

## ANÁLISE DA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL DE *CHELONOIDIS* PROVENIENTES DE CATIVEIRO DA REGIÃO NOROESTE DE SÃO PAULO

Matheus Marussi Ribeiro<sup>1</sup>  
Cilene Vidovix Táparo<sup>2</sup>  
Miriam Yumi Makatu<sup>3</sup>  
Mariana Malavazi Destro<sup>3</sup>  
Erivelto Correa Araújo Júnior<sup>3</sup>  
Sérgio Diniz Garcia<sup>4</sup>  
Márcia Marinho<sup>5</sup>

### RESUMO

O jabuti é a designação vulgar dos répteis do género *Chelonoidis*, da ordem dos Quelônios, da família dos testudinídeos. A literatura apresenta escassas informações a respeito da importância desse réptil silvestre na cadeia epidemiológica das infecções. A determinação da microbiota entérica de animais silvestres tem por importância não só o conhecimento de micro-organismos que venham a compor a flora intestinal normal dessas espécies, como também a possibilidade de se descobrir novos agentes veiculadores de micro-organismos patogênicos ao homem, e para as demais espécies animais. Com a finalidade de verificar a microbiota de *Chelonoidis*, foram colhidos “swabs” retais de nove membros desta espécie que se encontram confinados no Zoológico Municipal da cidade de Araçatuba. O material foi enviado e processado no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária UNESP – Campus de Araçatuba. As amostras foram semeadas em meios de Ágar Sangue e MacConkey incubadas em atmosfera de aerobiose à temperatura de 37°C por 24h, e em ágar Sabouraud que permaneceram em anaerobiose por 7 a 15 dias. Características morfológicas e tintoriais fundamentaram a identificação das colônias bacterianas, além das provas bioquímicas. Das amostras analisadas somente 55,5% obtiveram resultados conclusivos, sendo identificadas prevalências de 100% e 20% para *Escherichia coli* e a *Klebsiella oxytoca*, respectivamente. Os resultados revelam que geoquelônios atuam significativamente na ecoepidemiologia de doenças infecciosas com a manutenção e a propagação de patógenos no ambiente.

**Palavras-chave:** *Chelonoidis*, microbiota, bacteriana, patógeno, gastrointestinal.

### MICROBIOTA ANALYSIS OF GASTROINTESTINAL *CHELONOIDIS* FROM CAPTIVITY IN THE NORTHWESTERN REGION OF SÃO PAULO

### ABSTRACT

The jabuti is the common name of the genus *Chelonoidis* reptiles of the order of turtles, the family of testudinídeos. The literature presents little information on the importance of reptile

<sup>1</sup> Médico Veterinário Graduado pela FMVA-UNESP Araçatuba- São Paulo

<sup>2</sup> Técnica de Laboratório de Microbiologia Departamento de Produção e Saúde Animal- Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba.

<sup>3</sup> Pós-graduando do Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba.

<sup>4</sup> Professor de Animais Silvestres Departamento Clínicas, Cirúrgicas e Reprodução da FMVA - UNESP, Campus de Araçatuba.

<sup>5</sup> Professora Microbiologia - Departamento de Produção e Saúde Animal- Laboratório de Microbiologia, FMVZ /UNESP, Campus de Araçatuba. Endereço: Rua: Clóvis Pestana, 793. CEP: 16050-680, Araçatuba-SP. Telefone: (18) 3636-1382. Contato principal para correspondência

in the wild epidemiological chain of infection. The determination of the enteric microbiota of wild animals is important not only to knowledge of microorganisms that will form the normal intestinal flora of these species, but also the possibility to discover new agents of pathogenic microorganisms to humans and to other animal species. In order to verify the microbiota of *Chelonoidis*, were collected "swabs" rectal nine members of this species that are confined in the Municipal Zoo of the city of Araçatuba. The material was sent and processed in the laboratory of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine UNESP - Campus de Araçatuba. The samples were sown in media of blood and MacConkey agar incubated in aerobic atmosphere at a temperature of 37 ° C for 24h, and Sabouraud agar remained in anaerobiosis for 7 to 15 days. Morphological characteristics and staining based identification of bacterial colonies, in addition to the biochemical evidence. Samples of only 55.5% obtained conclusive results, and identified prevalence of 100% and 20% for *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca*, respectively. The results show that significantly geoquelônios work in Eco-epidemiology of infectious diseases with the maintenance and spread of pathogens in the environment.

