

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

NICOLE BRAND EDERLI

**NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, *Struthio camelus* LINNAEUS,
1758 E EMAS, *Rhea americana* L., 1758: DIAGNÓSTICO, PATOLOGIA,
TAXONOMIA E ANÁLISE FILOGENÉTICA**

Campos dos Goytacazes, RJ

Março de 2012

NICOLE BRAND EDERLI

**NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, *Struthio camelus* LINNAEUS,
1758 E EMAS, *Rhea americana* L., 1758: DIAGNÓSTICO, PATOLOGIA,
TAXONOMIA E ANÁLISE FILOGENÉTICA**

TESE

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração em Sanidade Animal.

Orientador: Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira

Coorientador: Scott Lyell Gardner

Campos dos Goytacazes, RJ

Março de 2012

NICOLE BRAND EDERLI

**NEMATÓIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758
E EMAS, *Rhea americana* L., 1758: DIAGNÓSTICO, PATOLOGIA, TAXONOMIA
E ANÁLISE FILOGENÉTICA**

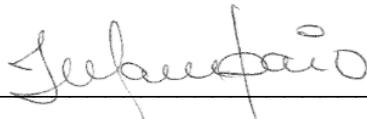
Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração em Sanidade Animal.

Aprovada em 12 de março de 2012

BANCA EXAMINADORA



Prof. Horácio Schneider (*DSc.* Genética e Biologia Molecular) - UFPA



Prof. Maria Iracilda da Cunha Sampaio (*DSc.* Ciências Biológicas) - UFPA



Prof. Marcelo Knoff (*DSc.* Biologia Parasitária) - FIOCRUZ



Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira (*PhD.* Ciências Veterinárias) – UENF
(Orientador)

Ao

Meu filho Matheus, pelo carinho
e por ser a razão de minha luta
para atingir esta meta

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu filho Matheus Ederli Rezende, a quem eu amo demais, por entender o tempo em que não pude lhe dar a atenção merecida devido aos estudos, pelos momentos de alegria, pelos gestos de carinho nos momentos difíceis e por ser o motivo principal desta minha jornada;

Ao professor e grande amigo Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, a quem tenho sincera admiração, pela orientação fundamental na realização deste trabalho, pela dedicação, atenção, paciência, confiança e apoio para atingir esta meta. Agradeço também por estar sempre presente e disposto a elucidar minhas dúvidas, por acreditar em mim, me dando força para seguir em frente e por ser tão importante em minha formação, tanto acadêmica quanto pessoal;

Ao professor Scott Lyell Gardner, por ter me recebido atenciosamente em seu laboratório na Universidade de Nebraska, e por ter contribuído na minha formação profissional, além de ajudar no longo período que passamos longe de casa, em um país com grandes diferenças culturais, aliviando assim, as saudades de casa;

Aos meus pais, Jorge Luiz Ederli e Lucir Cléa Brand Ederli, pelo incentivo aos estudos, pela força, confiança e paciência que dedicou a mim durante todo o curso e pelo apoio emocional nesse período tão difícil do curso;

À minha irmã Bianca Brand Ederli pelo apoio, atenção e paciência em esclarecer minhas dúvidas;

À grande amiga Márcia Cavalcanti de Albuquerque pelo apoio incondicional, por estar sempre presente e disposta a me amparar nos momentos difíceis (que foram tantos). Deixo a esta grande pessoa um agradecimento especial. Amiga como você, devemos guardar no coração com todo carinho. Te adoro.

À amiga Flávia Cristina de Oliveira, que foi de fundamental importância, contribuindo nas coletas dos parasitos, em todo o conteúdo intestinal, o que foi um trabalho árduo e feito com muita atenção e dedicação. Agradeço também por ser minha primeira coorientada, que eu já admiro demais e tenho plena confiança;

Ao amigo André Maurício Barroso, que conheci a pouco tempo, mas que admiro bastante, principalmente por ser um amante da parasitologia, assim como eu;

Aos companheiros de laboratório: Murilo de Oliveira Bôa Morte, Samira Salim Mello Gallo, Carina dos Santos Teixeira, Edwards Frazão Teixeira, Amanda Lucia

Jimenez e Luciana Sales pela amizade, apoio nas coletas, companheirismo e pelos momentos de descontração durante esta longa jornada;

À técnica Beatriz Ferreira Ribeiro e ao Professor Flávio Costa Miguens pela colaboração no processamento do material para microscopia eletrônica de varredura;

Um agradecimento especial a todos os colegas de turma que fizeram parte desta conquista, pelos momentos de alegria e de batalha, pela amizade, por tudo o que aprendi com cada um deles, todos tão importantes que eu não poderia escolher apenas alguns nomes para citar;

Aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela ótima formação de pós-graduação;

Ao Laboratório de Sanidade Animal da UENF, onde a presente pesquisa foi realizada, pela utilização das instalações;

A CNPq e a FAPERJ pela concessão de auxílios para a elaboração de projetos de pesquisa, ao professor Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, sendo fundamental na realização deste trabalho;

A CAPES pela concessão de bolsa de estudo no país, e por investir em minha carreira profissional, com a oportunidade de estágio no exterior com a concessão de bolsa no Programa de Doutorado com Estágio no Exterior (PDEE), uma experiência inesquecível.

“Sorte é aquilo que acontece quando a preparação encontra oportunidade.”

Autoria desconhecida

BIOGRAFIA

NICOLE BRAND EDERLI, filha de Jorge Luiz Ederli e Lucir Cléa Brand Ederli, nasceu em 28 de outubro de 1981, na cidade do Rio de Janeiro, RJ. Coursou o ensino fundamental e médio no Instituto São José-Salesiano, em Resende, RJ.

Em março de 2000, ingressou no curso de Agronomia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, em Seropédica, RJ, porém, em março de 2004, ingressou na forma de transferência no curso de bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, em Campos dos Goytacazes, RJ, graduando-se em setembro de 2006. Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) na área de Parasitologia Veterinária, desde março de 2005 até o término do curso, onde apresentou monografia intitulada “Diagnóstico e caracterização morfológica de *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) em avestruzes das regiões Norte e Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro”, sob a orientação do professor Clóvis de Paula Santos.

Foi admitida em março de 2007 no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Parasitologia Veterinária, em nível de mestrado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, em Seropédica, RJ, com bolsa de estudos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), onde defendeu, em março de 2009, dissertação intitulada “Caracterização morfológica de larvas infectantes de *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus* (Nematoda, Trichostrongylidae) e adultos de *Codiostomum struthionis* (Nematoda, Strongylidae) parasitas de avestruzes, *Struthio camelus*”, sob a orientação da professora Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues e coorientação do professor Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, da UENF.

Em março de 2009 foi aprovada em primeiro lugar no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, em nível de doutorado, na área de concentração em Sanidade Animal-Doenças InfectoContagiosas e Parasitárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, em Campos dos Goytacazes, com bolsa de estudos da CAPES, e em outubro de 2010 foi aprovada com bolsa para o Programa de Doutorado com Estágio no Exterior (PDEE/CAPES), onde

curvou 12 meses no Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter, da Universidade de Nebraska-Lincoln, nos Estados Unidos, sob a coorientação do Dr. Scott Lyell Gardner, e orientação do professor Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira (UENF), submetendo-se à defesa de tese para conclusão do curso em 12 de março de 2012 e já aprovada, em dezembro de 2011, em primeiro lugar em Concurso Público para o cargo de Professora Adjunta da Universidade Federal do Pará – UFPA, na área de Parasitologia, Microbiologia e Diversidade Animal.

RESUMO

EDERLI, Nicole Brand. Nematoides parasitas de avestruzes, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 e emas, *Rhea americana* L., 1758: diagnóstico, patologia, taxonomia e análise filogenética. 2012. 239p. Tese (Doutorado em Ciência Animal, Sanidade Animal). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2012.

O grupo das ratitas é composto pelas avestruzes, emas, emús, cassuares e kiwis. Destas, apenas as três primeiras espécies são criadas comercialmente no Brasil. São escassas as pesquisas sobre os parasitas que acometem as ratitas, havendo a necessidade de ampliar o conhecimento sobre as parasitoses e seus respectivos danos ao rebanho. Na presente pesquisa, foram coletadas 192 amostras de fezes de avestruzes de 13 criatórios comerciais no Estado do Rio de Janeiro para a realização de exames fecais e foram necropsiadas emas e avestruzes para a coleta de parasitas adultos, bem como a descrição das patologias causadas por estes. Além disto, foi realizada a análise filogenética das espécies da subfamília Libyostromylinae baseada em caracteres morfológicos. Foram encontrados ovos típicos de Strongylidae com média de 1.533,07 OPG no Estado do Rio de Janeiro, sendo Três Rios o município com menor média (26,47), e Campos dos Goytacazes com maior média (3.860). A análise das larvas infectantes revelou a presença de *Libyostromylus douglassii*, *L. dentatus* e *Codiostomum struthionis* no rebanho de avestruzes do Estado. Durante a coleta dos parasitos adultos do proventrículo das avestruzes, observaram-se sítios de localização distintos, sendo *L. douglassii* encontrados abaixo da membrana coilina, enquanto que *L. dentatus* estavam inseridos, de forma enovelada, nesta membrana. Verificou-se também que *C. struthionis* é responsável por lesões nos cecos das avestruzes, caracterizadas por espessamento da mucosa e nódulos ao longo do ceco. As emas estavam parasitadas por duas espécies de nematoides *Deletrocephalus dimidiatus* e *Sicarius uncinipenis*, que foram redescritos com maior riqueza de caracteres. Destas, *S. uncinipenis* é responsável por sérias lesões na moela das emas, resultando em necrose do órgão. Faz-se necessário a redescrição das espécies de nematoides desta subfamília com o intuito de obter mais detalhes morfológicos para a obtenção de uma análise filogenética mais detalhada, futuramente.

Palavras-chave: *Deletrocephalus*, *Sicarius*, *Codiostomum*, Libyostromylinae.

ABSTRACT

EDERLI, Nicole Brand. Nematode parasites of ostriches, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 and rhea, *Rhea americana* L., 1758: diagnosis, pathology, taxonomy and phylogenetic analysis. 2012. 239p. Thesis (Doctor Science in Animal Science, Animal Sanity). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2012.

The ratite group is composed by ostriches, rheas, emus, cassuaries and kiwis. Of these, only the first three species are raised commercially in Brazil. There are few researches on the parasites that affect ratites, needing to expand the knowledge of its parasites and their damage to the flock. In the present study, we collected 192 fecal samples from 13 ostriches commercial farms in the State of Rio de Janeiro to perform fecal exams, and were necropsied ostriches and rheas for collect adult parasites as well as descriptions of the pathologies caused by them. There were performed a phylogenetic analysis of the species from the subfamily Libystrongylinae based on morphological characters. There were observed Strongylidae eggs with a mean of 1533.07 EPG in the State of Rio de Janeiro. The city Três Rios had the lowest average (26.47), and Campos dos Goytacazes the highest average (3860). The analysis revealed the presence of infective larvae of *L. douglassii*, *L. dentatus* and *C. struthionis* in the flock of ostriches in the state. During the collection of adult parasites in the ostriches proventriculus, we observed a differential localization being *L. douglassii* found under the koilin layer while *L. dentatus* were inserted in this membrane. Moreover, *C. struthionis* is responsible for lesions in ostriches ceca, characterized by thickening of the mucosa and nodules along the cecum. Rheas were parasitized by two nematode species *D. dimidiatus* and *S. uncinipenis*, which were redescribed here with richer characters. Of these, *S. uncinipenis* are responsible for serious injuries in rhea gizzard, resulting in necrosis of the organ. It is necessary to redescribe the nematode species of this subfamily with more morphological details for a further phylogenetic analysis.

Keywords: *Deletrocephalus*, *Sicarius*, *Codiostomum*, Libystrongylinae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1.1.	Distribuição do plantel nacional de avestruzes no ano de 2006 (AICHINGER et al., 2007)	16
Figura 1.2.	Localização dos principais parasitas encontrados nas avestruzes. (Adaptado de FOREYT, 2005)	20
Figura 1.3.	Ciclo de vida de <i>Libyostrongylus douglassii</i> . (EDERLI, 2006)	21
Figura 1.4.	Micrografia óptica (DIC) de ovo típico de Strongylidae, presente nas fezes de avestruzes, <i>Struthio camelus</i> . Barra: 30 µm	28
Figura 1.5.	Mapa do Estado do Rio de Janeiro, com as mesorregiões e municípios, evidenciando a distribuição de nematoides gastrintestinais nos municípios analisados.....	29
Figura 1.6.	Proventrículo de avestruzes, <i>Struthio camelus</i> Linnaeus, 1758. A. Localização diferencial de <i>Libyostrongylus douglassii</i> (a) e <i>L. dentatus</i> (b) na superfície do proventrículo; B. <i>Libyostrongylus douglassii</i> na mucosa do proventrículo (seta) e <i>L. dentatus</i> inserido na membrana coilina (ponta de seta); C e D. Espécimes de <i>L. dentatus</i> inseridos na membrana coilina	33
Figura 1.7.	Extremidades posteriores de larvas infectantes. A. <i>Libyostrongylus douglassii</i> , B. <i>L. dentatus</i> e C. <i>Codiostomum struthionis</i> . Notar as diferenças morfológicas da extremidade da cauda da larva e a morfometria das caudas das bainhas das larvas infectantes	35

- Figura 1.8.** *Libyostrogylus* spp. adultos. [a, d, g, j, n] *L. magnus* (SKRJABIN, 1961); [b, e, h, l, o] *L. douglassii* (EDERLI, 2006); [c, f, i, m, p] *L. dentatus* (HOBERG et al., 1995). (a, b, c) Extremidades anteriores, (d, e, f) Ovíjetores; (g, h, i) Caudas das fêmeas; (j, l, m) Raios dorsais; (n, o, p) Espículos. 38
- Figura 1.9.** Ceco de avestruzes, *Struthio camelus*. **A.** Ceco não parasitado. Área demarcada está ampliada em **C**, com porção final do ceco, mostrando ausência de lesões; **B.** Ceco parasitado, com presença de edemas. Setas evidenciam nódulos. Área demarcada está ampliada em **D**, com achatamento da mucosa, nos sítios de maior concentração dos parasitas (seta); **E.** Áreas hemorrágicas (setas); **F.** Nódulos (setas)..... 40
- Figura 1.10.** Achados histológicos em cecos de avestruzes, *Struthio camelus*. **A.** Ceco não parasitado, com tecido normal; **B.** Ceco parasitado evidenciando espessamento da mucosa cecal com achatamento das células epiteliais, infiltração de células mononucleares, principalmente linfócitos na submucosa. Barras: 100 µm 42
- CAPÍTULO II**
- Figura 2.1.** Principais parasitas relatados parasitando emas, *Rhea americana*. (Adaptado de FOREYT, 2005) 61
- Figura 2.2.** Esquema da nomenclatura dos raios da bolsa copuladora, segundo Durette-Desset e Chabaud (1981), adaptado 69

- Figura 2.3.** Esquema dos diferentes tipos de bolsa copuladora, segundo a organização dos raios da bolsa (DURETTE-DESSET; CHABAUD, 1981). **A.** Tipo 2-1-2, raios 2 e 3, e raios 5 e 6 agrupados e raio 4 isolados; **B.** Tipo 1-3-1, raios 2 isolados e raios 3 a 5 agrupados e raios 6 isolados; **C.** Tipo 2-2-1, raios 2 e 3 e raios 4 e 5 agrupados e raios 6 isolados; **D.** Tipo 2-3, raios 2 e 3 e raios 4 a 6 agrupados; **E.** Tipo 3-2, raios 2 a 4 e raios 5 e 6 agrupados 70
- Figura 2.4.** Micrografia óptica (DIC) de cortes transversais de *Deletrocephalus dimidiatus*, evidenciando a ausência de sínlofe. Cortes realizados em nível do: **A.** Esôfago; **B.** Meio do corpo; **C.** Ovijetor e **D.** Espículos. Barras: 50µm 74
- Figura 2.5.** Desenhos feitos utilizando-se microscópio óptico acoplado a câmera clara, de *Deletrocephalus dimidiatus* parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção anterior, mostrando cápsula bucal, dentes e dentículos, esôfago, anel nervoso, poro excretor, papila cervical, junção esôfago-intestinal e porção inicial do intestino; **B.** Espículos; **C.** Extremidade posterior da fêmea, evidenciando abertura da vulva (v) e ânus (a); **D.** Ovijetor; **E.** Raio dorsal; **F.** Gubernáculo; **G.** Bolsa copuladora, evidenciando organização dos raios 75
- Figura 2.6.** Micrografia óptica de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Extremidade anterior mostrando cápsula bucal, estrutura do esôfago, anel nervoso e válvula esôfago-intestinal 76
- Figura 2.7.** Micrografia eletrônica de varredura de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Extremidade anterior evidenciando papilas cefálicas (setas) e anfídeo (ponta de seta). Barra: 50µm; **B.** Projeções quitinosas ondulares no interior da cápsula bucal (seta). Barra: 20µm; **C.** Estoma com abertura transversal (seta). Barra: 20µm 77

- Figura 2.8.** Micrografia óptica (DIC) da cápsula bucal de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar lancetas (pontas de seta), ondulações quitinosas (seta), papilas cefálicas (P) e anfídeo (a); **B.** Presença de dois dentes (seta) e lancetas (seta). Barras: 50µm 78
- Figura 2.9.** Micrografia eletrônica de varredura de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Um par de dentes proeminentes presentes na face dorsal da cápsula bucal. Barra: 10µm; **B.** Lancetas localizadas ao redor da cápsula bucal. Barra: 20µm 79
- Figura 2.10.** Micrografia óptica (DIC) da válvula esôfago-intestinal de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50µm 80
- Figura 2.11.** Micrografia óptica (DIC) da bolsa copuladora de um espécime macho de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 100µm 83
- Figura 2.12.** Micrografia óptica (DIC) dos diferentes padrões do raio dorsal de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Raio dorsal sem ramificação rudimentar lateral; **B.** Raio dorsal com ramificação rudimentar lateral (seta). Barras: 50µm 84
- Figura 2.13.** Micrografia óptica (DIC) dos espículos dos machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista total dos espículos. Barra: 100µm; **B.** Porção anterior, mostrando a cabeça (h), pescoço (n) e parte do corpo (b) dos espículos. Barra: 50µm; **C.** Extremidade posterior dos espículos. Barra: 25µm 85

- Figura 2.14.** Micrografia óptica (DIC) do gubernáculo de espécimes machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** gubernáculo (setas) em vista lateral; **B.** gubernáculo (G) em vista frontal, com estrutura acessória (a). Barras: 50µm 86
- Figura 2.15.** Micrografia óptica (DIC) do cone genital de espécimes machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista lateral, evidenciando papila “7”dupla (setas), espículos (e) e gubernáculo (G); **B.** Vista frontal. Observar papila “7” dupla (setas) e papila “0”simples (ponta de seta). Barras: 50µm 87
- Figura 2.16.** Micrografia eletrônica de varredura da bolsa copuladora de um espécime macho de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Evidenciando a estrutura do cone genital, mostrando a papila zero simples (“0”), abertura da cloaca (C) e um par de papilas sete (“7”). Presença de duas papilas na membrana da bolsa copuladora (ponta de seta). Barra: 50µm ... 88
- Figura 2.17.** Micrografia óptica (DIC) do ovijetor de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Estrutura completa do ovijetor. Barra: 50µm; **B.** Infundíbulo. Barra: 100µm; **C.** Vagina (entre as setas). Barra: 50µm 91
- Figura 2.18.** Micrografia óptica (DIC) da extremidade posterior de uma fêmea de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando as aberturas do ânus (A) e vulva (V). Barra: 100µm 92
- Figura 2.19.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de uma fêmea de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando as aberturas do ânus (A) e vulva (V). Barra: 200µm 93

- Figura 2.20.** Micrografia óptica (DIC) de ovos no interior do ovijetor de fêmeas de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Ovos larvados; **B.** ovos não larvados. Barras: 50µm 94
- Figura 2.21.** Espécimes machos e fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, fixados em formalina 10% e conservados em etanol 70%..... 97
- Figura 2.22.** Microscopia óptica (DIC) de cortes transversais de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*, onde se observa a ausência de sínlofe. Cortes realizados em nível do: **A.** Esôfago, evidenciando: esôfago (e), camada muscular (m) e cutícula (c); **B.** Meio do corpo de um exemplar macho, evidenciando: testículo (t), intestino (i), camada muscular (m) e cutícula (c); **C.** Região posterior de uma fêmea, evidenciando: útero (u), intestino (i), camada muscular (m) e cutícula (c); **D.** Região posterior de um macho, evidenciando espículos (e), camada muscular (m) e cristas cuticulares (c) presentes na face interior da asa caudal (ac). Barras: 100 µm 98
- Figura 2.23.** Micrografia óptica (DIC) de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista ventral, evidenciando interlábio ventral (seta); **B.** Vista lateral, evidenciando lábios laterais (setas) com dentículos (pontas de seta). Barras: 100 µm 99
- Figura 2.24.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade anterior de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar os lábios laterais (L), interlábios dorsais e ventrais (i), anfídeos (ponta de seta), papilas labiais (setas finas) e dentículos dos lábios (seta larga). Barra: 50 µm.; **B.** Observar abertura oral (Oa), lábios laterais (L), interlábios dorsais e ventrais (i), e dentículos dos lábios (setas). Barra: 50 µm; **C.** Aumento do labo lateral do lábio, evidenciando dentículo maior na extremidade do lábio (seta) e grupo de dentículos (ponta de seta). Barra: 10 µm; **D.** Aumento do labo central do lábio com grupo de dentículos. Barra: 10 µm..... 100

- Figura 2.25.** Micrografia óptica da extremidade anterior de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. Mostrando estoma (ponta de seta), esôfago (seta), e uma porção do ovário, repleta de ovos (U). Barra: 300 μm 101
- Figura 2.26.** Micrografia óptica (DIC) do esôfago de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Primeira porção do esôfago, evidenciando anel nervoso (seta larga), um par de papilas cervicais (pontas de seta), e divisão entre a primeira e segunda porção do esôfago (seta fina); **B.** Extremidade distal da segunda porção do esôfago, na junção entre o esôfago e o intestino. Verificar fibras musculares, ampliadas em **C**, evidenciando que as duas porções do esôfago são musculares. Barras: 100 μm 102
- Figura 2.27.** Micrografia óptica da região posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando espículos desiguais, sendo o esquerdo maior (seta), e o direito menor (ponta de seta). Observa-se também a asa caudal (*). Barra: 200 μm 105
- Figura 2.28.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Observar asa caudal texturizada. Barra: 500 μm 106
- Figura 2.29.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Asa caudal. Barra: 1 mm; **B.** Papila ad-cloacal (seta), próxima à abertura da cloaca (C). Barra: 50 μm ; **C.** Papilas pré-cloacais (setas) e cloaca (C). Barra: 200 μm ; **D.** Papilas pós-cloacais (setas) e cloaca (C). Barra: 200 μm 107

- Figura 2.30.** Micrografia óptica (DIC) dos espículos de machos de *Sicarius uncinipenis*, parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção proximal do espículo esquerdo (maior); **B.** Espículo direito (menor). Barras: 100 μm 108
- Figura 2.31.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade distal dos espículos de machos de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Espículo direito (menor). Barra: 10 μm ; **B.** Espículo esquerdo (maior). Barra: 20 μm 109
- Figura 2.32.** Micrografia óptica (DIC) do gubernáculo, com a extremidade distal do espículo, de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra:100 μm .. 110
- Figura 2.33.** Micrografia óptica da região da vulva de fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção inicial, evidenciando abertura da vulva (v), seguida pela vagina musculosa; **B.** Porção anterior da vagina musculosa, repleta de ovos larvados, e abertura da vulva (v); **C.** Porção posterior do ovijector, mostrando estrutura terminal. Barras: 100 μm 113
- Figura 2.34.** Micrografia eletrônica de varredura da vulva de um espécime fêmea de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50 μm 114
- Figura 2.35.** Micrografia óptica (DIC) da extremidade posterior de fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Cauda mostrando abertura do ânus (a); **B.** Estrutura circular na ponta da cauda (seta). Barras: 100 μm 115
- Figura 2.36.** Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de uma fêmea de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar abertura do ânus (A), e estrutura circular na ponta da cauda (seta). Barra: 100 μm ; **B.** Imagem ampliada da extremidade da cauda da fêmea, mostrando um par de papilas laterais (setas) e estrutura circular (ponta de seta). Barra: 20 μm 116

- Figura 2.37.** Micrografia óptica (DIC) de ovos larvados no interior do ovijetor de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50µm 117
- Figura 2.38.** Micrografia óptica (DIC) de ovos de *Sicarius uncinipenis* em estágio de mórula. Barra: 50 µm 118
- Figura 2.39.** Proventrículo (P) e moela (G) de uma ema não parasitada, evidenciando aspecto normal..... 121
- Figura 2.40.** Proventrículo e moela de uma ema, *Rhea americana*, parasitada por *Sicarius uncinipenis*. **A.** Setas evidenciam úlceras na membrana coilina da moela; **B.** Face interna da membrana coilina evidenciando nematoides penetrando nesta (setas); **C.** Presença de úlceras (setas) e pontos hemorrágicos (pontas de seta) na membrana coilina da moela; **D.** Face interna da membrana coilina da moela, evidenciando úlceras (setas) e pontos hemorrágicos (pontas de seta); **E.** Úlceras na face externa da membrana coilina da moela; **F.** Mesmas lesões apresentadas em **E**, observadas na face interna da membrana coilina..... 122
- Figura 2.41.** Macrolesões no proventrículo e moela de uma ema, *Rhea americana*, parasitada por *Sicarius uncinipenis*. **A.** Proventrículo com presença de muco e nematoides; **B.** Proventrículo com nematoides inserindo nas glândulas proventriculares; **C.** Moela com nematoides no conteúdo alimentar, em toda a extensão do órgão; **D.** Proventrículo e moela após remoção do conteúdo alimentar, evidenciando necrose generalizada; **E.** Moela evidenciando presença de nematoides logo abaixo da membrana coilina, com necrose generalizada; **F.** Moela e proventrículo após remoção da membrana coilina, evidenciando ponto hemorrágico em toda a extensão da moela 124

CAPÍTULO III

- Figura 3.1.** Cladograma mais parcimonioso (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostromylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*), com a respectiva distribuição geográfica e hospedeiros 162
- Figura 3.2.** Cladograma 2 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostromylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*)..... 163
- Figura 3.3.** Cladograma 3 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostromylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*)..... 164
- Figura 3.4.** Cladograma 4 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostromylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*)..... 165
- Figura 3.5.** Esquemas da organização do raio dorsal (A-B) e raios 3 a 5 da bolsa copuladora (C-D). **A.** Raio dorsal do tipo *Libyostromylylus*. Raio se divide anteriormente a origem do raio 9 (traço) e das bifurcações terminais (raios 10 e 11); **B.** Raio dorsal do tipo *Paralibyostromylylus*. Raio 9 surge anteriormente à divisão que termina nos raios 10 e 11 (traço); **C.** Padrão dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora do tipo *Libyostromylylus*. Extremidade da ponta do raio 4 mais próxima do raio 3 (a) do que do raio 5 (b); **D.** Padrão dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora do tipo *Paralibyostromylylus*. Extremidade da ponta do raio 4 mais próxima do raio 5 (b) do que do raio 3 (a)..... 171

Figura 3.6. Estrutura dos raios da bolsa copuladora das espécies da subfamília Libyostrongylinae. **A.** *Libyostrongylus douglassii* (SKRJABIN, 1960); **B.** *L. magnus* (SKRJABIN, 1960) (Barra: 50µm); **C.** *L. dentatus* (HOBERG et al., 1995) (Barra: 100µm); **D.** *Paralibyostrongylus kalinae* (redesenhado de DURETTE-DESSET et al., 1992) (Barra: 100µm); **E.** *P. alberti* (redesenhado de BERGHE, 1936); **F.** *P. bathyergi* (ORTLEPP, 1939) (Barra: 200µm); **G.** *P. mordantii* (LE VAN HOA, 1959) (Barra: 300µm); **H-I.** *P. vondwei* (ORTLEPP, 1939) (Barra: 200µm); **J-L.** *P. hebrenicutus* (LANE, 1923); **M.** *P. nigeriae* (BAYLIS, 1928) (Barra: 100µm); **N.** Raio dorsal de *P. cassonei* (DURETTE-DESSET; DENKE, 1978); **O.** *Cnizostrongylus kleini* (CHABAUD et al., 1967) (Barra: 150µm) 172

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Características, velocidade e distribuição das ratitas no mundo (FOWLER, 1996)	6
Quadro 2.	Principais parasitas já relatados infectando ratitas (Avestruz, <i>Struthio camelus</i> ; Ema, <i>Rhea americana</i> ; Emú, <i>Dromaius novaehollandiae</i> ; Cassuar, <i>Casuarius casuarius</i> ; Kiwi, <i>Apterys</i> spp.), com seus respectivos locais de infecção	8

CAPÍTULO I

Quadro 1.1.	Número de avestruzes abatidos nos principais países nos anos de 2005 e 2006. (AICHINGER et al., 2007)	17
Quadro 1.2.	Comparação de machos e fêmeas adultos das espécies do gênero <i>Libyostrongylus</i>	37

CAPÍTULO III

Quadro 3.1.	Classificação taxonômica dos gêneros da superfamília Trichostrongyloidea, de acordo com a análise cladística realizada por Durette-Desset et al. (1999).....	152
Quadro 3.2.	Listagem das espécies da subfamília Libyostrongylinae (grupo interno) e o grupo externo utilizado na presente análise filogenética, com respectivos hospedeiros, região geográfica das descrições utilizadas e suas referências bibliográficas.....	156

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1.1.** Situação da carga parasitária de avestruzes, *Struthio camelus*, criadas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Valores médios \pm desvio padrão, seguidos dos valores mínimos e máximos, entre parênteses 30
- Tabela 1.2.** Frequência de larvas de nematoides em fezes de avestruzes, *Struthio camelus*, no Estado do Rio de Janeiro. Valores médios \pm desvio padrão, seguidos dos valores mínimos e máximos, entre parênteses 31
- Tabela 1.3.** Ocorrência de *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet e Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) em cecos de avestruzes, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) abatidos no município de Quissamã, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.. 41

CAPÍTULO II

- Tabela 2.1.** Comparação das medidas, em micrometros, de machos de *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758..... 129
- Tabela 2.2.** Comparação das medidas, em micrômetros, de fêmeas de *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758..... 130
- Tabela 2.3.** Comparação das medidas, em micrometros, de machos das espécies de nematoides parasitas de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758..... 137

Tabela 2.4.	Comparação das medidas, em micrometros, de machos das espécies de nematoides parasitas de emas, <i>Rhea americana</i> Linnaeus, 1758.....	138
Tabela 2.5.	Comparação das medidas, em micrômetros, de machos de <i>Sicarius uncinipenis</i> (Molin), 1860, parasita de emas, <i>Rhea americana</i> Linnaeus, 1758.....	139
Tabela 2.6.	Comparação das medidas, em micrômetros, de fêmeas de <i>Sicarius uncinipenis</i> (Molin), 1860, parasita de emas, <i>Rhea americana</i> Linnaeus, 1758.....	140

CAPÍTULO III

Tabela 3.1.	Matriz de dados morfológicos das espécies da subfamília Libyostrongylinae e <i>Pseudostertagia bullosa</i> , considerada como grupo externo. Caracteres com informação desconhecida foram representados por “?”	160
Tabela 3.2.	Comparação de alguns caracteres diagnósticos entre as espécies de <i>Libyostrongylus</i> , <i>Paralibyostrongylus</i> e <i>Cnizostrongylus</i>	173

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1.	OBJETIVOS	3
1.1.1.	Objetivo Geral	3
1.1.2.	Objetivos Específicos	3
1.2.	JUSTIFICATIVA	4
2.	REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1.	AS RATITAS	5
2.2.	HELMINTOS PARASITAS DE RATITAS.....	7
2.3.	ESPECIFICIDADE DE HOSPEDEIRO.....	9
2.4.	DIAGNÓSTICO	9
2.5.	CONTROLE SANITÁRIO	10

CAPÍTULO I

	NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, <i>Struthio camelus</i> LINNAEUS, 1758 (AVES, STRUTHIONIDAE)	12
1.1.	INTRODUÇÃO	13
1.2.	REVISÃO DE LITERATURA	14
1.2.1.	AVESTRUZES, <i>Struthio camelus</i> LINNAEUS, 1758	14
1.2.2.	PARASITAS DE AVESTRUZES	18
1.2.2.1.	Gênero <i>Libyostrongylus</i>	18
1.2.2.2.	<i>Codiostomum struthionis</i>	22

1.3.	MATERIAL E MÉTODOS	23
1.3.1.	LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO	23
1.3.2.	ANIMAIS UTILIZADOS	23
1.3.3.	EXAMES FECAIS	24
1.3.3.1.	Contagem de Ovos por Grama de Fezes – OPG	24
1.3.3.2.	Cultivos Fecais	24
1.3.4.	DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE <i>Libyostrongylus douglassii</i> E <i>L. dentatus</i> NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES	25
1.3.5.	ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE ADULTOS E LARVAS INFECTANTES DE NEMATÓIDES PARASITAS DE AVESTRUZES	26
1.3.6.	PATOLOGIA	26
1.4.	RESULTADOS	27
1.4.1.	EXAMES FECAIS	27
1.4.2.	DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE <i>Libyostrongylus douglassii</i> E <i>L. dentatus</i> ADULTOS NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES	32
1.4.3.	ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES PARASITAS DE AVESTRUZES	34
1.4.3.1.	Chave de identificação de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais parasitas de avestruzes, <i>Struthio camelus</i> ..	34
1.4.3.2.	Chave de identificação das espécies do gênero <i>Libyostrongylus</i> (Nematóides adultos)	36
1.4.4.	PATOLOGIA CAUSADA POR <i>C. struthionis</i> EM CECO DE AVESTRUZES	39
1.5.	DISCUSSÃO	43
1.5.1.	EXAMES FECAIS	43
1.5.2.	DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE <i>Libyostrongylus douglassii</i> E <i>L. dentatus</i> ADULTOS NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES	45

1.5.3.	ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, <i>Struthio camelus</i>	47
1.5.3.1.	Chave de identificação de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais parasitas de avestruzes	47
1.5.3.2.	Chave de identificação das espécies do gênero <i>Libyostrongylus</i> (nematoides adultos)	49
1.5.4.	PATOLOGIA CAUSADA POR <i>C. struthionis</i> EM CECO DE AVESTRUZES	50
1.6.	CONCLUSÕES	52
1.7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

CAPÍTULO II

	NEMATOIDES PARASITAS DE EMAS, <i>Rhea americana</i> LINNAEUS, 1758 (AVES, RHEIDAE)	57
2.1.	INTRODUÇÃO	58
2.2.	REVISÃO DE LITERATURA	59
2.2.1.	EMAS, <i>Rhea americana</i> LINNAEUS, 1758	59
2.2.2.	PARASITAS DE EMAS	60
2.2.2.1.	Família Deletrocephalidae	62
2.2.2.2.	Família Spiruridae	63
2.3.	MATERIAL E MÉTODOS	65
2.3.1.	LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO	65
2.3.2.	ANIMAIS UTILIZADOS	65
2.3.3.	NECROPSIAS	65
2.3.4.	COLETA DOS PARASITAS	66

2.3.4.1.	Trato Gastrointestinal	66
2.3.4.2.	Demais dos Órgãos	66
2.3.5.	MICROSCOPIA ÓPTICA	67
2.3.6.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	67
2.3.7.	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS PARASITAS ADULTOS	68
2.3.8.	PATOLOGIA	71
2.4.	RESULTADOS	72
2.4.1.	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS HELMINTOS	72
2.4.1.1.	<i>Deletrocephalus dimidiatus</i>	72
2.4.1.1.1.	Depósito dos Espécimes	72
2.4.1.1.2.	Descrição Geral	73
2.4.1.1.3.	Machos	81
2.4.1.1.4.	Fêmeas	89
2.4.1.2.	<i>Sicarius uncinipenis</i>	95
2.4.1.2.1.	Depósito dos Espécimes	95
2.4.1.2.2.	Descrição Geral	96
2.4.1.2.3.	Machos	103
2.4.1.2.4.	Fêmeas	111
2.4.2.	PATOLOGIA CAUSADA POR <i>Sicarius uncinipenis</i> em MOELA E PROVENTRÍCULO DE EMAS	119
2.4.2.1.	Emas 1 e 2	119
2.4.2.2.	Ema 3	119
2.4.2.3.	Ema 4	123
2.5.	DISCUSSÃO	125
2.5.1.	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS NEMATOIDES	125
2.5.1.1.	<i>Deletrocephalus dimidiatus</i>	125
2.5.1.2.	<i>Sicarius uncinipenis</i>	132
2.5.2.	PATOLOGIA CAUSADA POR <i>Sicarius uncinipenis</i> em MOELA E PROVENTRÍCULO DE EMAS	141

2.6.	CONCLUSÕES	144
2.7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145

CAPÍTULO III

ANÁLISE FILOGENÉTICA DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE (NEMATODA, TRICHOSTRONGYLIDAE)

148

3.1.	INTRODUÇÃO	149
3.2.	REVISÃO DE LITERATURA	150
3.2.1.	SUPERFAMÍLIA TRICHOSTRONGYLOIDEA	150
3.2.2.	FAMÍLIA TRICHOSTRONGYLIDAE	150
3.2.3.	SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE	153
3.3.	MATERIAL E MÉTODOS	154
3.3.1.	LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO	154
3.3.2.	ANÁLISE FILOGENÉTICA PRELIMINAR DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE	154
3.4.	RESULTADOS	157
3.4.1.	ANÁLISE DOS CARACTERES MORFOLÓGICOS	157
3.4.2.	ANÁLISE FILOGENÉTICA PRELIMINAR DAS ESPÉCIES DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE	161
3.5.	DISCUSSÃO	166
3.6.	CONCLUSÕES	174
3.7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	175

3.	CONCLUSÕES GERAIS	179
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	180
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS	181

ANEXOS	192
---------------------	-----

Autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) para manejo de emas, <i>Rhea americana</i> (CTF nº 480552)	193
--	-----

Autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) para a realização de pesquisa com material biológico de emas, <i>Rhea americana</i> , com finalidade científica, autorização nº 18981-2.....	
--	--

Ficha de Necropsia	
--------------------------	--

Ficha de depósito de espécimes na Coleção Parasitológica do Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter (HWML), da Universidade de Nebraska-Lincoln (UNL)	
---	--

Differential localization of <i>Libyostrongylus douglassii</i> (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and <i>L. dentatus</i> Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda, Trichostrongylidae) in ostrich (<i>Struthio camelus</i> Linnaeus, 1758) proventriculi	
---	--

Pathological findings in the caeca of naturally infected ostriches, <i>Struthio camelus</i> Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) parasitized by <i>Codiostomum struthionis</i> (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae)	
--	--

1. INTRODUÇÃO GERAL

A criação de ratitas pode se tornar uma pecuária alternativa no Brasil, acompanhando a tendência mundial. Embora esta seja uma atividade nova, o interesse pela exploração de avestruzes, emas e emús pode crescer ainda mais no Brasil, principalmente no Estado de São Paulo e nas regiões Sul e Centro-Oeste, devido à boa qualidade dos produtos oriundos destes animais. O grupo das ratitas é composto pelas avestruzes, *Struthio camelus*, emas, *Rhea americana*, emús, *Dromaius novaehollandiae*, cassuares, *Casuarius casuarius* e kiwis, *Apteryx* spp, destas, apenas as três primeiras espécies são criadas comercialmente no Brasil.

Provavelmente, durante a introdução de avestruzes na década de 90 no Brasil (AICHINGER et al., 2007), ocorreu também a introdução de nematoides do gênero *Libyostrongylus* e *Codiostomum* devido a uma deficiência na fiscalização sanitária, visto que não há nenhuma normatização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), quanto ao controle de parasitoses, para comercialização interna de ratitas ou importação das mesmas. Estes parasitas estão presentes enzoóticamente em todo o rebanho nacional. Isto porque a disseminação de algumas espécies de helmintos é favorecida pelo seu ciclo de vida direto, além da falta de conhecimento adequado no manejo dos animais e em controle parasitológico entre os produtores, bem como, do comércio das aves sem a verificação do parasitismo. Não se sabe, até o momento, se os parasitas introduzidos, tanto de avestruzes, como de emús, podem infectar as emas (ave nativa da América do Sul). Até que não haja a comprovação da especificidade destes parasitas aos seus hospedeiros, como medidas de biossegurança, deve-se evitar a criação de outras aves na mesma propriedade, principalmente as criações de emas, devem ser isoladas das de avestruzes e emús.

São escassas as pesquisas sobre a fauna parasitária que acomete as ratitas, havendo a necessidade de ampliar o conhecimento sobre as parasitoses e seus respectivos danos ao rebanho, a fim de melhorar o manejo destas aves. Estudos sobre infecções parasitárias são importantes na medida em que abrem caminho para a geração de conhecimento sobre estas enfermidades além de se criar recursos humanos especializados, o que ajudará no processo de controle sanitário, visando um aumento na produtividade. A elaboração de uma chave de identificação das larvas infectantes que acometem ratitas, contribui para a realização de um diagnóstico mais rápido, simples e prático, não havendo a necessidade de realizar

necropsias para obtenção de helmintos adultos, para identificação das espécies de parasitas envolvidas na infecção. Além disto, o estudo preliminar da filogenia das espécies de nematoides da subfamília *Libyostrongylinae*, sugere uma possível reclassificação das espécies, além de permitir, futuramente, a elaboração de uma chave de identificação atualizada em nível de gênero desta subfamília, facilitando assim o diagnóstico através da observação dos caracteres morfológicos dos espécimes.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Gerar conhecimento sobre a fauna parasitária das avestruzes e emas, uma vez que pouco se sabe sobre a biologia, taxonomia, sistemática e patogenia de parasitos encontrados nestas ratitas.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Diagnosticar as espécies de nematoides que acometem as avestruzes no Estado do Rio de Janeiro, através de exames fecais;
- Descrever sítios de localização distintos das duas espécies de *Libyostrongylus* no proventrículo das avestruzes;
- Desenvolver uma chave de identificação de nematoides adultos e larvas infectantes encontradas nas avestruzes, a fim de facilitar o diagnóstico destas parasitoses;
- Caracterizar as lesões causadas por nematoides parasitas de avestruzes e emas;
- Caracterizar taxonômica e ultraestruturalmente as espécies de helmintos que parasitam as emas;
- Realizar um estudo preliminar da filogenia das espécies de nematoides da subfamília Libyostrongylinae, com base em caracteres morfológicos.

1.2. JUSTIFICATIVA

Embora as emas sejam autóctones da América do Sul, pouco se conhece sobre a fauna parasitária destas aves, incluindo sintomas, patologias e consequentemente, possíveis perdas na produção, uma vez que, até o momento, não há relatos de achados patológicos causados por helmintos em emas e avestruzes, onde o gênero *Codiostomum* era considerado como um parasito não patogênico. As espécies de nematoides parasitas das emas foram durante muito tempo, descritas inadequadamente, havendo sobreposição na descrição dos caracteres morfológicos, uma vez que mais de um gênero pode ser encontrado em um mesmo sítio de infecção no organismo do hospedeiro. Além disto, algumas espécies da subfamília Libyostromylinae foram classificadas provisoriamente nos gêneros desta subfamília, sendo necessária a realização de uma análise filogenética das espécies de nematoides da subfamília Libyostromylinae, com o intuito de contribuir com a real classificação das espécies dentro desta subfamília, principalmente entre os gêneros *Libyostromylus* e *Paralibyostromylus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. AS RATITAS

A taxonomia tradicional, baseada em caracteres morfológicos, divide o grupo das ratitas em quatro ordens e cinco famílias diferentes: Struthioniformes, Struthionidae; Rheiformes, Rheidae, com os dois gêneros de emas, *R. americana* (ema maior) e *Pterocnemia pennata* (ema de Darwin); Casuariformes, Cassuariidae e Dromaiidae; Apteryiformes, Apterygidae.

A taxonomia de Sibley-Ahlquist-Monroe é baseada em técnicas pioneiras de biologia molecular, proposta no início da década de 80 para a classe Aves, onde os pesquisadores, através da hibridização do DNA, compararam o grau de semelhança genética entre as espécies, com o intuito de reconstruir as relações filogenéticas entre os diversos grupos de aves. Segundo esta, o grupo das ratitas é classificado em uma única ordem Struthioniformes com quatro famílias: Struthionidae, com as avestruzes, *Struthio camelus*; Rheidae, com as emas, *Rhea americana* e *R. pennata*, onde os pesquisadores incluíram as duas espécies do mesmo gênero *Rhea*; Casuariidae com os emús, *Dromaius novaehollandiae* e cassuares, *Casuarius casuarius* e Apterygidae, com os kiwis, *Apteryx* spp. (SIBLEY et al., 1988).

Estas aves compartilham diversas adaptações evolucionárias de outras aves, no entanto, algumas características anatômicas são únicas, como a aparência do osso esterno, achatado em forma de jangada, *ratís* no latim, o que deu origem ao nome ratitas (FOWLER, 1996). Estas aves utilizam este osso no ataque e na defesa nas brigas contra outros machos. As ratitas não possuem a capacidade de voar, mesmo tendo antecedentes voadores, no entanto, são excelentes corredoras, podendo alcançar 64 km/h (Quadro 1). As asas das avestruzes e emas são bem desenvolvidas quando comparadas com as dos emús e cassuares que são rudimentares (FOWLER, 1996).

Quadro 1. Características, velocidade e distribuição das ratitas no mundo (FOWLER, 1996).

Ratita	Tamanho				Coloração		Nº de dedos	Velocidade Km/h	Distribuição Nativa
	Altura		Peso		Macho	Fêmea			
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea					
<i>Struthio camelus</i>	3,00	2,50	160	120	Preto e branco	Cinza	2	64	África
<i>Rhea Americana</i>	1,70	1,50	25	20	Cinza	Cinza	3	-	Brasil, Bolívia, Paraguai, Uruguai, Argentina
<i>Pterocnemia pennata</i>	1,10	1,10	-	-	Cinza	Cinza	3	-	Perú, Bolívia, Chile, Argentina
<i>Dromaius novaehollandiae</i>	1,50	1,80	36-38	55	Marrom	Marrom	3	48	Austrália
<i>Casuaris casuaris</i>	1,80	2,00	85		Preto	Preto	3	48	Austrália e Nova Guiné
<i>Apterys spp.</i>	0,35	0,55	0,67-4,0		Marrom	Marrom	3	40	Nova Zelândia

2.2. HELMINTOS PARASITAS DE RATITAS

As ratitas são bastante resistentes às doenças após o terceiro mês de idade (HUCHZERMEYER, 2005). Há relato de ocorrência nestas aves de doença de Newcastle, rinites provavelmente por *Haemophilus gallinarium*, candidíase, salmonelose, tuberculose, influenza aviária, além de diversas parasitoses causadas por protozoários, nematoides, cestoides, trematódeos e artrópodes (Quadro 2). Uma das preocupações da criação em cativeiro é o controle de doenças parasitárias, principalmente os nematoides que provocam grandes perdas na produtividade (REISSIG; ROBLES, 2001). Nos filhotes com menos de três meses de idade, a mortalidade é elevada, devido a frequentes casos de impactação proventricular e entortamento das pernas, necessitando de melhores pesquisas sobre estas enfermidades, a fim de melhorar o manejo das aves. Muitos casos de impactação proventricular são causados por nematoides parasitas do proventrículo e moela (CRAIG; DIAMOND, 1993), bem como por acúmulo de material fibroso, areia, pedras e material emborrachado (REISSIG; ROBLES, 2001).

Quadro 2. Principais parasitas já relatados infectando ratitas (Avestruz, *Struthio camelus*; Ema, *Rhea americana*; Emú, *Dromaius novaehollandiae*; Cassuar, *Casuaris casuaris*; Kiwi, *Apterys* spp.), com seus respectivos locais de infecção.

Parasitas	Localização	Ratita	Autor (es)
Protozoários			
<i>Balantidium</i> sp.	Ceco/Intestino	Avestruz, Ema	1, 2
<i>Cryptosporidium</i>	Intestino	Todas	1, 3, 4
<i>Eimeria</i> spp.	Intestino	Todas	1, 3
<i>Entamoeba</i> sp.	Ceco/Intestino	Avestruz, Ema	1
<i>Giardia</i>	Intestino/Ceco	Avestruz, Ema, Emú	1, 3
<i>Histomonas meleagridis</i>	Fígado	Avestruz, Ema	1, 3, 5
<i>Isospora</i> spp.	Intestino	Avestruz	1, 3
<i>Leucocytozoon struthionis</i>	Sangue	Avestruz	3
<i>Plasmodium struthionis</i>	Sangue	Avestruz	3
<i>Pleuromonas</i>	Intestino grosso	Avestruz, Ema	1
<i>Tetratrichomonas</i>	Ceco/Intestino	Avestruz, Ema	1
<i>Toxoplasma gondii</i>	SNC	Todas	3
<i>Trichomonas</i>	Papo/Esôfago	Avestruz, Emú	3
Trematódeos			
<i>Fasciola</i> sp.	Fígado	Ema, Emú	6, 7
<i>Philophthalmus gralli</i>	Olho	Avestruz	3
<i>Philophthalmus aweerensis</i>	Olho	Ema	8
Cestoides			
<i>Chapmania tauricolis</i>	Intestino delgado	Ema	9
<i>Davainea</i> spp.	Intestino delgado	Emú, Cassuar, Ema	3
<i>Houttuynia struthionis</i>	Intestino delgado	Avestruz, Ema	1, 3, 10
<i>Monoecocestus</i> sp.	Intestino delgado	Ema	11
<i>Raillietina</i> spp.	Intestino	Emú	12
Nematoides			
<i>Ascaridia orthocerca</i>	Intestino	Ema	3
<i>Baylisascaris</i> sp.	SNC (Larva)	Avestruz, Emú	3
<i>Capillaria</i> spp.	Intestino	Avestruz, Ema	1, 13
<i>Chandlerella quiscalis</i>	SNC (larva)	Emú	3
<i>Codistomum struthionis</i>	Ceco	Avestruz	3, 14
<i>Cyathostoma variegatum</i>	Pulmão/traquéia	Emú	15
<i>Cyrnea colini</i>	Proventrículo/Moela	Avestruz	3
<i>Deletrocephalus dimidiatus</i>	Intestino grosso	Ema	3, 11, 16, 17, 18
<i>D. cesarpintoi</i>	Intestino grosso	Ema	3, 9, 17, 19
<i>Dicheilonema rhaeae</i>	Tecido conjuntivo	Avestruz, Ema	3, 20
<i>Dromaestrongylus bicuspis</i>	Intestino delgado	Emú	3
<i>Habronema (Spiroptera) incerta</i>	Proventrículo/Moela	Ema	3
<i>Libyostrongylus</i> spp.	Proventrículo/Moela	Avestruz	1, 3, 21, 22, 23, 24
<i>Odontospirura cetiopenis</i>	Proventrículo/Moela	Ema	25
<i>Paradeletrocephalus minor</i>	Intestino grosso	Ema	17, 26
<i>Paranchocerca struthiononus</i>	Pulmão	Avestruz	3
<i>Sicarius uncinipenis</i>	Moela	Ema	9, 27
<i>Sicarius waltoni</i>	Moela	Ema	27
<i>Struthiofilaria megaloccephala</i>	Cavidade torácica	Avestruz	3
<i>Syngamus trachea</i>	Traquéia	Avestruz, Emú, Ema	3
<i>Torquatoides crotophaga</i>	Moela	Ema	9
<i>Vaznema zschokkei</i>	Proventrículo	Ema	27

Autores: ¹ Ponce Gordo et al. (2002); ² Ederli; Oliveira (2008); ³ Foreyt (2005); ⁴ Oliveira et al. (2008a); ⁵ Dhitton (1983); ⁶ Soares et al. (2007); ⁷ Vaughan et al. (1997); ⁸ Schuster (2011); ⁹ Zetterman et al. (2005); ¹⁰ Pintori et al. (2000); ¹¹ Giossa et al. (2004); ¹² O'Callaghan et al. (2000); ¹³ Railliet; Henry (1911); ¹⁴ Ederli et al. (2008a); ¹⁵ Rickard et al. (1997); ¹⁶ Monteiro et al. (2002); ¹⁷ Freitas, Lent (1947a); ¹⁸ Travassos (1933); ¹⁹ Vaz (1936); ²⁰ Vakarenko; Sharpilo (2000); ²¹ Ederli et al. (2008b); ²² Ederli et al. (2008c); ²³ Bonadiman et al. (2006); ²⁴ Hoberg et al. (1995); ²⁵ Wehr (1934); ²⁶ Acomolli et al. (2006); ²⁷ Freitas; Lent (1947b).

2.3. ESPECIFICIDADE DE HOSPEDEIRO

As avestruzes foram introduzidas no Brasil em 1995, com aves oriundas da Espanha e Estados Unidos (AICHINGER et al. 2007). Provavelmente, junto com estas aves, foram introduzidos parasitas exóticos, considerados até o momento específico das avestruzes, como é o caso dos nematoides dos gêneros *Libyostrongylus* e *Codiostomum*, sendo o primeiro responsável pela mortalidade superior a 50% das aves juvenis (HOBERG et al., 1995). Além disso, seu potencial de transmissão cruzada para outras ratitas, ainda não foi determinado, bem como a capacidade de nematoides considerados específicos das emas, como é o caso dos nematoides *Deletrocephalus dimidiatus*, *D. cesarpintoj*, *Paradeletrocephalus minor* e *Sicarius uncinipenis*, de infectar as avestruzes.

2.4. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da maioria das espécies de nematoides encontrados nas ratitas só é possível através da obtenção e identificação dos parasitas adultos coletados durante a necropsia, pois não há uma chave de identificação das larvas infectantes destes parasitas. Com o trabalho de Ederli et al. (2008b) foi possível a distinção de duas das três espécies de *Libyostrongylus* spp. em avestruzes por meio do estudo da morfologia e morfometria das larvas infectantes, facilitando assim o seu diagnóstico por meio da simples observação das larvas recuperadas de cultivos fecais.

Dos nematoides encontrados nas emas, o diagnóstico das espécies só é possível pela observação dos parasitas adultos coletados durante a necropsia. Seus ovos são indistinguíveis ao exame microscópico, e suas larvas ainda não foram diferenciadas morfologicamente para um diagnóstico diferencial preciso entre as espécies. Além disto, os sinais clínicos e as patologias causadas pelos helmintos nas emas ainda não foram descritos, havendo a necessidade de estudos para determinar as possíveis perdas na produtividade e comprometimento sanitário do rebanho.

2.5. CONTROLE SANITÁRIO

Tanto os animais importados quanto os animais que serão transferidos de propriedade devem ser submetidos a exames para detecção de parasitoses e caso positivo, devem ser submetidos a tratamento anti-helmíntico antes da saída da propriedade de origem. Após a chegada ao local de destino, esses animais devem ser mantidos em quarentena por cinco semanas (BARTON; SEWARD, 1993). Durante o período de quarentena as fezes devem ser coletadas e descartadas a cada dois dias (BARTON; SEWARD, 1993), impedindo o desenvolvimento dos ovos até o estágio de larvas infectantes.

Se após o período de quarentena, os exames para detecção de ovos nas amostras de fezes dos animais forem negativos, as aves podem ser introduzidas seguramente ao restante do rebanho, caso contrário, deve ser aplicado outro anti-helmíntico, e o animal deve permanecer em quarentena (BARTON; SEWARD, 1993).

Em propriedades onde o parasita já esteja presente, as aves jovens devem ser mantidas longe das adultas e dos pastos infectados (MCKENNA, 2005). Como nos pastos contaminados as larvas em desenvolvimento podem ficar presentes por um longo período, sugere-se que o pasto seja semeado ou pastado por outros animais durante, preferencialmente, dois anos (CRAIG; DIAMOND, 1996). Deve ser realizado regularmente o tratamento anti-helmíntico para ajudar a reduzir a contaminação e aliviar os efeitos da infecção (MCKENNA, 2005) e as propriedades deveriam enviar rotineiramente amostras fecais para análises laboratoriais para verificação da presença de parasitas (MUKARATIRWA et al., 2004). Antes da administração de anti-helmínticos, deve-se realizar um exame para determinar se há ou não infecção, a fim de se evitar gastos desnecessários e resistência dos nematoides ao anti-helmíntico utilizado (CRAIG; DIAMOND, 1996).

Uma prática muito utilizada por algumas propriedades é o fornecimento de fezes de avestruzes adultos para os filhotes, com o intuito de estabilizar a flora intestinal (BUTTON et al., 1993). Esta prática não é recomendada devido ao rápido desenvolvimento dos ovos à larva infectante, aumentando assim os riscos de transmissão de infecções. (MCKENNA, 2005). Caso o proprietário queira insistir

nesta prática deve utilizar fezes frescas de animais saudáveis com idade inferior a um mês, pois é mais provável de estarem livres da infecção (BUTTON et al., 1993).

A disseminação de nematoides nas emas e avestruzes é favorecida pelo ciclo de vida direto do parasita, falta de conhecimento adequado no manejo dos animais e em controle parasitológico entre os produtores, e comércio dos animais sem verificação de parasitismo. O melhor procedimento para se evitar as infecções e subsequentes perdas, é a prevenção da introdução dos parasitas no rebanho (CRAIG; DIAMOND, 1996).

Como medidas de biossegurança, deve-se evitar a criação de outras aves na mesma propriedade (COOPER, 2005), pois, o potencial de transmissão cruzada entre outras aves, especialmente entre outras ratitas, ainda não foi determinado (HOBERG et al., 1995). No Brasil, sugere-se manter os criatórios de emas o mais distante possível de criatórios de avestruzes a fim de se evitar a possível contaminação dessas ratitas endêmicas (BONADIMAN et al., 2006).

CAPÍTULO I

**NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, *Struthio camelus* LINNAEUS, 1758
(AVES, STRUTHIONIDAE)**

1.1. INTRODUÇÃO

As avestruzes, maior ave viva do mundo, podem atingir altura de três metros e 150 kg, têm carne macia e menos calórica, comparadas às outras espécies. No entanto, a exploração racional da avestruz no Brasil, que teve seu início em 1995 e chegando ao destaque de segundo maior rebanho do mundo, está em declínio devido a falhas na cadeia produtiva, principalmente pelo alto custo da produção. Outros fatores como falta de informação a respeito de controle sanitário dos rebanhos também foram pontos que acarretaram no desestímulo na produção. Dentre os patógenos causadores de problemas nos rebanhos, as parasitoses são as mais importantes, principalmente, as causadas por vermes gastrintestinais. Destes apenas *Libyostrongylus* spp. e *Houttuynia struthionis* são consideradas específicas das avestruzes. No entanto, este último já foi relatado parasitando emas de vida livre. Além destes, *Codiostomum struthionis* pode ser encontrado parasitando o ceco das avestruzes, mas a possível patologia precisa ser melhor investigada.

Libyostrongylus douglassii, *L. dentatus* e *L. magnus*, espécies caracterizadas por diferenças morfológicas dos adultos têm patologia caracterizada por necrose do proventrículo, sendo responsável pela mortalidade de mais de 50% das aves juvenis, sendo *L. douglassii* considerado o mais patogênico. O diagnóstico da infecção é feito a partir da detecção das larvas infectantes ou através da observação de vermes adultos no proventrículo durante a necropsia das aves. Os sinais clínicos da infecção incluem anorexia, perda de peso, anemia, enfraquecimento generalizado da musculatura, letargia, além de retardamento do desenvolvimento.

Codiostomum struthionis é um nematoide parasita do ceco dessas aves e embora sua alimentação consista de células da mucosa cecal, é considerado como um parasito não patogênico, no entanto, a sua patologia é pouco conhecida e provavelmente devido às infecções não apresentarem manifestações clínicas aparentes, além da ocorrência dessa espécie estar sendo negligenciada pela confusão de seus ovos com os do gênero *Libyostrongylus*.

Justifica-se, portanto, estudos sobre a epidemiologia, morfologia e patologia de espécie de nematoides que acometem as avestruzes objetivando um melhor esclarecimento sobre a importância desses parasitas na produtividade e sanidade dos rebanhos do Brasil.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. AVESTRUZES, *Struthio camelus* LINNAEUS, 1758

As avestruzes são herbívoras, monogástricas e de estômago simples, sendo a maior ave viva na natureza (HUCHZERMEYER, 2005). É um animal de atividade diurna, criado em grupos quando jovens e para o abate, e em casais ou trios quando em reprodução (AICHINGER et al., 2007). A espécie *S. camelus* é subdividida em cinco diferentes subespécies: *S. camelus camelus*, *S. camelus massaicus*, *S. camelus molybdophanes*, *S. camelus australis* e *S. camelus syriacus*. As raças hoje conhecidas partiram de cruzamentos entre as subespécies, que ocupam regiões específicas do continente africano. As principais raças comercializadas são a “African Black”, “Red Neck” e “Blue Neck”. Entre elas a de maior importância comercial é a “African Black” (*S. camelus* var. *domesticus*), cujo processo de seleção teve início em 1863, tendo como principais características selecionadas a docilidade, o menor porte, produção de grande quantidade de plumas de boa qualidade e maior área da pele para a produção de couro (CARRER; KORNFIELD, 1999).

Estas aves podem atingir uma altura máxima de três metros, pesando cerca de 150 kg. Os machos adultos são pretos e brancos, enquanto que as fêmeas são castanhas pardas. Cada fêmea bota 60 ovos por ano em média, produzindo até 20 filhotes por ano. Os ovos medem entre 15 e 20 cm, pesam de 1 a 2 kg e sua incubação dura 42 dias. Os animais estão prontos para o abate com 15 meses de idade, pesando em torno de 100 kg, com aproveitamento de 30 kg de carne, 1,4 m² de couro, além das plumas. A carne da avestruz é vermelha, macia, é uma excelente fonte de ferro, ômega 3, ômega 6 e ômega 9, é menos calórica, comparada às outras espécies, e contém baixos índices de colesterol e gorduras. A vida produtiva de uma fêmea é de 30 a 35 anos e seu início de postura acontece aos dois anos de idade. Já o macho inicia sua vida reprodutiva aos dois anos e meio de idade. A expectativa de vida das avestruzes é de 65 a 70 anos (ACAB, 2007). Embora o couro e a carne sejam as maiores fontes de lucro, as plumas representam excelente abertura no mercado brasileiro, onde 15 toneladas/ano são importadas para festas populares (ACAB, 2007).

