

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação  
Centro de Ciência Biológicas e da Saúde  
Universidade Federal de Mato Grosso Do Sul

**Ocorrência de agentes infecciosos em carnívoros silvestres e cães  
domésticos no Pantanal Sul.**

Mario Henrique Alves



Campo Grande  
2024

Ocorrência de agentes infecciosos em carnívoros silvestres e cães domésticos no Pantanal Sul.

Mario Henrique Alves

Dissertação apresentada como **requisito** para a obtenção do título de **Mestre em Ecologia**, pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Paiva

## **Banca Avaliadora**

Dr. Fernando de Souza Rodrigues  
Universidade Estadual de Londrina

Dr. Luiz Eduardo Rolland Tavares  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Oliveira Santos  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dra. Meire Christina Seki  
Universidade Estadual do Centro-Oeste

Dr. Rogério Ribas Lange  
Universidade Federal do Paraná

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a minha mãe Angela Maria Sarti, pelo apoio incondicional e incentivo a busca pela educação durante toda minha vida.

A todos meus familiares, em especial minha irmã Ana Claudia Sarti Alves, meu pai Mario Antonio Alves, meu padrasto Melci Miguel Borella, minha tia e madrinha Marcia Rosana Alves pelo importante apoio em diferentes fases da minha vida.

À minha esposa Stephany Bermudez por estar comigo nessa jornada durante o mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Paiva, pela oportunidade que me proporcionou de retornar aos estudos acadêmicos e por contribuir com meu crescimento acadêmico e profissional.

A todos da equipe do Instituto de Conservação de Animais Silvestres (ICAS) e do Projeto Bandeiras e Rodovias, e em especial ao coordenador Dr. Arnaud L.J. Desbiez por possibilitar o cenário para que esse mestrado fosse possível.

A todos os envolvidos nas análises laboratoriais: À Prof. Dra. Marta M. G. Teixeira e ao doutorando Evaristo Villalba Alemán, do Laboratório de Taxonomia e Filogenia de Tripanossomatídeos do Instituto de Ciência Biológicas da Universidade de São Paulo. À Prof. Dra. Aline Santana da Hora e a doutoranda Nathana Beatriz Martins, do Laboratório de Investigação Etiológica da Universidade Federal de Uberlândia. Ao pesquisador Dr. Renato Andreotti e Silva e a Dra. Pâmella Oliveira Duarte, do Grupo de Pesquisa Animal da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Gado de Corte.

Aos membros da banca do exame de qualificação que auxiliaram na correção e melhoria do trabalho: Dra. Fabiana Lopes, Rocha, Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Oliveira Santos e Dr. Heitor Miraglia Herrera.

Aos membros da banca de avaliação final: Dr. Fernando de Souza Rodrigues, Dr. Luiz Eduardo Rolland Tavares, Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Oliveira Santos, Dra. Meire Christina Seki e Dr. Rogério Ribas Lange.

À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul pela excelente formação e a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento, Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul pela bolsa de mestrado concedida.

Muito obrigado!

## Índice

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>07</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>08</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>09</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
<i>Área de estudo.....</i>	<i>14</i>
<i>Amostragem.....</i>	<i>15</i>
<i>Diagnósticos laboratoriais.....</i>	<i>18</i>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
<i>Borrelia spp.....</i>	<i>24</i>
<i>Rickettsia spp.....</i>	<i>25</i>
<i>Cytauxzoon felis.....</i>	<i>27</i>
<i>Hepatozoon spp.....</i>	<i>28</i>
<i>Leishmania spp.....</i>	<i>30</i>
<i>Trypanosoma spp.....</i>	<i>31</i>
<i>Neospora caninum.....</i>	<i>31</i>
<i>Toxoplasma gondii.....</i>	<i>32</i>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>

## Lista de Tabelas

**Tabela 1.** Lista dos agentes patogênicos e respectivos genes como alvos para amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR), *set* de primers e parâmetros dos ciclos empregados, e as respectivas referências bibliográficas.....19

**Tabela 2.** Lista das espécies de carnívoros silvestres e cães domésticos amostrados, e respectivas informações da ficha de identificação, ano de coleta, coordenadas geográficas, sexo, idade estimada, tipo de amostra e respectivos resultados das reações em cadeia da polimerase.....23

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Foto aérea da área de amostragem, com destaque da rodovia BR-262 no estado do Mato Grosso do Sul, trechos Aquidauana – Miranda (a) e Miranda – Corumbá (b).....15
- Figura 2.** Exemplos de necrópsias de carnívoros silvestres realizadas na rodovia BR-262 no Estado do Mato Grosso do Sul, trecho Aquidauana-Corumbá (a). gato mourisco (b), cachorro-vinagre (c), jaguatirica (d), quati (e), jaritataca (f), gato-palheiro (g), lontra (h), cachorro-do-mato (i), mão-pelada (j).....16
- Figura 3.** Mapa da América do Sul, com destaque para o Brasil e o estado do Mato Grosso do Sul, indicando os pontos de coleta das amostras de carnívoros silvestres vítimas de colisão veicular e dos cães domésticos nas cercanias da rodovia BR-262: trecho Aquidauana-Corumbá. Imagens de uso e cobertura do solo obtidas no MapBiomas 2021..... 17
- Figura 4.** Rede bipartida demonstrando os agentes etiológicos encontrados por meio de diagnóstico molecular nas amostras de carnívoros silvestres e cães coletadas na BR262, Mato Grosso do Sul. Legendas: CDM: cachorro-do-mato; QUA: quati; LON: lontra; GM: gato-mourisco; JAG: jaguatirica; OP: onça-pintada; MP: mão-pelada; JAR: jaritataca; GP: gato palheiro; CV: cachorro-vinagre e CAO: cachorro-doméstico.....22

## Resumo

A maioria das doenças infecciosas emergentes e reemergentes no mundo são zoonoses com origem no ambiente silvestre. Entre os fatores associados à emergência e reemergência de doenças pode-se destacar urbanização, desmatamento e fragmentação de habitats, características que aumentam o contato entre animais domésticos ou silvestres e humanos. Os carnívoros selvagens e os cães semi-domiciliados podem compartilhar parasitos através do contato direto ou indireto em diversas regiões do mundo, como por exemplo o Pantanal. O objetivo do presente estudo foi determinar, por meio de diagnósticos moleculares qualitativos (PCR), a presença de patógenos transmitidos por vetores como: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Cytauxzoon felis*, *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., e *Trypanosoma* spp.; ou mesmo infecciosos por cistos ou oocistos como *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondi* usando amostras de baço de carnívoros silvestres atropelados e amostras de sangue de cães domésticos obtidas nas margens da rodovia BR262 entre Aquidauana e Corumbá, no Mato Grosso do Sul. Do total de 54 amostras examinadas, sendo 26 de carnívoros silvestres e 28 de cães domésticos, 20 (37%) estavam positivas para ao menos um dos agentes patógenos analisados, sendo o agente mais prevalente o *Hepatozoon* spp., diagnosticado em 15 amostras. O presente estudo apresenta os primeiros relatos diagnóstico molecular positivo de *Neospora caninum* e *Hepatozoon* spp. em cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*) e de *Hepatozoon* spp. em lontras de vida livre (*Lontra longicaudis*) e ressalta a importância da utilização de carcaças de animais atropelados como ferramenta epidemiológica com potencial para detecção de agentes importantes para a saúde pública.

## Abstract

Most emerging and re-emerging infectious diseases in the world are zoonoses and originate in wildlife. The main factors associated with the emergence or re-emergence of infectious diseases are, urbanization, deforestation, and fragmentation of habitats, which together predispose to a higher contact among wildlife, humans and domestic animals. Wild carnivores and dogs can share parasites through direct or indirect contact in various regions of the world, especially high biodiverse sites such as the Pantanal Wetland. The objective of this study was to detect, through molecular diagnostics (PCR), the presence of vector borne pathogens such as: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Cytauxzoon felis*, *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., and *Trypanosoma* spp.; or infectious by cysts or oocysts such as *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondi* using spleen samples from roadkill wild carnivores and blood samples from domestic dogs obtained along the BR262 highway between Aquidauana and Corumbá, in Mato Grosso do Sul. Out of 54 samples examined, 26 from wild carnivores and 28 from dogs, 20 (37%) were positive for at least one pathogenic agent analyzed, the most prevalent agent being *Hepatozoon* spp., with diagnosed in 15 samples. This study presented the first reports of positive molecular diagnosis of *Neospora caninum* and *Hepatozoon* spp. in bush dog (*Speothos venaticus*) and for *Hepatozoon* spp. in a neotropical otter (*Lontra longicaudis*), highlighting the importance of using carcasses of roadkill animals as ‘sentinels’ for monitoring and detection of pathogenic agents at risk to public health.

## **Introdução**

Doenças infecciosas emergentes e reemergentes em humanos e animais selvagens estão aumentando a um ritmo alarmante, com consequências prejudiciais para a saúde pública, a saúde dos ecossistemas e a biodiversidade (Cohen 2000, Dobson & Foufopoulos 2001). Entre as doenças infecciosas emergentes predominam as zoonoses (60,3%); a maioria destas (71,8%) têm origem em ambiente silvestre e tendem a aumentar significativamente com o tempo (Jones et al. 2008). Dentre elas, as doenças transmitidas por vetores artrópodes representam cerca de um quarto das que são consideradas emergentes em todo o mundo (Morens et al. 2004).

Dentro da perspectiva da ecologia de comunidades, os organismos parasitas são cada vez mais reconhecidos como constituintes “ocultos”, porém vitais nas comunidades naturais (Morand & Gonzalez 1997, Thompson et al. 2001). Por outro lado, no âmbito da ecologia aplicada, entender o contexto de comunidade de doenças infecciosas é extremamente importante (Holt & Dobson 2006), pois tal compreensão pode melhorar nossa capacidade de interpretar e mitigar o surgimento de novas doenças infecciosas (Daszak et al. 2000, Woolhouse 2002). Desta forma, a manutenção da dinâmica hospedeiro-parasita natural pode ser crucial para manter a diversidade de espécies e facilitar a sucessão dinâmica (Gilbert 2002), e a interrupção antropogênica pode potencialmente levar a mudanças em cascata nas interações hospedeiro-parasita, com efeitos devastadores na estrutura da comunidade (Holt & Dobson 2006).

Os principais fatores associados à emergência ou reemergência de doenças transmitidas por vetores, incluem as transformações das paisagens, em decorrência de ações antrópicas como expansão das urbanizações com alterações no uso do solo, desmatamento e fragmentação de habitat. Esses fatores associados predisõem a um maior contato entre

animais selvagens, animais domésticos, vetores e seres humanos (Beugnet & Chalvet-Monfray 2013, Otranto et al. 2015, Alvarado-Rybak et al. 2016).

Os carnívoros selvagens e domésticos compartilham muitas espécies de artrópodes parasitas e patógenos associados, portanto reforçando a manutenção e a circulação dos agentes transmitidos por vetores em localidades onde eles vivem em simpatria (Otranto et al. 2017), além disso são considerados como fonte principal de agentes zoonóticos transmitidos por carrapatos para humanos (André 2018). Diferentes espécies de carnívoros podem adaptar-se ao ambiente urbano e periurbano (Gehrt et al. 2010), e há cada vez mais evidências do papel dos carnívoros no ciclo de vida dos agentes patogênicos importantes em saúde pública e veterinária (Millán et al. 2016).

A ordem mamífera Carnivora inclui as espécies domésticas, cães e gatos, e grandes predadores, como grandes felídeos e canídeos (Valkenburgh & Wayne 2010). As cerca de 226 espécies de carnívoros no mundo exercem uma influência nas comunidades biológicas por meio da predação e da competição interespecífica (Treves & Karanth 2003), em cuja ação regulam ou limitam o número de suas presas, alterando assim a estrutura e a função de ecossistemas inteiros (Schaller 1972, Berger et al. 2001, Terborgh et al. 2002).

Os cães foram domesticados há mais de 14.000 anos (Vila et al. 1999) e, à medida que as populações humanas cresceram, também cresceram as populações de cães (Sepúlveda et al. 2014). Atualmente, a população mundial de cães é estimada em mais de 700 milhões (Hughes & Macdonald 2013), sendo considerado o carnívoro mais comum no planeta (Wandeler et al. 1993). Cães de rua ou “semi-domiciliados”, aqueles que não estão permanentemente presos ou sob controle humano e podem ter proprietários ou não, representam cerca de 75% da população mundial de cães (Hughes & Macdonald, 2013). Durante suas atividades, esses cães interagem com a vida selvagem em vários níveis, inclusive

como predadores (Kruuk & Snell 1981, Campos et al. 2007, Guedes et al. 2021), presas (Carral-García et al. 2021), competidores (Butler et al. 2004, Vanak et al. 2009) e reservatórios ou vetores de doenças (Fiorello et al. 2006a, Ellwanger et al. 2019).

