

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS – CCAE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

GABRIEL JOSÉ SILVA UZAI

DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E MOLECULAR DAS PRINCIPAIS
ENFERMIDADES QUE ACOMETEM CACHORRO-DO-MATO (*Cerdocyon thous*)
NO ESPÍRITO SANTO

ALEGRE

2019

GABRIEL JOSÉ SILVA UZAI

**DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E MOLECULAR DAS PRINCIPAIS
ENFERMIDADES QUE ACOMETEM CACHORRO-DO-MATO (*Cerdocyon thous*)
NO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-cirúrgicas. Orientador(a): Profa. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes.

ALEGRE

2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

U99d Uzai, Gabriel José Silva, 1992-
Diagnóstico morfológico e molecular das principais
enfermidades que acometem cachorro-do-mato (*Cerdocyon
thous*) no Espírito Santo / Gabriel José Silva Uzai. - 2019.
64 f. : il.

Orientadora: Louisiane de Carvalho Nunes.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias.

1. Canídeos silvestres. 2. Histopatologia. 3. PCR. 4.
Hemoparasitoses. 5. Helmintos. I. Nunes, Louisiane de
Carvalho. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 619

GABRIEL JOSÉ SILVA UZAI

**DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E MOLECULAR DAS PRINCIPAIS
ENFERMIDADES QUE ACOMETEM CACHORRO-DO-MATO (*Cerdocyon thous*)
NO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-cirúrgicas.

Aprovado em 18 de fevereiro de 2019

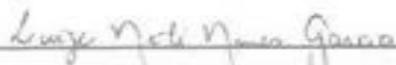
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro interno PPGCV



Prof. Dra. Luíze Néli Nunes Garcia
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro externo PPGCV

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a todos eles, de todas as religiões, as quais recorri em pensamento por diversas vezes enquanto realizei este trabalho.

Aos animais e principalmente aos de vida livre, desprotegidos cada vez mais, que não podem decidir seu próprio futuro e que são a razão da minha vida.

Também agradeço imensamente meus pais, Perpétua Aparecida Silva Uzai e Cláudio Rogério Uzai, por todo apoio sempre que precisei, de todas formas possíveis, desde um colo, uma conversa, um conforto e à minha irmã, Letícia Maria Silva Uzai por ser um exemplo e uma eterna amiga.

A todos os meus colegas de laboratório, que me apoiaram nas necropsias e nos processamentos das amostras utilizadas, em especial à Camila Vieira Chagas David, que foi essencial para realização das etapas laboratoriais.

Ao professor Renato de Lima Santos, por ceder a estrutura do Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais para a realização de toda análise molecular presente no trabalho, além de todo conhecimento que adquiri em minhas idas à Belo Horizonte - MG.

A Ayisa Rodrigues de Oliveira e ao Daniel Oliveira dos Santos, fundamentais no processamento das amostras na UFMG, dando todo apoio possível para a realização do projeto.

Aos meus amigos do mestrado, em especial a Isabella Cosmo da Silva e Adriano Lima Stelzer Bindaco, verdadeiros ombros amigos para as todas as situações.

Aos meus amigos de república, todos fundamentais nos momentos de tensão e descontração, em especial ao Cleverson Paixão Monteiro, que nunca negou ajuda, nunca falou “um não” nos momentos que precisei.

Aos companheiros de pescaria, aos amigos que já não estão em Alegre, aos amigos de Carangola.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em especial ao André Gomes de Lima e à “Tiburcinha” (Maria Luzia Pereira do Carmo), todos fundamentais por proporcionar dias agradáveis e me apoiaram em todas as horas.

Ao meu amigo Henrique Jordem Venial, que me apoiou nas coletas dos animais e das amostras.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFES, pelos ensinamentos e exemplos de profissionais.

Agradeço especialmente à professora Jankerle Neves Boeloni, por tudo durante minha formação acadêmica e profissional e imensamente à minha orientadora Louisiane de Carvalho Nunes, que me proporcionou incontáveis oportunidades de crescimento profissional e pessoal, além de ser uma grande amiga e exemplo pessoal e profissional.