A exploração das avestruzes teve início entre os séculos 16 e 17 no continente africano com a finalidade de fornecer plumas para a realeza (BLACK, 2001). A estrutuicultura, termo originário do latim, *Struthio* (avestruz) + *cultura* (criação), foi iniciada, na África do Sul, no fim do século XIX, visando também à obtenção de plumas de forma padronizada. Com o tempo o interesse pelo couro e pela carne cresceu progressivamente (HUCHZERMEYER, 2002). Atualmente, os maiores países criadores de avestruzes são: África do Sul, Israel, Austrália, Canadá, Estados Unidos, Itália, Espanha, França e China (ACAB, 2007).

A exploração racional da avestruz no Brasil teve seu início em 1995, quando começaram as primeiras importações de aves provenientes dos Estados Unidos e Espanha (AICHINGER et al., 2007). Os principais motivos que deram início a estrutuicultura no Brasil foi que para a implantação de uma criação não há necessidade de grandes extensões de terra, a reprodutividade é alta (uma fêmea pode gerar 20 pintos por ano) e o animal, ao ser abatido, possui grande versatilidade de produtos. Em 2006, o Brasil contava com um rebanho de aproximadamente 400 mil aves (Figura 1.1), 3.200 criadores, 29 associações estaduais e regionais, 25 cooperativas e respectivas federações regionais, com a maior concentração nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste. O Brasil também se destacou, sendo o segundo maior produtor de avestruzes do mundo, ficando atrás apenas da África do Sul, país de onde a avestruz é originária e se destaca como o quinto país com o maior número de aves abatidas no ano de 2006 (Quadro 1.1) (AICHINGER et al., 2007).

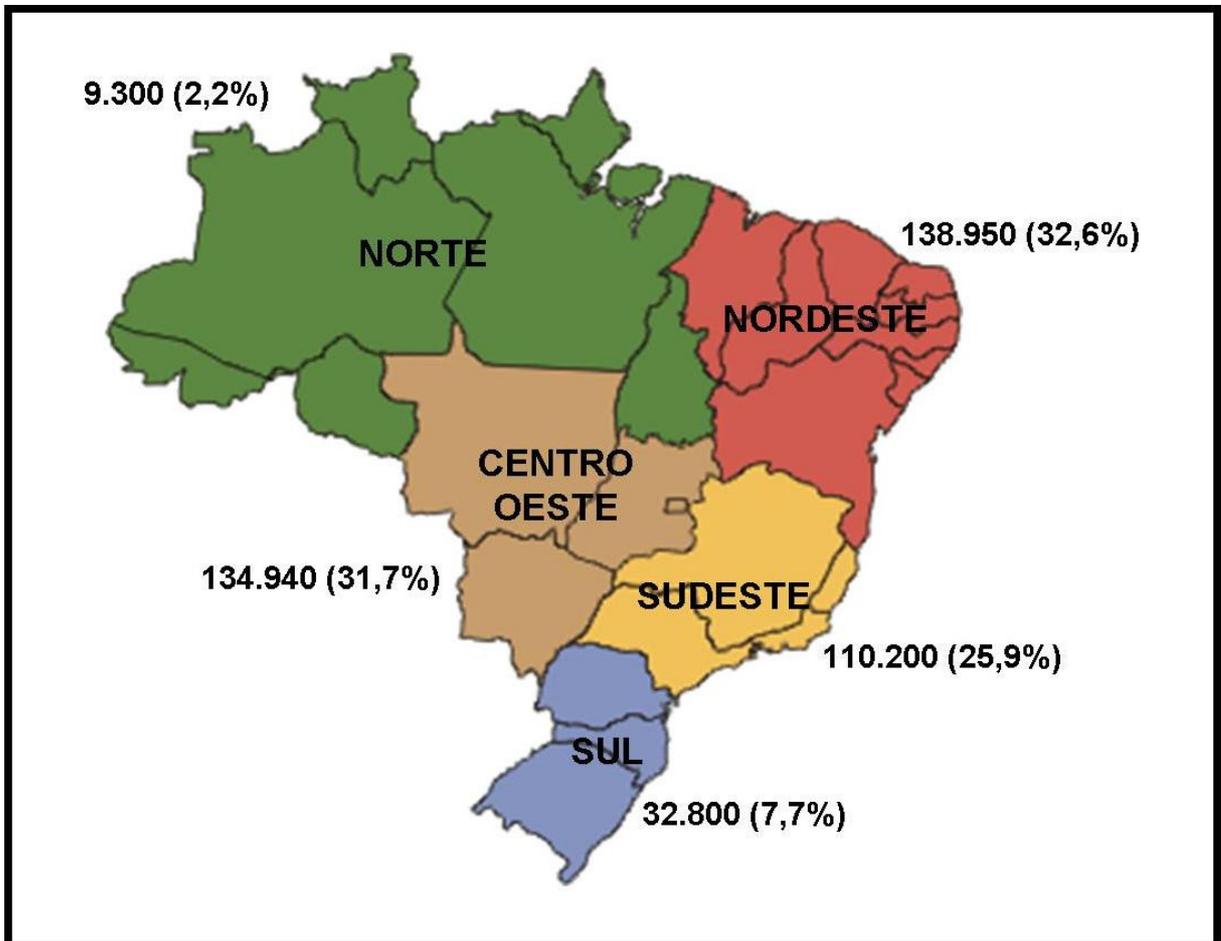


Figura 1.1. Distribuição do plantel nacional de avestruzes no ano de 2006 (AICHINGER et al., 2007).

Quadro 1.1. Número de avestruzes abatidas nos principais países nos anos de 2005 e 2006. (AICHINGER et al., 2007).

País	Aves Abatidas	
	2005	2006
África do Sul	150.000	200.000
China	50.000	100.000
Austrália	12.000	22.500
Zimbabwe	20.000	20.000
BRASIL	1.774	14.306
EUA	10.000	13.500
Hungria	8.000	12.000
Israel	10.000	10.000
Filipinas	5.000	7.500
Espanha	7.000	7.000
Total	273.774	406.806

1.2.2. PARASITAS DE AVESTRUZES

Uma variada fauna parasitária pode ser encontrada parasitando as avestruzes (Figura 1.2). Segundo Huchzermeyer (2005), apenas *Libyostrongylus* spp. e *Houttuynia struthionis* são considerados específicos das avestruzes. No entanto, Zettermann et al. (2005) encontraram *H. struthionis* parasitando emas de vida livre em pesquisa realizada no Pantanal no Mato Grosso do Sul, Brasil. Além destes, *Codiostomum struthionis* pode ser encontrado parasitando o ceco das avestruzes, mas sem causar patologia aparente (HUCHZERMEYER, 2005).

1.2.2.1. Gênero *Libyostrongylus*

Os nematoides do gênero *Libyostrongylus* pertencem à família Trichostrongylidae, possuem coloração avermelhada em vida (SOULSBY, 1982). Por ser hematófago são considerados patogênicos para os animais. Localizam-se logo abaixo da membrana do proventrículo, enquanto as formas jovens penetram profundamente nas glândulas proventriculares, onde residem e obstruem os ductos, causando uma severa irritação, resultando em proventriculite difterítica (CRAIG; DIAMOND, 1996). A patologia é caracterizada por necrose do proventrículo, sendo responsável pela mortalidade de mais de 50% das aves juvenis na África do Sul (REINECKE, 1983).

O gênero *Libyostrongylus* é composto por três espécies, *L. douglassii*, *L. dentatus* e *L. magnus*, caracterizadas por diferenças morfológicas dos adultos. Dessas, *L. douglassii* é considerada a mais patogênica (HOBERG et al., 1995), sendo o principal parasita de avestruzes nos trópicos (MUKARATIRWA et al., 2004) e considerado um nematoide resistente às mudanças ambientais, resistindo a extremos de temperatura (JANSSON et al., 2002). Apenas *L. douglassii* e *L. dentatus* foram descritos fora do continente africano (HOBERG et al., 1995) e infecções mistas entre estas duas espécies são comuns (HOBERG et al., 1995; MCKENNA, 2005).

Libyostrongylus douglassii tem o ciclo de vida direto (Figura 1.3), típico dos Trichostrongylidae, com um período de pré-patência, ou seja, período desde a

ingestão da larva até a eliminação de ovos nas fezes do hospedeiro, de aproximadamente 36 dias (THEILER; ROBERTSON, 1915). O diagnóstico da infecção por *Libyostrongylus* spp. é feito a partir da detecção das larvas infectantes recuperadas de cultivos fecais, que possuem uma protuberância arredondada na ponta da cauda da larva (BARTON; SEWARD, 1993). Já o diagnóstico específico é dado pela morfometria e morfologia da cauda da bainha das larvas infectantes, onde *L. douglassii* possui cauda da bainha curta, com terminação aguda, enquanto que *L. dentatus* possui cauda da bainha longa e filamentosa (EDERLI et al., 2009b). O diagnóstico das espécie também pode ser feito através da observação de vermes adultos no proventrículo durante a necropsia das aves (COOPER, 2005). Os ovos típicos destes Tricostrongilideos medem aproximadamente 72 x 41 µm e não podem ser diferenciados dos ovos de *C. struthionis* que são aparentemente idênticos (BARTON; SEWARD, 1993).

Os sinais clínicos da infecção incluem anorexia, perda de peso, anemia (BARTON; SEWARD, 1993), enfraquecimento generalizado da musculatura, letargia (MUKARATIRWA et al., 2004) e retardamento do desenvolvimento (SOULSBY, 1982).

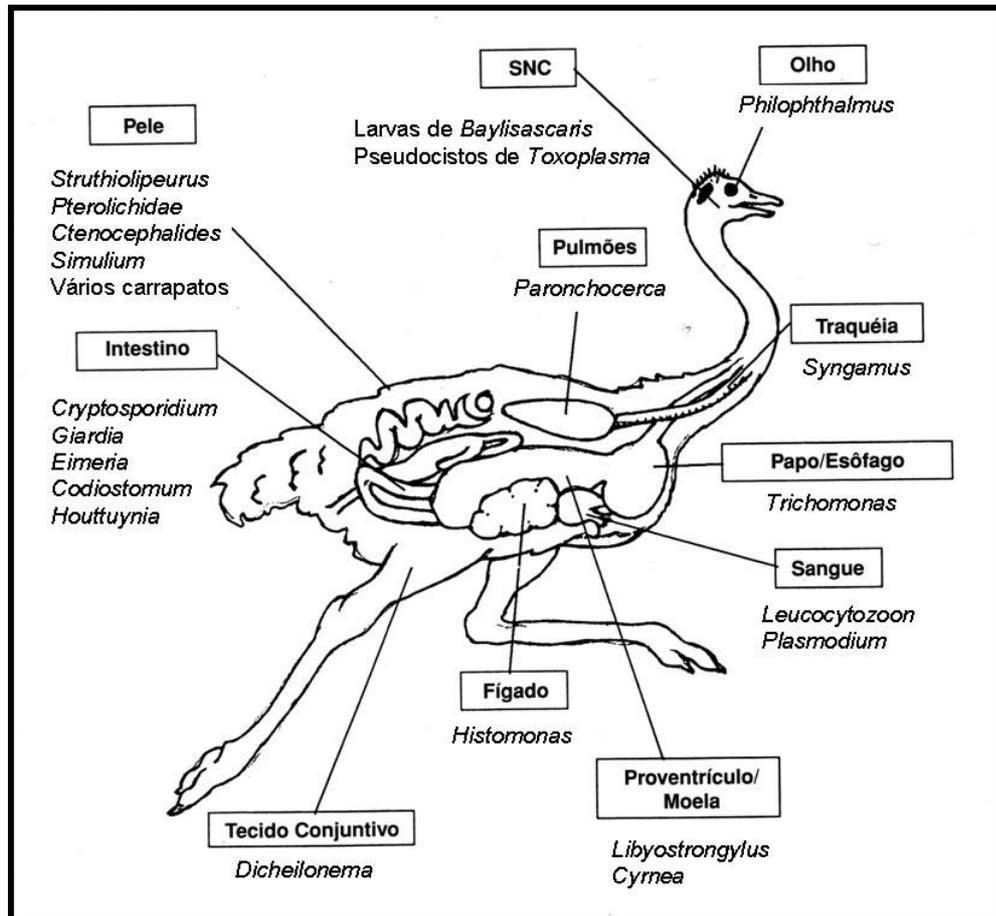


Figura 1.2. Localização dos principais parasitas encontrados nas avestruzes. (Adaptado de FOREYT, 2005).

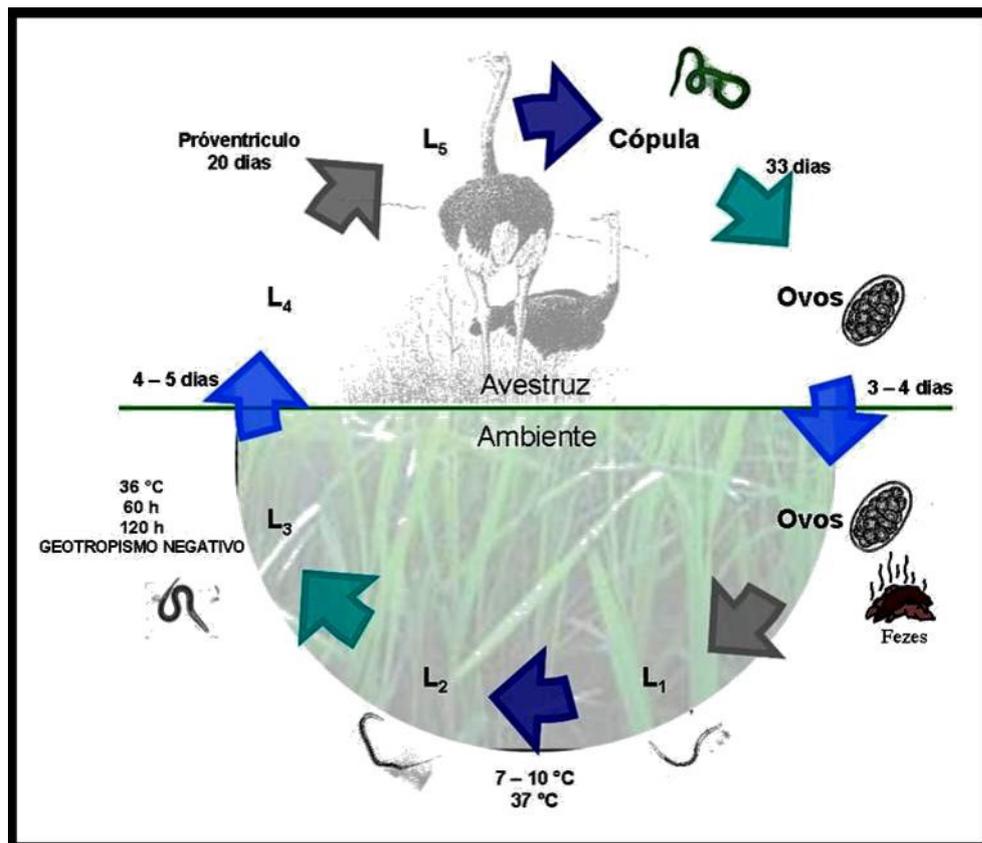


Figura 1.3. Ciclo de vida de *Libyostrongylus douglassii*. (EDERLI, 2006).

1.2.2.2. *Codiostomum struthionis*

Codiostomum struthionis é um nematoide parasita do ceco das avestruzes, pertencente à família Strongylidae. Este gênero é composto por esta única espécie (LICHTENFELS, 1980), sendo considerada específica das avestruzes (FOREYT, 2005; CRAIG; DIAMOND, 1996). Embora sua alimentação consista de células da mucosa cecal, como os nematoides da família Strongylidae (LICHTENFELS, 1980), sua patologia ainda é pouco conhecida e segundo Huchzermeyer (2005) é considerado, por muitos autores, um parasito não patogênico, podendo causar anemia e prejudicar o desenvolvimento das aves (CRAIG; DIAMOND, 1996) e nos rebanhos saudáveis seu efeito é despercebido.

Segundo Ponce Gordo et al. (2002), a ocorrência de *C. struthionis* pode estar sendo negligenciada na Europa, pela possível confusão de seus ovos com os do gênero *Libyostrongylus*, e provavelmente, o mesmo fato esteja ocorrendo em outros continentes, inclusive no Brasil. Isto porque o diagnóstico diferencial entre estas espécies é feito através das larvas infectantes, após cultura fecal (EDERLI et al., 2008b). Estas apresentam a extremidade da cauda da larva aguda e cauda da bainha longa e filamentosa, enquanto que as larvas infectantes de *Libyostrongylus* spp. apresentam uma protuberância arredondada na extremidade da cauda, semelhante à extremidade de um cotonete, sendo este o caractere diagnóstico para o gênero *Libyostrongylus*. Importante ressaltar que a cauda da bainha das larvas infectantes de *C. struthionis* é semelhante à de *L. dentatus*, longa e afilada, o que pode resultar em erro no diagnóstico (EDERLI et al., 2008a). Sua morfologia e ultraestrutura foi recentemente descrita por Ederli et al. (2008a).

A patologia de *C. struthionis* é desconhecida, provavelmente, devido a infecções não apresentarem manifestações clínicas aparentes (HUCHZERMEYER, 2005). O diagnóstico dos parasitas adultos geralmente ocorre em achados de necropsia de patologias relacionadas ao parasitismo por *Libyostrongylus* spp. que causa necrose de proventrículo, impactação do conteúdo proventricular ou através de outras causas que venham a acarretar em morte do animal (CRAIG; DIAMOND, 1996). Devido à sua suposta inofensividade, Huchzermeyer (2005), descarta a necessidade de tratamento das avestruzes para as infecções por estes nematoides, embora o tratamento regular contra *Libyostrongylus* spp. também seja eficiente contra este parasita.

1.3. MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1. LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

Os exames laboratoriais foram realizados no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Parasitologia (NUPAP) do Laboratório de Sanidade Animal (LSA) do Hospital Veterinário (HV) da UENF.

1.3.2. ANIMAIS UTILIZADOS

Para os exames fecais foram coletadas 192 amostras de fezes de avestruzes de 13 criatórios comerciais de nove municípios do Estado do Rio de Janeiro, nas seguintes mesorregiões: (1) Norte Fluminense: Campos dos Goytacazes e São Francisco do Itabapoana; (2) Baixada Litorânea: Araruama, Cabo Frio, Casimiro de Abreu e Saquarema; (3) Centro Fluminense: Três Rios; (4) Sul Fluminense: Valença; (5) Metropolitana: Miguel Pereira. As amostras foram coletadas diretamente do solo, logo após a defecação do animal. Cada amostra foi acondicionada em saco plástico, devidamente identificado. Todo o cuidado foi tomado para não se coletar a parte das fezes em contato com o solo, a fim de se evitar contaminação. Os sacos plásticos foram acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados ao laboratório para a realização dos exames fecais.

As avestruzes utilizadas no presente estudo, para diferenciação do sítio de localização dos nematoides do gênero *Libyostrongylus* no proventrículo, bem como para descrição das patologias causadas por *C. struthionis* nos cecos, foram provenientes de abates comerciais de 30 aves, ocorridos no município de Quissamã, Estado do Rio de Janeiro (22°05'23" S; 41°41'48" W), realizados no ano de 2009.

1.3.3. EXAMES FECAIS

1.3.3.1. Contagem de Ovos por Grama de Fezes – OPG

Foram utilizadas quatro gramas de fezes por animal para cada quantificação de ovos por grama de fezes (OPG) utilizando-se a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939).

As amostras fecais foram diluídas com 58 ml de solução salina contendo 1 kg de sal de cozinha (NaCl) para 2 L de água destilada. As amostras foram filtradas em gase dupla, montada em placas de McMaster e observadas e quantificadas ao microscópio óptico. A quantidade de ovos encontrados nos dois campos da placa foi multiplicada por 50, conforme Gordon e Whitlock (1939). Foram realizadas duas contagens de OPG para cada animal.

1.3.3.2. Cultivos Fecais

Foram realizados cultivos fecais para a obtenção das larvas infectantes. Em cada coprocultura foram colocados quatro gramas de fezes. As amostras fecais foram colocadas em copos plásticos com capacidade para 60 ml previamente identificados. Os copos plásticos contendo as amostras de fezes foram incubados em vasilhames de plástico contendo fina camada de água destilada e coberta com filme plástico para prevenir a perda de umidade durante 10 dias à temperatura de 25 - 27°C. Após a incubação, cada copo plástico foi preenchido com água destilada colocando-se na borda dos copos uma placa de Petri e logo após feita a inversão do conjunto copo-placa. Na placa de Petri foram adicionados 10 ml de água destilada e após quatro horas as larvas infectantes que migraram do copo para a placa de Petri foram pipetadas. As larvas recuperadas foram armazenadas sob refrigeração até serem quantificadas e identificadas. A identificação das larvas foi feita de acordo com os critérios estabelecidos por Ederli et al. (2008a, 2008b), utilizando-se microscópio óptico equipado com contraste interferencial (DIC).

1.3.4. DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE *Libyostrongylus douglassii* E *L. dentatus* NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES

Dos 30 proventrículos coletados 20 foram oriundos do município de Três Rios (na região Sul Fluminense) e 10 do município de Cabo Frio (região da Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro). Estes foram coletados separadamente e armazenados em sacos plásticos devidamente identificados, acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados ao NUPAP/UENF.

A análise dos proventrículos foi realizada imediatamente após a chegada destes ao laboratório, a fim de se evitar a migração dos parasitas. Os proventrículos foram abertos e examinados para a presença e localização dos nematoides com auxílio de estereomicroscópio. Os parasitas coletados foram separados de acordo com o local de infecção (*i. e.*) inserido na membrana coilina ou abaixo da membrana coilina em placas de Petri contendo solução fisiológica (NaCl 0,09%). Após a coleta, os nematoides foram fixados em A.F.A. (álcool 70%, 93 ml; formaldeído, 5 ml; ácido acético, 2 ml) aquecido a 70 °C por 24h e transferidos posteriormente para solução contendo álcool 70% e glicerina 5%, para posterior identificação das espécies.

Os vermes foram identificados utilizando-se microscópio óptico, com base nos seguintes caracteres morfológicos: (a) comprimento total; (b) presença ou ausência de dentes esofageais proeminentes; (c) comprimento do ovijetor; (d) morfologia da extremidade da cauda das fêmeas; (e) estrutura do raio dorsal da bolsa copuladora dos machos e; (f) morfologia dos espículos dos machos.

Os espécimes foram depositados na coleção parasitológica do Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter, da Universidade de Nebraska-Lincoln (UNL), nos Estados Unidos.

1.3.5. ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE ADULTOS E LARVAS INFECTANTES DE NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES

Para a elaboração de uma chave de identificação dicotômica das espécies de nematoides dos gêneros *Libyostrongylus* e *Codiostomum*, parasitas de avestruzes, foram analisadas as diferenças morfológicas de espécimes adultos coletados durante a necropsia das avestruzes, e de dados previamente publicados (SKRJABIN, 1961; HOBERG, et al., 1995; EDERLI, 2006; EDERLI et al., 2008c); bem como, a comparação da morfologia das larvas infectantes (terceiro estágio) provenientes de cultivos fecais destas aves, visando à distinção específica, de acordo com Ederli et al. (2008a; 2008b).

1.3.6. PATOLOGIA

As 10 avestruzes adultas abatidas, oriundas de Cabo Frio, tiveram seus cecos coletados separadamente, acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados, armazenados sob refrigeração em caixas isotérmicas.

Os cecos foram abertos e examinados para a presença de parasitas. Os nematoides foram coletados, lavados em solução fisiológica (NaCl 0,09%), fixados em AFA aquecido, clarificados em Lactofenol de Amann e identificados segundo Ederli et al. (2008a), separados em machos e fêmeas e quantificados. As populações foram comparadas utilizando-se o teste *t* de Student (SAMPAIO, 2007).

Após a abertura dos cecos e retirada de seu conteúdo, estes foram cuidadosamente lavados com água corrente para posterior exposição da mucosa para evidenciação das lesões macroscópicas. Estas foram fotografadas com câmera digital Sony Cyber-Shot® modelo DSC-P73. Para exames histopatológicos, fragmentos do ceco foram fixados em formalina 10% tamponada e posteriormente embebidos em parafina, cortados em seções de 5-6 µm de espessura, corada pela hematoxilina e eosina e observada ao microscópio óptico.

1.4. RESULTADOS

1.4.1. EXAMES FECAIS

Os ovos apresentaram características típicas de Strongylidae (Figura 1.4). A média de OPG no Estado do Rio de Janeiro foi 1.533,07, sendo Três Rios o município com menor média (26,47), localizado na mesorregião Centro Fluminense, e o município com maior média de OPG foi Campos dos Goytacazes (3.860), no Norte Fluminense. O Norte Fluminense foi a mesorregião com maior contagem de ovos por grama de fezes, seguida das mesorregiões Sul Fluminense, Metropolitana, Baixada Litorânea e Centro Fluminense (Tabela 1.1).

A análise das larvas recuperadas dos cultivos fecais revelou a presença de *L. douglassii*, *L. dentatus* e *C. struthionis* no rebanho de avestruzes no Estado do Rio de Janeiro (Figura 1.5). No entanto, as infecções por *C. struthionis* não estão presentes na mesorregião Norte Fluminense, onde foram examinadas quatro propriedades de dois municípios (Campos dos Goytacazes e São Francisco do Itabapoana) e no Centro Fluminense, onde foram examinadas amostras fecais de uma única propriedade do município de Três Rios. Além disto, *C. struthionis* não foi encontrado em uma propriedade no município de Saquarema, na Baixada Litorânea, onde foram analisadas seis propriedades.

O número médio de larvas infectantes por grama de fezes observado no Estado do Rio de Janeiro de *L. douglassii*, *L. dentatus* e *C. struthionis* foi de 1.719,65, 167,82 e 31,51, respectivamente (Tabela 1.1). As espécies do gênero *Libyostrongylus* foram descritas em todas as 13 propriedades analisadas, com uma frequência média variando de 0 a 100% (Tabela 1.2). Observou-se uma diferença estatística na frequência *L. douglassii*, *L. dentatus* e *C. struthionis*, com maior frequência de *L. douglassii* e menor frequência de *C. struthionis*, no Estado do Rio de Janeiro (Tabela 1.2). O mesmo fato foi observado nas mesorregiões Norte e Baixada Litorânea. No entanto, no município de Três Rios, observou-se uma frequência de *L. dentatus* estatisticamente superior a *L. douglassii* (Tabela 2). Neste município não foram observadas larvas de *C. struthionis* nas fezes das avestruzes examinadas. Nas mesorregiões Sul Fluminense e Metropolitana, não se observou diferença estatística entre as frequências de *L. dentatus* e *C. struthionis* (Tabela 1.2).



Figura 1.4. Micrografia óptica (DIC) de ovo típico de Strongylidae, presente nas fezes de avestruzes, *Struthio camelus*. Barra: 30 µm.

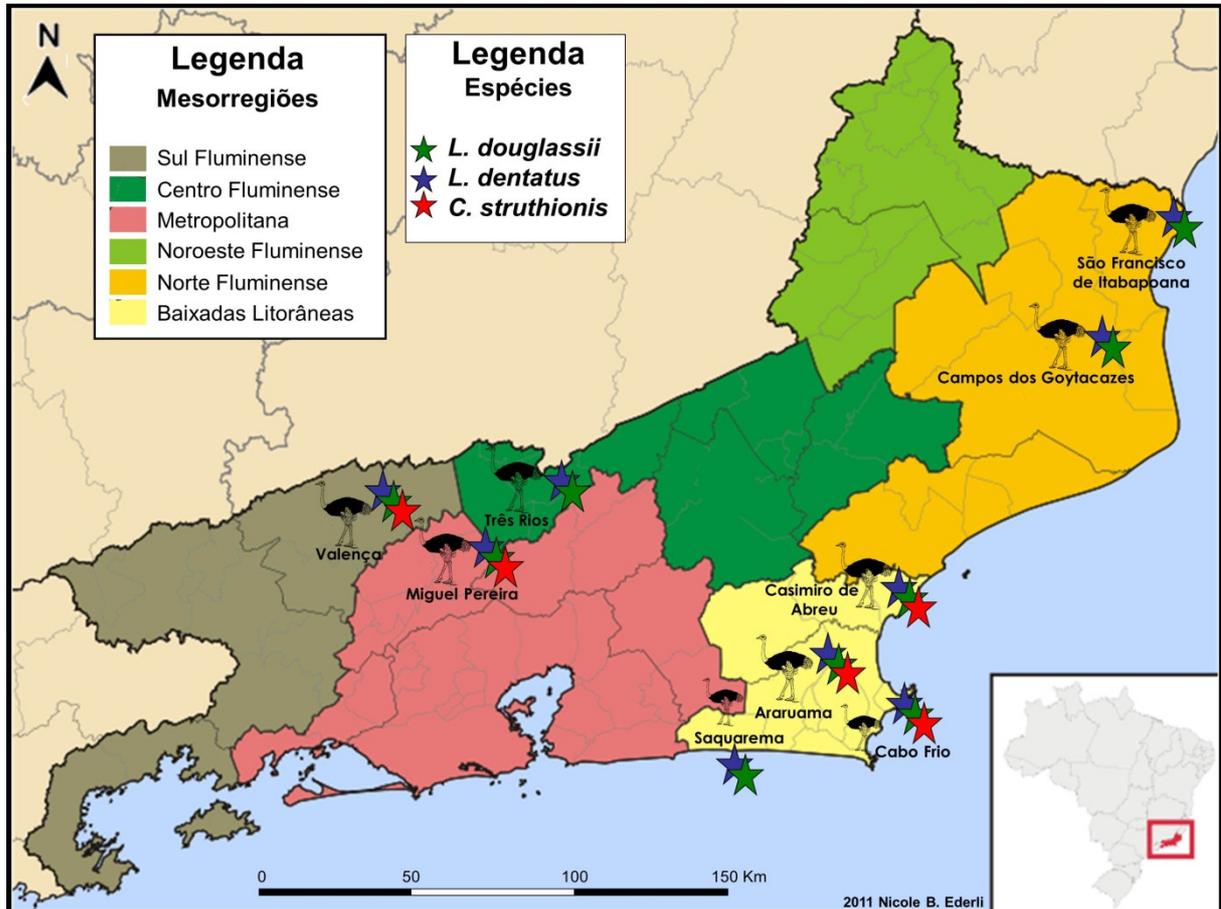


Figura 1.5. Mapa do Estado do Rio de Janeiro, com as mesorregiões e municípios, evidenciando a distribuição de nematoides gastrintestinais nos municípios analisados.

Tabela 1.1. Situação da carga parasitária de avestruzes, *Struthio camelus*, criadas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Valores médios \pm desvio padrão, seguidos dos valores mínimos e máximos, entre parênteses.

Mesorregiões/Municípios	Número de propriedades	Número de amostras	Por grama de fezes			
			Ovos	Larvas		
				<i>Libyostrongylus douglassii</i>	<i>Libyostrongylus dentatus</i>	<i>Codiostomum struthionis</i>
Norte Fluminense	4	33	3.254,54 \pm 3.541,30 (0 – 11.850)	3.081,60 \pm 2.908,90 (68 – 9.264)	454,99 \pm 572,85 (0 – 2.312)	0
Campos dos Goytacazes	1	5	3.860 \pm 2.370,20 (0 – 6.100)	4.513,49 \pm 853,47 ¹ (3.326 – 5.200)	311,51 \pm 486,81 (0 – 1.037)	0
São Francisco do Itabapoana	3	28	3.146,43 \pm 3.735,10 (0 – 11.850)	2.832,57 \pm 3.076,30 (68 – 9.264)	479,95 \pm 592,55 (0 – 2.312)	0
Baixada Litorânea	6	121	1.168,60 \pm 2.391,70 (0 – 16.900)	1.391,64 \pm 2.553,10 (24 – 16.900)	98,49 \pm 145,70 (0 – 810)	21,51 \pm 128,50 (0 – 1.215)
Araruama	1	18	544,44 \pm 764,06 (0 – 2.600)	652,96 \pm 814,94 (75 – 2470)	71,22 \pm 75,02 (7 – 288)	20,28 \pm 54,60 (0 – 200)
Cabo Frio	2	33	887,88 \pm 2.333 (0 – 13.500)	942,83 \pm 2.293,10 (81 – 11.475)	123,01 \pm 224,37 (0 – 810)	63,33 \pm 246,37 (0 – 1.215)
Casimiro de Abreu	2	35	380 \pm 734,37 (0 – 3.300)	523,15 \pm 817,27 (24 – 3.300)	76,56 \pm 96,62 (0 – 374)	4,57 \pm 10,36 (0 – 42)
Saquarema	1	35	2.542,86 \pm 3.371,70 (0 – 16.900)	2.588,06 \pm 3.420,90 (92 – 16.900)	106,03 \pm 121,68 (0 – 494)	0
Centro Fluminense	1	17	26,47 \pm 50,37 (0 – 200)	14,60 \pm 32,06 (0 – 80)	60,41 \pm 29,22 (47 – 120)	0
Três Rios	1	17	26,47 \pm 50,37 (0 – 200)	14,60 \pm 32,06 (0 – 80)	60,41 \pm 29,22 (47 – 120)	0
Sul Fluminense	1	6	2.433,33 \pm 2.937,10 (800 – 8.400)	2.189,40 \pm 2.561,50 (737 – 7.392)	154,63 \pm 184,76 (0 – 504)	89,31 \pm 203,31 (0 – 504)
Valença	1	6	2.433,33 \pm 2.937,10 (800 – 8.400)	2.189,40 \pm 2.561,50 (737 – 7.392)	154,63 \pm 184,76 (0 – 504)	89,31 \pm 203,31 (0 – 504)
Metropolitana	1	15	2.033,30 \pm 4.910,10 (100 – 19.600)	1.774,06 \pm 4.466,00 (75 – 17.763)	124,40 \pm 154,01 (0 – 613)	134,88 \pm 309,98 (0 – 1.225)
Miguel Pereira	1	15	2.033,30 \pm 4.910,10 (100 – 19.600)	1.774,06 \pm 4.466,00 (75 – 17.763)	124,40 \pm 154,01 (0 – 613)	134,88 \pm 309,98 (0 – 1.225)
TOTAL	13	192	1.533,07 \pm 2.920,90 (0 – 19.600)	1.719,65 \pm 2.881,60 (0 – 17.763)	167,82 \pm 307,81 (0 – 2.312)	31,51 \pm 150,28 (0 – 1.225)

Tabela 1.2. Frequência de larvas de nematoides em fezes de avestruzes, *Struthio camelus*, no Estado do Rio de Janeiro. Valores médios \pm desvio padrão, seguidos dos valores mínimos e máximos, entre parênteses.

Municípios	Nº de propriedades	Nº de amostras	Larvas Infectantes (%)			Valor de p
			<i>Libyostrongylus douglassii</i>	<i>Libyostrongylus dentatus</i>	<i>Codiostomum struthionis</i>	
Norte Fluminense	4	33	86,28 \pm 12,96 (56-100)^A	13,65 \pm 12,85 (0-44)^B	0^C	< 0,0001
Campos dos Goytacazes	1	5	94,47 \pm 7,75 (83-100) ^A	5,53 \pm 7,75 (0-17) ^B	0 ^B	
São Francisco do Itabapoana	3	28	85,02 \pm 13,24 (56-100) ^A	14,90 \pm 13,12 (0-44) ^B	0 ^C	
Baixada Litorânea	6	121	82,18 \pm 19,34 (13,64-100)^A	15,84 \pm 18,51 (0-86,36)^B	1,84 \pm 3,91 (0-20)^C	
Araruama	1	18	81,65 \pm 14,29 (50-99) ^A	16,55 \pm 13,62 (1-47,96) ^B	1,80 \pm 2,57 (0-7,84) ^C	
Cabo Frio	2	33	82,48 \pm 16,95 (18,92-100) ^A	13,58 \pm 16,14 (0-81,08) ^B	3,59 \pm 5,56 (0-20) ^C	
Casimiro de Abreu	2	35	71,62 \pm 25,96 (13,64-100) ^A	26,14 \pm 25,28 (0-86,36) ^B	2,20 \pm 4,01 (0-14,7) ^C	
Saquarema	1	35	92,11 \pm 7,52 (69-100) ^A	7,71 \pm 7,09 (0-26) ^B	0 ^C	
Centro Fluminense	1	17	10,90 \pm 16,20 (0-61,11)^A	83,80 \pm 24,97 (9,34-100)^B	0^A	
Três Rios	1	17	10,90 \pm 16,20 (0-61,11) ^A	83,80 \pm 24,97 (9,34-100) ^B	0 ^A	
Sul Fluminense	1	6	92,08 \pm 5,07 (86-100)^A	6,43 \pm 4,35 (0-13)^B	1,49 \pm 2,34 (0-6)^B	
Valença	1	6	92,08 \pm 5,07 (86-100) ^A	6,43 \pm 4,35 (0-13) ^B	1,49 \pm 2,34 (0-6) ^B	
Metropolitana	1	15	78,05 \pm 13,97 (46,97-100)^A	14,48 \pm 11,32 (0-38,10)^B	7,47 \pm 7,11 (0-20)^B	
Miguel Pereira	1	15	78,05 \pm 13,97 (46,97-100) ^A	14,48 \pm 11,32 (0-38,10) ^B	7,47 \pm 7,11 (0-20) ^B	
TOTAL	13	192	75,69 \pm 27,92 (0-100)^A	21,90 \pm 27,32 (0-100)^B	1,79 \pm 4,12 (0-20)^C	< 0,0001

Frequências nas linhas, com letras iguais sobrescritas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%.

1.4.2. DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE *Libyostrongylus douglassii* E *L. dentatus* ADULTOS NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES

Todas as avestruzes estavam parasitadas por *L. douglassii* e *L. dentatus*. Foram observados locais distintos de infecção, ou seja, alguns parasitas foram encontrados abaixo da membrana coilina enquanto outros estavam inseridos, de forma enovelada, nesta membrana (Figura 1.6 A). A maioria dos nematoides foi encontrada na superfície da mucosa do proventrículo, logo abaixo da membrana coilina e foram identificados como *L. douglassii* (Figura 1.6 B), enquanto que os nematoides que foram encontrados inseridos na membrana coilina foram identificados como *L. dentatus* (Figuras 1.6 C e D). Foi encontrado um pequeno número de espécimes de *L. dentatus* juntamente com os de *L. douglassii*, no entanto, esta última espécie não foi encontrada inserida na membrana coilina.

Os proventrículos derivados do município de Cabo Frio estavam altamente parasitados, com predominância de *L. douglassii*, enquanto que os animais de Três Rios tiveram predominância de *L. dentatus* e apresentaram um pequeno número de espécimes de *L. douglassii* nos proventrículos quando comparados com os animais de Cabo Frio.

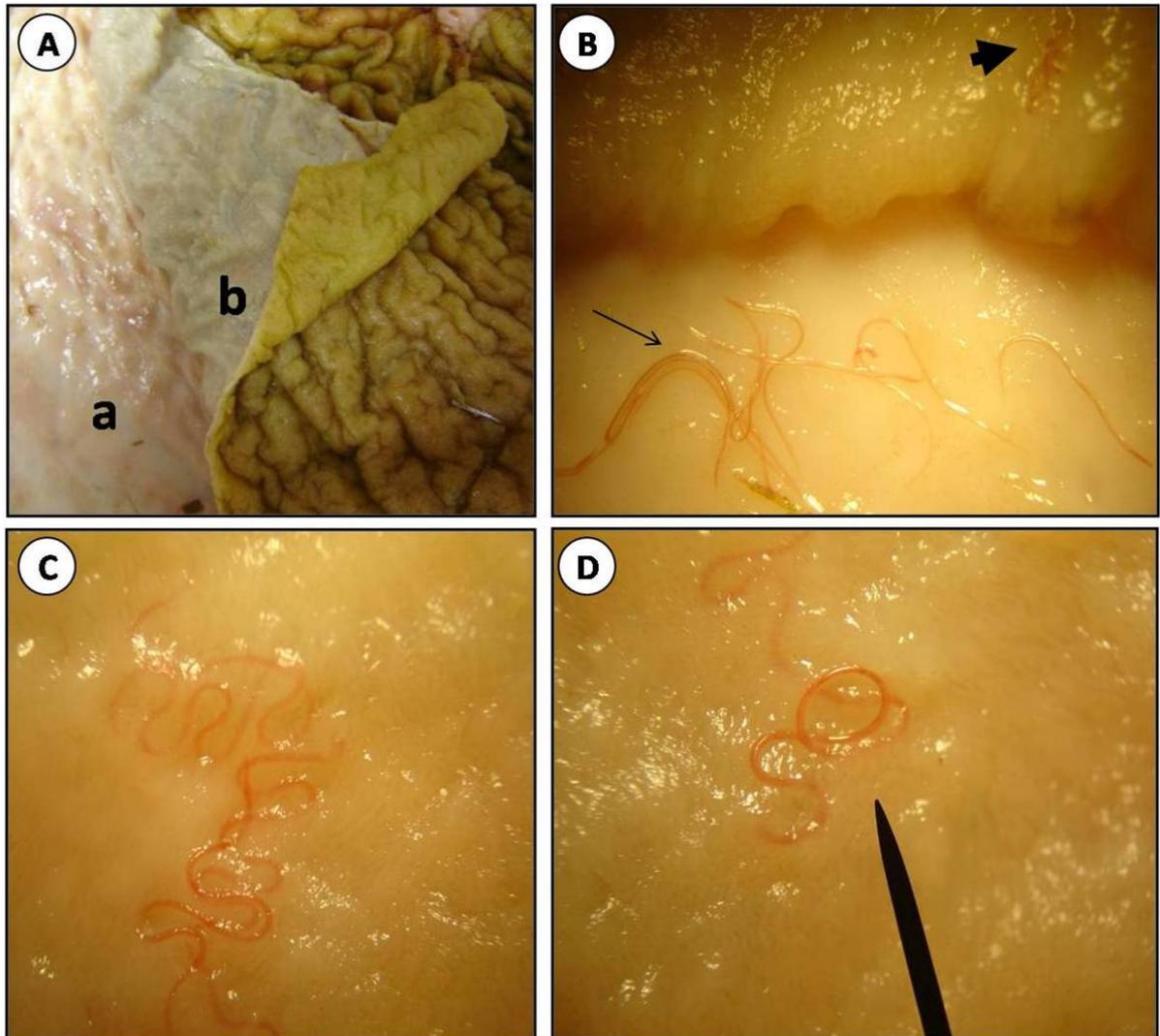


Figura 1.6. Proventrículo de avestruzes, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758. **A.** Localização diferencial de *Libyostrongylus douglassii* (a) e *L. dentatus* (b) na superfície do proventrículo; **B.** *Libyostrongylus douglassii* na mucosa do proventrículo (seta) e *L. dentatus* inserido na membrana coilina (ponta de seta); **C e D.** Espécimes de *L. dentatus* inseridos na membrana coilina.

1.4.3. ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES

1.4.3.1. Chave de identificação de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais parasitas de avestruzes, *Struthio camelus*

- 1a Presença de uma protuberância arredondada na extremidade da cauda da larva infectante (Figuras 1.7 A, B) 2
- 1b Ausência de protuberância na extremidade da cauda da larva infectante (Figura 1.7 C) *Codiostomum struthionis*
- 2a Cauda da bainha curta (Figura 1.7 A) *Libyostrongylus douglassii*
- 2b Cauda da bainha longa (Figura 1.7 B) *Libyostrongylus dentatus*

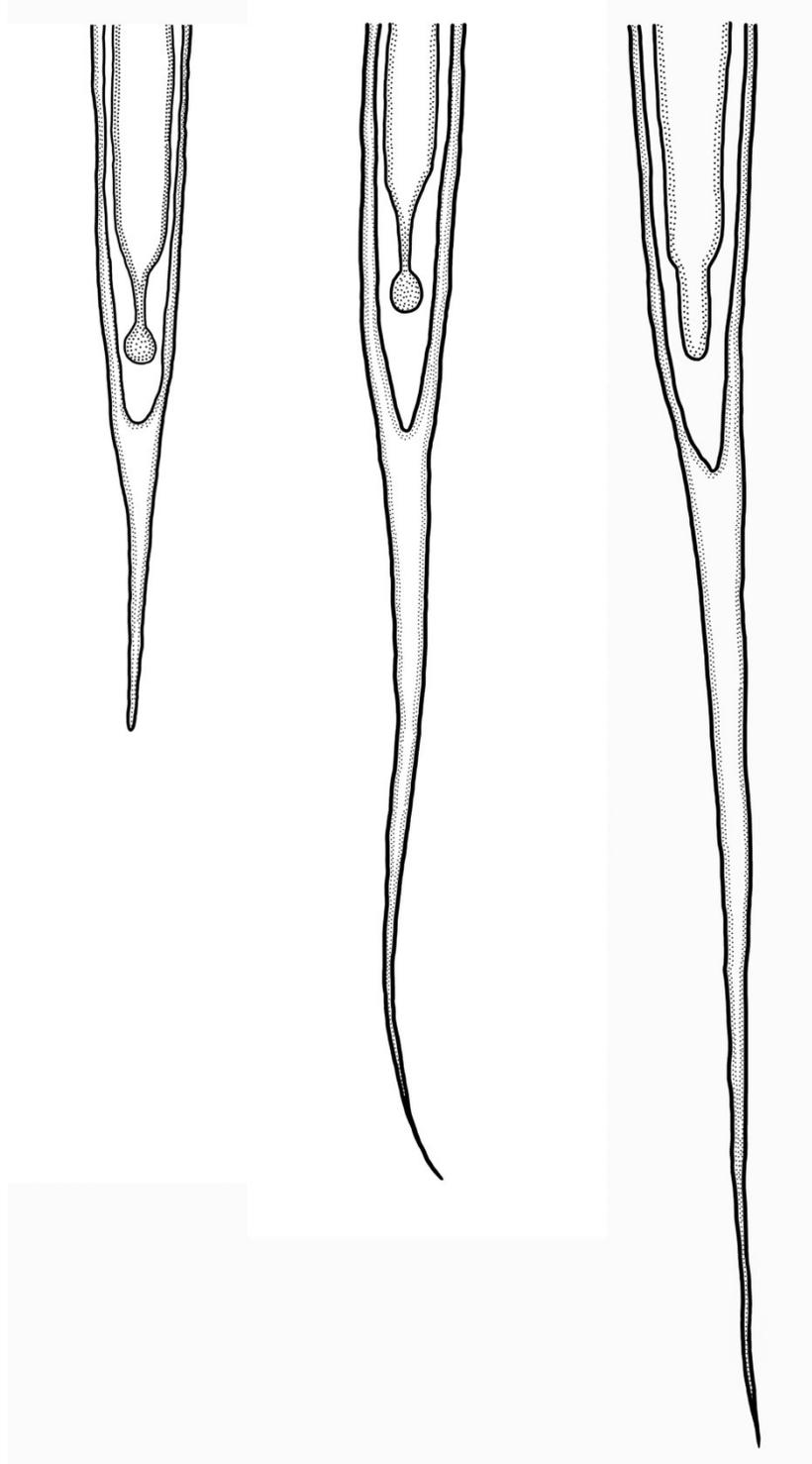


Figura 1.7. Extremidades posteriores de larvas infectantes. **A.** *Libyostrongylus douglassii*, **B.** *L. dentatus* e **C.** *Codiostomum struthionis*. Notar as diferenças morfológicas da extremidade da cauda da larva e a morfometria das caudas das bainhas das larvas infectantes.

**1.4.3.2. Chave de identificação das espécies do gênero *Libyostrongylus*
(Nematoides adultos)**

- 1a Espécimes maiores que as outras espécies do gênero (Quadro 1.2), sendo as fêmeas menores que os machos. Fêmeas com ovijetor longo, com um número considerável de ovos no seu interior, sobrepondo-se (Figura 1.8 D) *Libyostrongylus magnus*
- 1b Fêmeas maiores que os machos (Quadro 1.2) e ovos dispostos linearmente no interior do ovijetor (Figuras 1.8 E e F) 2
- 2a Ausência de dentes proeminentes esofageais (Figura 1.8 B); fêmeas com ovijetor curto com pequeno número de ovos em seu interior (normalmente 2 ovos) (Figura 1.8 E), ausência de inflação cuticular em nível do ânus (Figura 1.8 H). Machos com raio dorsal simétrico (Figura 1.8 J) e espículos com terminação do ramo principal pontiaguda (Figura 1.8 N) *Libyostrongylus douglassii*
- 2b Presença de três dentes proeminentes esofageais (Figura 1.8 C); fêmeas com ovijetor longo, com quantidade mediana de ovos em seu interior (Figura 1.8 F), e presença de inflação cuticular em nível do ânus (Figura 1.8 I). Machos com raio dorsal assimétrico (Figura 1.8 M) e espículos com terminação do ramo principal arredondada, com uma capa hialina (Figura 1.8 P) *Libyostrongylus dentatus*

Quadro 1.2. Comparação de machos e fêmeas adultos das espécies do gênero *Libyostrongylus*.

Caracteres	<i>L. douglassii</i>¹	<i>L. magnus</i>²	<i>L. dentatus</i>¹
Comprimento total do corpo (Fêmeas)	3.340-5.120	7.560-11.430	7.192-10.450
Comprimento total do corpo (Machos)	2.240-4.928	13.860-14.580	4.752-5.156
Ovijetor	188-335	1.725	407-503
Espículos	144-171	220-240	103-130
Dentes proeminentes esofageais	Ausente	Ausente	Presente
Inflação cuticular em nível do ânus	Ausente	Ausente	Presente
Simetria do raio dorsal	Simétrico	Simétrico	Assimétrico

¹ Ederli et al. (2008); ² Skrjabin (1961).

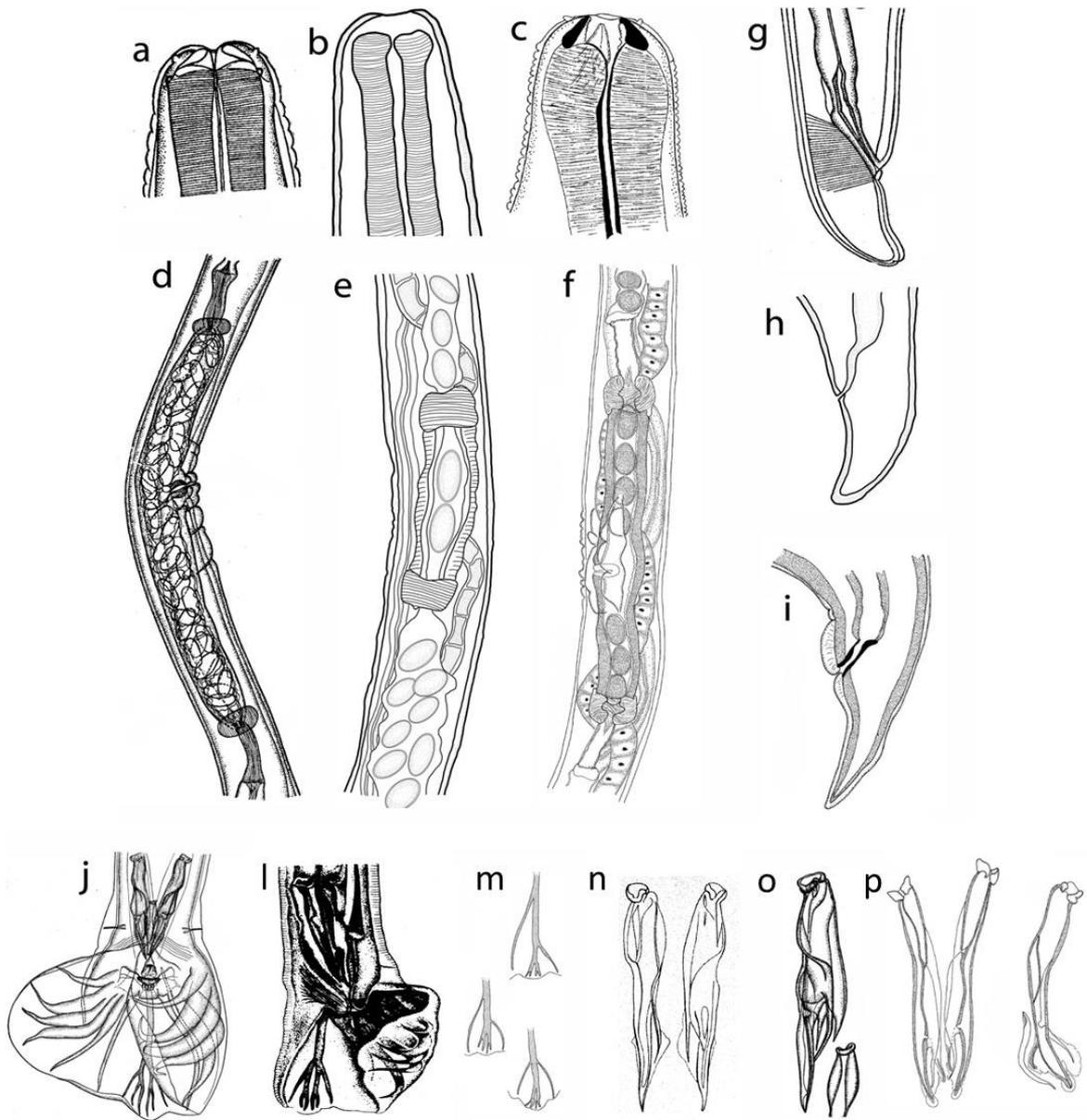


Figura 1.8. *Libyostrongylus* spp. adultos. [a, d, g, j, n] *L. magnus* (SKRJABIN, 1961); [b, e, h, l, o] *L. douglassii* (EDERLI, 2006); [c, f, i, m, p] *L. dentatus* (HOBERG et al., 1995). (a, b, c) Extremidades anteriores, (d, e, f) Ovijetores; (g, h, i) Caudas das fêmeas; (j, l, m) Raios dorsais; (n, o, p) Espículos.

1.4.4. PATOLOGIA CAUSADA POR *C. struthionis* EM CECO DE AVESTRUZES

Foi encontrado um total de 566 nematoides, sendo 234 machos e 332 fêmeas, não havendo diferença significativa entre estes ($p=0,2690$) (Tabela 1.3). Os parasitas foram encontrados no terço final do ceco e caracterizados como *C. struthionis* de acordo com os caracteres morfológicos. Foram observadas lesões de mucosa nos locais de maior concentração dos parasitas (Figura 1.9), proporcional à carga parasitária (Tabela 1.3).

Observou-se um espessamento da mucosa cecal em áreas circunscritas, quando observada à microscopia óptica, que se caracterizavam por achatamento das células da mucosa cecal. Em determinadas regiões observou-se espessamento e acúmulo de células inflamatórias mononucleares, principalmente na submucosa, caracterizadas em sua maioria por linfócitos (Figura 1.10 B), o que não foi observado fora das áreas circunscritas onde as células da mucosa foram caracterizadas como cilíndrico simples (Figura 1.10 A).

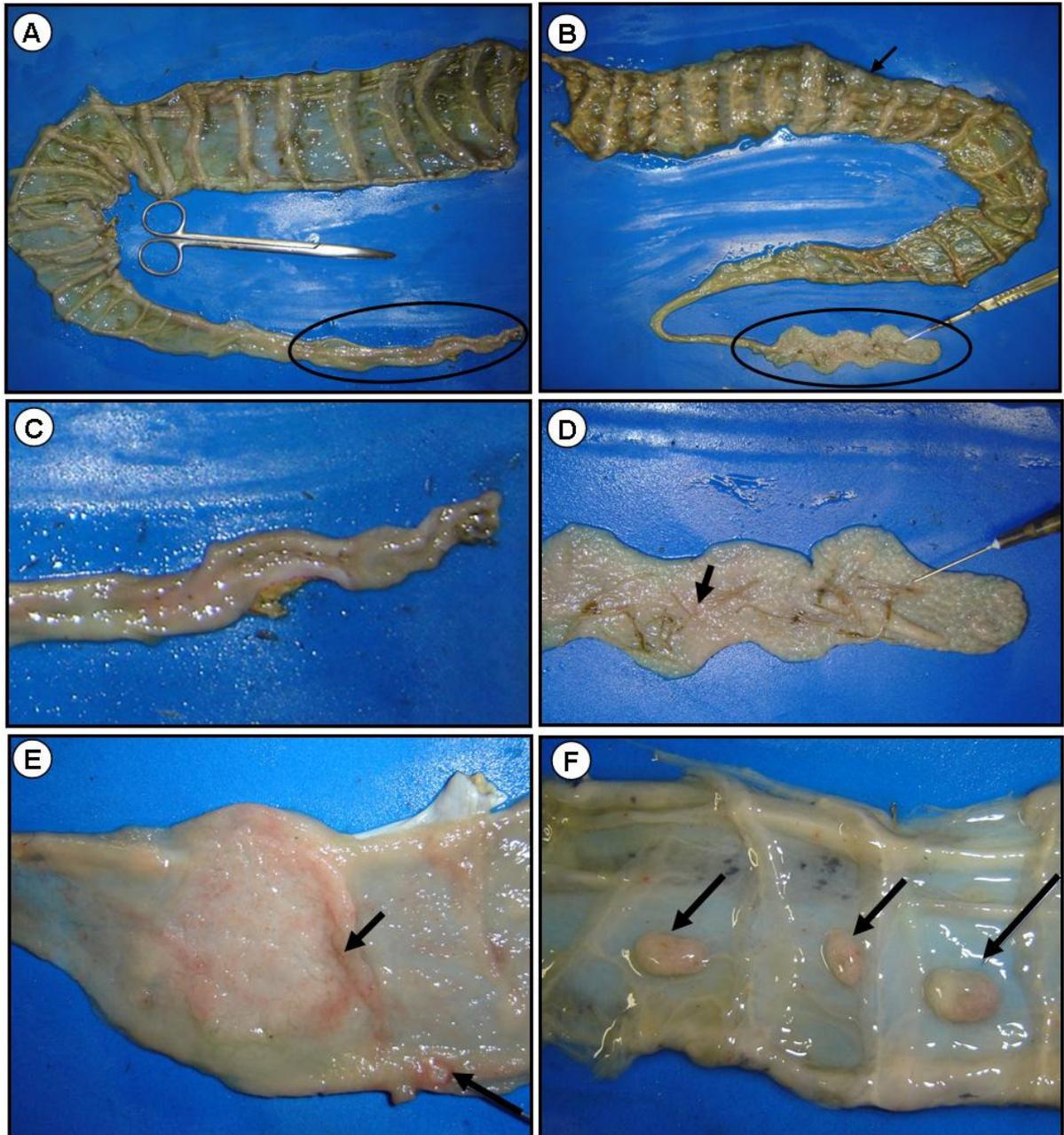


Figura 1.9. Ceco de avestruzes, *Struthio camelus*. **A.** Ceco não parasitado. Área demarcada está ampliada em **C**, com porção final do ceco, mostrando ausência de lesões; **B.** Ceco parasitado, com presença de edemas. Setas evidenciam nódulos. Área demarcada está ampliada em **D**, com achatamento da mucosa, nos sítios de maior concentração dos parasitas (seta); **E.** Áreas hemorrágicas (setas); **F.** Nódulos (setas).

Tabela 1.3. Ocorrência de *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet e Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) em cecos de avestruzes, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) abatidos no município de Quissamã, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Animal	Número de Espécimes		Total	Grau de lesão no ceco ^a
	Machos	Fêmeas		
1	2	14	16	-
2	20	40	60	++
3	30	48	78	++
4	17	26	43	+
5	52	54	106	+++
6	1	16	17	-
7	25	41	66	++
8	28	46	74	++
9	0	0	0	-
10	59	47	106	+++
TOTAL	234	332	566	
Média ^b	23,4	33,2	56,6	
DP	20,31	18,05	37,04	

^a (-) negativo, (+) baixo, (++) moderado, (+++) alto.

^b $p=0,2690$ para comparação da média de machos e fêmeas.

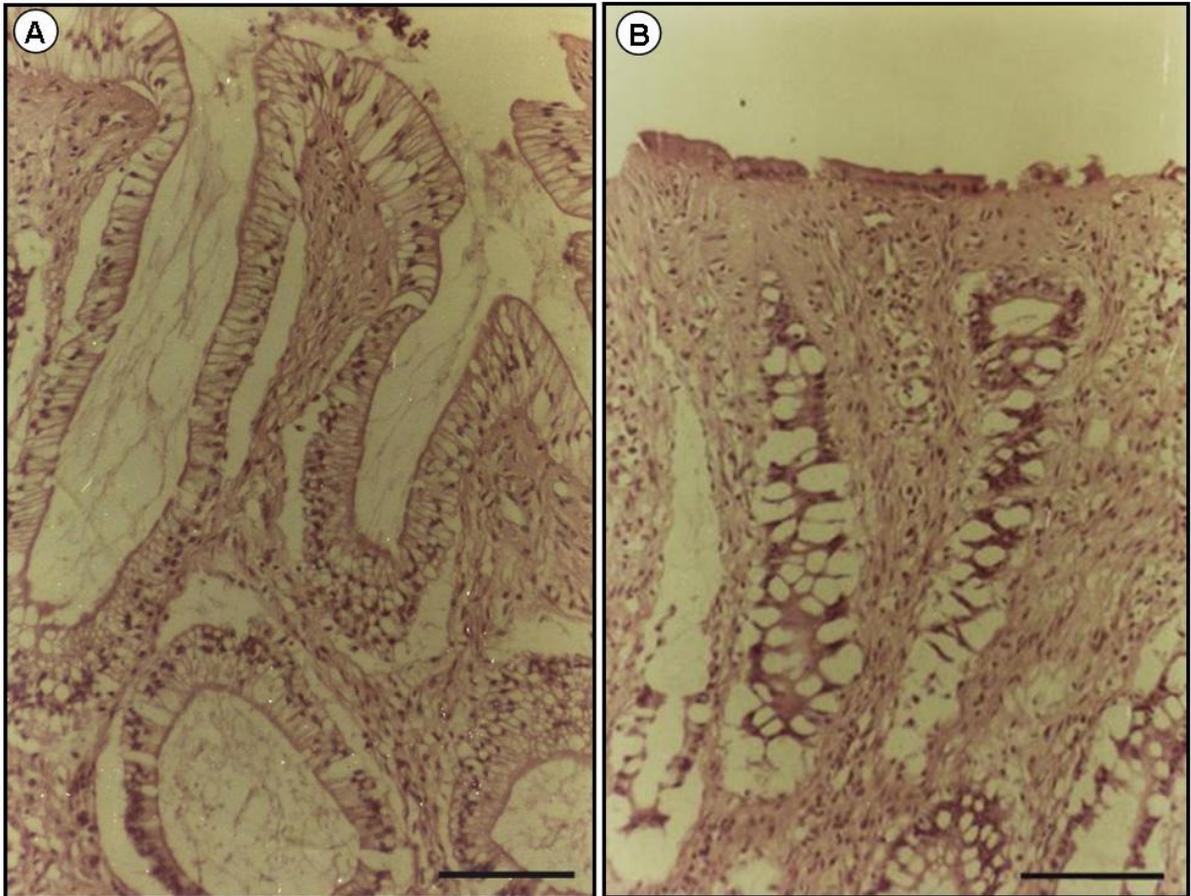


Figura 1.10. Achados histológicos em cecos de avestruzes, *Struthio camelus*. **A.** Ceco não parasitado, com tecido normal; **B.** Ceco parasitado evidenciando espessamento da mucosa cecal com achatamento das células epiteliais, infiltração de células mononucleares, principalmente linfócitos na submucosa. Barras: 100 µm.