Seres humanos e seus animais de companhia mais comuns (gatos e cachorros) compartilham mais de 60 zoonoses parasitárias (Macpherson 2005), como consequência, os cães podem, potencialmente, atuar como condutores de eventos de “*spillover*”: o “salto de patógenos” dos animais selvagens para outras espécies animais, incluindo seres humanos (Ellwanger et al. 2019).

A planície de inundação do Pantanal, no Centro-Oeste do Brasil, com seu mosaico de pântanos, savanas inundadas sazonalmente, bosques e florestas, é conhecida como uma das áreas prioritárias da vida selvagem da América do Sul (Trolle 2003). A região abriga uma rica fauna de mamíferos e é um reduto para várias dessas espécies (Trolle 2003). Das 152 espécies de mamíferos descritas no Pantanal, 19 são da ordem Carnívora que se distribuem nas famílias Felidae (8), Canidae (4), Mustelidae (4), Mephitidae (1) e Procyonidae (2) (Tomas et al. 2010).

No Pantanal, alguns estudos apontam a presença de patógenos transmitidos por vetores em carnívoros (Herrera et al. 2008, Herrera et al. 2011, Melo et al. 2011, Widmer et al. 2011, Rocha et al. 2013, Santos et al. 2013, Olifiers et al. 2015, De Sousa et al. 2017a, De Sousa et al. 2017b, De Sousa et al. 2018a, De Sousa et al. 2018b, Alberigi et al. 2019, Santos et al. 2021), *Neospora* e *Toxoplasma* (Tiemann et al. 2005, Onuma et al. 2014, Soares et al. 2016, Melo et al. 2019); no entanto o seguimento dos estudos é necessário para maior compreensão da circulação desses agentes entre carnívoros domésticos e silvestres, e suas possíveis consequências do ponto de vista da saúde única, que é uma abordagem interdisciplinar para combater ameaças para a saúde de animais, seres humanos e do ambiente que compartilham. (Dantas-Torres et al. 2012).

Entre muitos métodos para avaliar a saúde em populações de animais selvagens, a amostragem biológica em animais atropelados em rodovias tem sido utilizada como ferramenta para estudos eco epidemiológicos pelo mundo (Hawkins et al. 2006, Richini-Pereira et al. 2010, Szekeres et al. 2019, Battisti et al 2020, Calchi et al. 2020) já que essas carcaças podem ser utilizadas como "sentinelas" para a monitorização de contaminantes ambientais e da ecologia de doenças. (Schwartz et al. 2020)

O objetivo do presente estudo foi determinar, por meio de diagnósticos moleculares qualitativos (PCR), a presença de patógenos transmitidos por vetores como: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Cytauxzoon felis*, *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., e *Trypanosoma* spp.; ou mesmo infecciosos por cistos ou oocistos como *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, utilizando amostras de tecidos de carnívoros silvestres mortos por colisões veiculares e amostras de sangue de cães domésticos semi-domiciliados no Pantanal Sul.

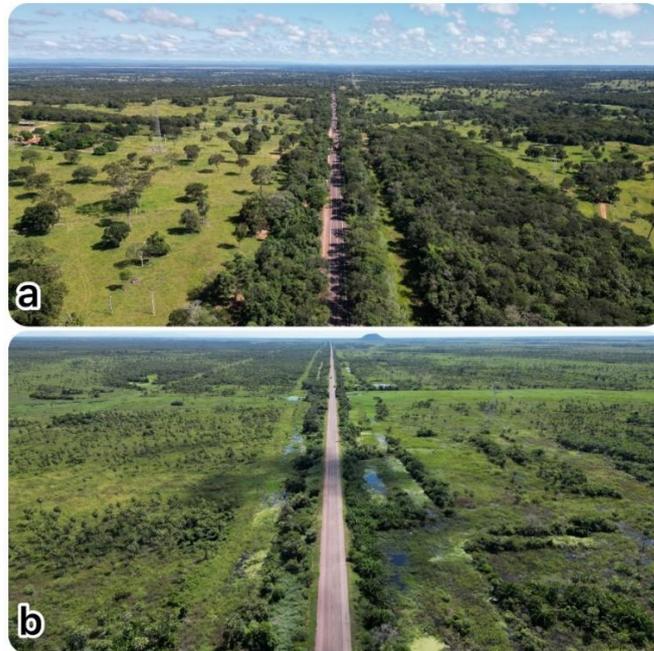
## **Métodos**

### *Área de estudo*

A BR262 é uma rodovia federal que corta a região Centro-Sul do Brasil, atravessando os biomas Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal, nos estados de Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em um trajeto total de 2295km, que tem como extremos a cidade de Vila Velha/ES, na costa atlântica, e Corumbá/MS, na fronteira com a Bolívia.

O trajeto que compõem a área de estudo do projeto é um pequeno trecho mais ocidental da rodovia, entre Aquidauana/MS e Corumbá/MS. Esse trecho da BR262 tem 296km e é composto por pista simples onde são observados diferentes níveis de urbanização e com predomínio de extensas áreas ocupadas por pastagem e vegetação nativa. A diversidade da

fauna local é alta, sendo frequente a ocorrência de acidentes com vertebrados silvestres que atravessam a estrada quando da circulação entre o seu habitat. (Figura 1) (Fischer 1997).



**Figura 1.** Foto aérea da área de amostragem, com destaque da rodovia BR-262 no estado do Mato Grosso do Sul, trechos Aquidauana – Miranda (a) e Miranda – Corumbá (b).

### *Amostragem*

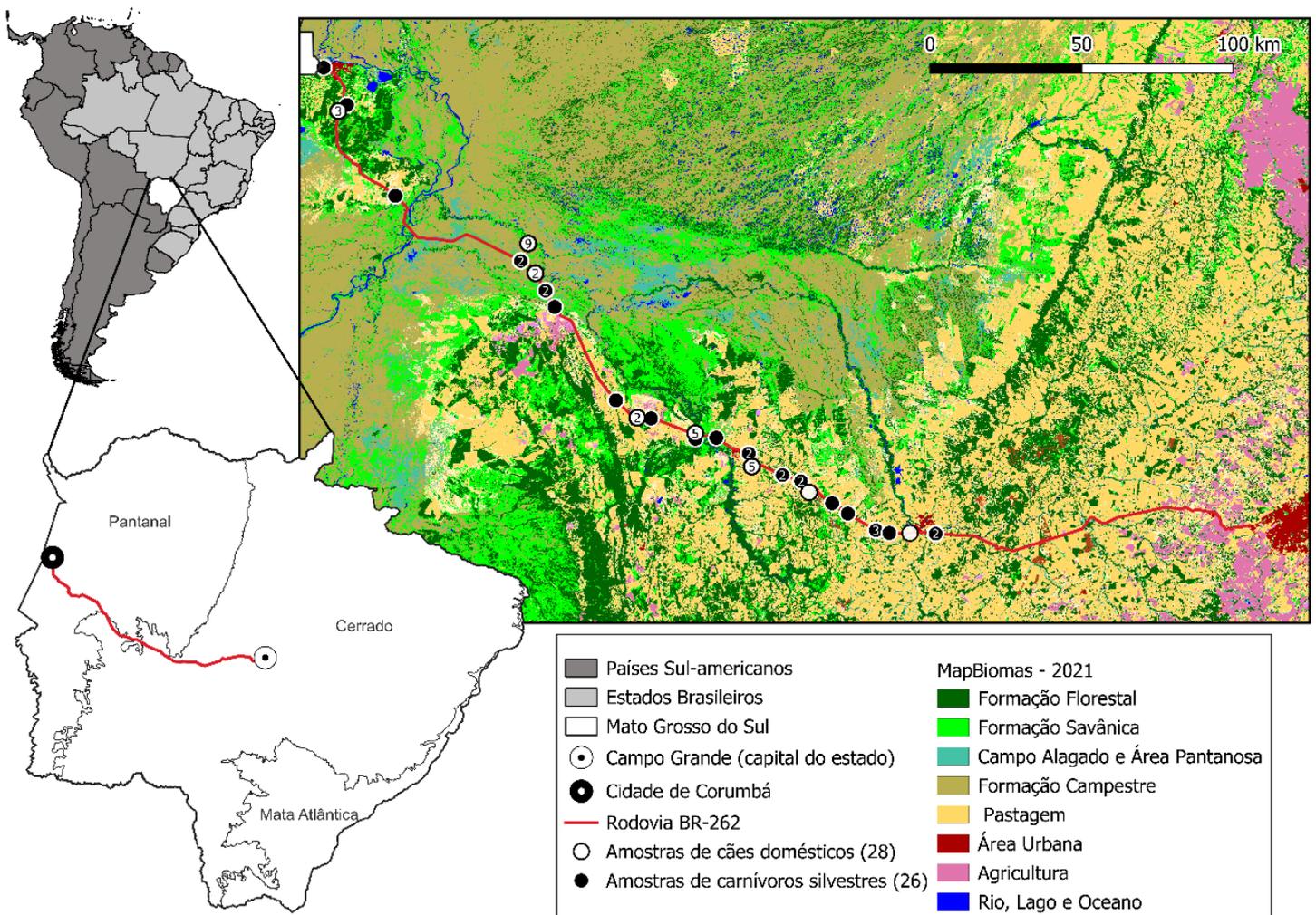
Durante os monitoramentos de fauna atropelada pelo Instituto de Conservação de Animais Silvestres – ICAS (SISBIO 53798) na BR262 entre Aquidauana e Corumbá no período de 2018 a 2023, foram coletadas amostras de baço de carnívoros selvagens encontrados atropelados (Figura 2). Carcaças de carnívoros encontradas foram retiradas da rodovia e, aquelas ainda não autolisadas, foram colhidas amostras de baço e armazenadas em tubo contendo álcool 70GL. Informações sobre as carcaças; tais como espécie, data da coleta e coordenadas geográficas foram anotadas. Foram 26 amostras de carnívoros silvestres: 5 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), 5 quatis (*Nasua nasua*), 4 lontras (*Lontra longicaudis*), 3 gatos-mouriscos (*Herpailurus yagouaroundi*), 2 mãos-pelada (*Procyon cancrivorus*), 2

jagatiricas (*Leopardus pardalis*), 2 onças-pintadas (*Panthera onca*), 1 cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), 1 jaritataca (*Conepatus chinga*) e 1 gato-palheiro (*Leopardus colocolo*). Gato-mourisco, onça-pintada, cachorro-vinagre e gato-palheiro são considerados ameaçados de extinção pela Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção (MMA 2022), embora nenhuma dessas espécies seja considerada ameaçada de extinção globalmente pela União Internacional pela Conservação da Natureza (IUCN).



**Figura 2.** Necrópsias de carnívoros silvestres realizadas na rodovia BR-262 no Estado do Mato Grosso do Sul, trecho Aquidauana-Corumbá. Exemplo de carcaças das espécies encontradas: (a). gato-mourisco (b), cachorro-vinagre (c), jagatirica (d), quati (e), jaritataca (f), gato-palheiro (g), lontra (h), cachorro-do-mato (i), mão-pelada (j).

Adicionalmente, em abril de 2023 foi realizada, em áreas adjacentes a rodovia BR262, a coleta de amostra de sangue de 28 cães domésticos semi-domiciliados. As amostras de sangue dos carnívoros domésticos foram acondicionadas em tubos Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA e processadas tendo como alvos os mesmos patógenos que foram buscados nas amostras dos carnívoros silvestres. Os pontos de coleta de todas as amostras de carnívoros silvestres e de cães domésticos estão indicados no mapa, representado na Figura 3.



**Figura 3.** Mapa da América do Sul, com destaque para o Brasil e o estado do Mato Grosso do Sul, indicando os pontos de coleta das amostras de carnívoros silvestres vítimas de colisão veicular e dos cães domésticos nas cercanias da rodovia BR-262: trecho Aquidauana-Corumbá. Imagens de uso e cobertura do solo obtidas no MapBiomias 2021.

### *Diagnósticos laboratoriais*

A extração de DNA das amostras de baço dos carnívoros silvestres foi realizada por meio do protocolo padrão de fenol-clorofórmio de Sambrook et al. (1989). A extração de DNA das amostras de sangue de cães domésticos foi realizada utilizando o kit de purificação de DNA Wizard® A1125 e seguindo todas as recomendações do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotometria (NanoDrop One Microvolume UV-vis) e diluídas a aproximadamente 100ng/μL para as PCR.

