclo de vida de várias espécies e modificando as relações existentes entre hospedeiros e parasitas (SILVA et al., 2010). Dado que os espiroquídeos causam morbidade globalmente em múltiplas espécies de tartarugas marinhas, e a escassez de opções de diagnóstico impõe limitações a estudos de prevalência e cria dificuldades no tratamento e reabilitação de tartarugas encalhadas.

De acordo com estudos realizados por Klingenberg (1993), o parasitismo pode afetar esses répteis de muitas formas, como por exemplo: espoliação sanguínea, destruição de tecidos, competição por nutrientes, degradação de células, obstrução de vias e canais, produção de toxinas e reações alérgicas. Sendo assim, o estudo sobre os parasitas destes animais permite avaliar o seu estado de saúde, além de auxiliar na compreensão dos seus padrões de deslocamento, comportamento, distribuição e alimentação (MACKENZIE, 2002).

A patologia veterinária desenvolve um importante papel na identificação e determinação da causa de morte das tartarugas marinhas. Os achados patológicos em necropsias de *C. mydas* são de particular relevância, devido à carência de dados sobre essa espécie na literatura (FLINT et al., 2017). As medidas de manejo e conservação destas espécies, e o estabelecimento da *causa mortis* é um importante ponto de apoio. Portanto, torna-se indispensável que sejam realizadas mais pesquisas para se diagnosticar as causas de encalhe e morte destes animais, incluindo as parasitoses, para se avaliar o real impacto desta afecção na debilidade dos animais que chegam as praias (DUTRA et al., 2012).

Quando as necropsias são efetuadas rotineiramente, as informações também contribuem significativamente para determinar o estado de saúde da população, particularmente quando combinada com a avaliação da saúde dos animais vivos (FLINT et al., 2017). Por isso, conhecer os recursos que estão sendo utilizados por essas populações, assim como reconhecer suas principais doenças, é de fundamental importância para assegurar a manutenção das futuras gerações reprodutoras. Sendo assim, objetivou-se descrever os aspectos anatomopatológicos da infecção por trematódeos Spirorchiidae Stiles & Hassall, 1898 (Digenea: Schistosomatoidea) em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) na Bacia de Campos, Rio de Janeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais das Tartarugas Marinhas

As tartarugas marinhas pertencem à classe Reptilia, cuja característica mais marcante é o tegumento constituído por escudos ou placas córneas. A ordem Testudinata ou Testudines inclui os quelônios, cujo corpo é revestido por uma carapaça óssea, formada através da fusão das vértebras e costelas (RAPHAEL, 2003). Seus representantes atuais reúnem 14 famílias pertencentes a duas subordens, de acordo com o plano de retração da cabeça: os Cryptodira, que retraem a cabeça para dentro do casco através do curvamento do pescoço no plano vertical, e os Pleurodira, que curvam o pescoço lateralmente (GAFFNEY; MEYLAN, 1988; MEYLAN; MEYLAN, 1999; RONNING et al., 2013). A subordem Cryptodira apresenta a maior diversidade de quelônios (11 famílias), incluindo as famílias atuais de tartarugas marinhas, Cheloniidae e Dermochelyidae, dentro da superfamília Chelonioidea (MEYLAN; MEYLAN, 1999; SHAFFER, 2009).

Os membros da família *Cheloniidae* apresentam um bico córneo semelhante ao de uma ave, denominado ranfoteca, que reveste os ramos das mandíbulas. Além de auxiliar os animais a selecionar, despedaçar e ingerir seus alimentos, a ranfoteca apresenta características próprias que variam conforme a dieta, podendo, desta forma, ser utilizada para identificar as diferentes espécies desta família (WYNEKEN, 2014). Os quelônios não apresentam ouvido externo e sua membrana timpânica é apenas uma continuação do tecido que recobre a face (BARTOL; MUSICK, 2003; MCARTHUR et al., 2004).

Outras características dessa família incluem: crânio forte completamente coberto por escamas, ranfoteca bem desenvolvida, palato secundário com uma única abertura na sua porção posterior (coana), projeções papilares presentes no esôfago, cabeça não retrátil ou capacidade limitada de retração da cabeça, assim como das nadadeiras. Estas, por sua vez, são constituídas por dedos alargados firmemente unidos por tecido conjuntivo e são igualmente recobertas por numerosas escamas. Apresentam unhas desenvolvidas na margem anterior das nadadeiras, em número de um a dois, utilizadas pelos machos durante a cópula (MÁRQUEZ, 1990; PRITCHARD; MORTIMER, 1999).

2.2 Espécie *Chelonia mydas*

2.2.1 Características básicas

A espécie inclui a presença de um par de escamas pré-frontais e quatro pares pós-orbitais na cabeça, quatro pares de escudos laterais justapostos na carapaça e quatro pares inframarginais no plastrão. A coloração da carapaça é bastante variável em adultos, podendo apresentar-se em tons de verde-acinzentado a marrom-amarelado, com estrias radiais em cada placa córnea, sendo o ventre branco-amarelado (Figura 1) (MÁRQUEZ, 1990; PRITCHARD; MORTIMER, 1999). A cabeça é arredondada e proporcionalmente pequena em relação ao corpo. A ranfoteca que recobre a mandíbula é serrilhada, o que facilita a alimentação (WYNEKEN, 2014). As nadadeiras geralmente apresentam uma única unha. A espécie apresenta maturação sexual tardia, estimada entre 15 e 50 anos, dependendo da população (SEMINOFF et al., 2002; BELL et al., 2005; WATSON, 2006; GOSHE et al., 2010).

Os adultos podem ultrapassar o tamanho de 120 cm de comprimento curvilíneo de carapaça e pesar até 230 kg, aproximadamente (PRITCHARD; MORTIMER, 1999). A espécie *Chelonia mydas* apresenta distribuição cosmopolita, sendo encontrada em águas tropicais e subtropicais, principalmente costeiras e ao redor de ilhas, utilizando também estuários de rios e lagos (HIRTH, 1997). São migratórias, e possuem distribuição desde os trópicos até as zonas temperadas, sendo a espécie de tartaruga-marinha que apresenta hábitos mais costeiros, utilizando inclusive estuários de rios e lagos, tendo seus longos deslocamentos comprovados

através de estudos de marcação, recaptura, telemetria e genética (NARO-MACIEL et al., 2007; ALMEIDA et al., 2011a).

No estágio juvenil, a média de distância foi de 4.557 ± 2.525 km e a máxima, superior a 9.000 km. A população do Pacífico Oriental, reconhecida como pertencente à subespécie *C. mydas agassizi*, apresenta características morfológicas muito semelhantes. Quanto ao número de placas córneas, são idênticas a *C. mydas*, porém podem apresentar entre três e quatro pares de escamas pós-orbitais na cabeça. A carapaça é levemente mais afilada na porção terminal, sobre a cauda. Possuem dorso com coloração uniformemente negra ou manchas negras sobre um fundo acinzentado. Somente os filhotes apresentam ventre branco, mas que em poucas semanas torna-se cinza. Podem ultrapassar 90 cm de comprimento curvilíneo de carapaça e pesar até 120 kg (PRITCHARD; MORTIMER, 1999).

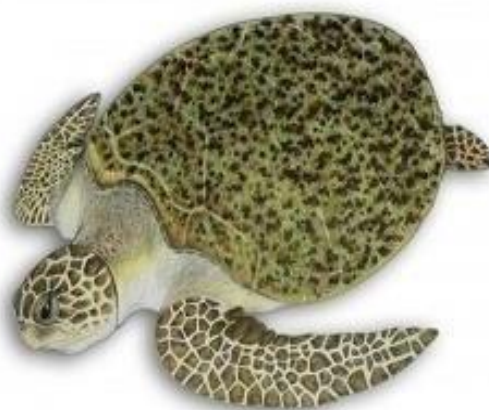


Figura 1. Tartaruga verde, *Chelonia mydas* (PROJETO TAMAR, 2013)

2.2.2 Comportamento alimentar e dieta

Desde o nascimento até a vida adulta, as tartarugas marinhas utilizam diferentes habitats e recursos alimentares, realizando migrações extensas entre áreas de alimentação, áreas de reprodução e desova (JIMÉNEZ, 2017). De forma geral, estes quelônios ocorrem em regiões tropicais e subtropicais, presentes nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico (SANTOS, 2014). Os hábitos alimentares de *C. mydas* têm importância ecológica, devido ao potencial de alteração na densidade dos organismos, nas relações entre presa-predador, modificando consequentemente a sucessão ecológica (BJORNDAL, 2000; AWABDI, 2013).

Há indícios que as espécies de tartarugas-marinhas durante seu primeiro ano de vida, vivam em associação com bancos de algas, alimentando-se de zooplâncton, e quando juvenis e adultas tornam-se onívoras, com exceção da tartaruga-verde, que se torna herbívora (SILVA, 2017; EDRIS et al., 2018).

A *Chelonia mydas* nos primeiros anos de vida apresenta uma dieta onívora, com tendência carnívora. Após a fase pelágica, com carapaça entre 30 e 40 cm de comprimento, torna-se herbívora, com uma dieta principalmente de macroalgas. Como é de ampla distribuição, as preferências alimentares podem variar de acordo com disponibilidade em cada área (ALMEIDA et al., 2011a; REIS; GOLDBERG, 2017).

A dieta e as relações ecológicas da espécie vêm sendo amplamente estudadas, mas diversos desafios ainda precisam ser alcançados. A espécie é a única tartaruga marinha primariamente herbívora, mas com amplas variações regionais quanto ao potencial onívora

dos juvenis (ESTEBAN et al., 2020). *C. mydas* ocorre com frequência na região costeira do Oceano Atlântico Sul Ocidental (ASO), utilizando a região para alimentação, recrutamento e desenvolvimento GONZÁLEZ CARMAN et al., 2011; MARCOVALDI; SANTOS 2011; ANDRADE et al., 2016; GAMA et al., 2016; COELHO et al., 2018; VÉLEZ-RUBIO et al., 2018).

2.3 Parasitas e Parasitismo

Os parasitas podem ter um impacto quase indetectável em seu hospedeiro ou, em alguns casos, podem matar seu hospedeiro. No parasitismo a associação com o hospedeiro tende ao equilíbrio, pois a morte do hospedeiro é prejudicial para o parasito. Assim as espécies em que essa associação vem sendo mantida há milhares de anos, raramente o parasita leva o hospedeiro a morte havendo uma espoliação constante, porém insuficiente para lesar gravemente o hospedeiro. Através do meio ambiente é possível que ocorram mudanças nesta relação entre parasito e hospedeiro (NEVES, 2005). Potenciais efeitos negativos do parasitismo no mar em tartarugas incluem anemia e desempenho reduzido seguido por redução da sobrevivência, competitividade, status social, capacidade de sequestrar companheiros e, em fêmeas, fecundidade reduzida (BULL; BURZACOTT, 1993).

Algumas tentativas de listar a maioria das espécies parasitas em tartarugas marinhas existem, e novas espécies são descritas continuamente a partir de répteis. As Tartarugas marinhas como o resto dos répteis são ectotérmicos, a temperatura corporal central dos répteis é mais propensa a flutuar do que a dos mamíferos ou pássaros. Essa faixa de temperatura corporal, provavelmente permitirão que os patógenos cresçam e proliferem. Por exemplo, fungos mesófilos são incapazes de crescer a 37°C e por isso podem infectar facilmente os répteis, especialmente se o animal estiver abaixo da temperatura ideal (ZUG et al., 2002).

O sistema imunológico, aliado a barreiras mecânicas como o tegumento, protege o réptil de patógenos ou parasitas invasores. As tartarugas marinhas têm uma função do sistema imunológico complexo que é comparável com a de outros vertebrados. A eficiência do sistema imunológico reptiliano é influenciada por uma combinação de fatores que incluem saúde e estado nutricional, temperatura ambiente, mudanças sazonais, idade e estresse. Qualquer mudança no status desses fatores pode comprometer o desempenho do sistema imunológico na tartaruga, permitindo a quebra desta barreira para o ambiente externo cheio de organismos oportunistas prontos para atacar (GREINER; MADER, 2006).

2.3.1 Parasitismo em tartarugas verdes

O primeiro autor a realizar trabalhos de cunho taxonômico parasitológico sobre esses organismos no Brasil foi Travassos (1918), que descreveu a ocorrência de um nematoide da família Kathlaniida, denominado *Kathlania leptura*, sendo este parasito encontrado em um indivíduo da espécie *C. mydas*, a *Testudo mydas*. Posteriormente, no litoral do estado do Rio de Janeiro, Freitas; Lent (1938) coletaram três espécimes de um parasito desconhecido a partir da necropsia de um indivíduo juvenil de tartaruga, que foi descrito como *Metacetabulum invaginatum*. Neste mesmo estudo, os autores descreveram dois outros parasitos baseados em amostras depositadas na coleção de helmintos do Instituto Oswaldo Cruz, que não haviam sido relatadas anteriormente para o Brasil: *Orchidasma amphiorchis* e *Polyangium linguatula*. Ruiz (1943) identificou e descreveu *Neoctangium travassosi* como uma nova espécie encontrada em uma tartaruga-marinha encalhada no litoral sul do estado de São Paulo. No entanto, o autor não identificou as espécies de hospedeiros das quais o mesmo realizou estudo e a coleta do parasito (MUNIZ-PEREIRA et al., 2009). Vicente; Santos (1968) descreveram *Tonaudia freitasi* com base em espécimes de nematódeos coletados no estômago de um indivíduo de *C. mydas* do estado do Ceará. Já Travassos; Freitas; Kohn (1969) realizaram um estudo sobre parasitos ocorrendo no Brasil e registraram 13 espécies de trematódeos encontradas em *C. mydas*:

N. travassosi, *P. linguatula*, *M. invaginatam*, *O. amphiorchis*, *Rhytidodes gelatinosus*, *P. lobatus* (sinônimo de *Glyphicephalus lobatus*), *Pronocephalus obliquus* (sinônimo de *Pr. Trionocephalus*), *C. albus*, *P. linearis*, *P. longiusculus*, *Pleurogonius trigonocefalo*, *P. crassum* e *Ruicephalus minutus* como uma nova denominação para *P. minutus*. Novos estudos foram realizados por Werneck et al. (2006), onde os autores analisaram 11 juvenis de *C. mydas* no litoral do estado de São Paulo. Espécimes de *L. learedi* foram encontrados em seis indivíduos. Sendo este o primeiro relato de parasitos da família Spirorchiidae em hospedeiros no litoral do Brasil. Na mesma região, Werneck; Gallo; Silva (2008) identificaram *Monticellius indicum* no coração de dois juvenis de *C. mydas* entre um total de 239 indivíduos submetidos à necropsia no estado de São Paulo entre 2005 e 2008.