1.5. DISCUSSÃO

1.5.1. EXAMES FECAIS

Os resultados apresentados descrevem a ocorrência das espécies *L. douglassii*, *L. dentatus* e *C. struthionis* nas avestruzes do Estado do Rio de Janeiro. As infecções por nematoides gastrointestinais estão presentes em todo o Estado do Rio de Janeiro, havendo uma predominância de *L. douglassii*, seguido por *L. dentatus* e *C. struthionis* (Tabela 1.2). Este fato também foi observado por Andrade et al. (2011), onde analisaram rebanhos de avestruzes de 17 propriedades distribuídas nos Estados de Rondônia, Ceará, Mato Grosso, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Paraná e Santa Catarina, através de exames fecais, não havendo observação de ovos nas fezes de avestruzes apenas em três Estados: Ceará, onde foi analisada apenas uma propriedade, Rio de Janeiro, um de três criatórios e Paraná, onde a infecção não foi detectada em duas das quatro propriedades analisadas. No presente estudo, o gênero *Libyostrongylus* está presente em todas as propriedades analisadas, enquanto que *C. struthionis* não foi encontrada nas mesorregiões Norte e Centro Fluminense (Tabela 1.2). Um único fato, onde a frequência de *L. dentatus* superou, estatisticamente, a de *L. douglassii* ocorreu em uma propriedade do município de Três Rios (Tabela 1.2), tal como observado por Andrade et al. (2011) em uma propriedade no estado de São Paulo, onde das 10 amostras analisadas, nove estavam positivas, no entanto os autores não citam os municípios de origem das amostras.

Os parasitos foram introduzidos no Brasil juntamente com a introdução das avestruzes a partir de 1995 quando começaram as primeiras importações, com aves provenientes dos Estados Unidos e Espanha (AICHINGER et al., 2007), e estão amplamente distribuídos no rebanho, demonstrando uma boa adaptação no país, apresentando prevalências de 100% do rebanho (Tabela 1.1). As espécies *L. dentatus* e *C. struthionis* eram pouco relatadas, provavelmente porque sua identificação só era possível ser realizada através da necropsia das aves, para coleta e identificação dos parasitos adultos, uma vez que seus ovos são indistinguíveis. A espécie *L. dentatus* só tinha sido relatada nos Estados Unidos

(HOBERG et al., 1995) e Brasil (EDERLI et al., 2008c), e *C. struthionis* na Europa (PONCE GORDO et al., 2002) e Brasil (EDERLI et al., 2008a). Por outro lado, a espécie *L. douglassii* está amplamente distribuída no mundo, sendo relatada na África do Sul (REINECKE, 1993; MALAN et al., 1988; FOCKEMA et al., 1985), Austrália (BUTTON et al., 1996; MORE, 1996; BARTON; SEWARD, 1993); Estados Unidos (HOBERG et al., 1995), Itália (PINTORI et al., 2000), Escócia (PENNYCOTT; PATTERSON, 2001), Espanha, Bélgica, Portugal e Holanda (PONCE GORDO et al., 2002), Suécia (JANSSON et al., 2002), Nova Zelândia (MCKENNA, 2005; MACKERETH, 2004), Zimbábue (MUKARATIRWA et al., 2004) e Brasil (BONADIMAN et al., 2006; EDERLI et al., 2008c). Recentemente, Fagundes et al. (2012) descreveram a ocorrência e sazonalidade de *C. struthionis* em duas propriedades nos municípios de Areal e Itaboraí, no Estado do Rio de Janeiro, onde analisaram, 237 e 195 amostras, respectivamente. No entanto, as imagens da extremidade posterior das larvas infectantes apresentadas no estudo de Fagundes et al. (2012), são claramente de *L. dentatus*, pois apresentam uma protuberância arredondada na ponta da cauda da larva e cauda da bainha da larva longa e filamentosa. Desta forma, a sazonalidade descrita por Fagundes et al. (2012) para *C. struthionis*, deve ser de uma infecção mista, uma vez que observaram infecções mistas pelas espécies do gênero *Libyostrongylus*, e *C. struthionis* no Estado do Rio de Janeiro, inclusive nas mesmas mesorregiões, Metropolitana e Centro Fluminense. Nestas localidades encontraram propriedades negativas e com baixa frequência de *C. struthionis*, como também observado para outras mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 1.2). Este fato também observado por Andrade et al. (2011) em diversas regiões do Brasil, onde observaram *C. struthionis* em apenas três das 17 propriedades analisadas. Dois trabalhos publicados em 2008 permitiram a identificação destas espécies através de exames fecais, pela observação da morfologia e morfometria das larvas infectantes recuperadas de cultivos fecais, onde as larvas do gênero *Libyostrongylus* apresentam uma protuberância arredondada na extremidade da cauda da larva, sendo *L. douglassii* com cauda da bainha curta com terminação aguda, e *L. dentatus* com cauda da bainha longa e filamentosa (EDERLI et al., 2008b), e *C. struthionis*, com cauda da bainha longa e filamentosa, semelhante a *L. dentatus*, porém, sem apresentar a protuberância arredondada na ponta da cauda da larva (EDERLI et al., 2008a).

No Brasil, a criação comercial de emas, vem se tornando comum, porém não com ampla distribuição no país, uma vez que o IBAMA regulariza sua criação (IBAMA, 2011). O país também conta com criações comerciais e particulares de emús, principalmente na região Centro-Oeste, onde se teve a oportunidade de visitar uma grande propriedade comercial destas aves, com criação de diversos animais silvestres, mantidos no mesmo ambiente, inclusive emas. O potencial de transmissão cruzada destes parasitos para outras aves, em particular, outras ratitas, ainda não foi investigado. Há um relato deste parasito no emú, na Suécia (JANSSON; CHRISTENSSON, 2000), no entanto, esta ocorrência não foi confirmada através da identificação das larvas infectantes ou dos nematoides adultos, pois os autores relataram apenas ovos nas fezes das aves. É importante verificar uma possível infecção por estes nematoides nas emas, uma ave autóctone da América do Sul.

1.5.2. DETERMINAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DIFERENCIAL DE *Libyostrongylus douglassii* E *L. dentatus* ADULTOS NO PROVENTRÍCULO DAS AVESTRUZES

A alta carga parasitária observada nos animais abatidos no Estado do Rio de Janeiro (100%) foi relatada previamente por Bonadiman et al. (2006) através de exames fecais. No entanto, os autores não determinaram a proporção entre as espécies *L. douglassii* e *L. dentatus* nos rebanhos de avestruzes criados no Norte do Estado. O diagnóstico diferencial destas duas espécies do gênero *Libyostrongylus* através de exames fecais só foi possível após a diferenciação das larvas infectantes descritas por Ederli et al. (2008b).

Os parasitos do gênero *Libyostrongylus* são pequenos nematoides, de coloração avermelhada, *in vivo*, encontrados no proventrículo e moela das avestruzes. A literatura científica cita o gênero *Libyostrongylus* sendo encontrado logo abaixo da membrana coilina (HOBERG et al., 1995; HUCHZERMEYER, 2005, CRAIG, DIAMOND, 1996), no entanto, observaram sítios de localização distintos de *L. douglassii* e *L. dentatus* no proventrículo das avestruzes. *L. douglassii* é encontrado logo abaixo da membrana coilina, sob a mucosa, como citado na

literatura (HOBERG et al., 1995; HUCHZERMEYER, 2005, CRAIG, DIAMOND, 1996), enquanto que *L. dentatus* foi encontrado de forma enovelada, inserido na membrana coilina (Figura 1.6). Esta localização distinta das duas espécies no proventrículo pode ser a causa dos poucos relatos da presença de *L. dentatus*, uma vez que a espécie era procurada, juntamente com *L. douglassii* abaixo da membrana coilina, resultando, possivelmente, em diagnósticos falsos negativos para *L. dentatus*, pois durante a coleta dos parasitos, a membrana coilina é retirada e descartada. Fato este foi confirmado através de observações próprias, onde ao analisarmos os proventrículos parasitados, só encontramos *L. douglassii*, antes de verificarmos esta localização diferencial.

Este é o primeiro estudo demonstrando sítios de localização distintos destas duas espécies de parasitos nas avestruzes. E esta pode ser a razão pela qual há ausência de relatos de *L. dentatus* (HOBERG et al., 1995; EDERLI et al., 2008b; 2008c). Até recentemente, o diagnóstico diferencial destas duas espécies só era possível através da identificação dos nematoides coletados durante a necropsia, no entanto, atualmente, pode-se realizar o diagnóstico específico através de exames fecais, pela observação e identificação das larvas infectantes, o que facilita o diagnóstico e os estudos epidemiológicos (EDERLI et al., 2008b).

Aparentemente, *L. dentatus* é o maior contribuinte na patologia associada a libystrongylose, caracterizada por necrose do proventrículo, que ocorre quando os parasitos penetram na membrana coilina, e que, em altas cargas parasitárias, os nematoides podem perfurar a membrana coilina, expondo a mucosa às secreções proventriculares, além de causar pequenas lesões que podem servir de porta de entrada para infecções secundárias por fungos e bactérias (CRAIG; DIAMOND, 1996; HUCHZERMEYER, 2002). Diversos relatos de gastrites em avestruzes, por infecções do proventrículo e moela, nas ratitas, referem-se por erosões na membrana coilina (HUCHZERMEYER, 2002; 2005), no entanto, a causa dessas lesões ainda não foi determinada. Hipoteticamente, em infecções severas por *L. dentatus*, a membrana coilina seria descamada em pedaços, com formação de pseudomembranas recobrimdo áreas hemorrágicas, o que poderia ser favorecido devido à associação com os parasitos.

Assim, o presente estudo caracterizou sítios de infecção distintos para duas espécies do gênero *Libystrongylus* encontrados no Brasil, sugerindo que a realização de infecções experimentais puras, e estudos histológicos sejam

necessários para o conhecimento da real patologia causada por estas duas espécies de parasitas isoladamente.

1.5.3. ELABORAÇÃO DE UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES PARASITAS DE AVESTRUZES, *Struthio camelus*

1.5.3.1. Chave de identificação de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais parasitas de avestruzes

As larvas infectantes de *Libyostrogylus* spp. são caracterizadas pela presença de uma protuberância arredondada na extremidade da ponta da cauda da larva (BARTON; SEWARD, 1993). Bonadiman et al. (2006) relataram a ocorrência de *L. douglassii* e *L. dentatus* na região Norte do Estado do Rio de Janeiro, através da observação de vermes adultos coletados do proventrículo, durante a necropsia de três avestruzes adultas. Também foi observado diferenças no comprimento e morfologia na cauda da bainha das larvas infectantes recuperadas através de cultivos fecais de amostras coletadas na mesma região. Algumas larvas apresentavam cauda da bainha curta e com terminação aguda e outras larvas apresentavam cauda da bainha longa e filamentosa. Assim, os pesquisadores atribuíram estas diferenças a possíveis caracteres para a distinção das duas espécies encontradas parasitando o rebanho da região analisada (BONADIMAN et al., 2006). Posteriormente, Ederli et al. (2008b) confirmaram esta suspeita, sendo *L. douglassii* a larva infectante com cauda da bainha curta, com $29,52 \mu\text{m} \pm 4,11$, variando de 20,62 a 36,31 μm e *L. dentatus* com cauda da bainha longa., com $61,20 \mu\text{m} \pm 2,17$, variando de 40,01 a 84,01 μm . Assim, após este estudo, foi possível a diferenciação destas duas espécies através da observação da morfologia da cauda da bainha das larvas infectantes recuperadas através de cultivos fecais, facilitando assim o diagnóstico, não sendo mais necessária a realização de necropsias para a coleta dos vermes adultos para o diagnóstico específico. No entanto, as larvas infectantes de *C. struthionis* também apresentam cauda da bainha longa e filamentosa com $110,74 \mu\text{m} \pm 13,46$, variando de 85,87 a

143,18 μm , porém, com a cauda da larva apresentando uma terminação aguda (EDERLI et al., 2008a), diferindo do gênero *Libyostrongylus* pela ausência da protuberância arredondada na ponta da cauda da larva (EDERLI et al., 2008b; BARTON; SEWARD, 1993). O comprimento total das larvas infectantes não é um bom parâmetro para a distinção entre as espécies devido à sua similaridade. *Libyostrongylus douglassii* possui comprimento total médio de 874,33 $\mu\text{m} \pm 33,80$ variando de 784,47 a 957,90 μm ; *L. dentatus* mede em média 784,47 $\mu\text{m} \pm 43,63$ variando de 735,84 a 947,01 μm e *C. struthionis* medindo 598,25 $\mu\text{m} \pm 25,15$ variando de 511,92 a 642,41 μm (EDERLI et al., 2008a, 2008b).

As larvas infectantes de *L. douglassii* possuem a extremidade cefálica menos arredondada, com a terminação mais abrupta que as larvas infectantes de *L. dentatus* (Figuras 1.7 A e B) (BONADIMAN et al., 2006), e as larvas infectantes de *C. struthionis* possuem a região cefálica arredondada com a extremidade achatada (Figura 1.7 C) (EDERLI et al., 2008a). Esses parâmetros não são confiáveis no diagnóstico específico das larvas infectantes devido à similaridade das extremidades anteriores.

As larvas infectantes de *L. douglassii* são facilmente distinguidas das de *L. dentatus* e *C. struthionis* pelo comprimento da cauda da bainha das larvas, que é consideravelmente menor, com a terminação aguda, diferindo das outras duas espécies que possuem cauda da bainha longa e filamentosa (Figuras 1.7 B e C). O diagnóstico diferencial entre estas duas espécies com a cauda da bainha longa e filamentosa, é feito pela observação do formato terminal da ponta da cauda da larva, que em *L. dentatus* tem uma protuberância arredondada na ponta da cauda da larva, característica do gênero *Libyostrongylus* (Figuras 1.7 A e B), enquanto que em *C. struthionis* esta terminação é aguda (Figura 1.7 C) (EDERLI et al., 2008a, 2008b). A comparação da média do comprimento da cauda da bainha das larvas infectantes de *L. douglassii* e *L. dentatus* foi considerada extremamente significativa (EDERLI et al., 2008b), no entanto, este parâmetro deve ser associado com a morfologia terminal das larvas, uma vez que *L. dentatus* pode ser confundido com *C. struthionis*, como mencionado anteriormente. Devido a estas similaridades, muitas vezes, em exames fecais, as larvas infectantes podem ser confundidas, resultando em erros no diagnóstico. Este fato pode estar ocorrendo com *C. struthionis*, pois são poucos os relatos deste nematoide nos rebanhos de avestruzes (POPOVA, 1955; SOTIRAKI et al., 2001; PONCE GORDO et al., 2002;

EDERLI et al., 2008a). Assim, esta chave de identificação irá facilitar o diagnóstico coprológico das espécies de nematoides gastrointestinais de aves.

1.5.3.2. Chave de identificação das espécies do gênero *Libyostrongylus* (nematoides adultos)

A descrição morfológica de *L. magnus* foi publicada em grego (GILBERT, 1937), o que dificulta seu acesso. Não há trabalhos posteriores sobre estudos morfológicos desta espécie. Diferente das outras espécies do gênero, as fêmeas de *L. magnus* são menores que os machos. *L. douglassii* e *L. dentatus* podem ser diferenciados através da observação de alguns caracteres morfológicos. *Libyostrongylus dentatus* pode ser diferenciado dos congêneres pela presença de dentes esofageais proeminentes (Figura 1.8 C). Espécimes machos e fêmeas de *L. dentatus* são maiores em comprimento do que os de *L. douglassii* (HOBERG et al., 1995; EDERLI et al., 2008c). Estas duas espécies também possuem diferenças na morfologia da extremidade cefálica, onde *L. dentatus* tem a extremidade achatada com três pares de papilas labiais arredondadas, enquanto que *L. douglassii* apresenta extremidade arredondada e três pares de papilas labiais alongadas (EDERLI et al., 2008c). As fêmeas de *L. douglassii* se distinguem das demais pelo comprimento relativamente menor do ovijetor (Figuras 1.8 D, E e F) e *L. dentatus* apresenta uma inflação cuticular em nível do ânus, ausente nas outras espécies do gênero (Figuras 1.8 G, H e I). *L. magnus* foi descrito com ovijetor relativamente maior, assemelhando-se, morfológicamente, ao de *L. dentatus* (SKRJABIN, 1961). Os machos de *L. dentatus* se diferenciam pelo raio dorsal da bolsa copuladora, que é assimétrico (Figuras 1.8 J, L e M), quando comparados com o de *L. douglassii*, e *L. magnus*, além da morfologia dos espículos que em *L. dentatus* observa-se o eixo principal com terminação arredondada e *L. douglassii* com terminação pontiaguda (Figuras N, O e P) (HOBERG et al., 1995; EDERLI et al., 2008c).

Codiostomum struthionis, outro nematoide comumente encontrado nas aves, são vermes grandes e robustos, em relação ao gênero *Libyostrongylus*,

de coloração branca, *in vivo*, de fácil observação no ceco das avestruzes. Este gênero é composto por esta única espécie. São facilmente distinguidos do gênero *Libyostrongylus* pelo seu comprimento e localização do hospedeiro. Recentemente a espécie foi redescrita com riqueza de caracteres morfológicos e ultraestruturais por Ederli et al. (2008b). *Codiostomum struthionis* tem cápsula bucal bem desenvolvida com duas fileiras de coroa radiada, caractere não presente em *Libyostrongylus* spp. Os machos possuem bolsa copuladora fortemente curvada ventralmente com grande projeção do lobo dorsal, e espículos longos e finos. As fêmeas possuem úteros prodélficos e ponta da cauda pontiaguda (EDERLI et al., 2008a), enquanto que em *Libyostrongylus* spp. o útero é anfidélfico (EDERLI et al., 2008c). Assim, a descrição de uma chave de identificação para os vermes adultos de nematoides parasitas de avestruzes, facilita o seu diagnóstico diferencial, além de estudos de taxonomia e epidemiologia.

1.5.4. PATOLOGIA CAUSADA POR *C. struthionis* EM CECO DE AVESTRUZES

Neste estudo, o número máximo de parasitos encontrados foi de 106 nematoides por avestruz, com uma intensidade média de infecção de 56,6 por ave (Tabela 1.3). A carga parasitária de *C. struthionis* necessária para causar patologias nas avestruzes é desconhecida. Nos cecos examinados, no entanto, foram observadas macrolesões nos locais de maior concentração dos parasitos, onde também foram observados nódulos localizados na terço final dos cecos (Figura 1.9). No ciclo de vida de alguns Strongylidae, as larvas infectantes passam por uma fase tecidual, formando nódulos ao longo do trato gastrintestinal. Estes, ao se romperem, liberam os parasitas adultos na luz intestinal, causando ulceração da mucosa (URQUHART et al., 1998). Em infecções por Strongylidae em equinos, como por exemplo, por *Strongylus* spp., verifica-se em infecções leves, nódulos isolados, porém, em infecções maciças, observa-se um número extremamente grande de nódulos, onde torna-se difícil a observação de áreas normais na mucosa (SOULSBY, 1965). Observaram-se também, áreas de hemorragia provocadas por pequenas úlceras nas áreas circunscritas às áreas de edema da mucosa (Figuras

1.9 B, D, E e F), o que não se observou no ceco não parasitado (Figuras 1.9 A e C). A patogenia de outros Strongylidae está associada a lesões da mucosa em virtude do hábito destes parasitas que ao se alimentarem, ingerem tampões de mucosa ao se moverem pela superfície do ceco, podendo levar a lesões acidentais de vasos sanguíneos, o que pode causar considerável hemorragia (CARLTON; MCGAVIN, 1998). As lesões ulcerosas podem se tornar uma porta para infecções por bactérias, com a produção de pequenas áreas caseosas, que depois podem se tornar nodulares (SOULSBY, 1965). Nos locais com lesões mais antigas, podem se tornar fibrosas, e em algumas áreas pode haver proliferação de tecido granular (SOULSBY, 1965). No presente trabalho, lesões tão evidentes, como as descritas anteriormente, não foram observadas, mas sugerem que estas possam ocorrer em avestruzes com grandes cargas parasitárias de *C. struthionis*. Para outros Strongylidae, cargas parasitárias de 250 a 300 vermes levaram a lesões no ceco com efeitos evidentes no final do período pré-patente (CARLTON; MCGAVIN, 1998). A carga parasitaria de *C. struthionis* encontrada nos animais, foi proporcional ao grau de lesões observadas nos cecos, com lesões aparentes em aves com carga de 106 vermes, o que permite inferir que cargas com aproximadamente 300 parasitas pode contribuir para quadros de anemia e definhamento em associação com outros parasitas nas avestruzes.

Estudos histopatológicos realizados para identificar lesões causadas por outros Strongylidae revelaram completa destruição da mucosa, sendo esta substituída por tecido granular com infiltração de grande número de células inflamatórias mononucleares (SOULSBY, 1965). Os resultados do presente estudo permitem inferir que, ao contrário do que citam outros autores (CRAIG; DIAMOND, 1996; HUCHZERMEYER, 2005), *C. struthionis* indica ser responsável por patologias nos cecos das avestruzes, e esta patogenicidade aparenta estar relacionada à carga parasitária dos animais. Estudos visando um melhor esclarecimento a respeito do ciclo de vida de *C. struthionis* são necessários, inclusive quanto à determinação dos sítios de desenvolvimento da L₄ no trato intestinal e conseqüentemente a patologia relacionada aos estádios de desenvolvimento do parasita.

1.6. CONCLUSÕES

- É possível a identificação das espécies de nematoides gastrointestinais a partir da observação dos caracteres morfológicos e morfométricos das larvas infectantes e adultos, por meio de uma chave de identificação dicotômica;
- Nematoides gastrointestinais de avestruzes ocorrem de forma enzoótica nos rebanhos do Estado do Rio de Janeiro, com predominância de *L. douglassii*, seguida de *L. dentatus* e *C. struthionis*;
- As espécies *L. douglassii* e *L. dentatus* habitam sítios de localização distintos no proventrículo das avestruzes, sendo este o primeiro relato;
- *Codiostomum struthionis* pode causar lesões nos cecos das avestruzes, proporcionais à carga parasitária, ao contrário do que cita a literatura científica.

1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACAB **Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil**. Disponível em: <http://www.acab.org.br> . Acesso em: Dezembro de 2007.
- AICHINGER, A., MARTINS, N.R., SOUZA, J.D., RESENDE, J.S., MUNIZ, R., FERREIRA, W.M. O avestruz no Brasil e no mundo. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, v. 27, n. 5, p. 36-39, 2007.
- ANDRADE, J.G.; LELIS, R.T.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P. Occurrence of nematodes and anthelmintic management of ostrich farms from different Brazilian states: *Libyostrongylus douglassii* dominates mixed infections. **Veterinary Parasitology**. v. 178, p. 129-133, 2011.
- BARTON, N.J.; SEWARD, D.A. Detection of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 1, p. 31-32, 1993.
- BLACK, D. Ostrich flock health. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. v. 10, p. 117-130. 2001.
- BONADIMAN, S.F.; EDERLI, N.B.; SOARES, A.K.P.; MORAES NETO, A.H.A.; SANTOS, C.P.; DAMATTA, R.A. Occurrence of *Libyostrongylus* sp. (Nematoda) in ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) from the north region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1-2, p. 175-179, 2006.
- BUTTON, N.J.; BARTON, N.J.; VEALE, P.I.; OVEREND, D.J. A survey of *Libyostrongylus douglassii* on ostriches farms in Eastern Victoria. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 2, p. 76, 1996.
- CARRER, C.C., KORNFELD, M.E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Editora do Brasil: Pirassununga. 1999. 304 p.
- CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Artmed: Porto Alegre, 1998. pp. 285.
- COOPER, R.G. Bacterial, fungal and parasitic infections in the ostrich (*Struthio camelus* var. *domesticus*). **Animal Science Journal**, v. 76, n. 2, p. 97-106, 2005.
- CRAIG, T.M.; DIAMOND, P.L. Parasites of ratites. In: TULLY, T.N., SHANE, S.N., (Eds), **Ratite management, Medicine and Surgery**. Kreiger Publishing Company, Florida, pp. 115-126, 1996.

- EDERLI, N.B. Diagnóstico e caracterização morfológica de *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) em avestruzes das regiões Norte e Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro. (Monografia) Ciências Biológicas. **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)**, Centro de Biociências e Biotecnologia, Campos dos Goytacazes, RJ. 61p. 2006.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G.; RODRIGUES, M.L.A. Further study of *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) parasite of ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) (Aves, Struthioniformes). **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 275-283, 2008a.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P.; RODRIGUES, M.L.A. Morphological diagnosis of infective larvae of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda, Trichostrongylidae) of ostriches. **Veterinary Parasitology**, v. 155, n. 3-4, p. 323, 327, 2008b.
- EDERLI, N.B.; BONADIMAN, S.F.; MORAES NETO, A.H.A.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P. Mixed infection by *Libyostrongylus douglassii* and *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) in *Struthio camelus* (Ratites: Struthioniformes) from Brazil with further morphological characterization of adults. **Veterinary Parasitology**. v. 151, n. 2-4, p. 227-232, 2008c.
- FAGUNDES T.F.; SOLEIRO, C.A.; MENEZES, R.C.A.A. The occurrence of *Codiostomum struthionis* in ostriches (*Struthio camelus*) of different ages and during the dry and rainy seasons at two farms in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 183, 269-273, 2012.
- FOCKEMA, A.; MALAN, F.S.; COOPER, G.G.; VISSER, E. Anthelmintic efficacy of fembendazole against *Libyostrongylus douglassii* and *Houttuynia struthionis* in ostriches. **Journal of South African Veterinary Association**. v. 56, p. 47-48, 1985.
- FOREYT, W.J. Parasitas de ratitas. **Parasitologia Veterinária – Manual de Referência**. 5ed. Roca, São Paulo. p. 181-184, 2005.
- GILBERT, L.I. New nematode *Libyostrongylus magnus*, n. sp., parasitic in an African ostrich. In Papers on helminthology, 30 year jubilee (K.J. Skrjabin, ed.). **Lenin Academy of Agricultural Science**, Moscow, 180-182. 1937.

- GORDON, N.M.; WITHLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Scientific Industry Research Australia**. v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939
- HOBERG, E.P.; LLOYD, S.; OMAR, H. *Libyostrongylus dentatus* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) from ostriches in North America, with comments on the genera *Libyostrongylus* and *Paralibyostrongylus*. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 85-93, 1995.
- HUCHZERMEYER, F.W. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**. v. 21, p. 265-276. 2002.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Funep, Jaboticabal. 392pp., 2005.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. <http://www.ibama.gov.br> Acesso em: Dezembro de 2011.
- JANSSON, D.S.; CHRISTENSSON, D. Gastrointestinala parasiter hos strutsfåglar i Sverige. **Svensk Veterinär Tidning**. v. 52, p. 621–626, 2000.
- JANSSON, D.S., CHRISTENSSON, D.A., CHRISTENSSON, B.E. Winter survival in Sweden of L₃-stage larvae of the ostrich wireworm *Libyostrongylus douglassii*. **Veterinary Parasitology**. v. 106, p. 69-74. 2002.
- LICHTENFELS, J.R. (1980). Keys to the genera of the Superfamily Strongyloidea. *In*: Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Willmott, S. (eds.). **CIH Key to the nematode parasites of vertebrates**. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks. 1980. p. 1-41.
- MACKERETH, G. *Libyostrongylus douglassii* in New Zealand ostriches. **Surveillance**. v. 31, n. 3, p. 14-16, 2004.
- MALAN, F.S.; GRUSS, B.; ROPER, N.A., ASHBURNER, A.J.; DUPLESIS, C.A. Resistance of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches to levamisole. **Journal of the South African Veterinary Association**. v. 59, p. 202-203, 1988.
- MCKENNA, P.B. *Libyostrongylus* infections in ostriches – a brief review with particular reference to their detection in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, n. 5, p. 267-270, 2005.
- MORE, S.J. The performance of farmed ostriches hens in eastern Australia. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 29, p. 107-120, 1996.

- MUKARATIRWA, Z.M.; CINDZI.; MAONONGA, D.B. Prevalence of *Libyostrongylus douglassii* in commercially reared ostriches in the highveld region of Zimbabwe. **Journal of Helminthology**, v. 78, n. 4, p. 333-336, 2004.
- PENNYCOTT, T; PATTERSON, T. Gastrointestinal parasites of ostriches (*Struthio camelus*). **Veterinary Record**. v. 148, p. 155-156, 2001.
- PINTORI, A.; SCALA, A.; GIANNETTO, S.; MASCIA, M.; DE ROSA, R. Parasitoses of ostriches (*Struthio camelus*) in Sardinia (Italy). **Acta Parasitologica**, v. 45, p. 164, 2000.
- PONCE GORDO, F.P.; HERRERA, S.; CASTRO, A.T.; DURÁN, B.G.; DÍAZ, R.A.M. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 1-2, p. 137-160, 2002.
- POPOVA, T.I.. **Essential of nematology, volume V: Strongyloids of animals and man (Strongylidae)**. U.S. Department of Agriculture and National Sciences Foundation: Washington, DC, 1955, 236 pp.
- REINECKE, R.K.. **Veterinary Helminthology**. Butterworth, Durban. 295pp., 1983
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3ª ed. Editora da UFMG: Belo Horizonte, 2007, 265pp.
- SKRJABIN, K.I. **Key to parasitic nematodes. Volume III. Strongylata**. The Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 890 pp., 1961.
- SOULSBY, E.J.W. **Helminthes, arthropods and protozoa in domesticated animals**. 7ed., Bailliere Tindall, London: Lea and Febiger, Philadelphia. 824 pp. 1982.
- SOTIRAKI, S.T., GEORGIADES, G., ANTONIADOU-SOTIRIADOU, K., HIMONAS, C.A. Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthio camelus*) **Veterinary Record**. v. 148, p. 84-86. 2001.
- THEILER, A.; ROBERTSON, W. Investigations into the life-history of the wire-worm in ostriches. **Reports of the Director of Veterinary Research, Union of South Africa Department of Agriculture**. n. 3-4, p. 293–336, 1915.
- URQUHART, G.M.; AEMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 273pp., 1998.
- ZETTERMANN, C.D., NASCIMENTO, J.A., TEBALDI, J.A., SZABÓ, M.J.P. Observations on helminth infections of free-living and captive rheas (*Rhea americana*) in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 129, n. 1-2, p. 169-172, 2005.

CAPÍTULO II

**NEMATOIDES PARASITAS DE EMAS, *Rhea americana* LINNAEUS, 1758
(AVES, RHEIDAE)**

2.1. INTRODUÇÃO

Emas são aves autóctones da América do Sul, *Pterocnemia pennata* ou *Rhea pennata* são encontradas na Patagônia Argentina e *Rhea americana* que habita quase todo o continente. Estas aves são muitas vezes utilizadas como animal de estimação, mas somente a *Rhea americana*, é criada comercialmente. Recentemente, a criação comercial de emas foi reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008) como alternativa a pecuária.

São poucos os estudos a cerca da fauna parasitária que acomete as emas, no entanto, parasitoses são as principais causas de limitação da criação em cativeiro dessas aves. *Deletrocephalus dimidiatus*, *D. cesarpintoii*, *Paradeletrocephalus minor* e *Sicarius uncinipenis* são as espécies que mais ocorrem, no entanto, patologias causadas por estes parasitas ainda não foram relatadas.

O gênero *Deletrocephalus* inclui *D. dimidiatus*, através do estudo do material colhido por Nattere, nos Estados do Mato Grosso e São Paulo, Brasil. Posteriormente, em 1861, Molin descreve uma nova espécie do gênero, também parasita de emas, *D. minor*, devido a uma diferença na proporção dos espículos com o comprimento total do corpo de aproximadamente 1:2 (FREITAS; LENT, 1947a).

Atualmente, há três espécies de espirurídeos parasitas das emas, todas encontradas no proventrículo e moela: *Sicarius uncinipenis*; *Sicarius waltoni* e *Vaznema zschokkei*, no entanto, dados morfológicos dessas espécies são insuficientemente relatados.

Logo uma descrição mais detalhada das espécies de nematoides que acometem as emas é necessária, inclusive utilizando técnicas mais avançadas de estudos como a microscopia de eletrônica de varredura, o que motivou o desenvolvimento da presente pesquisa que teve como objetivos caracterizar morfológicamente as espécies *D. dimidiatus* e *S. uncinipenis*, além de descrever patologia causada por esta ultima espécie em moela de emas parasitadas.

2.2. REVISÃO DE LITERATURA

2.2.1. EMAS, *Rhea americana* LINNAEUS, 1758

Existem duas espécies de emas, a ema maior ou comum, *Rhea americana*, e a ema menor ou de Darwin, *Pterocnemia pennata* ou *Rhea pennata*, segundo Sibley et al. (1988), ambas oriundas da América do Sul. No entanto, somente a primeira é criada em cativeiro, principalmente nas Américas e Europa (HUCHZERMEYER, 2005). Estas aves são corredoras, onívoras e alimentam-se basicamente de pastagem, sementes e insetos, e possuem uma expectativa de vida de 40 anos (ABRACE, 2008). Os machos medem em média 1,7m e as fêmeas 1,5m, pesam entre 25 e 45 kg (FOWLER, 1996).

Cada fêmea bota um ovo a cada 2 ou 3 dias, totalizando em média 40 ovos por período reprodutivo. Seus ovos levam em média 38 dias até a eclosão. Os animais estão prontos para o abate com 12 a 15 meses de idade, gerando aproximadamente 12 kg de carne sem osso. A gordura acumula-se na cavidade abdominal e sobre o lombo na extremidade caudal, sendo facilmente separada da carne. Assim, a carne é praticamente livre de gordura, rica em proteínas, ômega 3 e ferro, pouco calórica e com baixo teor de colesterol (HOSKEN; SILVEIRA, 2003). Sua distribuição nativa compreende os países: Brasil, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Argentina (FOWLER, 1996), sendo considerada a maior ave da América do Sul.

Estas aves são dóceis e sociáveis, o que facilita o seu manejo, sendo muitas vezes utilizadas como animal de estimação ou apenas ornamentação. Apesar de ser nativa da América do Sul, a ema despertou o interesse comercial principalmente dos norte-americanos, sendo estes, os detentores da maior parte de pesquisas científicas e maior número de emas criadas em cativeiro (GIANNONI, 1996). Na Europa, fazendas de emas são sucesso em diversos países como Inglaterra, Suécia, Holanda, Bélgica, França e Portugal. No Brasil há produtores localizados nas regiões Sul, Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste (ABRACE, 2008). Também podem ser encontradas nos Pampas uruguaio e argentino, e até mesmo na Patagônia, o que comprova sua perfeita adaptação aos diversos climas da América do Sul. Em condições naturais, podem ser vistas em bandos, no entanto, no período de acasalamento podem ser vistas em grupos menores, com um macho

dominante. É o macho quem incuba os ovos, na natureza, e as fêmeas, podem procurar outro macho, formando outro grupo, enquanto o macho choca os seus ovos (HOSKEN; SILVEIRA, 2003).

Recentemente, a criação comercial de emas é uma alternativa pecuária reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008), e por se tratar de um animal silvestre é controlado pelo IBAMA, que proíbe sua caça. O comércio da carne só é permitido de animais oriundos de criatórios comerciais registrados junto aos órgãos competentes (IBAMA/MAPA/ANVISA).

2.2.2. PARASITAS DE EMAS

Dos parasitas que acometem as emas (Quadro 2), as espécies que mais se destacam são os nematoides *Deletrocephalus dimidiatus*, *D. cesarpintoii*, *Paradeletrocephalus minor* (FREITAS; LENT, 1947a) e *Sicarius uncinipenis* (FREITAS; LENT, 1947b). Porém, sem nenhum relato de patologias aparentes.

São poucos os estudos a cerca da fauna parasitária que acomete as emas. Muitos artigos publicados sobre estes parasitos, principalmente em relação aos gêneros *Deletrocephalus* e *Paradeletrocephalus*, referem-se à sistemática dessas espécies, onde atualmente, é classificada como as únicas da família Deletrocephalidae.

Os parasitas já relatados nestas aves estão demonstrados na Figura 2.1. No entanto, acredita-se que outras espécies descritas em outras ratitas (Quadro 2) também podem acometer as emas, principalmente após a introdução das avestruzes no Brasil a partir de 1995.

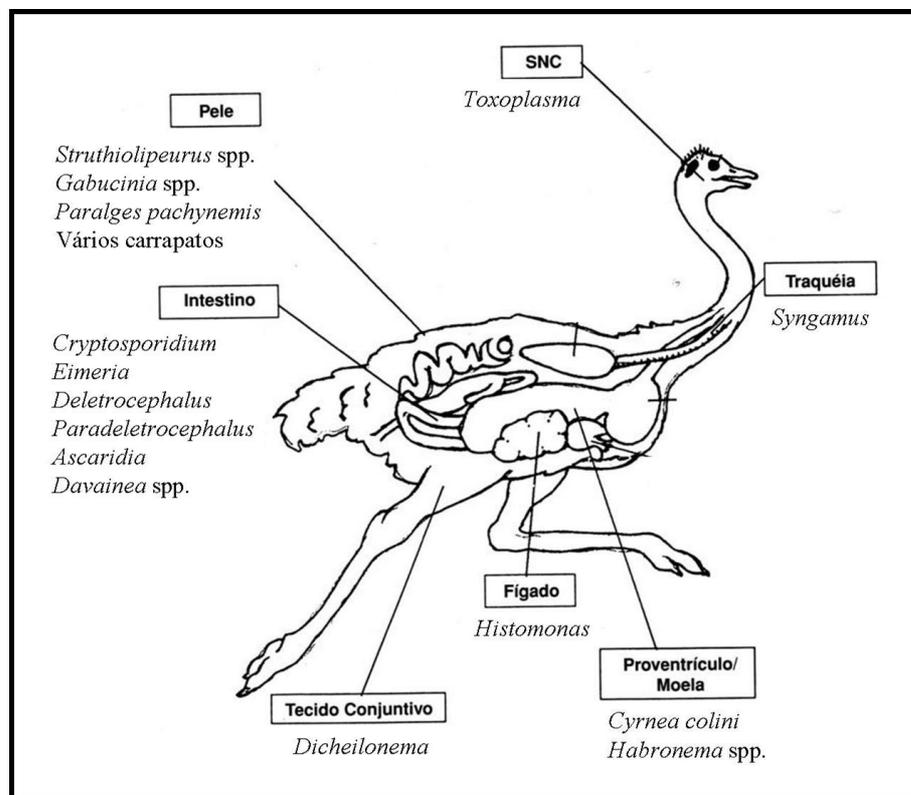


Figura 2.1. Principais parasitas relatados parasitando emas, *Rhea americana*. (Adaptado de FOREYT, 2005).

2.2.2.1. Família Deletrocephalidae

O gênero *Deletrocephalus* foi criado por Diesing em 1851, indicando uma única espécie, *D. dimidiatus*, através do estudo do material colhido por Natterer, nos Estados do Mato Grosso e São Paulo, Brasil. Posteriormente, em 1861, Molin descreve uma nova espécie do gênero, também parasita de emas, *D. minor*, devido a uma diferença na proporção dos espículos com o comprimento total do corpo de aproximadamente 1:2 (FREITAS; LENT, 1947a).

Em 1861, Molin, estudando um número considerável de exemplares (de 500 a 600), destaca a presença de duas variedades com base na morfologia dos nematoides: *D. dimidiatus* variedade *minor* e *D. dimidiatus* var. *major*, considerando a variedade *major*, a espécie descrita por Diesing. Anos depois, Vaz, em 1936, descreve a terceira espécie do gênero, *D. cesarpintoi*, considerando que esta nova espécie juntamente com *D. dimidiatus*, pudessem corresponder às variedades *major* e *minor* de Molin. Em 1916, Railliet cria a subfamília Deletrocephalinae, incluída da família Strongylidae (FREITAS; LENT, 1947a).

O primeiro a descrever, mais detalhadamente a espécie *D. dimidiatus* foi Maplestone, em 1932, porém considerando-a nova e alocando-a em um novo gênero por ele criado, *Quasistrongylus rhaeae*, da subfamília Strongylinae, o qual foi reconhecido por Almeida, em 1935, como sendo a espécie de Diesing, considerando *Q. rhaeae* um sinônimo de *D. dimidiatus*.

No entanto, cabe a Travassos o trabalho mais completo da espécie tipo, publicado em 1933, ao qual concorda com a inclusão do gênero na subfamília Deletrocephalinae, da família Strongylidae (TRAVASSOS, 1933). Freitas e Lent (1947a) ao analisar o estudo e os desenhos de Chitwood e Chitwood (1937) de *D. dimidiatus* var. *minor*, criam um novo gênero para esta espécie, *Paradeletrocephalus*, sendo *P. minor*, a única espécie do gênero.

Deletrocephalus dimidiatus e *D. cesarpintoi* diferem na estrutura da cápsula bucal, e raio dorsal da bolsa copuladora dos machos, e no comprimento da vagina, onde *D. dimidiatus* possui uma vagina curta e *D. cesarpintoi* uma vagina longa. O gênero *Paradeletrocephalus* possui diferenças na estrutura da extremidade anterior e bolsa copuladora dos machos (FREITAS; LENT, 1947a).

Assim, a família Deletrocephalidae é composta por três espécies pertencentes a dois gêneros: *D. dimidiatus*, *D. cesarpintoi* e *P. minor*, todas

parasitas do trato gastrointestinal das emas. Até o momento não há estudos sobre a ultraestrutura e biologia desses parasitos, bem como sobre sua patogenicidade nas aves.

Deletrocephalus dimidiatus foi também relatado parasitando uma ema de Darwin, *Pterocnemia pennata*, que veio a óbito, onde Edwing et al. (1995) ao realizarem necropsia e exames histopatológicos, não descreveram lesões, causadas por estes parasitos. Esses autores ainda descreveram esta espécie parasitando outras aves do rebanho, através da observação de ovos nas fezes, o que não é possível, devido à semelhança entre os ovos da subfamília.

2.2.2.2. Família Spiruridae

A espécie *Sicarius uncinipenis* foi descrita inicialmente por Molin, em 1860 como *Spiroptera uncinipenis*, e logo no ano seguinte, Diesing transfere a espécie de Molin para o gênero *Cheilospirura*. Drasche, em 1884, ao reestudar os exemplares originais de Diesing e de Molin, contribui com as primeiras figuras, da extremidade anterior, e da cauda do macho, além de acrescentar algumas informações, como a proporção espicular, sendo o espículo esquerdo quatro vezes mais longo que o direito, mantendo a espécie no gênero *Cheilospirura*, porém em seu trabalho, ele mantém o nome dado por Molin, *Spiroptera*, em suas ilustrações. Cinco anos depois, Zschokke, descreve uma nova espécie parasita de emas de um zoológico de Brasília, denominando-a *Spiroptera alata*, sendo esta descrição insuficiente para o perfeito conhecimento da espécie, diferindo desta pela presença de asas cuticulares que percorrem o corpo. Os demais caracteres referidos para esta espécie, pelo autor são deficientes, uma vez que o autor não descreve os espículos nem papilas pré-anais (FREITAS; LENT, 1947b).

Em 1899, Linstow redescreve *Spiroptera uncinipenis* da coleção do Museu de Berlim, representando o ovo, a ponta do espículo menor e a extremidade cefálica (FREITAS; LENT, 1947b). No entanto, Freitas e Lent (1947b) ao analisarem a descrição feita por Linstow, notaram uma grande diferença na relação espicular, onde nos espécimes de Molin eram de 1:4, e nos de Linstow de 1:8. Posteriormente, Walton, em 1927, revendo nematoides da coleção Leidy, coloca a

espécie *Spiroptera uncinipenis* no gênero *Habronema*, e os espécimes utilizados em seu estudo apresentam relação espicular de 1:8, conforme os de Linstow (FREITAS; LENT, 1947b).

Uma nova espécie de espirurídeos parasita das emas foi descrito por Vaz (1936), de material proveniente do Estado de São Paulo, denominando-a *Sicarius nobregai*. Neste trabalho, Vaz (1936) inclui no gênero *Sicarius* Li, 1934, as espécies de *Habronema* com interlábios verdadeiros, como também referiu uma lista das espécies que, segundo o autor, permaneceram no gênero *Habronema* Diesing, 1861, sendo esta, considerada atualmente, um sinônimo de *S. uncinipenis* (FREITAS; LENT, 1947b).

Atualmente, há três espécies de espirurídeos parasitas das emas, todas encontradas no proventrículo e moela: *Sicarius uncinipenis*, que não possui asas laterais ao longo do corpo e uma relação espicular em torno de 1:4, parasita da moela; *Sicarius waltoni*, que também não possui asas laterais ao longo do corpo e apresenta uma relação espicular em torno de 1:8, também parasita da moela; e *Vaznema zschokkei*, que possui asas laterais ao longo do corpo, parasita do proventrículo das emas (FREITAS; LENT, 1947b).

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1. LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

O estudo foi realizado no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Parasitologia (NUPAP) do Laboratório de Sanidade Animal (LSA) do Hospital Veterinário (HV) da UENF.

2.3.2. ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizadas quatro emas adultas (2 machos e 2 fêmeas), com idades variando de dois a quatro anos, que vieram a óbito, provenientes do Criatório Conservacionista 2C, localizado no município de Cachoeiro do Itapemirim, no Estado do Espírito Santo.

A pesquisa foi realizada em conformidade com a regularização do IBAMA sob a autorização para manejo (CTF nº 480552) (Anexo 1) e junto ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) para a realização de pesquisa com material biológico de emas, *Rhea americana*, com finalidade científica, autorização nº 18981-2 (Anexo 2).

2.3.3. NECROPSIAS

As emas tiveram todos os órgãos coletados para a análise da presença de parasitos. Os órgãos foram acondicionados, separadamente em sacos plásticos, devidamente identificados, e armazenados sob refrigeração até sua análise. Quando não foi possível a observação no mesmo dia da necropsia, os órgãos foram congelados, para análise posterior, no entanto, a prioridade foi a observação do trato gastrintestinal. Foram observados todo o conteúdo e a superfície da mucosa, com o auxílio de estereomicroscópio.

2.3.4. COLETA DOS PARASITAS

2.3.4.1. Trato Gastrintestinal

Logo após a necropsia, o trato gastrintestinal foi separado em: esôfago, proventrículo, moela, intestino delgado, cecos e intestino grosso. As extremidades foram amarradas com barbante para evitar perda do conteúdo e uma possível migração dos parasitos. Os órgãos foram acondicionados separadamente em sacos plásticos devidamente identificados. No mesmo dia das necropsias, as partes do trato gastrintestinal foram abertas e lavadas em vasilhame plástico com água corrente e o lavado foi peneirado em tâmis confeccionado com material inoxidável, com malha de 75 e 45 μm . Estes lavados foram então examinados sob estereomicroscópio, para a coleta dos nematoides, com auxílio de estilete confeccionado com agulha entomológica. Os helmintos encontrados foram lavados em solução fisiológica de NaCl a 0,09%, e uma parte foi processada para microscopia óptica e a outra parte para microscopia eletrônica de varredura.

2.3.4.2. Demais dos Órgãos

Durante a necropsia, os outros órgãos como: traqueia, pulmão, coração, rins e fígado foram coletados e acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e congelados para análise futura da presença de parasitas. Na véspera das análises, os órgãos foram descongelados e mantidos sob refrigeração. As análises foram realizadas com auxílio de estereomicroscópio, onde os órgãos foram dissecados para a procura de helmintos.

2.3.5. MICROSCOPIA ÓPTICA

Os nematoides adultos foram fixados em A.F.A. (ácido acético glacial, duas partes; formol, cinco partes; álcool etílico 70%, 93 partes) a 70°C (AMATO et al., 1991), clarificados em lactofenol de Amann e montados entre lâmina e lamínula, observados e esquematizados utilizando-se microscópio óptico Zeiss dotado de câmera clara. A morfometria foi realizada utilizando-se microscópio óptico Zeiss - Axiostar Plus equipado com câmera digital Canon – Power-Shot A640 para captura de imagem e Software Zeiss AxionVision Sample Images para análise de imagens.

Os desenhos foram realizados com auxílio de microscópio óptico acoplado a câmera clara, e digitalizados utilizando-se o software Adobe Photoshop Elements 8.0, com auxílio de um “pen tablet” Intuos4 Wacon®.

2.3.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Os helmintos foram fixados por duas horas em solução contendo 2,5% glutaraldeído, 4% paraformaldeído recém-preparado, 5 mM cloreto de Cálcio pH 7,4 em tampão cacodilato 0,2 M, pH 7.2, lavados em tampão cacodilato 0,1 M e pós-fixados em solução contendo 2% tetróxido de ósmio, 5 mM cloreto de Cálcio e 0,8 ferrocianeto de Potássio em tampão cacodilato 0,1 M, pH 7,2 por uma hora e lavados novamente em tampão cacodilato 0,1 M. As amostras foram desidratadas em série crescente com acetona a 30, 50, 70, 80, 90 e 100%, por uma hora cada, secadas no aparelho de ponto crítico com dióxido de Carbono (CO₂), montadas em suporte para MEV com fita de carbono, metalizadas em ouro e observadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss 962, com uma voltagem de 15Kv.

2.3.7. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS PARASITAS ADULTOS

Após a clarificação, os nematoides foram mensurados utilizando-se microscópio Zeiss-Axiostar Plus equipado com câmera digital Canon – Power-Shot A640 para captura de imagem com software de análise de imagens Vision Sample Images. As medidas foram baseadas em 20 espécimes machos e 20 espécimes fêmeas. A medida dos ovos foi baseada em 200 ovos em estágio de mórula, no interior do ovijetor e nas proximidades terminais do útero. As medidas dos ovos larvados de *Deletrocephalus dimidiatus* foram baseadas em 22 ovos. As medidas estão apresentadas em μm , sendo apresentadas as médias seguidas do desvio padrão e com os valores mínimos e máximos entre parênteses.

Para a verificação da presença de sínlofe foram realizados cortes transversais ao nível do esôfago, ao meio do corpo e ao nível do ovijetor nas fêmeas e ao nível dos espículos nos machos. A sínlofe, ou seja, sistemas de cristas cuticulares, dispostas longitudinalmente, encontrados em diversas espécies de Trichostrongylidae, é um caractere importante para a classificação taxonômica dos grupos. Cortes transversais também foram realizados na extremidade anterior, a fim de se observar a vista *in face* dos nematoides. Os cortes foram realizados com auxílio de lâmina de bisturi em geleia de glicerina. A nomenclatura dos raios da bolsa copuladora (Figura 2.2) e os tipos de bolsa copuladora (Figura 2.3) utilizados na descrição seguem Durette-Desset e Chabaud (1981).

As espécies de *Sicarius uncinipenis* foram comparadas com espécimes depositados na coleção parasitológica do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States Department of Agriculture – USDA), United States National Parasite Collection (USNPC), registrados sob os seguintes números: *Habronema uncinipenis* (027264.02 - voucher), *Odontospirura cetiopenis* (027265.02 - voucher e 027583.02 - tipo), *Odontospirura alata* (060539.00 - voucher), *Spirura* sp. (027566.00 - voucher).

Espécimes representativos foram depositados na coleção parasitológica do Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter, da Universidade de Nebraska-Lincoln (EUA) (os números de registro estão demonstrados nos resultados).

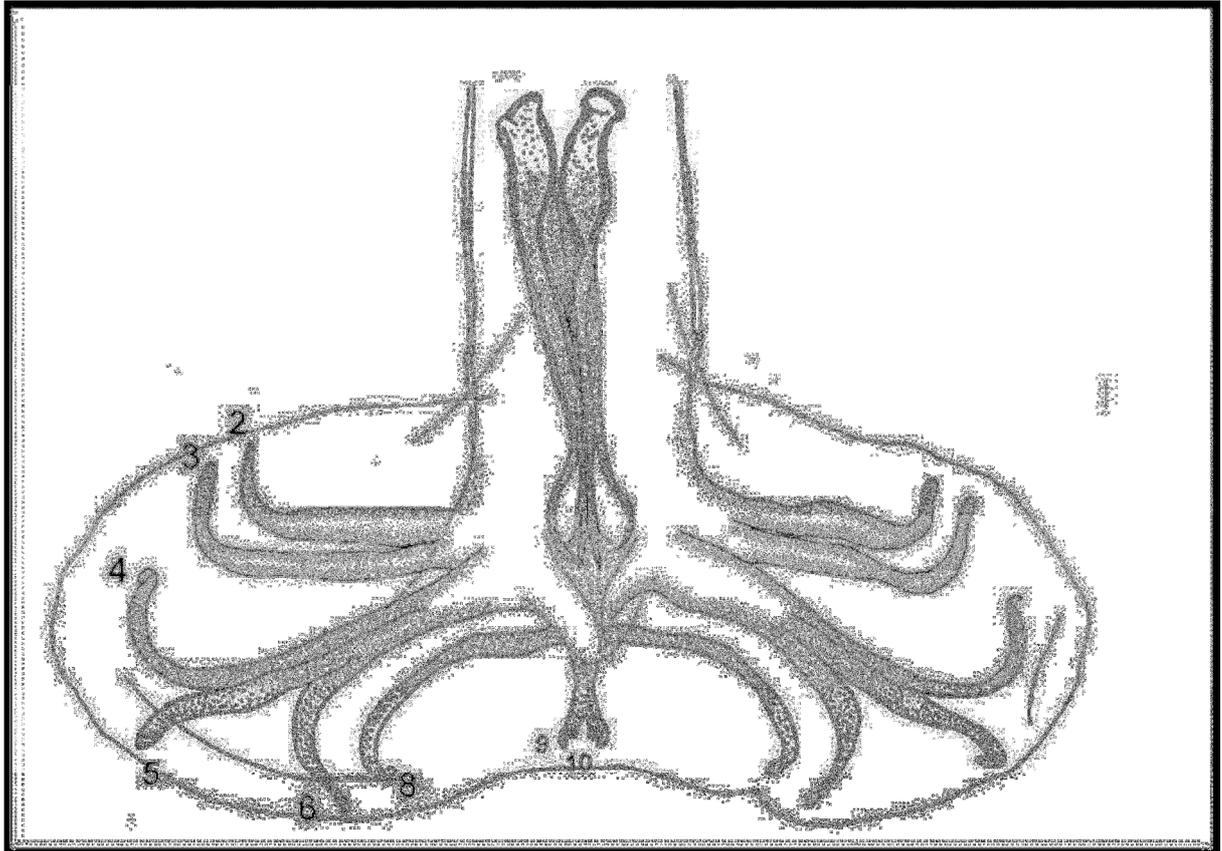


Figura 2.2. Esquema da nomenclatura dos raios da bolsa copuladora, segundo Durette-Desset e Chabaud (1981), adaptado.

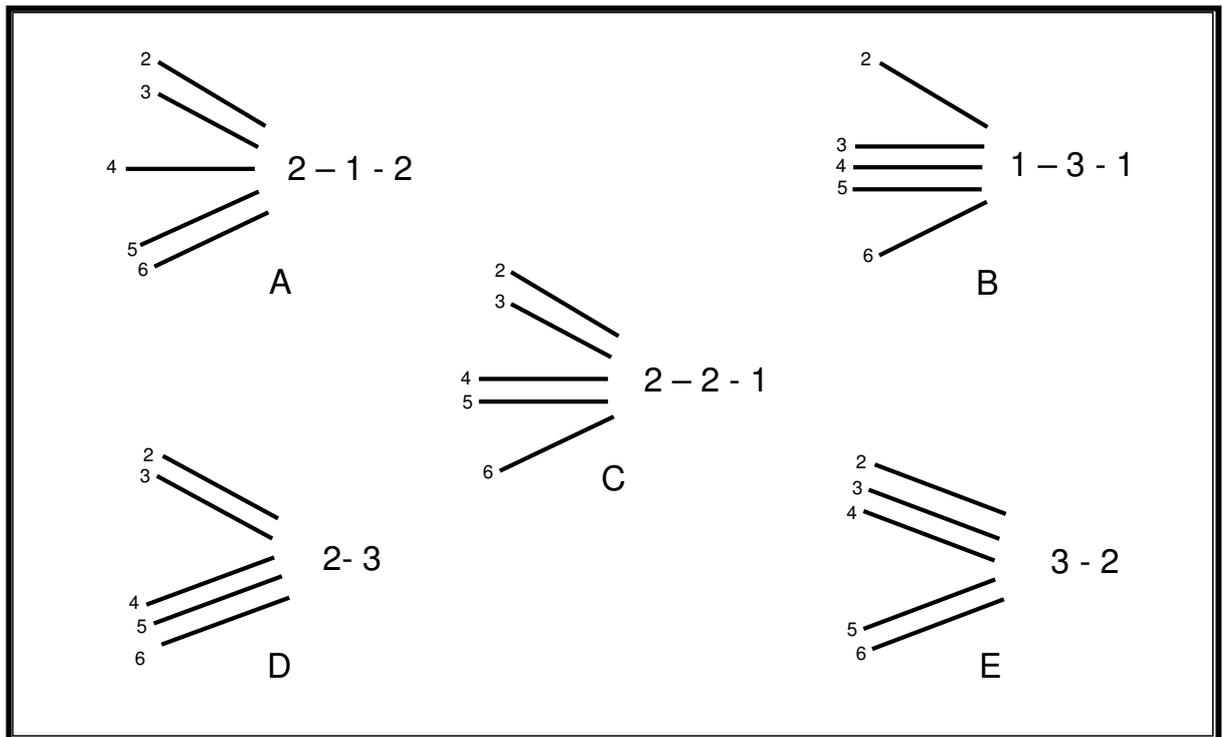


Figura 2.3. Esquema dos diferentes tipos de bolsa copuladora, segundo a organização dos raios da bolsa (DURETTE-DESSET; CHABAUD, 1981). **A.** Tipo 2-1-2, raios 2 e 3, e raios 5 e 6 agrupados e raio 4 isolado; **B.** Tipo 1-3-1, raios 2 isolados e raios 3 a 5 agrupados e raios 6 isolados; **C.** Tipo 2-2-1, raios 2 e 3 e raios 4 e 5 agrupados e raios 6 isolados; **D.** Tipo 2-3, raios 2 e 3 e raios 4 a 6 agrupados; **E.** Tipo 3-2, raios 2 a 4 e raios 5 e 6 agrupados.

2.3.8. PATOLOGIA

Foram utilizadas quatro emas adultas, três destas vieram a óbito e uma foi eutanasiada devido a uma fratura completa do tarso. As quatro emas foram necropsiadas e o trato gastrointestinal foi examinado macroscopicamente e as lesões causadas por parasitos foram descritas. As membranas coilina dos proventrículos e moelas foram cuidadosamente removidas durante a coleta dos parasitos, expondo-se assim, a mucosa. As macrolesões foram fotografadas utilizando-se câmara digital Sony Cyber-Shot® modelo T110.

2.4. RESULTADOS

2.4.1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS HELMINTOS

2.4.1.1. *Deletrocephalus dimidiatus*

Nematoda Rudolphi, 1808

Strongylida Molin, 1861

Strongyloidea Weinland, 1858

Deletrocephalidae Chitwood, 1969

Deletrocephalinae Railliet, 1916

***Deletrocephalus* Diesing, 1851**

***Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851**

2.4.1.1.1. Depósito de Espécimes

Amostras de machos e fêmeas foram depositadas na Coleção Parasitológica do Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter (HWML), da Universidade de Nebraska-Lincoln (UNL), sob o número HWML 67093 (Anexo 3).

2.4.1.1.2. Descrição Geral

Corpo filiforme, branco ou amarelo claro em vida. Fêmeas maiores que os machos (proporção de 1,08 : 1). Cutícula com fortes estriações transversais, sínlofe ausente (Figura 2.4) e esôfago claviforme, alcançando maior diâmetro na extremidade posterior (Figuras 2.5 A e 2.6). Abertura oral com formato hexagonal discreto, delimitada por seis lábios estriados radialmente (Figura 2.7 A). Presença de quatro papilas cefálicas arredondadas e um par de anfídeos (Figura 2.7 A). Cápsula bucal subglobular (Figuras 2.5 A e 2.8), com uma coroa radiata interna ondulada com seis saliências e seis depressões, com numerosos elementos quitinizados, denticuliformes. Logo abaixo da coroa radiata encontra-se uma estrutura quitinosa, também ondulada, que acompanha a coroa radiata (Figuras 2.7B e 2.8 B). Estoma com abertura transversal e com formato oval (Figura 2.7 C). Ao redor do fundo da cápsula bucal encontram-se 11 lancetas (Figuras 2.8 e 2.9B), e dois dentes maiores localizados na face dorsal (Figuras 2.8 A e 2.9 A) . Presença de um discreto anel cuticular na extremidade cefálica (Figura 2.7 A). Papila cervical pequena e cônica, de difícil visualização (Figura 2.5 A). Poro excretor próximo ao anel nervoso, também de difícil visualização, localizados na porção estreita do esôfago (Figura 2.5 A). Válvula esôfago-intestinal bem desenvolvida, formada por três unidades (Figura 2.10).

