

Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em manatí amazônico (*Trichechus inunguis*, Natterer, 1883)

João Carlos Gomes Borges^{1*}
Leucio Câmara Alves²
Danielle dos Santos Lima³
Fábia de Oliveira Luna⁴
Carla Verônica Carrasco Aguilar⁵
Jociery Einhardt Vergara-Parente¹
Maria Aparecida da Glória Faustino²
Ana Maria Alves Lima¹
Miriam Marmontel³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, UFRPE

²Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, UFRPE

³Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá

⁴Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis – IBAMA

⁵Conselho Nacional dos Seringueiros (CNS)

*Autor para correspondência

R. Manoel Andrade, 2460, Coroa do Meio, 49035-530, Aracaju, Sergipe
jcgborges@hotmail.com

Submetido em 07/03/2007

Aceito para publicação em 05/07/2007

Resumo

O protozoário apicomplexa *Cryptosporidium* infecta vários mamíferos, incluindo espécies terrestres e aquáticas. Na epidemiologia desta parasitose, a ingestão de água e/ou de alimentos contaminados com oocistos consiste no principal mecanismo de transmissão para animais susceptíveis. Entre os Sirênios, a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. foi relatada em dugongos (*Dugong dugon*) e peixes-boi marinhos (*Trichechus manatus manatus*). O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em peixes-boi amazônicos. Para isso, foram coletadas amostras fecais provenientes de dez peixes-boi amazônicos nativos, dois espécimes mantidos em cativeiro e 103 amostras fecais sobrenadantes. As amostras foram processadas pelo método de sedimentação em formol-éter e corados pela técnica de Kinyoun para determinar a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Após as análises, as amostras positivas foram submetidas à confirmação pelo Teste de Imunofluorescência Direta. Os resultados mostraram que 4.34% (5/115) das amostras foram positivas. Este é o primeiro relato de *Cryptosporidium* spp. em peixes-boi amazônicos.

Unitermos: Sirênios, coccídio, água, Amazônia

Abstract

Ocurrence of *Cryptosporidium* spp. in Amazonian manatees (*Trichechus inunguis*, Natterer, 1883). The apicomplexa protozoa *Cryptosporidium* infects several mammals, including terrestrial and aquatic species. In the epidemiology of this infection, the ingestion of water and/or food contaminated with oocysts comprises the main

mechanism of transmission to susceptible animals. Among the Sirenians, the occurrence of this coccidium has been reported in dugongs (*Dugong dugon*) and Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*). The present study was conducted with the aim of verifying the occurrence of *Cryptosporidium* spp. in Amazonian manatee. For this purpose, fecal samples were collected from ten free-ranging Amazonian manatees, two specimens in captivity, and 103 supernatants fecal samples. The samples were processed by the sedimentation method in formol-ether and Kinyoun stain technique for the presence of *Cryptosporidium* spp.. The positive samples were then submitted to Direct Immunofluorescence Test. The results showed 4.34% (05/115) of positive samples. This is the first report of *Cryptosporidium* spp. in the Amazonian manatee.

Key words: Sirenians, coccidium, water, Amazonia

Introducción

El manatí amazónico (*Trichechus inunguis*) habita el río Amazonas y sus afluentes, inclusive en la desembocadura del Atlántico y en las inmediaciones de la Isla del Marajó (Luna et al., 2002), encontrándose en la categoría “vulnerable” por la IUCN (2006).

Se vienen realizando diversas investigaciones para la conservación de estos animales. En este sentido, las enfermedades parasitarias asumen un papel importante en la manutención de estos especímenes en la naturaleza. Entre estos agentes destaca el *Cryptosporidium* spp., que ha sido descrito en células epiteliales del tracto digestivo del dugongo, *Dugong dugon* (Hill et al., 1997) y en muestras fecales de manatí antillano, *Trichechus manatus manatus* (Marcondes et al., 2002; Borges et al., 2005).

Este protozoo presenta distribución mundial y su transmisión se ha relacionado con la ingestión de agua y alimentos contaminados con materia fecal (Current y Garcia, 1991) como se ha observado en las focas de la Groenlandia (*Pagophilus groenlandicus*) infectadas con *Cryptosporidium parvum* (Fayer y Lindsay, 2004).