As tartarugas marinhas são parasitadas por uma rica variedade de endoparasitas, principalmente nematoides e trematódeos digenéticos (SANTORO; MATTIUCI, 2009). Diferentes hábitos de uso de habitat e alimentação de tartarugas marinhas de diferentes áreas geográficas influenciam a composição e a riqueza das comunidades de parasitas (SANTORO et al., 2006). A diversidade de parasitas pode assim ser entendida como determinada por vários fatores, isto é, relação parasito-hospedeiro, condições abióticas, hospedeiro, probabilidade de encontro e a compatibilidade fisiológica entre hospedeiro e parasita. A infecção por parasitas em tartarugas marinhas ainda não é totalmente conhecida, porém, acredita-se que essa aconteça, como mencionado anteriormente, por meio da alimentação, porque estes animais apresentam hábitos alimentares variados. Acredita-se que são infectadas ainda na fase inicial de sua vida, provavelmente pela ingestão de hospedeiros intermediários contendo as formas infectantes dos parasitas (MEDINA, 2013; BOWER et al., 2019). Já para Santoro et al. (2006), estas infecções estão intimamente relacionadas com sexo, idade e também com a dinâmica dos parasitos entre si, além de sua alimentação.

Dentre as espécies de tartarugas marinhas no mundo, *C. mydas* apresenta a maior abundância média e riqueza de espécies de parasitas encontrados (WERNECK, 2011). Foram registradas no mundo, aproximadamente, 90 espécies de helmintos parasitando as tartarugas-marinhas, em sua maioria pertencentes ao filo Platyhelminthes, sendo mais de 80 espécies pertencentes à classe Trematoda e apenas seis espécies pertencentes ao filo Nematoda (SANTORO; MATTIUCI, 2009).

2.3.2 Subclasse digenea

Os trematódeos digenéticos são Platyhelminthes endoparasitos de vertebrados como peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Apresentam corpo achatado dorsoventralmente, no entanto algumas espécies apresentam formato cilíndrico, esférico ou piriforme. O corpo possui ventosa oral e ventral para fins de fixação e o tegumento (superfície externa) pode ser espinhoso (RUPERT et al., 2005). O sistema digestório é incompleto e apresenta boca e ventosa oral, pré-faringe, faringe, esôfago e dois cecos intestinais (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). O sistema reprodutivo feminino apresenta um ovário, oviduto, vitelária, ovócito, glândulas de Mehlis, canal de Laurer e receptáculo seminal. O sistema masculino é composto de um, dois ou mais testículos, vasos deferentes, vesícula seminal, cirro e bolsa do cirro, que pode ser presente ou ausente. O ciclo de vida desses parasitos é heteroxeno e bastante complexo, envolvendo dois ou mais hospedeiros (ACOSTA et al., 2016).

No Brasil, a fauna parasitária de tartarugas-marinhas é representada principalmente pela Classe Trematoda, Filo Platyhelminthes com 46 espécies registradas até o momento e Filo Nematoda, com o registro de quatro espécies (MUNIZ-PEREIRA et al., 2009; WERNECK, 2011). Pelo fato de as tartarugas marinhas possuírem hábito migratório entre as áreas de desenvolvimento, alimentação e desova, é possível que ocorra um número maior de espécies parasitárias no país (MEDINA, 2013). É observado que, mesmo em diferentes fases da vida da tartaruga, a sua helminto-fauna apresenta um alto grau de especificidade, e comparada

a outras espécies, como *Caretta caretta* e *Lepidochelys olivacea*, *C. mydas* apresentam uma maior riqueza de espécies e abundância média de helmintos encontrados (BINOTI et al., 2015), isso se deve possivelmente ao fato de terem diferentes hábitos de forragens e as condições do habitat em que vivem (SANTORO et al., 2006), como a *C. mydas* possui hábitos generalistas, estão expostas, portanto, a um número maior de espécies de hospedeiros intermediários potenciais, resultando assim, em uma maior riqueza de espécies (MARCOGLIESE, 2008; SANTORO et al., 2006).

Segundo Greiner; Mader (2006), o conhecimento sobre os parasitos de tartarugas é bastante escasso, e em alguns casos, não é possível saber se os parasitos são os agentes causadores das doenças (agentes patogênicos), ou se vivem de forma pacífica no hospedeiro (não lhes causando mal algum). Como relatado por Werneck; Silva (2015) existe evidências de que a distribuição geográfica, correntes oceânicas e possivelmente história filogenética pode influenciar a comunidade de parasitos.

2.4 Espirorquidíase

Os espiroquídeos são parasitas que causam uma doença conhecida coletivamente como espiroquidíase, que causa sinais clínicos inespecíficos, incluindo emagrecimento, retração ocular, caquexia e letargia (GLAZEBROOK et al., 1981, GLAZEBROOK et al., 1989, FLINT et al., 2010, STACY et al., 2010a, WORK et al., 2015). Nos locais de infecção, tipicamente coração, aorta principal e fígado, os espiroquídeos estão associados a inflamação, endocardite, trombose e arterite (Chapman et al., 2019). A patologia também é induzida por ovos liberados de parasitas adultos. Respostas inflamatórias e lesões são observadas em órgãos onde os ovos se acumulam, como baço, fígado, trato gastrointestinal e pulmões (CHAPMAN et al., 2017, STACY et al., 2017). Os parasitas adultos podem causar inflamação arterial nesses órgãos, bem como tromboses; secundariamente, os ovos disseminados podem induzir granulomas multifocais nestes órgãos, esporadicamente associados a pneumonia ou meningite (GORDON et al., 1998).

A espiroquidíase é comum em tartarugas marinhas e tem sido relatada com prevalência superior a 70% na Austrália (Flint et al., 2010), Costa Rica (Santoro et al., 2007), EUA (Flórida e Havaí) (Daley e Morris, 1995, Stacy et al., 2010a) e Brasil (Jerdy et al., 2016), com 40% das mortalidades na Austrália atribuídas à doença (FLINT et al., 2010).

Apesar do papel fundamental que os espiroquídeos desempenham na saúde, reabilitação e conservação das tartarugas, os detalhes sobre seus ciclos de vida são pouco compreendidos. Semelhante aos membros das outras famílias de parasitas sanguíneos (a Aporocotylidae Odhner, 1912 e o Schistosomatidae Stiles; Hassall, 1898), os espiroquídeos têm um ciclo de vida obrigatório de dois hospedeiros envolvendo reprodução sexuada no hospedeiro definitivo e reprodução assexuada em um hospedeiro intermediário invertebrado.

A maior parte da literatura sobre o ciclo de vida dos espiroquídeos está relacionada a sistemas de água doce, com seis espécies com ciclos de vida completos elucidados e dados moleculares gerados a partir de estágios assexuados relatados para outras seis espécies. Todos os hospedeiros intermediários de água doce são caracóis planorbóides (Cribb et al., 2017), exceto por um único relato de um caramujo ampullarídeo sul-americano (Pinto et al., 2015). Existem apenas quatro relatos de estágios assexuados de espiroquídeos marinhos, nenhum dos quais é geneticamente compatível com adultos nomeados. Elucidar os ciclos de vida no ambiente marinho é um desafio devido ao número de potenciais hospedeiros intermediários, aos estilos de vida muitas vezes enigmáticos de muitos invertebrados e às taxas de infecção geralmente baixas dos primeiros hospedeiros intermediários. Stacy et al. (2010b) forneceram a primeira evidência de um hospedeiro intermediário espiroquídeo marinho, com um resultado positivo de PCR de uma lapa, *Fissurella nodosa* (Born), para *Learedius learedi* Price, 1934, embora estágios assexuados não tenham sido observados. Cribb et al. (2017) elucidaram a

primeira infecção por espiroquídeos definitivamente identificada de um gastrópode vermetídeo, *Thylaeodus* cf. *rugulosus*(Monterosato), de um centro de reabilitação de tartarugas cabeçudas em Valência, Espanha.

Da Família Spirorchiidae são conhecidas aproximadamente 100 espécies, distribuídas em 19 gêneros, dos quais 10 são exclusivos de tartarugas marinhas (WERNECK; SILVA, 2013). Destes, apenas 6 espécies de espiroquídeos tem sido relatada no Brasil: *Learedius learedi*, *Monticellius indicum*, *Carettacola stunkardi* e *Amphiorchis caborojoensis* (WERNECK, 2011), *Amphiorchis indicus* (WERNECK; SILVA, 2013) e *Hapalotrema postorchis* (WERNECK, 2014). No Brasil os espiroquídeos correspondem a um grupo de trematódeos do sistema circulatório que podem acometer espécies de mamíferos, aves, peixes, tartarugas e outros animais. Esses parasitas são análogos aos esquistossomas das aves, mamíferos e sua biologia tem sido revisada (WERNECK; GALLO; SILVA, 2008; FLINT et al., 2009).

2.4.1 Ciclo de vida dos espiroquídeos em tartarugas de água doce

Em tartarugas marinhas não está completamente elucidado (WOLKE et al., 1982; DUTRA et al., 2012) mas, já foi descrito em hospedeiros de água doce (HOLLIMAN; FISHER, 1968; HOLLIMAN et al., 1971). Nestas os espiroquídeos adultos, depositam seus ovos embrionados nas arteríolas da camada muscular da região pilórica estomacal e do intestino delgado, que migram da parede intestinal para o lúmen. Quando são eliminados pelas fezes na água, crescem consideravelmente e ao mesmo tempo os miracídeos tornam-se mais ativos. Estes últimos penetram nos caracóis jovens (*Helisoma trivolvis* e *H. campanulata*) e evoluem para esporocistos “mãe” repletos de esporocistos “filhos”, que seguem para extremidade anterior da mãe e migram através dos espaços linfáticos e das glândulas digestivas ao mesmo tempo que as cercárias iniciam seu desenvolvimento. Quando estas amadurecem, deixam os caracóis apresentando fototropismo positivo e atingindo a superfície da água. Ao entrar em contato com as tartarugas, especialmente jovens, a cercária penetra pela pele e mucosa, principalmente a anal, oral e ocular. Os parasitas jovens atingem os vasos sanguíneos e são carregados para o coração direito, seguindo para os pulmões, coração esquerdo e todo resto do corpo. Após atingir a maturidade sexual, depositam seus ovos nas arteríolas do estômago e intestino e reiniciam o ciclo (Figura 2) (OLSEN, 1974).

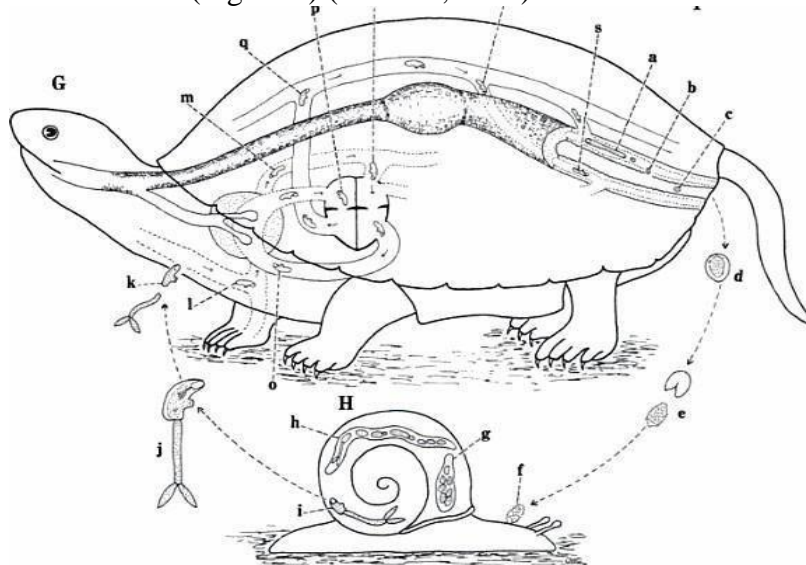


Figura 2. Demonstração do ciclo de vida dos espiroquídeos em tartarugas de água doce (OLSEN, 1974).

2.4.2 Ciclo de vida em doenças, controle e epidemiologia

O delineamento dos ciclos de vida é importante para compreender a epidemiologia das doenças e desenvolver estratégias eficazes de controle. Este é particularmente o caso das tartarugas marinhas sob cuidados humanos onde a capacidade de identificar a presença de hospedeiros intermediários pode auxiliar no diagnóstico da doença e permitir a erradicação direcionada. De fato, o parasitismo com espiroquídeos foi relatado em tartarugas marinhas sob cuidados humanos em várias ocasiões (Greiner et al. 1980, Glazebrook; Campbell 1990a, Stacy et al. 2010b, Cribb et al. 2017), mas a erradicação completa depende do estilo do sistema de cuidados humanos (ou seja, sistema fechado ou com captação de água do mar de corpos d'água próximos). No caso descrito por Cribb et al. (2017), a identificação do hospedeiro intermediário resultou na esterilização direcionada de todo o sistema aquário seguido por um sistema de admissão melhorado para novos animais, incluindo banhos de água doce e remoção manual da fauna epibiótica. Em ambientes selvagens, é improvável que a erradicação de hospedeiros intermediários seja viável ou desejável, dada sua provável ampla distribuição e papel mais amplo no ecossistema.

No entanto, conhecer sua identidade e, assim, a ecologia ajuda a entender onde as infecções são mais prováveis de ocorrer e os processos ecossistêmicos que podem levar ao aumento (ou redução) da transmissão. Por exemplo, habitats ocupados por espécies como lapas, vermetídeos e poliquetas podem ser pontos de acesso para a transmissão de espiroquídeos infectados. As tartarugas marinhas são, portanto, mais propensas a encontrá-los ao retornar a ambientes neríticos após sua fase pelágica juvenil (CHAPMAN et al., 2019).

Alterações no habitat resultantes de mudanças climáticas ou efeitos antropogênicos diretos podem afetar a abundância e distribuição de hospedeiros intermediários e, portanto, em risco de infecção para tartarugas marinhas. Outra possibilidade é que o hospedeiro intermediário possa viver no próprio hospedeiro definitivo (FRAZIER et al. 1985). Isso é improvável para os poliquetas mencionados aqui, pois habitam em substratos arenosos ou lamacentos, porém vermetídeos e fissurelídeos, sendo organismos sésseis, podem se prender à carapaça e ser transportados pela tartaruga. No entanto, até onde podemos determinar, estudos sobre a fauna epibiótica de tartarugas marinhas até o momento não relataram definitivamente esses gastrópodes entre as espécies presentes (KITSOS et al. 2005, PFALLER et al. 2008, DOMÈNECH et al. 2015).

2.4.3 Disseminação dos ovos

Um aspecto dos ciclos de vida dos espiroquídeos marinhos ainda a ser completamente explorado é a rota de eliminação dos ovos do hospedeiro. Embora os ovos, pelo menos para algumas espécies, sejam eliminados nas fezes do hospedeiro (Greiner 2013), outras vias de eliminação são possíveis. As estratégias de desova podem variar entre as espécies de parasitas e, de fato, uma espécie pode usar várias estratégias. Holliman et al. (1971) eclodiram com sucesso ovos de espiroquídeos recuperados de tecidos de tartarugas de água doce, sugerindo que a liberação de ovos por decomposição post mortem ou eliminação de uma carcaça é um meio de dispersão de ovos. Uma terceira possibilidade é a liberação de óvulos por meio da expectoração. Stacy et al. (2017a) observaram que os genótipos de *Neospirochis* com tropismos distintos para a glândula tireoide estavam bem posicionados para aproveitar as vias circulatórias para os sistemas pulmonar e gastrointestinal, onde foram observados números significativos de seus ovos.