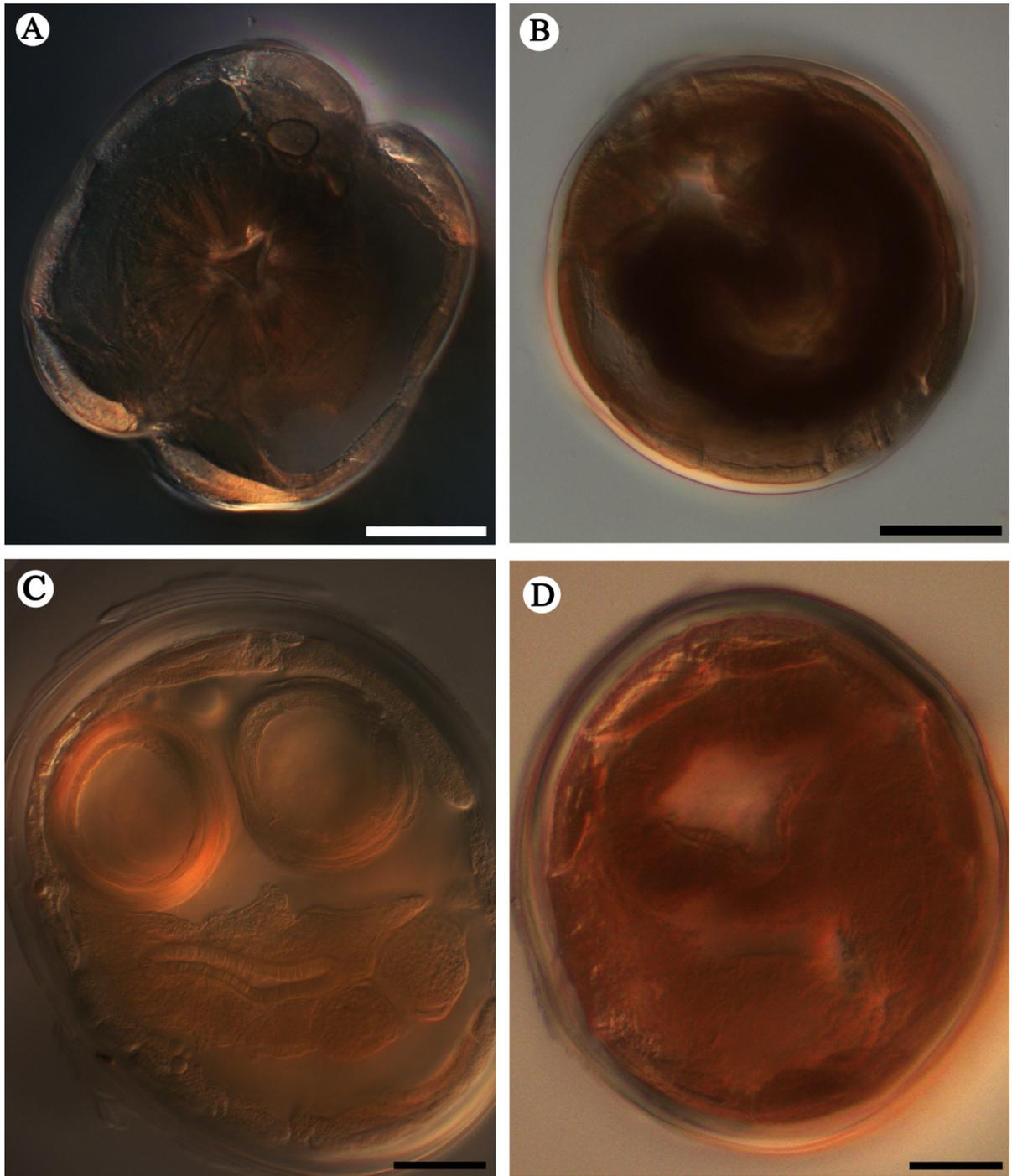


Figura 2.4. Micrografia óptica (DIC) de cortes transversais de *Deletrocephalus dimidiatus*, evidenciando a ausência de sínlofe. Cortes realizados ao nível do: **A.** Esôfago; **B.** Meio do corpo; **C.** Ovijetor e **D.** Espículos. Barras: 50µm.

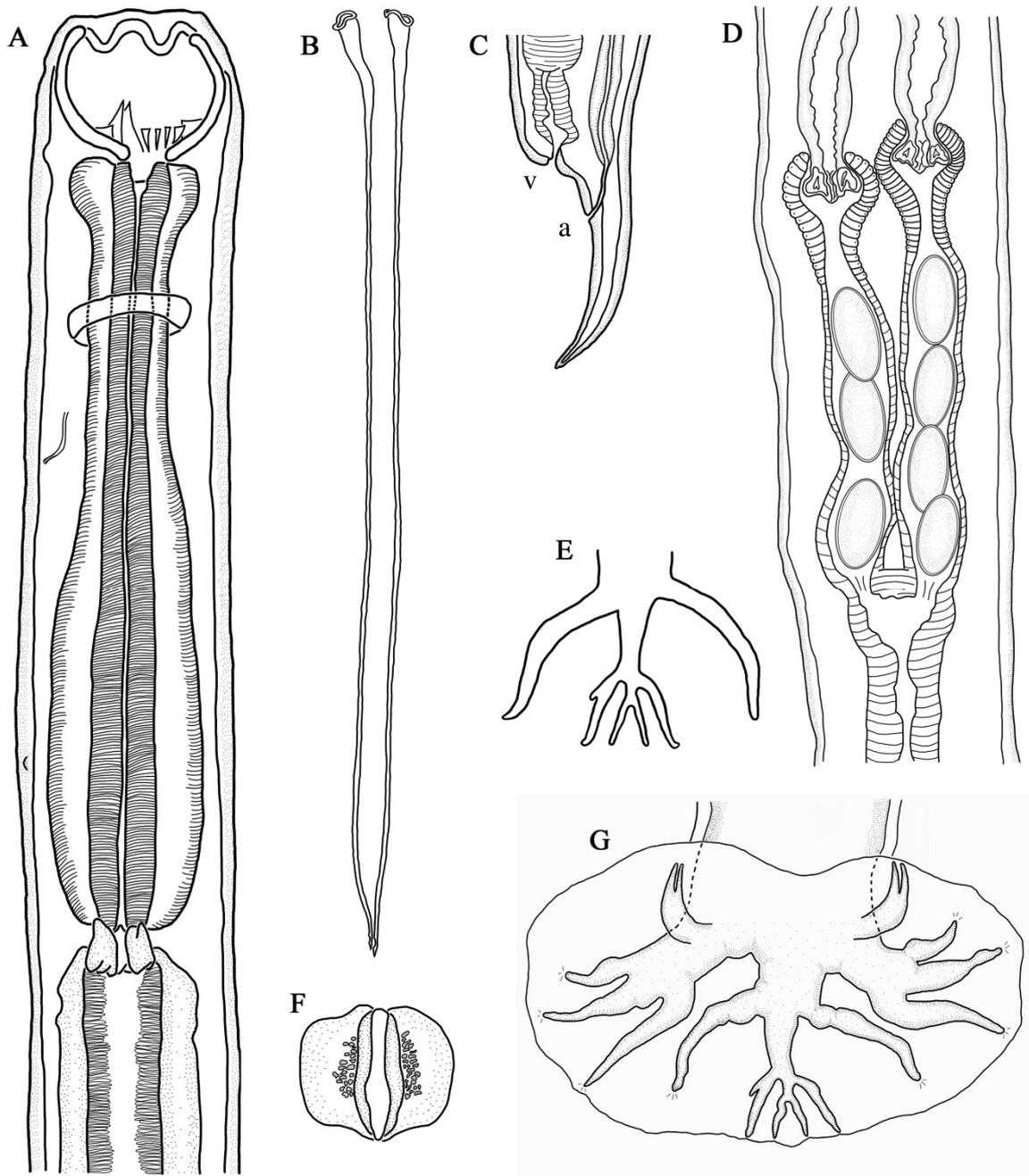


Figura 2.5. Desenhos feitos utilizando-se microscópio óptico acoplado a câmera clara, de *Deletrocephalus dimidiatus* parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção anterior, mostrando cápsula bucal, dentes e denticulos, esôfago, anel nervoso, poro excretor, papila cervical, junção esôfago-intestinal e porção inicial do intestino; **B.** Espículos; **C.** Extremidade posterior da fêmea, evidenciando abertura da vulva (v) e ânus (a); **D.** Ovíjetor; **E.** Raio dorsal; **F.** Gubernáculo; **G.** Bolsa copuladora, evidenciando organização dos raios.



Figura 2.6. Micrografia óptica de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Extremidade anterior mostrando cápsula bucal, estrutura do esôfago, anel nervoso e válvula esôfago-intestinal.

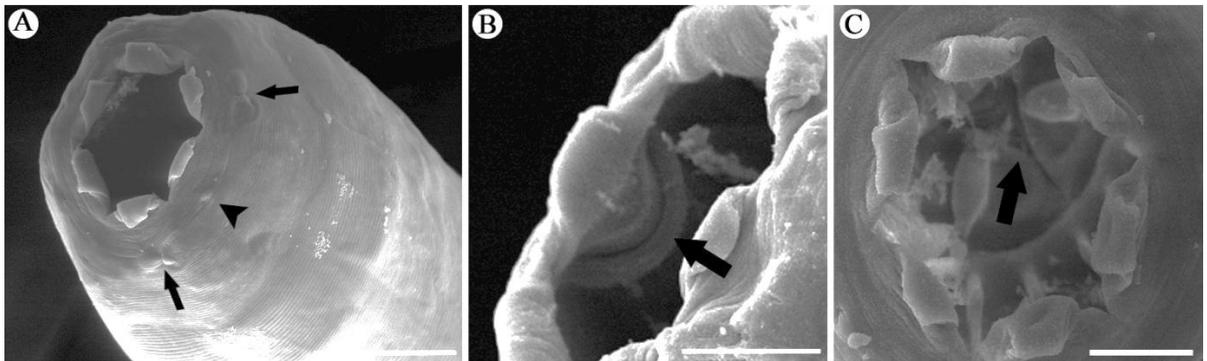


Figura 2.7. Micrografia eletrônica de varredura de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Extremidade anterior evidenciando papilas cefálicas (setas) e anfídeo (ponta de seta). Barra: 50 μ m; **B.** Projeções quitinosas ondulares no interior da cápsula bucal (seta). Barra: 20 μ m; **C.** Estoma com abertura transversal (seta). Barra: 20 μ m.

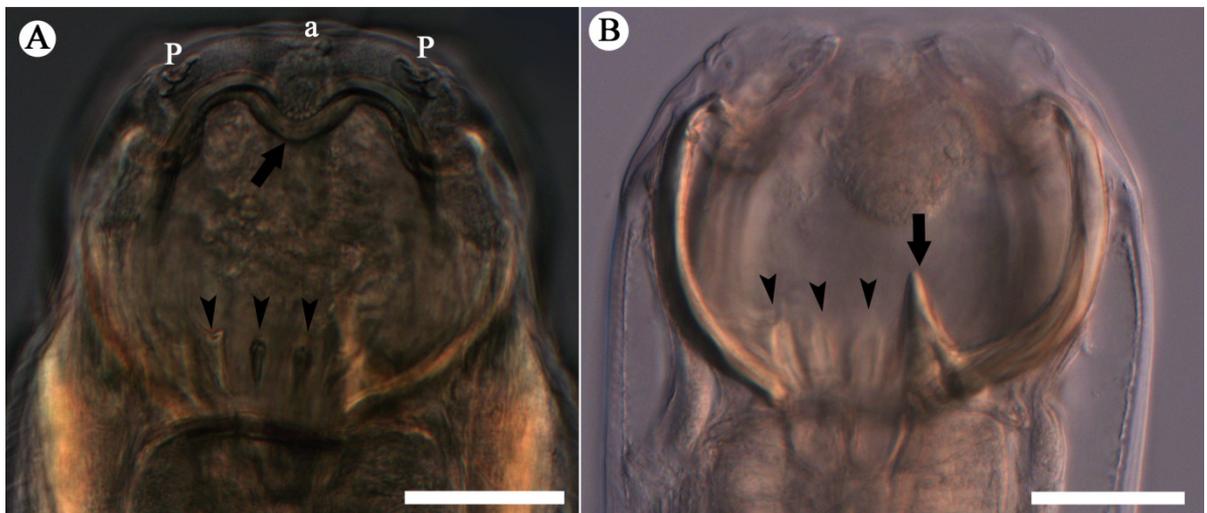


Figura 2.8. Micrografia óptica (DIC) da cápsula bucal de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar lancetas (pontas de seta), ondulações quitinosas (seta), papilas cefálicas (P) e anfídeo (a); **B.** Presença de dois dentes (seta) e lancetas (seta). Barras: 50 μ m.

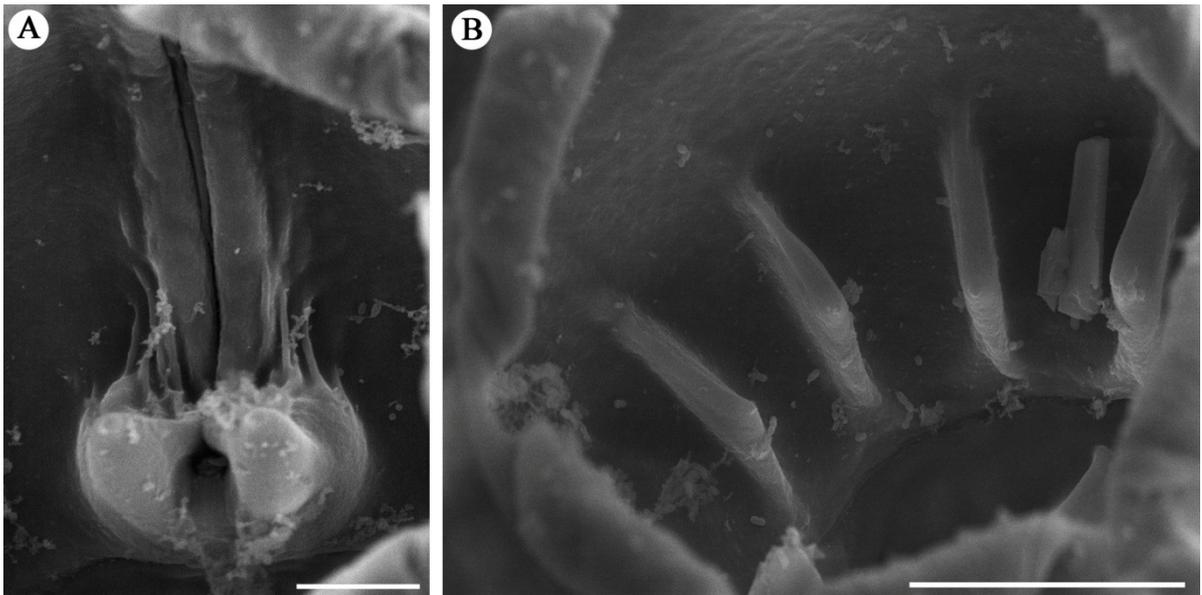


Figura 2.9. Micrografia eletrônica de varredura de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Um par de dentes proeminentes presentes na face dorsal da cápsula bucal. Barra: 10 μ m; **B.** Lancetas localizadas ao redor da cápsula bucal. Barra: 20 μ m.



Figura 2.10. Micrografia óptica (DIC) da válvula esôfago-intestinal de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50 μ m.

2.4.1.1.3. Machos

Os machos são menores que as fêmeas (Tabela 2.1), com comprimento total do corpo $8.668,67 \pm 1.749,92$ (5.639,94 – 11.454,80) e maior largura encontrada na região mediana do corpo $267,67 \pm 78,58$ (172,63 – 404,43). Largura do corpo na região anterior $138,92 \pm 10,38$ (117,39 – 157,30). Cápsula bucal com $122,76 \pm 7,47$ (110,79 – 133,14) de profundidade e $149,57 \pm 9,44$ (132,85 – 173,57) de largura. Infundíbulo esofageano medindo $57,98 \pm 8,45$ (43,59 – 73,11) de comprimento por $110,76 \pm 8,77$ (98,14 – 133,24) de largura, e estoma medindo $21,37 \pm 3,32$ (16,58 – 28,73) de comprimento por $31,71 \pm 4,09$ (26,71 – 43,32) de largura. Comprimento do esôfago $607,30 \pm 52,20$ (504,53 – 689,57), maior diâmetro do esôfago encontrado no bulbo, $130,29 \pm 12,50$ (98,74 – 151,15), largura do corpo do nematoide mensurada na base do esôfago $211,84 \pm 19,18$ (184,05 – 245,22), razão entre o comprimento do esôfago pelo comprimento total do corpo 1:0,07. Válvula esôfago-intestinal medindo $47,71 \pm 11,27$ (33,93 – 71,29) de comprimento por $130,29 \pm 12,50$ (98,74 – 151,15) de largura. Distância do anel nervoso à extremidade anterior $333,07 \pm 44,96$ (266,11 – 458,89), diâmetro do corpo mensurado ao nível do anel nervoso $188,19 \pm 20,61$ (159,14 – 227,47). Distância do poro excretor até a extremidade anterior $367,77 \pm 69,04$ (167,72 – 437,63) e diâmetro do corpo mensurado ao nível do poro excretor $198,08 \pm 61,62$ (159,33 – 397,83). Distância da papila cervical à extremidade anterior $600,82 \pm 42,20$ (547,12 – 651,71).

Extremidade caudal com presença de bolsa copuladora campanuliforme, bem desenvolvida do tipo 2-3 fechada ventralmente (Figura 2.11). Papilas pré-bursais ausentes. Os raios 2 ao 6 nascem de um tronco comum, se separando posteriormente, onde os raios 2 e 3 mantêm-se em um tronco comum e os raios 4 ao 6 em outro tronco comum. Raios 2 e 3 curtos, de comprimento semelhantes e voltados para a direção anterior, sendo o raio 3 levemente mais curto que o raio 2 (Figura 2.5 G e 2.11). Raios 5 maiores que os raios 4. Raios 4 e 5 em direção anterior e raios 6 se afastando, em direção posterior, em sua metade, com comprimento semelhante ao raio 5, quase atingindo a margem da bolsa. Raios externo-dorsal (raio 8) com comprimento de $51,35 \pm 15,11$ (27,98 – 83,42), não encostando na borda da membrana da bolsa copuladora, e nascendo em um terço do raio dorsal, podendo apresentar saliências globosas e irregulares (Figura 2.11).

Raio dorsal longo com $251,70 \pm 49,39$ ($132,30 - 317,56$) de comprimento, com a primeira ramificação a $153,65 \pm 34,02$ ($86,34 - 202,94$) e a segunda ramificação a $207,51 \pm 46,09$ ($120,36 - 243,76$) a partir da base do raio dorsal. A última ramificação possui $35,34 \pm 9,31$ ($19,11 - 42,67$) de comprimento. Alguns espécimes apresentaram uma pequena ramificação lateral, rudimentar, na primeira ramificação direita, evidenciando assim, padrões diferenciados (Figura 2.12).

Espículos finos, bem quitinizados, com comprimento total semelhantes, com a extremidade proximal mais larga, e a distal levemente afilada (Figuras 2.5 B e 2.13). Espículos esquerdos: comprimento total $1.160,07 \pm 171,59$ ($934,59 - 1.526,34$), largura máxima $8,13 \pm 1,12$ ($6,63 - 10,75$), largura do pescoço $16,14 \pm 3,62$ ($11,53 - 27,72$), cabeça do espículo $22,07 \pm 4,84$ ($15,08 - 32,56$) de comprimento por $27,44 \pm 4,07$ ($20,53 - 37,49$) de largura, extremidade distal medindo $25,31 \pm 3,93$ ($16,75 - 28,48$) de comprimento por $5,07 \pm 1,04$ ($4,19 - 7,44$) de largura. Espículos direitos: comprimento total $1.111,22 \pm 147,29$ ($913,15 - 1.395,83$), largura máxima $8,52 \pm 1,23$ ($6,65 - 11,44$), largura do pescoço $17,03 \pm 2,54$ ($11,45 - 21,54$), cabeça do espículo $22,69 \pm 5,16$ ($15,55 - 33,90$) de comprimento por $27,77 \pm 4,94$ ($18,79 - 39,82$) de largura, extremidade distal medindo $24,83 \pm 3,79$ ($19,81 - 30,82$) de comprimento por $5,03 \pm 1,28$ ($3,68 - 7,53$) de largura. Razão entre o comprimento total do corpo pelo comprimento dos espículos 1:0,14. Gubernáculo pequeno pouco quitinizado (Figura 2.14), com $48,57 \pm 13,81$ ($27,79 - 79,3$) de comprimento. Cone genital bem desenvolvido, medindo $104,41 \pm 20,33$ ($55,46 - 133,51$) de comprimento por $134,96 \pm 42,88$ ($64,66 - 205,58$) de largura (Figura 2.15). As papilas do cone genital são bem desenvolvidas, sendo a papila zero simples, e papilas sete duplas (Figura 2.16). Largura do corpo ao nível da cloaca $226,61 \pm 55,29$ ($1.126,72 - 310,11$).



Figura 2.11. Micrografia óptica (DIC) da bolsa copuladora de um espécime macho de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 100µm.

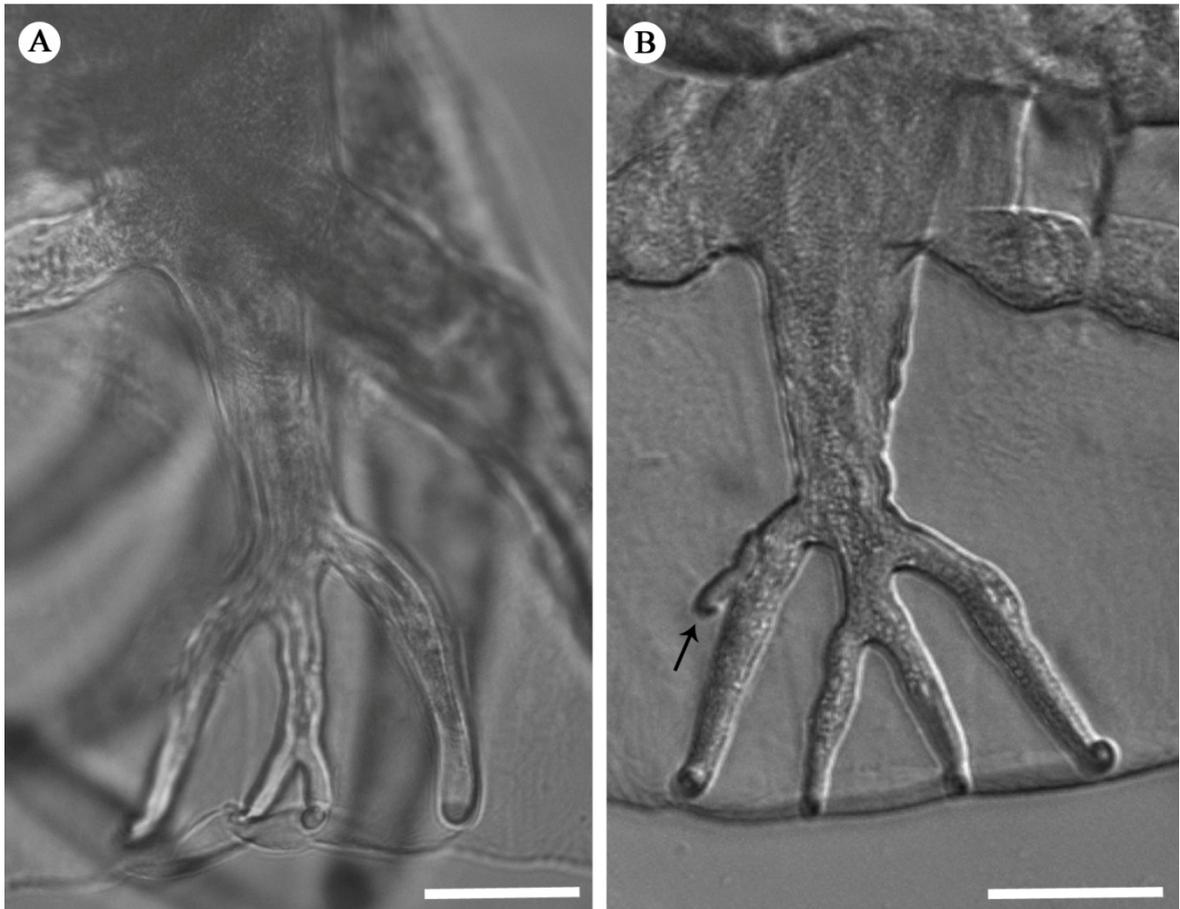


Figura 2.12. Micrografia óptica (DIC) dos diferentes padrões do raio dorsal de *Deletocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Raio dorsal sem ramificação rudimentar lateral; **B.** Raio dorsal com ramificação rudimentar lateral (seta). Barras: 50µm.

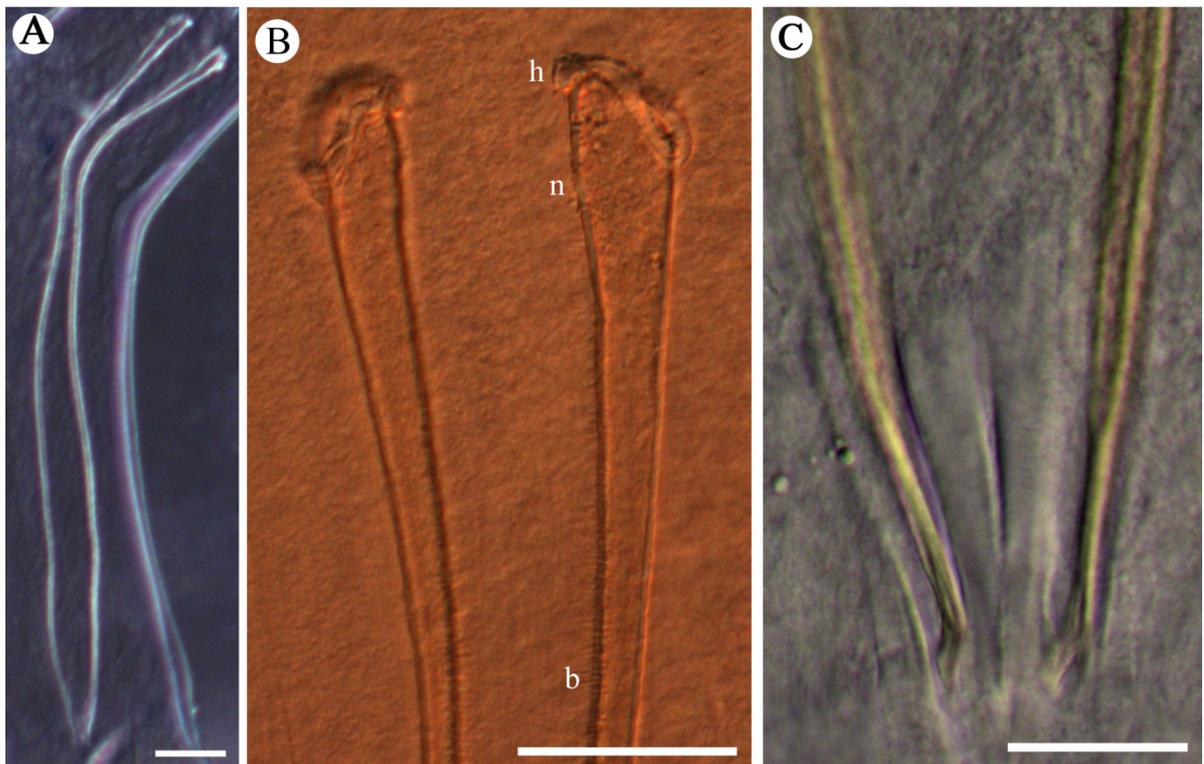


Figura 2.13. Micrografia óptica (DIC) dos espículos dos machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista total dos espículos. Barra: 100 μ m; **B.** Porção anterior, mostrando a cabeça (h), pescoço (n) e parte do corpo (b) dos espículos. Barra: 50 μ m; **C.** Extremidade posterior dos espículos. Barra: 25 μ m.

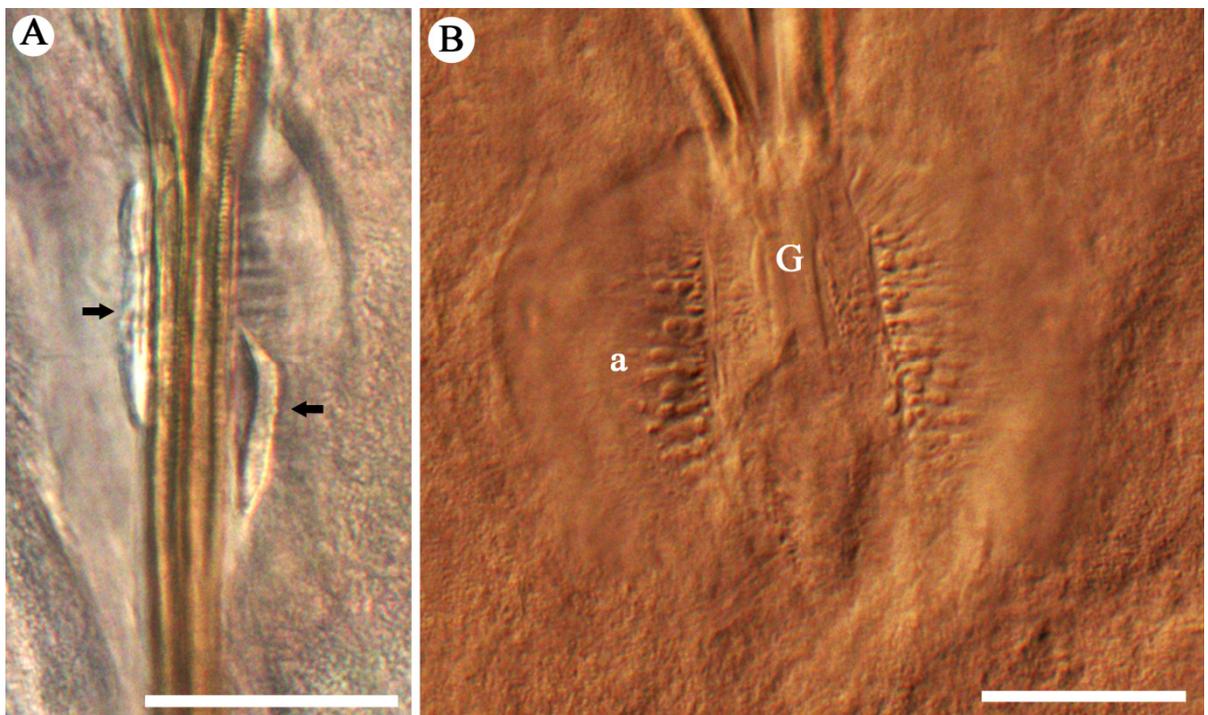


Figura 2.14. Micrografia óptica (DIC) do gubernáculo de espécimes machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** gubernáculo (setas) em vista lateral; **B.** gubernáculo (G) em vista frontal, com estrutura acessória (a). Barras: 50 μ m.

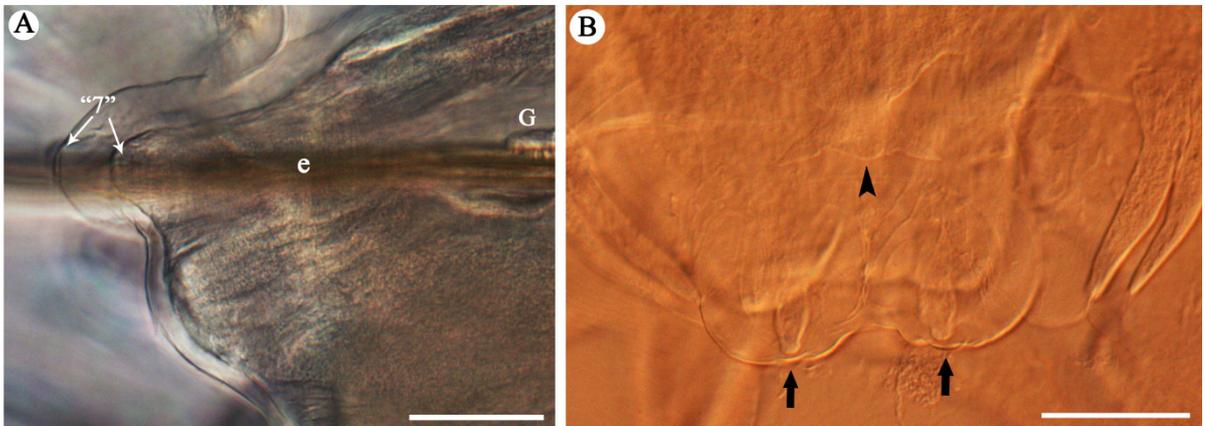


Figura 2.15. Micrografia óptica (DIC) do cone genital de espécimes machos de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista lateral, evidenciando papila “7” dupla (setas), espículos (e) e gubernáculo (G); **B.** Vista frontal. Observar papila “7” dupla (setas) e papila “0” simples (ponta de seta). Barras: 50µm.

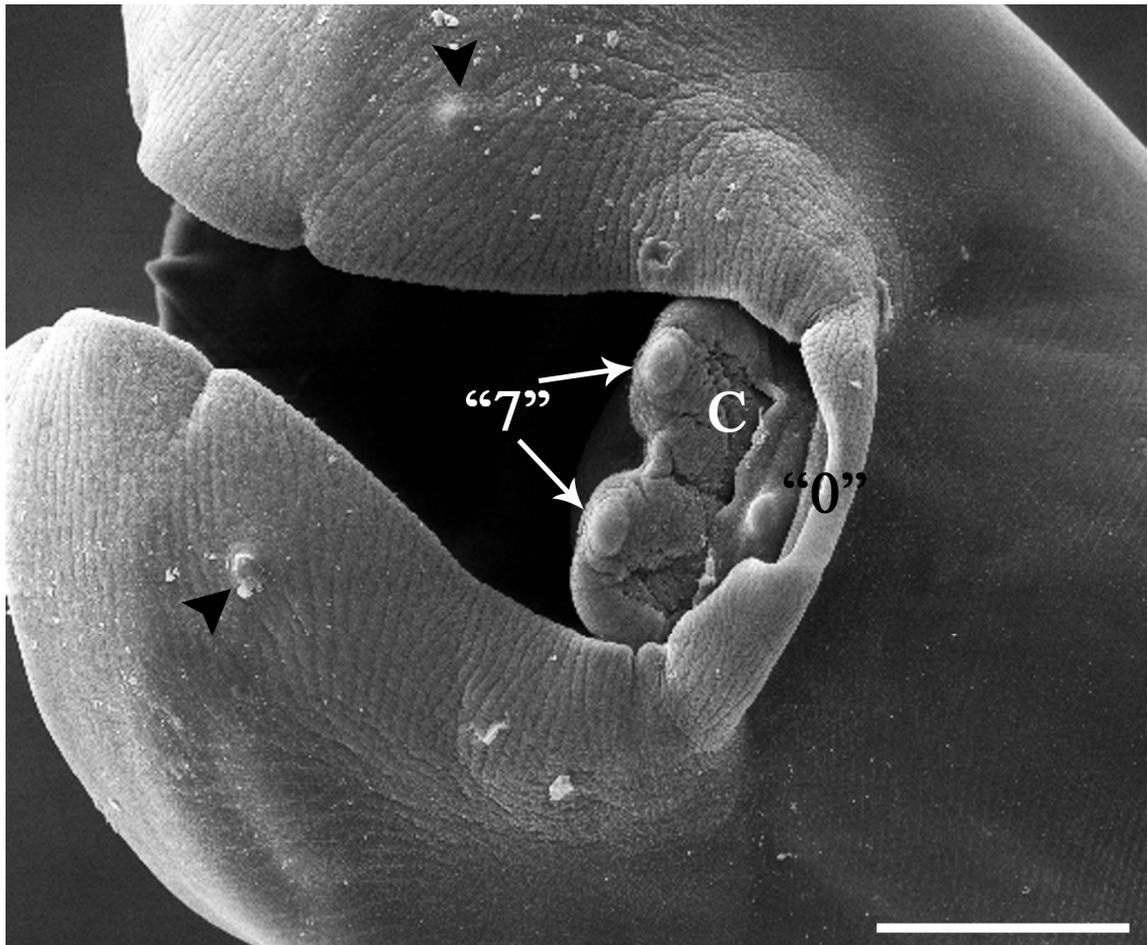


Figura 2.16. Micrografia eletrônica de varredura da bolsa copuladora de um espécime macho de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. Evidenciando a estrutura do cone genital, mostrando a papila zero simples ("0"), abertura da cloaca (C) e um par de papilas sete ("7"). Presença de duas papilas na membrana da bolsa copuladora (ponta de seta). Barra: 50µm.

2.4.1.1.4. Fêmeas

Fêmeas maiores que os machos (Tabela 2.2), com comprimento total de $13.293,05 \pm 1.515,48$ (11.184,40 – 16.205,04), maior largura do corpo na região mediana $391,46 \pm 72,93$ (242,60 – 471,60). Largura do corpo na extremidade anterior de $160,00 \pm 15,15$ (138,70 – 188,60). Cápsula bucal com $143,50 \pm 32,83$ (114,48 – 252,79) de profundidade, por $171,24 \pm 34,03$ (141,32 – 276,80) de largura. Estoma medindo $22,16 \pm 3,60$ (14,45 – 28,76) de profundidade, por $31,32 \pm 6,37$ (19,18 – 39,58) de largura. Infundíbulo esofageano medindo $55,13 \pm 9,26$ (40,67 – 68,68) de comprimento por $116,34 \pm 7,81$ (107,21 – 131,95) de largura. Comprimento do esôfago $717,24 \pm 62,72$ (595,42 – 833,95) e largura máxima $150,07 \pm 12,49$ (125,12 – 169,38). Largura do corpo na altura da base do esôfago $235,16 \pm 28,50$ (196,78 – 289,87), razão entre o comprimento total do corpo pelo comprimento do esôfago 1:0,05. Válvula esôfago-intestinal medindo $55,49 \pm 16,39$ (34,24 – 83,13) de comprimento por $106,79 \pm 25,54$ (84,54 – 164,82) de largura. Distância do anel nervoso até a extremidade anterior $328,73 \pm 43,85$ (256,17 – 420,44), largura do corpo ao nível do anel nervoso $209,78 \pm 21,67$ (175,61 – 239,35). Distância do poro excretor à extremidade anterior $394,88 \pm 44,36$ (335,81 – 492,42), largura do corpo ao nível do poro excretor $215,65 \pm 26,02$ (177,95 – 274,52). Distância da papila cervical à extremidade anterior $602,34 \pm 28,62$ (563,61 – 652,21).

Apresentam ovários didélficos e útero prodélfico paralelos (Figuras 2.5 D e 2.17). Comprimento total do ovijetor $675,39 \pm 98,10$ (514,82 – 803,05), com esfíncter, vestibulo e infundíbula medindo, $130,86 \pm 17,88$ (106,33 – 179,23), $398,66 \pm 96,30$ (234,07 – 568,29), $150,89 \pm 35,06$ (75,78 – 217,28), respectivamente. Razão entre o comprimento total do corpo pelo comprimento total do ovijetor 1:0,05. Vagina curta (Figura 2.15 C), com comprimento de $241,07 \pm 39,72$ (181,75 – 313,29) e diâmetro na região mediana de $68,82 \pm 12,26$ (51,80 – 98,04). Vulva com lábios proeminentes, abrindo-se em uma fenda transversal próxima ao ânus a $489,67 \pm 57,95$ (375,41 – 582,91) da extremidade posterior (Figuras 2.18 e 2.19), largura do corpo em nível da vulva $229,74 \pm 45,23$ (131,65 – 290,88). Cauda cônica (Figuras 2.18 e 2.19), com $309,29 \pm 22,67$ (264,48 –

356,42) de comprimento. Largura do corpo em nível do ânus $309,29 \pm 22,67$ (110,30 – 140,19). Dimensão dos ovos nos estágios de mórula $182,86 \pm 22,00$ (140,38 – 248,00) por $77,24 \pm 8,98$ (59,00 – 98,26). Algumas fêmeas apresentaram ovos larvados no interior do ovijetor e útero (Figura 2.20), medindo $175,65 \pm 11,91$ (152,79 – 198,44) por $80,59 \pm 8,67$ (64,88 – 96,20).

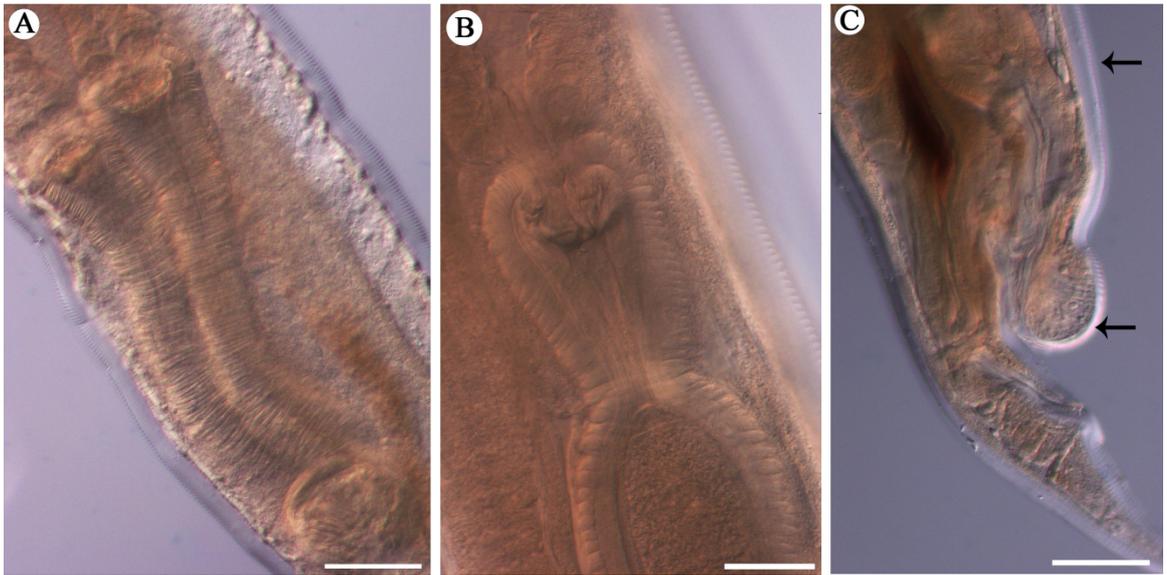


Figura 2.17. Micrografia óptica (DIC) do ovijetor de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Estrutura completa do ovijetor. Barra: 50 μ m; **B.** Infundíbulo. Barra: 100 μ m; **C.** Vagina (entre as setas). Barra: 50 μ m.

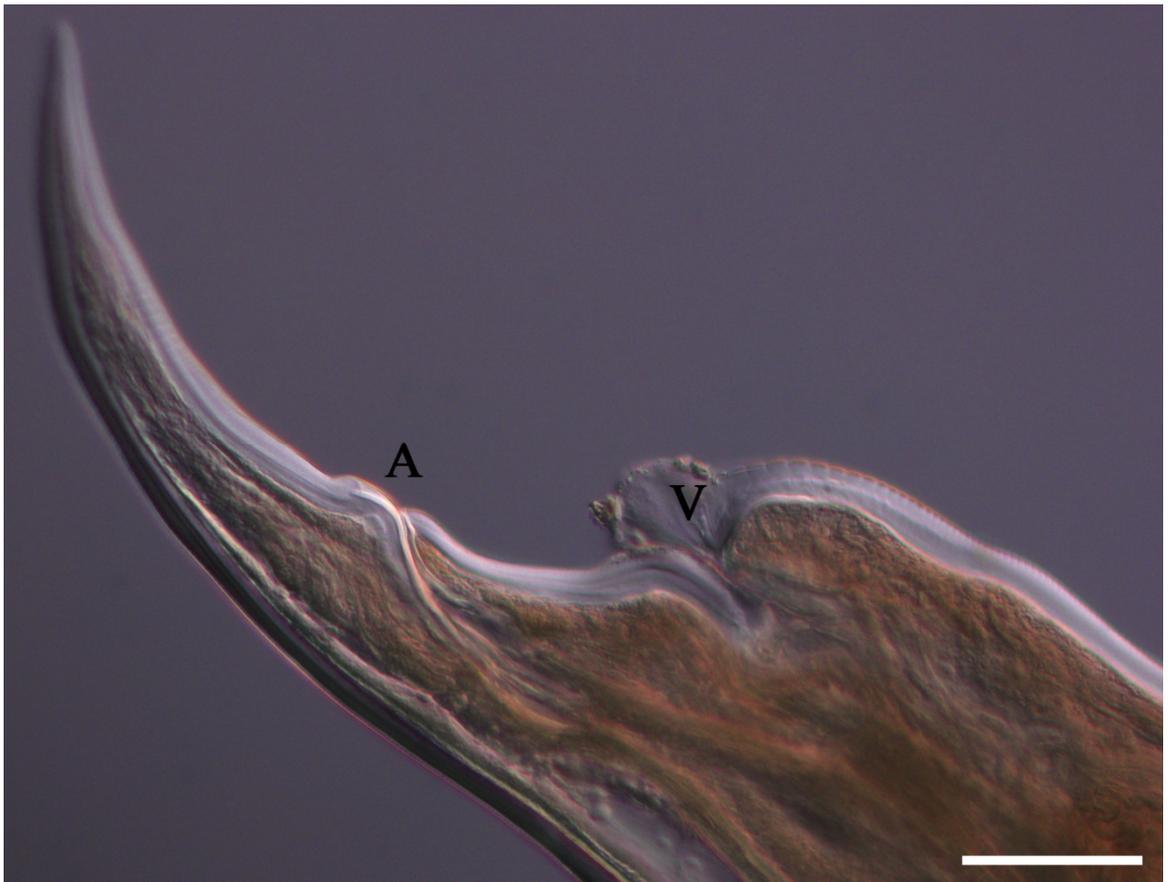


Figura 2.18. Micrografia óptica (DIC) da extremidade posterior de uma fêmea de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando as aberturas do ânus (A) e vulva (V). Barra: 100µm.

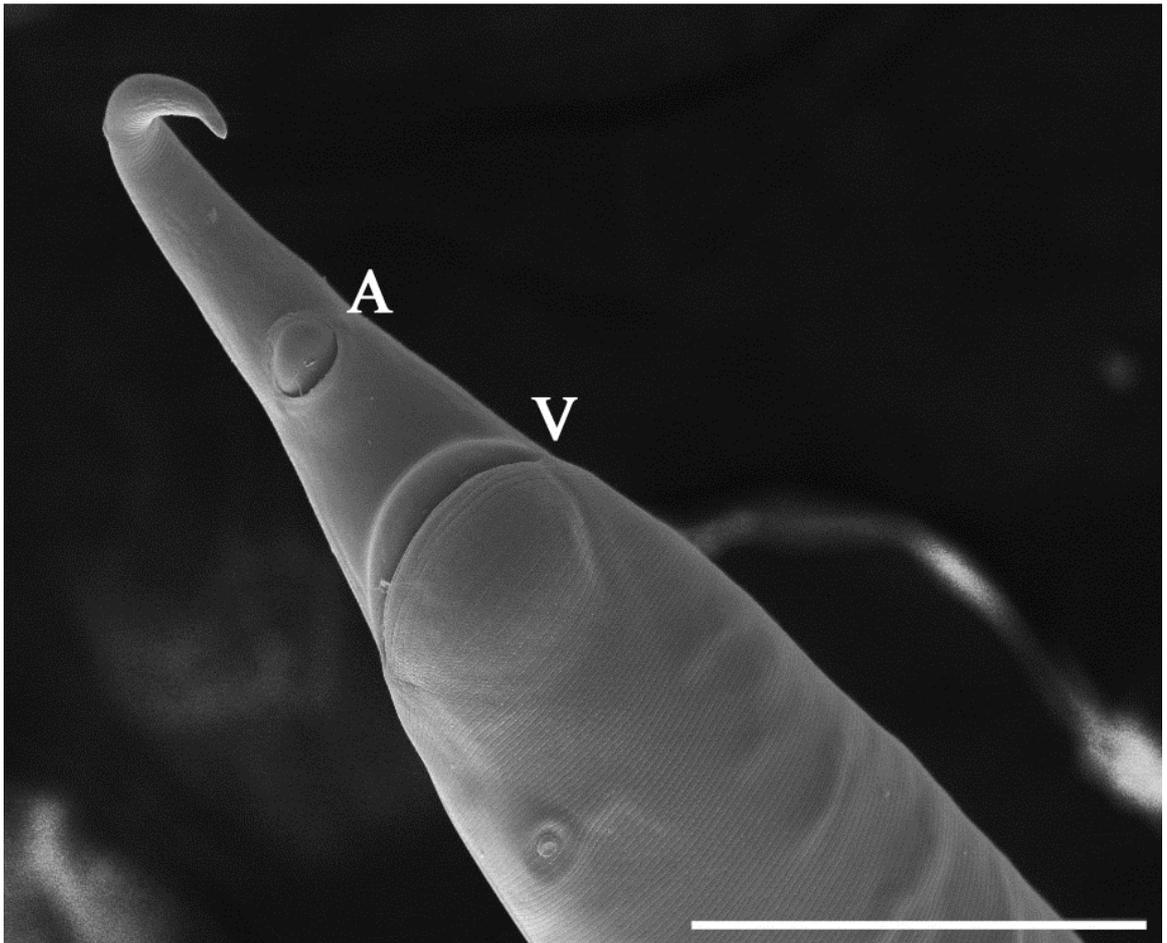


Figura 2.19. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de uma fêmea de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando as aberturas do ânus (A) e vulva (V). Barra: 200 μ m.

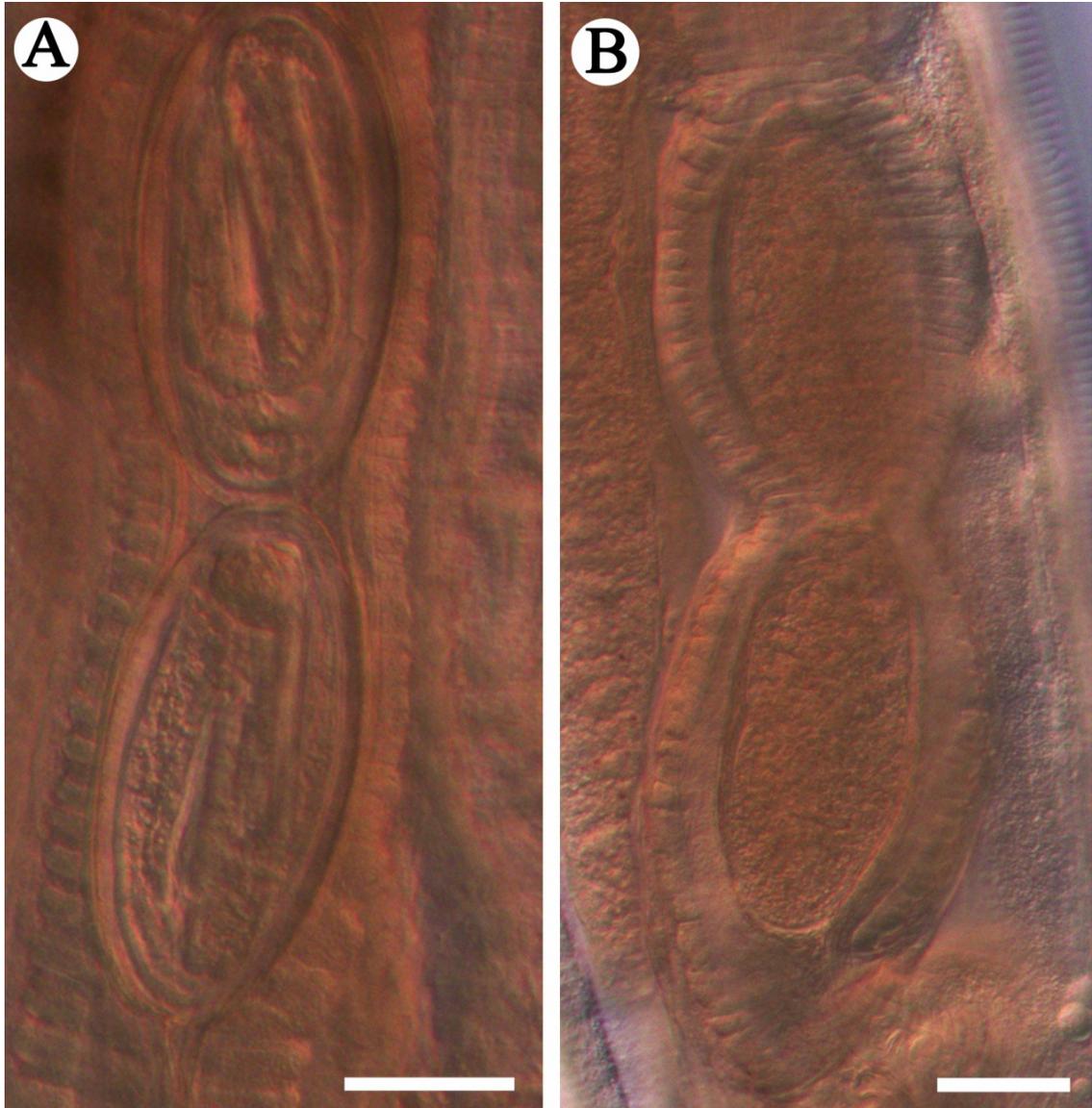


Figura 2.20. Micrografia óptica (DIC) de ovos no interior do ovijetor de fêmeas de *Deletrocephalus dimidiatus*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Ovos larvados; **B.** ovos não larvados. Barras: 50µm.

2.4.1.2. *Sicarius uncinipenis*

Nematoda Rudolphi, 1808

Spirurida Chitwood, 1933

Habronematoidea

Habronematidae Chitwood & Wehr, 1932

Habronematinae Chitwood & Wehr, 1932

***Sicarius* Li, 1934**

***Sicarius uncinipenis* (Molin, 1860)**

***Syn. Spiroptera uncinipenis* Molin, 1860**

***Syn. Cheilospirura uncinipenis* Diesing, 1861**

***Syn. Spirura uncinipenis* Railliet e Henry, 1911**

***Syn. Seurocyrnea uncinipenis* Chitwood e Wher, 1934**

***Syn. Sicarius nobregai* Vaz, 1936**

2.4.1.2.1. Depósito dos Espécimes

Amostras de machos e fêmeas foram depositadas na Coleção Parasitológica do Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter (HWML), da Universidade de Nebraska-Lincoln (UNL), sob o número HWML 67092 (Anexo 3).

2.4.1.2.2. Descrição Geral

Fêmeas maiores que os machos (proporção de 1,49:1), com coloração avermelhada em vida, com marcado dimorfismo sexual, facilmente observável ao olho nú (Figura 2.21). Cutícula com estriações transversais ao longo do corpo e sínlofe ausente (Figura 2.22). Presença de dois lábios laterais, bem desenvolvidos e dois interlábios, um dorsal e outro ventral (Figuras 2.23 e 2.24). Os lábios são trilobulados, com um formato triangular, estreito na base e alargando-se em direção ao bordo livre (Figura 2.24 A). Os lóbulos ventrais e dorsais possuem um dentículo maior, voltado para a face dorsal e ventral do parasito, respectivamente (Figura 2.24 A). Próximos ao lóbulo central encontram-se dois dentículos maiores curvados em direção um ao outro, e três dentículos menores, voltados para frente (Figura 2.24 A). Na lobulação central, encontram-se um dentículo maior, ao centro, e quatro dentículos menores de cada lado deste (Figura 2.24 A). Os interlábios são formados por três lobos, dois triangulares laterais, e um central em forma de alteres. O lobo central se articula, se encaixando entre os lábios laterais, e os lobos laterais se encaixam na base dos lábios laterais (Figura 2.24 A). Abertura oral pequena, caracterizada por uma fenda reta, circundada por uma estrutura semelhante a uma ventosa (Figura 2.24 B). Na extremidade anterior, pode-se observar a presença de quatro papilas labiais circulares localizadas nas unidades laterais dos interlábios e dois anfídeos com formato circular localizado nos lábios laterais (Figura 2.24 A). Presença de cavidade bucal bem desenvolvida e nítida (Figuras 2.25 e 2.26). O esôfago é longo, com uma divisão bem visível, separando-o em uma pequena porção anterior e uma longa porção posterior, ambas musculares (Figuras 2.25 e 2.26). Válvula esôfago-intestinal pouco desenvolvida (Figura 2.26 B). Papilas cervicais com formato arredondado (Figura 2.26 A).



Figura 2.21. Espécimes machos e fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, fixados em formalina 10% e conservados em etanol 70%.

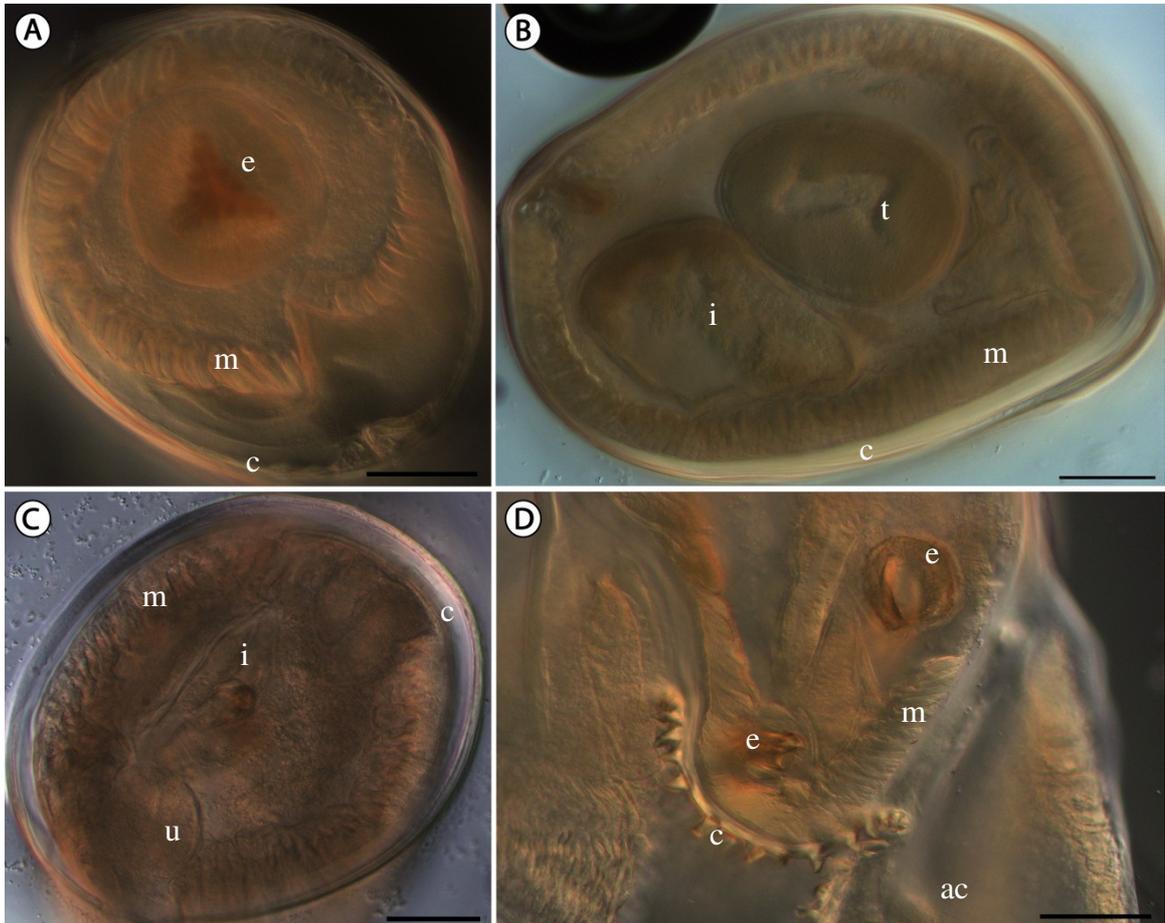


Figura 2.22. Microscopia óptica (DIC) de cortes transversais de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*, onde se observa a ausência de sínlofe. Cortes realizados ao nível do: **A.** Esôfago, evidenciando: esôfago (e), camada muscular (m) e cutícula (c); **B.** Meio do corpo de um exemplar macho, evidenciando: testículo (t), intestino (i), camada muscular (m) e cutícula (c); **C.** Região posterior de uma fêmea, evidenciando: útero (u), intestino (i), camada muscular (m) e cutícula (c); **D.** Região posterior de um macho, evidenciando espículos (e), camada muscular (m) e cristas cuticulares (c) presentes na face interior da asa caudal (ac). Barras: 100 μ m.

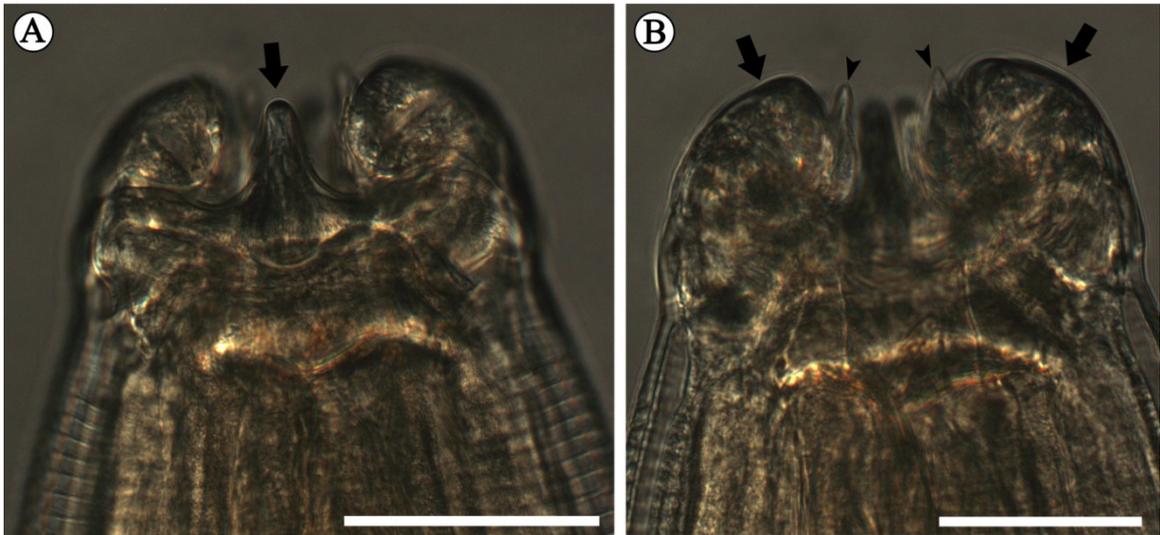


Figura 2.23. Micrografia óptica (DIC) de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Vista ventral, evidenciando interlábio ventral (seta); **B.** Vista lateral, evidenciando lábios laterais (setas) com dentículos (pontas de seta). Barras: 100 μm .

