

ACHADO PARASITOLÓGICO DE *Haemoproteus spp.* EM MOCHO-DO-DIABO (*Asio stygius*): RELATO DE CASO

Pietra Firmino Lissone, Júlia Vitória Messias Ferreira, Flora Nogueira Matos, Rayres Soares Gracia, Flavia Villaça Moraes, Matheus Salgado de Oliveira.

Universidade do Vale do Paraíba, Faculdade de Ciências da Saúde - Curso de Medicina Veterinária/
Faculdade de Educação e Artes - Núcleo de Pesquisa de Animais Silvestres. Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos, SP, Brasil, pietra.lissone@gmail.com, matheus.salgado@univap.br.

Resumo

A *Asio stygius* é uma das espécies de coruja da família *Strigidae* e o Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) é um local onde animais silvestres resgatados são enviados para serem reabilitados e, se possível, serem reintroduzidos na natureza. O *Haemoproteus spp.*, também citado como pseudomalária, acomete aves e répteis, não apresentando risco zoonótico. Este estudo visou relatar o achado parasitológico do hemoparasita *Haemoproteus spp.* em *A. stygius*, identificado em amostra sanguínea no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias do CRAS da UNIVAP. Os índices hematológicos da ave analisada revelaram: dosagem de hemoglobina 11,9 g/dL, hematócrito 37%, proteínas plasmáticas totais (PPT) 4,6 g/dL, trombócitos: 81.900/mm³, a avaliação da série vermelha apresentou-se normocítica e normocrômica, heterófilos 65%, eosinófilos 0%, basófilos 0%, linfócitos 31%, monócitos 4%. Conclui-se que as análises hematológicas são necessárias para a saúde da fauna silvestre e devem ser realizadas de forma rotineira para prevenir o alastramento de hemoparasitas como o *Haemoproteus spp.*

Palavras-chave: Hemoparasitose. *Strigidae*. *Haemosporida*.

Área do Conhecimento: Ciências da saúde. Medicina Veterinária.

Introdução

A *Asio stygius*, também chamada de mocho-do-diabo, é uma das espécies de coruja da família *Strigidae* com hábitos estritamente noturnos, sendo assim, de difícil observação. A espécie ocorre em diversos países do continente americano. Ela apresenta ampla distribuição pelo território brasileiro, sendo mais comum nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que configuram os estados onde predomina o bioma da Mata Atlântica. A maioria das espécies de corujas que ocorrem nestes estados é estritamente florestal (Santos, 2013), portanto, esta espécie é encontrada em áreas urbanas bem arborizadas e não muito abertas. De acordo com a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas publicada anteriormente pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), de 2000 a 2004 a espécie possuía risco de ameaça desconhecido, deste período em diante até os dias de hoje, é classificada como pouco preocupante pela mesma instituição (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022).

O Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) em São José dos Campos é um local onde animais silvestres resgatados são enviados para serem reabilitados e, se possível, serem reintroduzidos na natureza. O estabelecimento abriga o Laboratório de Análises Clínicas de Animais Silvestres do CRAS (LabCRAS), que é responsável por realizar exames laboratoriais e diagnósticos, a fim de auxiliar no diagnóstico veterinário para assim dar caminho para o tratamento destes animais. As análises hematológicas são necessárias em empreendimentos de conservação de fauna silvestre e devem ser, preferencialmente, realizadas de forma rotineira, pois contribuem para o diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças em animais selvagens (Sivieri *et al.*, 2023).

Pouco se sabe sobre a diversidade de hemoparasitas de aves na Mata Atlântica do Sudeste do Brasil. Além disso, poucos estudos foram conduzidos para investigar a prevalência de hemosporídeos em aves sob cuidados humanos (Clark *et al.*, 2014). O *Haemoproteus spp.* é um parasita do sangue