Para o diagnóstico molecular de *Borrelia* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Neospora caninum*, *Rickettsia* spp. e *Toxoplasma gondii* foi utilizada a técnica de PCR convencional. Os ensaios foram realizados em 25μL de volume total, contendo 1μL de amostra de DNA (100ng/μL), 0,5μM de cada primer específico (Tab. 1) e sonda de hidrólise TaqDNA Polymerase (LGC Biotechnology), 2,5μL de tampão de reação 10x, e água estéril ultrapura para completar o volume total.

Para o diagnóstico molecular de *Cytauxzoon felis* e *Hepatozoon* spp. a técnica utilizada foi o PCR em tempo real utilizando o GoTaq® qPCR Master Mix (Promega Corporation), de acordo com o protocolo do fabricante. Os ensaios de *Cytauxzoon* spp. foram realizados em 20μL de volume total, contendo 3μL de amostra de DNA, 1μL de cada primer (Tab. 1), 10μL de Master Mix e 5μL de água livre de nuclease. Para os ensaios de *Hepatozoon* spp. os 20μL de volume final continham 1,5μL de amostra de DNA, 0,8μL de cada primer (Tab. 1), 10μL de Master Mix e 6,9μL de água livre de nuclease.

A técnica de “*Fluorescent Fragment Length Barcoding*” (FFLB) detecta e distingue simultaneamente com alta sensibilidade e precisão espécies e genótipos de tripanossomatídeos, para a realização da reação da PCR, o mix de cada reação foi de 0,2mM

de dNTP, tampão de PCR BioTaq® DNA Polymerase, Bioline, 0,5µM de cada primer (Tab. 1), 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 U de RedTaq® (Bioline), 0,1 a 8µg da amostra de DNA como *template* e água livre de nucleases para completar o volume de 10µL. As reações foram realizadas com um dos iniciadores marcados com fluorescente (Proligo Sigma) e o outro padrão. Os produtos das reações de PCR foram analisados em sequenciador automático Applied Biosystems™ 3500 Series (Thermo Fisher Scientific ®, USA), com os mesmos primers empregados na amplificação (HAMILTON et al., 2008).

Como controle negativo foi utilizada água livre de nucleases. Como controle positivo para amostras sabidamente reagentes e disponíveis no laboratório foram utilizadas. Os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2% com detecção por brometo de etídio sob luz ultravioleta. Os detalhes sobre cada primer utilizado e referências estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1. Lista dos agentes patogênicos e respectivos genes como alvos para amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR), set de primers e parâmetros dos ciclos empregados; e as respectivas referências bibliográficas.**

Agentes (gene alvo)	Primers	Tipo da PCR : ciclos	Referência
<i>Borrelia burgdorferi</i> (16SsRNA- 23SsRNA)	Bobu ITS120 s (5'AGGTCATTTGGGGGTTTAGCTCAGTTGGCT3') Bobu ITS720as (5'AGTGTCTGGGCAAATCCAAACTGAAATCTG3')	PCR convencional: 95°C por 2 min, 55 ciclos de 94°C por 15s, 61 °C por 15s e 72°C por 18s, e extensão final a 71°C por 1min.	Maggi et al. (2010)
<i>Borrelia</i> spp. (ITS)	BoIGSA (5'CGACTTTCTTCGCCTTAAAGC3') BoIGSB (5'GTTAAGCTCTTATTCGCTGATGGTA3')	PCR convencional: 95°C por 2min, 55 ciclos de 94°C por 15s, 61°C por 15s e 72°C por 18s, e extensão final a 72°C por 1min.	Maggi et al. (2010)
<i>Cytauxzoon felis</i> (cox3)	cox3 F (5'GCATATCTTCAAATTACAGATACAC3') cox3 R (5'CCAGTAACTGTTTAGTGTAGTTAAC3')	PCR em tempo real: 95°C por 2min, 45 ciclos de 95°C por 15s, 60°C por 60s, e uma temperatura de melting de 60°C para 95°C, aumentando 1°C a cada 5s.	Schreeg et al. (2016)
<i>Hepatozoon</i> (18S rRNA)	HEP-1 (5'CGCGCAAATT ACCCAATT3') HEP-2 (5'CAGACCGGTTACTTTTYAGCAG3')	PCR em tempo real: 95°C por 2min, 45 ciclos de 95°C por 15s, 60°C por 60s, e uma temperatura de melting de 60°C para 95°C, aumentando 1°C a cada 5s.	Criado-Fornelio et al. (2006)
<i>Neospora caninum</i> (Nc5)	NP7 (GGGTGAACCGAGGGAGTTG) NP4 (CCTCCCAATGCGAACGAAA)	PCR convencional: 94°C por 5min, 39 ciclos de 94°C por 1min, 50°C por 1min e 72°C por 3min, e extensão final a 72°C por 5min.	Yamage et al. (1996)

<i>Rickettsia</i> spp. (gltA)	CS-78 (GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT) CS-323 (GCTTCCTTAAAATTC AATAAATCAGGAT)	PCR convencional: 95°C por 3min, 39 ciclos de 95°C por 15s, 55°C por 30s e 72°C por 30s, e extensão final a 72°C por 5min.	Labruna et al. (2004)
<i>Rickettsia</i> spp. (ompA)	RR190.70p (ATGGCGAATATTTCTCCAAAA) RR190.602n (AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT)	PCR convencional: 95°C por 5min, 39 ciclos de 95°C por 1min, 48°C por 20s e 72°C por 3min, e extensão final a 72°C por 5min.	Regnery et al. (1991)
<i>Toxoplasma</i> <i>gondii</i> (B1)	N1 (5' – GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG – 3') Toxo-C1 (5' – TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC – 3').	PCR convencional: 94°C por 5min, 40 ciclos de 94°C por 1min, 60,7°C por 1min e 72°C por 2min, e extensão final de 72°C por 5min.	Burg et al. (1989)
Trypanosomatidae	18S-1 F (ACCGWTTCCGGCTTTTGTGG) 18S- 2 R (CGGTCTAAGAATTTACCTC) 18S-3 F (GACCR TTGTAGTCCACACTG) 18S-4 R (CCCCCTGAGACTGTAACCTC) 28S-1 F (GAAAGAGAGTGACATAGAAC) 28S-2 R (TGTTTCAAGACGGGTGGGGGC) 28S - 2 F (CCCCCACCCGTCTTGAAACA) 28S - 3 R (GGGTCCAAACAGGCACACTC)	PCR FFLB: 95°C por 90s, 30 ciclos de 95°C por 30s, 62°C por 30s e 72°C por 60s, e extensão final a 72°C por 10min.	Hamilton et al. (2008)

## Resultados

Do total de 54 amostras examinadas, sendo 26 de carnívoros silvestres e 28 de cães domésticos, 20 (37%) foram positivas para ao menos um dos patógenos alvos no presente estudo. Dos 20 animais positivos para algum agente, apenas quatro são cães domésticos (Tab. 2 e Fig. 4). Todos os animais foram não reagentes para as PCRs de: *Borrelia* spp. (ITS), *Borrelia burgdorferi* (16SsRNA-23SsRNA) e *Rickettsia* spp. (gene ompA).

O agente infeccioso mais prevalente neste estudo foi o *Hepatozoon*. spp, com um total de quinze animais positivos, sendo três cães domésticos e doze carnívoros silvestres: três quatis, dois mãos-pelada, duas lontras, duas jaguatiricas, um cachorro-vinagre, um cachorro-do-mato e um gato-mourisco. Na PCR para *Cytauxzoon felis* duas onças-pintadas foram positivas.

No diagnóstico molecular para *Neospora caninum* três canídeos silvestres foram positivos, sendo dois cachorros-do-mato e um cachorro-vinagre. Os resultados *Toxoplasma*

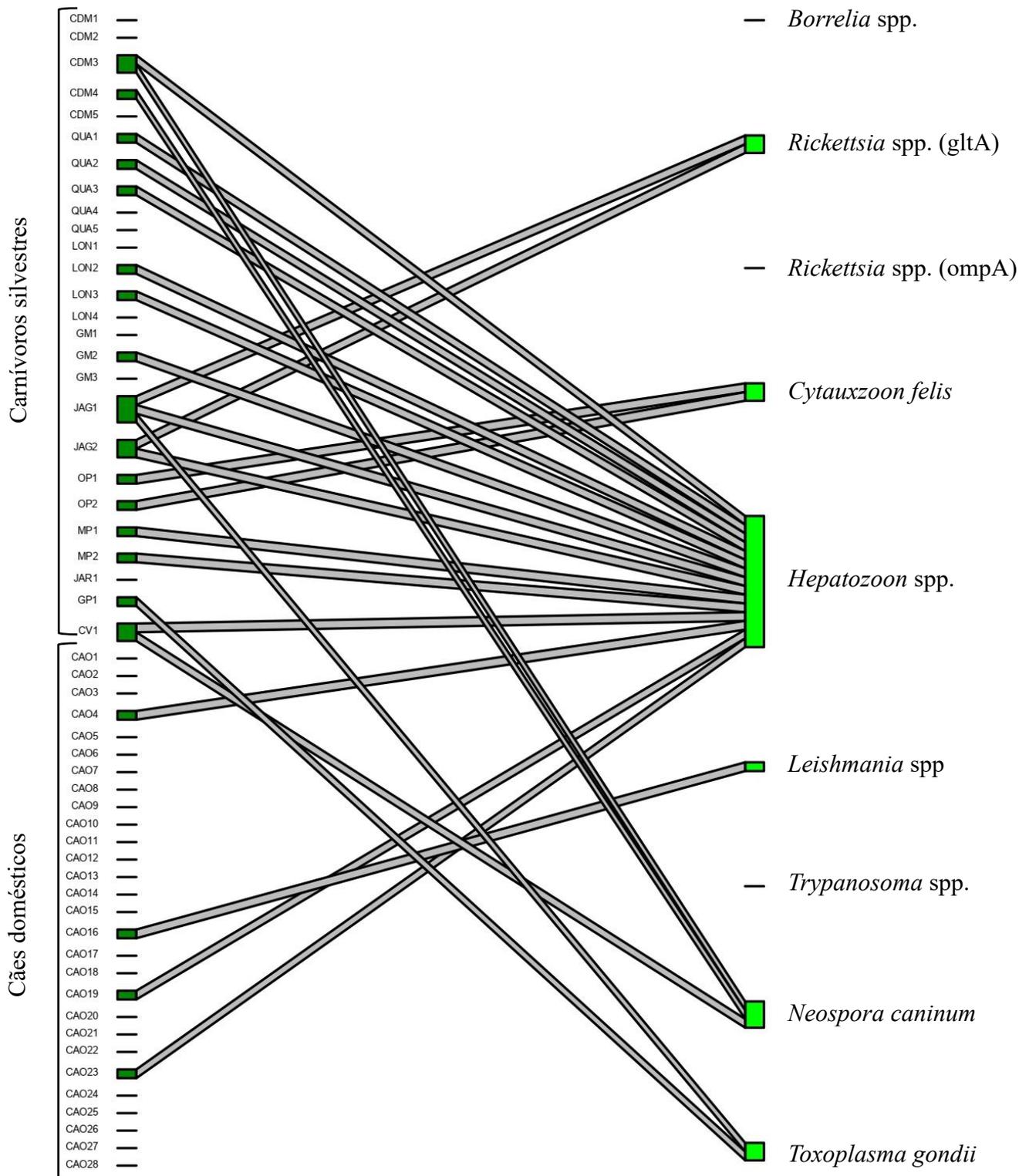
*gondii* (B1) apontaram duas amostras de felídeos silvestres positivas, sendo uma jaguatirica, e um gato-palheiro.

As duas amostras positivas para *Rickettsia* spp. (gene *gltA*), não zoonótica, foram de jaguatiricas. No PCR FFLB para tripanossomatídeos apenas um cão doméstico foi positivo para *Leishmania* spp. Houve três casos de coinfeção, sendo um cachorro-vinagre e um cachorro-do-mato positivos para *Hepatozoon*. spp e *Neospora caninum*; e uma jaguatirica positiva para *Hepatozoon*. spp e *Rickettsia* spp. (*gltA*).

## **Discussão**

Foram utilizadas 26 amostras de baço de carnívoros silvestres colhidas entre 2018 e 2023 e 28 amostras de sangue de cães domésticos colhidas em 2023 no Pantanal Sul. Apesar do longo período de coleta e dos resultados terem um pequeno número amostral, o estudo foi capaz de coletar exemplares de carnívoros extremamente raros e com escassos estudos de saúde, dos quais se pode destacar o cachorro-vinagre, o gato-palheiro e a jaritaca.

No geral, as amostras de carnívoros silvestres apresentaram mais resultados positivos que as amostras de cães domésticos, há que se considerar o impacto do tipo de tecido utilizado para cada grupo. A amostra selecionada para o diagnóstico dos carnívoros silvestres necropsiados foi o baço, considerando que esse é um dos principais locais onde é encontrada alta densidade de patógenos, considerando a função do órgão como um dos maiores do sistema reticuloendotelial, sendo um local chave para acumulação, multiplicação e fagocitose de agentes como a *Leishmania* (Reis et al. 2006, Maia et al. 2009), entre outros. No caso dos cães domésticos vivos, a amostra de sangue foi selecionada por ser considerada a melhor amostra dentre as possibilidades de coleta a campo, e menos invasiva.