**Keywords:** *Chelonoidis*, microbiota, bacterial, pathogen, gastrointestinal.

## ANÁLISIS DE LA MICROFLORA GASTROINTESTINAL DE CHELONOIDIS COMING FROM CAUTIVIDAD DE REGIÓN NOROESTE DE SÃO PAULO

### RESUMEN

El jabuti es una especie de tortuga del género *Chelonoidis*, de la familia de los testudinídeos. En la literatura hay poca información acerca de la naturaleza de estos reptiles en la cadena epidemiológica de la infección. La determinación de la microflora entérica de los animales silvestres es importante no sólo para el conocimiento de los microorganismos que forman la flora intestinal normal de estas especies, sino también en la posibilidad de descubrir nuevos agentes de microorganismos patógenos para los seres humanos y otras especies animales. Con la finalidad de verificar la microflora de *Chelonoidis* se tomarán "frotis" del recto de esta especie de tortugas las cuales se encuentran en el zoológico municipal. El material fue enviado y procesado en el Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria de la UNESP - Campus de Araçatuba. Las muestras fueron manejadas en medios de cultivo para bacterias (agar sangre, Mac Conkey y Sabouraud) se incubaron en una ambiente para bacterias aerobias y anaerobias a una temperatura de 37°C. Serrealizaron pruebas bioquímicas para identificación bacteriana. Las muestras fueron sembradas en medios enriquecidos de agar sangre y MacConkey incubadas en atmósfera aeróbica a una temperatura de 37 ° C durante 24 horas, para luego ser mantenidas en agar Sabouraud en anaerobiosis por 7 a 15 días. La identificación de colonias bacterianas fue realizada en base a sus características morfológicas, de tinción y a través de las pruebas bioquímicas. De las muestras analizadas, sólo en el 55,5% se obtuvieron resultados concluyentes y se logro determinar la prevalencia de *Escherichiacoli* y *Klebsiellaoxytoca* en un 100% y 20% respectivamente, de los casos analizados. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los geoquelônios "influyen" significativamente en Eco-epidemiología de las enfermedades infecciosas con la propagación y el mantenimiento de los agentes patógenos en el medio ambiente.

**Palabras clave:** *Chelonoidis*, la microflora, bacterias, patógenos, gastrointestinales.

## INTRODUÇÃO

Os geoquelônios são animais silvestres e hospedeiros de uma rica diversidade de micro-organismos como bactérias, fungos e vírus que podem atuar como potentes patógenos para o homem e outras espécies de animais podendo acarretar, conseqüentemente, graves problemas de Saúde Pública. Dedicamos nossos estudos a espécie *Chelonoidiscarbonaria* cujo nome vulgar é “jabuti-piranga”, “jabuti de patas vermelhas”, “red-foottortoise”, ou ainda “South American red-foottortoise” (1,2).

Pertence à Classe *Reptilia*, Subclasse *Anapsida* (animais com o teto do crânio sólido, sem aberturas atrás do olho), Ordem *Chelonia*, Família *Testudinidae*. Esta família é representada por doze gêneros e cerca de quarenta espécies, todas terrestres (3,4).

Os "jabutis de patas vermelhas", são encontrados em zonas tropicais da América do Sul: nas Guianas, Venezuela, Equador, Paraguai, Brasil e algumas ilhas do Caribe (5,6).

No Brasil, duas espécies são originárias das florestas úmidas. Uma delas é a *Chelonoidiscarbonaria*, conhecida como Jabuti-piranga e a outra é a *Chelonoidisdenticulata*, também chamada de Jabuti-tinga.