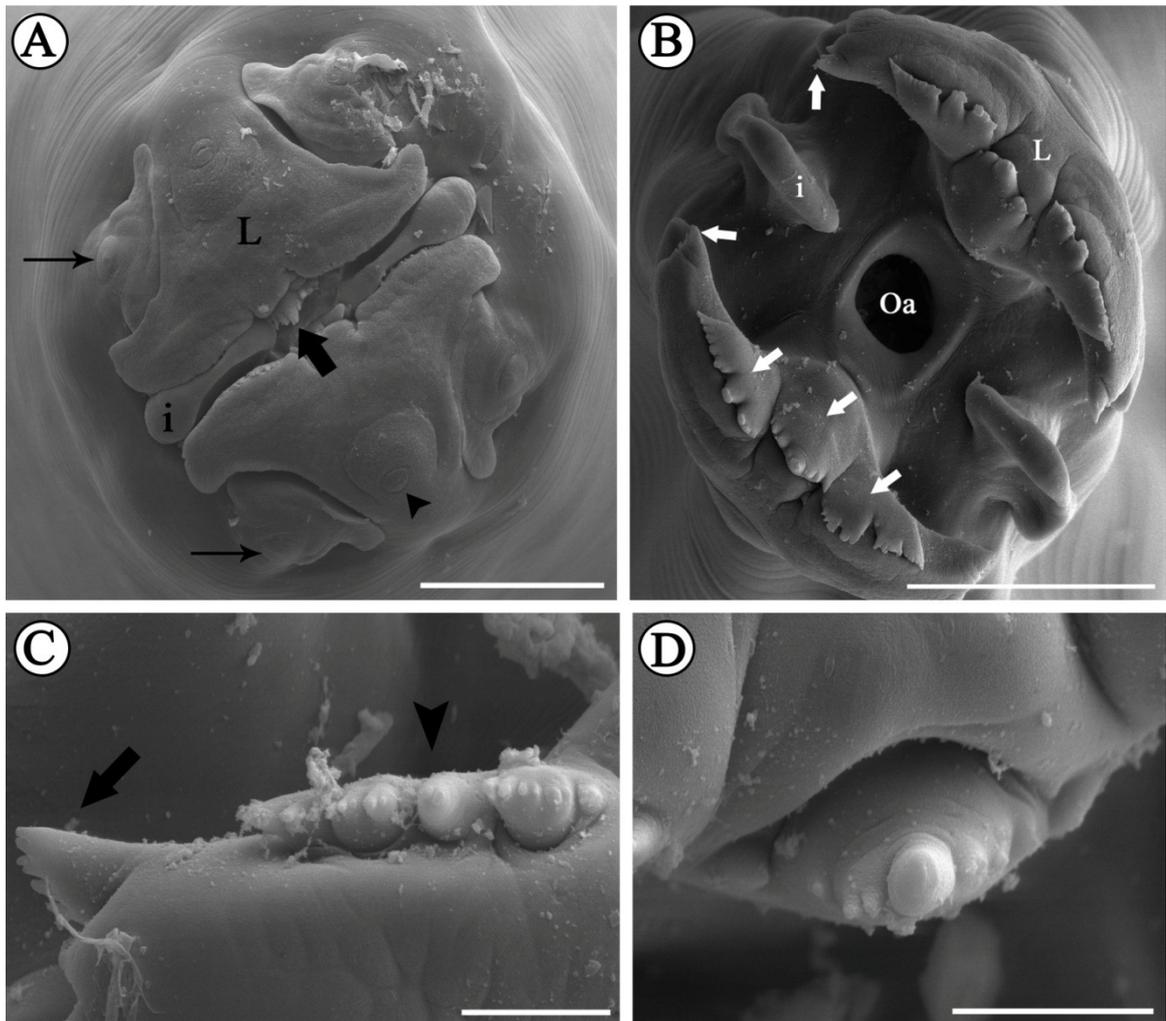


Figura 2.24. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade anterior de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar os lábios laterais (L), interlábios dorsais e ventrais (i), anfídeos (ponta de seta), papilas labiais (setas finas) e dentículos dos lábios (seta larga). Barra: 50 μm .; **B.** Observar abertura oral (Oa), lábios laterais (L), interlábios dorsais e ventrais (i), e dentículos dos lábios (setas). Barra: 50 μm ; **C.** Aumento do labo lateral do lábio, evidenciando dentículo maior na extremidade do lábio (seta) e grupo de dentículos (ponta de seta). Barra: 10 μm ; **D.** Aumento do labo central do lábio com grupo de dentículos. Barra: 10 μm .



Figura 2.25. Micrografia óptica da extremidade anterior de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. Mostrando estoma (ponta de seta), esôfago (seta), e uma porção do ovário, repleta de ovos (U). Barra: 300 μ m.

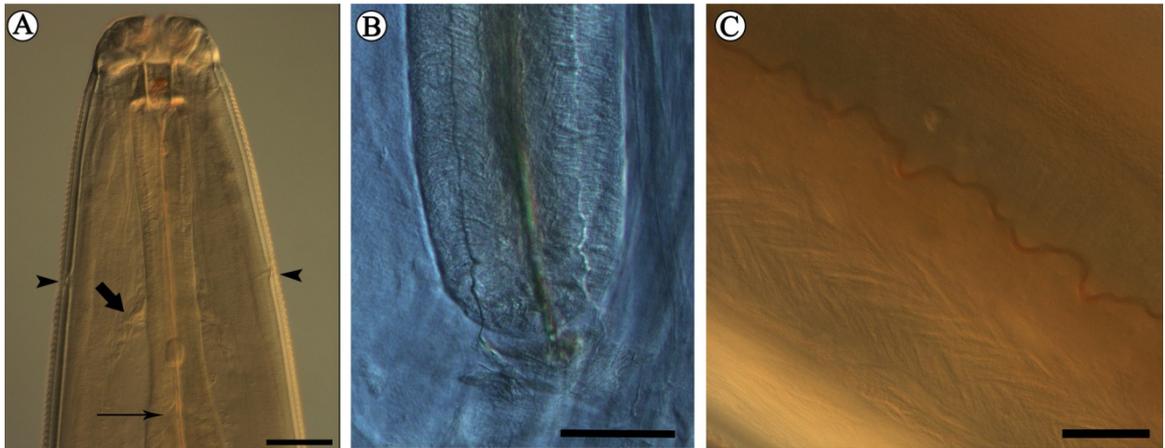


Figura 2.26. Micrografia óptica (DIC) do esôfago de *Sicarius uncinipenis* parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Primeira porção do esôfago, evidenciando anel nervoso (seta larga), um par de papilas cervicais (pontas de seta), e divisão entre a primeira e segunda porção do esôfago (seta fina); **B.** Extremidade distal da segunda porção do esôfago, na junção entre o esôfago e o intestino. Verificar fibras musculares, ampliadas em **C**, evidenciando que as duas porções do esôfago são musculares. Barras: 100 μm .

2.4.1.2.3. Machos

Os machos são menores que as fêmeas (Tabela 2.1), com comprimento total do corpo $25.414,95 \pm 2.169,38$ (22.546,43 – 30.980,52) e maior largura encontrada na região mediana do corpo $752,19 \pm 58,13$ (659,13 – 827,47). Largura do corpo na região anterior do corpo $162,47 \pm 9,95$ (148,78 – 181,39). Cavidade bucal medindo $59,67 \pm 6,33$ (46,38 – 68,19) de profundidade por $31,20 \pm 4,89$ (23,63 – 40,51) de largura. Comprimento da primeira porção do esôfago $396,26 \pm 30,48$ (351,36 – 454,93), com a maior largura na região anterior $87,72 \pm 9,50$ (74,52 – 107,72), e segunda porção do esôfago medindo $3.126,88 \pm 237,44$ (2.685,32 – 3.567,77), com o maior diâmetro na região posterior $207,98 \pm 24,26$ (163,68 – 249,42). Largura do corpo do nematoide mensurada na base do esôfago de $686,01 \pm 61,54$ (591,15 – 823,30). Razão entre o comprimento total do esôfago pelo comprimento total do corpo de 1:0,14. Distância do anel nervoso à extremidade anterior de $404,72 \pm 60,62$ (282,43 – 490,54) e diâmetro do corpo mensurado ao nível do anel nervoso $323,78 \pm 25,27$ (282,09 – 373,16). Distância do poro excretor à extremidade anterior $586,00 \pm 50,29$ (528,92 – 658,73), largura do corpo mensurado ao nível do poro excretor $310,11 \pm 11,82$ (301,75 – 318,47). Distância da papila cervical à extremidade anterior $384,29 \pm 18,38$ (361,53 – 411,48).

Extremidade posterior do corpo enrolada em espiral, ventralmente (Figuras 2.27 e 2.28 A) com presença de asa caudal bilateral, ornamentada com texturas lineares interrompidas (Figuras 2.27 e 2.28) com $3.246,31 \pm 421,50$ (2.455,42 – 3.776,08) de comprimento e $295,78 \pm 36,67$ (237,13 – 347,15) de maior largura da caudal. Proporção entre o comprimento total do corpo e o comprimento da asa caudal igual a 1:0,13. Abertura da cloaca próxima à extremidade posterior dos machos a $584,61 \pm 147,24$ (418,78 – 775,60) da extremidade da cauda. Largura do corpo mensurada ao nível da abertura da cloaca $469,12 \pm 75,56$ (353,82 – 585,13). Presença de oito papilas pré-cloacais, arredondadas, em grupos organizados, com simetria bilateral (Figura 2.29 C), e quatro papilas pós-cloacais, maiores e desordenadas (Figura 2.29 D). Além destas, foi observada uma papila maior, localizada próxima à abertura da cloaca, ao lado esquerdo (Figura 2.29 B). Espículos com comprimentos desiguais,

sendo um longo e fino, e o outro curto e mais espesso (Figura 2.27). Espículo esquerdo (maior): comprimento total $3.494,39 \pm 193,99$ (3.205,71 – 3.774,34), largura máxima $40,54 \pm 7,66$ (33,63 – 61,13), largura do pescoço $46,45 \pm 5,63$ (35,32 – 56,06), largura da cabeça do espículo $80,99 \pm 8,81$ (66,33 – 100,79) e extremidade distal com uma projeção mais fina na extremidade (Figura 2.31 A), com $130,89 \pm 18,17$ (105,00 – 160,88) de comprimento. Espículo direito (menor): comprimento total $849,29 \pm 73,29$ (740,55 – 982,39), largura máxima $45,95 \pm 7,03$ (35,53 – 54,03), largura do pescoço $50,79 \pm 7,11$ (41,55 – 69,60), largura da cabeça do espículo $93,40 \pm 11,77$ (65,76 – 109,90) e extremidade distal com a terminação recurvada, semelhante a um gancho, com uma dilatação na extremidade (Figura 2.31 B), com $30,87 \pm 9,68$ (20,43 – 48,44) de comprimento. Razão entre o comprimento total do corpo pelo comprimento total do espículo maior, e espículo menor, 1:0,14 e 1:0,03, respectivamente. Razão entre o espículo maior pelo espículo menor de 1:4,13. Gubernáculo pequeno, bem quitinizado, formado por uma estrutura dupla em forma de “V”, onde cada espículo passa através de uma das unidades (Figura 2.32), medindo $137,32 \pm 20,05$ (101,63 – 169,39) de comprimento por $72,26 \pm 16,13$ (50,85 – 98,91) de largura.



Figura 2.27. Micrografia óptica da região posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*, evidenciando espículos desiguais, sendo o esquerdo maior (seta), e o direito menor (ponta de seta). Observa-se também a asa caudal (*). Barra: 200 μm .

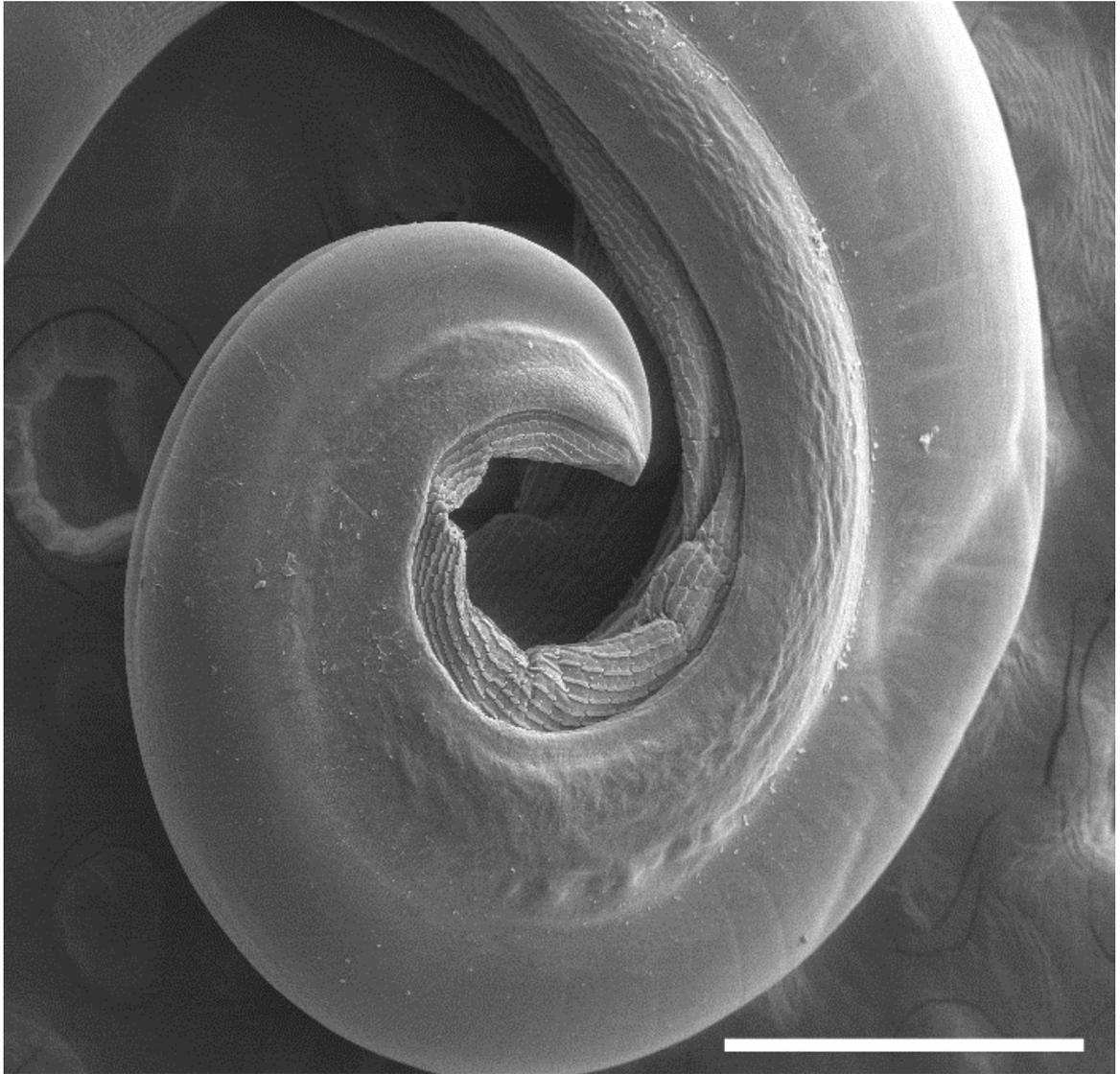


Figura 2.28. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Observar asa caudal texturizada. Barra: 500 μm .

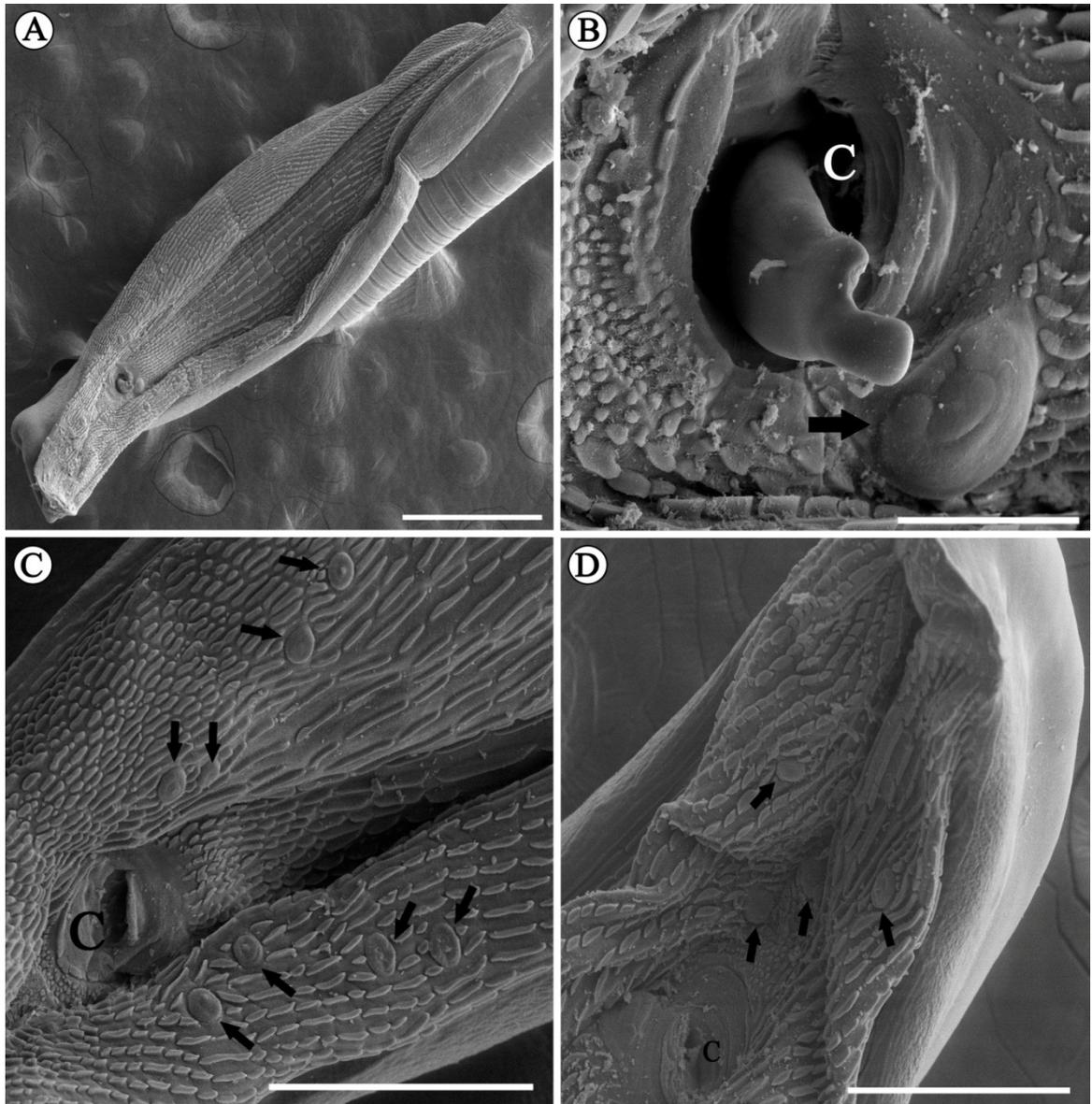


Figura 2.29. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Asa caudal. Barra: 1 mm; **B.** Papila ad-cloacal (seta), próxima à abertura da cloaca (C). Barra: 50 µm; **C.** Papilas pré-cloacais (setas) e cloaca (C). Barra: 200 µm; **D.** Papilas pós-cloacais (setas) e cloaca (C). Barra: 200 µm.

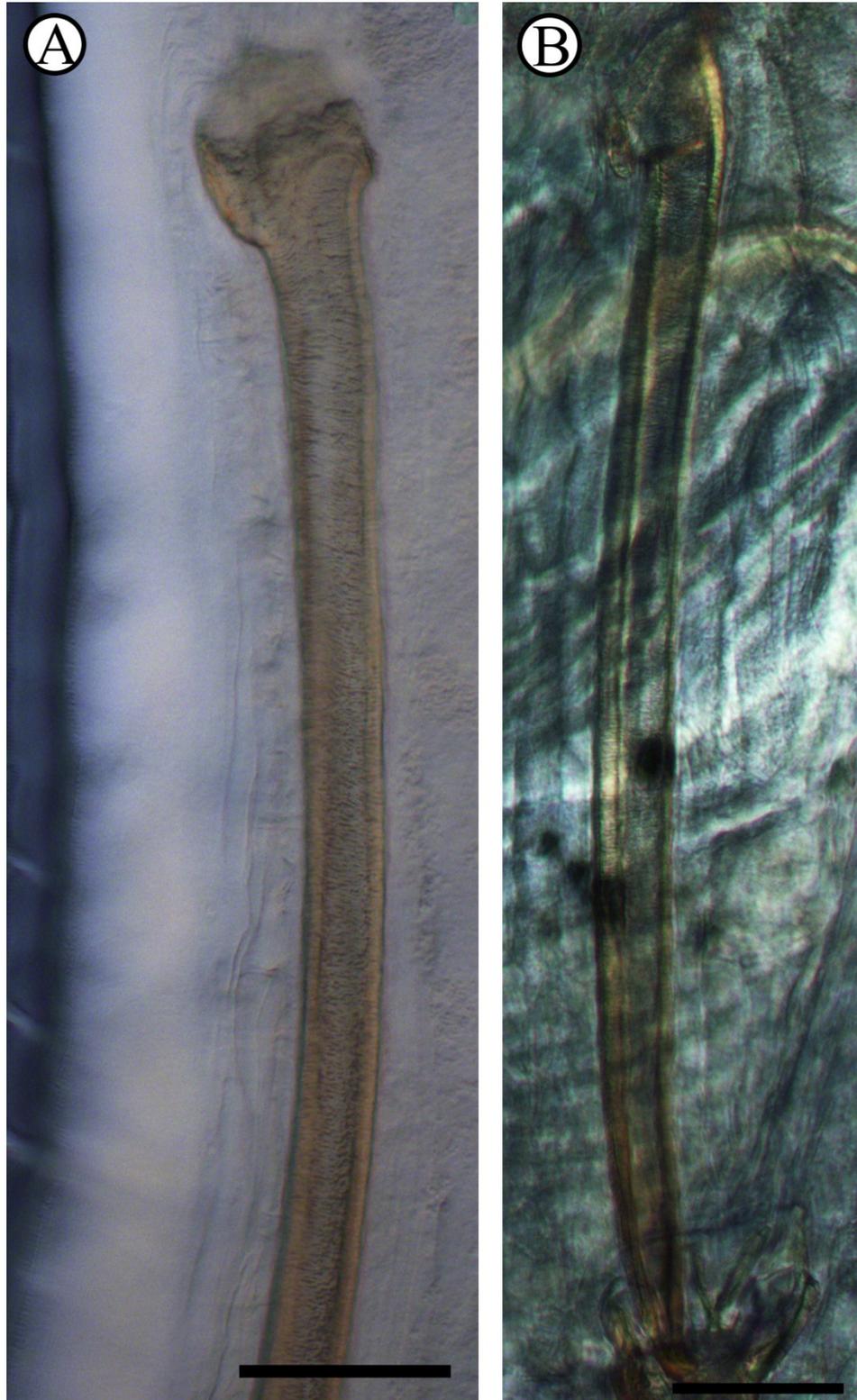


Figura 2.30. Micrografia óptica (DIC) dos espículos de machos de *Sicarius uncinipenis*, parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção proximal do espículo esquerdo (maior); **B.** Espículo direito (menor). Barras: 100 μm .

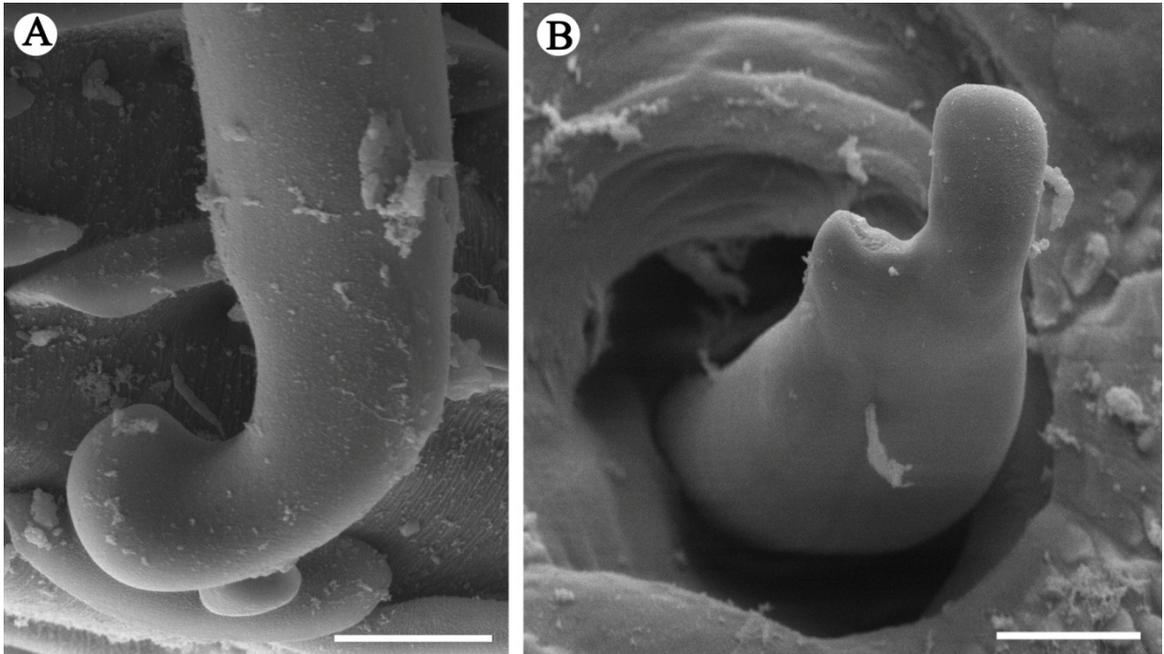


Figura 2.31. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade distal dos espículos de machos de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Espículo direito (menor). Barra: 10 μm ; **B.** Espículo esquerdo (maior). Barra: 20 μm .

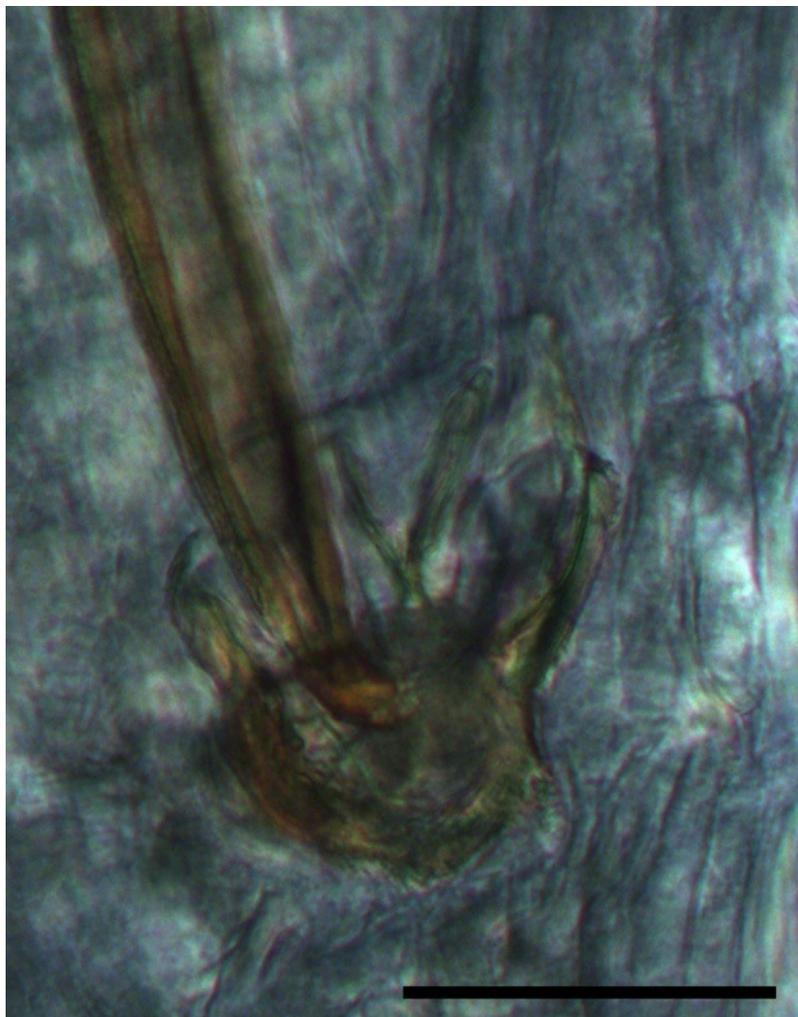


Figura 2.32. Micrografia óptica (DIC) do gubernáculo, com a extremidade distal do espículo, de um espécime macho de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra:100 µm.

2.4.1.2.4. Fêmeas

Fêmeas maiores que os machos (Tabela 2.2), com comprimento total de $37.979,30 \pm 2.093,50$ (35.174,52 – 43.319,34), maior largura do corpo na região mediana $962,86 \pm 52,20$ (887,04 – 1.055,53). Largura do corpo na extremidade anterior $196,35 \pm 14,35$ (172,60 – 227,19). Cavidade bucal medindo $68,66 \pm 8,78$ (44,53 – 80,31) de profundidade por $41,09 \pm 5,07$ (30,80 – 47,71) de largura. Comprimento da primeira porção do esôfago $496,38 \pm 82,34$ (393,33 – 737,12), com a maior largura na região anterior $96,95 \pm 16,00$ (78,13 – 142,86), e segunda porção do esôfago medindo $3.880,74 \pm 358,56$ (3.349,80 – 4.684,37), com o maior diâmetro na região posterior $264,15 \pm 44,09$ (195,20 – 360,04). Largura do corpo do nematoide mensurada na base do esôfago de $838,76 \pm 74,33$ (692,74 – 951,67). Razão entre o comprimento total do esôfago pelo comprimento total do corpo de 1:0,11. Distância do anel nervoso à extremidade anterior de $529,52 \pm 109,47$ (386,81 – 786,08) e diâmetro do corpo mensurado ao nível do anel nervoso $412,69 \pm 56,49$ (342,52 – 562,12). Distância do poro excretor à extremidade anterior $697,42 \pm 63,51$ (651,92 – 803,56), largura do corpo mensurado ao nível do poro excretor $421,26 \pm 7,78$ (411,22 – 430,09). Distância da papila cervical à extremidade anterior $608,16 \pm 183,69$ (319,07 – 951,79).

Apresentam ovários didélficos, e útero opistodélfico (Figura 2.33). Comprimento total do ovijetor $1.876,60 \pm 136,97$ (1.531,81 – 2.063,11). Nos adultos, pode-se observar as alças uterinas ocupando grande parte do corpo do parasito, repleta de ovos embrionados (Figura 2.33). Vagina uterina musculosa, curta (Figura 2.33 B), com o comprimento de difícil observação, e largura de $202,23 \pm 40,46$ (162,16 – 345,91) na região mediana. Vulva com pequenos lábios proeminentes, abrindo-se em uma fenda transversal (Figura 2.34), na região mediana do corpo do nematoide, a $15.649,34 \pm 1.353,01$ (13.596,39 – 17.765,78) da extremidade posterior do corpo. Largura do corpo ao nível da vulva $910,82 \pm 48,19$ (820,64 – 997,95). Ânus próximo à extremidade da cauda, abrindo-se em uma fenda transversal (Figuras 2.35 A e 2.36 A). Distância do ânus à extremidade posterior $234,65 \pm 28,76$ (179,75 – 287,11), largura do corpo

ao nível do ânus $407,13 \pm 63,64$ ($356,20 - 623,11$). As fêmeas possuem duas papilas laterais e uma estrutura circular e quitinosa na extremidade da cauda (Figuras 2.35 B e 2.36 B). Ovos pequenos, com casca espessa e lisa, contendo uma larva com um pequeno opérculo em ambos os lados (Figura 2.37 e 2.38), com dimensões $44,56 \pm 3,17$ ($35,50 - 50,69$) de comprimento por $25,58 \pm 1,92$ ($20,81 - 31,56$).

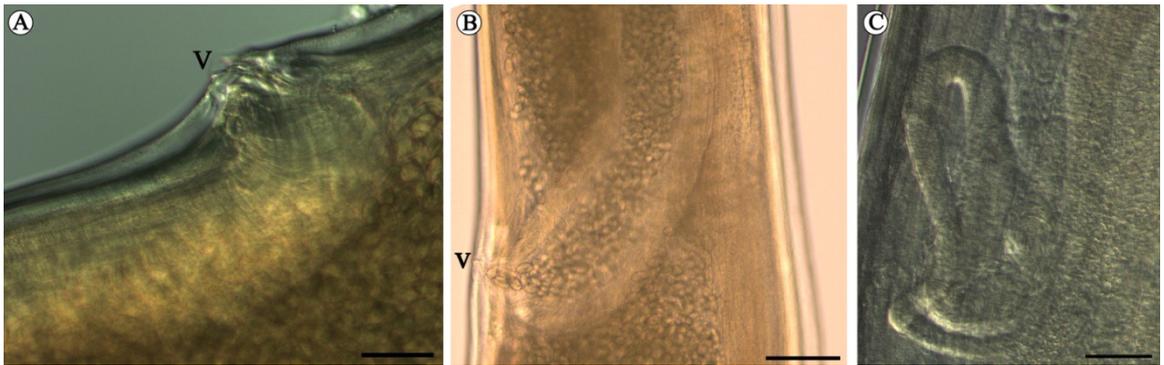


Figura 2.33. Micrografia óptica da região da vulva de fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Porção inicial, evidenciando abertura da vulva (v), seguida pela vagina musculosa; **B.** Porção anterior da vagina musculosa, repleta de ovos larvados, e abertura da vulva (v); **C.** Porção posterior do ovjector, mostrando estrutura terminal. Barras: 100 μm .

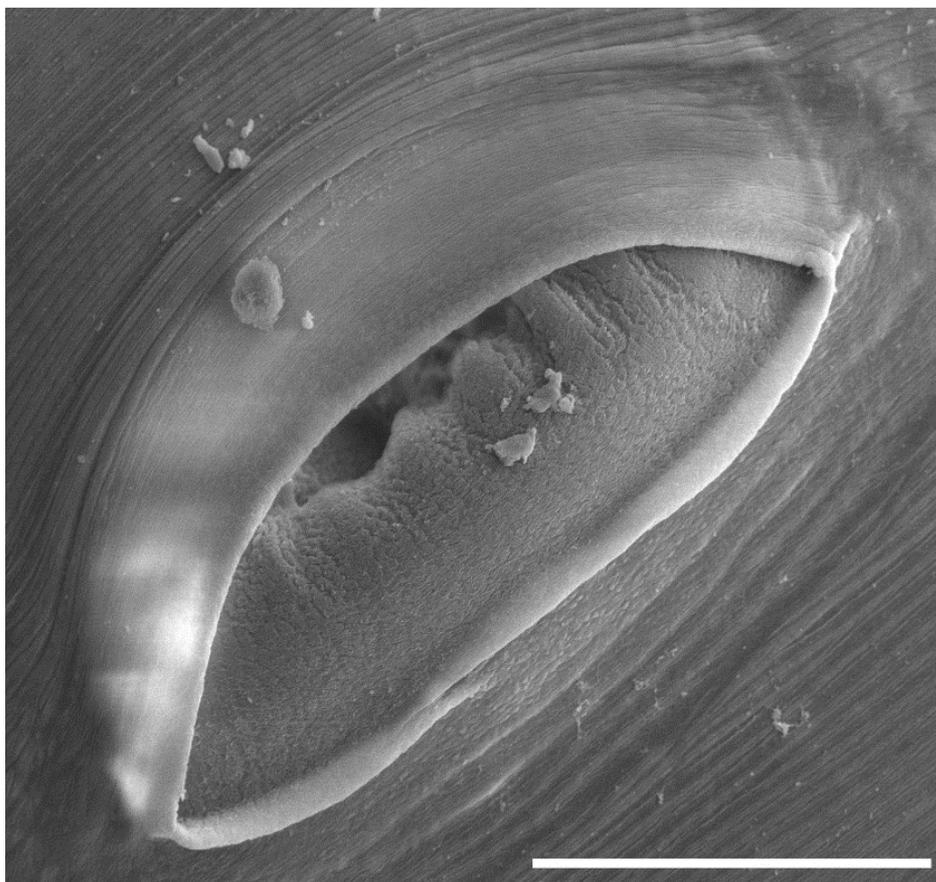


Figura 2.34. Micrografia eletrônica de varredura da vulva de um espécime fêmea de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50 μ m.

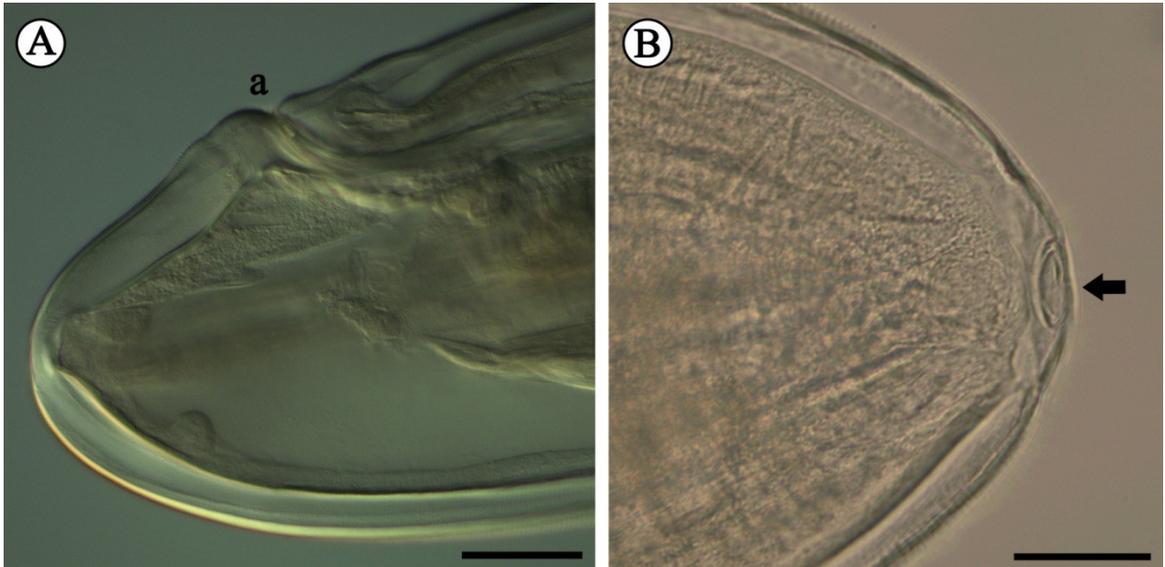


Figura 2.35. Micrografia óptica (DIC) da extremidade posterior de fêmeas de *Sicarius uncinipenis*, parasitas de emas, *Rhea americana*. **A.** Cauda mostrando abertura do ânus (a); **B.** Estrutura circular na ponta da cauda (seta). Barras: 100 μm .

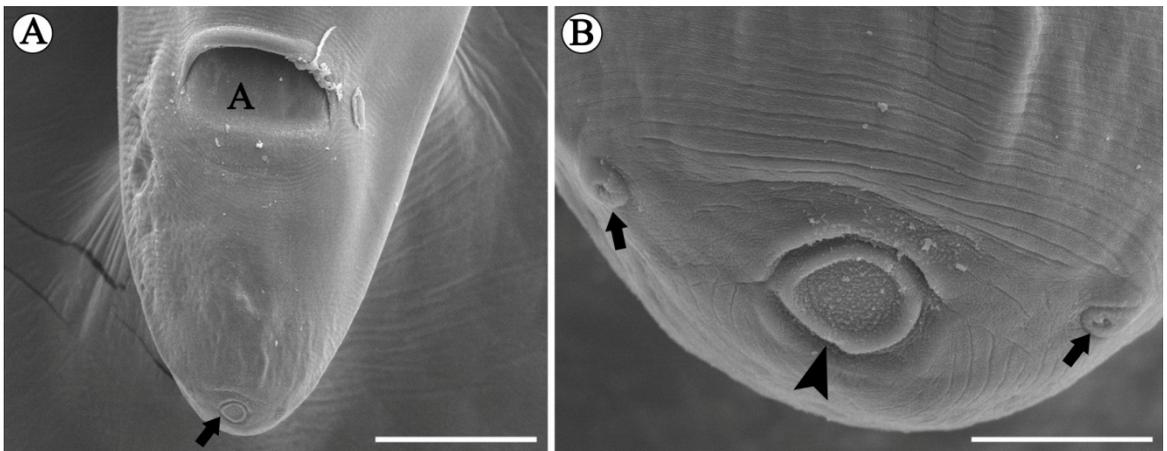


Figura 2.36. Micrografia eletrônica de varredura da extremidade posterior de uma fêmea de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. **A.** Observar abertura do ânus (A), e estrutura circular na ponta da cauda (seta). Barra: 100 μm ; **B.** Imagem ampliada da extremidade da cauda da fêmea, mostrando um par de papilas laterais (setas) e estrutura circular (ponta de seta). Barra: 20 μm .

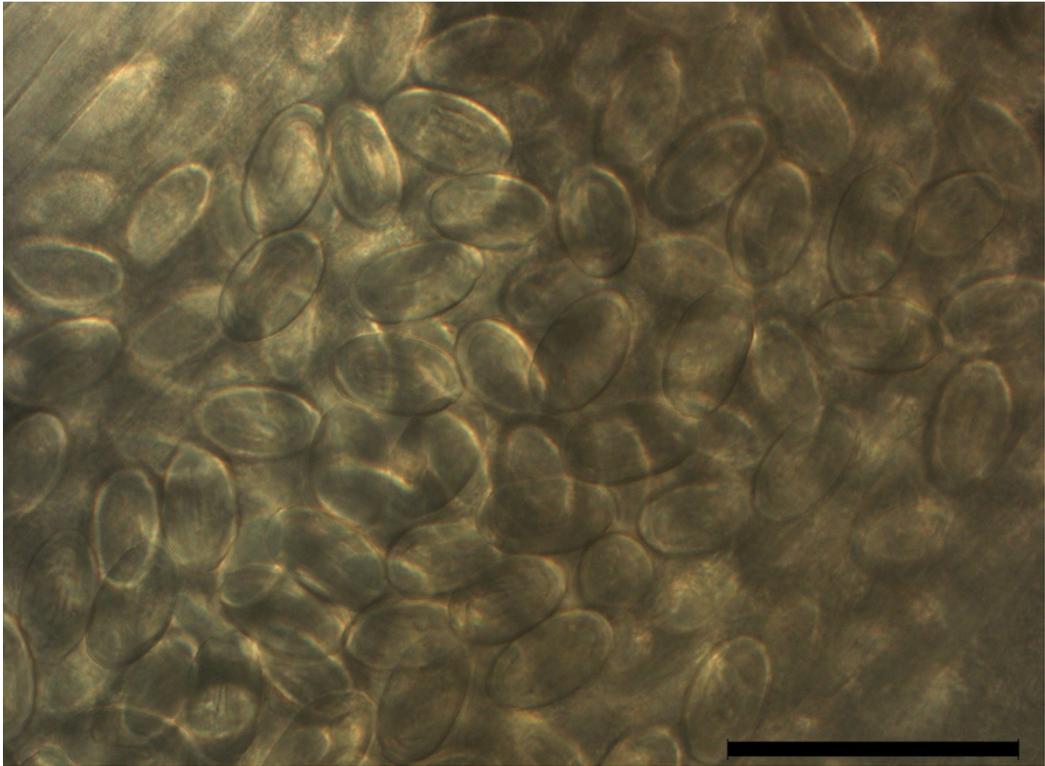


Figura 2.37. Micrografia óptica (DIC) de ovos em estágio de mórula no interior do ovijetor de *Sicarius uncinipenis*, parasita de emas, *Rhea americana*. Barra: 50µm.



Figura 2.38. Micrografia óptica (DIC) de ovos de *Sicarius uncinipenis* em estágio de mórula. Barra: 50 μm .

2.4.2. PATOLOGIA CAUSADA POR *Sicarius uncinipenis* em MOELA E PROVENTRÍCULO DE EMAS

Das quatro emas necropsiadas, duas foram encontradas mortas por funcionários, durante vistorias diárias no criatório, um macho e uma fêmea (Emas 3 e 4, respectivamente). Foi observado durante a necropsia destas aves, a presença de nematoides da espécie *S. uncinipenis* no proventrículo e moela. As outras duas emas, uma ema macho foi abatida devido a uma fratura completa do tarso (Ema 1) e a outra ave, fêmea (Ema 2) veio a óbito após contenção para coleta de material biológico para o desenvolvimento de pesquisas adicionais (não incluído no presente estudo), como: sangue para o diagnóstico sorológico de antígenos da Doença de Newcastle e Influenza Aviária e swabs de cloaca para detecção de *Salmonella* spp, e de orofaringe para detecção de *Mycoplasma* spp. Não foi observada infecção por nematoides na superfície do proventrículo e moela das Emas 1 e 2.

2.4.2.1. Emas 1 e 2

Não foi observado nenhum aspecto patológico digno de nota na necropsia da Ema 1. Foi observado que a causa morte da Ema 2 foi peritonite aguda, devido ao rompimento de uma alça intestinal, com o extravasamento de conteúdo, provavelmente devido a trauma durante a sua manipulação. Nestas aves não foram observados parasitos, bem como nenhuma lesão no proventrículo e moela (Figura 2.37).

2.4.2.2. Ema 3

Esta ave encontrava-se em bom estado geral. Ao exame do conteúdo gastrointestinal foi observada uma pequena quantidade de nematoides sobre a mucosa, logo abaixo da membrana coilina, e inseridos nesta (Figura 2.38 B), principalmente na junção com o duodeno. Foram coletados um total de 37 espécimes (16 machos e 21 fêmeas) na moela desta ave. Não foram observados parasitos no proventrículo na Ema 3.

O exame da macrolesões evidenciou a presença de úlceras na superfície da membrana coilina da moela, nos locais de maior concentração dos parasitos (Figura 2.38 A), com estado mais avançado na face interna desta membrana (Figura 2.38 D e F). A mucosa apresentou pequenos pontos hemorrágicos, correspondentes aos sítios de localização dos nematoides (Figura 2.38 C e D).

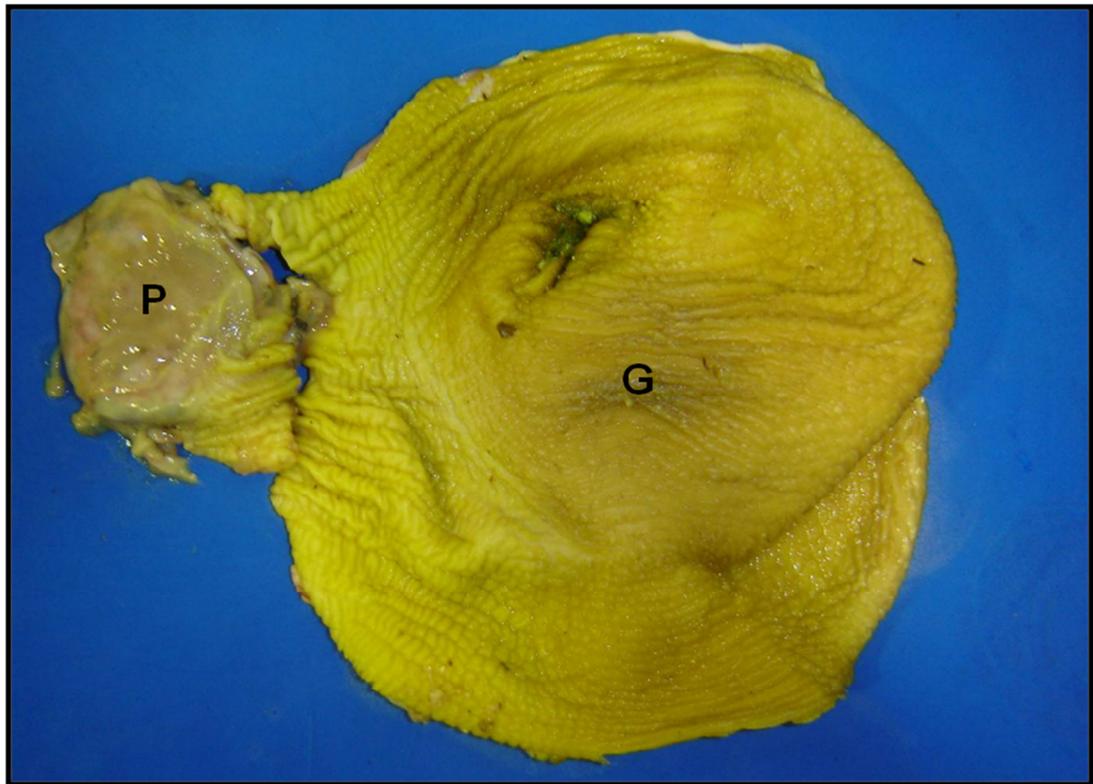


Figura 2.39. Proventrículo (P) e moela (G) de uma ema não parasitada, evidenciando aspecto normal.

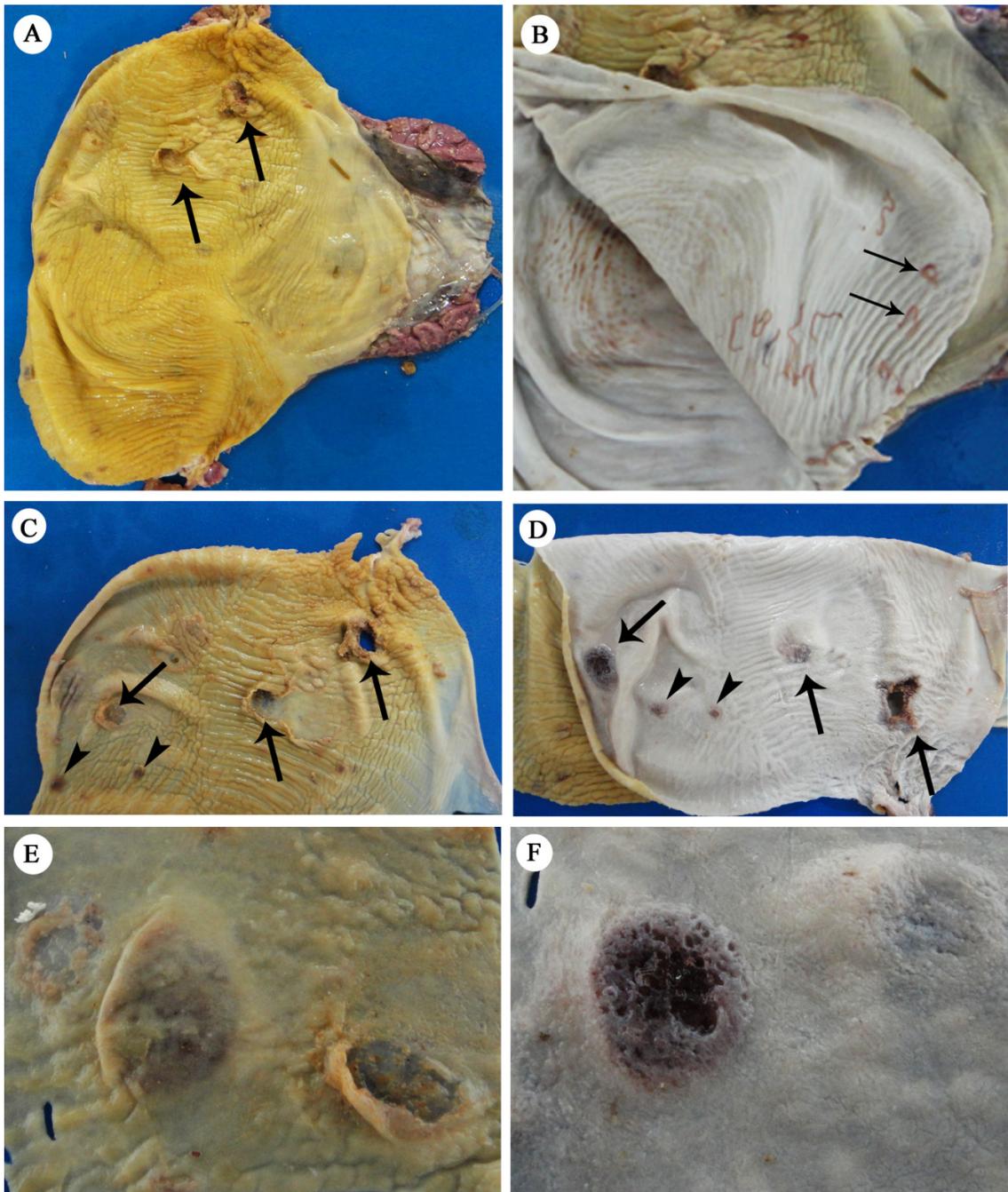


Figura 2.40. Proventrículo e moela de uma ema, *Rhea americana*, parasitada por *Sicarius uncinipenis*. **A.** Setas evidenciam úlceras na membrana coilina da moela; **B.** Face interna da membrana coilina evidenciando nematoides penetrando nesta (setas); **C.** Presença de úlceras (setas) e pontos hemorrágicos (pontas de seta) na membrana coilina da moela; **D.** Face interna da membrana coilina da moela, evidenciando úlceras (setas) e pontos hemorrágicos (pontas de seta); **E.** Úlceras na face externa da membrana coilina da moela; **F.** Mesmas lesões apresentadas em **E**, observadas na face interna da membrana coilina.

2.4.2.3. Ema 4

Esta ave apresentou um estado avançado de caquexia caracterizada por atrofia muscular generalizada confirmada pela ausência de gordura abdominal. Todos os órgãos estavam com topografia e aspectos normais, no entanto, as alças intestinais estavam praticamente sem conteúdo. Ao exame do proventrículo e moela, foi evidenciada uma grande quantidade de parasitos no conteúdo destes órgãos (Figura 2.39 C), bem como inseridos na membrana coilina, perfurando-a, nas faces interna e externa (Figura 2.39). Alguns espécimes foram encontrados com a extremidade anterior aderida na mucosa da moela. No proventrículo, os nematoides foram encontrados penetrando nas glândulas proventriculares (Figura 2.39 B). Foi coletado um total de 404 espécimes, sendo 58 no proventrículo (28 machos e 30 fêmeas) e 346 na moela (148 machos e 198 fêmeas).

A moela apresentou aspecto hemorrágico com necrose generalizada (Figura 2.39 D). Após a remoção da membrana coilina, evidenciou-se áreas hemorrágicas pontiformes distribuídas por toda sua extensão (Figura 2.39 F). Não foram observadas lesões significativas no proventrículo (Figuras 2.39 A e D), onde os parasitos encontravam-se penetrando, profundamente nas glândulas proventriculares (Figura 2.39 B).

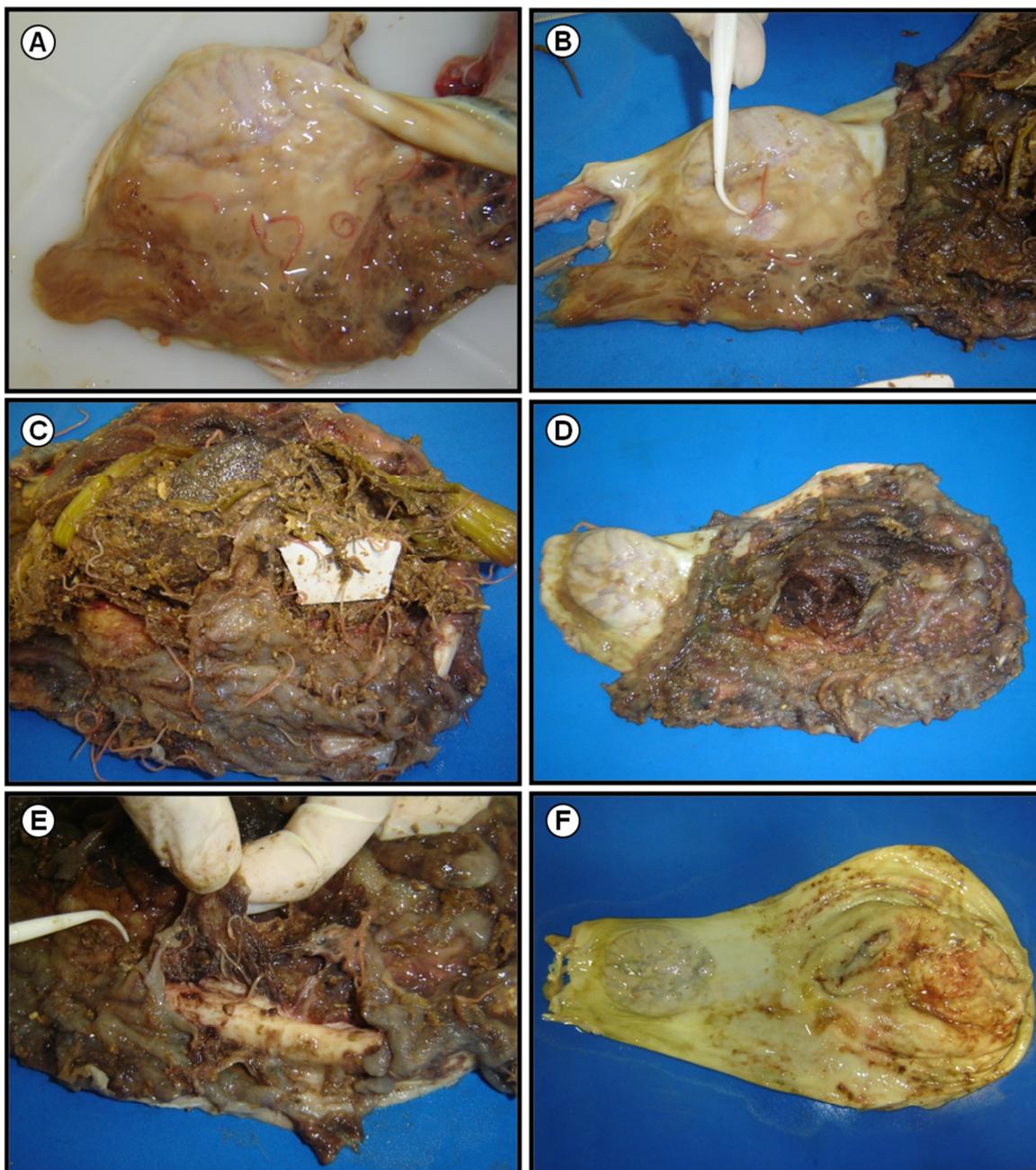


Figura 2.41. Macrolesões no proventrículo e moela de uma ema, *Rhea americana*, parasitada por *Sicarius uncinipenis*. **A.** Proventrículo com presença de muco e nematoides; **B.** Proventrículo com nematoides inserindo nas glândulas proventriculares; **C.** Moela com nematoides no conteúdo alimentar, em toda a extensão do órgão; **D.** Proventrículo e moela após remoção do conteúdo alimentar, evidenciando necrose generalizada; **E.** Moela evidenciando presença de nematoides logo abaixo da membrana coilina, com necrose generalizada; **F.** Moela e proventrículo após remoção da membrana coilina, evidenciando ponto hemorrágico em toda a extensão da moela.

2.5. DISCUSSÃO

2.5.1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS NEMATOIDES

2.5.1.1. *Deletrocephalus dimidiatus*

Os nematoides coletados no intestino das emas, foram identificados como *D. dimidiatus*, de acordo com a morfologia descrita por Maplestone (1932), Travassos (1933) e Freitas e Lent (1947a). Inicialmente, Railliet e Henry, em 1912, dividiram a subfamília Strongylinae em várias tribos, entre elas a Deletrocephaleae, para os gêneros *Deletrocephalus* e *Codiosomum*, este último, parasita de avestruzes. Posteriormente, em 1916, Railliet cria a subfamília Deletrocephalinae, pertencente à família Strongylidae (FREITAS; LENT; 1947a).

Segundo Freitas e Lent (1947a), a subfamília Deletrocephalinae se distingue de Strongylinae pela coroa radiada externa constituída de poucos elementos, pela situação da vulva, muito mais para trás, pelo alongamento dos esfíncteres e pela divergência dos raios ventrais da bolsa copuladora. No presente estudo chamamos a estrutura que Freitas e Lent (1947a) descreveram como coroa radiata externa, de lábios (Figura 2.7), enquanto que Vaz (1936) descreve como membranas cuticulares que delimitam a boca e Travassos (1933) denomina essa estrutura de lâminas, a qual a compara com as observadas nas espécies do gênero *Oesophagostomum*. A subfamília Deletrocephalinae está mais próxima da Oesophagostominae, diferindo-se desta pelo aspecto da cápsula bucal, pela ausência do sulco cefálico ventral, pelo aspecto dos esfíncteres e pela divergência dos raios laterais médios e posteriores (FREITAS; LENT, 1947a).