**Figura 4.** Rede bipartida demonstrando os agentes etiológicos encontrados por meio de diagnóstico molecular nas amostras de carnívoros silvestres e cães coletadas na BR262, Mato Grosso do Sul. Legendas: CDM: cachorro-do-mato; QUA: quati; LON: lontra; GM: gato-mourisco; JAG: jaguatirica; OP: onça-pintada; MP: mão-pelada; JAR: jaritataca; GP: gato palheiro; CV: cachorro-vinagre e CAO: cachorro-doméstico.

**Tabela 2. Lista das espécies de carnívoros silvestres e cães domésticos amostrados no presente estudo, e respectivas informações da ficha de identificação, ano de coleta, coordenadas geográficas, sexo, idade estimada, tipo de amostra e resultados das reações em cadeia da polimerase.**

Nome científico	ID	Ano	Coordenadas GPS		Sexo	Idade	Amostra	PCR
<i>Cerdocyon thous</i>	RK1371	2021	-19,1344	-57,6241	M	Adulto	Baço	-
<i>Cerdocyon thous</i>	RK1391	2021	-20,4063	-56,0743	M	Adulto	Baço	-
<i>Cerdocyon thous</i>	RK1401	2021	-19,7784	-56,9536	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. + <i>Neospora caninum</i> +
<i>Cerdocyon thous</i>	RK1403	2021	-20,4896	-55,9426	F	Adulto	Baço	<i>Neospora caninum</i> +
<i>Cerdocyon thous</i>	CDMf	2023	-20,2787	-56,3122	M	Adulto	Baço	-
<i>Nasua nasua</i>	NEC112	2019	-20,5036	-55,7476	F	Jovem	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Nasua nasua</i>	NEC131	2021	-20,3312	-56,1934	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Nasua nasua</i>	RK1405	2021	-19,4234	-57,4589	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Nasua nasua</i>	RK1435	2021	-20,1908	-56,5073	F	Adulto	Baço	-
<i>Nasua nasua</i>	Quatif	2023	-20,5014	-55,893	F	Jovem	Baço	-
<i>Lontra longicaudis</i>	NEC114	2019	-19,6316	-57,0611	F	Adulto	Baço	-
<i>Lontra longicaudis</i>	NEC119	2020	-19,6314	-57,0616	F	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Lontra longicaudis</i>	NEC129	2021	-19,7089	-56,9929	F	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Lontra longicaudis</i>	NEC139	2021	-19,7443	-56,9729	M	Adulto	Baço	-
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	NEC104	2019	-20,3491	-56,1561	M	Adulto	Baço	-
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	NEC127	2021	-20,0773	-56,7598	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	RK1415	2021	-20,1350	-56,6484	M	Adulto	Baço	-
<i>Leopardus pardalis</i>	NEC125	2021	-20,3137	-56,2386	M	Adulto	Baço	<i>Toxoplasma gondii</i> : + <i>Rickettsia</i> spp. (gltA): +
<i>Leopardus pardalis</i>	NEC133	2021	-20,3190	-56,2252	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. + <i>Rickettsia</i> spp. (gltA): +
<i>Panthera onca</i>	IHP 1	2022	-20,1969	-56,4415	M	Adulto	Baço	<i>Cytauxzoon felis</i> +
<i>Panthera onca</i>	IHP 2	2023	-19,013	-57,6863	M	Adulto	Baço	<i>Cytauxzoon felis</i> +
<i>Procyon cancrivorus</i>	NEC118	2020	-20,2506	-56,3537	F	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Procyon cancrivorus</i>	NEC132	2021	-20,5002	-55,9193	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Conepatus chinga</i>	NEC76	2018	-20,5036	-55,7446	F	Adulto	Baço	-
<i>Leopardus colocolo</i>	NEC130	2021	-20,4886	-55,9445	F	Adulto	Baço	<i>Toxoplasma gondii</i> +
<i>Speothos venaticus</i>	NEC105	2019	-20,4392	-56,0246	M	Adulto	Baço	<i>Hepatozoon</i> spp. + <i>Neospora caninum</i> +
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD1	2023	-20,3499	-56,1558	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD2	2023	-20,2801	-56,3088	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD3	2023	-20,2682	-56,3357	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD4	2023	-20,272	-56,3357	M	Adulto	Sangue	<i>Hepatozoon</i> spp. +
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD5	2023	-20,272	-56,3357	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD6	2023	-20,272	-56,3357	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD7	2023	-20,1903	-56,5093	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD8	2023	-20,1903	-56,5093	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD9	2023	-20,1909	-56,5062	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD10	2023	-20,1909	-56,5062	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD11	2023	-20,1909	-56,5062	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD12	2023	-20,1326	-56,6919	M	Adulto	Sangue	-

**Tabela 2. (Continuação) Lista das espécies de carnívoros silvestres e cães domésticos amostrados no presente estudo, e respectivas informações da ficha de identificação, ano de coleta, coordenadas geográficas, sexo, idade estimada, tipo de amostra e resultados das reações em cadeia da polimerase.**

<i>Canis lupus familiaris</i>	CD13	2023	-20,1326	-56,6919	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD14	2023	-19,6708	-57,0148	M	Filhote	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD15	2023	-19,6708	-57,0148	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	<b>CD16</b>	<b>2023</b>	<b>-19,1533</b>	<b>-57,6303</b>	<b>M</b>	<b>Adulto</b>	<b>Sangue</b>	<b><i>Leishmania</i> spp.: +</b>
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD17	2023	-19,1533	-57,6303	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD18	2023	-19,1533	-57,6303	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	<b>CD19</b>	<b>2023</b>	<b>-19,5754</b>	<b>-57,0374</b>	<b>F</b>	<b>Adulto</b>	<b>Sangue</b>	<b><i>Hepatozoon</i> spp. +</b>
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD20	2023	-19,5754	-57,0374	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD21	2023	-19,5754	-57,0374	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD22	2023	-19,5754	-57,0374	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	<b>CD23</b>	<b>2023</b>	<b>-19,5754</b>	<b>-57,0374</b>	<b>F</b>	<b>Adulto</b>	<b>Sangue</b>	<b><i>Hepatozoon</i> spp. +</b>
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD24	2023	-19,5754	-57,0374	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD25	2023	-19,5754	-57,0374	M	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD26	2023	-19,5754	-57,0374	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD27	2023	-19,5754	-57,0374	F	Adulto	Sangue	-
<i>Canis lupus familiaris</i>	CD28	2023	-20,5017	-55,8274	F	Adulto	Sangue	-

### *Borrelia* spp.

O gênero *Borrelia*, que compreende cerca de 43 espécies reconhecidas (Mancilla-Agrono et al. 2022), são espiroquetas da família Borreliaceae, que infectam vertebrados (mamíferos, aves e répteis) e são transmitidas por carrapatos moles (argasídeos) e duros (ixodídeos) e, em menor escala, por piolhos (Jorge et al. 2023). Desde a descrição do gênero *Borrelia* em 1907 (Swellengrebel 1907), o número de espécies e cepas descritas vem aumentando, e estão agrupadas em três grupos filogenéticos bem definidos: a doença de Lyme ou grupo da borreliose de Lyme (LDG), o grupo da febre recorrente (RFG), e o grupo *Borrelia* associado a répteis e monotremados (RMG) (Margos et al. 2008, Binetruy et al. 2020).

As primeiras evidências de *B. burgdorferi* parasitando seres humanos no Brasil datam da década de 90 (Yoshinari et al. 1993), uma vez que a Borreliose de Lyme era considerada uma zoonose emergente no país. De acordo com Joppert et al. (2001), a doença de Lyme no Brasil (Síndrome de Baggio-Yoshinari) parece ser endêmica em áreas onde carrapatos e

mamíferos silvestres estão presentes e em contato próximo com residentes humanos, contexto encontrado em várias regiões do Pantanal.

No Pantanal há estudos com cães domésticos sororeativos (Alberigi et al. 2019, de Assis et al. 2019) e positivos em diagnóstico molecular (de Assis et al. 2019) para *Borrelia burgdorferi*. Em uma pesquisa com diagnóstico molecular em onças-pintadas (*Panthera onca*) todos os animais resultaram negativos (Widmer et al. 2011), assim como no presente estudo, além do baixo número amostral, e a baixa prevalência natural do agente, os resultados negativos também podem ser explicados pelo fato de que a detecção molecular de *Rickettsia* e *Borrelia* em amostras de sangue, que é o caso dos cães domésticos amostrados, apresenta baixa sensibilidade (Aguero-Rosenfeld et al. 2005).

*Rickettsia* spp.

*Rickettsia* é o nome do gênero inicialmente dado por Henrique da Rocha Lima aos microrganismos intracelulares encontrados nos piolhos (Lima 1917). O nome homenageia a memória de Howard Taylor Ricketts, que primeiro descreveu tais microrganismos em conexão com estudos sobre Febre Maculosa (Ricketts 1909).

Trata-se de um gênero composto por 27 espécies de bactérias intracelulares obrigatórias, e aproximadamente 17 delas são consideradas patógenos de animais e seres humanos (Fang et al. 2017). As rickettsias se multiplicam apenas dentro das células de animais suscetíveis e são responsáveis por uma variedade de doenças humanas transmitidas por insetos, caracterizadas por início agudo, febre, delírio e erupções cutâneas (Gray et al. 1998).

Dois exemplos de doenças causadas pelas espécies de *Rickettsia* são o tifo epidêmico, transmitido por pulgas, que se acredita ter causado até três milhões de mortes somente na Rússia, de 1917 a 1923 (Zinsser 1963), e a febre maculosa, transmitida por carrapatos, mais

de um século após sua primeira descrição clínica, esta doença ainda está entre as infecções humanas mais virulentas identificadas, sendo potencialmente fatal mesmo em jovens previamente saudáveis (Dantas-Torres 2007a).

Até o ano 2000, apenas três espécies de *Rickettsia* eram conhecidas na América do Sul, sendo duas espécies do grupo do tifo (*Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*) e apenas uma espécie do grupo da febre maculosa (*Rickettsia rickettsii*) (Labruna 2009). Mais recentemente, levantamentos da diversidade microbiana de muitos hospedeiros díspares, particularmente artrópodes, estão continuamente registrando novas espécies de rickettsias, incluindo muitas que não se enquadram nos subgrupos previamente reconhecidos (Perlman et al. 2006).

No Pantanal, estudos publicados já evidenciaram cães domésticos sororeativos para *Rickettsia* spp. (Melo et al. 2011, de Sousa et al. 2018b) e carnívoros silvestres sororeativos (Widmer et al. 2011, de Sousa et al. 2018b). Pesquisas moleculares também encontraram o DNA do agente em carrapatos no bioma (Alves et al. 2014, Nieri-Bastos et al. 2014, Ramos et al. 2015, Melo et al. 2016, Witter et al. 2016, Fecchio et al. 2023).

O fato de que no presente estudo todos os animais estavam negativos para *Rickettsia* spp. zoonóticas (gene ompA) é corroborado por trabalhos anteriores no Pantanal que descrevem uma baixa prevalência para o agente. De Sousa et al. (2018b) reportou um cachorro-do-mato com diagnóstico molecular positivo para *Rickettsia* spp. (gene ompA) dentre 116 carnívoros testados; e Widmer et al. (2011) nenhum animal positivo para *Rickettsia* spp. dentre 10 onças-pintadas amostradas.

Além do pequeno número amostral, e baixa prevalência natural do agente, os resultados negativos de *Rickettsia* sp. zoonótica (gene ompA) no presente estudo também podem ser explicada pelo fato de que a detecção molecular de *Rickettsia* e *Borrelia* em

amostras de sangue apresenta baixa sensibilidade (Aguero-Rosenfeld et al. 2005), principalmente porque a riquétsemia ocorre apenas no primeiro estágio da doença (Znazen et al. 2015).

As duas amostras positivas no presente estudo para *Rickettsia* sp. (gene *gltA*), não zoonótica, são de jaguatiricas. No Pantanal, em estudos prévios, foram encontrados em amostras de sangue (6/7) de jaguatiricas, anticorpos de *Rickettsia* spp. (De Sousa et al. 2018b), corroborando para o papel da espécie como hospedeira desse agente.