Até o momento, nenhum estudo se propôs especificamente a explorar experimentalmente as rotas pelas quais os ovos de espiroquídeos marinho chegam ao ambiente externo. Por tanto, é preciso que análises sejam feitas de tartarugas infectadas naturalmente ou

experimentalmente infectadas, alojadas em ambientes controlados, para identificar rotas de eliminação de ovos. Se as identidades dos hospedeiros intermediários forem conhecidas, infecções experimentais e subsequentemente a coleta de amostras apropriadas (secreções e fezes) para estudar as vias de eliminação de ovos e progressão da doença serão facilitadas (CHAPMAN et al., 2019).

2.5 Sinais Clínicos e Diagnóstico

Os sinais clínicos da espiroquidíase são inespecíficos e incluem anorexia, caquexia/fraqueza muscular, retração ocular, concavidade do plastrão e letargia (GLAZEBROOK; CAMPBELL 1990a, FLINT et al. 2010b, STACY et al. 2010a, WORK et al. 2015). Infecções graves no cérebro, medula espinhal ou sistema nervoso periférico podem causar distúrbios neurológicos (Jacobson et al. 2006, Flint et al. 2010b) porém, isso permanece mal compreendido. Os sinais neurológicos relatados em tartarugas de água doce incluem plegia, perda de reflexos e comportamento circular (Holliman et al. 1971) Jacobson et al. (2006) relataram reflexos diminuídos mandíbula e tônus muscular reduzido, perda da capacidade de mastigar e deglutição entre os sinais observados em cabeçudas com neuroespiroquidíase.

No entanto, a exposição concomitante a uma neurotoxina não identificada foi suspeitada, e assim, estas observações não puderam ser definitivamente ligadas à espiroquidíase. Curiosamente, Stacy et al. (2010a) relataram posteriormente um caso de neuroespiroquidíase grave em uma cabeçuda que era aparentemente saudável e morreu de causas não relacionadas. O significado clínico da neuroespiroquidíase portanto, permanece obscuro. Alguns estudos de espiroquídeos (Jacobson et al. 2006, Santoro et al. 2017) combinaram um exame clínico com exame pós-morte; relatos de sinais clínicos muitas vezes se limitam a observações gerais, sem minuciosa investigação neurológica ou hematológica. Há necessidade de estudos em larga escala que incorporem essas abordagens e múltiplas espécies de tartarugas de várias regiões. Além disso, existe potencial para a exploração de técnicas de imagem no diagnóstico e avaliação da espiroquidíase em animais.

As técnicas de imagem mais comumente usadas para tartarugas marinhas incluem radiografia e ultrassom (Di Bello et al. 2006, Valente et al. 2007, Stockman et al. 2013, De Majo et al. 2016), embora a tomografia computadorizada (TC) (Bonelli et al. 2013, Spadola et al. 2016) e a ressonância magnética (RM) (Croft et al. 2004, Valente et al. 2006) torna-se cada vez mais comum em alguns países, essas técnicas podem ser úteis em identificar lesões internas. No entanto, são limitados em sua capacidade de visualizar ou quantificar parasitas e seus ovos. Além disso, em muitos locais, o uso de TC e ressonância magnética é limitada pelo custo e acessibilidade. Em humanos, várias técnicas de imagem foram avaliadas para a avaliação clínica da esquistossomose, embora estes são em grande parte destinados a avaliar patologia (SKELLY 2013, OLVEDA et al. 2014, SAH et al. 2015).

Todavia, técnicas como a fluorescência tomografia molecular (Krautz-Peterson et al. 2009) tomografia por emissão de pósitrons (Salem et al. 2010), microscopia confocal de varredura a laser (Holtfreter et al. 2011, Fritzsche et al. 2012) e microscopia intravital (Bloch 1980) foram explorados com o propósito de visualização e quantificação de infecções esquistossomóticas em modelos experimentais. Essas tecnologias fornecem informações valiosas sobre o tamanho e distribuição de cargas parasitárias, que seriam de uso considerável para fins de reabilitação e pesquisa em tartarugas marinhas. Especificamente, as últimas modalidades seriam fornecer diagnósticos mais definitivos e melhor oportunidade de conectar os sinais clínicos com o tipo de infecção e intensidade, enquanto técnicas como TC e RM são úteis na avaliação de patologias associadas o custo e o acesso ao equipamento necessário podem restringir o uso generalizado dessas técnicas. No entanto, eles fornecem um caminho interessante para exploração em tartarugas marinhas, particularmente para fins de pesquisa

(CHAPMAN et al., 2019).

2.5.1 Patologia

A patologia associada à infecção por parasitas espiroquídeos é variável e se manifesta em vários órgãos e tecidos. As lesões relatadas parecem semelhantes em todas as 4 espécies de tartarugas (verde, cabeçuda, pente e verde-oliva) para as quais os dados patológicos foram relatados. As aortas e as câmaras do coração são os locais comumente relatados para parasitas adultos (GORDON et al., 1998, WORK; BALAZS 2002, SANTORO et al., 2007, STACY et al., 2010a, CHEN et al. 2012, WERNECK et al. 2015d, CHAPMAN et al. 2017). As espécies de parasitas adultos maiores (exemplo, espécies de *Haplotrema* e *Learedius*), bem como o de menor *Neospiorchis* spp são relatados regularmente a partir de locais que são frequentemente associados a endocardite, arterite, trombose e inflamação granulomatosa (SANTORO et al. 2007, FLINT et al. 2010b, STACY et al. 2010a, WERNECK et al. 2015d, CHAPMAN et al. 2017). O sistema nervoso central (SNC) é um dos principais locais de interesse na patologia associada a espiroquídeos. Infecções por *Neospiorchis* spp. no SNC foram associadas a um evento de mortalidade em massa na Flórida (JACOBSON et al. 2006).

Parasitas adultos e seus ovos foram presentes e associados a respostas inflamatórias, mas seu papel preciso no evento permanece obscuro especialmente porque a exposição a uma nova toxina foi suspeitada. Ao contrário dos espiroquídeos adultos encontrados no coração e grandes vasos, *Neospiorchis* spp. observados no cérebro e medula espinhal não estão associados com inflamação significativa (GORDON et al. 1998, STACY et al. 2010a). Em contraposição, ovos de espiroquídeos (mais comumente os de *Neospiorchis* spp.) têm sido associados com vários graus de inflamação granulomatosa dentro das meninges e outras áreas do SNC (GORDON et al., 1998, WORK; BALAZS 2002, SANTORO et al., 2007, FLINT et al., 2010b, STACY et al. 2010a, CHAPMAN et al. 2017).

Embora lesões graves devam ser consideradas potencialmente prejudiciais para o hospedeiro (Stacy et al. 2010a), o significado clínico permanece claro. Pequenos granulomas são geralmente considerados como achados incidentais (GORDON et al. 1998, FLINT et al. 2010b). Os ovos também são comumente associados a respostas inflamatórias granulomatosas em muitos órgãos além do SNC (FLINT et al. 2010b, STACY et al. 2010b, WERNECK et al. 2015d, JERDY et al. 2016, CHAPMAN et al. 2017, RIBEIRO et al., 2017). A gravidade da patologia é geralmente proporcional ao número de ovos presentes (STACY et al., 2010a). Os locais comuns incluem pulmões, baço, trato gastrointestinal e tireoide, com lesões graves tendo sido relatados de todos esses locais (STACY et al. 2010a, CHAPMAN et al. 2017, SANTORO et al. 2017). No entanto, quase todos os órgãos e sistemas podem ser afetados, incluindo os órgãos reprodutivos (STACY et al. 2010a, 2017a, CHAPMAN et al., 2017).

A observação de que os ovos dos espiroquídeos, ao contrário dos parasitas adultos, parecem ser responsáveis por gerar a maior parte das respostas imunológicas consistente com esquistossomose em humanos (GRYSEELS et al. 2006, COLLEY et al. 2014). Para sair do corpo e garantir a transmissão do parasita, o ovo do esquistossomo deve atravessar o endotélio para atingir o lúmen gastrointestinal (*Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*) ou bexiga (*S. haematobium*) (Pearce 2005). Para alcançar isso, é necessária uma boa resposta do sistema imunológico; os antígenos do ovo induzem um forte CD4 T helper (células auxiliares) do hospedeiro (Doenhoff et al. 1978, Vella; Pearce 1992, Pearce 2005, deWalick; Tielens; Van hellemond, 2012) e cascas de ovos de esquistossomos também são fortes ativos plaquetários (NGAIZA; DOENHOFF 1990, WU et al. 2007, DEWALICK; TIELENS; VAN HELLEMOND 2012). Esses mecanismos levam à inflamação tecidual e, potencialmente, à adesão ao endotélio, embora o mecanismo exato pelo qual o extravasamento ocorre ainda não está claro. Por isso ovos de esquistossomos podem ter sido selecionados devido à vantagem da alta imunogenicidade, o que facilita a eliminação dos ovos. Embora, pesquisas não tenham sido

realizadas associadas ao mecanismo da imunidade específica aos ovos de espiroquídeos, esta teoria também pode se aplicar a eles; devido ao fato, de a parede do sistema gastrointestinal da tartaruga ser um local bem documentado de acúmulo de ovos (GORDON et al. 1998, SANTORO et al. 2007, FLINT et al. 2010b, STACY et al. 2010a, CHAPMAN et al. 2017, RIBEIRO et al. 2017).

A bexiga urinária parece menos sujeita a embolização causada pelos ovos do que outros órgãos (Stacy et al. 2010a, Chapman et al. 2017, Marchiori et al. 2017); no entanto, o processo descrito acima pode teoricamente também se aplicar aos pulmões. A resposta do sistema imune aos ovos de espiroquídeos continua sendo uma área com mais estudos de investigação. Experimentos com esquistossomose frequentemente se baseiam no uso de modelos animais para prever respostas em humanos. Nenhum substituto adequado para as tartarugas marinhas para responder a estas e outras questões já foi identificada. Os candidatos óbvios são tartarugas de água doce; no entanto, estes estão sujeitos a diferentes conjuntos de fauna de espiroquídeos, que podem diferir em suas interações com o hospedeiro.

2.6 Diagnóstico de Espiroquidíase

2.6.1 Diagnóstico *post mortem*

Tradicionalmente, o método padrão de diagnóstico de spirochiidae tem sido a necropsia macroscópica. Esta abordagem continua sendo fundamental para os estudos da doença, principalmente quando não são realizadas técnicas complementares adicionais permite uma visão muito mais abrangente e uma avaliação antecipada (CHAPMAN et al., 2019). O exame histológico de tecidos dos órgãos post-mortem fornece valiosos dados de patologia no nível celular e é particularmente útil em casos envolvendo parasitas (por exemplo, *Neospirochis* spp.) como é o caso de ovos pequenos que formam granulomas, mas não podem ser observados macroscopicamente (GORDON et al. 1998; STACY et al., 2010a). A histologia é, portanto, uma ajuda importante na investigação de infecções parasitárias, sem a qual alguns processos de doença e organismos causadores podem não ser detectados. No entanto, são observadas algumas limitações na avaliação de tartarugas vivas e é restrita em termos de especificidade devido à incapacidade de identificar espécies de parasitas ou seus ovos. (CHAPMAN et al., 2019). A histopatologia dos nódulos revela inflamação causada pelos ovos, que, quando liberados na corrente sanguínea, alojam-se em diferentes locais do organismo do hospedeiro (GORDON et al., 1998; SANTORO et al., 2007; STACY et al., 2010; CHEN et al., 2012).

Embora menos achado comum, os helmintos adultos também são capazes de causar reações (GORDON et al., 1998; SANTORO et al., 2007). As lesões são granulomatosas e contêm os ovos do parasita, acometendo a maioria dos órgãos do hospedeiro, como o sistema nervoso central, sistema cardiopulmonar, trato urinário, digestivo, glândulas de sal (GLAZEBROOK et al., 1981; GLAZEBROOK et al., 1989; GORDON et al., 1998; STACY et al., 2010) e gônadas.

Nestas lesões de intensidade variada e número de linfócitos e macrófagos aparentemente formam a primeira linha de defesa contra ovos de trematódeos; além disso, os macrófagos se juntam, dando origem a células de Langhans e, às vezes, células gigantes de corpo estranho (GLAZEBROOK et al., 1981). A presença de ovos nos tecidos do hospedeiro é evidência irrefutável de parasitose. Além disso, análises morfológicas e morfométricas dos ovos contribuem para a identificação do gênero do parasita (WOLKE et al., 1982).

2.6.2 Copromicroscopia

O exame microscópico de fezes para detectar a presença de ovos vem sendo o método tradicional de diagnóstico para infecções por helmintos em tartarugas marinhas vivas sob cuidados humanos e a quantificação pode fornecer informações úteis. No entanto, este método

tem limitações, pois a coleta de fezes de tartarugas de vida livre é difícil, e o exame microscópico da morfologia dos ovos não pode fornecer uma identificação ao nível de espécie (STACY et al. 2010a). A eliminação nas fezes (Wolke et al. 1982, Greiner 2013 Marchiori et al. 2018), pode não representar a principal via de eliminação, ou pelo menos não para todas as espécies. Variações significativas na contagem do ovo podem ser observadas de um dia para o outro (Engels et al. 1996, Yu et al. 1998). O Tempo desde o início da infecção (Bushara et al. 1980, De Bont et al. 1995, 2002) nível de ingestão de alimentos e produção de fezes pelo hospedeiro (De Bont et al. 2002) assim como, mudanças sazonais nas temperaturas do mar (Löhmus; Björklund 2015, Barber et al. 2016) podem influenciar na produção de ovos.

Essas limitações foram demonstradas por Marchiori et al. (2018), onde encontraram baixa correlação entre fezes e contagem de ovos de espirorquídeos esplênicos em tartarugas cabeçudas, sugerindo que o exame de fezes é um método pobre de quantificação da carga parasitária. No entanto, eles encontraram uma forte correlação entre fezes qualitativas e o exame do ovo esplênico, indicando que o exame de fezes pode ser adequado como meio básico de diagnóstico de infecção. O exame de fezes continua sendo o mais simples e o método mais barato para obter um diagnóstico de parasitas sanguíneos em indivíduos vivos, e neste momento é o padrão método de diagnóstico ante mortem de spirorchiidae (CHAPMAN et al., 2019).