O jabuti-piranga, por viver em regiões mais abertas, como a borda das matas e os campos dos cerrados, é a espécie mais conhecida. Infelizmente, pelos mesmos motivos, ele é caçado com frequência para consumo da sua carne e para a venda como animal de estimação, atividades proibidas por lei. No Brasil, aparece dos estados da Amazônia até o norte de São Paulo.

A alimentação do jabuti é feita principalmente à base de frutos, mas os jabutis são animais onívoros, ou seja, se alimentam de quase qualquer substância orgânica. Costumam comer carne, frutas doces, verduras e legumes. Possuem hábitos diurnos e passam o tempo em busca de alimento, especialmente os de cores vermelhas e amarelas.

Apesar das leis de proteção à fauna nativa, vários exemplares de geoquelônios são criados em cativeiro no Brasil, seja como animais de estimação, em zoológicos ou em criatórios comerciais legalizados, predispondo um maior contato entre o homem e os possíveis patógenos que estes répteis exóticos possam vir a hospedar.

Este contato aproxima agentes infecciosos ou parasitários no sentido de encontrarem novos hospedeiros e novos ambientes nos quais existam condições de manutenção, multiplicação e transmissão dos mesmos (7).

O crescente aumento de répteis, em especial jabutis como pet, mostra a grande importância do aprofundamento de estudos microepidemiológicos nesses animais. Cuidados com a higiene são imprescindíveis para a manutenção destes em cativeiro. Recomenda-se que a limpeza de terrários seja frequente e a troca de água seja diária. Os utensílios de cada terrário devem ser exclusivos do terrário, evitando dessa maneira carrear micro-organismos de um local para outro.

Os micro-organismos que compõe a microbiota normal do jabuti podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos encontram-se debilitados. Além disso, a eliminação contínua destes micro-organismos por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes pode representar um importante problema para pessoas que mantenham contato com estes animais (8).

A medicina humana não está familiarizada com as zoonoses transmitidas por répteis e, raramente, durante uma consulta, procede-se à averiguação sobre informações acerca do contato entre o paciente e um réptil de estimação (9).

Alguns fatores podem ser classificados como predisponentes para a ocorrência de infecções por bactérias presentes na microbiota saudável dos geoquelônios, como má nutrição, alta umidade e água de baixa qualidade.

Os répteis constituem um dos grupos de vertebrados que apresentam variações significantes em seu regime alimentar, isso faz com que cada animal possua uma microflora gastrointestinal própria e característica, influenciada pelo habitat e pelo tipo de alimentos ingeridos. O conhecimento a respeito da microbiota presente em uma população de geoquelônios silvestres é essencial para se identificar os possíveis reservatórios responsáveis pela transmissão de prováveis zoonoses.

O objetivo geral do presente trabalho foi rastrear e avaliar a microbiota gastrointestinal do *Chelonoidis* e identificar sua importância na ecoepidemiologia de doenças infecciosas, verificando, conseqüentemente, a manutenção e a propagação de patógenos no ambiente, já que há uma escassez de dados nestes animais quanto a este assunto.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas fezes de nove (09) jabutis, membros do gênero *Chelonoidis*, de ambos os sexos, adultos com idade variável, mantidos no Zoológico Municipal Dr. Flávio Leite Ribeiro, na cidade de Araçatuba, São Paulo. Os animais foram imobilizados, por contenção mecânica, e amostras de fezes foram colhidas, utilizando *swabs* retais, posteriormente acondicionadas em isopor com gelo e imediatamente submetidas a análises no Laboratório de Microbiologia da Unesp-Araçatuba.

As fezes foram semeadas em meios de MacConkey e ágar enriquecido com sangue ovino a 5% desfibrinado e incubadas em atmosfera de aerobiose à temperatura de 37°C em estufa bacteriológica por 24 h, 48 h e 72 h respectivamente.

Os cultivos bacterianos foram observados e identificados de acordo com as características morfológicas das colônias e do micro-organismo quando submetido à coloração de Gram. Posteriormente, procedeu-se com provas bioquímicas (Triple sugar iron, motilidade, indol, Lisina, e citrato) para a identificação do gênero e espécie bacteriana, segundo Quinn (10).