Uma das jaguatiricas (NEC125) foi diagnosticada com uma coinfeção com *Hepatozoon* spp., foi também diagnosticada com o vírus da leucemia felina (FeLV) em um estudo paralelo com a mesma amostra (Martins et al. 2024). O vírus da FeLV em gatos domésticos causa síndromes de supressão (principalmente anemia) que pode levar a doenças infecciosas secundárias causadas por efeitos supressores do vírus na medula óssea e no sistema imunológico (Hartmann et al. 2012).

### *Cytauxzoon felis*

Os organismos *Cytauxzoon* são protozoários apicomplexos transmitidos por carrapatos a felídeos, são da subclasse Hematozoa, ordem Piroplasmida e família Theileriidae (Wang et al. 2017). Até o momento, cinco espécies no gênero *Cytauxzoon* spp. foram registradas em todo o mundo: *Cytauxzoon felis* nas Américas, *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi* na Europa, e *Cytauxzoon manul* na Ásia (Wang et al. 2017, Panait et al. 2021).

O hemoparasita *Cytauxzoon felis* tem sido historicamente visto como altamente fatal para gatos domésticos, enquanto os felídeos selvagens permanecem assintomáticos; no entanto, estudos recentes relataram que gatos sobreviveram a infecções, bem como gatos

selvagens com infecções fatais (Meinkoth et al. 2000, Nietfeld & Pollock 2002, Brown et al. 2010, Rizzi et al. 2015). *Amblyomma americanum* e *Dermacentor variabilis* são os únicos vetores conhecidos para esse parasito, porém, ocorrem apenas nos EUA (Blouin et al. 1984, Reichard et al. 2009). Em relação às condições brasileiras, há evidências científicas fornecendo dados de compatibilidade epidemiológica de *Amblyomma sculptum* como possível vetor e onça-pintada como reservatório de *Cytauxzoon* spp. na região Centro-Oeste do Brasil (Fagundes-Moreira et al. 2022). As únicas duas onças-pintadas amostradas no presente estudo foram os animais positivos para *Cytauxzoon* spp., confirmando a alta ocorrência previamente reportada desse agente em onças de vida livre no Pantanal (22/22), Cerrado (4/4), Amazônia (3/4) (Furtado et al. 2017). Além disso, uma dessas onças (IHP2) foi também positiva para parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) em um estudo com a mesma amostra (Martins et al. 2024).

Em um centro de reabilitação, há uma descrição de infecção fatal em uma onça de cinco meses, que abre a possibilidade de onças jovens evoluírem a óbito com infecções causadas por esse agente (Guizelini et al. 2021). Entretanto há que se considerar na discussão a possibilidade de imunossupressão pelo próprio processo de reabilitação e o contato estreito com diversas outras espécies sob cuidados humanos no mesmo local.

### *Hepatozoon* spp.

*Hepatozoon* spp. são parasitos do grupo dos apicomplexos que infectam uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados, de anfíbios a mamíferos (Baneth 2011), que desempenham um papel como hospedeiros intermediários e adquirem infecção através da ingestão de hospedeiro definitivo artrópode contendo oocistos (Smith 1996). Além disso, outras vias de transmissão, como a predação de vertebrados infectados contendo cistos de *Hepatozoon* spp. em seus tecidos (Johnson et al. 2007) e a transmissão transplacentária (Baneth et al. 2013), foram descritas.

Embora as infecções por *Hepatozoon* spp. em animais selvagens sejam geralmente subclínicas (Kocan et al. 2000, Metzger et al. 2008), o agente pode ser um patógeno potencial e um parasito oportunista em animais imunocomprometidos ou se ocorrer em infecções concomitantes (Davis et al. 1978, Kubo et al. 2006). O ciclo de vida do *Hepatozoon* é heteroxênico, e uma variedade de invertebrados (carrapatos, mosquitos, pulgas, triatomíneos, moscas tsé-tsé e piolhos mordedores) servem como vetores para espécies individuais (Modrý et al. 2017). O hospedeiro vertebrado geralmente está infectado pela ingestão de um artrópode hematófago, embora a infecção pode ser adquirida também por transmissão intrauterina ou por predação.

No presente estudo, quinze animais foram positivos para *Hepatozoon* spp. (28%), sendo três deles, cães domésticos e doze, carnívoros silvestres: entre eles três quatis, dois mãos-pelada, duas lontras, duas jaguatiricas, um cachorro-vinagre, um cachorro-do-Mato e um gato-mourisco. Esses são os primeiros relatos de lontras e cachorro-vinagre de vida livre positivos para *Hepatozoon* spp. O cachorro-vinagre (NEC105) foi também positivo para parvovírus canino em um estudo paralelo com a mesma amostra (Martins et al. 2024).

Em um estudo prévio, de Souza et al. (2017a), foi encontrada uma alta prevalência de *Hepatozoon* entre carnívoros no Pantanal: cachorro-do-mato (91,02%), cães domésticos (45,23%), quatis (41,9%) e jaguatiricas (71,4%). Em um estudo mais recente, Perles et al. (2022) descreveu prevalência de *Hepatozoon procyonis* em 76,9% (80/104) em quatis em área urbana no Cerrado sem sinais clínicos e/ou alterações hematológicas.

Além da alta prevalência do agente previamente reportada no Pantanal, outro fator a se considerar é a técnica de PCR utilizada em tempo real, que é mais sensível e eficiente em termos de tempo do que a PCR convencional (Dagher et al. 2004), exigindo assim menores concentrações de DNA na amostra inicial.

*Leishmania* spp.

*Leishmania* spp. são parasitos protozoários de grande importância médica e veterinária (Dantas-Torres 2006), que são transmitidos a um hospedeiro suscetível por flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* no Velho e no Novo mundo, respectivamente (Lewis 1974).

A leishmaniose se caracteriza com diversos padrões epidemiológicos e clínicos, desde úlceras cutâneas até doenças viscerais graves e com risco de vida. Com algumas exceções, as leishmanioses são zoonoses e a infecção humana é acidental (Dantas-Torres 2007b). Hospedeiros vertebrados naturais para *Leishmania* spp. são mamíferos das ordens: Edentata, Carnivora, Hyracoidea, Rodentia, Primatas, Marsupialia e Perissodactyla (Ashford 1996, Saliba & Oumeish 1999, Gramiccia & Gradoni 2005).

A leishmaniose visceral canina está disseminada na América do Sul e está entre as mais importantes doenças nesses animais transmitidas por vetores que ocorrem nessa região, principalmente devido à sua grande relevância zoonótica (Dantas-Torres 2008). No Pantanal há estudos com diagnósticos moleculares positivos em morcegos (De Castro Ferreira et al. 2017), tatus (Kluyber et al. 2020), roedores e cães domésticos (Cassia-Pires et al. 2014, de Oliveira Porfirio et al. 2018).

No exame da PCR-FFLB, que é usado para o diagnóstico de qualquer protozoário da família Trypanosomatidae, apenas um cão doméstico foi positivo para *Leishmania* sp. O animal diagnosticado é de uma região próxima a cidade de Corumbá, conhecida como Urucum, que já possui reportes de alta ocorrência de cães com coinfeções por tripanossomatídeos, incluindo a *Leishmania* sp. (Porfirio et al. 2018)

*Trypanosoma* sp.

Parasitas do gênero *Trypanosoma* são protozoários ubíquos que infectam uma ampla variedade de animais, incluindo sanguessugas, insetos, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, e são os agentes causadores de algumas das doenças humanas e doenças animais (Fraga et al. 2016)

Na América do Sul, as espécies causadoras de tripanosomíases animais são *Trypanosoma cruzi*, *T. theileri*, *T. equiperdum*, *T. evansi* e *T. vivax* (Davila & Silva 2000). Esses tripanosomas, que parasitam o gado e uma grande variedade de vida selvagem na América do Sul, são mantidos e transmitidos de diferentes maneiras (Hoare 1972). Apenas as duas últimas espécies têm importância econômica na América do Sul (Brenner 1979).

No Pantanal há estudos sorológicos e moleculares com diagnósticos positivo para *Trypanosoma* sp. em mamíferos domésticos e silvestres (Nunes e Oshiro 1990, Franke et al. 1994, Herrera et al. 2005, Herrera et al. 2008, Rademaker et al. 2009, Herrera et al. 2011, Alves et al. 2016, Pessanha et al. 2023). No presente estudos todos as amostras foram negativas para o gênero *Trypanosoma*.

### *Neospora caninum*

*Neospora caninum* é um protozoário parasita de animais. Até 1988, era erroneamente diagnosticado como *Toxoplasma gondii* (Dubey et al. 1988). Desde o seu primeiro reconhecimento em 1984 em cães na Noruega (Bjerkås et al. 1984) e a descrição de um novo gênero e espécie *Neospora caninum* (Dubey et al. 1988), a neosporose emergiu como uma doença grave para bovinos e cães em todo o mundo. Causa doença neuromuscular em cães e altas taxas de aborto em bovinos (Hemphill & Gottstein 2000).

*Neospora caninum* é um parasito coccídeo com uma ampla gama de hospedeiros. Em geral, é muito semelhante em estrutura e ciclo de vida ao *Toxoplasma gondii*, com duas

diferenças importantes: (i) a neosporose é principalmente uma doença do gado, cães e canídeos relacionados são hospedeiros definitivos de *N. caninum*, enquanto (ii) a toxoplasmose é uma doença primariamente de seres humanos, ovinos e caprinos, e os felinos são os únicos hospedeiros definitivos reconhecidos do *T. gondii* (Dubey et al. 2002).

Os cães domésticos representam hospedeiros definitivos, então há chances razoáveis de que outras espécies de canídeos também possam ser hospedeiros definitivos (Gondim 2006). No Brasil, há estudos sorológicos indicando canídeos e felídeos em zoológico sororeativos para *N. caninum* (Vitaliano et al. 2004, Mattos et al. 2008, André et al. 2010), canídeos silvestres (Cañon-Franco et al. 2004, Padilha et al. 2021) e felinos silvestres de vida livre (Onuma et al. 2014).

Em diagnóstico molecular (PCR), há estudos com amostras positivas de raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) (Nascimento et al. 2015) e cachorro-do-mato (Almeida et al. 2019) no Brasil. No presente estudo dois cachorros-do-mato e um cachorro-vinagre foram positivos para *Neospora caninum*, se trata da primeira descrição de cachorro-vinagre de vida livre positivo para esse agente.

### *Toxoplasma gondii*

O *Toxoplasma gondii* foi descrito simultaneamente em 1908 por Nicolle & Manceaux, em um roedor (*Ctenodactylus gundii*), na Tunísia, e por Splendore, em um coelho (*Oryctolagus cuniculus*), no Brasil (Nicolle & Manceaux 1908, Splendore 1908). Trata-se de um protozoário intracelular obrigatório, que infecta praticamente todos os endotérmicos, incluindo seres humanos, gado e mamíferos marinhos (Dubey 2010), pertence ao filo Apicomplexa e é a única espécie descrita do gênero *Toxoplasma* (Levine 1988).

*Toxoplasma gondii* é um dos protozoários de maior importância em todo o mundo, tanto pela variedade de hospedeiros que ele infecta quanto pela porcentagem de animais infectados. Três formas infecciosas estão envolvidas na transmissão da toxoplasmose: bradizoítos dentro de cistos teciduais, taquizoítos e oocistos contendo esporozoítos (Dubey 2008). Em seres humanos, a infecção por *T. gondii* é transmitida pelo consumo de carne crua ou mal-cozida contendo cistos teciduais ou pela ingestão de oocistos esporulados presentes em alimentos contaminados, como água, vegetais ou frutas (de Lima Bessa et al. 2021). A transmissão congênita ocorre durante a infecção aguda em gestantes, pois os taquizoítos podem atravessar a placenta e atingir a circulação fetal (transmissão vertical) (Montoya & Liesenfeld 2004).

As infecções por *T. gondii* em carnívoros silvestres são clínicas e epidemiologicamente importantes. A infecção por *T. gondii* em alguns desses hospedeiros (por exemplo, guaxinins, raposas) é ecologicamente importante porque esses hospedeiros podem atuar como hospedeiros sentinelas para a infecção por *T. gondii* (Dubey et al. 2021). Em animais selvagens no Pantanal, há estudos demonstrando soropositividade para *T. gondii* em onças-pintadas (Onuma et al. 2014) e tatus (Kluyber et al. 2020).

No presente estudo uma jaguatirica e um gato palheiro foram positivos para o agente. jaguatiricas sororeativas para *T. gondii* já foram reportadas em cativeiro no Brasil, Estados Unidos e México (Sogorb et al. 1977, Silva et al. 2001a, Silva et al. 2001b, Spencer et al. 2003, Rivetti Jr et al. 2008, Andre et al. 2010, Ullmann et al. 2010, Alvarado-Esquivel et al. 2013, Gomez-Rios et al. 2019), e em vida-livre na Bolívia e México (Fiorello et al. 2006b, Rendón-Franco et al. 2012). Material genético de *T. gondii* foi detectado em amostras de tecido de jaguatiricas de vida livre no Rio Grande do Sul (Cañón-Franco et al. 2013) e Mato Grosso (Witter et al. 2020).