pertencente à classe dos hemosporídeos. Os hemosporídeos são um grupo filogeneticamente distinto dentro do grupo de hemoprotozoários, sendo conhecidos e estudados principalmente por incluírem os agentes etiológicos da malária, doença de grande importância na saúde pública (Zwarg, 2009). Este parasita é frequentemente comparado a outros como o *Plasmodium spp.*, o *Leucocytozoon spp.* e o *Fallisia spp.*, por sua proximidade taxonômica (são pertencentes à Ordem *Haemosporida*). Também citado como pseudomalária, o *Haemoproteus spp.* acomete aves e répteis, não apresentando risco zoonótico (Vanstreels, 2014). Os hemosporídeos diferem nas suas estratégias de invasão, o *Plasmodium spp.*, é conhecido por infectar uma variedade de espécies sendo considerado um parasita generalista, enquanto *Haemoproteus spp.* e o *Leucocytozoon spp.* possuem hospedeiros específicos (Olsson-pons *et al.*, 2015). A infecção pelo hemoparasita *Haemoproteus* impacta sob a saúde de seus hospedeiros (Léfèvre *et al.*, 2008), e pode ser influenciada por três fatores: a presença de um vetor, de uma ave hospedeira e do estado imunológico do hospedeiro (Esparza *et al.*, 2004). Na maioria dos casos os animais infectados se mostram assintomáticos, entretanto, quando há sinais clínicos, estes podem ser anemia e hepatomegalia (Springer, 1984; Van Der Heyden, 1996), infecção e destruição de eritrócitos, gerando anemia e anorexia (Olsen, 1984). Em infecções graves podem envolver diferentes fenômenos fisiopatológicos como a anemia, trombocitopenia, inflamação e óbito (Macchi *et al.*, 2013, Cannell *et al.*, 2013). A presença deste hemoparasita em aves sob cuidados humanos pode estar associada a uma maior exposição destes animais aos vetores do protozoário (Tostes *et al.*, 2015; Valkiunas, 2004; Valkiunas *et al.*, 2022). Em rapinantes, estudos apontam que os vetores sejam dípteros hipoboscídeos do gênero *Ornithomyia* e mosquitos do gênero *Culicoides* (Joppert, 2014).

Os casos de hemosporídeos aviários são muito importantes como modelos para o estudo da malária humana, estimulando o desenvolvimento da parasitologia médica (Zwarg, 2009), sendo importante para literatura, ajudando no diagnóstico de outros animais e vigilância de doenças. Desta forma o objetivo do trabalho foi relatar o achado parasitológico de *Haemoproteus spp.* em *Asio stygius* oriunda de vida livre que contraiu uma infecção por *Haemoproteus spp.*, para dessa forma contribuir com o avanço da medicina de animais silvestres.

Metodologia

A amostra sanguínea de coruja *Asio stygius* foi obtida por colheita de sangue realizada pelo corpo clínico de veterinárias do CRAS (Rayres S. Gracia, Flora N. Matos, Cássia G. Ramos) em março de 2024, as amostras foram acondicionadas a 4°C e as análises realizadas em período menor que 24 horas do momento da coleta, sendo encaminhado para o Laboratório de Análises Clínicas de Animais Silvestres do CRAS (LabCRAS) para ser realizada as análises hematológicas, a saber: a) contagem diferencial de leucócitos (%); b) contagem de trombócitos, corrigida em lâmina pelo método de Bárbara H. O'Connor, descrita por Comar e colaboradores (2009); c) dosagem do hematócrito, realizada pela técnica do capilar para microhematocrito, conforme o preconizado por Thrall e colaboradores (2015).

A dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT) foi realizada com refratômetro portátil manual Contec® modelo RZ-126 ATC, em sangue total colhido com anticoagulante. Primeiramente, a amostra foi utilizada para preencher $\frac{3}{4}$ de um tubo capilar para microhematocrito sem aditivos que, posteriormente, foi selado com a utilização de uma chama e colocado em uma centrífuga para tubos capilares CELM® modelo MH, a 5 minutos por 10000 RPM a 12000 RPM. A fração vermelha formada, após a centrifugação, foi utilizada para estimar o hematócrito (%), utilizando tabela de referência específica para análise veterinária. A coluna de plasma formada, após a centrifugação, foi utilizada para dosar a concentração de PPT, preenchendo o refratômetro após rompimento manual do tubo capilar acima da capa flogística, conforme Thrall e colaboradores (2015).