2.6.3 Diagnóstico baseado em sorologia

Testes baseados em sorologia têm sido explorados como uma ferramenta de pesquisa para uso em estudos de espirorquidíase (GRACZYK et al. 1995, HERBST et al. 1998, WORK et al. 2005). Os testes tradicionais baseados em ELISA detectaram anticorpos produzidos pelo hospedeiro em resposta à exposição a vários patógenos alvo. Esses testes têm várias vantagens sobre o exame de fezes, pois não são afetados por variações de curto prazo na eliminação de ovos. (DOENHOFF et al. 2004, ZHU 2005, CAVALCANTI et al. 2013). Graczyk et al. (1995), Herbst et al. (1998) e Work et al. (2005) usaram ELISA indireto, baseado em antígenos brutos de glicocálice de superfície de adultos de *L. learedi*, *H. pambanensis* e *C. hawaiiensis*, para detectar anticorpos de espirorquídeos em tartarugas verdes. Em cada caso, foi possível identificar com sucesso tartarugas infectadas (ou previamente infectadas). Enquanto esses testes foram úteis para determinar que uma tartaruga havia produzido anticorpos para espirorquídeos, eles não foram capazes de determinar se os anticorpos estavam relacionados a uma infecção passada ou atual, identificar a espécie exata, uma infecção mista ou quantificar a intensidade da infecção (CHAPMAN et al., 2019).

2.6.4 Diagnóstico molecular

Ferramentas moleculares são úteis na taxonomia de Spirorchiidae. Fragmentos de DNA de regiões nucleares ou mitocondriais específicas para identificação de espécies e estudos filogenéticos podem subsidiar inferências biogeográficas, evolutivas e identificação morfológica (Blasco-Costa et al., 2016). Os dados genéticos fornecem aos pesquisadores uma tremenda capacidade de reconhecer espécies, iluminar a plasticidade fenotípica, vincular de estágios do ciclo de vida, inferir filogenia e permitir uma exploração de variação geográfica muito além do que pode inferido apenas a partir de dados morfológicos (NOLAN; CRIBB, 2005). Os primeiros dados genéticos para um espirorquídeo marinho apareceu no GenBank (banco de dados de Nucleotídeos do NLM/NCBI localizado no National Institutes of Health (NIH) em 1996 quando sequências de um *Hapalotrema* sp. coletados durante os estudos da família irmã Schistosomatidae (Barker; Blair 1996) foram enviados (12 de junho de 1996). Poucos ou nenhum dado de sequência estão disponíveis para muitas espécies. Em alguns casos, a dificuldade em coletar espécimes intactos para caracterização morfológica impediu a ligação de uma sequência a uma espécie descrita (CHAPMAN et al. 2016, 2017, STACY et al. 2017a). Além disso, Chapman et al. (2015) apresentaram uma análise molecular de que o gênero

Leareddius é sinônimo com *Hapalotrema*.

Dessa forma, estudos futuros precisarão decidir se os espiroquídeos permanecem como uma única família ou exigirá a divisão. Portanto, o número de gêneros válidos de espiroquídeos marinhos reconhecidos de tartarugas provavelmente estarão sujeitos a uma revisão adicional (CHAPMAN et al., 2019). Análises moleculares de espécies adultos de *Neospiorchis* e seus ovos de 4 espécies de tartarugas da Flórida (Stacy et al. 2017a) encontraram pelo menos 20 genótipos únicos, com afinidades distintas de local e hospedeiros evidentes. Da mesma forma, Chapman et al. (2016, 2017) identificaram várias variantes de *Neospiorchis* em tartarugas verdes de Queensland, também com tropismos em sítios distintos. Esta evidência molecular sugere que a diversidade e as afinidades de hospedeiro/local dentro deste gênero são mais complexas do que anteriormente reconhecido. Chapman et al. (2017) também forneceram mais evidências de tropismo de espécies de outros gêneros. Devido a que os ovos viajam através da corrente sanguínea, é de se esperar que às vezes causem êmbolos em outros órgãos que não é o local primário. Ressalta-se a importância de considerar fatores como a prevalência em cada órgão, o número de óvulos presente e a presença ou ausência de parasitas adultos ao decidir se existe um tropismo de local. Os métodos moleculares estão progressivamente substituindo métodos sorológicos para o diagnóstico de patógenos. Técnicas como PCR e seus derivados são um dos pilares da parasitologia moderna, oferecendo bilidade e especificidade melhoradas em relação a outros métodos (MCMANUS; BOWLES 1996, PONTES et al., 2002, 2003, NDAO 2009, OLIVEIRA et al., 2010, WICHMANN et al., 2013).

Os diagnósticos baseados em PCR também têm várias desvantagens: eles são mais caros do que a coproscopia e muitas técnicas sorológicas por conta dos reagentes e equipamentos especializados necessários (Pontes et al. 2003, Lier et al. 2006, Cavalcanti et al. 2013); além disso, eles são menos portáteis para uso em uma configuração de campo. A primeira tentativa de detectar infecções por espiroquídeos em um hospedeiro usando PCR foi feito por Stacy et al. (2010b). A PCR heminested foi usada para pesquisar DNA de cercárias de *Hapalotrema spp.* e *L. learedi* em potenciais hospedeiros intermediários de moluscos. Isso produziu evidências para a identificação do hospedeiro intermediário para *L. learedi*.

A PCR posteriormente desempenhou um papel crucial na elucidação dos ciclos de vida de *Amphiorchis* sp. (Cribb et al. 2017) e 2 genótipos de *Neospiorchis* (Buron et al. 2018), mantendo um papel primordial na exploração da diversidade genética. Recentemente, um PCR T-RFLP baseado em fluorescência (polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal) foi desenvolvido para identificar ovos de espiroquídeos em amostras de tecido de tartarugas verdes em Queensland (Chapman et al. 2016). Este ensaio distinguiu 12 genótipos de espiroquídeos e provou ser custo-efetivo e mais sensível do que a sua histologia.

2.7 Tratamento

O tratamento da infecção por espiroquídeos geralmente envolve o uso de praziquantel (Adnyana et al. 1997b, Innis et al. 2017, Stacy et al. 2017b), um anti-helmíntico comprovado no tratamento da esquistossomose outros parasitas e infecções por tênia em humanos e outros animais (COLES, 2006). Atualmente, a investigação de eficácia do tratamento para espiroquidíase requer o abate da tartaruga para procurar vermes post-mortem. Talvez por isso, apenas um estudo abordou especificamente o assunto. Adnyana et al. (1997b) mostraram que o praziquantel é eficaz no controle de parasitas adultos; no entanto, dificilmente será imediatamente eficaz onde a embolia extensa causada pelos ovos está presente (INNIS et al. 2017). Até o momento, nenhuma complicação, como liberação de antígeno ou trombose após a morte do parasita em massa, foi relatada após tratamento; todavia, o uso de anti-inflamatórios em mitigar essas ocorrências potenciais é digno de exploração adicional (STACY et al. 2017b).

O Adnyana et al. (1997b) fizeram um estudo onde utilizaram uma dosagem de 50 mg kg⁻¹ administrados por via oral 3 vezes ao 1 dia; foi posteriormente sugerido que esta dose

pode ser muito alta (Schröder 1998). Um estudo farmacocinético conduzido por Jacobson et al. (2003) indicou que uma dose de 25 mg/kg-1 administrada por via oral 3 vezes em intervalos de 3 horas foi considerado apropriado. Enquanto formas injetáveis de praziquantel estão disponíveis, baixa concentração pode significar que altos volumes são necessários para tratar tartarugas grandes, e nenhuma eficácia ou dados de segurança para tartarugas estão disponíveis (INNIS et al. 2017).

2.8 Mortalidade

Work et al. (2015) descobriram que, embora ovos de espiroquídeos são observados em quase todas as ilhas havaianas em tartarugas verdes encalhadas, na necropsia raramente são a principal causa de mortalidade naquela região. Em contraste infecções suspeitas ou potencialmente fatais foram relatadas na Flórida (Jacobson et al. 2006, Stacy et al. 2010a), no Mediterrâneo (Santoro et al. 2017) e Austrália (Gordon et al. 1998, Flint et al. 2010b) enquanto os espiroquídeos podem ter maiores efeitos na saúde nessas regiões do que em outras, as comparações das taxas de mortalidade entre os estudos são difíceis devido às diferentes circunstâncias e vieses de amostragem. Por exemplo, enquanto Santoro et al. (2007) observou 100% de prevalência de espiroquídeos entre nidificação de tartarugas verdes fêmeas na Costa Rica, as circunstâncias em que os animais foram coletados (ou seja, fêmeas nidificantes mortas por ataque de onça-pintada) exclui efetivamente a espiroquidíase como causa primária de morte. Animais severamente afetados também podem ser menos susceptíveis de participar em atividades de reprodução e nidificação e o método de amostragem exclui tartarugas imaturas, que podem ser mais suscetíveis a infecções graves. Características semelhantes podem ser identificadas na maioria dos estudos; Stacy et al. 2010a) foram capazes de incluir tartarugas saudáveis' para medir a proporção de tartarugas que evitaram graves efeitos das infecções. Outra questão é a interpretação dos casos pesquisados e aplicar critérios diferentes para determinar a causa de morte, o que inevitavelmente afetará o número de mortalidade que eles atribuem à espiroquidíase. Na Austrália, a espiroquidíase contribuiu para uma menor proporção de mortes (GORDON et al., 1998; FLINT et al., 2010b).

Ainda que essas diferenças possam ser atribuídas às variações discutidas anteriormente nos métodos de amostragem ou flutuações naturais, deve ser interpretado de forma conservadora, e levanta a possibilidade de que os efeitos patogênicos da infecção por espiroquídeos estão se tornando mais graves em regiões localizadas, como o sul de Queensland. Para confirmar tais tendências e investigar fatores que influenciam a patogenicidade, a vigilância é necessária em oposição a curto prazo para evitar danos ao revestimento endotelial e outros tecidos que foram relatados, por parasitismo. Tais iniciativas devem seguir procedimentos padronizados de amostragem e exame post mortem, tanto quanto possível, para minimizar o preconceito e incorporar a amostragem de habitat para investigar ligações entre o ambiente físico, o ecossistema e a doença (CHAPMAN, 2019).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, A. A. et al. Aspectos parasitológicos dos peixes. *In*: SILVA, R. J. **Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas**. São Paulo: Editora UNESP, p.115-192, 2016.
- ADNYANA, W.; LADDS, P. W.; BLAIR, D. Efficacy of praziquantel in the treatment of green sea turtles with spontaneous infection of cardiovascular flukes. **Aust Vet J**, v. 75, p. 405–407, 1997b.
- ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga-marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, n. 1, 2011a.
- ANDRADE, M. F. et al. Appropriate morphometrics for the first assessment of juvenile green turtle (*Chelonia mydas*) age and growth in the south-western Atlantic. **Mar Biol.**, 2016.
- AWABDI, D. R. Hábito alimentar e ingestão de resíduos sólidos por tartarugas-verdes juvenis, *Chelonia mydas* (L. 1758), na Costa Leste do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. 63 f., **Dissertação** (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. 2013.
- BARBER, I.; BERKHOUT, B. W.; ISMAIL, Z. Thermal change and the dynamics of multi host parasite life cycles in aquatic ecosystems. **Integr Comp Biol**, v. 56, p. 561–572, 2016.
- BARKER, S. C.; BLAIR, D. Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groupings within the genus. **J Parasitol**, v. 82, p. 292–298, 1996.
- BELL, C. D. L. et al. Some of them came home: the Cayman Turtle Farm headstarting project for the green turtle *Chelonia mydas*. **Oryx**, v.39, n. 2, p. 137-148, 2005.
- BINOTI, E. et al. Helminth fauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the south of the State of Espírito Santo and description of tissue injury. *Helminthologia*, v. 53(2): 195 – 199. 2016.
- BINOTI, E. et al. Helminth fauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the south of the state of Espírito Santo and description of tissue injury. **Helminthologia**, v. 53, p.195-199, 2015.
- BJORNDAL, K. A. Prioridad em la pesquisa em áreas de alimentación. *In*. ECKERT, K. L. Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group**. n. 4, p.13-15. 2000.
- BLASCO-COSTA, I. et al. Abordagens moleculares à sistemática de trematódeos: 'melhores práticas' e implicações para estudos futuros. **Syst Parasitol**, v. 93, p. 295–306, 2016.
- BLOCH, E. H. In vivo microscopy of schistosomiasis. II. Migration of *Schistosoma mansoni* in the lungs, liver, and intestine. **Am J Trop Med Hyg**, v. 29, p. 62–70, 1980.
- BONELLI, M. A. et al. Quantitative computed tomography of the liver in juvenile green sea turtles (*Chelonia mydas*). **J Zoo Wildl Med**, v. 44, p. 310–314, 2013.

- BOWER, D. S. et al. A review of the role of parasites in the ecology of reptiles and amphibians. **Austral Ecology**, v. 44, n. 3, p. 433-448, 2019.
- BUSHARA, H. O. et al. Observations on cattle schistosomiasis in the Sudan, a study in comparative medicine II. Experimental demonstration of naturally acquired resistance to *Schistosoma bovis*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 29, p.442-451, 1980.
- CAVALCANTI, M. G. et al. Schistosomiasis in areas of low endemicity: a new era in diagnosis. **Trends Parasitol**, v. 29, p. 75-82, 2013.
- CHAPMAN, P. A. et al. Molecular analysis of the genera *Hapalotrema* Looss, 1899 and *Learedius* Price, 1934 (Digenea: Spirorchiidae) reveals potential cryptic species, with comments on the validity of the genus *Learedius*. **Syst Parasitol**, v. 90, p. 67-79, 2015.
- CHAPMAN, P. A. et al. Molecular epidemiology and pathology of spirorchiid infection in green sea turtles (*Chelonia mydas*). **Int J Parasitol Parasites Wildl**, v.6, p. 39-47, 2017.
- CHAPMAN, P. A. et al. Espirorquiídiase em tartarugas marinhas: o estado atual do conhecimento **Des. Água. Org**, n.133, p.217 – 245, 2019.
- CHEN, H. et al. Cheng, I. J. Fluke (Spirorchiidae) infections in sea turtles stranded on Taiwan: prevalence and pathology. **J Parasitology**, v. 98, p. 437-439, 2012.
- COELHO, V. F. et al. Intraspecific variation in skull morphology of juvenile *Chelonia mydas* in the southwestern Atlantic Ocean. **Mar Biol**, v. 165, p.174, 2018.
- COLES G. C. Developments in the chemotherapy of parasitic flatworms. *In*: Maule, A. G.; Marks, COLLEY, D. G. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 383, p. 2253-2264, 2014.
- CRIBB, T. H. et al. Elucidation of the first definitively identified life cycle for a marine turtle blood fluke (Trematoda: Spirorchiidae) enables informed control. **Int J Parasitol**, v. 47, p. 61-67, 2017.
- CROFT, L. A. et al. Evaluation of magnetic resonance imaging for detection of internal tumors in green turtles with cutaneous fibropapillomatosis. **J Am Vet Med Assoc**, v. 225, p. 1428-1435, 2004.
- DE BONT, J.; SHAW, D. J.; VERCRUYSSSE, J. The relationship between faecal egg counts, worm burden and tissue egg count in early *Schistosoma mattheei* infections in cattle. **Acta Trop**, v. 81, p. 63-76, 2002.
- DE BONT, J. et al. *Schistosoma mattheei* infections in cattle: changes associated with season and age. **Vet Parasitol** 57: 299-307, 1995.
- DE BURON, I. et al. First evidence of polychaete intermediate hosts for *Neospiroorchis* spp. marine turtle blood flukes (Trematoda: Spirorchiidae). **Int J Parasitol**, v. 48, p. 1097-1106, 2018.