Gatos-palheiros sororeativos para *T. gondii* foram reportados em cativeiro no Brasil (Silva et al. 2001a, Silva et al. 2001b, André et al. 2020). Material genético de *T. gondii* foi reportada em amostras de gato-palheiro de vida livre no Rio Grande do Sul (Cañón-Franco et al. 2013)

## **Conclusões**

Este trabalho demonstra que os carnívoros selvagens, que habitam áreas naturais adjacentes a uma rodovia no Pantanal Sul, podem ser infectados pelos mesmos patógenos que infectam cães domésticos, evidenciado aqui pelo agente *Hepatozoon* spp., que foi positivo em

amostras de carnívoros silvestres e cães, sendo o agente infeccioso de maior prevalência no presente estudo, detectado em 15 animais (28%).

Apresentamos o primeiro diagnóstico molecular de *Neospora caninum* e *Hepatozoon* spp. em cachorro-vinagre e de *Hepatozoon* spp. em lontras de vida livre. Esse levantamento evidencia a presença de agentes infecciosos em carnívoros domésticos e silvestres no Pantanal Sul com capacidade de infectar seres humanos, como o *Toxoplasma gondii*, ressaltando a importância da utilização de carcaças de animais atropelados como ferramenta epidemiológica com potencial de detecção de agentes importantes para a saúde pública.

Recomendamos o manejo profilático rigoroso de cães domésticos para aqueles que vivem em áreas naturais, como as áreas aqui estudadas. Embora não existam vacinas contra esses patógenos, exceto *Leishmania*, medidas profiláticas básicas, como tratamentos antiparasitários periódicos e remoção manual de carrapatos e pulgas de animais domésticos, podem ajudar a prevenir a infecção nesses animais e, em última análise, em seus proprietários.

Estudos futuros que incluam um maior número amostras e amostras de carnívoros silvestres que permitam a descrição de sinais clínicos são necessárias para elucidar melhor a participação de cada espécie no ciclo epidemiológico dos diversos agentes.

## **Referências Bibliográficas**

Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, & Wormser GP. 2005. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clinical microbiology reviews*, 18(3):484-509.

Alberigi B, Labarthe N, Cardoso F, Cunha C, Almeida C, Souza C, Mendes-de-Almeida F. 2019. Serological evidence of canine arthropod-borne infections in an ecotone area of a natural reserve at the Pantanal, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine* 41(1):e103719-e103719.

Almeida JC, Kim PDCP, de Melo RPB, Nogueira JF, Martins FDC, Garcia JL, Mota RA. 2019. *Neospora caninum* DNA in feces of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*–Linnaeus, 1776) from northeastern Brazil. *Acta tropica* 197:105068.

Alvarado-Esquivel C, Gayosso-Dominguez EA, Villena I, & Dubey, JP. 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in captive mammals in three zoos in Mexico City, Mexico. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 803-806.

Alvarado-Rybak M, Solano-Gallego L, Millán J. 2016. A review of piroplasmid infections in wild carnivores worldwide: importance for domestic animal health and wildlife conservation. *Parasites & Vectors* 9:538.

Alves ADS, Melo AL, Amorim MV, Borges AM, Gaiva e Silva L, Martins TF, Pacheco RC. 2014. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of ‘*Candidatus Rickettsia amblyommii*’ in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. *Journal of Medical Entomology* 51(6): 1242-1247.

Alves FM, de Lima JS, Rocha FL, Herrera HM, Mourão GDM, Jansen AM. 2016. Complexity and multi-factoriality of *Trypanosoma cruzi* sylvatic cycle in coatis, *Nasua nasua* (Procyonidae), and triatomine bugs in the Brazilian Pantanal. *Parasites & Vectors* 9:1-9.

André MR, Adania CH, Teixeira RHF, Silva KF, Jusi MMG, Machado STZ, Machado RZ. 2010. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive neotropical and exotic wild canids and felids. *Journal of Parasitology* 96(5): 1007-1009.

André MR. 2018. Diversity of Anaplasma and Ehrlichia/Neoehrlichia Agents in Terrestrial Wild Carnivores Worldwide: Implications for Human and Domestic Animal Health and Wildlife Conservation. *Front. Vet. Sci* 5:293.

Ashford RW. 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in dermatology* 14(5): 523-532.

Baneth G, Sheiner A, Eyal O, Hahn S, Beaufils JP, Anug Y, & Talmi-Frank D. 2013. Redescription of *Hepatozoon felis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) based on phylogenetic analysis, tissue and blood form morphology, and possible transplacental transmission. *Parasites & Vectors* 6:1-10.

Baneth G. 2011. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Veterinary Parasitology* 181(1):3-11.

Battisti E, Zanet S, Khalil S, Trisciuglio A, Hertel B, Ferroglio E. 2020. Molecular survey on vector borne pathogens in alpine wild carnivorans. *Frontiers in Veterinary Science* 7:1.

Berger JB, Stacey PB, Bellis L, Johnson MP. 2001. A mammalian predator-prey imbalance: grizzly bear and wolf extinction affect avian Neotropical migrants. *Ecological Applications* 11:947-960.

Beugnet F, Chalvet-Monfray K. 2013. Impact of climate change in the epidemiology of vector-borne diseases in domestic carnivores. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 36:559–66.

Binetruy F, Garnier S, Boulanger N, Talagrand-Reboul E, Loire E, Faivre B, Noel V, Buysse M, Duron O. 2020. A novel *Borrelia* species, intermediate between Lyme disease and relapsing fever groups, in neotropical passerine-associated ticks. *Sci. Rep.* 10:10596.

Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenk* 70:271-274.

Blouin EF, Kocan AA, Glenn BL, Kocan KM, & Hair JA. 1984. Transmission of *Cytauxzoon felis* Kier, 1979 from bobcats, *Felis rufus* (Schreber), to domestic cats by *Dermacentor variabilis* (Say). *Journal of Wildlife Diseases* 20(3):241-242.

Brener Z. 1979. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. In *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas, pp. 463-463). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil.

Brown HM, Lockhart JM, Latimer KS, & Peterson, DS. 2010. Identification and genetic characterization of *Cytauxzoon felis* in asymptomatic domestic cats and bobcats. *Veterinary parasitology* 172(3-4):311-316.

Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. 1989. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 27:1787–92.

Butler JRA, du Toit JT, Bingham J. 2004. Free-ranging domestic dogs (*Canis familiaris*) as predators and prey in rural Zimbabwe: threats of competition and disease to large wild carnivores. *Biological Conservation* 115:369–378.

Calchi AC, Vultão JG, Alves MH, Yogui DR, Desbiez ALJ, Amaral RB, Santi M, Teixeira MMG, Werther K, Machado RZ, André MR. 2020. Multi-locus sequencing reveals a novel *Bartonella* in mammals from the Superorder Xenarthra. *Transbound Emerg Dis.* 00:1–14.

Campos CB, Esteves CF, Ferraz K, Crawshaw PG, Verdade LM. 2007. Diet of free-ranging cats and dogs in a suburban and rural environment, south-eastern Brazil. *Journal of Zoology* 273:1420.

Cañón-Franco WA, Araújo FAP, López-Orozco N, Jardim MMA, Keid LB, Dalla-Rosa C, Gennari SM. 2013. *Toxoplasma gondii* in free-ranging wild small felids from Brazil:

molecular detection and genotypic characterization. *Veterinary parasitology*, 197(3-4), 462-469.

Cañón-Franco WA, Yai LEO, Souza SLPD, Santos LCD, Farias NADR, Ruas J, Gennari SM. 2004. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. *Veterinary Parasitology* 123(3-4): 275-277.

Carral-García M, Buenrostro I, Weissenberger H, Rosales V, Pérez-Flores J. 2021. Dog predation by jaguars in a tourist town on the Mexican Caribbean. *Neotropical Biology and Conservation* 16(4):461-474.

Cassia-Pires R, Boite MC, D'Andrea PS, Herrera HM, Cupolillo E, Jansen AM, Roque ALR. 2014. Distinct *Leishmania* species infecting wild caviomorph rodents (Rodentia: Hystricognathi) from Brazil. *PLoS neglected tropical diseases* 8(12):e3389.

Cohen ML. 2000. Changing patterns of infectious disease. *Nature* 406(6797):762-7.

Criado-Fornelio A, Ruas JL, Casado N, Farias NAR, Soares MP, Müller G, ... & Barba-Carretero JC. 2006. New molecular data on mammalian Hepatozoon species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. *Journal of Parasitology*, 92(1):93-99.

Dagher H, Donninger H, Hutchinson P, Ghildyal R, & Bardin P. 2004. Rhinovirus detection: comparison of real-time and conventional PCR. *Journal of virological methods*, 117(2):113-121.

Dantas-Torres F, Chomel BB, & Otranto D. 2012. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in parasitology* 28(10):437-446.

Dantas-Torres F. 2006. Leishmune® vaccine: the newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniosis and its potential as a transmission-blocking vaccine. *Veterinary parasitology* 141(1-2): 1-8.

Dantas-Torres F. 2007a. Rocky Mountain spotted fever. *The Lancet infectious diseases* 7(11): 724-732.

Dantas-Torres F. 2007b. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Veterinary parasitology* 149(3-4): 139-146.

Dantas-Torres F. 2008. Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites & Vectors* 1:1-17.

Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *Science* 287(5452):443-9.

Davila AM, Silva RAM. 2000. Animal trypanosomiasis in South America: current status, partnership, and information technology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 916(1):199-212.

Davis DS, Robinson RM, & Craig TM. 1978. Naturally occurring hepatozoonosis in a coyote. *Journal of Wildlife Diseases* 14(2):244-246.

De Assis WO, Santos FM, de Macedo GC, Gomes WT, Barreto JBVC, Cordeiro MD, Miraglia H. 2019 Domestic Dogs As Sentinels Of *Borrelia burgdorferi* Infections To Human In Two Regions Of Pantanal Biome. 71<sup>a</sup> Reunião Anual da SBPC - 21 a 27 de julho de 2019 - UFMS - Campo Grande / MS.

de Castro Ferreira E, Pereira AAS, Silveira M, Margonari C, Marcon GEB, de Oliveira França A, Gontijo CMF. 2017. *Leishmania (V.) braziliensis* infecting bats from Pantanal wetland, Brazil: First records for *Platyrrhinus lineatus* and *Artibeus planirostris*. *Acta Tropica* 172:217-222.

De Lima Bessa G, de Almeida Vitor RW, dos Santos Martins-Duarte E. 2021. *Toxoplasma gondii* in South America: a differentiated pattern of spread, population structure and clinical manifestations. *Parasitology Research* 120(9):3065-3076.

De Oliveira Porfirio GE, Santos FM, de Macedo GC, Barreto WTG, Campos JBV, Meyers AC, Herrera HM. 2018. Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania* spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 7(3):398-404.

De Sousa KCM, Calchi AC, Herrera HM, Dumler JS, Barros-Battesti DM, Machado RZ, André MR. 2017b. Anaplasmataceae agents among wild mammals and ectoparasites in Brazil. *Epidemiol Infect* 145(16):3424-3437.

De Sousa KCM, do Amaral RB, Herrera HM, Santos FM, Macedo GC, de Andrade Pinto PCE, Barros-Battesti DM, Machado RZ, André MR. 2018a. Genetic Diversity of *Bartonella* spp. in Wild Mammals and Ectoparasites in Brazilian Pantanal. *Microb Ecol.* 76(2):544-554.

De Sousa KCM, Fernandes MP, Herrera HM, Benevenuto JL, Santos FM, Rocha FL, Barreto WT, Macedo GC, Campos JB, Martins TF, de Andrade Pinto PC, Battesti DB, Piranda EM, Cançado PH, Machado RZ, André MR. 2017a. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in domestic dogs and wild mammals in southern Pantanal, Brazil with implications in the transmission route. *Vet Parasitol. Apr* 15;237:37-46.

De Sousa KCM, Herrera HM, Rocha FL, Costa FB, Martins TF, Labruna MB, Machado RZ, André MR. 2018b. *Rickettsia* spp. among wild mammals and their respective ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* (1):10-17.

Dobson A, Foufopoulos J. 2001. Emerging infectious pathogens of wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences.*

Dubey JP, Barr BC, Barta JR, et al. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol* 32:929-946.

Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192:1269-1285.

Dubey JP, Murata FH, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OC. 2021. Recent epidemiologic and clinical *Toxoplasma gondii* infections in wild canids and other carnivores: 2009–2020. *Veterinary Parasitology* 290:109337.