A análise da morfologia dos eritrócitos foi feita de acordo com Reagan e colaboradores (2011), por microscopia óptica com microscópio Olympus® CH30, em lente de aumento de 1000x, para a coloração do esfregaço sanguíneo foi utilizado o método Panótico, com corante hematológico instantâneo. O presente projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) registrado sob protocolo de número A01/CEUA do ano de 2023.

Resultados

O animal foi encontrado no dia 23 de março de 2023 em Caraguatatuba, cidade litorânea do estado de São Paulo, onde foi encontrado com dificuldade de voo, molhado e com lesão no olho direito e asa

esquerda. O animal foi resgatado e recebeu tratamento veterinário, no momento da triagem o animal apresentava um escore corporal magro (ECC 2/5), com sinais de desidratação e mucosas hipocoradas. Após a estabilização, o paciente foi transferido para o CRAS da UNIVAP, onde foram realizados exames complementares e onde residiu até o momento do óbito. Foi realizado um exame hematológico de rotina, no dia 13 de março de 2024 para que o animal pudesse ser transferido para outra instituição, durante o exame físico, constatou-se apenas o escore corporal de 2/5, dessa forma, foi realizado o manejo alimentar do animal, aumentando a quantidade de carne vermelha ofertada, de forma a corrigir a condição de escore corporal baixo. Os índices hematológicos da ave analisada revelaram: dosagem de hemoglobina 11,9 g/dL, hematócrito 37%, PPT 4,6 g/dL, trombócitos: 81.900/mm³, a avaliação da série vermelha apresentou-se normocítica e normocrômica, heterófilos 65%, eosinófilos 0%, basófilos 0%, linfócitos 31%, monócitos 4% (Tabela 1). Na análise microscópica foi detectada a presença do hemoparasito *Haemoproteus spp.* (Figura 1).

Tabela 1 – Achados hematológicos na amostra sanguínea de uma coruja da espécie *Asio stygius*.

Análises hematológicas	
Hemoglobina	11,9 g/dL
Hematócrito	37%
PPT	4,6 g/dL
Trombócitos	81.900/mm ³
Série vermelha	normocítica e normocrômica
Heterófilos	65%
Eosinófilos	0%
Basófilos	0%
Linfócitos	31%
Monócitos	4%

Fonte: Autora, 2024.

Figura 1 – Identificação de hemoparasito *Haemoproteus spp.* em hemácia de uma coruja da espécie *Asio stygius* detectada por microscopia óptica em aumento de 1000x (seta vermelha).



Fonte: Autora, 2024.

No dia 07 de maio de 2024, foi notado que o animal apresentava claudicação. No exame físico constatou-se melhora do escore de condição corporal (ECC 2,5/5), porém o animal apresentava pododermatite ulcerativa em ambos coxins plantares e inflamação tíbio-társica que impossibilitava a ave de se empoleirar devidamente em seu recinto. Foi realizado o tratamento da pododermatite com antibiótico e anti-inflamatórios, porém a ave foi a óbito poucos dias após o início do tratamento, após este tratamento se observou sinais clínicos não específicos como inapetência com regurgitação e letargia.

Durante a necropsia, foi observado lesões ulcerativas com cerca de 1cm de diâmetro nos coxins plantares compatíveis com o diagnóstico clínico de pododermatite ulcerativa bilateral, além de aumento de volume em tecido mole em região metatarso e região plantar de forma bilateral que ao corte foi drenado líquido translúcido com pontos esbranquiçados, indicativos de inflamação generalizada, levando assim ao diagnóstico de choque séptico como causa mortis. O traumatismo do coxim plantar promove uma solução de continuidade que se caracteriza por uma porta de entrada para contaminação secundária da lesão por microrganismos, podendo evoluir para septicemia e óbito (Cooper, 2002). Pela necropsia foi possível observar presença de gordura visceral na cavidade celomática, pulmões já em processo de autólise, presença de vermes cilíndricos em sacos aéreos abdominais caudais, cerca de 0,2ml de líquido em saco pericárdico. Fígado de consistência friável devido possivelmente pelo processo de autólise avançado, alças intestinais ingurgitadas, sugestivo de enterite em todos segmentos intestinais. Rins apresentavam coloração amarela, drenando conteúdo purulento ao corte, sugestivo de pielonefrite.