Freitas e Lent (1947a) descrevem a cápsula bucal de *D. dimidiatus* com 13 cristas, sendo duas maiores, com formato dentiforme e 11 menores dispostas lateralmente. Ao observar a morfologia destas estruturas através de microscopia eletrônica de varredura verificou-se que as cristas maiores são morfológicamente caracterizadas como dentes dorsais, e as 11 menores

possuem aspecto de lancetas, com tamanhos semelhantes e distribuídos simetricamente na base da cápsula bucal (Figuras 2.8 e 2.9). *Deletrocephalus dimidiatus* se diferencia da outra espécie do gênero, *D. cesarpinto* pelo número e formato de cristas presentes na cápsula bucal, onde *D. cesarpinto* possui 23 cristas, sendo uma ventral e 22 laterais, dispostas 11 de cada lado, delgadas, serrilhadas no bordo interno e comprimento variável (VAZ, 1936; FREITAS; LENT, 1947a). Maplestone (1932) descreve a cápsula bucal de *Quasistrongylus rhae* (sinônimo de *D. dimidiatus*) contendo um par de dentes maiores, localizados dorsalmente, terminando em uma ponta simples, e três ou quatro pares de dentes laterais e subventrais, menores, com a ponta bífida, o que não foi observado nas imagens ultraestruturais, bem como descrito por outros autores (TRAVASSOS, 1933; FREITAS; LENT, 1947a). Além disto, *D. cesarpinto* possui a porção anterior do esôfago dilatada e revestida por um espessamento quitinizado, partindo da base da cápsula bucal, formando um “capuz” na porção anterior do esôfago, com superfície irregular, com pequenas saliências e depressões (VAZ, 1936; FREITAS; LENT, 1947a). As fêmeas podem ser diferenciadas pelo comprimento da vagina, que é consideravelmente maior e fracamente musculosa com 2,27 a 2,95 mm de comprimento em *D. cesarpinto*, e mais curta, com 0,18 a 0,31 mm em *D. dimidiatus* (FREITAS; LENT, 1947a). Os machos, podem ser diferenciados pela presença de estriações na bolsa copuladora, que está presente em *D. dimidiatus* e ausente em *D. cesarpinto*, além da morfologia do raio dorsal da bolsa copuladora (FREITAS; LENT, 1947a).

Freitas e Lent (1947a) criaram o gênero *Paradeletrocephalus* colocando neste a espécie descrita por Molin em 1861, como *D. dimidiatus* var. *minor*, passando a ser então, *P. minor*. Este novo gênero se distingue do gênero *Deletrocephalus* pela coroa radiata externa (descrita como lábios no presente estudo) composta de elementos não estriados, coroa interna não sinuosa, cápsula bucal nitidamente estriada longitudinalmente, cristas da cápsula bucal situadas em seu fundo e não aderentes à sua parede, formando três conjuntos de cristas, totalizando nove cristas, que são relativamente grandes, ultrapassando a metade do comprimento da cápsula. O infundíbulo esofageano está ausente, esôfago mais curto, raio lateral da bolsa copuladora contíguo ao lateral médio, além do aspecto do tronco dorsal da bolsa copuladora, onde o raio

externo-dorsal ultrapassa o nível da terminação do raio dorsal, apresentando em sua porção basal saliências globosas, pequenas e de aspecto variável. Além disto, segundo Freitas e Lent (1947a), *P. minor* não possui papilas no cone genital, o que deveria ser confirmado através do estudo ultraestrutural com microscopia eletrônica de varredura.

As medidas encontradas no presente estudo estão de acordo com as descritas por Maplestone (1932), Travassos (1933) e Freitas e Lent (1947a), sendo que o primeiro autor descreve a espécie como *Quasistrongylus rhea*, hoje considerada um sinônimo de *D. dimidiatus*. No entanto, alguns caracteres divergem destes autores como a distância do poro excretor à extremidade anterior, onde Freitas e Lent (1947a) descrevem o poro excretor anterior ao anel nervoso, fato este não observado no presente estudo nem pelos demais autores (MAPLESTONE, 1932; TRAVASSOS, 1933), que descrevem a estrutura sendo posterior ao anel nervoso (Tabela 2.1).

Outra diferença encontrada foi a distância da papila cervical à extremidade anterior, onde em nosso estudo, esta distância foi aproximadamente o dobro da relatada por Travassos (1933) e Freitas e Lent (1947a). O comprimento total dos espículos também variou quando comparado com os demais autores, no entanto, a proporção entre os espículos e o comprimento total do corpo não variou consideravelmente (Tabela 2.1). Além disto, *D. cesarpintoii* possui comprimento dos espículos cinco vezes maior que *D. dimidiatus* (VAZ, 1936). A proporção entre o comprimento dos espículos e o comprimento total do corpo é um caractere que auxilia na distinção entre as espécies (VAZ, 1936; FREITAS; LENT, 1947a). As fêmeas descritas por Freitas e Lent (1947a) foram menores que as descritas pelos demais autores (Tabela 2.2), provavelmente devido aos espécimes serem jovens ou ao meio de fixação dos espécimes utilizados no estudo, provenientes da Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, Brasil. Além disto, Freitas e Lent (1947a) relataram o ovijetor relativamente maior, praticamente o dobro das medidas do presente estudo e das relatadas por Maplestone (1932) e Travassos (1933). Maplestone (1932) também descreve uma discreta diferença na distância da vulva à extremidade posterior. Algumas fêmeas apresentaram um inchaço ao nível da vulva, sem nenhuma estrutura interna aparente, semelhante ao descrito para *Codiostomum struthionis*, parasitas do ceco de avestruzes

(EDERLI et al., 2008a). Ainda não se sabe a função desta inflação, podendo este caractere estar relacionado com uma fase do desenvolvimento das fêmeas.

Freitas e Lent (1947a) ao redescreverem as três espécies da subfamília Deletrocephalinae, descrevem as fêmeas de *D. dimidiatus* com um par de pequenas papilas laterais a 0,10 a 0,13 mm da extremidade posterior. Estas papilas não foram observadas nos espécimes descritos no presente estudo através de microscopia óptica e eletrônica de varredura. Esses mesmos autores descrevem as três espécies da subfamília Deletrocephalinae com aparelho reprodutor feminino do tipo opistodélfico, ou seja, úteros paralelos, direcionados para a região posterior. No entanto, no presente estudo, verificamos que o aparelho reprodutor das fêmeas é do tipo prodélfico, ou seja, com úteros paralelos, direcionados para a região anterior (Figuras 2.5 e 2.17), de acordo com a descrição de *D. cesarpintoi* por Vaz (1936). Travassos (1933) afirma que apesar de Molin indicar em sua descrição um nematoide prodélfico, ele observou uma evidente opistodelfia, de acordo com Freitas e Lent (1947a). No entanto, Travassos (1933) se contradiz em seu próprio trabalho, descrevendo os nematoides como tendo úteros paralelos, retilíneos e dirigidos para diante, característico de prodélficos. Provavelmente, nesta descrição deve ter ocorrido um equívoco na nomenclatura utilizada nas descrições dos espécimes revisados por Travassos (1933) e Freitas e Lent (1947a), pois as imagens do sistema reprodutor feminino são características de estrutura prodélfica.

Tabela 2.1. Comparação das medidas, em micrômetros, de machos de *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caractere	Presente Estudo	Maplestone (1932) ^a	Travassos (1933)	Freitas; Lent (1947a)
Comprimento total	8.668,67 (5.639,94-11.454,80)	8.500-10.000	9.500-12.000	7.200-10.690
Largura	267,67 (172,63-404,43)	495	350-420	300-330
Profundidade da cápsula bucal	122,76 (110,79-133,14)	125	72-104	110
Largura da cápsula bucal	149,57 (132,85-173,57)	140	96-136	130-150
Coprimento do esôfago	607,30 (504,53-689,57)	750-800	640-740	530-650
Esôfago:comprimento do corpo	1:0,07	1:0,08	1:0,06	1:0,06
Largura do esôfago	130,29 (98,74-151,15)	-	130-140	120-130
Anel nervoso ^b	333,07 (266,11-458,89)	336	-	210-260
Poros excretor ^b	367,77 (167,72-437,63)	535	250-350	170-180
Papila cervical ^b	600,82 (547,12-651,71)	-	320-420	300-350
Comprimento dos espículos	1.137,08 (913,15-1.526,34)	1.000	940-1.000	860-1.000
Espículos:comprimento do corpo	1:0,14	1:0,1	1:0,08	1:0,09
Comprimento do gubernaculum	48,57 (27,79-79,30)	60	-	30-34
Comprimento do raio dorsal	251,70 (132,30-317,56)	-	-	-

^a Descrição de *Quasistrongylus rhae* (sinônimo de *D. dimidiatus*).

^b Medido a partir da extremidade anterior .

Tabela 2.2. Comparação das medidas, em micrômetros, de fêmeas de *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caracteres	Presente estudo	Maplestone (1932) ^a	Travassos (1933)	Freitas; Lent (1947a)
Comprimento total	13.293,05 (11.184,40-16.205,04)	13.500-14.500	13,000-15,000	7,700-13,470
Largura	391,46 (242,60-471,60)	495	360-400	280-350
Profundidade da cápsula bucal	143,50 (114,48-252,79)	130	72-104	130-140
Largura da cápsula bucal	171,24 (141,32-276,80)	144	96-136	150-160
Coprimento do esôfago	717,24 (595,42-833,95)	850	640-740	700-800
Esôfago:comprimento do corpo	1:0,05	1:0,06	1:0,05	1:0,06
Largura do esôfago	150,07 (125,12-169,38)	-	130-140	130-150
Anel nervoso ^b	328,73 (256,17-420,44)	356	-	260-270
Poros excretor ^b	394,88 (335,81-492,42)	693	250-350	200-230
Papila cervical ^b	602,34 (563,61-652,21)	693	320-420	360-410
Comprimento do ovijetor	675,39 (514,82-803,05)	700	880-1.000	1.460-1.760
Ovijetor:comprimento do corpo	1:0,05	1:0,05	1:0,06	1:0,1
Comprimento da vagina vera	241,07 (181,75-313,29)	390-420	Short	330-360
Vulva ^c	489,67 (375,41-582,91)	670-760	380-430	450-500
Cauda	309,29 (264,48-356,42)	270-360	214-223	270-280
Comprimento dos ovos	182,86 (140,38-248,00)	160-170	160-168	156-183
Largura dos ovos	77,42 (59,00-98,26)	70-80	72-80	70-83

^a Descrição de *Quasistrongylus rhea* (sinônimo de *D. dimidiatus*).

^b Medido a partir da extremidade anterior.

^c Medido a partir da extremidade posterior.

A ocorrência de nematoides do gênero *Deletrocephalus* não vem sendo relatada com confiabilidade, uma vez que vários artigos citam a presença de nematoides nas aves (EWING et al., 1995; TAYLOR et al., 2000; MONTEIRO et al., 2002), no entanto, sem clareza dos caracteres que levaram a identificação da espécie encontrada, uma vez que os parasitos possuem semelhanças morfológicas, necessitando minuciosa análise para o diagnóstico específico. O gênero *Paradeletrocephalus*, composto pela única espécie *P. minor*, que também foi relatada sem riqueza de caracteres, onde as imagens de microscopia eletrônica de varredura estão com pouca definição, não permitindo a observação da ausência de estriações nos lábios do exemplar (ACOMOLLI et al. 2006). Além disto, o trabalho ilustra imagens de microscopia eletrônica de varredura da bolsa copuladora de um macho, sem acrescentar informação consistente na identificação do parasito, assim como as imagens de microscopia óptica das fêmeas. No entanto, a imagem da extremidade anterior, apesar de não possuir definição muito clara, demonstra características que sugerem ser de *P. minor*, como o formato da cápsula bucal e estrutura do esôfago, que, no entanto, não foram demonstrados claramente no texto.

As espécies *D. cesarpintoi* e *P. minor* não foram encontradas nas três emas analisadas no presente estudo. No entanto, Zettermann et al. (2005) compararam as espécies de helmintos encontradas em emas, *Rhea americana*, criadas em cativeiro, em Jaboticabal, Estado de São Paulo e emas da mesma espécie, de vida livre, no Pantanal, no Mato Grosso do Sul. No estudo realizado, Zettermann et al. (2005) encontraram nove espécies de helmintos, sendo sete de nematoides (*D. dimidiatus*, *D. cesarpintoi*, *P. minor*, *Sicarius uncinipenis*, *Dicheilonema rhae*, *Torquatoides crotophaga* e *Capillaria venteli*) e duas espécies de cestoides (*Houttuynia struthionis* e *Chapmania tauricolis*). Segundo os autores, *T. crotophaga* e *C. venteli* são conhecidas como parasitas de Colhereiro (*Ajaia ajaja*) e Anú-branco (*Guira guira*), relacionando a presença desses parasitos a infecções cruzadas devido a presença de diversas aves vivendo em um mesmo habitat. Nas aves de vida livre houve maior prevalência de nematoides da família Deletrocephalidae, enquanto que nas aves em cativeiro, houve predominância de *S. uncinipenis*. No entanto, tanto no artigo publicado (ZETTERMANN et al., 2005), quanto em sua tese (ZETTERMANN, 2000), não foram apresentadas imagens dos parasitos identificados. Além disto,

não há menção de depósito dos espécimes coletados por Zettermann et al. (2005) em coleções parasitológicas, o que nos impossibilita de realizar comparações morfológicas entre os espécimes.

2.5.2.2. *Sicarius uncinipenis*

A primeira referência a nematoide espirurídeo parasita de emas, se deve a Molin que em 1860, descreveu *Spiroptera uncinipenis*. Em 1889, Zschokke descreveu sem riqueza de detalhes, uma outra espécie, denominando-a *Spiroptera alata* baseada em um exemplar de um macho coletado do proventrículo de uma ema do Jardim Zoológico de Brasília, não descrevendo os espículos, (FREITAS; LENT, 1947b) que são extremamente longos, finos e com comprimento subiguais (WEHR, 1933). No entanto, esta descrição indica alguns caracteres dignos de consideração, como a presença de asas cuticulares ao longo do corpo, e indica o habitat como sendo o proventrículo, o que difere da espécie de Molin, que relatou *Spiroptera uncinipenis* parasitando a moela das aves. No entanto, no presente estudo, encontramos em uma das aves *Sicarius uncinipenis* em ambos os órgãos, proventrículo e moela. Posteriormente, Railliet e Henry (1911) propõem um novo gênero, *Spirura zschokkei* para *Spiroptera alata*, uma vez que este nome era pré-ocupado por *Spiroptera alata Rudolphi*, 1819. Anos depois, Wehr (1933) descreve uma nova espécie, *Odontospirura cetiopenis*, parasita do proventrículo de emas, que apresentam duas asas cuticulares ao longo do corpo, e em 1947, Freitas e Lent, criam o gênero *Vaznema*, para a espécie descrita por Zschokke em 1889, (*Spiroptera alata*) denominando a espécie *V. zschokkei*. No entanto, esta é sinônimo de *Odontospirura cetiopenis* Wehr, 1933. Assim, a espécie em questão, deve ser denominada *Odontospirura alata* (Zschokke, 1889), com base na lei da prioridade do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, e as espécies *Spiroptera alata* Zschokke, 1889, *Spirura zschokkei* Railliet e Henry, 1911; *Odontospirura cetiopenis* Wehr, 1933 e *Vaznema zschokkei* (Railliet e Henry, 1911) Freitas e Lent, 1947, consideradas sinônimos de *Odontospirura alata*.

A classificação de *S. uncinipenis*, originalmente descrita como *Spiroptera uncinipenis* foi por muito tempo alvo de estudos, principalmente em relação a sua sistemática e morfologia. De acordo com Freitas e Lent (1947b), que redescreveram as espécies de *Sicarius* parasitas de emas, diferenciando-as com base na presença de asas laterais ao longo do corpo e relação espicular.

Segundo os autores citados acima, há três espécies de espirurídeos parasitas das emas: *S. uncinipenis* e *S. waltoni*, parasitas da moela e *O. alata*, parasita do proventrículo, todas apresentando lábios trilobulados com pequenos dentículos e interlábios. Esta última espécie se diferencia das outras pela presença de uma asa cervical nítida do lado esquerdo do corpo, terminado ao nível da região média do esôfago nos machos e se estendendo até a região posterior do corpo nas fêmeas, onde se torna pouco saliente, e espículos com comprimento subiguais (Tabela 2.3), além de 11 pares de papilas caudais, sendo três pares pré-cloacais, relativamente robustas, decrescendo de tamanho em direção à extremidade posterior, um par ad-cloacal, menores que as pré-cloacais e sete pares de pós-cloacais, sendo três próximas à abertura da cloaca, nitidamente pedunculadas e quatro pares restantes, pequenas e fracamente pedunculadas. As fêmeas possuem um par de papilas laterais, e uma saliência circular e cuticular no ápice da cauda (FREITAS; LENT, 1947b).

Em sua descrição original, Molin descreve a espécie *Sicarius uncinipenis* com uma relação espicular de 1:4, e estudos subsequentes realizados por Diesing em 1861, Drasche em 1884, Railliet e Henry em 1911 e Vaz em 1936 também relatam esta proporção; o que permite conhecer a espécie com segurança, uma vez que Leidy em 1891, Linstow em 1889 e Walton em 1927, descreveram a espécie com uma relação espicular de 1:8 (FREITAS; LENT, 1947b). Devido a esta diferença na relação espicular, Freitas e Lent (1947b), consideraram esta última como uma espécie diferente, *S. waltoni*, parasita da moela das emas.

De acordo com as descrições das três espécies, citadas acima, e o estudo morfométrico realizado, os nematoides coletados das moelas das emas do presente estudo são *S. uncinipenis*. No entanto, pode-se inferir que a descrição das outras duas espécies, *S. waltoni* e *O. alata* ainda é confusa, devido provavelmente a infecções mistas, com estas três espécies, ocorrendo descrições cruzadas dos caracteres, que deve ser estudado mais

profundamente, e se possível com infecções experimentais puras das espécies, permitindo o estudo de machos e fêmeas de cada espécie, separadamente.

Nos espécimes descritos no presente trabalho não observamos asas laterais em machos e fêmeas, descartando a espécie *O. alata*, e a relação espicular encontrada foi aproximadamente de 1:4, de acordo com o descrito para *S. uncinipenis*. A microscopia óptica e eletrônica de varredura revelou a presença de um par de papilas laterais próximas à extremidade posterior das fêmeas e de uma estrutura circular na ponta da cauda destas (Figuras 2.34 e 2.35), e ausência da asa cefálica nos espécimes (Figura 2.24). De acordo com Freitas e Lent (1947b), *O. alata* é a espécie que possui essas papilas, fato este não descrito pelos outros autores para *Sicarius* spp., o que mostra uma possível mistura de espécies nas descrições anteriores. Outro fato que reforça esta hipótese é a não observação de machos com ambos os espículos longos, como descrito por Freitas e Lent (1947b) para *O. alata*.

Outro caractere que é redescrito no presente trabalho é o esôfago que é nitidamente todo muscular (Figura 2.25), e não sendo formado por uma porção anterior muscular e outra posterior, glandular, conforme descrito por Freitas e Lent (1947b) e Sharma (1971), para a espécie *S. hoopoe* parasita de poupa-eurasiática, *Upupa epops*, uma ave da ordem Upupiformes. No entanto, Vaz (1936) descreve o esôfago de *S. nobregai* (sinônimo de *S. uncinipenis*), como sendo composto por duas porções, uma anterior e outra posterior, não se referindo a muscular e glandular. Assim, verificamos que o esôfago possui realmente uma divisão, em porção anterior e posterior, ambas musculares (Figura 2.25).

No presente trabalho, os espécimes foram analisados por meio de microscopia óptica e eletrônica de varredura, onde não foram observadas as pequenas sensilas na extremidade da cauda dos machos, descritas por Vaz (1936), para *S. nobregai* (sinônimo de *S. uncinipenis*) e por Walton (1927) e Freitas e Lent (1947b) para *S. uncinipenis*, e Sharma (1971) para *S. hoopoe*.

Freitas e Lent (1947b) descrevem as fêmeas sendo didélficas, anfidélficas com a abertura vulvar arredondada, ovijetor longo, dirigido para a região posterior. No entanto, a nomenclatura do ovijetor, com direção da região anterior para a posterior seria opistodélfico e não anfidélfico, como descrito por Freitas e Lent (1947b). Os mesmos autores denominaram equivocadamente a

mesma estrutura em *D. dimidiatus*, nematoide Strongylida das emas, onde descreveram como sendo opistodélfico (FREITAS; LENT, 1947a) quando na realidade é prodélfico. No entanto, em ambos os trabalhos eles descrevem a direção da estrutura corretamente. Também observamos no presente estudo, através de microscopia eletrônica de varredura que a abertura da vulva é transversal (Figura 2.33), e não arredondada, como descrito por Freitas e Lent (1947b).

As medidas dos espécimes do presente estudo estão de acordo com as descrições dos demais autores (FREITAS; LENT, 1947b; VAZ, 1936), havendo uma diferença apenas no comprimento do ovijetor das fêmeas com as medidas de Freitas e Lent (1947b) que foram maiores, onde a medida máxima encontrada por nós, não alcançou a medida mínima descrita pelos autores (Tabela 2.6). Além disto, a largura da cavidade bucal maior nas medidas de Freitas e Lent (1947b) se deve ao local medição, onde os autores mediram a partir da parte externa na estrutura e neste estudo, medimos o vão interno da cavidade bucal (Tabelas 2.5 e 2.6).

Comparando-se as espécies de espirurídeos parasitas das emas, notamos que os espécimes de machos e fêmeas de *S. uncinipenis* são maiores que as demais espécies. Além disto, *S. waltoni* possui a cavidade bucal mais longa que as outras espécies, porém com largura semelhante. Uma boa estrutura para diferenciar os machos destes parasitas é o comprimento dos espículos, onde *O. alata* possui espículos longos e finos, com comprimento semelhantes, enquanto que as espécies de *Sicarius* possuem espículos com comprimento desiguais, sendo que em *S. uncinipenis*, a relação espicular é de 1:4, e em *S. waltoni* esta relação é de 1:8, sendo facilmente diferenciados. Freitas e Lent (1947b) que transcrevem a descrição de Walton para *S. uncinipenis* e que os autores reclassificaram como *S. waltoni*, relatando o ovijetor relativamente maior (Tabela 2.6), no entanto, a medida inclui a vagina, que não está inclusa nas medidas dos demais autores (VAZ, 1936; FREITAS; LENT, 1947b), nem no presente estudo. Nas fêmeas, as medidas são semelhantes, sendo o melhor caractere a ser utilizado para distinguir as espécies, a presença da asa cefálica para *O. alata*. No entanto, não há nenhum caractere diagnóstico que separe as fêmeas do gênero *Sicarius*. Faz-se necessário um estudo futuro das fêmeas de *S. waltoni*, a fim de se identificar

possíveis diferenças morfológicas características da espécie, bem como redescrever, ultraestruturalmente, *O. alata*, com a finalidade de elucidar a morfologia das espécies de Spiruridae parasitas das emas.

Tabela 2.3. Comparação das medidas, em micrômetros, de machos das espécies de nematoides parasitas de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caracteres	<i>Sicarius uncinipenis</i>	<i>Sicarius uncinipenis</i>	<i>Sicarius waltoni</i> ^b	<i>Odontospirura alata</i> ^c
	Presente estudo	(Freitas; Lent, 1947b)	(Walton, 1927)	(Freitas; Lent, 1947b)
Comprimento total	25.414,95 (22.546,43 - 30.980,52)	17.750 – 21.770	20.000	15.910 – 17.420
Largura	752,19 (659,13 - 827,47)	600 - 740	700	470
Profundidade do estoma	59,67 (46,38 - 68,19)	55 – 63	120 – 130	55 – 67
Largura do estoma	31,20 (23,63 - 40,51)	67 – 84	-	42 – 55
Comprimento da primeira porção do esôfago	396,26 (351,36 - 454,93)	300 – 360	425 – 450	500 – 530
Largura da primeira porção do esôfago	87,72 (74,52 - 107,72)	70 – 83	-	61 – 70
Comprimento da segunda porção do esôfago	3.126,88 (2.685,32 - 3.567,77)	2.660 – 3.650	2.600 – 2.900	3.650 – 3.730
Largura da segunda porção do esôfago	207,98 (163,68 - 249,42)	170 – 230	-	200 – 220
Anel nervoso ^a	404,72 (282,43 - 490,54)	330 – 390	360 – 400	330 – 360-
Poros excretor ^a	586,00 (528,92 - 658,19)	500 – 610	-	-
Papila cervical ^a	384,29 (361,53 - 411,48)	290 – 340	-	360 – 410
Comprimento do espículo menor	849,26 (740,55 - 982,39)	660 – 800	300 – 420	10.290 – 10.620
Comprimento do espículo maior	3.494,39 (3.205,71 - 3.774,34)	3.000 – 3.700	2.400 – 2.650	10.870 – 11.120
Espículo menor : Espículo maior	1:4	1:4	1:8	Sub-iguais
Comprimento do gubernáculo	137,32 (101,63 - 169,39)	110 - 140	-	100 – 110

^a Medido a partir da extremidade anterior.

^b Descrito como *S. uncinipenis*.

^c Descrito como *Vaznema zschokkei*

Tabela 2.4. Comparação das medidas, em micrômetros, de machos das espécies de nematoides parasitas de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caracteres	<i>Sicarius uncinipenis</i>	<i>Sicarius uncinipenis</i>	<i>Sicarius waltoni</i> ^c	<i>Odontospirura alata</i> ^d
	Presente estudo	(Freitas; Lent, 1947b)	(Walton, 1927)	(Freitas; Lent, 1947b)
Comprimento total	37.979,30 (35.174,52 – 43.319,34)	26.460 – 33.160	25.000	16.750 – 25.120
Largura	962,86 (887,04 – 1.055,53)	670 – 800	750	400 – 670
Profundidade da cavidade bucal	68,66 (44,53 – 80,31)	52 – 70	120 – 140	50 – 63
Largura da cavidade bucal	41,09 (30,80 – 47,71)	78 – 96	-	34 – 50
Comprimento da primeira porção do esôfago	496,38 (393,33 – 737,12)	320 – 410	390 – 410	450 – 560
Largura da primeira porção do esôfago	96,95 (78,13 – 142,86)	91 – 104	-	59 – 67
Comprimento da segunda porção do esôfago	3.880,74 (3.349,80 – 4.684,37)	3.490 – 3.980	3.250 – 3.550	3.570 – 4.510
Largura da segunda porção do esôfago	264,15 (195,20 – 360,04)	220 – 230	-	220 – 250
Anel nervoso ^a	529,52 (386,81 – 786,08)	390 – 400	360 – 400	350 – 400
Poros excretor ^a	697,42 (651,92 – 803,56)	530 – 650	-	
Papila cervical ^a	608,16 (31907 – 951,79)	340 – 400	Não observada	430 510
Comprimento do ovijetor	1.876,60 (1.531,81 – 2.063,11)	2.270 – 3.070	500 – 950	4.480 – 6.140 ^c
Vulva ^b	15.649,34 (13.596,39 – 17.765,78)	11.050 – 12.060	6.600 – 7.100	6.030 – 9.550 ^a
Cauda	234,65 (179,75 – 287,11)	220 – 250	260	220 – 280
Comprimento dos ovos	44,56 (35,50 – 50,69)	46 – 50	45 – 50	46
Largura dos ovos	25,58 (20,81 – 31,56)	25	24 – 26	17

^a Medido a partir da extremidade anterior.

^b Medido a partir da extremidade posterior.

^c Descrito como *S. uncinipenis*.

^d Descrito como *Vaznema zschokkei*

Tabela 2.5. Comparação das medidas, em micrômetros, de machos de *Sicarius uncinipenis* (Molin), 1860, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caracteres	Presente estudo	Freitas; Lent (1947)	Vaz (1936) ^b
Comprimento total	25.414,95 (22.546,43 - 30.980,52)	17.750 – 21.770	25.000 – 28.000
Largura	752,19 (659,13 - 827,47)	600 – 740	600 – 700
Profundidade do estoma	59,67 (46,38 - 68,19)	55 – 63	62
Largura do estoma	31,20 (23,63 - 40,51)	67 – 84	37
Comprimento da primeira porção do esôfago	396,26 (351,36 - 454,93)	300 – 360	400 – 420
Largura da primeira porção do esôfago	87,72 (74,52 - 107,72)	70 – 83	
Comprimento da segunda porção do esôfago	3.126,88 (2.685,32 - 3.567,77)	2.660 – 3.650	3.220 – 3.400
Largura da segunda porção do esôfago	207,98 (163,68 - 249,42)	170 – 230	
Anel nervoso ^a	404,72 (282,43 - 490,54)	330 – 390	420
Poros excretor ^a	586,00 (528,92 - 658,19)	500 – 610	
Papila cervical ^a	384,29 (361,53 - 411,48)	290 – 340	-
Comprimento do espículo direito	849,26 (740,55 - 982,39)	660 – 800	700 – 720
Comprimento do espículo esquerdo	3.494,39 (3.205,71 - 3.774,34)	3.000 – 3.700	3.050 – 3.170
Comprimento do gubernáculo	137,32 (101,63 - 169,39)	110 – 140	100

^a Medido a partir da extremidade anterior.

^b Descrição de *Sicarius nobregai* (sinônimo de *S. uncinipenis*).

Tabela 2.6. Comparação das medidas, em micrômetros, de fêmeas de *Sicarius uncinipenis* (Molin), 1860, parasita de emas, *Rhea americana* Linnaeus, 1758.

Caracteres	Presente estudo	Freitas; Lent (1947)	Vaz (1936) ^c
Comprimento total	37.979,30 (35.174,52 – 43.319,34)	26.460 – 33.160	33.000 – 36.000
Largura	962,86 (887,04 – 1.055,53)	670 – 800	700 – 900
Profundidade da cavidade bucal	68,66 (44,53 – 80,31)	52 – 70	62
Largura da cavidade bucal	41,09 (30,80 – 47,71)	78 – 96	37
Comprimento da primeira porção do esôfago	496,38 (393,33 – 737,12)	320 – 410	400 – 420
Largura da primeira porção do esôfago	96,95 (78,13 – 142,86)	91 – 104	-
Comprimento da segunda porção do esôfago	3.880,74 (3.349,80 – 4.684,37)	3.490 – 3.980	3.220 – 3.400
Largura da segunda porção do esôfago	264,15 (195,20 – 360,04)	220 – 230	-
Anel nervoso ^a	529,52 (386,81 – 786,08)	390 – 400	420
Poros excretor ^a	697,42 (651,92 – 803,56)	530 – 650	-
Papila cervical ^a	608,16 (31907 – 951,79)	340 – 400	-
Comprimento do ovijetor	1.876,60 (1.531,81 – 2.063,11)	2.270 – 3.070	-
Vulva ^b	15.649,34 (13.596,39 – 17.765,78)	11.050 – 12.060	16.300 – 16.500
Cauda	234,65 (179,75 – 287,11)	220 – 250	260
Comprimento dos ovos	44,56 (35,50 – 50,69)	46 – 50	47
Largura dos ovos	25,58 (20,81 – 31,56)	25	25

^a Medido a partir da extremidade anterior.

^b Medido a partir da extremidade posterior.

^c Descrição de *Sicarius nobregai* (sinônimo de *S. uncinipenis*).

2.5.2. PATOLOGIA CAUSADA POR *Sicarius uncinipenis* em MOELA E PROVENTRÍCULO DE EMAS

No presente trabalho encontramos duas das quatro emas parasitadas por *S. uncinipenis*, sendo destas uma com carga parasitária considerada baixa, onde foram encontrados 37 nematoides, todos na moela (Ema 3) e outra com elevada carga parasitária, com 404 nematoides, sendo 58 no proventrículo e 346 na moela (Ema 4), sendo este o motivo do óbito da ave.

Zettermann et al. (2005) ao analisarem a presença de helmintos em emas de vida livre e criadas em cativeiro, observaram que *S. uncinipenis* foi mais frequente nas emas de cativeiro, provavelmente devido à restrição do espaço de convivência com as outras aves, por outro lado, nas emas de vida livre, o gênero mais encontrado foi *Deletrocephalus*. Este fato foi também observado no presente estudo, onde as emas analisadas foram provenientes de um criatório conservacionista, que mantinha emas confinadas em piquetes, com alta densidade de aves, e a maioria das emas eram criadas livremente no criatório. As duas aves positivas para infecções por *S. uncinipenis* foram as que, embora em cativeiro, encontravam-se livres no criatório. Os nematoides Strongylida requerem em seu ciclo de vida a participação de hospedeiros intermediários, geralmente artrópodes (ROBERTS; JANOVY, 2005). Este fato pode estar influenciando esta ocorrência nas emas criadas fora do confinamento, que têm maior acesso ao possível hospedeiro intermediário, enquanto que as emas mantidas em confinamento nos piquetes, não tinham acesso à pastagem, o que restringia o acesso das aves ao hospedeiro intermediário.

Lesões causadas por *S. uncinipenis* não foram descritas anteriormente na moela e proventrículo de emas. Nematoides são considerados responsáveis por casos de necrose e impactação do conteúdo proventricular de avestruzes (HUCHZERMEYER, 2005). As lesões encontradas na ema com baixa carga parasitária (ema 3) foram proporcionais a esta carga, onde foram observadas lesões iniciais, sem ruptura completa da membrana coilina, como foi observado na ema 4. Na ema 3, os parasitos foram encontrados abaixo da membrana coilina, e alguns espécimes estavam perfurando, com a região anterior do corpo, a face inferior desta, ocasionando pontos hemorrágicos e um estado mais avançado das úlceras, quando

comparado com a face superior (Figura 2.38). Estas observações permitem inferir que os parasitos se desenvolvem, inicialmente, abaixo da membrana coilina, e posteriormente, avançando para a luz do órgão. Estas lesões causadas por este parasito não foram descritas anteriormente.

A ema 4 apresentou lesões em estado avançado, havendo necrose da membrana coilina, expondo a mucosa às ações gástricas, e possíveis infecções secundárias. O conteúdo da moela estava impactado, e também foram observados nematoides no proventrículo, que provavelmente devido à alta densidade destes na moela, tanto no interior do órgão, misturado com o conteúdo da moela, quanto abaixo da membrana coilina, contribuíram para a migração dos parasitos para o proventrículo, fato este não foi observado na ema 3 (com baixa carga parasitária). No entanto, apesar do proventrículo conter nematoides penetrados em suas glândulas, não foram observadas lesões macroscópicas neste órgão (Figura 2.39). Desta forma, pode inferir que as lesões causadas por *S. uncinipenis* estão relacionadas a altas cargas parasitárias, devidas a processos inflamatórios que ocorrem na mucosa, levando a descamação da membrana coilina, inicialmente na porção interna desta, e resultando, em ulcerações que expõem a mucosa às secreções gástricas, com posterior necrose generalizada do órgão.

Zettermann et al. (2005) relataram nas emas parasitas por *S. uncinipenis*, a mucosa da moela com um espessamento, congestionada e com pequenas petéquias próximas aos parasitos, conforme observado no presente estudo. Estes autores observaram também depressões na membrana coilina, semelhantes a rastros deixados pelos parasitos ao se locomoverem sob a membrana. Este fato também foi observado no presente estudo, na ema pouco parasitada e na outra ema, esta observação não foi possível devido ao avançado estado de necrose desta membrana. No presente trabalho não realizamos estudos histopatológicos, porém Zettermann et al. (2005) através de cortes histológicos observaram um processo inflamatório leve, composto por algumas células mononucleares e eosinófilos ou heterófilos próximo aos parasitos, além de edema de mucosa. Estes autores não observaram eritrócitos nem Ferro no interior dos nematoides, indicando que estes não se alimentam de sangue. Assim, a patogenicidade de *S. uncinipenis* pode estar relacionada com a ingestão de tampões de mucosa, como descrito para *Codiostomum struthionis* em cecos de avestruzes (OLIVEIRA et al., 2009).

Os nematoides foram encontrados penetrando a membrana coilina das emas, semelhantes a *Cheilospirura hamulosa*, um nematoide Spirurida, em perús (BRENER et al., 2006), onde os pesquisadores observaram nestas aves, severa inflamação da mucosa, se estendendo para a camada muscular. Menezes et al. (2003) afirmaram que *C. hamulosa*, mesmo em pequenas cargas parasitárias, podem provocar uma reação inflamatória que interfere na contração muscular e movimentos do órgão, afetando a digestão e absorção de alimentos pelo hospedeiro. Em alguns casos, o parasita pode causar lesões consideráveis na moela e proventrículo, resultando na rejeição do órgão para consumo humano de acordo com as normas de inspeção sanitária de produtos de origem animal do Brasil (MAPA, 2008), levando a perdas econômicas.

O gênero *Libyostrongylus*, um nematoide Trichostrongylidae, consideravelmente menor que *S. uncinipenis*, parasita das avestruzes, é responsável por grandes perdas econômicas, principalmente entre as aves juvenis, causando impactação do conteúdo proventricular das aves, semelhante ao observado na ema 4. Os parasitos do gênero *Libyostrongylus* também penetram na membrana coilina, do proventrículo e moela das avestruzes, causando necrose generalizada em infecções severas (HUCHZERMEYER, 2005). No entanto, os nematoides do gênero *Libyostrongylus* são hematófagos, causando também anemia nas aves, debilitando-as. Um relato de impactação da moela em emas da espécie *Pterocnemia pennata* criadas na Argentina, diagnosticou o problema em 33 de 41 filhotes que vieram a óbito, de três propriedades, com idades variando de uma a quatro semanas (REISSIG; ROBLES, 2001). Não foram observados parasitos nos filhotes, provavelmente devido à sua idade, não havendo tempo necessário para a infecção e desenvolvimento dos parasitos. Foi observada na maioria dos casos uma completa impactação com uma massa sólida de material fibroso e areia, comum nos filhotes, na fase inicial (REISSIG; ROBLES, 2001), resultando em inapetência crônica, diarreia, desidratação e fraqueza generalizada, podendo levar a morte (SATO et al., 1994).

2.6. CONCLUSÕES

- As emas do presente estudo estavam parasitadas por:
 - *Deletrocephalus dimidiatus*, no intestino;
 - *Sicarius uncinipenis*, no proventrículo e moela;

- *Sicarius uncinipenis*, em elevada carga parasitária, é responsável por lesões na moela das emas, levando a impactação do conteúdo e necrose do órgão, sendo este o primeiro relato de achados patológicos causados por este parasito.

2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRACE. **Associação Brasileira dos Criadores de Emas**. Disponível em: <http://www.abrace-emas.com.br>. Acesso em: junho de 2008.
- ACOMOLLI, J.; OCAYO, D.; CRUZ, A.C.S.; MILANO, F.; ROUX, J.P. Aspectos morfológicos de *Paradelectrocephalus minor* (Molin, 1861) Freitas & Lent, 1947, em ñandu (*Rhea americana*), por médio de microscopio de luz y microscópio eletrônico de barrido, **Parasitologia Latinoamericana**. v. 61,n. 3-4, p. 183-187, 2006.
- AMATO, J.F.R.; BOEGER, W.A.; AMATO, S.B. **Protocolos para laboratório – Coleta e processamento de parasitos de pescado**. 1 ed., Imprensa Universitária, Seropédica. 81 pp., 1991.
- BRENER, B.; TORTELLY, R.; MUNIZ-PEREIRA, L.C.; PINTO, R.M. *Cheilospirura hamulosa* (Diesing, 1851) (Nematoda, Acuarioidea) in turkeys in Brazil: occurrence and pathology. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 58, n. 2, p. 287-290, 2006.
- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G. Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**. v. 56, p. 539-558. 1981.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G.; RODRIGUES, M.L.A. Further study of *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) parasite of ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) (Aves, Struthioniformes). **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 275-283, 2008a.
- EWING, M.L.; YONZON, M.E.; PAGE, R.K.; BROWN, T.P.; DAVIDSON, W.R. *Delectrocephalus dimidiatus* infestation in an adult rhea (*Pterocnemia pennata*). **Avian Diseases**, v. 39, p. 441-443, 1995.
- FOREYT, W.J. Parasitas de ratitas. **Parasitologia Veterinária – Manual de Referência**. 5ed. Roca, São Paulo. p. 181-184, 2005.
- FOWLER, M.E. Comparative clinical anatomy of ratites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 22, n. 1, p. 204. 1991.

- FREITAS, J.F.T.; LENT, H. Revisão da subfamília Deletocephalinae Railliet, 1916 (Nematoda, Strongyloidea). **Revista Brasileira de Biologia**. v. 7, n. 1, p. 73-100, 1947a.
- FREITAS, J.F.T.; LENT, H. "Spiruroidea" parasitos de "Rheiformes" (Nematoda). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 45, n. 4, p. 743-779, 1947b.
- GIANNONI, M., L. **Emas e Avestruzes – uma alternativa para o produtor rural**. Funep, Jaboticabal. 49 pp., 1996.
- HOSKEN, F.M.; SILVEIRA, A.C. **Criação de emas**. Aprenda Fácil, Viçosa. 366pp. 2003.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Funep, Jaboticabal. 392pp., 2005.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. <http://www.ibama.gov.br> Acesso em: Dezembro de 2011.
- MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: novembro de 2008.
- MAPLESTONE, P.A. Parasitic nematodes obtained from animals dying in the Calcutta zoological gardens. **Records of the Indian Museum**. V. 34, p. 229-261, 1932.
- MENEZES, R.C.; TORTELLY, R.; GOMES, D.C.; PINTO, R.M. Pathology and frequency of *Cheilospirura hamulosa* (Nematoda, Acuarioidea) in Galliformes hosts from backyard flocks. **Avian Pathology**. v. 32, p. 151-156, 2003.
- MONTEIRO, S.G.; FLORES, M.L.; SEGABINAZI, S.D.; LAGAGGIO, V.R.A. Ocorrência de *Deletocephalus dimidiatus* (Diesing, 1851) Nematoda em emas (*Rhea americana*) criada em cativeiro no RS. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 9, n. 1, p. 100-103, 2002.
- OLIVEIRA, F.C.R.; EDERLI, N.B.; LOPES, C.W.G.; RODRIGUES, M.L.A. Pathological findings in the caeca of naturally infected ostriches, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) parasitized by *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae). **Veterinary Parasitology**. v. 165, p. 178-178, 2009.
- RAILLIET, A.; HENRY, A. Les helminthes du nandou. **Bulletin de la Société Nationale D'Acclimatation**, v. 58, n. 1, p. 573-582, 1911.

- REISSIG, E.G.; ROBLES, C.A. Gizzard impaction in lesser rhea chicks (*Pterocnemia pennata*) raised on farms in Patagonia, Argentina. **Avian Diseases**. v. 45, p. 240-244, 2001.
- ROBERTS, L.S.; JANOVY, J. **Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology**. Mc Graw Hill, New York. 702 pp., 2005.
- SATO, Y.; YASUDA, J.; SINSUNGWE, H.; CHIMANA, H.; SATO, G. An occurrence of stomach impaction in ostriches (*Struthio camelus*) on a farm in Zambia associated with high mortality. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v. 56, p. 783-784, 1994.
- SHARMA, R.K. A new nematode *Sicarius hoopoe* n. sp. (Habronematinae) from a bird. **Zoologische Anzeiger**. v. 187, p. 303-306, 1971.
- SIBLEY, C.G.; AHLQUIST, J.E.; MONROE, B.L. A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridization studies. **The AUK a Quarterly Journal of Ornithology**. V. 105, n. 3, p. 409-423, 1988.
- TAYLOR, M.A., HUNT, K.R., SMITH, G., OTTER, A. *Deletrocephalus dimidiatus* in greater rheas (*Rhea americana*) in the UK. **Veterinary Record**, v. 146, p. 19-20, 2000.
- TRAVASSOS, L. Contribuição ao conhecimento do *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851 parasitos da *Rhea americana*. **Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária**. v. 10, n. 1, p. 89-97, 1933.
- VAZ, Z. Estudos sobre nematóides parasites de emas (*Rhea americana*). **Archivos do Instituto Biológico**. v. 7, p. 253-266, 1936.
- WALTON, A.C. A revision of the nematodes of the Leidy collections. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**. v. 79, p. 49-163, 1927.
- WEHR, E.E. A new nematode from the rhea. **Proceedings of the United States National Museum**. v. 83, n. 17, p. 1-5, 1934.
- ZETTERMANN, C.D. Helminthos parasitos de emas (*Rhea americana*) do pantanal do Mato Grosso do Sul e de Jaboticabal, São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 49 pp., 2000.
- ZETTERMANN, C.D., NASCIMENTO, J.A., TEBALDI, J.A., SZABÓ, M.J.P. Observations on helminth infections of free-living and captive rheas (*Rhea americana*) in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 129, n. 1-2, p. 169-172, 2005.

CAPÍTULO III

ANÁLISE FILOGENÉTICA PRELIMINAR DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE (NEMATODA, TRICHOSTRONGYLIDAE)

3.1. INTRODUÇÃO

De acordo com a análise cladística realizada por Durette-Desset et al. (1999), a superfamília Trichostrongyloidea é composta por três famílias: Trichostrongylidae, Haemonchidae e Cooperidae. Anteriormente a este estudo, a subfamília Libyostrongylinae era classificada como membro da família Trichostrongylidae, no entanto, após os estudos realizados por Durette-Desset et al. (1999), a subfamília Libyostrongylinae foi classificada como pertencente à família Cooperidae, que possui três subfamílias: Libyostrongylinae, Obeliscoidinae e Cooperinae. A subfamília Libyostrongylinae é composta por cinco gêneros: *Libyostrongylus*, *Paralibyostrongylus*, *Cnizostrongylus*, *Laurostrongylus* e *Pararhabdonema*, que juntos, totalizam 14 espécies, sendo que os três últimos gêneros são compostos por apenas uma única espécie, e *Libyostrongylus* e *Paralibyostrongylus* são compostos por três e oito espécies, respectivamente.

Inicialmente, cinco espécies do gênero *Paralibyostrongylus* foram descritas como *Libyostrongylus*. Alguns autores consideram estes dois gêneros sinônimos, devido à sua semelhança. No entanto, outros autores diferenciam os dois gêneros com base nas ramificações do raio dorsal ou com base no padrão e organização dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora, havendo necessidade de se determinar uma análise filogenética para clarificar a classificação das espécies desta subfamília, que engloba parasitas de ratitas, lagomorfos, primatas e roedores arcaicos. Dependendo do sistema de classificação utilizado, há alterações na taxonomia das espécies, principalmente as pertencentes aos gêneros *Libyostrongylus* e *Paralibyostrongylus*.

O presente trabalho teve como objetivo, analisar a história evolutiva das espécies da subfamília Libyostrongylinae, através da análise filogenética baseada em caracteres morfológicos dos nematoides, elucidando assim os problemas de classificação taxonômica desta subfamília.

3.2. REVISÃO DE LITERATURA

3.2.1. SUPERFAMÍLIA TRICHOSTRONGYLOIDEA

A superfamília Trichostrongyloidea Cram, 1927, constitui um dos táxons mais diversos e complexos dentre os Strongylida, ou seja, os vermes providos de bolsa copuladora (DURETTE-DESSET, 1983, 1985). Dentre os nematoides da superfamília Trichostrongyloidea, a família Trichostrongylidae Leiper, 1912 representa os grupos com considerável importância veterinária de ruminantes, outros mamíferos e aves. Esses nematoides são, tipicamente, monoxenos e ocorrem no trato gastrointestinal de seus hospedeiros. Morfológicamente, este táxon foi caracterizado, originalmente, pela presença de cápsula bucal reduzida e bolsa copuladora distinta (LEIPER, 1912; CRAM, 1927), e mais recentemente, através da configuração da sínlofe, (cristas cuticulares, superficiais, dispostas longitudinalmente ao longo do corpo do nematoide), e das estruturas genitais (DURETTE-DESSET; CHABAUD, 1977, 1981; DURETTE-DESSET, 1983; GIBBONS; KHALIL, 1982, 1983).

A superfamília Trichostrongyloidea caracteriza-se pela cápsula bucal ausente ou reduzida (quando presente é pouco cuticularizada), são parasitas intestinais, com exceção da família Dictiocaulidae, que parasita o trato respiratório. Bolsa copuladora bem desenvolvida, pelo menos os lobos laterais. Apresentam ciclo de vida homoxeno. Frequentemente possuem vesícula cefálica e cristas cuticulares longitudinais. As larvas de primeiro estágio possuem bulbo esofageano valvular, e cauda cônica terminando em uma ponta simples (ANDERSON et al., 2009).

3.2.2. FAMÍLIA TRICHOSTRONGYLIDAE

Desde que foi estabelecida, a família Trichostrongylidae é alvo de intensos estudos. Travassos (1937) classificou a família como contendo 13 subfamílias: Trichostrongylinae, Ornithostrongylinae, Trichohelicinae, Graphidiinae, Amidostominae, Strongylacanthinae, Spinostrongylinae, Nematodirinae,

Mecistocirrinae, Heligmosominae, Viannaiinae, Oswaldoneminae, Ollulaninae. Este conceito foi muito amplo, e muitos desses táxons foram reclassificados em outras famílias e subfamílias. Um conceito mais restrito para os Trichostrongyloidea foi descrito por Skrjabin et al. (1952, 1954), os quais reconheceram 15 subfamílias e 18 tribos dentro da família Trichostrongylidae.

A taxonomia mais aceitável atualmente para esta família segue os primeiros estudos exaustivos do cone genital e bolsa copuladora dos machos (CHABAUD, 1959; CHABAUD et al., 1970; GIBBONS; KHALIL, 1983). Embora Gibbons e Khalil (1982) e Durette-Desset (1983) reconheçam seis subfamílias, há ainda, discordância entre estas classificações em relação ao número de gêneros reconhecidos, principalmente na subfamília Ostertagiinae, bem como a sua classificação à nível de subfamília (LICHTENFELS; HOBERG, 1993).

Estas divergências são resultado das conclusões derivadas da avaliação de dois grupos distintos de caracteres morfológicos que foram utilizados na construção das chaves de identificação, em nível de gênero. Os conceitos de Durette-Desset (1983) foram baseados, primariamente, na estrutura da bolsa copuladora, enquanto que Gibbons e Khalil (1982) foram baseados em diversos atributos estruturais (LICHTENFFELS, 1987). Durette-Desset (1983, 1985) e Durette-Desset e Chabaud (1977, 1981) indicaram que os Trichostrongylidae foram divididos em três linhagens, dependendo da morfologia dos raios 2 e 3 da bolsa copuladora. Cada uma dessas linhagens foram então divididas em subfamílias, sendo uma mais primitiva que a outra. Durette-Desset et al. (1999) ao realizar a análise cladística da superfamília Trichostrongyloidea, com base em caracteres morfológicos, dividiram esta superfamília em três famílias, Trichostrongylidae, Haemonchidae e Cooperiidae. As respectivas subfamílias e gêneros estão demonstrados no quadro 3.1.

Hoberg e Lichtenfels (1994) analisaram filogeneticamente a família Trichostrongylidae, determinando dois clados distintos, um com as subfamílias Trichostrongylinae, Libyostrongylinae e Cooperinae, e outro com Haemonchinae, Ostertagiinae e Graphidiinae.

Quadro 3.1. Classificação taxonômica dos gêneros da superfamília Trichostrongyloidea, de acordo com a análise cladística realizada por Durette-Desset et al. (1999).

Família	Subfamília	Gêneros	Hospedeiros		
Trichostrongylidae	Amidostomatinae	<i>Epomidiostomum</i>	Aves		
		<i>Amidostomum</i>	Aves		
		<i>Paramidostomum</i>	Aves (Anhimidae)		
	Filarinematinae	<i>Profilarinema</i>	Marsupiais australianos (Phalangeroidea)		
		<i>Filarinema</i>	Marsupiais australianos (Phalangeroidea)		
	Trichostrongylinae	<i>Trichostrongylus</i>	Aves, lagomorfos e ruminantes		
		<i>Parostertagia</i>	Suínos		
		<i>Graphidioides</i>	Roedores Caviomorfos		
		<i>Travassosius</i>	Roedores Castorídeos		
<i>Graphidium</i>		Lagomorfos			
Haemonchidae	Ostertaginae	<i>Hyostrongylus</i>	Lagomorfos, suínos, ruminantes e tragulídeos		
		<i>Teladorsagia</i>	Camelídeos, Bovídeos e Cervídeos		
		<i>Spiculoptergia</i>	Tragulídeos, Bovídeos e Cervídeos		
		<i>Marshallagia</i>	Bevídeos		
		<i>Camelostongylus</i>	Camelídeos e Bovídeos		
		<i>Ostertagia</i>	Bovídeos e Cervídeos		
		<i>Longistongylus</i>	Bovídeos		
	Haemonchinae	<i>Boehmiella</i>	Sciurídeos, <i>Myocastor</i>		
		<i>Haemonchus</i>	Camelídeos, Bovídeos e Cervídeos		
		<i>Mecistocirrus</i>	Bovídeos		
		<i>Ashworthius</i>	Bovídeos e Cervídeos		
		Cooperidae	Libyostrongylinae	<i>Libyostrongylus</i>	Ratitas
				<i>Paralibyostrongylus</i>	Roedores, Hyracoídeos, lagomorfos e primatas
<i>Cnizostrongylus</i>	Roedores (Madagascar)				
<i>Laurostrongylus</i>	Roedores (Madagascar)				
Obeliscoidinae	<i>Pararhabdonema</i>		Lemures (Madagascar)		
	<i>Teporingonema</i>		Lagomorfos		
	<i>Tapironema</i>		Antas		
Cooperinae	<i>Obeliscoides</i>	Lagomorfos			
	<i>Pseudostertagia</i>	Antilocapridae (América do Norte)			
	<i>Gazellostrongylus</i>	Bovídeos			
	<i>Cooperioides</i>	Bovídeos			
	<i>Chabaudstrongylus</i>	Tragulídeos e Cervídeos			
	<i>Cooperia</i>	Camelídeos e Cervídeos			
	<i>Impalaia</i>	Camelídeos e Cervídeos			
	<i>Paracooperia</i>	Bovídeos			
	<i>Paracooperioides</i>	Bovídeos			
<i>Megacooperia</i>	Bovídeos				

3.2.3. SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE

A subfamília *Libyostromylinae* foi estabelecida por Durette-Dessete e Chabaud em 1977 para os gêneros *Libyostromylinus* Lane, 1923, *Cnizostromylinus* Chabaud, Durette-Desset e Houin, 1967, *Obeliscoides* Graybill, 1924, *Paralibyostromylinus* Ortlepp, 1939, *Pararhabdonema* Kreiss, 1945 e *Pseudostertagia* Orloff, 1933. Além destes, em 1981, Durette-Desset e Chabaud incluíram *Moguranema* Yamaguti, 1941, a esta subfamília (GIBBONS; KHALIL, 1982).

Os gêneros *Libyostromylinus*, *Cnizostromylinus* e *Paralibyostromylinus* compartilham os seguintes caracteres: ausência de sínlofe, no entanto, apresentam poucas cristas cuticulares descontínuas na região da vulva; espículos curtos e com terminação pontiaguda; cone genital com papila zero única, simples e grande e um par de papilas sete; e raio dorsal longo, com ramificações características. Por esta razão, Gibbons e Khalil (1982) reteram apenas estes três gêneros na subfamília *Libyostromylinae*, diferenciando os gêneros pelo número de ramificações do raio dorsal além da presença ou ausência de uma modificação da extremidade do raio antero-lateral (raio 4) da bolsa copuladora. Gibbons e Khalil (1982) destacam a semelhança de *Moguranema* aos gêneros citados acima, no entanto, os autores não examinaram espécimes, e devido a este motivo, este gênero não foi incluído na chave de identificação desenvolvida por Gibbons e Khalil (1982) para os gêneros da família *Trichostrongylidae*, bem como na análise cladística realizada por Durette-Desset et al. (1999) para a superfamília *Trichostrongyloidea*.

Assim, a taxonomia da subfamília *Libyostromylinae*, ainda não foi completamente elucidada, necessitando de estudos sobre a filogenia dos gêneros e suas respectivas espécies.

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1. LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

A análise filogenética da subfamília Libyostromylinae foi realizada no Laboratório de Parasitologia Harold W. Manter (HWML), da Universidade de Nebraska-Lincoln, nos Estados Unidos.

3.3.2. ANÁLISE FILOGENÉTICA PRELIMINAR DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTROMYLIINAE

A análise preliminar das relações filogenéticas entre as 14 espécies de nematoides, dos seis gêneros reconhecidos da subfamília Libyostromylinae (Quadro 3.2), foram estimadas através da análise de 15 caracteres morfológicos (Tabela 3.1).

Como grupo externo, foi utilizada a espécie *Pseudostertagia bullosa*, que já foi classificada como pertencente à subfamília anteriormente, sendo atualmente, pertencente à subfamília Haemonchinae, segundo Durette-Desset (1983).

Para a confecção da matriz morfológica foram analisadas as descrições e redescrições publicadas na literatura científica das espécies em questão. O grupo externo foi utilizado para enraizar a árvore filogenética e polarizar os caracteres. A matriz de dados foi construída utilizando-se o programa Mesquite versão 2.74 para windows (MADDISON; MADDISON, 2010) (Tabela 3.1). Os estados dos caracteres morfológicos estão indicados para cada espécie considerada no estudo, sendo (0) para caracteres plesiomórficos, (1, 2, 3, ...) para caracteres apomórficos e (?) para caracteres ausentes ou desconhecidos. A análise cladística foi realizada no programa PAUP versão 4.0b10 para Windows (SWOFFORD, 2003). Os caracteres foram considerados desordenados e não aditivos, e não foram atribuídos pesos inicialmente. Os cladogramas foram calculados por meio do método de *Branch-and-Bound* para encontrar a árvore mais parsimoniosa. O índice de consistência (IC), índice de retenção (IR), índice de homoplasia (IH) e índice de consistência

rescalonado (CR) foram calculados para cada caractere utilizado e para a árvore mais parcimoniosa encontrada. A análise foi recalculada pesando-se os caracteres através do CR, e foi realizada novamente, a busca por *Branch-and-Bound*.

Apenas para comparação, a análise filogenética também foi realizada utilizando-se o programa para análise filogenética gratuito TNT 1.1 (GOLOBOFF et al., 2008) para Windows.

Quadro 3.2. Listagem das espécies da subfamília Libyostrongylinae (grupo interno) e grupo externo utilizado na presente análise filogenética, com respectivos hospedeiros, região geográfica das descrições utilizadas e suas referências bibliográficas.

Espécie	Hospedeiro	Região Geográfica	Referência Bibliográfica
Grupo Externo			
<i>Pseudostertagia</i>			
<i>P. bullosa</i>	<i>Ovis aries</i>	Japão – Ásia	Yohohata et al. (1988)
Grupo Interno			
<i>Libyostrongylus</i>			
<i>L. douglassii</i>	<i>Struthio camelus</i>	Amplamente distribuída	Ederli et al. (2008c)
<i>L. magnus</i>	<i>Struthio camelus</i>	África do Sul – África	Cobbold (1882); Skrjabin (1961)
<i>L. dentatus</i>	<i>Struthio camelus</i>	Brasil e EUA	Ederli et al. (2008c); Hoberg et al. (1995)
<i>Paralibyostrongylus</i>			
<i>P. vondwei</i>	<i>Thryonomys swinderianus</i>	África do Sul – África	Ortlepp (1939)
<i>P. cassonei</i>		Inglaterra – Europa	Durette-Desset e Denke, (1978)
<i>P. hebrenicutus</i>	<i>Atherurus africanus</i>	África do Sul – África	Lane (1923)
<i>P. alberti</i>	<i>Dendrohyrax arboreus</i>	Congo – África	Berghe (1936)
<i>P. kalinae</i>	<i>Gorilla gorilla beringei</i>	Uganda – África	Durette-Desset et al. (1992)
<i>P. bathyergi</i>	<i>Bathyergus suillus</i>	África do Sul – África	Ortlepp (1939)
<i>P. mordanti</i>	<i>Lepus zechi</i>	Benim – África	Le van Hoa (1959)
<i>P. nigeriae</i>	<i>Cricetomys emini</i>	Nigéria – África	Baylis (1928)
<i>Moguranema</i>			
<i>M. nipponicum</i>	<i>Urotrichus talpoides</i>		
	<i>Mogera wogura</i>	Japão – Ásia	Yohohata et al. (1988)
	<i>Mogera kobeae</i>		
<i>Pararhabdonema</i>			
<i>P. longistriata</i>	<i>Lepilemur ruficaudatus</i>	Madagascar – África	Chabaud e Choquet (1955)
<i>Laurostrongylus</i>			
<i>L. hoineffae</i>	<i>Gymnuromys roberti</i>	Madagascar – África	Durette-Desset e Chabaud (1992)

3.4. RESULTADOS

3.4.1. ANÁLISE DOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

A matriz de dados morfológicos (15 caracteres) codificada para as 15 espécies analisadas no presente estudo está representada na tabela 3.1. A descrição dos caracteres analisados, com os respectivos estados e índice de consistência (IC), índice de retenção (IR), índice de consistência re-escalonado (CR), índice de homoplasia (IH), encontram-se abaixo.

1. *Comprimento total do corpo dos machos*: Três estados: **0** = Pequenos (menores que 6.000 μm); **1** = Médios (6.000 a 10.000 μm); **2** = Grandes (maiores que 10.000 μm).
(IC = 0,50; IR = 0,50; CR = 0,25; IH = 0,50).
2. *Comprimento total do corpo das fêmeas*: Três estados: **0** = Pequenos (menores que 7.000 μm); **1** = Médios (7.000 a 13.000 μm); **2** = Grandes (maiores que 13.000 μm).
(IC = 0,67; IR = 0,67; CR = 0,44; IH = 0,33).
3. *Asa cervical*: Dois estados: **0** = Ausente; **1** = Presente.
(IC = 1,00, IR = 0/0; CR = 0/0; IH = 0,00).
4. *Cavidade bucal*: Dois estados: **0** = Ausente; **1** = Presente.
(IC = 0,50, IR = 0,67; CR = 0,33; IH = 0,50).
5. *Dentes esofageais*: Dois estados: **0** = Presente; **1** = Ausente.
(IC = 0,50; IR = 0,75; CR = 0,37; IH = 0,50).
6. *Sínlofe*: Dois estados: **0** = Ausente; **1** = Presente.
(IC = 0,50; IR = 0,00; CR = 0,00, IH = 0,50).

7. *Proporção entre o comprimento total do corpo e o comprimento dos espículos:* Três estados: **0** = Pequenos (menores que 1:30); **1** = Médios (1:31 a 1:40); **2** = Grandes (maiores que 1:41).
(IC = 0,40; IR = 0,62; CR = 0,25; IH = 0,60).
8. *Origem do raio externo dorsal da bolsa copuladora:* Dois estados: **0** = Na base do raio dorsal; **1** = No corpo do raio dorsal.
(IC = 0,33; IR = 0; CR = 0; IH = 0,67).
9. *Proporção entre o comprimento total do corpo e o comprimento do ovijetor:* Três estados: **0** = Pequeno (menor que 1:15); **1** = Médio (1:16 a 1:20); **2** = Longo (maior que 1:21).
(IC = 0,40; IR = 0,25; CR = 0,10; IH = 0,60).
10. *Proporção entre o comprimento total do corpo e a distância da vulva em relação à extremidade posterior:* Três estados: **0** = Pequeno (menor que 1:3); **1** = Médio (1:4 a 1:10); **2** = Longo (maior que 1:11).
(IC = 1,00; IR = 1,00; CR = 1,00; IH = 0).
11. *Comprimento dos ovos:* Três estados: **0** = Pequenos (menores que 70 μm); **1** = Médios (70 a 90 μm); **2** = Grandes (maiores que 90 μm).
(IC = 0,67; IR = 0,67; CR = 0,44; IH = 0,33).
12. *Vesícula cefálica:* Dois estados: **0** = Presente; **1** = Ausente.
(IC = 1,00, IR = 0/0; CR = 0/0; IH = 0).
13. *Desenvolvimento do lobo dorsal da bolsa copuladora:* Três estados: **0** = Com comprimento similar aos dos lobos laterais; **1** = Comprimento mediano; **2** = Comprimento reduzido.
(IC = 1,00; IR = 0/0, CR = 0/0; IH = 0).