Dubey JP. 2008. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. *J Eukaryot Microbiol* 55:467–475

Dubey JP. 2010. *Toxoplasmosis of animals and humans*. CRC Press. Boca Raton, FL.

Ellwanger JH, Chies JAB. 2019. The triad “dogs, conservation and zoonotic diseases”—An old and still neglected problem in Brazil. *Perspectives in ecology and conservation* 17(3):157-161.

Fagundes-Moreira R, Souza UA, May-Junior JA, Baggio-Souza V, Berger L, Wagner PGC, ... & Soares JF. 2022. Epidemiological compatibility of *Amblyomma sculptum* as possible vector and *Panthera onca* as reservoir of *Cytauxzoon* spp. in Midwestern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases* 13(6):102021.

Fang R, Blanton LS, Walker DH. 2017. *Rickettsiae* as emerging infectious agents. *Clin Lab Med* 37(2):383–400.

Fecchio A, Martins TF, Dias RI, Bell JA, Pinho JB, de Barros Silva VL, de Campos Pacheco R. 2023. Immature hard ticks infected with *Rickettsia amblyommatis* on breeding birds from Pantanal. *Ticks and Tick-borne Diseases* 14(2)102121.

Fiorello CV, Noss AJ, Deem SL. 2006a. Demography, hunting ecology, and pathogen exposure of domestic dogs in the Isoso of Bolivia. *Conservation Biology* 20:762–771.

Fiorello CV, Robbins RG, Maffei L, Wade SE. 2006b. Parasites of free-ranging small canids and felids in the Bolivian Chaco. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37, 130–134.

Fischer WA. Efeitos da rodovia BR-262 na mortalidade de vertebrados silvestres: síntese naturalística para a conservação da região do Pantanal, MS. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, p.2, 1997.

Fraga J, Fernandez-Calienes A, Montalvo AM, Maes I, Deborggraeve S, Büscher P, Van der Auwera G. 2016. Phylogenetic analysis of the *Trypanosoma* genus based on the heat-shock protein 70 gene. *Infection, Genetics and Evolution* 43:165-172.

Franke CR, Greiner M, Mehlitz D. 1994. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Poconé (Mato Grosso, Brazil). *Acta tropica* 58(2): 159-169.

Furtado MM, Taniwaki SA, Metzger B, dos Santos Paduan K, O’Dwyer HL, de Almeida Jácomo AT, ... & Neto JSF. 2017. Is the free-ranging jaguar (*Panthera onca*) a reservoir for *Cytauxzoon felis* in Brazil?. *Ticks and Tick-borne Diseases* 8(4): 470-476.

Gehrt SD, Riley SPD, Cypher BL. 2010. *Urban Carnivores, Ecology, Conflict, and Conservation*. John Hopkins University Press, Baltimore.

Gilbert GS. 2002. Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. *Annual review of phytopathology* 40(1):13-43.

Gomez-Rios A, Ortega-Pacheco A, Gutierrez-Blanco E, Acosta-Viana KY, Guzman-Marin E, Guiris-Andrade MD, ... & Jiménez-Coello M. 2019. *Toxoplasma gondii* in captive wild felids

of Mexico: Its frequency and capability to eliminate oocysts. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 19(8):619-624.

Gondim LF. 2006. *Neospora caninum* in wildlife. *TRENDS in Parasitology* 22(6): 247-252.

Gramiccia M, Gradoni L. 2005. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. *International journal for parasitology* 35(11-12): 1169-1180.

Gray MW. 1998. *Rickettsia*, typhus and the mitochondrial connection. *Nature* 396(6707): 109-110.

Guedes JJM, Assis CL, Feio RN, Quintela FM. 2021. The impacts of domestic dogs (*Canis familiaris*) on wildlife in two Brazilian hotspots and implications for conservation. *Anim Biodivers Conserv* 1:1-14.

Guizelini CC, Nascimento CA, Echeverria JT, Soares RL, Pimenta MM, de Deco-Souza, T, ... & Gomes DC. 2021. Fatal infection caused by *Cytauxzoon felis* in a captive-reared jaguar (*Panthera onca*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 16:187-190.

Hamilton PB, Adams ER, Malele II, Gibson WC. 2008. A novel, high-throughput technique for species identification reveals a new species of tsetse-transmitted trypanosome related to the *Trypanosoma brucei* subgenus, *Trypanozoon*. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(1):26-33.

Hartmann K. 2012. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*, 4(11), 2684-2710.

Hawkins CE, Baars C, Hesterman H, Hocking GJ, Jones ME, Lazenby B, Mann D, Mooney N, Pemberton D, Pyecroft S, Restani M, Wiersma W. 2006. Emerging disease and population decline of an island endemic, the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Biological Conservation* 131:307-324.

Hemphill A, Gottstein B. 2000. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int.J.Parasitol* 30:877–924.

Herrera HM, Lisboa CV, Pinho AP, Olifiers N, Bianchi RC, Rocha FL, ... & Jansen AM. 2008. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102(11):1133-1139.

Herrera HM, Norek A, Freitas TP, Rademaker V, Fernandes O, Jansen AM. 2005. Domestic and wild mammals infection by *Trypanosoma evansi* in a pristine area of the Brazilian Pantanal region. *Parasitology Research* 96:121-126.

Herrera HM, Rocha FL, Lisboa CV, Rademaker V, Mourão GM, Jansen AM. 2011. Food web connections and the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in the Pantanal Region, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 105(7):380-387.

Hoare CA. 1972. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19722902365>

Holt RD, Dobson AP. 2006. Extending the principles of community ecology to address the epidemiology of host-pathogen systems. *Disease ecology: community structure and pathogen dynamics*. Jan 26;1:6.

Hughes J, Macdonald DW. 2013. A review of the interactions between free-roaming domestic dogs and wildlife. *Biol. Conserv* 157, 341–351.

IUCN – International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (2007) Red List 2007. Disponível em <http://www.redlist.org>

Johnson EM, Allen KE, Panciera RJ, Ewing SA, Little SE, & Reichard MV. 2007. Field survey of rodents for Hepatozoon infections in an endemic focus of American canine hepatozoonosis. *Veterinary parasitology*, 150(1-2):27-32.

Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases *Nature* 451:990–993.

Joppert AM, Hagiwara MK, Yoshinari NH. 2001. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 43:251-255.

Jorge FR, Muñoz-Leal S, de Oliveira GM, Serpa MCA, Magalhães MM, de Oliveira LM, Labruna MB. 2023. Novel *Borrelia* Genotypes from Brazil Indicate a New Group of *Borrelia* spp. Associated with South American Bats. *Journal of Medical Entomology*, 60(1):213-217.

Kluyber D, Desbiez AL, Attias N, Massocato GF, Gennari SM, Soares HS, Roque AL. 2021. Zoonotic parasites infecting free-living armadillos from Brazil. *Transboundary and emerging diseases* 68(3):1639-1651.

Kocan AA, Cummings CA, Panciera RJ, Mathew JS, Ewing SA, & Barker RW. 2000. Naturally occurring and experimentally transmitted *Hepatozoon americanum* in coyotes from Oklahoma. *Journal of Wildlife Diseases* 36(1):149-153.

Kruuk H, Snell H. 1981. Prey selection by feral dogs from a population of marine iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*). *Journal of Applied Ecology* 18:197–204.

Kubo M, Miyoshi N, & Yasuda N. 2006. Hepatozoonosis in two species of Japanese wild cat. *Journal of Veterinary Medical Science* 68(8):833-837.

Labruna MB, JW McBride, DH Bouyer, LMA Camargo, EP Camargo, DH Walker. 2004. Molecular evidence for a spotted fever group Rickettsia species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. *J. Med. Entomol.* 41:533-537.

Labruna MB. 2009. Ecology of rickettsia in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166(1): 156-166.

Levine ND. 1988. The Protozoan Phylum Apicomplexa. *The Protozoan Phylum Apicomplexa*. Vol. 2. CRC Press, USA. <https://doi.org/10.1201/9781351076111>.

Lewis DJ. 1974. The biology of Phlebotomidae in relation to leishmaniasis. *Annual Review of Entomology* 19(1):363-384.

Lima HDR. 1917. Evidence of *R. prowazekii* in patients with epidemic typhus. *Munch Med Wochenschr* 1:33.

Macpherson CN. 2005. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International journal for parasitology* 35(11-12):1319-1331.

Maggi RG, Reichelt S, Toliver M, Engber B. 2010. *Borrelia* species in *Ixodes affinis* and *Ixodes scapularis* ticks collected from the coastal plain of North Carolina. *Ticks and tick-borne diseases*, 1(4):168-171.

Maia C, Ramada J, Cristóvão JM, Gonçalves L, & Campino L. 2009. Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. *The Veterinary Journal* 179(1):142-144.

MMA. 2022 – Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção (2007) Disponível em <https://www.icmbio.gov.br/cepsul/destaques-e-eventos/704-atualizacao-da-lista-oficial-das-especies-ameacadas-de-extincao.html>

Mancilla-Agrono LY, Banguero-Micolta LF, Ossa-López PA, Ramírez-Chaves HE, Castaño-Villa GJ, Rivera-Páez FA. 2022. Is *Borrelia burgdorferi* Sensu Stricto in South America? First Molecular Evidence of Its Presence in Colombia. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 7(12):428.

Margos G, Gofton A, Wibberg D, Dangel A, Marosevic D, Loh SM, Oskam C, Fingerle V. 2018. The genus *Borrelia* reloaded. *PLoS ONE*, 13:e0208432.

Martins NB, Almeida JCND, Gonçalves MSS, Gila LI, Yogui DR, Alves MH, Desbiez ALJ, Brandão PE, Hora ASD. 2024. Occurrence of Typical Domestic Animal Viruses in Wild Carnivorans: An Emerging Threat to the Conservation of Endangered Species. *Transboundary and Emerging Diseases Volume 2024 | Article ID 3931047*.

Mattos BC, Patricio LL, Plugge NF, Lange RR, Richartz RR, Dittrich RL. 2008. Seroprevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* in captive wild canids. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 17: 267-272.

Meinkoth J, Kocan AA, Whitworth L, Murphy G, Fox JC, & Woods JP. 2000. Cats surviving natural infection with *Cytauxzoon felis*: 18 cases (1997–1998). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14(5):521-525.

Melo ALT, Grangeiro JMV, Aguiar DM. 2019. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the municipality of Poconé, state of Mato Grosso, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 56(3): e158367-e158367.

Melo ALT, Martins TF, Horta MC, Moraes-Filho J, Pacheco RC, Labruna MB, Aguiar DM. 2011. Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs from the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2(4):213-218.

Melo ALT, Witter R, Martins TF, Pacheco TA, Alves AS, Chitarra CS, ... & Aguiar DM. 2016. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. *Medical and veterinary entomology* 30(1): 112-116.

Metzger B, Paduan KDS, Rubini AS, de Oliveira TG, Pereira C, & O'dwyer LH. 2008. The first report of *Hepatozoon* sp.(Apicomplexa: Hepatozoidae) in neotropical felids from Brazil. *Veterinary Parasitology* 152(1-2):28-33.

Millán J, Proboste T, Fernández de Mera IG, Chirife AD, de la Fuente J, Altet L. 2016. Molecular detection of vector-borne pathogens in wild and domestic carnivores and their ticks at the human-wildlife interface. *Ticks Tick Borne Dis* 7(2):284-90.

Modrý D, Beck R, Hrazdilová K, & Baneth G. 2017. A review of methods for detection of *Hepatozoon* infection in carnivores and arthropod vectors. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17(1):66-72.

Montoya JG, Liesenfeld O. 2004. Toxoplasmosis *Lancet* 363:965–976.

Morand S, Gonzalez EA. 1997. Is parasitism a missing ingredient in model ecosystems? *Ecological Modelling* 95(1):61-74.

Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. 2004. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 430:242-249.

Nascimento COM, Silva MLCR, Kim PCP, Gomes AAB, Gomes ALV, Maia RCC, Mota RA. 2015. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* DNA in brain tissue from hoary foxes (*Pseudalopex vetulus*) in Brazil. *Acta tropica* 146: 60-65.

Nicolle C, Manceaux L. 1908. “Sur Une Infection a Corps de Leishman. on Organismes Voisons) Du Gondi.” *C R Acad Sci* 147: 736–66.

Nieri-Bastos FA, Lopes MG, Cançado PHD, Rossa GAR, Faccini JLH, Gennari SM, Labruna MB. 2014. Candidatus *Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 109: 259-261.

Nietfeld JC, & Pollock C. 2002. Fatal cytauxzoonosis in a free-ranging bobcat (*Lynx rufus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 38(3):607-610.

Nunes VLB, Oshiro ET. 1990. *Trypanosoma* (Trypanozoon) *evansi* in the coati from the Pantanal region of Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84(5).