Discussão

Os casos destas infecções são geralmente subclínicos, no entanto, aves com quadros de estresse e/ou infecções concomitantes podem apresentar sintomatologia grave, como letargia, adipsia, manifestação de dor, penas eriçadas, mucosas pálidas, cabeça caída, olhos fechados, inapetência, regurgitação e óbito. A malária em aves sob cuidados humanos vem sendo identificada como a causa de morte na presença de sinais clínicos como anorexia, depressão, dificuldade respiratória e com parasitemia alta. Os sinais *post-mortem* incluem esplenomegalia, edema pulmonar, hidropericárdio e presença do parasito no sistema retículo-endotelial (Belo, 2007). Estudos que investigaram a ocorrência e parasitemia de hemoparasitos de aves utilizaram como método de diagnóstico o esfregaço sanguíneo (Belo, 2007), o que corrobora com a metodologia empregada no presente trabalho (Figura 1), além disto, é importante ressaltar que não é possível saber se o animal foi resgatado já com o parasita ou se obteve enquanto estava sob cuidados humanos. O animal não demonstrava nenhum sinal clínico específico que indicaria a presença do parasita, portanto, a constatação do hemoparasita foi um achado inesperado, reforçando a necessidade de exames hematológicos rotineiros para identificação e tratamento de hemoparasitoses (Thrall *et al.*, 2015), antes mesmo do início dos sintomas.

Existem poucos relatos disponíveis na literatura especializada envolvendo achados de necropsia de animais infectados pelo *Haemoproteus spp.*, entretanto, há alguns relatos em aves da Ordem Columbiformes (Resende, 2001) e Accipitriformes (Leitão, 2020) que relataram achados como traqueíte hemorrágica, aerossaculite, esplenomegalia, nefromegalia e hepatomegalia com hemorragias que estavam associados a elevada frequência de hemoparasitas, contudo, neste trabalho não foi possível visualizar alterações durante análise macroscópica dos órgãos que seriam sugestivos da infecção do parasita. Este estudo abre caminho para futuras abordagens científicas da infecção por *Haemoproteus spp.* em coruja *Asio stygius*.

Conclusão

As análises hematológicas são essenciais na medicina veterinária, são necessárias para conservação e reintrodução da fauna silvestre para natureza e devem ser realizadas de forma rotineira para auxiliar no diagnóstico e tratamento, além de prevenir o alastramento de hemoparasitas como o *Haemoproteus spp.*, garantindo um acompanhamento adequado da saúde animal.

Referências

BELO, N. DE O. **Ocorrência de *Plasmodium spp.* em aves silvestres da família Psittacidae mantidas em cativeiro no Brasil.** Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. **IUCN Red List of Threatened Species: *Asio stygius*.** Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/22689504/167862135#bibliography>. Acesso em: 30 jul. 2024.

CARVALHO, A. M.; PALUDO, G. R. HEMOSPORÍDEOS AVIÁRIOS – *Plasmodium sp.*, *Haemoproteus sp.* e *Leucocytozoon sp.* Stricto Sensu Editora, cap. 3, p. 49-62, 2021.

CANNELL, B. L. *et al.* The pathology and pathogenicity of a novel *Haemoproteus spp.* infection in wild Little Penguins (*Eudyptula minor*). **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 1-2, p. 74–84, 2013.

CLARK, N. J. *et al.* A review of global diversity in avian haemosporidians (*Plasmodium* and *Haemoproteus*: Haemosporida): new insights from molecular data. **International journal for parasitology**. v. 44, n. 5, 2014.

COOPER, J. E. **Birds of Prey: Health and disease**. Ed. Blackwell, 345p, 2002.

COMAR, S. R.; DANCHURA, H.S.M.; SILVA, P.H. Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]**. v.31, n.6. 2009.