14. *Tipo do raio dorsal*: Três estados: **0** = “Tipo *Libyostrongylus*”; **1** = “Tipo *Paralibyostrongylus*”; **2** = Diferente. (Figura 3.5 A e C)
(IC = 0,67; IR = 0,80; CR = 0,53; IH = 0,33).
15. *Padrão dos raios 3-5 da bolsa copuladora*: Três estados: **0** = “Tipo *Libyostrongylus*”; **1** = “Tipo *Paralibyostrongylus*”; **2** = Equidistantes. (Figura 3.5 B e D).
(IC = 0,67; IR = 0,80; CR = 0,53; IH = 0,00).

Tabela 3.1. Matriz de dados morfológicos das espécies da subfamília Libyostromylinae e *Pseudostertagia bullosa*, considerada como grupo externo. Caracteres com informação desconhecida foram representados por “?”.

Taxons	Caracteres														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. bullosa</i>	1	1	0	1	0	1	2	0	0	2	1	0	0	0	1
<i>L. douglassii</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0
<i>L. magnus</i>	2	1	0	0	1	0	2	0	0	?	1	0	0	0	0
<i>L. dentatus</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	1	0
<i>P. vondwei</i>	1	2	0	1	0	0	1	0	2	?	0	0	0	1	1
<i>P. cassonei</i>	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>P. hebreunicutus</i>	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>P. alberti</i>	0	1	0	?	0	0	0	0	?	1	0	0	0	0	1
<i>P. kalinae</i>	1	1	0	0	1	0	1	?	0	?	0	0	0	0	2
<i>P. bathyergi</i>	1	1	1	0	0	0	2	1	2	?	0	0	0	0	1
<i>P. mordanti</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>P. nigeriae</i>	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	?	0	0	1	1
<i>M. nipponicum</i>	2	2	0	0	0	0	2	0	?	1	2	1	1	2	1
<i>P. longistriata</i>	2	2	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1
<i>L. hoineffae</i>	2	2	0	?	1	0	2	0	1	0	2	0	0	0	1

3.4.2. ANÁLISE FILOGENÉTICA DAS ESPÉCIES DA SUBFAMÍLIA LIBYOSTRONGYLINAE

A análise filogenética dos 14 táxons considerados válidos da subfamília *Libyostromylinae*, através de busca pelo método de *Branch-and-Bound* resultou em 22 árvores. Os caracteres foram pesados de acordo com o Índice de Consistência Re-escalado (RC), e após nova busca pelo método *Branch-and-Bound* resultou em 4 árvores parcimoniosas com 19 passos (Figuras 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4), com índice de consistência (IC) igual a 0,7270, índice de consistência re-escalado (RC) igual a 0,5194, Índice de retenção (IR) igual a 0,7145 e índice de homoplasia (IH) igual a 0,2730. Foram detectados 15 caracteres parcimoniosamente informativos.

As árvores filogenéticas resultantes da análise realizada com o programa PAUP foram compatíveis com a do programa TNT.

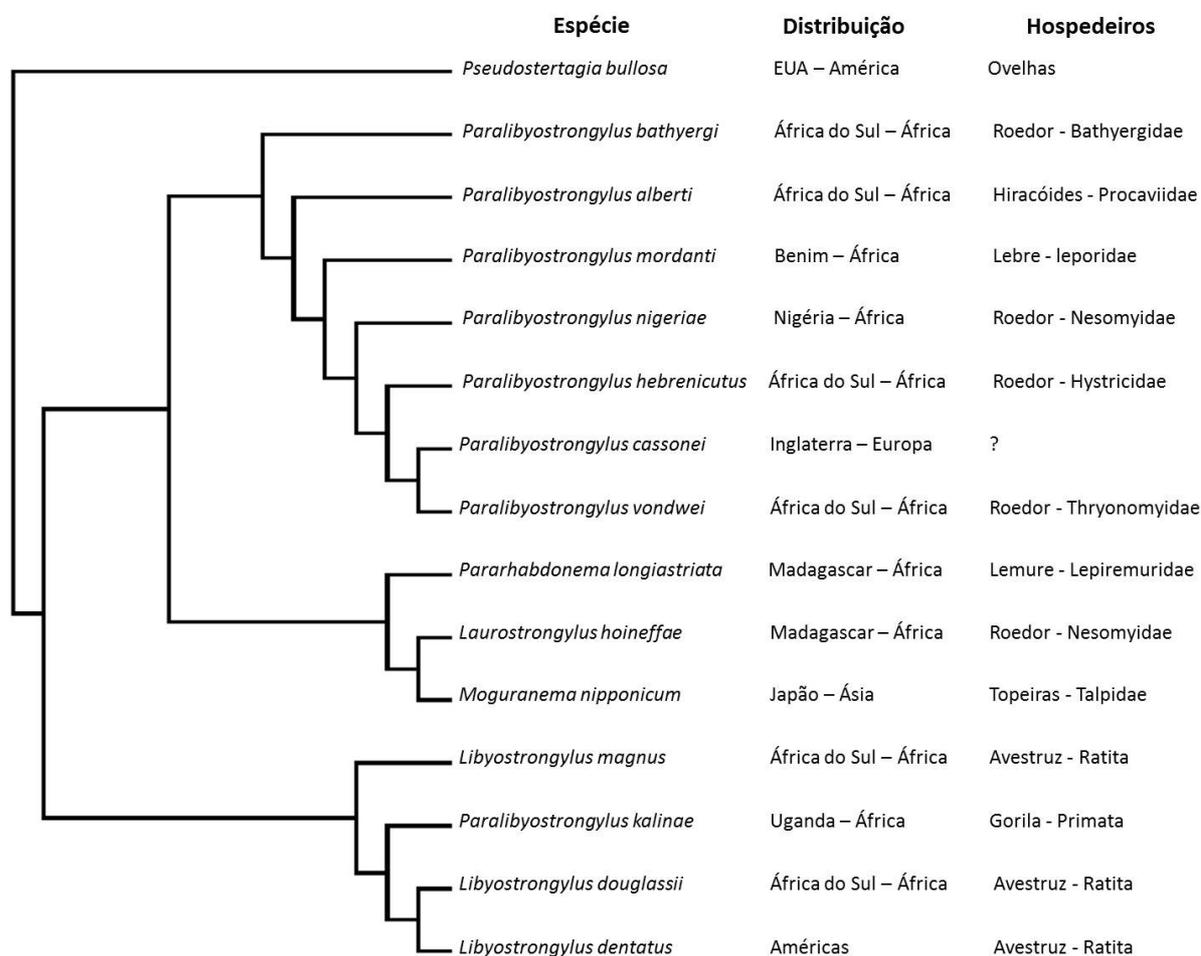


Figura 3.1. Cladograma mais parcimonioso (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostrongylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*), com a respectiva distribuição geográfica e hospedeiros.

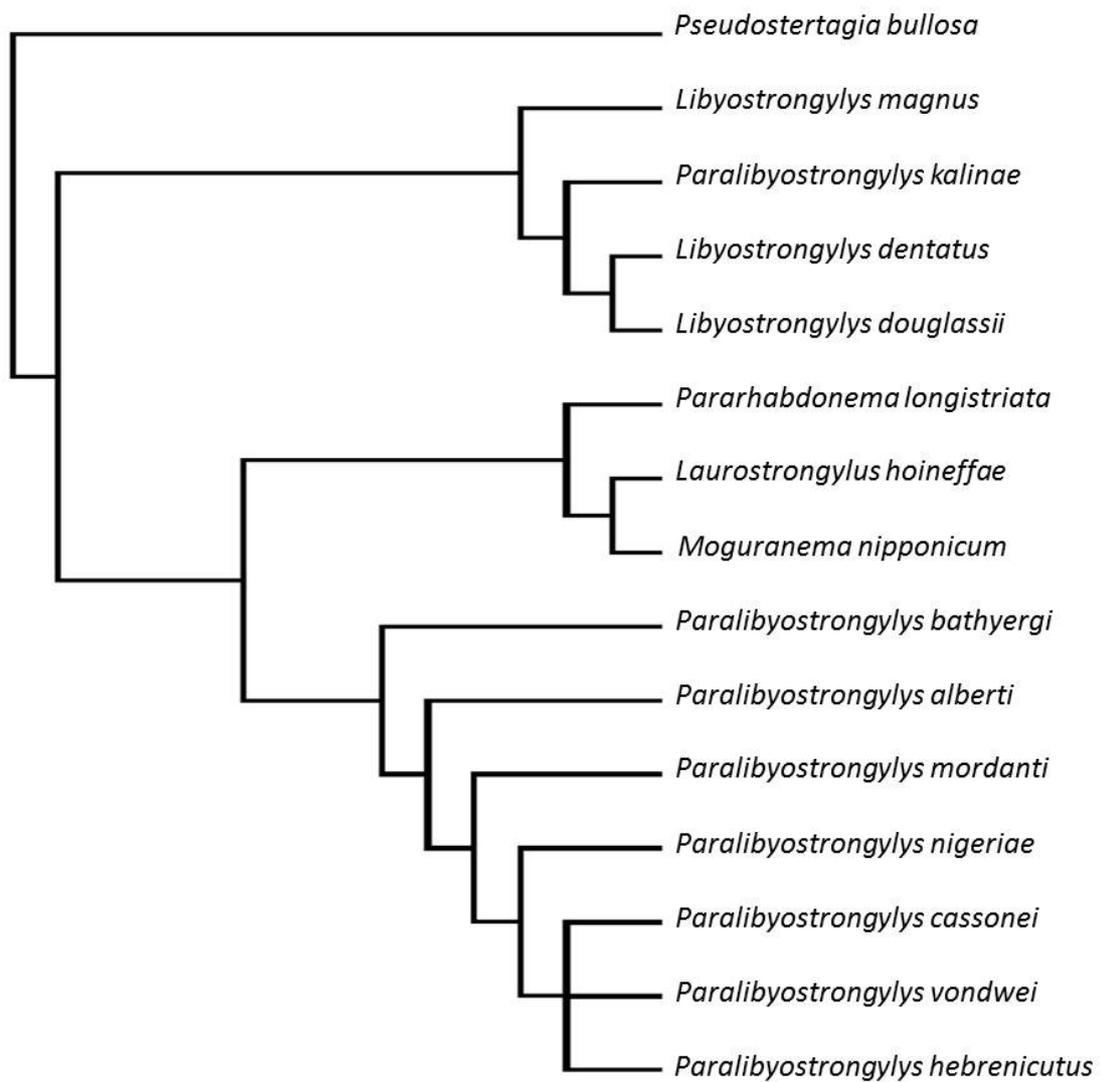


Figura 3.2. Cladograma 2 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostrongylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*).

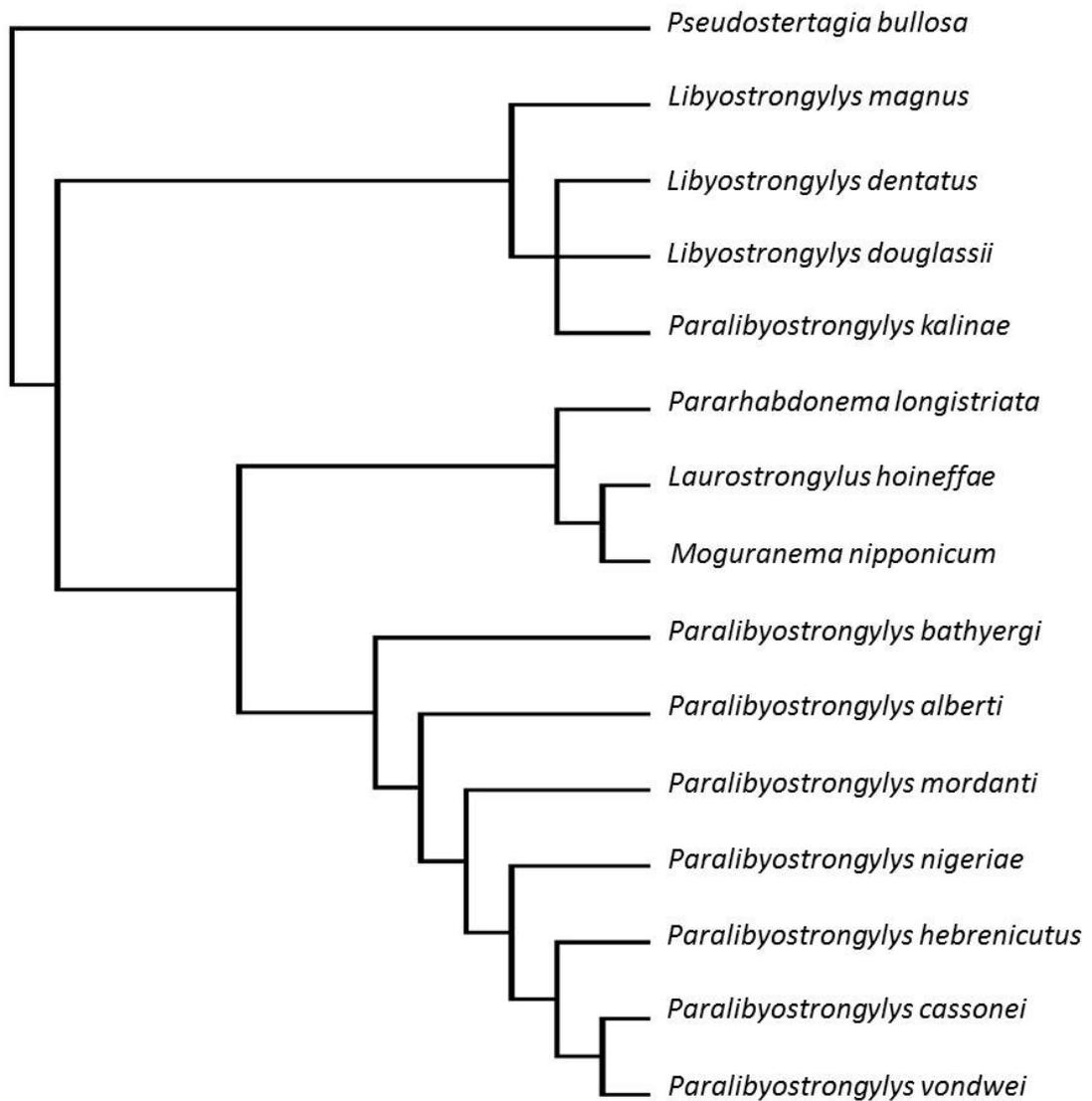


Figura 3.3. Cladograma 3 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostrongylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*).

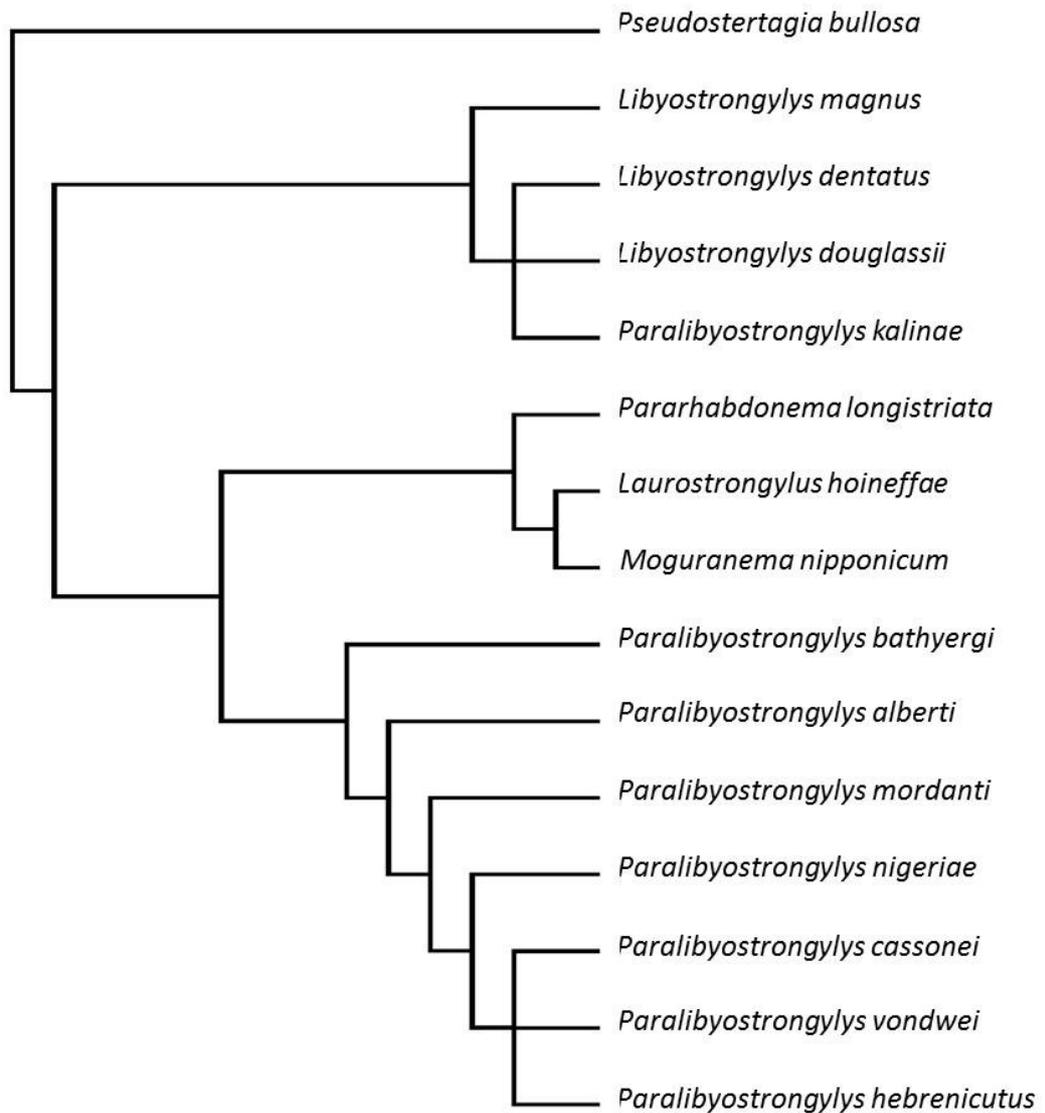


Figura 3.4. Cladograma 4 (19 passos, IC=0,7270, IH=0,2730, IR=0,7145, RC=0,5194) das 14 espécies analisadas da subfamília Libyostrongylinae e uma espécie de grupo externo (*Pseudostertagia bullosa*).

3.5. DISCUSSÃO

A análise filogenética de 15 caracteres morfológicos das 14 espécies da subfamília *Libyostrongylinae* revelou quatro árvores filogenéticas (Figuras 3.1 a 3.4), com a distinção de três clados em cada árvore. As árvores filogenéticas encontradas sugerem uma reclassificação das espécies da subfamília *Libyostrongylinae*. Esta hipótese foi fortemente suportada com um índice de consistência de 72,7%, com comprimento mínimo de 19 passos, indicando uma informação filogenética substancial no cladograma obtido, no entanto, o número de caracteres utilizados na presente análise foi pequeno, fazendo-se necessário, a redescrição de várias espécies da subfamília *Libyostrongylinae*, com o intuito de aumentar os caracteres para a realização de uma nova análise filogenética, com mais caracteres, detalhando assim, uma melhor relação entre as espécies.

Várias espécies da subfamília *Libyostrongylinae* necessitam de uma melhor caracterização morfológica, pois foram descritas com poucos detalhes, principalmente dos espécimes fêmeas. Entre as espécies, *Paralibyostrongylus vondwei*, *P. hebrenicutus*, *P. nigeriae*, *P. cassonei*, *P. alberti* e *Moguranema nipponicum* são as mais carentes de detalhes morfológicos, principalmente em relação ao aparelho reprodutor das fêmeas, bem como um estudo detalhado das estruturas da bolsa copuladora, como o cone genital e tipo da bolsa copuladora, conforme descrito na Figura 2.3, uma vez que as estruturas da bolsa copuladora e apêndices vulvares contribuíram significativamente para a classificação taxonômica das espécies de nematoides da Ordem Strongylida (CARTA et al., 2009; GIBBONS; KHALIL, 1983).

A análise filogenética preliminar permitiu a distinção de três clados: (a) *L. douglassii*, *L. magnus*, *L. dentatus* e *P. kalinae*; (b) *P. vondwei*, *P. cassonei*, *P. hebrenicutus*, *P. nigeriae*, *P. mordanti*, *P. alberti* e *P. bathyergi*; e (c) *M. nipponicum*, *L. hoineffae* e *P. longistriata*. Esta análise deve ser refeita utilizando-se mais caracteres morfológicos. Para tanto, várias espécies da subfamília *Libyostrongylinae* devem ser redescritas, com maior riqueza de caracteres. Gibbons e Khalil (1982) ao desenvolverem uma chave de identificação para os gêneros de nematoides da família *Trichostrongylidae*, através da reobservação de espécimes depositados em coleções helmintológicas, classificaram a subfamília *Libyostrongylinae* composta pelos gêneros *Libyostrongylus*, *Paralibyostrongylus* e

Cnizostrongylus. Os autores classificaram o gênero *Pararhabdonema* como incerto dentro da família Trichostrongylidae, no entanto, Durette-Desset et al. (1999) classificaram este mesmo gênero, ao lado de *Laurostrongylus* como pertencentes à subfamília Libyostrongylinae. Gibbons e Khalil (1982) na elaboração da chave de identificação genérica dos Trichostrongylidae, não examinaram espécimes do gênero *Moguranema*, sendo este não incluso na chave de identificação, embora este gênero já tenha sido citado como pertencente à subfamília. Durette-Desset et al. (1999) também não analisaram o gênero *Moguranema*, justificando que este gênero, composto por uma única espécie *M. nipponicum*, foi descrito com poucos detalhes de caracteres, no entanto a espécie foi redescrita em 1988 por Yokohata e colaboradores, porém ainda sem muitos detalhes das fêmeas, carecendo de imagens que descrevam a morfologia dos espécimes. Assim, nós incluímos a espécie em nossa análise filogenética, mesmo com poucos detalhes, a fim de elucidar sua classificação.

O gênero *Libyostrongylus* foi estabelecido por Lane (1923) para alguns Trichostrongylidae africanos, com *L. douglassii* como a espécie-tipo, parasita de avestruzes, anteriormente descrito como *Strongylus douglassii* por Cobbold (1882) e *L. hebreunicutus* Lane, 1923 em gorilas. Embora superficialmente semelhantes, estas espécies diferem na estrutura das bifurcações terminais do raio dorsal e no padrão dos raios laterais (raios 3-5) da bolsa copuladora. Por este motivo, Ortlepp (1939) estabeleceu um novo gênero, *Paralibyostrongylus*, nomeando *P. vondwei* Ortlepp, 1939 a espécie-tipo e transferindo *L. hebreunicutus* e *Obeliscoides nigeriae* para o novo gênero. Além destes *L. alberti* (BERGHE, 1936), *L. bathyergi* (ORTLEPP, 1939) foram originalmente descritos como espécies do gênero *Libyostrongylus* e posteriormente transferidos para o gênero *Paralibyostrongylus*. E apenas três das oito espécies do gênero *Paralibyostrongylus* foram descritas já como pertencentes a este gênero, sendo elas: *P. kalinae*, *P. mordanti* e *P. cassonei*. Além disto, Ortlepp (1939) também descreveu uma nova espécie de *Libyostrongylus*, *L. bathyergi*, separando-a do gênero *Paralibyostrongylus* com base no padrão do raio dorsal.

O gênero *Libyostrongylus* se distingue pelo raio dorsal que se divide anteriormente à origem do raio 9 e das bifurcações terminais (raios 10 e 11) (Figuras 3.5 A e 3.6 A, B, D, E, F) (Tabela 3.2), além da ponta dos raios látero-ventrais (raios 3) e raios externo-laterais (raio 4) que são próximos, e a ponta dos raios médio-

laterais (raios 5) que está mais próxima da ponta do raios póstero-laterais (raios 6) (Figura 3.5 B e 3.6 A, B e C) (Tabela 3.2). Em contraste, o gênero *Paralibyostrogylus* é caracterizado por ter raio dorsal em que o raio 9 surge anteriormente à divisão que termina nos raios 10 e 11 (Figuras 3.5 C e 3.6 C, G, I, L, M, N) (Tabela 3.2), e além disto, a ponta dos raios 4 está em proximidade com a ponta dos raios 5 (Figura 3.5 D e 3.6 E até O) (Tabela 3.2).

Skrjabin et al. (1960) utilizaram a estrutura das ramificações do raio dorsal como critério primário na separação dos gêneros *Libyostrogylus* e *Paralibyostrogylus*. No entanto, Chabaud (1959) e Le van Hoa (1959) consideraram o gênero como sinônimos. Esta teoria foi sustentada, pois várias espécies apresentam características intermediárias a *Libyostrogylus* e *Paralibyostrogylus*, como por exemplo, *L. alberti* e *L. bathyergi* (ORTLEPP, 1939) que apresentam raio dorsal do tipo *Libyostrogylus* e raios laterais do tipo *Paralibyostrogylus*. Outra espécie é *L. dentatus* que inversamente às espécies citadas acima, possui raio dorsal do tipo *Paralibyostrogylus* e raios laterais do tipo *Libyostrogylus* (HOBERG et al., 1995) (Tabela 3.2).

Puylaert (1967) desconsidera a estrutura do raio dorsal como um caractere diagnóstico ou filogenético devido à sua variação entre os Strongylida. Em vez disto, as diferenças genéricas foram baseadas na organização e posição dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora. Além disto, as três espécies do gênero *Libyostrogylus* são parasitas de avestruzes (ratitas), enquanto que *Paralibyostrogylus* são parasitas de mamíferos arcaicos, lagomorfos e primatas (DURETTE-DESSET et al., 1999). No entanto, a associação aos hospedeiros não é considerada um critério válido para distinção entre gêneros. Entre as espécies de *Paralibyostrogylus*, *P. kalinae* possui o padrão dos raios laterais atípico, onde os raios 3, 4 e 5 são equidistantes (Figura 3.6 D) (DURETTE-DESSET et al., 1992), sendo assim, não definido claramente como uma espécie do gênero. No presente estudo, foi realizado um ensaio preliminar das relações filogenéticas, sugerindo que, apesar de utilizar poucos caracteres morfológicos devido à falta de detalhamento em algumas descrições originais e de rescrições, *P. kalinae* seria classificado como uma espécie do gênero *Libyostrogylus*, concordando com o sistema com base na organização dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora. Além disto, a presença de dentes esofageais proeminentes também pode ser um caractere do gênero *Libyostrogylus* (Tabela 3.2), pois está presente em *L. douglassii*, *L. dentatus* e *P. kalinae*. A espécie *L.*

douglassii foi descrita originalmente como não possuindo dentes esofageais (COBBOLD, 1882), no entanto, Hoberg et al. (1995) ao analisarem espécimes desta espécie, descrevem a presença de pequenos dentes esofageais. Desta forma, assim como o ocorrido para *L. douglassii*, a não observação da presença dos dentes esofageais pode também ter ocorrido com *L. magnus*, uma vez que não há estudos posteriores à descrição original desta espécie. Estes fatos reforçam a necessidade de redescrever a morfologia e ultraestrutura das espécies da subfamília Libyostromylinae.

O sistema de classificação, baseado no padrão dos raios laterais foi utilizado por Durette-Desset e Chabaud (1977), ao estabelecer a subfamília Libyostromylinae, e por Durette-Desset (1983) em sua chave de identificação para os gêneros da família Trichostrongylidae. Em contraste a este sistema, a chave desenvolvida por Gibbons e Khalil (1982) baseou-se somente nos padrões de bifurcação do raio dorsal, para distinguir *Libyostromylus* de *Paralibyostromylus*. Assim, com base neste critério, *P. kalinae*, *P. alberti* e *P. bathyergi* deveriam ser classificados como membros do gênero *Libyostromylus* e *L. dentatus* deveria ser transferido para o gênero *Paralibyostromylus* (Tabela 3.2). Hoberg et al. (1995), ao descrever *L. dentatus* classificaram esta espécie como pertencente ao gênero *Libyostromylus*, porém sugerindo uma futura análise filogenética da subfamília Libyostromylinae, a fim de se determinar a correta classificação das espécies desta subfamília.

De acordo com a análise cladística realizada por Durette-Desset et al. (1999), a subfamília Libyostromylinae está incluída na família Cooperidae, juntamente com outras duas subfamílias, Cooperinae e Obeliscoidinae. O outgroup utilizado na análise filogenética do presente estudo foi um membro da subfamília Cooperinae, *Pseudostertagia bullosa*, parasita do estômago de ovelhas. Os membros da subfamília Libyostromylinae são parasitas de vertebrados etíopios arcaicos. Destacando-se como hospedeiros das espécies desta subfamília, as avestruzes para *Libyostromylus* spp., roedores para *Laurostrongylus* sp., lemúridos de Madagascar para *Pararhabdonema* e uma variedade de hospedeiros para as espécies de *Paralibyostromylus* incluindo roedores etíopios arcaicos (*Thryonomys*, *Bathyergus*, *Atherurus*), hiracoides, lagomorfos e primatas. Os hospedeiros para as espécies de Cooperinae são basicamente ruminantes (DURETTE-DESSET et al., 1999).

A história evolutiva dos Trichostrongyloidea pôde ser reconstruída em parte, a partir das espécies que são encontradas em espécies de hospedeiros remanescentes ou em hospedeiros que surgiram durante períodos geológicos remotos, e evoluíram muito pouco desde aquele tempo (DURETTE-DESSET et al. 1999). Os caracteres morfológicos primitivos destes parasitas sugerem que estes evoluíram vagorosamente ao longo do tempo. Na família Cooperidae encontram-se duas subfamílias arcaicas e uma moderna (DURETTE-DESSET et al. 1999). Entre os Libyostrongylinae, o gênero *Libyostrongylus*, parasita de avestruzes, sugere o surgimento ancestral desta subfamília na região da Etiópia. Essa hipótese também pode ser sustentada ao relato de que a maioria dos outros gêneros desta subfamília é parasita de lêmures ou roedores endêmicos de Madagascar, uma vez que estes hospedeiros podem ser considerados relictuais, antes da separação de Madagascar e África. O gênero *Paralibyostrongylus* é encontrado na África parasitando *Thryonomys*, *Bathyergus*, *Atherurus*, *Hyrax* e *Gorilla*. Estes hospedeiros não estão relacionados filogeneticamente, no entanto, eles evoluíram nesta área no período Oligoceno (DURETTE-DESSET et al. 1999).

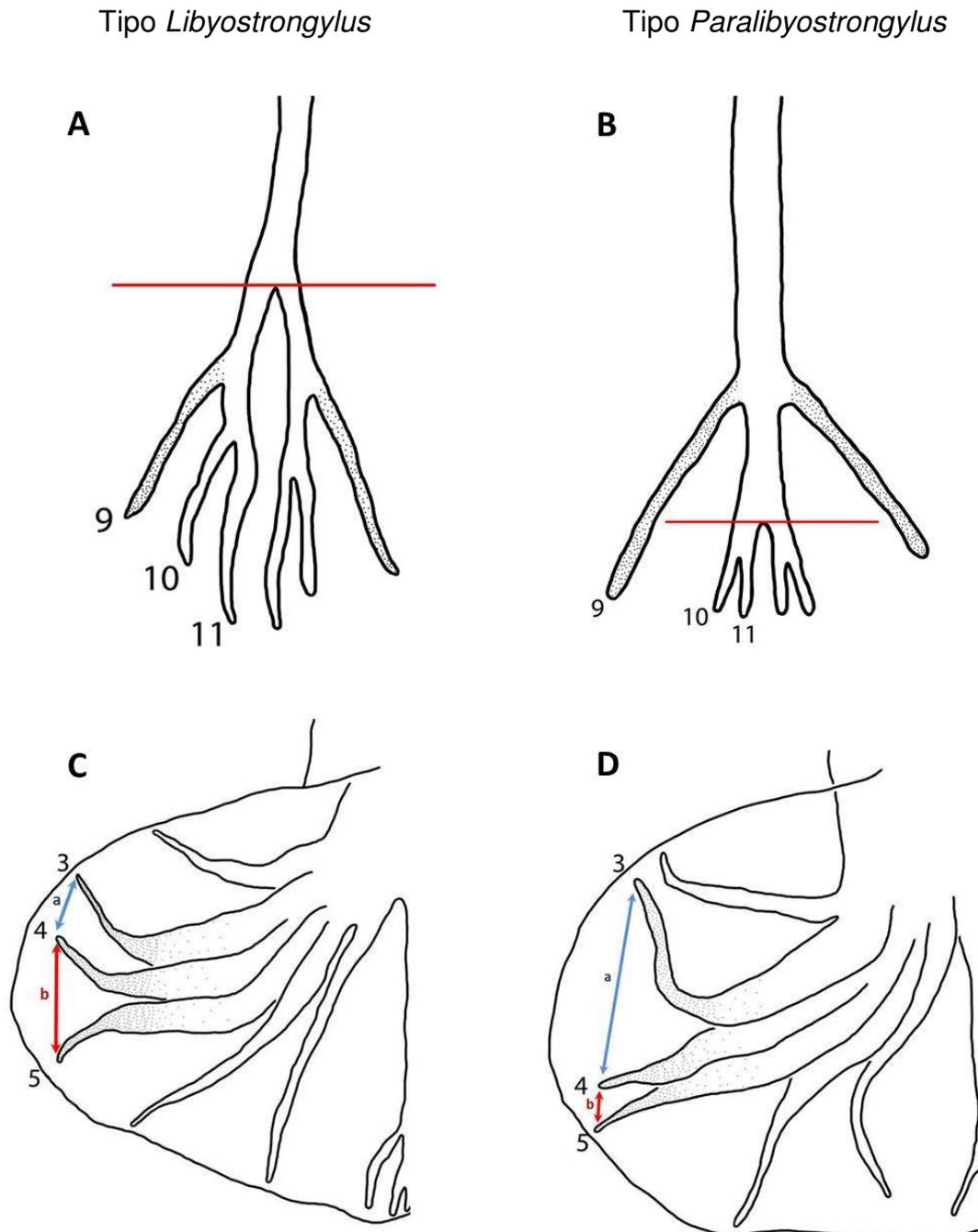


Figura 3.5. Esquemas da organização do raio dorsal (A-B) e raios 3 a 5 da bolsa copuladora (C-D). **A.** Raio dorsal do tipo *Libyostrongylus*. Raio se divide anteriormente à origem do raio 9 (traço) e das bifurcações terminais (raios 10 e 11); **B.** Raio dorsal do tipo *Paralibyostrongylus*. Raio 9 surge anteriormente à divisão que termina nos raios 10 e 11 (traço); **C.** Padrão dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora do tipo *Libyostrongylus*. Extremidade da ponta do raio 4 mais próxima à do raio 3 (a) do que do raio 5 (b); **D.** Padrão dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora do tipo *Paralibyostrongylus*. Extremidade da ponta do raio 4 mais próxima à do raio 5 (b) do que do raio 3 (a).

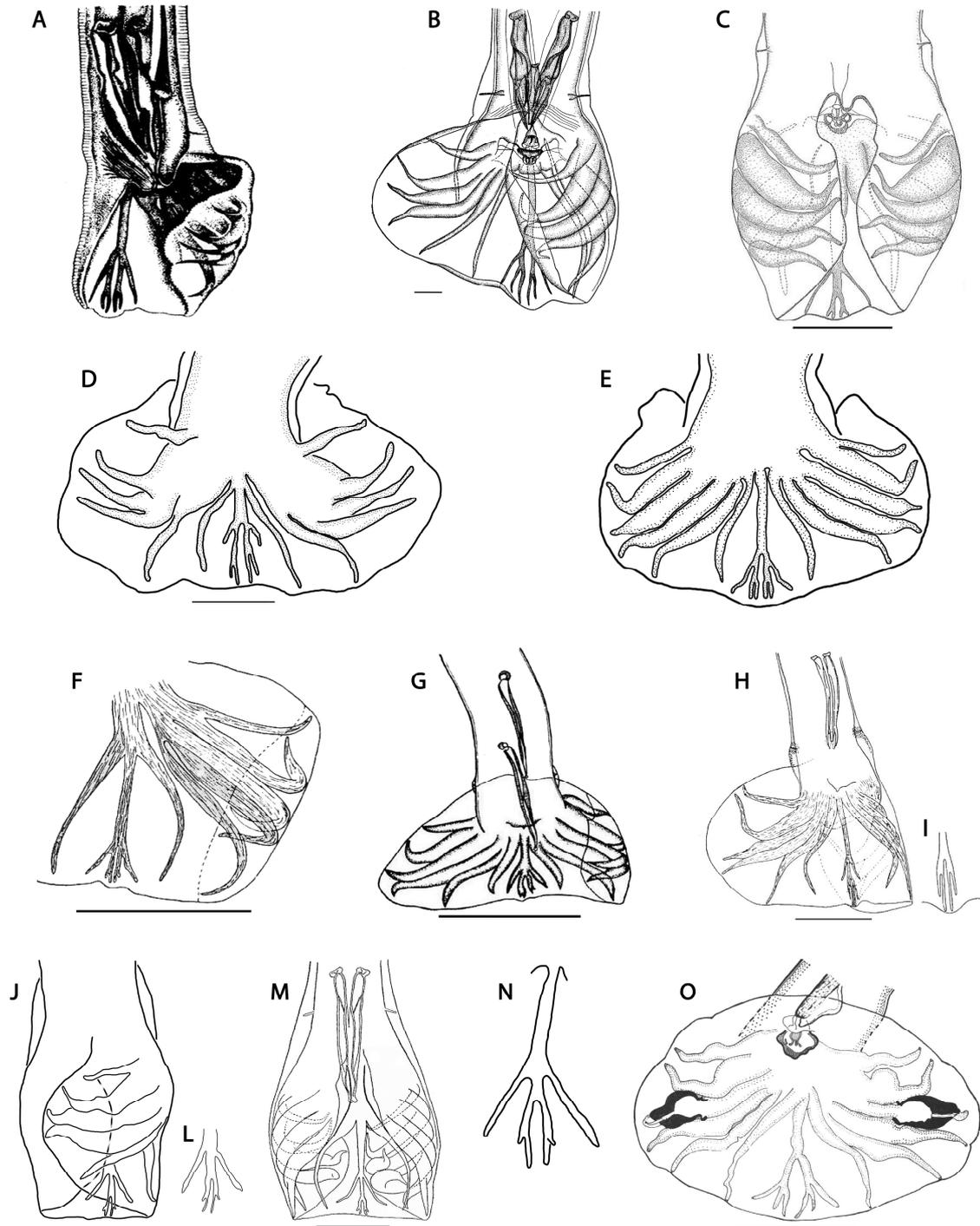


Figura 3.6. Estrutura dos raios da bolsa copuladora das espécies da subfamília Libyostromylinae. **A.** *Libyostromylus douglassii* (SKRJABIN, 1960); **B.** *L. magnus* (SKRJABIN, 1960) (Barra: 50 μ m); **C.** *L. dentatus* (HOBERG et al., 1995) (Barra: 100 μ m); **D.** *Paralibyostromylus kalinae* (redesenhado de DURETTE-DESSET et al., 1992) (Barra: 100 μ m); **E.** *P. alberti* (redesenhado de BERGHE, 1936); **F.** *P. bathyergi* (ORTLEPP, 1939) (Barra: 200 μ m); **G.** *P. mordantii* (LE VAN HOA, 1959) (Barra: 300 μ m); **H-I.** *P. vondwei* (ORTLEPP, 1939) (Barra: 200 μ m); **J-L.** *P. hebreanicutus* (LANE, 1923); **M.** *P. nigeriae* (BAYLIS, 1928) (Barra: 100 μ m); **N.** Raio dorsal de *P. cassonei* (DURETTE-DESSET; DENKE, 1978); **O.** *Cnizostromylus kleini* (CHABAUD et al., 1967) (Barra: 150 μ m).

Tabela 3.2. Comparação de alguns caracteres diagnósticos entre as espécies de *Libyostrongylus*, *Paralibyostrongylus* e *Cnizostrongylus*.

Espécies	Raio dorsal ¹	Raios laterais ²	Dentes
<i>Libyostrongylus</i>			
<i>L. douglassii</i> (Cobbold, 1882)	L	L	Presente
<i>L. magnus</i> Gilbert, 1937	L	L	Ausente
<i>L. dentatus</i> Hoberg et al., 1995	P	L	Presente
<i>Paralibyostrongylus</i>			
<i>P. vondwei</i> Ortlepp, 1939	P	P	Ausente
<i>P. alberti</i> (Berghe, 1936)	L	P	Ausente
<i>P. bathyergi</i> (Ortlepp, 1939)	L	P	Ausente
<i>P. cassonei</i> (Durette-Desset e Denke, 1978)	P	P	Ausente
<i>P. hebreunicutus</i> (Lane, 1923)	P	P	Ausente
<i>P. kalinae</i> Durette-Desset et al., 1992	L	P/L ³	Presente
<i>P. mordant</i> Le van Hoa, 1959	P	P	Ausente
<i>P. nigeriae</i> (Baylis, 1928)	P	P	Ausente
<i>Cnizostrongylus</i>			
<i>C. kleini</i> Chabaud et al., 1967	L	P	Presente

¹ L = tipo *Libyostrongylus* e P = tipo *Paralibyostrongylus*, de acordo com Ortlepp (1939) e Gibbons e Khalil (1982);

² L = tipo *Libyostrongylus* (raio 4 próximo ao raio 3) e P = tipo *Paralibyostrongylus* (raio 4 próximo ao raio 5), de acordo com Puylaert (1967) e Durette-Desset (1983)

³ Em *P. kalinae*, as figuras indicam que o raio 4 é equidistante aos raios 4 e 5, sendo assim, não é típico de *Libyostrongylus* nem de *Paralibyostrongylus* (ver DURETTE-DESSET et al., 1992).

3.6. CONCLUSÕES

- A diferenciação entre os gêneros *Libystrongylus* e *Paralibystrongylus* pode ser baseada na posição da extremidade distal dos raios 3 a 5 da bolsa copuladora e pela presença de dentes esofageais proeminentes;
- São necessárias redescrições mais detalhadas das espécies de nematoides da subfamília Libystrongylinae, com o intuito de obter mais detalhes morfológicos necessários para uma análise filogenética mais apurada desta subfamília, bem como a realização de análise filogenética baseada em dados moleculares.

3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G.; WILLMOTT, S. **Keys to the Nematode parasite of vertebrates. Archival Volume.** Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England. 463pp., 2009.
- BAYLIS, H.A. On a collection of nematodes from Nigerian mammals (chiefly rodents). **Parasitology.** v. 20, n. 3, p. 280-304, 1928.
- BERGHE, L. Exploration du Parc National Albert et du Parc National de la Kagera. Enquête Parasitologique II Helminthes parasites. **Institut des Parcs Nationaux du Congo Belge**, v. 2, p. 1-30, 1936.
- CARTA, L.K.; HANDOO, Z.A.; HOBERG, E.P.; ERBE, E.F.; WERGIN, W.P. Evaluation of some vulval apêndices in nematode taxonomy. **Comparative Paraitology**, v. 76, n. 2, p. 191-209, 2009.
- CHABAUD, A.G.; CHOQUET, M.T. Deux nematodes parasites de lemuriens. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee.** v. 30, n. 4, p. 329-338, 1955.
- CHABAUD A.G. Remarques sur la systematique des Nématodes Trichostrongyloidea. **Bulletin de la Société Zoologique de France**, v. 84, p. 473-483, 1959.
- CHABAUD, A.G.; DURETTE-DESSET, M.C.; HOUIN, R. Description de *Cnizostrongylus kleini* n. gen. n. sp. Trichostrongylide parasite d'un rongeur malgache. **Bulletin de la Société Zoologique de France.** V. 92, n. 1, p. 234-238, 1967.
- CHABAUD, A.G.; PUYLAERT, F.; BAIN, O.; PETTER, A.J.; DURETTE-DESSET, M.C. Remarques sur l'homologie entre les papilles cloacales des Rhabdites et les côtes dorsales des Strongylida. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences (Paris)**, v. 271, p. 1771-1774, 1970.
- COBBOLD, T.S. New entozoon from the ostriches. **Journal of the Linnean Society.** v. 16, p. 184-188. 1882.
- CRAM, E. Bird parasites of the nematode suborders Strongylata, Ascaridata, and Spirurata. **United States National Museum Bulletin**, v. 140, p. 1-465, 1923.
- DURETTE-DESSET, M.C.; CHABAUD, A.G. Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 52, p. 539-558, 1977.

- DURETTE-DESSET, M.C.; DENKE, M.A. Description de nouveaux nematodes parasites dun lievre African et complements à letude morphologique de quelques Trichostrongyles. **Bulletin Museum National d'Historie Naturales**, v. 354, p. 331-347, 1978.
- DURETTE-DESSET, M.C.; CHABAUD, A.G. Nouvel essai de classification des Nemátodes Trichostrongyloidea. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 56, p. 297-312, 1981.
- DURETTE-DESSET, M.C. **Keys to the genera of the superfamily Trichostrongyloidea**. In: ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G. CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates. Commomwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England. p. 1-86, 1983.
- DURETTE-DESSET, M.C. Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. **Advances in Parasitology**, v. 24, p. 239-306, 1985.
- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G. *Laurostrongylus hoineffae* n. gen., n. sp., a relict Trichostrongylid from an endemic Madagascar rodent. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 87, p. 91-94, 1992.
- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G.; ASHFORD, R.W.; BUTYNSKI, T.; REID, G.D.F Two new species of the Trichostrongylidae (Nematoda: Trichostrongyloidea), parasitic in *Gorilla gorilla beringei* in Uganda. **Systematic Parasitology**. v. 23, p. 159-166, 1992.
- DURETTE-DESSET, M.C.; HUGOT, J.P.; DARLU, P.; CHABAUD, A.G. A cladistics analysis of the Trichostrongyloidea (Nematoda). **International Journal of Parasitology**, v. 29, p. 1065-1086, 1999.
- EDERLI, N.B.; BONADIMAN, S.F.; MORAES NETO, A.H.A.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P. Mixed infection by *Libyostrongylus douglassii* and *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) in *Struthio camelus* (Ratites: Struthioniformes) from Brazil with further morphological characterization of adults. **Veterinary Parasitology**. v. 151, n. 2-4, p. 227-232, 2008c.
- GIBBONS, L.M.; KHALIL, L.F. A key for the identification of genera of the nematode Family Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Journal of Helminthology**, v. 56, p. 185-233, 1982.

- GIBBONS, L.M.; KHALIL, L.F. Morphology of the genital cone in the nematode family Trichostrongylidae and its value as a taxonomic character. *In*: STONE, A.R.; PLATT, H.M.; KHALIL, L.F. **Concepts of nematode systematics. Systematics Association Special Volume 22**, Academic Press, London, United Kingdom, p. 261-271, 1983.
- GOLOBOFF, P.; FARRIS, J.; NIXON, K. TNT, a free program for phylogenetic analysis. **Cladistics**. v. 24, p. 774-786, 2008.
- HOBERG, E.P.; LICHTENFELS, J.R. Phylogenetic systematic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. **Journal of Parasitology**, v. 80, n. 6, p. 976-996, 1994.
- HOBERG, E.P.; LLOYD, S.; OMAR, H. *Libyostrongylus dentatus* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) from ostriches in North America, with comments on the genera *Libyostrongylus* and *Paralibyostrongylus*. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 85-93, 1995.
- LANE, C. Some Strongylata. **Parasitology**. v. 15, p. 346-364. 1923.
- LE VAN HOA. Un nouveau Trichostrongylidae de lièvre africain. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 33, p. 625-630, 1959.
- LEIPER, R.T. Check-list of helminthes parasitic in cattle. **Journal of the London School of Hygiene and Tropical Medicine**, v. 1, p. 115-123, 1912.
- LICHTENFELS, J.R. Phylogenetic inference from adult morphology in the Nematoda; with emphasis on the bursate nematodes, the Strongylida; advancements (1982-1985) and recommendations for further work. **International Journal for Parasitology**, v. 17, p. 269-279, 1987.
- LICHTENFELS, J.R.; HOBERG, E.P. The systematics of nematodes that cause ostertagiasis in domestic and wild ruminants in North America: an update and a key to species. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 33-53, 1993.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D.R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.73. <http://mesquiteproject.org>. 2010.
- ORTLEPP, R.J. South African helminthes, Part VI. Some helminthes, chiefly from rodents. **Onderstepoort Journal of Veterinary Sciences and Animal Industry**. v. 12, p. 75-101. 1939.

- PUYLAERT, F. L'Athéruee hôte naturel de *Paralibyostrogylus hebreunicus* (Lane, 1923). Considérations sur les genres *Libyostrogylus* et *Paralibyostrogylus* (Nématodes). **Bulletin du Muséum National d'Histoire naturelle**, v. 38, p. 921-927, 1967.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3ª ed. Editora da UFMG: Belo Horizonte, 2007, 265pp.
- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.P.; SHULTS, R.S. **Essentials of nematology III. Trichostrongyloids of animals and man**. English Translation by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 704pp., 1960.
- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.P.; SHULTS, R.S.; POPOVA, T.I.; BOEV, S.N.; DELIAMURE, S.L. **Keys to the parasitic nematodes III. Strongylata**. Moscow, Academy of Sciences USSR. English Translation by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 890pp., 1961.
- SWOFFORD, D.L. **PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2003.
- TRAVASSOS, L. Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Monographias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 1-512, 1937.
- YOKOHATA, Y.; ABE, H.; KAMIYA, H. Redescription and multivariate morphometrics of *Moguranema nipponicum*, Yamaguti, 1941. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 3-4, p. 223-233, 1988.

3. CONCLUSÕES GERAIS

- Nematoides do gênero *Libyostrongylus* estão amplamente distribuídos no rebanho de avestruzes do Estado do Rio de Janeiro, enquanto que *Codiostomum struthionis* só tem sido encontrado nas mesorregiões da Baixada Litorânea, Sul Fluminense e Metropolitana;
- *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus* possuem localização distinta no proventrículo das avestruzes, o que permite o correto diagnóstico destas espécies através da necropsia;
- É possível a identificação das três espécies de nematoides que acometem o rebanho de avestruzes no Brasil através da observação da morfologia das larvas infectantes, bem como a observação dos vermes adultos, coletados durante a necropsia;
- Infecções por *Deletrocephalus dimidiatus* e *Sicarius uncinipenis* estão presentes em um criatório de emas no município de Cachoeiro do Itapemirim, no Estado do Espírito Santo;
- *Codiostomum struthionis* é responsável por lesões nos cecos das avestruzes;
- *Sicarius uncinipenis*, em grandes cargas parasitárias, pode causar graves lesões nas moelas das emas, podendo levar ao óbito, bem como contribuir nos casos de impactação do conteúdo da moela, comum nestas aves;
- Faz-se necessário a redescrição da morfologia das espécies classificadas na subfamília Libyostrongylinae, com o intuito de realizar uma análise filogenética mais detalhada, utilizando-se maior número de caracteres morfológicos, e se possível, através de dados genéticos destas espécies.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A revisão da morfologia das espécies de parasitas encontradas nas emas gerou informações básicas, de extrema importância para os estudos na área, principalmente nas análises de filogenia baseadas nos caracteres morfológicos, que em combinação com a distribuição geográfica e especificidade de hospedeiro, entre outros fatores, vêm contribuindo para o conhecimento da história evolutiva dos organismos.
- A análise das relações filogenéticas das espécies da subfamília *Libyostrongylinae*, irá contribuir para a revisão da sistemática desses organismos, permitindo um melhor conhecimento da fauna atual e ancestral. Além da filogenia com base em caracteres morfológicos, pretende-se desenvolver a análise filogenética com base nas sequências de DNA das espécies da subfamília *Libyostrongylinae*, a fim de uma melhor caracterização sistemática destes parasitos.
- As chaves de identificação são ferramentas de extrema importância nos estudos de parasitologia. Portanto, pretendemos elaborar o mesmo procedimento realizado nesta pesquisa, com as espécies encontradas nas emas, com o intuito de facilitar o diagnóstico específico, além de elaborar uma chave de identificação para as 14 espécies da subfamília *Libyostrongylinae*;
- Com a introdução das avestruzes e emús no Brasil, sendo muitas vezes criadas próximas às emas, uma ave autóctone do país, pretendemos estudar a possibilidade de infecção cruzada entre as espécies de parasitas que ocorrem nestas ratitas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- ABRACE. **Associação Brasileira dos Criadores de Emas**. Disponível em: <http://www.abrace-emas.com.br>. Acesso em: junho de 2008.
- ACAB **Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil**. Disponível em: <http://www.acab.org.br>. Acesso em: Dezembro de 2007.
- ACOMOLLI, J.; OCAYO, D.; CRUZ, A.C.S.; MILANO, F.; ROUX, J.P. Aspectos morfológicos de *Paradeletrocephalus minor* (Molin, 1861) Freitas & Lent, 1947, em ñandu (*Rhea americana*), por médio de microscopio de luz y microscópio eletrônico de barrido, **Parasitologia Latinoamericana**. v. 61,n. 3-4, p. 183-187, 2006.
- AICHINGER, A., MARTINS, N.R., SOUZA, J.D., RESENDE, J.S., MUNIZ, R., FERREIRA, W.M. O avestruz no Brasil e no mundo. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, v. 27, n. 5, p. 36-39, 2007.
- AMATO, J.F.R.; BOEGER, W.A.; AMATO, S.B. **Protocolos para laboratório – Coleta e processamento de parasitos de pescado**. 1 ed., Imprensa Universitária, Seropédica. 81 pp., 1991.
- ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G.; WILLMOTT, S. **Keys to the Nematode parasite of vertebrates. Archival Volume**. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England. 463pp., 2009.
- ANDRADE, J.G.; LELIS, R.T.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P. Occurrence of nematodes and anthelmintic management of ostrich farms from different Brazilian states: *Libyostrongylus douglassii* dominates mixed infections. **Veterinary Parasitology**. v. 178, p. 129-133, 2011.
- BARTON, N.J.; SEWARD, D.A. Detection of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 1, p. 31-32, 1993.
- BAYLIS, H.A. On a collection of nematodes from Nigerian mammals (chiefly rodents). **Parasitology**. v. 20, n. 3, p. 280-304, 1928.
- BERGHE, L. Exploration du Parc National Albert et du Parc National de la Kagera. Enquête Parasitologique II Helminthes parasites. **Institut des Parcs Nationaux du Congo Belge**, v. 2, p. 1-30, 1936.

- BLACK, D. Ostrich flock health. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. v. 10, p. 117-130. 2001.
- BONADIMAN, S.F.; EDERLI, N.B.; SOARES, A.K.P.; MORAES NETO, A.H.A.; SANTOS, C.P.; DAMATTA, R.A. Occurrence of *Libyostrongylus* sp. (Nematoda) in ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) from the north region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1-2, p. 175-179, 2006.
- BRENER, B.; TORTELLY, R.; MUNIZ-PEREIRA, L.C.; PINTO, R.M. *Cheilospirura hamulosa* (Diesing, 1851) (Nematoda, Acuarioidea) in turkeys in Brazil: occurrence and pathology. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 58, n. 2, p. 287-290, 2006.
- BUTTON, N.J.; BARTON, N.J.; VEALE, P.I.; OVEREND, D.J. A survey of *Libyostrongylus douglassii* on ostriches farms in Eastern Victoria. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 2, p. 76, 1996.
- CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Artmed: Porto Alegre, 1998. pp. 285.
- CARTA, L.K.; HANDOO, Z.A.; HOBERG, E.P.; ERBE, E.F.; WERGIN, W.P. Evaluation of some vulval apêndices in nematode taxonomy. **Comparative Paraitology**, v. 76, n. 2, p. 191-209, 2009.
- CARRER, C.C., KORNFELD, M.E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Editora do Brasil: Pirassununga. 1999. 304 p.
- CHABAUD, A.G.; CHOQUET, M.T. Deux nematodes parasites de lemuriens. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee**. v. 30, n. 4, p. 329-338, 1955.
- CHABAUD A.G. Remarques sur la systematique des Nématodes Trichostrongyloidea. **Bulletin de la Société Zoologique de France**, v. 84, p. 473-483, 1959.
- CHABAUD, A.G.; DURETTE-DESSET, M.C.; HOUIN, R. Description de *Cnizostrongylus kleini* n. gen. n. sp. Trichostrongylide parasite d'un rongeur malgache. **Bulletin de la Société Zoologique de France**. V. 92, n. 1, p. 234-238, 1967.
- CHABAUD, A.G.; PUYLAERT, F.; BAIN, O.; PETTER, A.J.; DURETTE-DESSET, M.C. Remarques sur l'homologie entre les papilles cloacales des Rhabdites et les côtes dorsales des Strongylida. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences (Paris)**, v. 271, p. 1771-1774, 1970.

- COBBOLD, T.S. New entozoon from the ostriches. **Journal of the Linnean Society**. v. 16, p. 184-188. 1882.
- COOPER, R.G. Bacterial, fungal and parasitic infections in the ostrich (*Struthio camelus* var. *domesticus*). **Animal Science Journal**, v. 76, n. 2, p. 97-106, 2005.
- CRAIG, T.M.; DIAMOND, P.L. Parasites of ratites. In: TULLY, T.N., SHANE, S.N., (Eds), **Ratite management, Medicine and Surgery**. Kreiger Publishing Company, Florida, pp. 115-126, 1996.
- CRAM, E. Bird parasites of the nematode suborders Strongylata, Ascaridata, and Spirurata. **United States National Museum Bulletin**, v. 140, p. 1-465, 1923.
- DHITTON, A.S. Histomoniasis in a captive great rhea (*Rhea Americana*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 19, n. 3, p. 274, 1983.
- DURETTE-DESSET, M.C.; CHABAUD, A.G. Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 52, p. 539-558, 1977.
- DURETTE-DESSET, M.C.; DENKE, M.A. Description de nouveaux nematodes parasites dun lievre African et complements à letude morphologique de quelques Trichostrongyles. **Bulletin Museum National d'Historie Natureles**, v. 354, p. 331-347, 1978.
- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G. Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**. v. 56, p. 539-558. 1981.
- DURETTE-DESSET, M.C. **Keys to the genera of the superfamily Trichostrongyloidea**. In: ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G. CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England. p. 1-86, 1983.
- DURETTE-DESSET, M.C. Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. **Advances in Parasitology**, v. 24, p. 239-306, 1985.
- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G. *Laurostrongylus hoineffae* n. gen., n. sp., a relict Trichostrongylid from an endemic Madagascar rodent. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 87, p. 91-94, 1992.

- DURETTE-DESSET, M.C., CHABAUD, A.G.; ASHFORD, R.W.; BUTYNSKI, T.; REID, G.D.F. Two new species of the Trichostrongylidae (Nematoda: Trichostrongyloidea), parasitic in *Gorilla gorilla beringei* in Uganda. **Systematic Parasitology**. v. 23, p. 159-166, 1992.
- DURETTE-DESSET, M.C., HUGOT, J.P.; DARLU, P.; CHABAUD, A.G. A cladistic analysis of the Trichostrongyloidea (Nematoda). **International Journal for Parasitology**.v. 29, p. 1065–1086, 1999.
- EDERLI, N.B. Diagnóstico e caracterização morfológica de *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) em avestruzes das regiões Norte e Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro. (Monografia) Ciências Biológicas. **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)**, Centro de Biociências e Biotecnologia, Campos dos Goytacazes, RJ. 61p. 2006.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R. *Balantidium* sp. in ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, *In Press*. 2008.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G.; RODRIGUES, M.L.A. Further study of *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) parasite of ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) (Aves, Struthioniformes). **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 3-4, p. 275-283, 2008a.
- EDERLI, N.B.; OLIVEIRA, F.C.R.; LOPES, C.W.G.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P.; RODRIGUES, M.L.A. Morphological diagnosis of infective larvae of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda, Trichostrongylidae) of ostriches. **Veterinary Parasitology**, v. 155, n. 3-4, p. 323, 327, 2008b.
- EDERLI, N.B.; BONADIMAN, S.F.; MORAES NETO, A.H.A.; DAMATTA, R.A.; SANTOS, C.P. Mixed infection by *Libyostrongylus douglassii* and *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) in *Struthio camelus* (Ratites: Struthioniformes) from Brazil with further morphological characterization of adults. **Veterinary Parasitology**. v. 151, n. 2-4, p. 227-232, 2008c.