À cidade de Alegre, que me acolheu há 11 anos quando aqui cheguei. Tudo que conquistei foi devido à formação acadêmica que essa cidade me proporcionou.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (FAPES).

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior –Brasil-(CAPES) código de financiamento 001

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001

Por fim, a minha namorada Bárbara Santos Antonio de Moraes, por ter transformado minha vida, me dando apoio, conforto, amor e coragem de buscar sempre ser melhor, além de me dar sogros, cunhados, cachorros, passarinhos e sobrinho maravilhosos.

Obrigado a todos!!

“Sempre que chamados à crítica, respeitemos o esforço nobre dos semelhantes. Para construir, são necessários amor e trabalho, estudo e competência, compreensão e serenidade, disciplina e devotamento. Para destruir, porém, basta, às vezes, uma só palavra”.

Francisco Cândido Xavier, 1963.

RESUMO

UZAI, GABRIEL JOSÉ SILVA. **Diagnóstico morfológico e molecular das principais enfermidades que acometem cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) no Espírito Santo**. 2019. 63p. Mestrado em Ciências Veterinárias - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2019. O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é uma espécie de canídeo silvestre que ocorre em grande parte da América do Sul. Embora sejam considerados onívoros, possuem hábitos generalistas e, eventualmente, se alimentam de carcaças de animais domésticos, além de alimentos processados e resíduos alimentícios de áreas onde existe a ocupação humana e animais domésticos. Essa relação de proximidade representa risco para a ocorrência de enfermidades nesta espécie. Sendo assim, o presente estudo propôs investigar a ocorrência de enfermidades em *Cerdocyon thous* de vida livre, vítimas de atropelamentos nas rodovias do Espírito Santo. Para isto foram desenvolvidos dois ensaios a saber: detecção da presença de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. e *Hepatozoon* sp. em amostras de baço de *C. thous* e o avaliação da morfologia e identificação de parasitos em amostras de fígado e pulmão. Dezenove animais foram necropsiados no setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo e os tecidos foram avaliados por PCR e histopatologia. A técnica de reação em cadeia de polimerase para os agentes infecciosos *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. e *Hepatozoon* sp. não revelou amplificação do DNA do agente alvo em nenhuma amostra. Diante disto, conclui-se que não foram detectados os agentes infecciosos *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. e *Hepatozoon* sp. em cachorros-do-mato de vida livre, no entanto, foram observadas lesões em fígado e pulmão, associadas aos parasitismos por *Platinosomum* sp. e *Angiostrongylus* sp., respectivamente. Desta forma, é importante que mais estudos sejam realizados para esclarecer o papel do cachorro-do-mato na transmissão de doenças infecciosas e/ou parasitárias, uma vez que este animal pode funcionar como sentinela, ou mesmo reservatório de muitas enfermidades.

Palavras-chave: Canídeos silvestres; Histopatologia; PCR.

ABSTRACT

UZAI, GABRIEL JOSÉ SILVA. **Morphological and molecular diagnosis of the main diseases that affect the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Espírito Santo.** 2019. 60p. The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) is a species of wild canid that occurs in much of South America. Although they are considered omnivores, they have general habits and eventually feed on carcasses of domestic animals, as well as processed food and food waste from areas where there is human occupation and domestic animals. This relationship of proximity represents a risk for an occurrence of diseases in this species. Thus, the present study proposed an investigation of diseases in *Cerdocyon thous* of free life victims of trampling on the highways of Espírito Santo State, Brazil. For this, two tests were developed: detection of *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. and *Hepatozoon* sp. in spleen samples of *C. thous* and the evaluation morphological and identification of parasites in liver and lung samples from *C. thous*. Nineteen animals were necropsied in the Animal Pathology Laboratory of the Federal University of Espírito Santo and were evaluated by PCR and histopathology. A kind of polymerase chain reaction for the infectious agents *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. and *Hepatozoon* sp. did not reveal target object DNA magnification in any sample. In view of this, it is concluded that were not detected the infectious agents *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. and *Hepatozoon* sp. in crab-eating fox of free life from Espírito Santo, however, in the liver and lung were observed lesions associated with parasitism by *Platinosomum* sp. and *Angiostrongylus* sp., respectively. In this way, it is important that more studies are done to clarify the role of the crab-eating fox in the transmission of diseases and / or parasites, since this animal can act as a sentinel, the same reservoir of many diseases.