DE MAJO, M. et al. Clinical ultrasonography in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): imaging of pathological features. **Vet Med**, v. 61, p. 155–16, 2016.

DEWALICK, S.; TIELENS, A. G. M.; VAN HELLEMOND J. J. Schistosoma mansoni: the egg, biosynthesis of the shell and interaction with the host. **Exp Parasitol**, v. 132, p. 7–13, 2012.

DI BELLO, A. et al. Contrast radiography of the gastrointestinal tract in sea turtles. **Vet Radiol Ultrasound**, v. 47, p. 351–354, 2006.

DOENHOFF, M. J. CHIODINI, P. L.; HAMILTON, J. V. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? **Trends Parasitol**, v. 20, p. 35–39, 2004.

DOENHOFF, M. et al. Studies on the host-parasite relationship in Schistosoma mansoni-infected mice: the immunological dependence of parasite egg excretion. **Immunology**, v. 35, p.771–778, 1978.

DOMÈNECH, F. et al. Epibiont communities of loggerhead marine turtles (*Caretta caretta*) in the western Mediterranean: influence of geographic and ecological factors. **J Mar Biol Assoc UK**, v. 95, p. 851–861, 2015.

DUTRA, G. H. P.; et al. Lesões macroscópicas e histopatológicas da infecção por helmintos da Família Spirorchiiidae em *Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae): relato de um caso no litoral brasileiro. **Natural Resources**, Aquidabã, v.2, n.1, p.83-89, 2012.

EDRIS, Q. L. et al. Análise do conteúdo alimentar de tartarugas-verdes (Chelonia mydas) mortas em encalhes na Costa de Peruíbe, litoral Sul de São Paulo. **Unisanta BioScience**, v. 7, n. 6, p. 77- 98, 2018.

ENGELS, D.; SINZINKAYO, E.; GRYSEELS, B. Day-to-day egg count fluctuation in Schistosoma mansoni infection and its operational implications. **Am J Trop Med Hyg** v. 54, p. 319, 1996.

ESTEBAN, N. et al. A global review of green turtle diet: sea surface temperature as a potential driver of omnivory levels. **Mar Biol**, v. 167, p. 183, 2020.

FLINT J. et al. The impact of environmental factors on marine turtle stranding rates. **PLOS ONE**, v.12, p.182- 548, 2017.

FRAZIER, J. et al. Epizoan communities on marine turtles. 1. Bivalve and gastropod mollusks. **Mar Ecol**, v. 6, p.127–140, 1995.

FREITAS, J. T.; LENT, H. Sobre alguns trematódeos parasitos de Chelone mydas (L.), principalmente Paramphistomoides. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.33, p. 79-97, 1938.

FRITZSCHE, C. et al. Confocal laser scanning microscopy, a new in vivo diagnostic tool for schistosomiasis. **PLOS ONE**, v.7, p. 34- 869, 2012.

GAFFNEY, E.S.; MEYLAN, P.A. A phylogeny of turtles. In: Benton, M.J., editor. The Phylogeny and Classification of Tetrapods. Oxford: Clarendon Press, **amphibians, reptiles**,

birds, v. 1, p. 157-219, 1988.

GAMA, L. R. et al. Green turtle *Chelonia mydas* foraging ecology at 25°S in the western Atlantic: evidence to support a feeding model driven by intrinsic and extrinsic variability. **Mar Ecol Prog Ser**, v. 542, p. 209–219, 2016.

GLAZEBROOK, J. S.; CAMPBELL, R. S. F.; BLAIR, D. Pathological changes associated with cardiovascular trematodes (Digenea: Spirorchidae) in a green sea turtle *Chelonia mydas* (L.). **J Comp Pathol**, v. 91, p. 361–368, 1981.

GLAZEBROOK, J. S.; CAMPBELL, R. S. F.; BLAIR, D. Studies on cardiovascular fluke (Digenea: Spirorchidae) infections in sea turtles from the Great Barrier Reef, Queensland, Australia. **J Comp Pathol**, v. 101, p. 231–250, 1989.

GLAZEBROOK, J. S.; CAMPBELL, R. S. F. A. Survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. **Dis Aquat Org**, v. 9, p. 97–104, 1990a.

GONZÁLEZ, J. et al. Argentinian coastal waters: a temperate habitat for three species of threatened sea turtles. **Marine Biology Research**, v. 7, p. 500-508, 2011.

GORDON, A. N.; KELLY, W. R.; CRIBB, T. H. Lesions caused by cardiovascular flukes (Digenea: Spirorchidae) in stranded green turtles (*Chelonia mydas*). **Vet Pathol**, v. 35, p. 21–30, 1998.

GOSHE, L.R. et al. Estimation of age at maturation and growth of Atlantic green turtles (*Chelonia mydas*) using skeletochronology. **Marine Biology**, v. 157 n. 8, p. 1725-1740, 2010.

GRACZYK, T. K.; AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H. Detection by ELISA of circulating anti-blood fluke (*Carettacola*, *Haplotrema*, and *Learedius*) immunoglobulins in Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). **J Parasitol**, v. 81, p. 416–421, 1995.

GREINER, E. C. Parasites of marine turtles. In: WYNEKEN, J.; LOHMANN, K. J.; MUSICK, J.A. (ed) CRC Press, Boca Raton, **The biology of sea turtles**, v. 3, p. 427–446, 2013.

GREINER, E. C.; FORRESTER, D. J.; JACOBSON, E. R. Helminths of mariculture-reared green turtles (*Chelonia mydas mydas*) from Grand Cayman, British West Indies. **Proc Helminthol Soc Wash**, v. 47, p. 142–144, 1980.

GREINER, C.; MADER, D. R. Parasitology. In: Mader, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. Saunders Elsevier. 2 ed, cap. 21, p. 343-345, 2006.

GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 1106–1118, 2006.

HAYS, G.C.; SCOTT, R. Global patterns for upper ceilings on migration distance in sea turtles and comparisons with fish, birds and mammals. **Functional Ecology**, v. 27, n. 3, p. 748-756, 2013.

HERBST, L. H. et al. Serological association between spirorchidiasis, herpesvirus infection, and fibropapillomatosis in green turtles from Florida. **J Wildl Dis**, v. 34, p. 496–507, 1998.

- HIRTH, H.F. Synopsis of the biological data on Green Turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758). Washington, DC: U.S. **Fish and Wildlife Service**, v. 85, p. 84, 1997.
- HOLLIMAN, R. B.; FISHER, J. E.; PARKER, J. C. Studies on *Spirorchis parvus* (Stunkard, 1923) and its pathological effects on *Chrysemys picta picta*. **J Parasitol**, v. 57, p. 71–77, 1971.
- INNIS, C. J.; HARMS, C. A.; MANIRE, C. Therapeutics. *In*: Manire CA, Norton TM, Stacy BA, Harms CA, Innis CJ (eds) Sea turtle health and rehabilitation. **J Ross Publishing, Plantation, FL**, p. 514–515, 2017.
- JACOBSON, E. R. et al. Neurological disease in wild loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. **Dis Aquat Org**, v. 70, p.139–154, 2006.
- JERDY, H. et al. Spirorchiid infection in the olive ridley turtle, *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) (Testudines:Cheloniidae) from Brazil. **J Parasitol**, p.102- 290, 2016.
- JIMÉNEZ, A. et al. Feeding ecology of the green turtle *Chelonia mydas* in northern Peru. **Sea Turtle Research and Conservation in Latin America**, v. 45, p. 585-586. 2017.
- KITSOS, M. S. et al. Composition of the organismic assemblage associated with *Caretta caretta*. **J Mar Biol Assoc UK**, v. 85, p. 257–261, 2005.
- KLINGENBERG, R J. **Understanding Reptiles Parasites**. ed. Irvine, EUA: Advanced. Vivarium Systems. 83 p. 1993.
- KRAUTZ-PETERSON, G. et al. Imaging schistosomes in vivo. **FASEB J**, v. 23, p. 2673–2680, 2009.
- LIER, T. et al. Real-time PCR for detection of low intensity *Schistosoma japonicum* infections in a pig model. **Acta Trop**, v. 105, p. 74–80, 2008.
- LÖHMUS, M.; BJÖRKLUND, M. Climate change: what will it do to fish–parasite interactions? **Biol J Linn Soc**, v. 116, p. 397–411, 2015.
- MACKENZIE, K. Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: An update. **Parasitology**. United Kingdom, v. 124, p. 153-163. 2002.
- MARCHIORI, E. et al. Qualitative and quantitative methods for estimating spirorchiidiasis burden in sea turtles. **Int J Parasitol Parasites Wildl**, v. 7, p. 409–414, 2018.
- MARCHIORI, E. et al. Cardiovascular flukes (Trematoda:Spirorchidae) in *Caretta caretta* Linnaeus, 1758 from the Mediterranean Sea. **Parasit Vectors**, v. 10, p. 467, 2017.
- MARCOGLIESE, D. J. The impact of climate changes in the parasites and infectious diseases of aquatic animals. **Revue Scientifique et Technique**, v 27, n. 2, p. 467-484. 2008.
- MARCOVALDI, A.; SANTOS, A. Plano de ação nacional para conservação das tartarugas marinhas. Brasília Inst Chico Mendes Conserv da Biodiversidade, **Icmbio** p.120, 2011.

MÁRQUEZ, R. M. Sea turtles of the world: an annotated and illustrated catalogue of sea turtles species known to date. **FAO Fish. Synop**, v. 11, n. 125, p. 81, 1990.

MCARTHUR, S.; MEYER, J.; INNIS, C. Anatomy and physiology. In: McArthur, S., Wilkinson, R., Meyer, J., editors. *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Oxford: **Blackwell Publishing**. p. 35-72, 2004.

McMANUS, D. P.; BOWLES, J. Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. **Int J Parasitol**, v. 26, p. 687–704, 1996.

MEDINA, R. M. Histopatologia de Tartarugas-marinhas Vítimas de Encalhe nos Litorais Capixaba e Fluminense. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2013.

MEYLAN, A.B.; MEYLAN, P.A. Introduction to the evolution, life history, and biology of sea turtles. Pp. 3-5. In: Eckert, K.L.; Bjorndal, K.A.; Abreu Grobois, F. A; Donnelly, M. (eds.), *Research and Management Techniques for the Conservation of sea turtles*. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group** Publication, n. 4, 1999.

MUNIZ-PEREIRA, L. C.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. Checklist of helminth parasites of threatened vertebrate species from Brazil. **Zootaxa**, v. 2123, p. 1–45, 2009.

NARO-MACIEL, E. Testing dispersal hypotheses in foraging green sea turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. **Journal of Heredity**, v. 98, n.1, p. 29-39, 2007.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 11 Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 449 p. NDAO, M. Diagnosis of parasitic diseases: old and new approaches. **Interdiscip Perspect Infect Dis**, p. 246-278, 2009.

NGAIZA, J. R.; DOENHOFF, M. J. Blood platelets and schistosome egg excretion. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 193, p. 73–79, 1990.

NOLAN, M. J.; CRIBB, T. H. O uso e as implicações do sequenciamento de DNA ribossômico para a discriminação de espécies digenéticas. **Avanços em parasitologia**, v. 60, p. 101-163, 2005.

OLIVEIRA, L. M. A. et al. Evaluation of polymerase chain reaction as an additional tool for the diagnosis of low-intensity *Schistosoma mansoni* infection. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 68, p. 416–421, 2010.

OLSEN, O. W. *Animal parasites: their life cycles and ecology*. 3. ed. Baltimore: **University Park Press**, p. 562, 1974.

OLVEDA, D. U. et al. Utility of diagnostic imaging in the diagnosis and management of schistosomiasis. **Clin Microbiol**, v. 3, p. 142, 2014.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R.M. **Doença de peixes, profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, p. 311, 2008.

PEARCE, E. J. Priming of the immune response by schistosome eggs. **Parasite Immunol**, v.

27, p. 265–270, 2005.

PFALLER, J. B. et al. Carapace epibionts of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) nesting at Canaveral National Seashore, Florida. **J Nat Hist**, v. 42, p. 1095–1102, 2008.

PONTES, L. A.; DIAS-NETO, E.; RABELLO, A. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. **Am J Trop Med Hyg**, v. 66, p. 157–162, 2002.

PONTES, L. A. et al. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 68, 652–656, 2003.

PRITCHARD, P.C.H.; MORTIMER, J. A. 1999. Taxonomy, external morphology, and species identification. P. 21-38. In: Eckert, K.L.; Bjorndal, K.A. Abreu-Grobois, F.A.; DONNELLY, M. (eds.) Research and Management Techniques for the Conservation of sea turtles. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist**, n. 4, 1999.

PROJETO TAMAR. **Tartarugas Marinhas**. Disponível em: <http://www.tamar.com.br/>. Online. Acesso em: 09 de agosto de 2022.

RAPHAEL, B. L. Chelonians (Turtles, Tortoises). In: Fowler, M. E.; Miller, R. E.; editors. **Zoo and Wild Animal Medicine**. 5. ed. Saint Louis: Saunders. p. 48-58, 2003.

REIS, E.C.; GOLDBERG, D.W. Pesquisa e conservação de tartarugas-marinhas no Brasil e as recentes contribuições da telemetria e da genética. In: Reis, E. C., Curbelo-Fernandez, M. P. **Mamíferos, quelônios e aves: caracterização ambiental regional da Bacia de Campos, Atlântico Sudoeste**. Rio de Janeiro: Elsevier. Habitats, v. 7, p. 91-120. 2017.

RIBEIRO, R. B. et al. Tissue lesions due to spirorchiid eggs in a loggerhead turtle (*Caretta caretta* Linnaeus 1758) from Brazil: first report outside of the United States. **J Parasitol**, v.103, p. 801, 2017.

RONNING, K. et al. Using RAG-1 and morphological characters to define phylogenetic relationships of turtles: separation of Cryptodira and Pleurodira, designating two novel infraorders Cryptodira and Trionychida (**tax. nov.**). *Euglena*. v. 1, n. 1, p. 1-9, 2013.

RUIZ, J. M. Pronocephalidae (Trematoda) Estudo das espécies brasileiras e revisão da Family. **Mem. Inst. Butantan** v.19, p. 249-372, 1946.

RUPPERT, E. E. Zoologia dos Invertebrados: **Uma Abordagem Funcional-Evolutiva**. 7 ed. Rio de Janeiro: Roca, p.1168, 2005.

SAH, V. K.; et al. Human schistosomiasis: a diagnostic imaging focused review of a neglected disease. **Radiol Infect Dis**, v. 2, p. 150–157, 2015.

SANTORO, M. et al. Pathology and molecular analysis of *Haplotrema mistroides* (Digenea:Spirorchiidae) infecting a Mediterranean loggerhead turtle *Caretta caretta*. **Dis Aquat Org**, v. 124, p. 101–108, 2017.