## RESULTADOS

Das nove (09) amostras analisadas, cinco apresentaram crescimento de micro-organismos da família das Enterobacteriaceae, representando 55,5% dos isolamentos. As demais culturas, 44,5% apresentaram crescimento exuberante de múltiplas colônias em associação, caracterizando por crescimento maciço de contaminantes, não sendo possível o isolamento e a identificação de micro-organismos. As espécies de maior ocorrência foram *Escherichia coli*, apresentando crescimento puro e exuberante em 100%, das amostras, seguida pela *Klebsiella oxytoca* com 20% dos isolados. Os resultados demonstraram uma totalidade de bactérias Gram negativas fermentadoras ( $P < 0,05$ ) em todas as amostras consideradas.

## DISCUSSÃO

A popularidade de diferentes répteis criados como animais de estimação vem crescendo e tem causado preocupação quanto ao seu impacto na saúde pública. Segundo Johnson-Delaney (9), répteis criados em domicílios podem apresentar risco potencial de transmissão de diferentes micro-organismos.

Um estudo realizado por Pessoa (11), em estabelecimentos comerciais credenciados pelo IBAMA, durante o período de 12 meses, constatou que os jabutis (*C. carbonaria*) representaram 31,13% das principais espécies vendidas, o que mostra ser uma espécie cativante e de interesse para animal de estimação.

Os dados obtidos no presente estudo concordam com os resultados de Pessoa (12), que ao analisar a microbiota bacteriana presente na cloaca de 100 jabutis criados em domicílio, encontrou as maiores prevalências para *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. com 67% e 54%, respectivamente. Semelhantemente, aos apresentados por Benites et al. (13), onde os autores isolaram *E. coli* (67%) e *Klebsiella* (57%), além de outros micro-organismos a partir de suabes cloacais. Diferentemente dos resultados encontrados por Meyer-Junior et al. (14) quando *E. cloacae* foi o micro-organismo de maior frequência (27,45%), seguido por *Klebsiella pneumoniae* com 17,65% de 116 amostras de tartarugas da amazônia.

A *Escherichia coli* é um dos micro-organismos em que as estirpes são tidas como naturais da flora microbiana intestinal da maioria dos animais, sendo consideradas inofensivas, entretanto, outros tipos podem levar a doenças sérias por serem hemorrágicas, devido a produção de grande quantidade de toxinas, provocando severos danos à mucosa intestinal, principalmente em jovens e imunocomprometidos (15), além da possibilidade de se alcançar as vias urinárias, causarem infecções sérias, por ser um patógeno agressivo no trato urinário (16).

Outro patógeno de grande importância encontrado neste estudo pertencia ao gênero *Klebsiella*, semelhantemente aos resultados apresentados por Meyer-Junior et al. (14) sendo um habitante comum no trato respiratório, intestinal e urogenital, podendo acarretar infecções graves em imunocomprometidos.

Os resultados revelam que geoquelônios podem hospedar micro-organismos patogênicos em suas fezes; podendo, portanto atuar de forma ativa na ecoepidemiologia de doenças infecciosas. Embora, o número de amostras seja pequeno, os resultados revelam uma tendência à homogeneidade microbiana que compõe a microbiota da espécie, já que esses animais dividem o mesmo recinto como habitat e recebem a mesma dieta alimentar. Vale ressaltar, que a falta de cuidados com os animais jovens podem trazer deficiência imunológica, impossibilitando-os de manter um controle suficiente e eficaz contra os agentes patogênicos adquiridos (12). Os resultados ainda nos permite inferir sob os cuidados necessários com o material biológico durante todos os procedimentos, a fim de evitar perdas das amostras, prejudicando o trabalho.