Keywords: Histopathology; PCR; Wild canide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotomacrografia de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) em vida livre. A) Exemplar adulto. B) Exemplar jovem.	17
Figura 2. Valores absolutos do número de cachorros-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) por região, sexo e idade necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.	35
Figura 3- Exemplar de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) encontrado morto devido a lesões traumáticas provocadas por atropelamento às margens de rodovia BR101 Sul, trecho km306 x km 335, no estado do Espírito Santo.	35
Figura 4 - Valores absolutos em nanogramas/ μ L da concentração de DNA obtidos após a extração de amostras de baço de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.	36
Figura 5 - Eletroforese em gel de agarose, evidenciando C+ (Controle positivo) e resultado inconclusivo na amostra 04. Demais amostras confirmados como negativo em cachorros-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.	36
Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose após adição de TAQ na amostra 04 em cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiado no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.	37
Figura 7 - Eletroforese em gel de agarose evidenciando o controle positivo (C+) em cachorros-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.	37
Figura 8. Fotomicrografia de tecidos de <i>Cerdocyon thous</i> corados com hematoxilina-eosina: A) Fígado com congestão (*), fibrose periductal, proliferação ductal e hiperplasia ductal (seta) e fragmento de parasito adulto dentro do ducto biliar (barra 500 μ m); B) Fígado com congestão (*), ventosa de parasito no interior do ducto biliar (seta) associado a discreto infiltrado inflamatório periductal (barra 200 μ m); C) Fígado com fibrose periductal, proliferação de ductos (*) e parasitos com ovos (seta) dentro do ducto biliar (barra 200 μ m); D) Fígado com ovos de parasitos com casca marrom espessa difusos no parênquima (barra 100 μ m); E) Pulmão com pneumonia	

granulomatosa (seta) e fragmentos de larvas de parasitos no interior (barra 100µm);
F) Pulmão com fragmento de larva de parasito alongada e espiralada (barra 50µm).
.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gene alvo e primers utilizados para a amplificação do DNA de <i>Brucella</i> sp. em cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.....	33
Tabela 2 - Gene alvo e primers utilizados para a amplificação do DNA de piroplasmídeos em cachorro-domato (<i>Cerdocyon thous</i>) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.....	34
Tabela 3. Principais lesões macroscópicas de <i>Cerdocyon thous</i> (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.....	51
Tabela 4. Lesões microscópicas de fígado de <i>Cerdocyon thous</i> (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.....	52
Tabela 5. Lesões microscópicas de pulmão de <i>Cerdocyon thous</i> (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.....	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	17
2.2 Doenças que acometem os cachorros-do-mato.....	19
2.2.1 Brucelose	19
2.2.2 Babesiose	19
2.2.3 Rangeliose	20
2.2.4 Hepatozoonose.....	21
2.2.5 Helmintoses	22
3. REFERÊNCIAS.....	24
CAPITULO 1. Amplificação de DNA de <i>Brucella</i> sp., <i>Babesia</i> sp., <i>Rangellia</i> sp. e <i>Hepatozoon</i> sp. em cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>) de vida livre no Espírito Santo	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1. INTRODUÇÃO	30
2. MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1 Animais	32
2.2 Necropsia e coleta de amostras.....	32
2.3 Processamento das amostras e reação em cadeia de polimerase (PCR)	33
3. RESULTADOS.....	34
4. DISCUSSÃO	37
5. CONCLUSÃO	42
6. REFERÊNCIAS.....	42

CAPITULO 2. Avaliação morfológica de fígado e pulmão associados a infecção por parasitos das famílias Dicrocoeliidae e Metastrogylidae em <i>Cerdocyon thous</i> (cachorro-do-mato) de vida livre vítimas de traumas.....	46
RESUMO.....	46
ABSTRACT	47
1. INTRODUÇÃO	47
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Animais	49
2.2 Coleta e processamento das amostras	49
3. RESULTADOS.....	50
4. DISCUSSÃO	55
5. CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS.....	60

1. INTRODUÇÃO

Animais silvestres são todos os espécimes da fauna brasileira que tenham todo ou parte do seu ciclo de vida ocorrendo dentro do território brasileiro, englobando assim espécies migratórias, aquáticas e terrestres, como os animais nativos do Brasil. (IBAMA, 2014).