SANTORO, M. et al. Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia*

mydas) from Tortuguero National Park, Costa Rica. **J. Parasitol.** 92:1202–1206. 2006.

SANTORO, M.; MORALES, J. A.; RODRIGUEZ-ORTIZ, B. Spirorchiidiosis (Digenea:Spirorchidae) and lesions associated with parasites in Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*). **Vet Rec**, v. 161, p. 482–486, 2007.

SANTOS, R. G. Variação na dieta da tartaruga verde, *Chelonia mydas*, e o impacto da ingestão de lixo ao longo da costa brasileira. 95 f. **Tese de Doutorado em Biologia Animal**, Universidade Federal Do Espírito Santo. Vitoria, ES. 2014.

SCHRÖDER, J. Praziquantel in turtles. **Aust Vet J**, v. 76, p. 107, 1998.

SEMINOFF, J. A.; RESENDIZ, A.; NICHOLS, W. J. Diet of east green turtles (*Chelonia mydas*) in the central Gulf of California, México. **Journal of Herpetology**, v. 36, p. 447-453, 2002.

SHAFFER, H. B. Turtles (Testudines). In: Hedges, S.B., Kumar, S., editors. The Time tree of Life. **Oxford: University Press**, p. 398-401, 2009.

SILVA, A. C. M. Elaboração de uma Cartilha Como Material Educativo Para Preservação da Tartaruga Verde (*Chelonia mydas*) em Itaipú, Niterói, Rio de Janeiro. **Revista Presença**, v. 2, p. 35-58. 2017.

SILVA, A. C. C. D. et al. Efforts to reduce sea turtle bycatch in the shrimp fishery in Northeastern Brazil through a co-management process. **Ocean and Coastal Management**, 53: 570-576, 2010. SKELLY, P. The use of imaging to detect schistosomes and diagnose schistosomiasis. **Parasite Immunol**, v. 35, p. 295–301, 2013.

SPADOLA, F. et al. The practical use of computed tomography in evaluation of shell lesions in six loggerhead turtles (*Caretta caretta*). **Vet Med**, v. 61, p. 394–398, 2016.

STACY, B. A. Evidence of diversity, site and host specificity of sea turtle blood flukes (Digenea:Schistosomatoidea: ‘Spirorchidae’):a molecular prospecting study. **J Parasitol**, v. 103, p. 756–767, 2017a.

STACY, B. A. Spirorchiidiasis in stranded loggerhead *Caretta caretta* and green turtles *Chelonia mydas* in Florida (USA): host pathology and significance. **Dis Aquat Org**, v. 89, p. 237–259, 2010a.

STACY, B. A. et al. Detection of spirorchiid trematodes in gastropod tissues by polymerase chain reaction:preliminary identification of an intermediate host of *Learedius leardi*. **J Parasitol**, v. 96, p. 752–757, 2010b.

STACY, B. A. et al. Parasitology. In: Manire CA, Norton TM, Stacy BA, Harms CA, Innis CJ (eds) Sea turtle health and rehabilitation. **J Ross Publishing, Plantation, FL**, p. 727–750, 2017b.

STOCKMAN, J. et al. Prevalence, distribution, and progression of radiographic abnormalities in the lungs of cold-stunned Kemp’s ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*): 89 cases (2002–2005). **J Am Vet Med Assoc**, v. 242, p. 675–681, 2013.

- TRAVASSOS, L. Informações sobre a família Kathlanidae, **Revista da Sociedade brasileira de ciências**, v. 2, p. 83-88, 1918.
- TRAVASSOS, L.; FREITAS, T.; KOHN, A. Trematódeos do Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 67, p. 1-886, 1969.
- VALENTE, A. L. et al. Ultrasonographic imaging of logger head sea turtles (*Caretta caretta*). **Vet Rec**, v. 161, p. 226–232, 2007.
- VÉLEZ-RUBIO, G. M. et al. Pre and post-settlement movements of juvenile green turtles in the Southwestern Atlantic Ocean. **J Exp Mar Bio Ecol**, v. 501, p. 36–45, 2018.
- VELLA, A. T.; PEARCE, E. J. CD4+ Th2 response induced by *Schistosoma mansoni* eggs develops rapidly, through an early, transient, Th0-like stage. **J Immunol**, v. 148, p. 2283, 1992.
- VICENTE, J. J.; SANTOS, E. Terceira espécie (Nemaloda, Kathlaniidae). **Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro** v.12, p. 55-56, 1968.
- WATSON, D. M. Growth rates of sea turtles in Watamu, Kenya. **Earth and Environment**. v. 2, p. 29-53, 2006.
- WERNECK, M. R. Estudo da helmintofauna de tartarugas-marinhas procedentes da costa brasileira. **Tese (doutorado)**. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2011.
- WERNECK, M. R.; GALLO, B.M.G.; SILVA, R. J. The Hawksbill Sea Turtle *Eretmochelys imbricate* Linnaeus 1758 (Testudines: Cheloniidae) as New Host of *Haplotrema postorchis* Rao, 1796 (Digenea: Spirorchidae). **Comparative parasitology**, v. 81, n.1, p. 75-78, 2008.
- WERNECK, M. R.; GREINER, E. C. *Amphiorchis stacyi* n. sp. (Digenea: Spirorchidae) in the heart of a green turtle from Florida, USA and the literature review of *Amphi - orchis* (Price, 1934). **Parasitol Res**, v. 117, p. 1709–1716, 2018.
- WERNECK, M. R.; SILVA, R. J. Occurrence of *Amphiorchis indicus* Mehrotra, 1973 (Digenea, Spirorchidae) infecting green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 73 (1), 225-227, 2013.
- WERNECK, M. R. et al. Pathological changes by *Haplotrema postorchis* Rao 1976 (Digenea: Spirorchidae) in a green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil. **Helminthologia**, v. 52, p. 148–154, 2015d.
- WERNECK, M.; SILVA, R. J. Helminth parasites of juvenile green turtles *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. **J Parasitol**, v. 101, p. 713–716, 2015.
- WICHMANN, D. et al. Prospective European-wide multicentre study on a blood based real-time PCR for the diagnosis of acute schistosomiasis. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 55, 2013.
- WOLKE, R. E.; BROOKS, D. R.; GEORGE, A. Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): pathology. **J Wildl Dis**, v. 18, p. 175–185, 1982.
- WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Necropsy findings in sea turtles taken as bycatch in the North Pacific longline fishery. **Fish Bull**, v. 100, p. 876–880, 2002.

WORK, T. M. et al. Epizootiology of spirorchiid infection in green turtles (*Chelonia mydas*) in Hawaii. **J Parasitol**, v. 91: p. 871–876, 2005.

WORK, T. M. et al. Causes of mortality in green turtles from Hawaii and the insular Pacific exclusive of fibropapillomatosis. **Dis Aquat Org**, v. 115, p. 103–110, 2015.

WORK, T. M. et al. Causes of mortality in green turtles from Hawaii and the insular Pacific exclusive of fibropapillomatosis. **Dis Aquat Org**, v. 115, p. 103–110, 2015.

WU, Y. P. et al. Differential platelet adhesion to distinct life cycle stages of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. **J Thromb Haemost**, v. 5, p. 2146–2148, 2007.

WYNEKEN, J.; LOHMANN, K. J.; MUSICK, J. a. The biology of sea turtles, V. III. New York: **CRC Press**, 2013.

YU, J. M. et al. Variations in fecal *Schistosoma japonicum* egg counts. **Am J Trop Med Hyg**, v. 59, p. 370–375, 1998.

ZHU, Y. Immunodiagnosis and its role in schistosomiasis control in China: a review. **Acta Trop**, v. 96, n. 245, p. 130–136 245, 2005.

ZUG, G. R.; CHALOUPKA, M.; BALAZS, G. H. Age and growth in olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*) from the North-central Pacific: a skeletochnological analysis. **Marine Ecology**, v. 27, n. 3, p. 263-270, 2006.

ANEXOS

ANEXO I, Artigo publicado na revista Pesquisa Veterinária Brasileira



Pathology of Spirorchidae (Digenea: Schistosomatoidea) infection in green turtles (*Chelonia mydas*) on Campos Basin, Rio de Janeiro¹

Reina I.A. Cartagena² , Joana M.P. Ikeda³ , Isabela M. Neto³ ,
Gabriela O. Pereira² , Asheley H.B. Pereira² , Raquel O. Simões⁴ ,
José L. Luque⁴ and Daniel G. Ubiali^{2*}

ABSTRACT.- Cartagena R.I.A., Ikeda J.M.P., Neto I.M., Pereira G.O., Pereira A.H.B., Simões R.O., Luque J.L. & Ubiali D.G. 2023. **Pathology of Spirorchidae (Digenea: Schistosomatoidea) infection in green turtles (*Chelonia mydas*) on Campos Basin, Rio de Janeiro.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 43:e07235, 2023. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: danielubiali@ufrj.br

Spirorchidiasis is one of the most common diseases in green turtles. Eggs and the adult form of trematodes are mainly found in the heart, liver, lung, spleen, and gastrointestinal tract. The present study aimed to describe the pathological aspects of Spirorchidae trematode infection in green turtles (*Chelonia mydas*) in the Campos Basin, Rio de Janeiro. The current study was based on the necropsy of 99 green turtles (*Chelonia mydas*, Cheloniidae) from April to December 2021. Epidemiological data were obtained from the Aquatic Biota Monitoring Information System (SIMBA). A histopathological examination was performed at the “Setor de Anatomia Patológica” (SAP) from “Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro” (UFRuralRJ). Tissue fragments (buccal papilla, esophagus, trachea, lung, heart, kidney, bladder, stomach, liver, spleen, intestines, gonads, adrenal, thyroid, pancreas, salt glands, muscle, and skin) were sampled for histological examination. The green turtles had lesions compatible with parasitic infection in 89% (88/99) cases. Out of 88 turtles, 87 were juveniles (99%), 75% (66/88) were females, and 25% (22/88) were males. Adult parasites and their eggs were found to cause granulomatous tissue reactions in 14% (12/88) of turtles. Egg-associated granulomatous inflammation was found in 86% (76/88) of the turtles. The organs with the highest number of egg-associated granulomas in order of occurrence were: the spleen, small intestine, adrenal gland, pancreas, and lungs. The adult trematodes were observed in histological lesions in order of occurrence, mainly in the esophagus, stomach, and small intestine. Out of the total number of turtles parasitized, 33% (29/88) of deaths occurred due to multiple causes such as fractures, interaction with fishing, predation, and fibropapillomas. The other 67% (59/88) presented multisystemic granulomatous disease caused by Spirorchidae infection as a cause of death. Evidence is presented that spirorchidiasis is highly prevalent in young green turtles, is responsible for extensive chronic lesions, and responsible for significant debilitation and mortality.

INDEX TERMS: Marine biology, veterinary pathology, Spirorchidae, Testudines, green turtle, *Chelonia mydas*, blood flukes, trematodes, histopathology.

¹ Received on January 18, 2023.

Accepted for publication on February 2, 2023.

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. *Corresponding author: danielubiali@ufrj.br

³ Ambipar Response Fauna e Flora, Rua Primeira de Araruama 526, Praia Seca, Araruama, RJ 28970-000, Brazil.

⁴ Laboratório de Parasitologia de Peixes e Mamíferos Silvestres, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil.

RESUMO.- [Patologia da infecção por Spirorchiidae (Digenea: Schistosomatoidea) em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) na Bacia de Campos, Rio de Janeiro.] A espiroquidíase é uma das doenças mais comuns em tartarugas verdes. Os ovos e a forma adulta dos trematódeos são encontrados principalmente no coração, fígado, pulmão, baço e trato gastrointestinal. O objetivo do presente estudo foi descrever os aspectos patológicos da infecção por trematódeos Spirorchiidae em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) na Bacia de Campos, Rio de Janeiro. O presente trabalho foi baseado na necropsia de 99 tartarugas verdes (*Chelonia mydas*, Cheloniidae) no período de abril a dezembro de 2021. Os dados epidemiológicos foram obtidos do Sistema de Informação de Monitoramento da Biota Aquática (SIMBA). Realizou-se exame histopatológico no Setor de anatomia Patológica (SAP) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ). Os fragmentos de tecidos (papila bucal, esôfago, traqueia, pulmão, coração, rim, bexiga, estômago, fígado, baço, intestinos, gônadas, adrenal, tireoides, pâncreas, glândulas de sal, músculo e pele) foram coletados e fixados em formalina a 10% tamponada, processados rotineiramente para exame histológico. Em 89% (88/99) dos casos, as tartarugas-verdes apresentaram lesões compatíveis com infecção parasitária. Das 88 tartarugas, 87 eram jovens (99%), 75% (66/88) correspondiam a fêmeas, 25% (22/88) a machos. Em 14% (12/88) das tartarugas foram encontrados parasitas adultos e seus ovos causando inflamação granulomatosa. Em 86,4% (76/88) das tartarugas foram encontradas lesões granulomatosas associadas aos ovos dos trematódeos. Os órgãos com maior quantidade de granulomas associados a ovos foram: baço, intestino delgado, adrenal, pâncreas e pulmões. Trematódeos adultos foram principalmente observados nas lesões histológicas, em ordem de ocorrência, no esôfago, estômago e intestino delgado. Do total de tartarugas parasitadas, 33% (29/88) das mortes ocorreram em consequência de múltiplas causas como fraturas, interação com pesca, predação e fibropapilomas. As outras 67% (59/88) apresentaram como causa de morte a doença granulomatosa multissistêmica causada pela infecção por trematódeo da família Spirorchiidae. São apresentadas evidências de que a espiroquidíase é altamente prevalente em tartarugas verdes jovens no Rio de Janeiro, responsável por extensas lesões crônicas, quadro clínico de debilidade e mortalidade significativas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Biologia marinha, patologia veterinária, Spirorchiidae, Testudines, tartaruga verde, *Chelonia mydas*, parasitas intravasculares, trematódeos, histopatologia.

INTRODUCTION

Five sea turtles species occur in Brazil, out of seven that inhabit the world. They are green turtle (*Chelonia mydas*), hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*), loggerhead turtle (*Caretta caretta*), olive turtle (*Lepidochelys olivacea*), and leather turtle (*Dermochelys coriacea*) (Cremer et al. 2020). In Brazil, all sea turtle species are included in the Red Book of the Brazilian Fauna Threatened by Extinction (Brasil 2018). According to the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Threatened Species, *C. mydas* is endangered (Seminoff 2004). *Chelonia mydas* has a wide distribution, encompassing tropical and occasionally subtropical regions in the Atlantic, Pacific, Indian Oceans and the Mediterranean

and Red Seas (Pritchard & Mortimer 1999). In the Brazilian coastal areas, the green turtle can be found in Rio Grande do Norte, Pernambuco, Espírito Santo, and Rio de Janeiro states (Marcovaldi & Marcovaldi 1999, Awabdi et al. 2013).