Olifiers N, Jansen AM, Herrera HM, Bianchi RDC, D'Andrea PS, Mourao GDM, Gompper ME. 2015. Co-infection and wild animal health: effects of trypanosomatids and gastrointestinal parasites on coatids of the Brazilian Pantanal. *PLoS One* 10(12):e0143997.

Onuma SSM, Melo ALT, Kantek DLZ, Crawshaw-Junior PG, Morato RG, May-Júnior JA, Aguiar DMD. 2014. Exposure of free-living jaguars to *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in the Brazilian Pantanal. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23:547-553.

Otranto D, Cantacessi C, Pfeiffer M, Dantas-Torres F, Brianti E, Deplazes P, et al. 2015. The role of wild canids and felids in spreading parasites to dogs and cats in Europe. Parte I Protozoa Tick-Borne Agents. *Vet Parasitol* 213:12–23.

Otranto D, Dantas-Torres F, Mihalca AD, Traub RJ, Lappin M, Baneth G. 2017. Zoonotic parasites of sheltered and stray dogs in the era of the global economic and political crisis. *Trends Parasitol* 33:813–825.

- Padilha TC, Zitelli LC, Webster A, Dall'Agnol B, da Rosa VB, Souza U, Reck J. 2021. Serosurvey of antibodies against zoonotic pathogens in free-ranging wild canids (*Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus*) from Southern Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 79:101716.
- Panait LC, Mihalca AD, Modrý D, Juránková J, Ionică AM, Deak G, ... & Hrazdilová K. 2021. Three new species of *Cytauxzoon* in European wild felids. *Veterinary Parasitology* 290:109344.
- Perles L, de Macedo GC, Barreto WTG, Francisco GV, Herrera HM, Barros-Battesti DM, ... & André MR. 2022. Longitudinal dynamics and health impact of *Hepatozoon procyonis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) on naturally infected ring-tailed coatis *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) from Midwestern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases* 13(5):101982.
- Perlman SJ, Hunter MS, Zchori-Fein E. 2006. The emerging diversity of *Rickettsia*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1598): 2097-2106.
- Pessanha TS, Herrera HM, Jansen AM, Iñiguez AM. 2023. “Mi Casa, Tu Casa”: the coati nest as a hub of *Trypanosoma cruzi* transmission in the southern Pantanal biome revealed by molecular blood meal source identification in triatomines. *Parasites & Vectors* 16(1):26.
- Porfirio GEDO, Santos FM, de Macedo GC, Barreto WTG, Campos JBV, Meyers AC, ... & Herrera HM. 2018. Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania* spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 7(3):398-404.
- Rademaker V, Herrera HM, Raffel TR, D'Andrea PS, Freitas TPT, Abreu UD, Jansen AM. 2009. What is the role of small rodents in the transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae)? A study case in the Brazilian Pantanal. *Acta Tropica* 111(2):102-107.

Ramos DGDS, Melo AL, Martins TF, Alves ADS, Pacheco TDA, Pinto LB, Pacheco RC. 2015. Rickettsial infection in ticks from wild birds from Cerrado and the Pantanal region of Mato Grosso, midwestern Brazil. *Ticks and tick-borne diseases* 6(6): 836-842.

Regnery RL, CL Spruill, BD Plikaytis. 1991. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J. Bacteriol.* 173:1576-1589.

Reichard MV, Meinkoth JH, Edwards AC, Snider TA, Kocan KM, Blouin EF, & Little SE. 2009. Transmission of *Cytauxzoon felis* to a domestic cat by *Amblyomma americanum*. *Veterinary parasitology* 161(1-2):110-115.

Reis AB, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Carvalho MG, Mayrink W, França-Silva JC, ... & Corrêa-Oliveira R. 2006. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in veterinary science* 81(1):68-75.

Rendón-Franco E, Caso-Aguilar A, Jiménez-Sánchez NG, Hernandez-Jauregui DMB, Sandoval-Sánchez AL, & Zepeda-López HM. 2012. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibody in free-ranging ocelots (*Leopardus pardalis*) from Tamaulipas, Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 48(3):829-831.

Richini-Pereira VB, Bosco SM, Theodoro RC, Barrozo L, Bagagli E. 2010. Road-killed wild animals: a preservation problem useful for ecoepidemiological studies of pathogens. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 16(4):607-613.

Ricketts HT. 1909. A micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever. *JAMA* 5: 379.

Rivetti Jr AV, Caxito FA, Resende M, & Lobato ZIP. 2008. Avaliação sorológica para *Toxoplasma gondii* pela imunofluorescência indireta e detecção do vírus da imunodeficiência felina pela nested PCR em felinos selvagens. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 60:1281-1283.

Rizzi TE, Reichard MV, Cohn LA, Birkenheuer AJ, Taylor JD, Meinkoth JH. 2015. Prevalence of *Cytauxzoon felis* infection in healthy cats from enzootic áreas in Arkansas, Missouri and Oklahoma. *Parasites Vectors* 8:13.

Rocha FL, Roque ALR, de Lima JS, Cheida CC, Lemos FG, de Azevedo FC, et al. 2013. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores (Mammalia: Carnivora): At the Top of the *T. cruzi* Transmission Chain. *PLoS ONE* 8(7):e67463.

Saliba EK, Oumeish OY. 1999. Reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis. *Clinics in dermatology* 17(3): 275-277.

Sambrook, J., Fritsch, E., & Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning. A laboratory manual* (p. 1626). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Santos FM, de Sousa KCM, Sano NY, Nantes WAG, Liberal SC, Machado RZ, André MR, Herrera HM. 2021. Relationships between vector-borne parasites and free-living mammals at the Brazilian Pantanal. *Parasitology Research* 120(3):1003-1010.

Santos LGFD, Melo ALT, Moraes-Filho J, Witter R, Labruna MB, Aguiar DMD. 2013. Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs from the Pantanal of Mato Grosso State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22:114-118.

Schaller GB. 1972. *The Serengeti lion: a study of predator-prey relations*. University of Chicago Press, Chicago.

Schreeg ME, Marr HS, Griffith EH, Tarigo JL, Bird DM, Reichard MV, ... & Birkenheuer AJ. 2016. PCR amplification of a multi-copy mitochondrial gene (cox3) improves detection of *Cytauxzoon felis* infection as compared to a ribosomal gene (18S). *Veterinary Parasitology*, 225:123-130.

Schwartz ALW, Shilling FM, Perkins SE. 2020. The value of monitoring wildlife roadkill. *European Journal of Wildlife Research* 66:18.

Sepúlveda MA, Singer RS, Silva-Rodríguez E, Stowhas P, Pelican K. 2014. Domestic Dogs in Rural Communities around Protected Areas: Conservation Problem or Conflict Solution? *PLoS ONE* 9(1).

Silva JCR, Ogassawara S, Marvulo MFV, Ferreira-Neto JS, Dubey JP. 2001a. *Toxoplasma gondii* antibodies in exotic wild felids from Brazilian zoos. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 32:349–351.

Silva, J.C.R., Ogassawara, S., Adania, C.H., Ferreira, F., Gennari, S.M., Dubey, J.P., Ferreira-Neto, J.S., 2001b. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Veterinary Parasitology* 102:217–224.

Smith TG, Kim B, & Desser SS. 1999. Phylogenetic relationships among Hepatozoon species from snakes, frogs and mosquitoes of Ontario, Canada, determined by ITS-1 nucleotide sequences and life-cycle, morphological and developmental characteristics. *International Journal for Parasitology*, 29(2):293-304.

Soares HS, do Nascimento Ramos V, Osava CF, Oliveira S, Szabó MPJ, Piovezan U, Gennari SM. 2016. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in wild pigs (*Sus scrofa*) in the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 53(1):112-116.

Sogorb F, Jamra LF, Guimaraes EC. 1977. Toxoplasmosis in animals of Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 13:191-4.

Spencer JA, Higginbotham MJ, Blagburn BL. 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in captive and free-ranging nondomestic felids in the United States. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34:246–249.

Splendore A. 1908. Un Nuovo Protozoa Parassita Deconigli Incontrato Nelle Lesioni Anatomiche d'une Malattia Che Ricorda in Molti Punti Il Kala-Azar Dell'uoma. Nota Preliminare Pel. *Rev Soc Sci Sao Paulo* 3.

Swellengrebel NH. 1907. Sur la cytologie comparée des spirochètes et des spirilles. *Annales de l'Institut Pasteur*, 21, 562–586.

Szekeres S, Docters van Leeuwen A, Tóth E, Majoros G, Sprong H, Földvári G. 2019. Road-killed mammals provide insight into tick-borne bacterial pathogen communities within urban habitats. *Transbound Emerg Dis.* 66(1):277-286.

Terborgh JL, Lopez P, Nunez M, Rao G, Shahabudin G, Orihuela M, Riveros R, Ascanio R, Adler GH, Lambert TD, Balbas L. 2002. Ecological meltdown in predator-free forest fragments. *Science* 294:1923.

Thompson JN, Reichman OJ, Morin PJ, Polis GA, Power ME, Sterner RW, Couch CA, Gough L, Holt R, Hooper DU, Keesing F. 2001. Frontiers of Ecology: As ecological research enters a new era of collaboration, integration, and technological sophistication, four frontiers seem paramount for understanding how biological and physical processes interact over multiple spatial and temporal scales to shape the earth's biodiversity. *BioScience* 1;51(1):15-24.

Tiemann JC, Souza SL, Rodrigues AA, Duarte JM, Gennari SM. 2005. Environmental effect on the occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in pampas-deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Veterinary parasitology* 134(1-2):73-76.

Tomas WM, Cáceres NC, Nunes AP, Fischer E, Mourão G, Campos, Z. 2010. Mammals in the Pantanal wetland, Brazil in *The Pantanal: ecology, biodiversity and sustainable management of a large neotropical seasonal wetland* (Eds. Junk WJ, Silva CJD, Cunha CND, Wantzen KM) pp. 563-595. Pensoft.

Treves A, Karanth KU. 2003. Human-carnivore conflict and perspectives on carnivore management worldwide. *Conservation biology* 17(6):1491-1499.

Trolle M. 2003. Mammal survey in the southeastern Pantanal, Brazil. *Biodiversity & Conservation* 12:823-836.

Ullmann LS, da Silva RC, de Moraes W, Cubas ZS, dos Santos LC, Hoffmann JL, ... & Biondo AW. 2010. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. *Veterinary Parasitology* 172(1-2):144-146.

Valkenburgh BV, Wayne RK. 2010. Carnivores. *Current biology* 20(21):915-R919.

Vanak AT, Thaker M, Gompper ME. 2009. Experimental examination of behavioural interactions between free-ranging wild and domestic canids. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64:279-287.

Vila C, Maldonado JE, Wayne RK. 1999. Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog. *J Hered* 90:71-77.

Vitaliano SN, Silva DAO, Mineo TWP, Ferreira RA, Bevilacqua E, Mineo JR. 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves

(*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. *Veterinary Parasitology* 122(4): 253-260.

Wandeler AI, Matter HC, Kappeler A, Budde A. 1993. The ecology of dogs and canine rabies: a selective review. *Revue Scientifique et Technique. Office International des Epizootics* 12:51–71.

Wang JL, Li TT, Liu GH, Zhu XQ, Yao C. 2017. Two tales of *Cytauxzoon felis* infections in domestic cats. *Clinical microbiology reviews* 30(4):861-885.

Widmer CE, Azevedo FC, Almeida AP, Ferreira F, Labruna MB. 2011. Tick-borne bacteria in free-living jaguars (*Panthera onca*) in Pantanal, Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(8):1001-1005.

Witter R, Martins TF, Campos AK, Melo ALT, Corrêa SHR, Morgado TO, Pacheco RC. 2016. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) of wild animals in midwestern Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 7(3): 415–423.

Witter R, Pena HFJ, Maia MO, de Magalhães AO, Morgado TO, Colodel EM, Pacheco RC. 2020. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* in the Midwestern Brazil revealed high genetic diversity and new genotypes. *Acta Tropica* 212:105681.

Woolhouse ME, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR. 2002. Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature genetics* 32(4):569-77.

Yamaga M, Flechtner O. & Gottstein B. 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction. *J. Parasitol.* 82:272–79.

Yoshinari NH, Barros PJJ, Steere EC, Romero EC, Stellin R, Baggio D, Cossermelli W. 1993. Epidemiological study of Lyme disease in Cotia. *Revista Espanola de Reumatologia* 20:474.

Zinsser R. 1963. *Rats, lice, and history*. Boston, MA: The Atlantic Monthly Press.

Znazen A, Sellami H, Elleuch E, Hattab Z, Ben Sassi L, Khrouf F, ... & Hammami A. 2015. Comparison of two quantitative real time PCR assays for *Rickettsia* detection in patients from Tunisia. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9(2):e0003487.