- FAGUNDES T.F.; SOLEIRO, C.A.; MENEZES, R.C.A.A. The occurrence of *Codiostomum struthionis* in ostriches (*Struthio camelus*) of different ages and during the dry and rainy seasons at two farms in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 183, 269-273, 2012.
- EWING, M.L.; YONZON, M.E.; PAGE, R.K.; BROWN, T.P.; DAVIDSON, W.R. *Deletrocephalus dimidiatus* infestation in an adult rhea (*Pterocnemia pennata*). **Avian Diseases**, v. 39, p. 441-443, 1995.
- FOCKEMA, A.; MALAN, F.S.; COOPER, G.G.; VISSER, E. Anthelmintic efficacy of fembendazole against *Libyostrongylus douglassii* and *Houttuynia struthionis* in ostriches. **Journal of South African Veterinary Association**. v. 56, p. 47-48, 1985.
- FOREYT, W.J. Parasitas de ratitas. **Parasitologia Veterinária – Manual de Referência**. 5ed. Roca, São Paulo. p. 181-184, 2005.
- FOWLER, M.E. Comparative clinical anatomy of ratites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 22, n. 1, p. 204. 1991.
- FREITAS, J.F.T.; LENT, H. Revisão da subfamília Deletrocephalinae Railliet, 1916 (Nematoda, Strongyloidea). **Revista Brasileira de Biologia**. v. 7, n. 1, p. 73-100, 1947a).
- FREITAS, J.F.T.; LENT, H. “Spiruroidea” parasitos de “Rheiformes” (Nematoda). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 45, n. 4, p. 743-779, 1947b.
- GIANNONI, M., L. **Emas e Avestruzes – uma alternativa para o produtor rural**. Funep, Jaboticabal. 49 pp., 1996.
- GIBBONS, L.M.; KHALIL, L.F. A key for the identification of genera of the nematode Family Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Journal of Helminthology**, v. 56, p. 185-233, 1982.
- GIBBONS, L.M.; KHALIL, L.F. Morphology of the genital cone in the nematode family Trichostrongylidae and its value as a taxonomic character. *In*: STONE, A.R.; PLATT, H.M.; KHALIL, L.F. **Concepts of nematode systematics. Systematics Association Special Volume 22**, Academic Press, London, United Kingdom, p. 261-271, 1983.
- GILBERT, L.I. New nematode *Libyostrongylus magnus*, n. sp., parasitic in an African ostrich. In Papers on helminthology, 30 year jubilee (K.J. Skrjabin, ed.). **Lenin Academy of Agricultural Science**, Moscow, 180-182. 1937.

- GIOSSA, G.; TRENCHI, H.; CASTRO-RAMOS, M.; MORGADES, D.; DOUZA, G.; CASTRO, O.; CASAS, L.; SALAZAR, M.; PERDOMO, L.; VENZAL, J. Hallazgos bacteriológicos y parasitológicos em uma faena de ñandu (*Rhea americana*). **Veterinaria**, v. 39, n. 154, p. 11-16, 2004.
- GORDON, N.M.; WITHLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Scientific Industry Research Australia**. v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939
- GOLOBOFF, P.; FARRIS, J.; NIXON, K. TNT, a free program for phylogenetic analysis. **Cladistics**. v. 24, p. 774-786, 2008.
- HOBERG, E.P.; LICHTENFELS, J.R. Phylogenetic systematic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. **Journal of Parasitology**, v. 80, n. 6, p. 976-996, 1994.
- HOBERG, E.P.; LLOYD, S.; OMAR, H. *Libyostrongylus dentatus* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) from ostriches in North America, with comments on the genera *Libyostrongylus* and *Paralibyostrongylus*. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 85-93, 1995.
- HOSKEN, F.M.; SILVEIRA, A.C. **Criação de emas**. Aprenda Fácil, Viçosa. 366pp. 2003.
- HUCHZERMEYER, F.W. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**. v. 21, p. 265-276. 2002.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Funep, Jaboticabal. 392pp., 2005.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. <http://www.ibama.gov.br> Acesso em: Dezembro de 2011.
- JANSSON, D.S.; CHRISTENSSON, D. Gastrointestinala parasiter hos strutsfåglar i Sverige. **Svensk Veterinär Tidning**. v. 52, p. 621-626, 2000.
- JANSSON, D.S., CHRISTENSSON, D.A., CHRISTENSSON, B.E. Winter survival in Sweden of L₃-stage larvae of the ostrich wireworm *Libyostrongylus douglassii*. **Veterinary Parasitology**. v. 106, p. 69-74. 2002.
- LANE, C. Some Strongylata. **Parasitology**. v. 15, p. 346-364. 1923.
- LE VAN HOA. Un nouveau Trichostrongylidae de lièvre africain. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 33, p. 625-630, 1959.

- LEIPER, R.T. Check-list of helminthes parasitic in cattle. **Journal of the London School of Hygiene and Tropical Medicine**, v. 1, p. 115-123, 1912.
- LICHTENFELS, J.R. Phylogenetic inference from adult morphology in the Nematoda; with emphasis on the bursate nematodes, the Strongylida; advancements (1982-1985) and recommendations for further work. **International Journal for Parasitology**, v. 17, p. 269-279, 1987.
- LICHTENFELS, J.R.; HOBERG, E.P. The systematics of nematodes that cause ostertagiasis in domestic and wild ruminants in North America: an update and a key to species. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 33-53, 1993.
- LICHTENFELS, J.R. (1980). Keys to the genera of the Superfamily Strongyloidea. *In*: Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Willmott, S. (eds.). **CIH Key to the nematode parasites of vertebrates**. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks. 1980. p. 1-41.
- MACKERETH, G. *Libyostrongylus douglassii* in New Zealand ostriches. **Surveillance**. v. 31, n. 3, p. 14-16, 2004.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D.R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.73. <http://mesquiteproject.org>. 2010.
- MALAN, F.S.; GRUSS, B.; ROPER, N.A., ASHBURNER, A.J.; DUPLESIS, C.A. Resistance of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches to levamisole. **Journal of the South African Veterinary Association**. v. 59, p. 202-203, 1988.
- MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: novembro de 2008.
- MAPLESTONE, P.A. Parasitic nematodes obtained from animals dying in the Calcutta zoological gardens. **Records of the Indian Museum**. V. 34, p. 229-261, 1932.
- MCKENNA, P.B. *Libyostrongylus* infections in ostriches – a brief review with particular reference to their detection in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, n. 5, p. 267-270, 2005.
- MENEZES, R.C.; TORTELLY, R.; GOMES, D.C.; PINTO, R.M. Pathology and frequency of *Cheilospirura hamulosa* (Nematoda, Acuarioidea) in Galliformes hosts from backyard flocks. **Avian Pathology**. v. 32, p. 151-156, 2003.

- MONTEIRO, S.G.; FLORES, M.L.; SEGABINAZI, S.D.; LAGAGGIO, V.R.A. Ocorrência de *Deletrocephalus dimidiatus* (Diesing, 1851) Nematoda em emas (*Rhea americana*) criada em cativeiro no RS. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 9, n. 1, p. 100-103, 2002.
- MORE, S.J. The performance of farmed ostriches hens in eastern Australia. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 29, p. 107-120, 1996.
- MUKARATIRWA, Z.M.; CINDZI.; MAONONGA, D.B. Prevalence of *Libyostrongylus douglassii* in commercially reared ostriches in the highveld region of Zimbabwe. **Journal of Helminthology**, v. 78, n. 4, p. 333-336, 2004.
- O'CALLAGHAN, M. G., DAVIES, M.; ANDREWS, R. H. Species of *Raillietina* Fuhrmann, 1920 (Cestoda: Davaineidae) from the emu, *Dromaius novaehollandiae*. **Transactions of the Royal Society of South Australia**. v. 124, n. 2, p. 105-116, 2000.
- OLIVEIRA, F.C.R.; EDERLI, N.B.; EDERLI, B.B.; ALBUQUERQUE, M.C.; SANTOS, M.D. Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* Spp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) em avestruzes, *Struthio camelus* L., 1758 (Aves, Struthionidae) criadas nas regiões norte e baixada litorânea do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 17, p. 322-325, 2008.
- OLIVEIRA, F.C.R.; EDERLI, N.B.; LOPES, C.W.G.; RODRIGUES, M.L.A. Pathological findings in the caeca of naturally infected ostriches, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) parasitized by *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae). **Veterinary Parasitology**. v. 165, p. 178-178, 2009.
- ORTLEPP, R.J. South African helminthes, Part VI. Some helminthes, chiefly from rodents. **Onderstepoort Journal of Veterinary Sciences and Animal Industry**. v. 12, p. 75-101. 1939.
- PENNYCOTT, T; PATTERSON, T. Gastrointestinal parasites of ostriches (*Struthio camelus*). **Veterinary Record**. v. 148, p. 155-156, 2001.
- PINTORI, A.; SCALA, A.; GIANNETTO, S.; MASCIA, M.; DE ROSA, R. Parasitoses of ostriches (*Struthio camelus*) in Sardinia (Italy). **Acta Parasitologica**, v. 45, p. 164, 2000.

- PONCE GORDO, F.P.; HERRERA, S.; CASTRO, A.T.; DURÁN, B.G.; DÍAZ, R.A.M. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 1-2, p. 137-160, 2002.
- POPOVA, T.I.. **Essential of nematodology, volume V: Strongyloids of animals and man (Strongylidae)**. U.S. Department of Agriculture and National Sciences Foundation: Washington, DC, 1955, 236 pp.
- PUYLAERT, F. L'Athéruee hôte naturel de *Paralibyostrongylus hebreanicus* (Lane, 1923). Considérations sur les genres *Libyostrongylus* et *Paralibyostrongylus* (Nématodes). **Bulletin du Muséum National d'Histoire naturelle**, v. 38, p. 921-927, 1967.
- RAILLIET, A.; HENRY, A. Les helminthes du nandou. **Bulletin de la Société Nationale D'Acclimatation**, v. 58, n. 1, p. 573-582, 1911.
- REINECKE, R.K.. **Veterinary Helminthology**. Butterworth, Durban. 295pp., 1983
- REISSIG, E.G.; ROBLES, C.A. Gizzard impaction in lesser rhea chicks (*Pterocnemia pennata*) raised on farms in Patagonia, Argentina. **Avian Diseases**. v. 45, p. 240-244, 2001.
- RICKARD, L.G.; STEINOHRT, L.A.; BLACK, S.S. Subclinical cyathostomiasis and unidentified helminthiasis in a juvenile emu (*Dromaius novaehollandiae*). **Avian Diseases**. v. 41, p. 993-996, 1997.
- ROBERTS, L.S.; JANOVY, J. **Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology**. Mc Graw Hill, New York. 702 pp., 2005.
- SATO, Y.; YASUDA, J.; SINSUNGWE, H.; CHIMANA, H.; SATO, G. An occurrence of stomach impaction in ostriches (*Struthio camelus*) on a farm in Zambia associated with high mortality. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v. 56, p. 783-784, 1994.
- SCHUSTER, R.F. *Philophthalmus aweerensis* n. sp. (Trematoda: Philophthalmidae) found in a rhea (*Rhea americana*) in the United Arab Emirates. **Parasitology Research**. v. 109, n. 4, p. 1029-1033, 2011.
- SHARMA, R.K. A new nematode *Sicarius hoopoe* n. sp. (Habronematinae) from a bird. **Zoologische Anzeiger**. v. 187, p. 303-306, 1971.
- SIBLEY, C.G.; AHLQUIST, J.E.; MONROE, B.L. A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridization studies. **The AUK a Quarterly Journal of Ornithology**. V. 105, n. 3, p. 409-423, 1988.

- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.P.; SHULTS, R.S. **Essentials of nematodology III. Trichostrongyloids of animals and man.** English Translation by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 704pp., 1960.
- SKRJABIN, K.I. **Key to parasitic nematodes. Volume III. Strongylata.** The Israel English Translation by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 890 pp., 1961.
- SOARES, M.P.; SILVA, S.S.; NIZOLI, L.Q.; FELIX, S.R.; SCHILD, A.L. Chronic fasciolosis in a farmed and wild greater rhea (*Rhea Americana*). **Veterinary Parasitology.** v. 145, n. 1-2, p. 168-171, 2007.
- SOTIRAKI, S.T., GEORGIADES, G., ANTONIADOU-SOTIRIADOU, K., HIMONAS, C.A. Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthio camelus*) **Veterinary Record.** v. 148, p. 84-86. 2001.
- SOULSBY, E.J.W. **Helminthes, arthropods and protozoa in domesticated animals.** 7ed., Bailliere Tindall, London: Lea and Febiger, Philadelphia. 824 pp. 1982.
- SWOFFORD, D.L. **PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4.** Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2003.
- TAYLOR, M.A., HUNT, K.R., SMITH, G., OTTER, A. *Deletrocephalus dimidiatus* in greater rheas (*Rhea americana*) in the UK. **Veterinary Record,** v. 146, p. 19-20, 2000.
- TRAVASSOS, L. Contribuição ao conhecimento do *Deletrocephalus dimidiatus* Diesing, 1851 parasitos da *Rhea americana*. **Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária.** v. 10, n. 1, p. 89-97, 1933.
- TRAVASSOS, L. Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Monographias do Instituto Oswaldo Cruz,** v. 1, p. 1-512, 1937.
- THEILER, A.; ROBERTSON, W. Investigations into the life-history of the wire-worm in ostriches. **Reports of the Director of Veterinary Research, Union of South Africa Department of Agriculture.** n. 3-4, p. 293–336, 1915.
- URQUHART, G.M.; AEMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária.** Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 273 pp., 1998.
- VAKARENKO, E.G.; SHARPILO, V.P. Paratenic parasitism in nematode *Dicheilonema rhaeae* (Diplostriaenoidaea, Dicheilonematinae) – parasite of nandu (*Rhea Americana*). **Acta Parasitologica.** V. 45, n. 3, p. 164, 2000.

- VAUGHAN, J.L.; CHARLES, J.A.; BORAY, J.C. *Fasciola hepatica* infection in farmed emus (*Dromaius novaehollandiae*). **Australian Veterinary Journal**. v. 75, p. 811-813, 1997.
- VAZ, Z. Estudos sobre nematóides parasitas de emas (*Rhea americana*). **Archivos do Instituto Biológico**. v. 7, p. 253-266, 1936.
- YOKOHATA, Y.; ABE, H.; KAMIYA, H. Redescription and multivariate morphometrics of *Moguranema nipponicum*, Yamaguti, 1941. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 3-4, p. 223-233, 1988.
- WALTON, A.C. A revision of the nematodes of the Leidy collections. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**. v. 79, p. 49-163, 1927.
- WEHR, E.E. A new nematode from the rhea. **Proceedings of the United States National Museum**. v. 83, n. 17, p. 1-5, 1934.
- ZETTERMANN, C.D. Helminthos parasitos de emas (*Rhea americana*) do pantanal do Mato Grosso do Sul e de Jaboticabal, São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 49 pp., 2000.
- ZETTERMANN, C.D., NASCIMENTO, J.A., TEBALDI, J.A., SZABÓ, M.J.P. Observations on helminth infections of free-living and captive rheas (*Rhea americana*) in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 129, n. 1-2, p. 169-172, 2005.

ANEXOS



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE
E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
DIRETORIA DE USO SUSTENTÁVEL DA BIODIVERSIDADE E FLORESTAS

AUTORIZAÇÃO DE MANEJO DA FAUNA SILVESTRE Nº 000000011/2011-RJ

FICA AUTORIZADO USO E MANEJO DA FAUNA SILVESTRE DAS ATIVIDADES DO EMPREENDIMENTO ABAIXO DESCRITO, DE ACORDO COM AS ESPECIFICAÇÕES CONSTANTES DA DOCUMENTAÇÃO/PROJETO APRESENTADA E APROVADA.

CTF Nº 480552

ENDEREÇO COMPLETO: Av. Alberto Lamego, 2000

MUNICÍPIO/UF: CAMPOS DOS GOYTACAZES/RJ

CATEGORIA: 20.45 - Criadouro científico de fauna silvestre para fins de pesquisa

ESPÉCIES (em anexo)

CONDICIONANTES (em anexo)

DATA DA EMISSÃO 12/04/2011



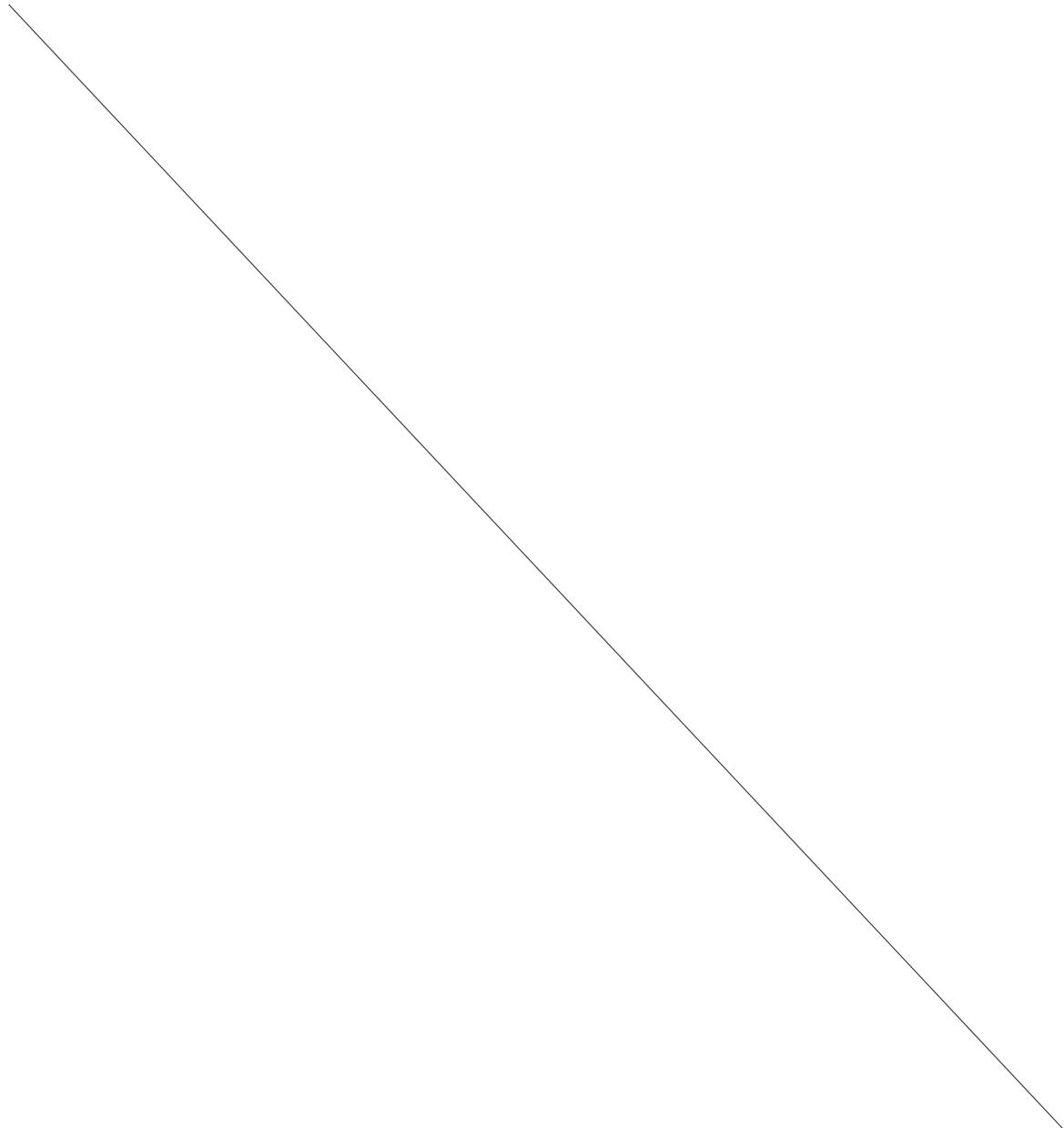
000000011/2011-RJ



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE
E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
DIRETORIA DE USO SUSTENTÁVEL DA BIODIVERSIDADE E FLORESTAS

ESPÉCIE(S):

Rhea spp., Rhea americana, Rhea pennata. #####
#####





MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE
E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
DIRETORIA DE USO SUSTENTÁVEL DA BIODIVERSIDADE E FLORESTAS

CONDICIONANTES DA AUTORIZAÇÃO PARA MANEJO DA FAUNA SILVESTRE

1. Quaisquer alterações quanto à documentação/projeto do empreendimento deverão ser precedidas de anuência do Ibama.
2. Em caso de ampliação das instalações ou de inclusão de nova espécie da fauna silvestre no plantel do empreendimento, o interessado deverá solicitar outra AUTORIZAÇÃO PRÉVIA e AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÃO.
 - 2.1. Ao concluir as novas obras conforme planta aprovada, deverá ser solicitada vistoria dos recintos e inclusão da nova espécie na AUTORIZAÇÃO DE MANEJO DA FAUNA SILVESTRE já emitida.
 - 2.2. Em caso de exclusão de espécie já autorizada, o interessado deverá comunicar ao Ibama, que providenciará a retirada da espécie da AUTORIZAÇÃO DE MANEJO DA FAUNA SILVESTRE SILVESTRE já emitida.
3. O desligamento do responsável técnico deverá ser oficializado ao Ibama, devendo o empreendedor apresentar, no prazo de 15 (quinze) dias, a partir do desligamento, cópia do contrato de assistência profissional ou da Anotação de Responsabilidade Técnica do novo técnico.
4. O Ibama, mediante decisão motivada, poderá modificar as condicionantes e as medidas de controle e adequação, suspender ou cancelar esta autorização, caso ocorra:
 - 4.1. violação ou inadequação de quaisquer condicionantes ou norma legal;
 - 4.2. omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição da autorização; ou
 - 4.3. superveniência de graves riscos ambientais e da saúde pública.
5. O Ibama e os órgãos ambientais estadual, distrital ou municipal deverão ser comunicados, imediatamente, em caso de ocorrência de qualquer acidente que venha causar dano ambiental.
6. Os custos de construção, manutenção das instalações, manejo e alimentação dos espécimes da fauna silvestre serão de total responsabilidade do empreendedor, sem ônus de suas atividades ao Ibama.
7. A soltura, introdução, reintrodução ou translocação de espécimes da fauna silvestre na natureza, por pessoa física ou jurídica, somente poderá ocorrer mediante anuência do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade e autorização do Ibama, quando previsto em plano de manejo de fauna ou projeto de pesquisa aprovado pelo Ibama e em concordância com norma específica.
8. Espécimes da fauna silvestre exótica ou híbridos de qualquer natureza não poderão, sob hipótese alguma, serem destinados para soltura.



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 18981-2	Data da Emissão: 04/05/2010 11:01
Dados do titular	
Nome: Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira	CPF: 547.278.047-00
Título do Projeto: "CRIAÇÃO DE EMAS (RHEA AMERICANA): UMA NOVA E ALTERNATIVA PECUÁRIA PARA O PRODUTOR RURAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO"	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO	CNPJ: 04.809.688/0001-06

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Construção das instalações	06/2009	12/2009
2	Diferenciação alimentar	12/2009	12/2010
3	Diganóstico de coccidiose	12/2009	12/2012
4	Exame de Fezes	12/2009	12/2012
5	Coproculturas	12/2009	12/2012
6	Necropsias	12/2009	12/2012
7	Coleta de Fezes	12/2009	12/2012
8	Coleta dos dados (postura)	12/2009	12/2012
9	Teste fitoterápico	12/2009	04/2010
10	Compra dos Animais	01/2010	01/2009

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Outras ressalvas

1	Esta autorização não exime o pesquisador titular de requerer as autorizações de transporte de animais silvestres e o registro de criadouro junto ao IBAMA.
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Murilo de Oliveira Boa Morte	Diagnostico Parasitologico	100.837.137-86	020529421-8 DETRAN-RJ	Brasileira
2	Francimar Fernandes Gomes	Análise da Carne	074.220.817-67	098067259 Detran-RJ	Brasileira
3	Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho	Análise histopatologica	247.476.377-53	0793 CRMV -PI	Brasileira
4	Antonio Peixoto Albernaz	Hematologia	975.344.807-44	06 621 631 8 IFP-RJ	Brasileira
5	Olney Vieira da Motta	Diagnóstico Microbiológico	433.401.567-00	05096078-0 IFP-RJ	Brasileira
6	Adriana Jardim de Almeida	Tratamento fitoterápico	076.227.707-60	11039520-9 IFP -RJ	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 64426686





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 18981-2	Data da Emissão: 04/05/2010 11:01
------------------------	--

Dados do titular

Nome: Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira	CPF: 547.278.047-00
Título do Projeto: "CRIAÇÃO DE EMAS (RHEA AMERICANA): UMA NOVA E ALTERNATIVA PECUÁRIA PARA O PRODUTOR RURAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO"	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO	CNPJ: 04.809.688/0001-06

7	NICOLE BRAND EDERLI	Diagnostico Parasitologico	087.409.467-46	122970221 IFP-RJ	Brasileira
---	---------------------	----------------------------	----------------	------------------	------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CAMPOS DOS GOYTACAZES	RJ	Universidade Estadual do Norte Fluminense D'Arcy Ribeiro	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Rhea
2	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Rhea

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Animal morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Ectoparasita, Fezes, Sangue, Ovos, Penas, Regurgitação/conteúdo estomacal, Fragmento de tecido/órgão
---	----------------------------	--

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO	criadouro científico

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 64426686





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 18981-2	Data da Emissão: 04/05/2010 11:01
Dados do titular	
Nome: Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira	CPF: 547.278.047-00
Título do Projeto: "CRIAÇÃO DE EMAS (RHEA AMERICANA): UMA NOVA E ALTERNATIVA PECUÁRIA PARA O PRODUTOR RURAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO"	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO	CNPJ: 04.809.688/0001-06

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 64426686



FICHA DE NECRÓPSIANº 001

Necropsiado por: _____ Data: ____/____/____

Coletor/Projeto: _____ Data: ____/____/____

Invertebrado - Peixe - Anfíbio - Réptil - Ave - Mamífero - Outros

Família: _____ Gênero e espécie: _____

Nome vulgar: _____ Cidade/Estado: _____

Especificar localidade: _____

Marcação: _____ Peso: _____ gr (Fresco - Congelado - Fixado [Formol - Etanol - _____])

Comprimento total: _____ cm Comprimento padrão: _____ cm Sexo: F M ?

Idade: Adulto - Juvenil - Filhote Método de determinação da idade: _____

Estado geral: _____ Armadilha nº _____

Material Coletado: ___Coração ___Rim ___Fígado ___Baço ___Musculatura ___Pulmão

___Estômago ___Moela ___Proventrículo ___Traquéia ___Esôfago ___Sacos Aéreos ___Sangue

___Intestinos ___DNA ___Fezes ___Superfície Corporal ___Outros

Parasitas: ___Ecto ___Endo ___Fezes ___Outros: _____ Estado dos parasitos: Bom - Ruim

Material coletado para histologia: Sim - Não - Qual? _____

COMENTÁRIOS:

Superfície corporal: _____

Cavidade corporal: _____

Sangue: _____

Boca: _____

Traquéia: _____

Esôfago: _____

Estômago: _____

Moela: _____

Proventrículo: _____

Intestino delgado: _____

Intestino grosso: _____

Cecos: _____

Reto: _____

Pulmão: _____

Coração: _____

Rim: _____

Fígado: _____

Olhos: _____

Narinas: _____

Sacos aéreos: _____

Musculatura: _____

Outros: _____

Invoice of HWML Parasitology Specimens

University of Nebraska State Museum

Systematics Research Collections

W436 Nebraska Hall - - P.O. Box 880514

Lincoln, Nebraska 68588-0514 U.S.A.

Tel.: (402) 472-3334 Fax: (402) 472-8949 slg@unl.edu

From: Nicole Brand Ederli
Manter Lab of Parasitology University of Nebraska-Lincoln
W529 Nebraska Hall

Lincoln, Nebraska 68588-0514

Approved by: Dr. Scott L. Gardner, Curator

The material listed below, contained in **3 vials**
is transmitted as a **gift**

Signature of donor _____

Please Note:

White Copy to be signed and returned.

Pink Copy to be retained by addressee.

Yellow Copy to be retained by HWML Curator.

Date: 18-Oct-2011

Accession Number: P-2011-027

Packed by: Nicole Brand Ederli

Date shipped: 18-Oct-2011

Insured amount (\$)

Shipping method in house

Checked in by Gabor R. Racz

Gift donor Nicole Brand Ederli

Loan return date

Date received: 18-Oct-2011

Condition: good

Signature: _____

Date: _____

In donating these items to the University of Nebraska State Museum, the donor hereby transfers ownership to the Museum and agrees that the items may be integrated into existing collections and used in any way.

HWML 67091	1 - vial	<i>Codiostomum struthionis</i>	voucher	Host: <i>Struthio cemelus</i>
	Country, State, Area	Brazil - Espírito Santo		
	Latitude:	Longitude:		
HWML 67092	1 - vial	<i>Sicarius uncinipenis</i>	voucher	Host: <i>Rhea amaericana</i>
	Country, State, Area	Brazil - Espírito Santo		
	Latitude:	Longitude:		
HWML 67093	1 - vial	<i>Deletrocephalus dimidiatus</i>	voucher	Host: <i>Rhea amaericana</i>
	Country, State, Area	Brazil - Espírito Santo		
	Latitude:	Longitude:		

Received with Thanks !!!

Differential Localization of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd, and Omar, 1995 (Nematoda: Trichostrongylidae) in Ostrich (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) Proventriculi

N. B. Ederli and F. C. R. Oliveira*, Laboratório de Helminologia, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, 23890-000, Brazil; *Laboratório de Sanidade Animal, Hospital Veterinário, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ, 28013-602, Brazil. e-mail: ederli@ufrj.br

ABSTRACT: *Libyostrongylus* is composed of 3 species, *L. douglassii*, *L. dentatus*, and *L. magnus*, which are differentiated based on the morphology of the adults worms. Of these, only the first 2 species have been described in Brazilian ostriches (*Struthio camelus*). There are very few citations regarding the occurrence of *L. dentatus*, having been reported only in North America and Brazil, while *L. douglassii* is distributed worldwide. Reports on differences in the localization of *Libyostrongylus* species inside the proventriculus are not available. Thirty proventriculi were collected and examined for the presence and location of the nematodes with the aid of a stereomicroscope. The collected parasites were conditioned separately, according to their sites of infection, in plates containing 0.09% saline solution. The worms were identified based on morphologic characters. All the examined proventriculi were parasitized by *L. douglassii* and *L. dentatus*. However, *L. douglassii* was observed under the koilin layer, while *L. dentatus* was inserted and attached in the koilin layer. Thus, the present study identifies different sites of infection by the 2 species of *Libyostrongylus* found in Brazil.

Libyostrongylus Lane, 1923 was originally described in South Africa and is considered an endemic or common parasite of the southern region of the African continent (Hoberg et al., 1995). The genus includes 3 species, i.e., *L. douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923, *L. dentatus* Hoberg, Lloyd, and Omar, 1995, and *L. magnus* Gilbert, 1937, which are differentiated based on the morphology of the adults worms. Of these, only the first 2 species have been described outside the African continent. *Libyostrongylus dentatus* is distinguished from *L. douglassii* and *L. magnus* by the presence of a prominent esophageal tooth, a dorsal ray structure, and the morphology of the female posterior extremity (a digitiform tail tip and the presence of a cuticular inflation at the level of the anus, sub-lateral vulva, a relatively larger ovejector, and by the total length being significantly larger than *L. douglassii* and *L. magnus*) (Hoberg et al., 1995; Ederli, Bonadiman et al., 2008). There are very few reports of the occurrence of *L. dentatus*, having been reported only in North America (Hoberg et al., 1995) and in Brazil, in the northern region of the state of Rio de Janeiro (Ederli, Bonadiman et al., 2008; Ederli, Oliveira et al., 2008). *Libyostrongylus douglassii* is distributed worldwide, having been reported in more than 10 countries (Barton and Seward, 1993; Sotiraki et al., 2001; Ponce Gordo et al., 2002; Mackereth, 2004; Mukaratirwa et al., 2004; Tišljarić et al., 2007; Ederli, Bonadiman et al., 2008; Ederli, Oliveira et al., 2008).

The literature cites *L. douglassii* as the only species of the genus responsible for libyostrongylosis (Craig and Diamond, 1996; Huchzermeyer, 1998), with greater than 50% mortality in juvenile birds (Reinecke, 1983). These nematodes are reddish in color; adult parasites can be observed under the koilin layer, where they feed on blood. The immature forms penetrate deeply into the proventricular glands, obstructing its ducts and causing severe inflammation that results in tissue necrosis. This can result in extensive mortality among birds (Huchzermeyer, 1998). Reports on differences in the localization of *Libyostrongylus* species inside the proventriculus are not available. In addition, there is no information regarding the pathogenicity of *L. dentatus* or the localization sites of *Libyostrongylus* species in the proventriculus. The aim of the present study in Brazil was to determine the localization sites of the 2 species of *Libyostrongylus* found on the surface of the ostrich's proventriculus and the possible pathology caused by the localization of these nematodes.

Thirty proventriculi obtained from adult ostriches (*Struthio camelus*)

of both sexes were collected in a slaughterhouse in the municipal district of Quissamã in the north of Rio de Janeiro State, Brazil. Of these, 20 originated from the municipal district of Três Rios (in the south Fluminense region) and 10 were from Cabo Frio (lower coastline areas of Rio de Janeiro State). The proventriculi were collected separately and placed in plastic bags, stored in boxes with ice, and sent to the Laboratório de Sanidade Animal (LSA), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Collection and analysis of nematodes were performed immediately after the organs arrived at the laboratory in order to avoid migration of the parasites to other sites. The proventriculi were opened and examined for the presence and location of nematodes with the aid of a stereomicroscope. The collected parasites were separated according to site of infection (i.e., inserted into the koilin layer or underneath the koilin layer) in Petri dishes containing 0.09% saline solution. After collection, the nematodes were fixed in hot AFA for 48 hr and transferred to solution containing 70% alcohol and 10% glycerin.

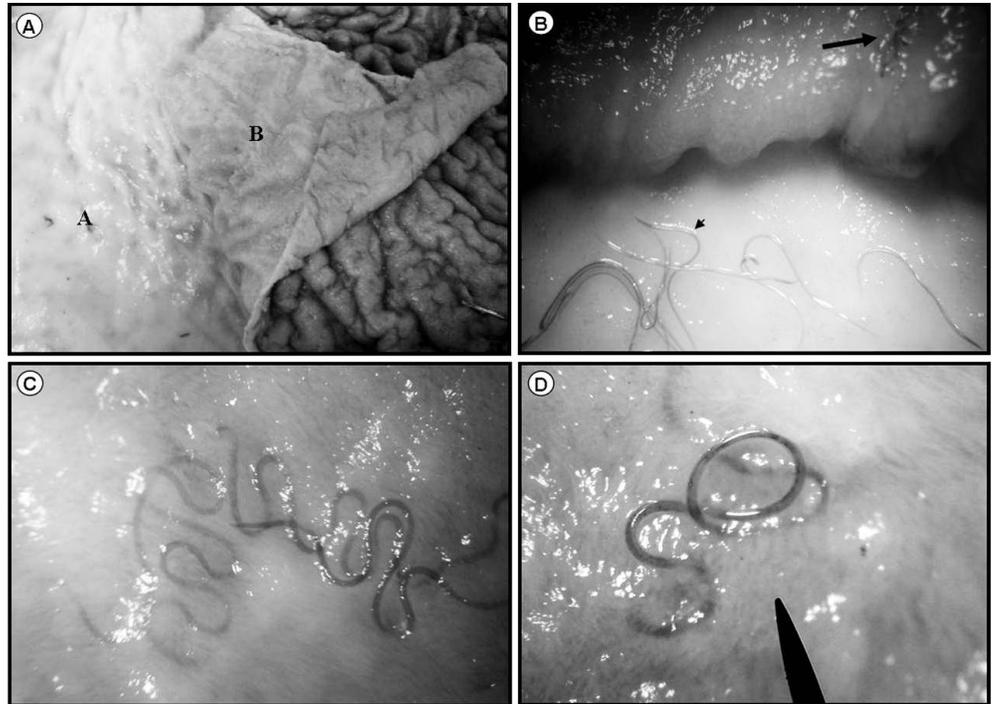
The worms were identified using light microscopy. The primary morphological features included total length, presence or absence of prominent esophageal teeth, ovejector length and morphology of the extremity of the female tail, and structure of the dorsal ray of the copulatory bursa and male spicules.

All birds were parasitized by *L. douglassii* and *L. dentatus*. There were 2 different sites of infection, i.e., some parasites were under the koilin layer while others were inserted into the koilin layer (Fig. 1a). Most of the worms that were located at the mucosal surface under the koilin layer were identified as *L. douglassii* (Fig. 1b), while nematodes inserted into the koilin layer were identified as *L. dentatus* (Fig. 1c, d). A small number of *L. dentatus* were observed mixed with *L. douglassii*, but these were not inserted into the koilin layer. The proventriculi derived from the municipal district of Cabo Frio were highly parasitized, with a predominance of *L. douglassii*, while animals derived from Três Rios had a small number of *L. douglassii* in the proventriculi compared to the Cabo Frio location, with a predominance of *L. dentatus*.

A high occurrence of parasites was observed in the slaughtered animals in Rio de Janeiro State (100%), an observation that was previously suggested by Bonadiman et al. (2006) through fecal exams; they, however, did not determine the proportion of *L. douglassii* and *L. dentatus* in the flocks reared in the northern region of Rio de Janeiro State. The differential diagnosis of the 2 species of *Libyostrongylus* was only possible after the differentiation of the infective larvae, as described by Ederli, Oliveira et al. (2008).

An epizootiological study of these species is currently underway in Rio de Janeiro State. We have examined 383 fecal samples from 18 properties in several regions of the Rio de Janeiro State. To date, we have observed an overall mean of eggs per g of feces of $1,120 \pm 2,412$ [mean \pm S.D. (variance)] (0–19,600) and a mean proportion of $89\% \pm 13.9$ (34–100) and $11\% \pm 13.7$ (0–65) of infective larvae for *L. douglassii* and *L. dentatus*, respectively. Thus, a higher parasite load with a greater number of *L. douglassii* relative to *L. dentatus* has been seen in animals from the municipal district of Cabo Frio, whereas the opposite was observed in birds of the municipal district of Três Rios. The low parasite numbers and the predominance of *L. dentatus* in the animals from Três Rios are not compatible with the data observed in the ongoing epizootiological study in the State of Rio de Janeiro. However, the small parasite numbers may be due to anthelmintic treatment of the animals before slaughter. This hypothesis is reinforced by the site of infection by *L. dentatus*, which is inserted in the koilin layer; members of this species are possibly less affected than individuals of *L. douglassii*. The latter species is located under the membrane and, thus, more likely

FIGURE 1. Ostrich proventriculus. (a) Differential localization of *L. douglassii* (A) and *L. dentatus* (B) in the proventriculus surface; (b) *L. douglassii* in proventriculus mucosa, under the koilin layer (arrow head), and *L. dentatus* inserted in the koilin layer (arrow); (c, d) Specimens of *L. dentatus* inserted in the koilin layer.



subject to the effects of the drug, which operates systemically (Malan et al., 1988).

This is the first study demonstrating different sites of infection by these 2 parasites; this could be the reason for the lack of reports on the occurrence of *L. dentatus* (Hoberg et al., 1995; Ederli, Bonadiman et al., 2008; Ederli, Oliveira et al., 2008). Until recently, the differential diagnosis of these 2 species was only possible through necropsy, although diagnosis can now be made via fecal exams by the identification of the infective larvae (Ederli, Oliveira et al., 2008).

Libyostrongylus dentatus is likely the major contributor to the pathology associated with libyostrongylosis. Proventricular necrosis occurs when the parasite is inserted into the koilin layer and, in high levels of infestation, the parasite can perforate the koilin layer, exposing the mucosa to proventricular secretions and potentially leading to secondary fungal and bacterial infections (Craig and Diamond, 1996; Huchzermeyer, 2002). Most reports of gastritis (infections of the proventriculus and gizzard) in ratites are referred to as being caused by erosion of the koilin layer (Huchzermeyer, 1998); however, the cause of these lesions has not been determined. Hypothetically, during severe infestations with *L. dentatus*, descaling of the koilin layer in pieces, with formation of pseudo-membranes covering hemorrhagic areas, could be favored due to the association of the parasites.

The present study characterizes the different localizations of the 2 species of *Libyostrongylus* found in Brazil. Separate experimental infections and histological study will be necessary to characterize the true nature of pathology induced by either one, or both, of these 2 species.

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação Carlos Chagas Filho do Rio de Janeiro (FAPERJ).

LITERATURE CITED

- BARTON, N. J., AND D. A. SEWARD. 1993. Detection of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches in Australia. *Australian Veterinary Journal* **70**: 31–32.
- BONADIMAN, S. F., N. B. EDERLI, A. K. P. SOARES, A. H. A. MORAES NETO, C. P. SANTOS, AND R. A. DAMATTA. 2006. Occurrence of *Libyostrongylus* sp. (Nematoda) in ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) from the north region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology* **137**: 175–179.
- CRAIG, T. M., AND P. L. DIAMOND. 1996. Parasites of ratites. *In* Ratites management, medicine and surgery, T. N. Tully and S. N. Shane (eds.). Kreiger Publishing Company, Malabar, Florida, p. 115–126.
- EDERLI, N. B., S. F. BONADIMAN, A. H. A. MORAES NETO, R. A. DAMATTA, AND C. P. SANTOS. 2008. Mixed infection by *Libyostrongylus douglassii* and *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) in *Struthio camelus* (Ratites: Struthioniformes) from Brazil with further morphological characterization of adults. *Veterinary Parasitology* **151**: 227–232.
- , F. C. R. OLIVEIRA, C. W. G. LOPES, R. A. DAMATTA, C. P. SANTOS, AND M. L. A. RODRIGUES. 2008. Morphological diagnosis of infective larvae of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda, Trichostrongylidae) of ostriches. *Veterinary Parasitology* **155**: 323–327.
- HOBERG, E. P., S. LLOYD, AND H. OMAR. 1995. *Libyostrongylus dentatus* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) from ostriches in North America, with comments on the genera *Libyostrongylus* and *Paralibyostrongylus*. *Journal of Parasitology* **81**: 85–93.
- HUCHZERMEYER, F. W. 1998. Diseases of ostriches and other ratites, 2nd ed. Agricultural Research Council, Onderstepoort Veterinary Institute, Onderstepoort, Republic of South Africa, 392 p.
- . 2002. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. *Revue Scientifique Technique (International Office of Epizootics)* **21**: 265–276.
- MACKERETH, G. 2004. *Libyostrongylus douglassii* in New Zealand ostriches. *Surveillance* **31**: 14–16.
- MALAN, F. S., B. GRUSS, N. A. ROPER, A. J. ASHBURNER, AND C. A. DU PLESSIS. 1988. Resistance of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches to levamisole. *Journal of the South African Veterinary Association* **59**: 202–203.
- MUKARATIRWA, S., Z. M. CINDZI, AND D. B. MAONONGA. 2004. Prevalence of *Libyostrongylus douglassii* in commercially reared ostriches in the highveld region of Zimbabwe. *Journal of Helminthology* **78**: 333–336.
- PONCE GORDO, F., S. HERRERA, A. T. CASTRO, B. GARCIA DURAN, AND R. A. MARTINEZ DIAZ. 2002. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. *Veterinary Parasitology* **107**: 137–160.
- REINECKE, R. K. 1983. *Veterinary helminthology*. Butterworth, Durban, Republic of South Africa, 295 p.

SOTIRAKI, S. T., G. GEORGIADIS, K. ANTONIADOU-SOTIRIADOU, AND C. A. HIMONAS. 2001. Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthio camelus*). *Veterinary Record* **148**: 84–86.

TIŠLJAR, M., R. BEČ, R. G. COOPER, A. MARINCULIĆ, M. TUDJA, I. LUKAČ-NOVAK, Ž. GRABAREVIĆ, V. PERKOVIĆ-HERAK, AND B.

ŠIMPRAGA. 2007. First finding of libyostrongylosis in farm reared ostriches (*Struthio camelus*) in Croatia: Unusual histopathological finding in brain of two ostriches, naturally infected with *Libyostrongylus douglasi*. *Veterinary Parasitology* **147**: 117–124.

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

Short communication

Pathological findings in the caeca of naturally infected ostriches, *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Aves, Struthionidae) parasitized by *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Henry, 1911 (Nematoda, Strongylidae)

Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira^a, Nicole Brand Ederli^{a,*}, Carlos Wilson Gomes Lopes^b, Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues^c

^a Laboratório de Sanidade Animal, Setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos, Hospital Veterinário, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Fluminense (UENF), Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, 28013-602, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil

^b Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 Km-7, 23890-000 Seropédica, RJ, CNPq fellowship, Brazil

^c Laboratório de Helmintologia, DPA, IV, UFRRJ, RJ, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 April 2009

Received in revised form 7 May 2009

Accepted 22 June 2009

Keywords:

Caecum

Codiostomum struthionis

Nematoda

Ostriches

Strongylidae

ABSTRACT

In order to characterize lesions associated with *Codiostomum struthionis* in ostriches, 10 caeca were examined on both macro- and microscopic levels. Parasites were found in the distal third of the caecum and characterized as *C. struthionis*. Thickened mucosa was identified macroscopically where parasites were observed in high concentrations. Nodular areas were also observed in the distal third of the infected caeca, as well as hemorrhagic areas abutting small ulcers surrounded by edema. These findings were not observed in healthy controls. The concentration of *C. struthionis* found in infected animals was directly correlated with the severity of lesions observed in each caecum. These results allowed us to infer that *C. struthionis* is responsible for lesions in ostrich caeca.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Codiostomum struthionis is a Strongylidae nematode, parasite of the ostrich caecum, and is the unique species of the genus. While the life cycle of this parasite is unknown, it is believed to be a simple and direct life cycle, typical of Strongylidae (Lichtenfels, 1980). The majority nematodes from the family Strongylidae is characterized by the presence of a well developed buccal capsule. The adult worms of some species of the family Strongylidae are found in the superficial layers of the gastrointestinal tract. They sustain themselves by ingesting the mucous mem-

branes, which results in local hemorrhage and the loss of proteins from injured mucosa (Soulsby, 1965). *C. struthionis* is considered to be responsible for little or no pathology (Craig and Diamond, 1996; Huchzermeyer, 1998). Commonly is confused with *Libyostrongylus* spp., a pathogenic nematode of the family Trichostrongylidae, because in fecal exams, the eggs of these two species are indistinguishable and their larvae are similar (Ederli et al., 2008a,b). *Libyostrongylus* spp. is a parasite of the ostrich proventriculus and is largely responsible for juvenile bird mortality of greater than 50% (Reinecke, 1983).

In theory, *C. struthionis* infection can result in anemia and thereby debilitate the development of the birds. In well-nourished birds, no clinical signs of parasite infection have been noted (Craig and Diamond, 1996), but none of these studies has addressed lesions due specifically to natural infections by *C. struthionis*.

* Corresponding author. Tel.: +55 02122 2739 7359;

fax: +55 02122 2726 1673.

E-mail address: ederli@uenf.br (N.B. Ederli).

Benzimidazole and levamisole both appear to be effective agents against *C. struthionis* (Craig and Diamond, 1996). Due to its benign course, it is not necessary to treat ostriches for *C. struthionis* infections. Regular treatment against *Libyostrongylus* spp., however, simultaneously treats and controls *C. struthionis* infections as well (Huchzermeyer, 1998).

The diagnostic by fecal exams is done by examining the morphology of the tip of the larvae tail, which ends sharply in *C. struthionis* (Ederli et al., 2008a) and presents as a knob at the extremity of the tail in the genus *Libyostrongylus* (Barton and Seward, 1993; Ederli et al., 2008b). These similarities contribute to errors when trying to differentiate between them, and have resulted in the under diagnoses of *C. struthionis* in some areas, being reported only in Europe (Ponce Gordo et al., 2002), South Africa (Popova, 1955), Brazil (Ederli et al., 2008a).

The aim of this study was to characterize pathological lesions due to *C. struthionis* infection in ostriches, using general health appearance in ostrich flocks, as well as gross and histopathological examinations of ostrich caeca.

2. Material and methods

Ten adult ostriches apparently healthy were commercially slaughtered in the Municipality of Quissamã (22°05'23"S; 41°41'48"W) in the State of Rio de Janeiro, and their caeca were collected separately, stored in properly identified plastic bags, conditioned in refrigerated boxes and sent to the Laboratório de Sanidade Animal (LSA), in the Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) at the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). The caeca were opened and grossly examined for the presence of parasites. Parasitic levels were quantified, specimens were stratified by gender, and the two populations were compared using the Student's *t* test. Specimens were washed in a 0.09% saline solution and then fixed in hot A.F.A. (93 parts of 70% ethanol, five parts of formaldehyde, and two parts of glacial acetic acid) for 48 h. They were then transferred to a solution containing 70% ethanol and 5% glycerin, and then cleared in lactophenol (one part distilled water, two parts glycerin, one part lactic acid, one part phenic acid) and creosote for two days for posterior identification according to morphological characters described by Ederli et al. (2008a).

After each caecum was opened and its content removed, it was washed carefully in water and the mucous membrane was examined for evidence of gross lesions. Identified lesions were photographed using a CyberShot digital camera, model DSC-P73. For histological examination, fragments of each caeca were fixed in 10% formalin and then placed in paraffin. They were then cut into sections that were 5–6 μm thick, stained with hematoxylin and eosin, and examined using a light microscope.

3. Results

A total of 566 nematodes, 234 males and 332 females, were identified, and no significant difference between the

Table 1

Parasitism due to *Codiostomum struthionis* natural infection in ostrich caeca slaughtered at the Municipality of Quissamã in the state of Rio de Janeiro, Brazil.

Number of species	Total		Lesions in the caeca ^a	
	Animal	Gender		
	Males	Females		
1	2	14	16	–
2	20	40	60	++
3	30	48	78	++
4	17	26	43	+
5	52	54	106	+++
6	1	16	17	–
7	25	41	66	++
8	28	46	74	++
9	0	0	0	–
10	59	47	106	+++
Total	234	332	566	
Mean ^b	23.4	33.2	56.6	
SD	20.31	18.05	37.04	

^a (–) negative, (+) scattered (++) moderate, (+++) intensive.

^b $p = 0.2690$ comparison of the mean of male and female community of parasites.

two groups were observed ($p = 0.2690$) (Table 1). Parasites were located in the distal third portion of the caecum, and they were identified as *C. struthionis* using their morphologic characteristics. Externally, the parasitized caeca presented areas of rigid consistency and a less fluid content at palpation. These areas, when opened and examined, they contained a great parasites density and considerable thickening of the mucosa, evidenced by the wrinkle of the same mucosa (Fig. 1A–C), contrasting with the non-parasitized areas and in areas that were not found parasites (Figs. 1A and 2). When the entire caecum was opened, parasites and lesions were observed at the final third portion of it. The thickening areas of the mucosa presented a varied sizes and they were proportional to the parasitic density; however, around of the majority of lesions were observed hemorrhagic areas. Throughout of the caecal, nodules of varied size (Fig. 1A and D) and filled with purulent mucus. Petechiae and small ulcer were also observed through the caecal mucosa (Fig. 1C).

Histological sections at the thickening areas of the caecal mucosa of naturally parasitized animals, revealed atrophy of the villi with loss of the epithelial cells at the edges. Crypts, when present, were covered with hyperplastic squamous, as well as flattened epithelial cells of the mucosa. In determined thickening areas, an increasing of mononuclear cells infiltration, characterized mainly by lymphocytes, was observed in the submucosa (Fig. 3A). These lesions were not observed in areas free of parasites (Fig. 3B).

4. Discussion

In this study, the maximum number of parasites found was 106 per ostrich, with a mean of 56.6 per ostrich (Table 1). The parasite load of *C. struthionis* needed to cause pathology in ostriches is not known. In the examined caeca, however, macroscopic lesions were observed in sites of high parasite concentration and where nodules were located in the distal third of the

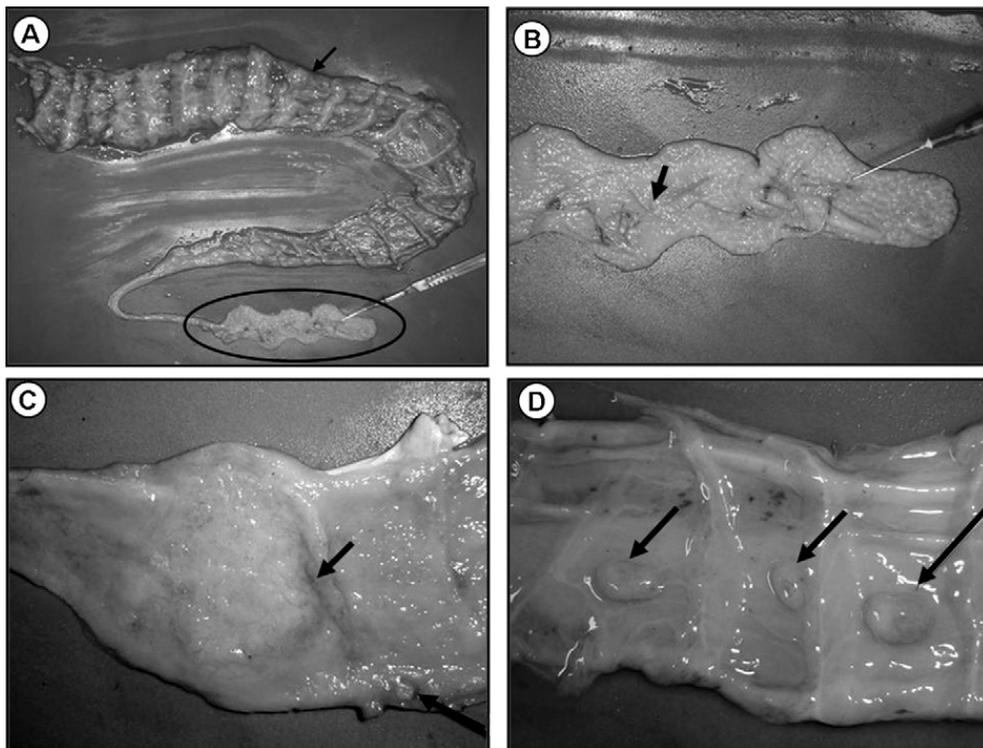


Fig. 1. Parasitized ostrich caecum. Macroscopic lesions. (A) Lesions found in the third distal portion of the caecum. Note the absence of lesion in the anterior portions of the caecum. Emphasized area is amplified in (B). Note mucosal thickening in the sites of high parasite concentration (arrow); (C) hemorrhagic areas (arrow); (D) nodules (arrows).

caecum (Fig. 1). In the life cycle of some Strongylidae, immature large strongyles may cause nodules beneath the gut wall before returning to the intestinal lumen while small strongyles may encyst within the mucosa but do not cause nodules (Ogbourne and Duncan, 1985) throughout the gastrointestinal tract. These nodules, when ruptured, then release adult parasites into the lumen, resulting in mucosal ulceration (Urquhart et al., 1998). Mild Strongylidae infections in horses (e.g. *Strongylus* spp.) have been shown to have scattered nodules, while severe infections were associated with a greater number of nodules and little normal mucosa (Soulsby, 1965). Next to these lesions, hemorrhagic foci were associated to small, edematous ulcers (Fig. 1C). These findings were not observed in non-infected caecal controls (Fig. 2). The pathogenesis of *Strongylus* spp. reveals that these para-

sites cause mucosal lesions because they feed on mucosal fragments as they move across the surface of the caecum. As they ingest the mucosa, they can also incidentally damage the blood vessels, resulting in considerable hemorrhage (Ogbourne and Duncan, 1985). Ulcers could also be infected by other bacterial organisms, producing small caseous areas that could progress to a nodular lesion (Soulsby, 1965). In areas where old lesions were noted, either granulation tissue was present or the tissue was replaced by fibrosis (Petty et al., 1992). In the present study, we did not observe these type of lesions, but they may indeed occur in ostriches where a high *C. struthionis* parasite load occurs. In other Strongylidae, a high parasite load is considered when 250–300 parasites are underlying caecal lesions with some evidence of symptomatic effects in the final pre patient period (Carlton and McGavin,

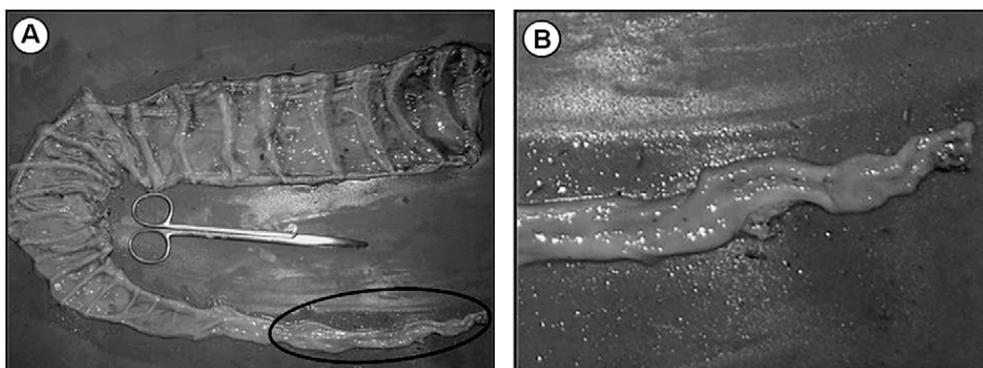


Fig. 2. Non-parasitized Ostrich caecum. Emphasized area is amplified in (B). Note the absence of lesions.

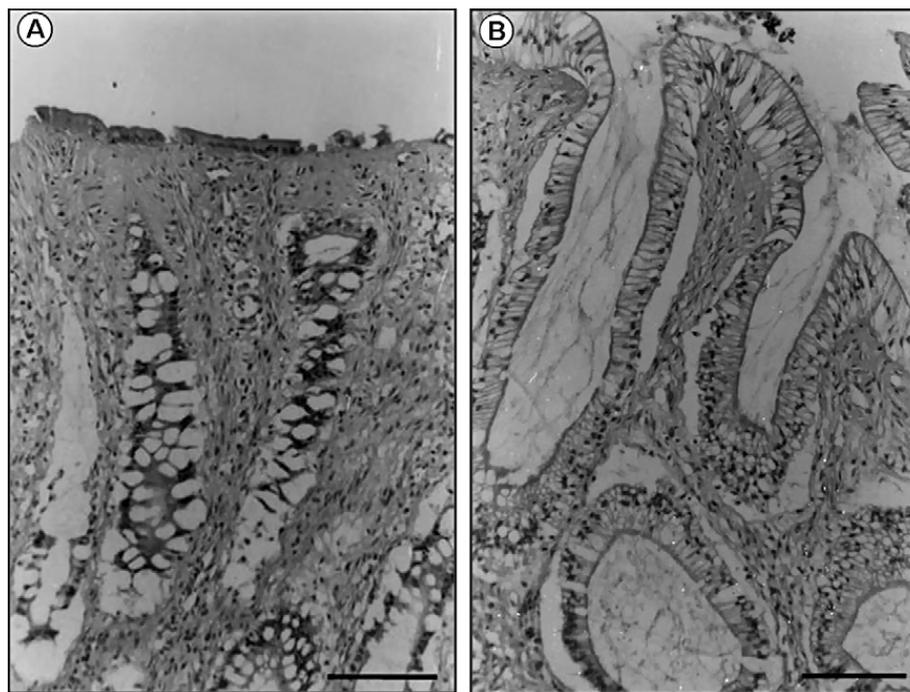


Fig. 3. Histological finding from ostrich caeca. (A) Parasitized caecum showing mucosal thickening with flattened epithelial cells, mononuclear cell infiltration, which is mainly lymphocytes, below the lesion in the submucosa; (B) non-parasitized caecum, with normal tissue. Bars: 100 μ m.

1998). The number of *C. struthionis* parasites observed in animals was proportional to the number and severity of lesions observed at the caeca. However, the parasite load and lesions observed do not determined noted clinical aspects, but it can affect the productive development of these birds, and it allow to infer that others studies should be realized with the intention of correlating parasites load, lesions and flock productive loss.

Histological studies identifying lesions caused by Strongylidae revealed a complete disruption of the mucosa, with the presence of granulation tissue and mononuclear cell infiltration (Soulsby, 1965). In contrast to other authors on the subject (Craig and Diamond, 1996; Huchzermeyer, 1998), the results of the present study show that *C. struthionis* is responsible for lesions in the caeca of ostriches, and that the location and severity of these lesions are related to the absolute number of parasites per infected animal.

Complementary studies to verify the aspects of the parasite biology, like its life cycle and possible lesions related the larvae tissue migration, and stipulate the parasite load that characterize the necessity of antihelminthic treatment, aiming a improvement in the flock production.

Acknowledgments

The authors would like to thank Fabiana V. Massad for technical assistance in the collection of the parasites. This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação Carlos Chagas Filho do Rio de Janeiro (FAPERJ).

References

- Barton, N.J., Seward, D.A., 1993. Detection of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches in Australia. *Aust. Vet. J.* 70, 31–32.
- Carlton, W.W., McGavin, M.D., 1998. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*. Artmed, Porto Alegre, pp. 285.
- Craig, T.M., Diamond, P.L., 1996. Parasites of ratites. In: Tully, T.N., Shane, S.N. (Eds.), *Ratites Management, Medicine and Surgery*. Kreiger Publishing Company, Florida, pp. 115–126.
- Ederli, N.B., Oliveira, F.C.R., Rodrigues, M.L.A., 2008a. Further study of *Codiostomum struthionis* (Horst, 1885) Railliet and Hanry, 1911 (Nematoda, Strongylidae) parasite of ostriches (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) (Aves, Struthioniformes). *Vet. Parasitol.* 157, 275–283.
- Ederli, N.B., Oliveira, F.C.R., Lopes, C.W.G., DaMatta, R.A., Santos, C.P., Rodrigues, M.L.A., 2008b. Morphological diagnosis of infective larvae of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda: Trichostrongylidae) of ostriches. *Vet. Parasitol.* 155, 323–327.
- Huchzermeyer, F.W., 1998. *Diseases of ostriches and other ratites*. Agricultural Research Council, Republic of South Africa Onderstepoort, Veterinary Institute, p. 392.
- Lichtenfels, J.R., 1980. In: Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Willmott, S. (Eds.), *CIH Key to the Nematode Parasites of Vertebrates*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks, 1980, p. 1–41.
- Ogbourne, C.P., Duncan, J.L., 1985. *Strongylus vulgaris* in the horse: its biology and veterinary importance. *Commonwealth Institute of Parasitology*, Bucks, p. 68.
- Petty, D.P., Lange, A.L., Verster, A., Hattingh, J., 1992. Necropsies of eight horses infected with *Strongylus equinus* and *Strongylus edentatus*. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 63, 66–69.
- Ponce Gordo, F., Herrera, S., Castro, A.T., Garcia Duran, B., Martinez Diaz, R.A., 2002. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. *Vet. Parasitol.* 107, 137–160.
- Popova, T.I., 1955. *Essential of nematodology, volume V: Strongyloids of animals and man (Strongylidae)*. U.S. Department of Agriculture and National Sciences Foundation, Washington, DC, p. 236.
- Reinecke, R.K., 1983. *Veterinary Helminthology*. Butterworth, Durban, 295 pp.
- Soulsby, E.J.L., 1965. *Textbook of Veterinary Clinical Parasitology*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, p. 1119.
- Urquhart, G.M., Aemour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W., 1998. *Parasitologia Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 273.