Sea turtles play an essential role in the cycle of energy and nutrients in different environments, controlling the population of species on which they feed and, when young, as a source of food for crustaceans, birds, fish, and mammals (Bjorndal 1996). Young green turtles are carnivorous; when they are adults, they become herbivores and feed on algae. After migratory movements of adult *C. mydas*, hundreds to thousands of kilometers are crossed into international waters (Cubas & Baptistotte 2006). The feeding habits influence the composition and richness of parasite communities in different geographic areas (Santoro et al. 2006). Various parasitic agents, mainly nematodes, digenetic trematodes, and ectoparasites, affect sea turtles (George 1997). In Rio de Janeiro, endoparasitic infections are one of the leading natural causes of green turtle stranding (Tagliolatto et al. 2019). Spirorchidiasis cases have been reported in different world regions, particularly the Northwest and Central Atlantic Ocean (Werneck et al. 2008, Chapman et al. 2017), Indian Ocean, and Northwest Pacific Ocean (Glazebrook et al. 1989, Santoro et al. 2007) and Mediterranean Sea (Marchiori et al. 2017).

Spirorchids are trematodes that cause parasitosis and affect primarily the heart or visceral blood vessels (Glazebrook et al. 1989, Aguirre et al. 1998). The reported lesions appear similar in the four sea turtles species parasited by spirorchids (green, loggerhead, hawksbill, and olive) for which pathological data were described. The aorta and heart are common organs for adult parasites (Stacy et al. 2010, Chen et al. 2012, Chapman et al. 2017). Herein, we describe the pathological findings of infection by trematodes Spirorchiidae in a stranded sampling of green turtles submitted to necropsy and histopathology.

MATERIALS AND METHODS

The present work was based on the necropsy of 99 green turtles *Chelonia mydas*, Cheloniidae (Linnaeus, 1758) from April to December 2021. The clinical-epidemiological history, sex, age, and origin were obtained from the "Sistema de Informação de Monitoramento da Biota Aquática" (Aquatic Biota Monitoring Information System - SIMBA) and the responsible veterinarians. The green turtles were found stranded on the beaches of the municipalities of São Francisco de Itabapoana (N=22), Arraial do Cabo (N=20), Armação dos Búzios (N=18), Cabo Frio (N=16), Rio das Ostras (N=6), Macaé (N=4), Araruama (N=1) and Casimiro de Abreu (N=1) (Fig.1).

A histopathological examination was performed at the "Setor de Anatomia Patológica" (SAP) from "Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro" (UFRuralRJ). The tissue fragments (buccal papilla, esophagus, trachea, lung, heart, kidney, bladder, stomach, liver, spleen, intestines, gonads, adrenal, thyroid, pancreas, salt glands, muscle, and skin) from the necropsies were fixed in 10% buffered formalin, processed routinely for histological examination, cut into 4µm sections and the histological slides were stained with hematoxylin and eosin (HE). Tissue sections with specific lesions were subjected to Masson Trichrome staining. Slides were examined by light microscopy.

The diagnosis of parasitic infection by Spirorchiidae trematodes in this population of green turtles (*Chelonia mydas*) from the Brazilian Southeast coast was based on the histopathological aspects of lesions containing adult parasites and eggs. All cases with lesions

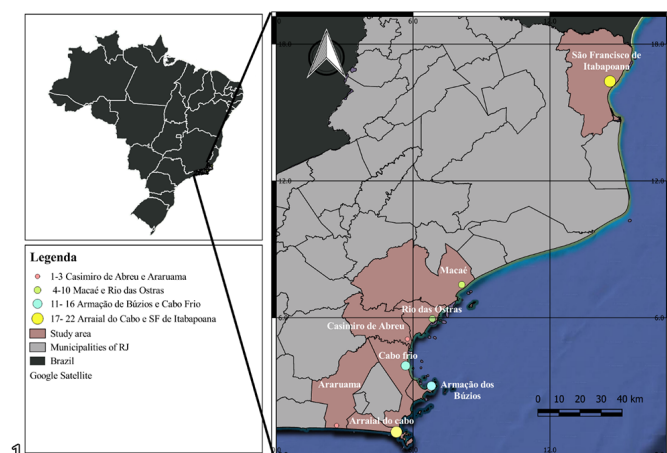


Fig.1. Geographic sampling distribution from 88 stranded green turtles (*Chelonia mydas*) with spirorchidiasis in the Campos Basin, Rio de Janeiro, Brazil.

compatible with parasitic infection by trematodes were selected, and the lesions were described. To establish the Spirorchidae infection were considered the eggs and adult trematodes morphology (Werneck et al. 2008, Werneck & Silva 2015, Flint et al. 2010). Based on the lesion morphology, the evolution acute were designed in cases with heterophils predominance surrounding eggs, subacute were designed in cases with lymphocyte predominance, and chronic lesions were the cases with almost one multinucleated giant cell (Innis et al. 2009).

RESULTS

Necropsy and histopathological examination of 99 green turtles resulted in 88 cases of parasitic fluke infection, of which 83% (73/88) were found dead, and 17% (15/88) were found alive and died during rehabilitation. Regarding age, 99% were young (87/88), and an adult 1% (1/88). Regarding sex, 75% (66/88) corresponded to females, and 25% (22/88) to males. The clinical picture of these 15 turtles was characterized by a skin load of epibionts and algae, weakness, low responsiveness to stimuli, emaciation, and pale mucous membranes.

Gross pathological changes varied from no apparent lesions in turtles slightly affected to severe cachexia. Nonspecific findings were characterized by changes meaning cachexia and anemia (excess of clear pericardial or peritoneal fluid, diffuse visceral pallor, absent fat overlying the viscera, or reduced jelly fat). The specific necropsy hallmarks of spirorchid fluke infection were the thickening and hardening of arterial walls and thrombosis. Multiple, 0.2-2cm diameter yellow, irregularly demarcated, and sometimes gritty granulomas were observed scattered in the spleen, adrenal, lungs, and heart. Multiple 0.2-0.5cm diameter black nodules were observed at the intestinal serosa in 63% (55/88) turtles.

In histology, were observed acute 1.1% (1/88), subacute 8% (7/88), and chronic 91% (80/88) inflammatory reactions from multiple tissues (Table 1). In the 88 turtles, trematode eggs were morphologically characterized by oval or elliptical structures, the average size of 20x60µm, refracting yellow wall and often fragmented, with an average of 2-3µm in thickness, containing round and basophilic round aggregates (miracidis). Adult trematodes presented morphology containing oral sucker, eosinophilic external integument, somatic musculature,

Table 1. Age, sex, and inflammatory reactions in green turtles diagnosed with spirorchidiasis in the "Setor de Anatomia Patológica" (SAP) of UFRuralRJ

Age	Sex	Inflammatory reactions
99% (87/88) Young	75% (66/88) Females	1% (1/88) Acute
1% (1/88) Adult	25% (22/88) Males	8% (7/88) Sub-acute
		91% (80/88) Chronic

parenchymal matrix, vitellaria, and, sometimes, a uterus egg-factly compatible with trematodes of the Spirorchidae family.

Adult parasites and their eggs were found in 14% (12/88) of the turtles. Tissue with granulomatous reaction eggs-associated was observed in 86% (76/88) of *Chelonia mydas* studied. Trematode egg granulomas (Fig.2-3) and lesions associated with adult trematodes (Fig.4-5) were the most common findings. Spirorchidae parasite caused egg-associated severe granulomatous lesions in the buccal papilla, esophagus, trachea, lung, heart, kidney, bladder, stomach, liver, spleen, intestines, adrenal gland, thyroid, and pancreas. The eggs were located in the lumen of veins and arteries or the interstitium, often within multinucleated giant cells, surrounded by lymphohistiocytic infiltrate, fibrin, and necrosis. Most granulomas comprised five to 15 eggs, but lesions with over 120 eggs were observed in only one multinucleated giant cell in a histological section.

The organs most affected by granulomatous lesions egg-associated were: the spleen 81% (71/88), the small intestine 72% (63/88), the adrenal gland 70% (62/88), and the pancreas 68% (60/88). The adult trematodes were observed mainly in histological lesions, in order of occurrence in the esophagus, stomach, and small intestine (Table 2). The lesions associated with adult parasites were necrotizing granulomatous vasculitis with lymphohistiocytic inflammatory infiltrate, few neutrophils and eosinophils, and moderate to severe multinucleated giant cells, and large amounts of fibrin. Masson Trichrome staining revealed granulomas had a fine collagenous connective tissue capsule. We observed that 67% (59/88) presented granulomatous lesions only associated with trematode from the family Spirorchidae. The other 33% (29/88) parasitized turtles showed additional lesions: 15% (13/88) cases of fractures, 9% (8/88) cases of interaction with fishing, 7% (6/88) lesions compatible with predation, and 2% (2/88) cutaneous fibropapillomas.

DISCUSSION

The diagnosis of parasitic infection by Spirorchidae trematodes in this stranded sampling of green turtles (*Chelonia mydas*) from the Brazilian Southeast coast was based on the histological aspects of lesions containing adult parasites and eggs (Wolke et al. 1982, Gordon et al. 1998, Cordero-Tapia et al. 2004, Werneck et al. 2008, Flint et al. 2010, Werneck & Silva 2015). Similar to our pathological findings, Jerdy et al. (2023) found serious egg granulomas by fatal spirorchidiasis in 16 wild green turtles found stranded in South and Southeast Brazil.

We noticed a predominance of diagnoses of spirorchids causing lesions in females (75%) and young (99%) *C. mydas*. This was expected since, in the juvenile phase, green turtles tend to remain in a neritic environment, extending from the coast to 200 meters from the marine region (Reis & Goldberg

2017). The same occurred for the number of females; since males, mainly adults, do not usually stay close to the coast due to reproductive behavior (Brasil 2018). The Campos Basin is located from the north coast of Rio de Janeiro to the south of Espírito Santo. Of 40 green sea turtles (*Chelonia mydas*) investigated with parasitic infections at Tortuguero National Park, Costa Rica, 100% were adult females (Santoro et al. 2006).

According to Esch et al. (1990), the average density of parasites is higher in the first years of the life of turtles and tends to decrease in the adult stage. This age group is related to the change in feeding habits, where juveniles are omnivorous, and adults are especially herbivores. All cases evaluated in this study presented parasites with marked granulomatous inflammatory reactions in the parasitized organs. For Greiner

& Mader (2006), knowledge of turtle parasites is scarce, and often, it is not possible to know if the parasites are the causative agents of diseases (pathogenic agents) or if they live peacefully in the host without underlying disease. Werneck & Silva (2015) reported that geographic distribution, ocean currents, and possibly phylogenetic history could influence the sea parasite community.

In the present study, 67% of the turtles had only injuries caused by the trematodes, while 33% had other injuries that contributed to the death. Flint et al. (2010) described other causes of death in green turtles, such as gastrointestinal impactions (11.8%), human actions such as asphyxiation by gillnets in fishing nets (7.2%), trauma (5.2%), fungal and bacterial infections (5.2%) and coccidial enteritis by *Caryospora cheloniae* (1.2%). To investigate the pathogenicity of spirorchids,

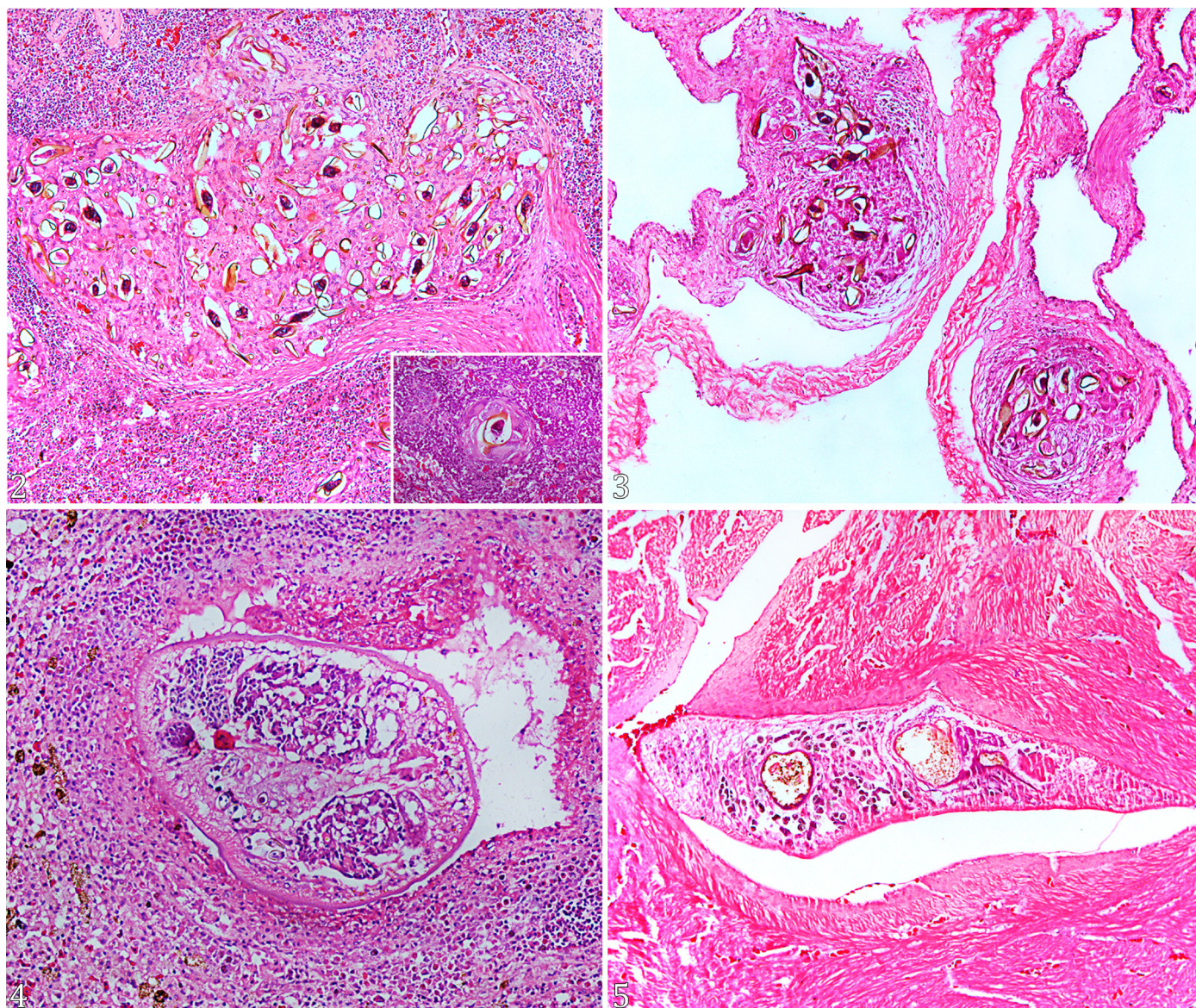


Fig.2-5. Spirorchidae infection in green turtle (*Chelonia mydas*) (2) Eggs of trematodes Spirorchidae are characterized as oval structures with a refracting yellow wall and often fragmented, containing basophilic, round punctate aggregates (miracidia) in the spleen of the green turtle. Insertion demonstrates eggs within giant cells. HE, obj.20x. (3) Trematode eggs in the lung of *C. mydas*. HE, obj.20x. (4) Adult trematode dissecting sinusoids in *C. mydas* liver. HE, obj.20x. (5) Adult trematode dissecting myocardial fibers in the heart of *C. mydas*. HE, obj.20x.

appropriate necropsy, bacteriological, parasitological, and histological examinations should be considered in sea turtles diagnoses (Chapman 2019). Santoro et al. (2007) concluded that the injuries caused by spirorchids had little impact on the health of the adult turtles, and such injuries could only affect the juvenile turtle community, contributing to their death, as young turtles do not have good acquired immunity. Innis et al. (2009) described the severity of lesions diagnosed in 28 tortoises (*Lepidochelys kempii*) from Massachusetts. They pointed out that mild lesions caused by parasites alone were insufficient to cause the turtles' death, suggesting additional factors, such as metabolic injuries, hypothermia, and drowning. On the one hand, the inference of the trematode's clinical importance was based on the pronounced multisystemic lesions and emaciation in this study. On the other hand, because the free-ranging turtles were naturally infected, it was not possible to determine the clinical evolution or make inferences regarding the causes of death. This study provides insight into the variety of pathologic findings that may be found in stranded green turtles. The results provide relevant data that may contribute to rehabilitation wildlife clinics.