De esta forma, la diseminación de la infección entre mamíferos acuáticos puede ser facilitada por factores relacionados con la intensidad de la contaminación ambiental y la supervivencia de los ooquistes por las condiciones del medio (Robertson et al., 1992; Tsushima et al., 2003; Carey et al., 2004), donde pueden permanecer viables hasta seis meses (Fayer y Lindsay, 2004).

Dependiendo de las especies afectadas, se han observado signos clínicos como pérdida de peso, diarrea, molestia abdominal y letargo en manatí antillano (Marcondes et al., 2002; Borges, et al., 2005), además

de la muerte en dugongo con infección natural por *Cryptosporidium* spp. (Hill et al., 1997).

Este trabajo tiene como objetivo verificar la ocurrencia de *Cryptosporidium* spp. en manatíes amazónicos (*Trichechus inunguis*) mantenidos cautivos y en ambiente natural.

Material y Métodos

La recogida de las muestras fecales se llevó a cabo durante las expediciones realizadas en la época vaciante del lago Amanã (02°26'34" Sur y 064°47'24" Oeste), en agosto de 2005 y en la época creciente (noviembre y diciembre de 2005) en actividades de marcación con radio-transmisores en manatíes nativos, en la Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã-RDSA, en la Amazonía Occidental Brasileña. Además se recogieron muestras de los manatíes amazónicos mantenidos en cautiverio en el Conselho Nacional de Seringueiros - CNS durante el mismo año en Alter do Chão (01°57'16" Sur y 54°44'22.9" Oeste), en el Estado de Pará, Brasil.

Las muestras fecales se obtuvieron después de la contención física de diez animales nativos, tanto jóvenes como adultos, y de dos crías en cautividad, posibilitando a recogida de heces directamente de la ampolla rectal, además de 103 muestras fecales sobrenadantes encontradas en áreas de alimentación de la especie, durante las incursiones realizadas en el lago Amanã, observándose, después de la recogida de las heces, el color, el olor y la consistencia del material fecal. Con motivo de la biometría, todos los animales fueron sometidos a una evaluación clínica previa.

Todo el material recogido fue acondicionado en frascos, debidamente identificados, conteniendo una

solución de alcohol, formol, ácido acético glacial y agua destilada (AFA) y llevado al Laboratorio de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Las muestras fueron analizadas por duplicado, a través de sedimentación por el formol-éter con posterior preparación de los barridos y coloración a través de la técnica de Kinyoun (Brasil, 1996), para la identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Las muestras positivas fueron sometidas al test de inmunofluorescencia directa, según las recomendaciones del fabricante del Kit Merifluor (Meridian Bioscience Diagnostics, Cincinnati, Ohio).

Resultados y Discusión

Se observaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en el 20% (02/10) y en el 2,9% (03/103), respectivamente, del material proveniente de manatíes nativos y de las muestras fecales sobrenadantes, totalizando un 4,34% (05/115) de muestras positivas. Con las técnicas utilizadas, no se identificaron otros parásitos intestinales, además de este protozooario, entre las muestras analizadas.

Con los resultados obtenidos, se puede constatar la presencia de *Cryptosporidium* spp., en el ambiente acuático amazónico. La criptosporidiosis en Sirénidos ha sido informada a través de exámenes parasitológicos en manatíes antillanos, *Trichechus manatus manatus* (Marcondes et al., 2002; Borges, et al., 2005) del litoral del nordeste brasileño e histopatológicos en dugongos, *Dugong dugon* en la región costera de Queensland, Australia (Hill et al., 1997). En lo que concierne a otras especies de mamíferos acuáticos, la infección por este coccidio fue diagnosticada en leones-marinos de California, *Zalophus californianus* (Deng et al., 2000), foca-ocelada (*Phoca hispida*), ballena de Groenlandia (*Balaena mysticetus*) y ballena-franca del norte, *Eubalaena glacialis* (Hughes-Hanks et al., 2005).

Los estudios realizados anteriormente informando de la presencia de *Cryptosporidium* spp. en mamíferos acuáticos, demostraron que la infección por este coccidio era más crítica entre poblaciones de ballena-franca del norte, foca-ocelada y ballena de Groenlandia, las cuales presentaron una prevalencia del 24,5%, 22,6% y 5,1%, respectivamente (Hughes-Hanks et al., 2005).

La identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. puede realizarse por diferentes métodos (Widmer, 1998), donde se constataron porcentajes elevados de presencia del parásito a través de la coloración de Kinyoun, siendo ésta utilizada en diversas investigaciones como único método de diagnóstico (Ali et al., 2004; Luna et al., 2004). Por esta razón, el método de Kinyoun se utilizó en este estudio con los manatíes amazónicos como técnica de cribaje, mientras que el test de inmunofluorescencia directa, se usó para la confirmación del diagnóstico.

La evaluación clínica de los animales reveló la presencia de un cuadro diarreico sólo en una cría mantenida cautiva. Los demás animales no presentaron ninguna manifestación clínica y las muestras presentaron consistencia, color y olor característicos de la especie.

De esta forma, el número reducido de muestras fecales provenientes de crías, siendo esta categoría de edad la más afectada por la acción del *Cryptosporidium* spp. (Carey et al., 2004) y también la baja contaminación del lago Amanã, pueden ser responsables del reducido número de muestras positivas de este estudio. Además de esto, las muestras analizadas fueron obtenidas de forma casual, no siendo dirigidas hacia animales con cuadros diarreicos o que presentasen cualquier signo clínico sugestivo de criptosporidiasis, según algunos estudios realizados con otras especies de mamíferos (García y Lima, 1994; Garlipp et al., 1995).

Según lo informado por Queiroz (2006), aún existe una cierta integridad de los recursos ambientales en la Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã, por otro lado, las limitaciones sanitarias de las comunidades, liberación de desechos en los ríos por los barcos de la región, además de aquellos de origen animal que fluyen para los igarapés y lagos, observados durante la recogida de material, pueden haber sido responsables de la contaminación del ambiente acuático y consecuentemente la infección de los animales.

De esta manera, la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. provenientes de animales infectados en estos recursos hídricos aumenta la preocupación con el ciclo de transmisión entre los Sirénidos, particularmente, manatíes amazónicos, además

de la posibilidad de transmisión para el hombre tanto en momentos de recreo, como en el inadecuado consumo de agua por las poblaciones ribereñas, según lo sugerido por Baraldi et al. (1999) y Moura et al. (2006).

Este es el primer informe de *Cryptosporidium* spp. afectando al manatí amazónico (*Trichechus inunguis*) y su constatación constituye una manera indirecta de evaluar la calidad de los recursos hídricos y su implicación en la salud pública.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Jean Carlos Ramos da Silva, a Dra. Erilane Lima de Castro Machado y a los revisores anónimos por los informes en el manuscrito; a Cristina Roiz, Victoria Holguin y Rinaldo Mota por la traducción del artículo; al Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE, a FACEPE y a Petrobras, a través de patrocinio del proyecto Conservación de Matas Alagadas de Mamirauá. Las actividades se desarrollaron con la Licença N° 011-05/CMA/IBAMA.