O conhecimento de novos nichos e *habitat* nos permite a elaboração de estratégias que visem inibir a veiculação de determinadas doenças que possam ser consideradas zoonoses. Sendo os geoquelônios animais de sangue frio sua microflora gastrointestinal pode apresentar bactérias com características particulares e adaptadas ao hospedeiro sendo, portanto, necessárias outras pesquisas específicas que nos permitam maior conhecimento.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo possibilitam concluir que os *Chelonoidis*, são hospedeiros de importantes patógenos, o que enfatiza sua relevância na ecoepidemiologia de doenças infecciosas, confirmando, conseqüentemente, a manutenção e a propagação de tais patógenos no ambiente. Principalmente, quando presentes em cativeiro, pois a transmissão entre os animais torna-se facilitada pelo compartilhamento de espaço, muitas vezes restrito, e consorciado a outros animais, possibilitando a transmissão de zoonoses.

## AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem ao Médico Veterinário Dr. Eustáquio Zacour de Azevedo responsável pelo Zoológico Municipal Dr. Flávio Leite Ribeiro, da cidade de Araçatuba/SP, por permitir a colheita do material biológico.

**REFERÊNCIAS**

1. Ernst CH, Barbour RW. Turtles of the world. Washington, DC: Smithsonian Institution Press; 1989.
2. Lehrer J. The world of turtles and tortoises. New York: Tetra Press; 1993.
3. Mader DR. Reptile medicine and surgery. St. Louis: Saunders Elsevier; 1996.
4. Schimidt-Nielsen K. Fisiologia animal: adaptação ao meio ambiente. 5a ed. São Paulo: Santos; 1996.
5. Pritchard PCH. Encyclopedia of turtles. New Jersey: TFH Publication; 1979.
6. Levine D, Schafer D. Red-footed tortoise, *Geochelone carbonaria*. Tortuga Gazette. 1992;28(1):1-3.
7. Corrêa SHR, Passos EC. Wild animals and public health. In: Fowler ME, Cuba ZS. Biology, medicine, and surgery of south American wild animals. Ames: Iowa State University Press; 2001. p.493-9.
8. Frye FL. Reptile care. An atlas of diseases and treatments. Neptune City, NJ: TFH Publications; 1991.
9. Johnson-Delaney CA. Reptile zoonoses and threats to public health. In: Mader DR. Reptile medicine and surgery. London: WB Saunders Company; 1996. p.20-33.
10. Quinn PJ. Clinical veterinary microbiology. London: Wolf Publishing; 1994.
11. Pessoa A. Estudo de acompanhamento na venda de animais legalizados por loja legalizada e especializada em espécimes silvestres [Internet]. 2006 [Cited 2013 Jun 10]. Available from: [http://www.animalexotico.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=113:estudo-de-acompanhamento-na-venda-de-animais-legalizados-por-loja-legalizada-e-especializada-em-especimes-silvestres&catid=2:geral&Itemid=4](http://www.animalexotico.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=113:estudo-de-acompanhamento-na-venda-de-animais-legalizados-por-loja-legalizada-e-especializada-em-especimes-silvestres&catid=2:geral&Itemid=4)
12. Pessoa CA. Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica presente na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial risco à saúde humana [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2009.
13. Benites NR, Pessoa C, Bandini L, Saidenberg A, Moreno A, Sakata S, et al. Microbiota Bacteriana e fúngica presentes na cloaca de Jabutis-Piranga (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio. Vet Zootec. 2013;20(1):102-10.
14. Meyer-Junior JC, Dias H, Araujo J. Determinação qualitativa das enterobactérias presentes no trato digestivo de tartarugas da Amazônia (Podocnemis expansa) mantidas em cativeiro. In: VII Congresso internacional sobre manejo de animais silvestres na Amazônia e América Latina; 2006; Ilhéus. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz; 2006.

15. Combate a E. coli. Rev Pesq Med [Internet]; 2008 [cited 2010 Fev 11]. Available from: <http://www.revistapesquisamedica.com.br/PORTAL/textos.asp?codigo=11109>.
16. Spindola S. Ocorrência de Escherichia coli em culturas de urina no setor de microbiologia do Ambulatório Pam Antônio Ribeiro Netto. Novo Enfoque Rev Eletron. 2007;5(5):1-12.

**Recebido em: 03/07/2014**

**Aceito em: 01/06/2015**