ESPARZA, B.; ABRAÍN, A. M.; MERINO, S.; ORO, D. Immunocompetence and prevalence of haematozoan parasites in two long-lived seabirds. 81(1):40-46. **Ornis Fennica**, 2004.

JOPPERT, A. **Accipitriformes, Falconiformes e Strigiformes (Gaviões, Águias, Falcões e Corujas)**. In: CUBAS, Z., SILVA, J. C., CATÃO-DIAS, J. Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. 2 ed. São Paulo: Roca, p.470-536, 2014.

LEITÃO, M. F. **Molecular characterization of avian malaria hemoparasites in wild birds**. Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Vasco da Gama, Portugal, 2020.

LÉFÈVRE, T. *et al.* Exploiting host compensatory responses: the “must” of manipulation? **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 10, p. 435–439, 1 out. 2008.

MACCHI, B. M. *et al.* Chickens treated with a nitric oxide inhibitor became more resistant to *Plasmodium gallinaceum* infection due to reduced anemia, thrombocytopenia and inflammation. **Veterinary Research**, v. 44, n. 1, p.11, 2013.

OLSEN, O. W. **Order Haemosporida**. In: OLSEN, O.W. Animal parasites – Their life cycles and ecology. 3 ed. Baltimore: University Park Press, p. 132-154, 1984.

OLSSON-PONS, S. *et al.* Differences in host species relationships and biogeographic influences produce contrasting patterns of prevalence, community composition and genetic structure in two genera of avian malaria parasites in southern Melanesia. **Journal of Animal Ecology**, v. 84, n. 4, p. 985-998, 2015.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DENICOLA, D. B. **Atlas de hematologia veterinária: espécies domésticas e não domésticas comuns**. 2ª Edição. Thieme Revinter, 2011.

RESENDE, J. S.; MARTINS, N. R. S.; JORGE, M. A. Surto de malária por *Haemoproteus columbae* em pombos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 361–363, 1 jun. 2001.

SANTOS, W. M. DOS. **Distribuição e abundância de corujas em Mata Atlântica e sua relação com o habitat**. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina- repositório.uel.br, 2013.

SIVIERI, A.; KOKUBUN, H.S.; MORAIS, F.V.; OLIVEIRA, M.S. Análise hematológica de *Pantherophis guttatus* e *Crotalus durissus terrificus* no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres da Universidade do Vale do Paraíba. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**. DOI: 10.51189/conbracib2023/26125. v. 4, nº.2, 2023.

SPRINGER, W. T. **Other blood and tissue protozoa**. In: HOFSTAD, M. S. (Ed.) Diseases of poultry. 8 ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, p. 730-732, 1984.

TOSTES, R. *et al.* *Plasmodium spp.* and *Haemoproteus spp.* infection in birds of the Brazilian Atlantic Forest detected by microscopy and polymerase chain reaction. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 67–74, 2015.

THRALL, M.A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

VALKIUNAS, G. **Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia**. CRC Press, Boca Raton, FL. 946p.1.ed. ISBN-9780429212420. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780203643792>, 2004.

VALKIUNAS, G.; LEZHOVA, T. A. Keys to the avian *Haemoproteus* parasites (Haemosporida, Haemoproteidae). **Malaria jornal**. vol. 21,1 269. 19, 2022.

VAN DER HEYDEN, N. **Hemoparasites**. In Roskopf, W.J., Woerpel, R.W. (Ed). Diseases of cage and aviary birds. 3.ed. Lea & Febiger, Williams & Wilkins, p. 627-62, vol.1, 1996.

VANSTREELS, R. E. T. **Estudo da Malária Aviária e outros hemoparasitas em pinguins na costa atlântica da América do Sul**. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, p. 102-104, 2014.

ZWARG, T. **Ocorrência de Hemosporídeos (Sporozoa: Haemosporida) em Corujinhas-do-mato (*Megascops Choliba*) do Estado de São Paulo**. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Animais Silvestres na Clínica Veterinária Lato Sensu, ANCLIVEPA São Paulo, p. 33-36, 2009.