Referencias

- Ali, M. A.; Al-Herrawy, A. Z.; El-Hawaary. 2004. Detection of enteric viruses, Giardia and *Cryptosporidium* spp. in two different types of drinking water treatment facilities. **Water Research**, **38**: 3931-3939.
- Baraldi, S. R.; Marques, E. G. L.; Dias, R. M. D. S. 1999. Ocorrência de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli* na região de Campinas/SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, **58** (1): 97-103.
- Borges, J. C. G.; Lima, E. C.; Alves, L. C.; Vergara-Parente, J. E.; Faustino, M. A. G.; Lima, A. M. A.; Lima, R. P. 2005. *Cryptosporidium* spp. em peixe-boi marinho (*Trichechus manatus manatus*) cativo no Centro Mamíferos Aquáticos, Ilha de Itamaracá, no estado de Pernambuco. **Resumos do 1º Congresso Nacional de Saúde Pública Veterinária**, Guarapari, Brasil, p.35.
- Brasil. 1996. **Infecções oportunistas por parasitas em AIDS: técnicas de diagnóstico**. Ministério da Saúde, Brasília, Brasil, 27pp.
- Carey, C. M.; Lee, H.; Trevors, J. T. 2004. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. **Water Research**, **38**: 818-862.
- Current, W. L.; Garcia, L. S. 1991. Cryptosporidiosis. **Clinical Microbiology Review**, **4**: 325-358.
- Deng, M.; Peterson, R. P.; Cliver, D. O. 2000. First findings of *Cryptosporidium* and *Giardia* in California sea lions (*Zalophus californianus*). **Journal of Parasitology**, **86**: 490-494.
- Fayer, R.; Lindsay, D. 2004. Zoonotic protozoa in the marine environment: a threat to aquatic mammals and public health. **Veterinary Parasitology**, **125**: 131-135.
- Garcia, A. M.; Lima, D. 1994. Prevalência de *Cryptosporidium* spp em rebanhos leiteiros de Pará de Minas (MG) e sua relação com praticas de manejo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, **3** (1): 23-28.
- Garlipp, C. R.; Bottini, P. V.; Teixeira, A. T. L. S. 1995. A prevalência de diagnósticos laboratoriais de criptosporidioses humanas e outros coccídeos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **37** (5): 467-469.
- Hill, B. D.; Fraser, I. R.; Prior, H. C. 1997. *Cryptosporidium* infection in a dugong (*Dugong dugon*). **Australia Veterinary Journal**, **75** (9): 670-671.
- Hughes-Hanks, J. M.; Rickard, L. G.; Panuska, C.; Saucier, J. R.; O'Hara, T. M.; Dehn, L.; Rolland, M. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. In Five Marine Species. **Journal of Parasitology**, **91** (5): 1255-1228.
- Lima, E. C.; Melo, V. S. P.; Brito, F. L. C.; Alves, L. C.; Stamford, T. L. M. 2004. Avaliação de diferentes técnicas de coloração histoquímica na identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de água e leite. **Revista Brasileira de Ciencia Veterinária**, **11** (1): 21-26.
- IUCN- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. 2006. **The IUCN red list of threatened species**. Available in: <<http://www.iucnredlist.org>>. Accessed at 19 November 2006.
- Luna, F. O.; Lima, R. P.; Vianna, J. de A.; Castro, D. F. 2002. Distribuição do Peixe-Boi Amazônico (*Trichechus inunguis*) no Estado do Amazonas, Brasil. **Anais da 10ª Reunião de Trabalho de Especialistas em Mamíferos Acuáticos de América del Sur y 4º Congreso de da Sociedad Latinoamericana de Especialistas en Mamíferos Acuáticos**, Valdivia, Chile, p.99.
- Marcondes, M. C. C.; Brito, F. L. C.; Borges, J. C. G.; Lima, E. C.; Alves, L. C.; Lima, R. P. 2002. *Cryptosporidium* sp in Antillean Manatees (*Trichechus manatus manatus*) in natural captivity, Paraíba state, Brazil. **Florida Marine Mammal Health Conference**. Available in: <<http://www.vetmed.utl.edu>>. Accessed at 29 July 2002.
- Moura, E. A. F.; Nascimento, A. C.; Souza, D. S.; Bezerra, M. M.; Farias, P.; Brito, O. 2006. **Água de beber, água de tomar banho: diversidades sociais do consumo da água pelos moradores da várzea de Mamirauá**. Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br>>. Acesso em 10 de junho de 2006.
- Queiroz, H. 2006. **Aspectos Ecológicos da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã**. Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br>>. Acesso em 10 de junho de 2006.
- Robertson, L. J.; Campbell, A. T.; Smith, H. V. 1992. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under variouns environmental pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, **58**: 3494-3500.
- Tsushima, Y.; Karanis, P.; Kamada, T.; Xuan, X.; Makala, L. H. C.; Tohya, Y.; Akashi, H.; Nagasawa, H. 2003. Viability and Infectivity of *Cryptosporidium parvum* Oocysts detected in river water in Hokkaido, Japan. **The Journal Veterinary Medical Science**, **65** (5): 585-589.
- Widmer, G. 1998. Genetic heterogeneity and PCR detection of *Cryptosporidium parvum*. **Advanced Parasitology**, **40**: 223-239.