In sea turtles, the definitive diagnosis of spirorchidiasis in tissues occurs through histopathology (Wolke et al. 1982, Gordon et al. 1998, Jerdy et al. 2023). In this study, 89% of the necropsied turtles presented parasitosis by trematodes morphologically compatible with the Spirorchidae family. Werneck & Silva (2015) found a prevalence of 50.7% in *C. mydas* parasitized by Spirorchidae trematodes in Ubatuba, on the coast of São Paulo. Binoti et al. (2016) reported the occurrence of trematode eggs mainly in the spleen and lungs and sometimes within multinucleated giant cells by histopathological examination. In the occasional sampling of this work (turtles found stranded or dead), it was also possible to observe that the lesions caused by the adult trematodes and their eggs are systemic, granulomatous, containing numerous multinucleated giant cells. Similar findings were observed by Santoro et al. (2007) in a study carried out with 47 adult green turtles in Costa Rica. They found that lesions associated with Spirorchidae parasites contained acute and

chronic inflammation, giant cells, and lymphocytic infiltrate surrounded by fibrosis.

The life cycle of spirorchid species in sea turtles has not been completely elucidated, but it has already been described in freshwater hosts. Adults infect blood vessels, and macroscopically they can be observed in the cardiac chambers and distal aorta (Flint et al. 2010). According to Glazebrook et al. (1989), the lesions develop due to eggs in the blood circulation of several organs, generating a marked inflammatory response, most of the time, granulomatous with multinucleated giant cells, as observed in this study. Granuloma formation responds to infection by various etiologic agents, including bacteria, parasites, and fungi (Montali 1988). In this population sampled by necropsy, granulomas with eggs or adult trematodes were evidenced mainly in the esophagus, stomach, small intestine, spleen, and lung of the studied individuals. Infection with these trematodes can favor the development of secondary bacterial diseases (Wolke et al. 1982, Gordon et al. 1998, Cordero-Tapia et al. 2004). Raidal et al. (1998) isolated *E. coli*, *Salmonella* spp., *Citrobacter freundii*, and *Moraxella* spp. from wild green turtles with clinical signs of spirorchid cardiovascular flukes infection.

In addition, Binoti et al. (2016) observed that entanglements caused by fishing nets are the most significant cause of death in green turtles, followed by parasitosis on the coast of Espírito Santo. The histological lesions associated with these parasites and their eggs include granulomatous mural endocarditis, hepatitis, cystitis, myositis, enteritis, splenitis, nephritis, thrombosis, and infarctions (Flint et al. 2010). The histological lesions of the parasites in turtles in the present study showed that the distribution of eggs between the organs was similar. However, the esophagus, stomach, spleen, and small intestine were the organs that presented the highest amount of adult parasites and their eggs. Studies are needed to understand the importance of spirorchidiasis on the coast of Brazil compared to other causes of turtle mortality.

CONCLUSIONS

We observed a high frequency of spirorchid infections in green turtles (*Chelonia mydas*) on the coast of Rio de Janeiro from May to December 2021.

Granulomatous lesions, mainly in the spleen and lungs, were observed. Spirorchid eggs were found in the lesions of the majority of turtles. The frequency of finding adult parasites and their eggs was six times lesser than the finding of only eggs.

Injuries caused only by the trematodes occurred in two-thirds of the cases of this necropsy sampling, and one-third had other injuries that contributed to the death. Further studies are needed on the biological cycle and the pathogenesis of trematodes from the Spirorchidae family in sea turtles.

Acknowledgments. - This study was financed in part by the "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior" (CAPES), Brazil - Finance Code 001. The authors are grateful to Niriele B. Rodrigues from UFRuralRJ for the elaboration of the map.

Conflict of interest statement. - The authors declare no conflicts of interest.

Table 2. Anatomical distribution of adult parasites and eggs in *Chelonia mydas* inflammatory lesions

Organ	Eggs %	Adults %
Spleen	81	1.3
Small intestine	63	3.2
Adrenal	62	-
Pancreas	60	-
Lung	59	1.3
Stomach	55	8
kidney	53	1.4
Bladder	53	-
Heart	47	1.2
Large intestine	43	-
Thyroid	42	-
Buccal papilla	35	-
Liver	34	1.3
Esophagus	24	12
Trachea	5	-

REFERENCES

- Aguirre A.A., Spraker T.R., Balaz G.H. & Zimmerman B. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from Hawaiian Islands. J. Wildl. Dis. 34(1):91-98. <https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-34.1.91> <PMid:9476230>
- Awabdi D.R., Siciliano S. & Di Benedito A.P.M. 2013. First information about the stomach contents of juvenile green turtles, *Chelonia mydas*, in Rio de Janeiro, southeastern Brazil. Mar. Biodivers. Rec. 6:e5. <https://dx.doi.org/10.1017/S1755267212001029>
- Binoti E., Gomes M.C., De Calais Junior A., Werneck M.R., Martins I.V.F. & Boeloni J.N. 2016. Helminth fauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the south of the state of Espírito Santo and description of tissue injury. Helminthologia 53(2):195-199. <https://dx.doi.org/10.1515/helmin-2016-0012>
- Bjorndal K.A. 1996. Foraging ecology and nutrition of sea turtles, p.199-231. In: Lutz P.L. & Musick J.A. (Eds), The Biology of Sea Turtles. Vol.1. CRC Press, Boca Raton.
- Brasil 2018. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Vol. IV. Répteis. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Ministério do Meio Ambiente, Brasília, DF. 252p.
- Chapman P.A., Cribb T.H., Flint M., Traub R.J., Blair D., Kyaw-Tanner M.T. & Mills P.C. 2019. Spirorchidiasis in sea turtles: the current state of knowledge. Dis. Aquat. Organ. 133(3):217-245. <https://dx.doi.org/10.3354/dao03348> <PMid:31187736>
- Chapman P.A., Owen H., Flint M., Magalhães R.J.S., Traub R.J., Cribb T.H., Kyaw-Tanner M.T. & Mills P.C. 2017. Molecular epidemiology and pathology of Spirorchiid infection in green sea turtles (*Chelonia mydas*). Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 6(1):39-47. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.03.001> <PMid:28331802>
- Chen H., Kuo R.-J., Chang T.-C., Hus C.-K., Bray R.A. & Cheng I.-J. 2012. Fluke (Spirorchidae) infections in sea turtles stranded on Taiwan: prevalence and pathology. J. Parasitol. 98(2):437-439. <https://dx.doi.org/10.1645/GE-2875.1> <PMid:22032290>
- Cordero-Tapia A.A., Garnder S.C., Arellano-Blanco J. & Inohye-Rivera R.B. 2004. *Learedius leardi* infection in black turtles (*Chelonia mydas agassizii*), Baja California Sur, Mexico. J. Parasitol. 90(3):645-647. <https://dx.doi.org/10.1645/GE-165R> <PMid:15270115>
- Cremer M.J., Souza T.F., Domiciano I.G., Goldberg D.W. & Wanderlinde J. 2020. Sea turtles on the north coast of Santa Catarina and Babitonga Bay. Revta CEPISUL, Biodiversidade Conserv. Mar., Itajaí, 9:eb2020002. <https://dx.doi.org/10.37002/revistacepsul.vol9.675eb2020002>
- Cubas P.H. & Baptistotte C. 2006. *Chelonia* (Tartaruga, Cágado, Jabuti), p.86-119. In: Cubas P.H., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds.), Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária. 1ª ed. Roca, São Paulo.
- Esch G.W., Marcogliese D.J., Goater M.T. & Jacobson C.K. 1990. Aspects of the evolution and ecology of helminth parasites in turtles: a review, p.299-307. In: Gibbons J.W. (Ed.), Life History and Ecology of Slider Turtle. Vol.23. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Flint M., Patterson-Kane J.C., Limpus C.J. & Mills P.C. 2010. Health surveillance of stranded green turtles in Southern queensland, Australia (2006-2009): an epidemiological analysis of causes of disease and mortality. Ecohealth 7:135-145. <https://dx.doi.org/10.1007/s10393-010-0300-7> <PMid:20232226>
- George R.H. 1997. Health Problems and diseases of sea turtles, p.363-385. In: Lutz P.L. & Musick J.A. (Eds), The Biology of Sea Turtles. Vol.1 CRC Press, Boca Raton.
- Glazebrook J.S., Campbell R.S. & Blair D. 1989. Studies on cardiovascular fluke (Digenea: Spirorchidae) infections in sea turtles from the Great Barrier Reef, Queensland, Australia. J. Comp. Pathol. 101(3):231-250. <https://dx.doi.org/10.1016/0021-9975(89)90033-9> <PMid:2584443>
- Gordon A.N., Kelly W.R. & Cribb T.H. 1998. Lesions caused by cardiovascular flukes (Digenea: Spirorchidae) in stranded green turtles (*Chelonia mydas*). Vet. Pathol. 35(1):21-30. <https://dx.doi.org/10.1177/030098589803500102> <PMid:9545132>
- Greiner C. & Mader D.R. 2006. Parasitology, p.343-345. In: Mader D.R. (Ed.), Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. Elsevier, Missouri.
- Innis C., Nyaoke A.C., Williams 3rd C.R., Dunnigan B., Merigo C., Woodward D.L., Weber E.S. & Frasca Jr. S. 2009. Pathologic and parasitologic findings of cold-stunned Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempi*) stranded on cape cod, Massachusetts, 2001-2006. J. Wildl. Dis. 45(3):594-610. <https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-45.3.594> <PMid:19617470>
- Jerdy H., Barreto B., Werneck M., Hauser-Davis R.A., Baldassin P., Gabriel P., Souza A.L.M., Silva M.A., Felix A., Rodrigues R.R., Bianchi M., Barbosa C., Vieira G.G., Ribeiro L., Petronetto B., Souza A., Silveira R.L. & Carvalho E. 2023. Serious lesions in green turtles (*Chelonia mydas*) afflicted by fatal spirorchidiasis found stranded in south and southeastern Brazil. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 20:73-78. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.01.004> <PMid:36691453>
- Marchiori E., Negrisola E., Cassini R., Garofalo L., Poppi L., Tessarin C. & Marcer F. 2017. Cardiovascular flukes (Trematoda: Spirorchidae) in *Caretta caretta* Linnaeus, 1758 from the Mediterranean Sea. Parasit. Vectors 10:467. <https://dx.doi.org/10.1186/s13071-017-2396-x> <PMid:29017541>
- Marcovaldi M.Â. & Marcovaldi G.G. 1999. Marine turtles of Brazil: The history and structure of projeto TAMAR-IBAMA. Biol. Conserv. 91(1):35-41. <https://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00043-9>
- Montali R.J. 1988. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds and mammals). J. Comp. Pathol. 99(1):1-26. <https://dx.doi.org/10.1016/0021-9975(88)90101-6> <PMid:3062051>
- Pritchard P.C.H. & Mortimer J.A. 1999. Taxonomy, external morphology, and species identification, p.21-38. In: Eckert K.L., Bjorndal K.A., Abreu-Grobois F.A. & Donnelly M. (Eds), Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No.4, Oviedo, Florida.
- Raidal S.R., Ohara M., Hobbs R.P. & Prince R.I.T. 1998. Gram-negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green sea turtles (*Chelonia mydas*). Aust. Vet. J. 76(6):415-417. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1998.tb12392.x> <PMid:9673767>
- Reis E.C. & Goldberg D.W. 2017. Biologia, ecologia e conservação de tartarugas marinhas, p.63-89. In: Reis E.C. & Curbelo-Fernandez M.P. (Eds), Mamíferos, quelônios e aves: caracterização ambiental regional da Bacia de Campos, Atlântico Sudoeste. Vol.7. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Santoro M., Greiner E.C., Morales J.A. & Rodriguez-Ortiz B. 2006. Community of digenetic trematodes in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) in Tortuguero National Park, Costa Rica. J. Parasitol. 92(6):1202-1206. <https://dx.doi.org/10.1645/GE-866R.1> <PMid:17304795>
- Santoro M., Morais J.A. & Rodríguez-Ortiz B. 2007. Spirorchidiosis (Digenea: Spirorchidae) and lesions associated with parasites in Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*). Vet. Rec. 161(14):482-486. <https://dx.doi.org/10.1136/vr.161.14.482> <PMid:17921440>
- Seminoff J.A. 2004. *Chelonia mydas*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T4615A11037468, Southwest Fisheries Science Center, U.S. Available at <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T4615A11037468.en> Accessed on Sep. 15, 2022.
- Stacy B.A., Foley A.M., Greiner E., Herbst L.H., Bolten A., Klein P., Manire C.A. & Jacobson E.R. 2010. Spirorchidiasis in stranded loggerhead *Caretta caretta* and green turtles *Chelonia mydas* in Florida (USA): host pathology and significance. Dis. Aquat. Org. 89(3):237-259. <https://dx.doi.org/10.3354/dao02195> <PMid:20481091>
- Tagliolatto A.B., Giffoni B., Guimarães S., Godfrey M.H. & Monteiro-Neto C. 2019. Incidental capture and mortality of sea turtles in the industrial double-rig-bottom trawl fishery in south-eastern Brazil. Aquatic. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 30(2):351-363. <https://dx.doi.org/10.1002/aqc.3252>
- Werneck M.R. & Silva R.J. 2015. Helminth parasites of juvenile green turtles *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. J. Parasitol. 101(6):713-716. <https://dx.doi.org/10.1645/15-780> <PMid:26312398>
- Werneck M.R., Gallo B.M.G. & Silva R.J. 2008. Spirorchids (Digenea: Spirorchidae) infecting a hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus 1758) from Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60(3):663-666. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000300021>
- Wolke R.E., Brooks D.R. & George A. 1982. Spirorchidiasis in loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*): Pathol. J. Wildl. Dis. 18(2):175-185. <https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-18.2.175> <PMid:7097882>