Atualmente, as doenças que acometem esses animais demandam cada vez mais cuidados em todo o mundo, pois além de ameaçar as populações selvagens, acometem populações humanas e animais domesticados (BRITO et al., 2016).

Por isso, o diagnóstico e o estudo de doenças em animais selvagens são de extrema importância para o melhor conhecimento dos focos naturais das zoonoses e para o estabelecimento dos fatores de risco existentes em determinados ecossistemas e a circulação de doenças entre os animais domésticos e de vida livre (SILVA, 2005).

Neste contexto, o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), um mamífero da família dos canídeos amplamente distribuído pela América do Sul, que possui hábitos generalistas e tem seu habitat natural perto de áreas ocupadas pela população humana, sofre diretamente com doenças infectocontagiosas que ocorrem em cães domésticos, além de ser afetado pela perda de habitat, caça e atropelamentos frequentes, sendo considerada uma das espécies de mamíferos silvestres que mais sofre com atropelamento no território brasileiro (BEISIGEL et al., 2013; BRUM et al., 2018).

No Brasil, diversas pesquisas são realizadas com o intuito de investigar doenças relacionadas a canídeos silvestres, sendo que em *Cerdocyon thous* existem relatos de exposição aos vírus da cinomose e da raiva (JORGE et al., 2010), além do parvovírus e os agentes *Leishmania* sp., *Leptospira interrogans* (COURTENAY et al., 2002) e *Brucella* sp. (DORNELES et al., 2014). Outro ponto importante são as pesquisas relacionadas às helmintoses em *C. thous*, com identificação uma gama de espécies de parasitos, tanto pela presença de ovos quanto a presença de indivíduos

adultos, parasitando diferentes órgãos do cachorro-do-mato (CURI, 2005; GRIESE, 2007; RUAS et al., 2008)

Outras enfermidades são descritas nesta espécie de canídeo como as hemoparasitoses causadas por parasitos dos gêneros *Babesia* sp, pela observação do protozoário em sangue de órgãos internos (PARAENSE; VIANA, 1948), *Rangellia* sp pela reação em cadeia de polimerase (PCR) (SOARES et al., 2014) e *Hepatozoon* sp, também utilizando a técnica de PCR (CRIADO-FORNELIO et al., 2006).

Embora se tenha relatos de algumas enfermidades que ocorrem em cachorros-do-mato, pouco se sabe sobre o comportamento clínico destas doenças nestes animais, bem como, sobre a transmissão dessas doenças para outras espécies. Diante disto, objetivou-se estabelecer o diagnóstico morfológico e molecular de enfermidades que acometem cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), de vida livre no Espírito Santo devido à importância na saúde pública, sanidade de animais domésticos e conservação das espécies silvestres.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*)

A espécie *Cerdocyon thous* (Figura 1), conhecido vulgarmente como cachorro-do-mato, é um canídeo de médio porte que ocorre em grande parte da América do Sul. São conhecidas cinco subespécies, das quais três ocorrem no território brasileiro (DI BITETTI et al. 2009).



Figura 1. Fotomacrografia de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) em vida livre. A) Exemplar adulto. B) Exemplar jovem. FONTE: Samir Mansur (2018), fotógrafo de natureza, imagem cedida gentilmente pelo autor.

No Brasil, habitam áreas de Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Campos de Altitude e Floresta Amazônica, vivendo não só o interior dos biomas, mas em áreas de produção agrícola, como plantação de pinheiros, cana, pastagem e eucalipto. Em áreas de densas florestas, como a Floresta Amazônica, o aumento da população de *Cerdocyon thous* pode estar relacionada com o desmatamento e substituição do bioma natural por áreas de pastoreio. É conhecido popularmente como lobinho, cachorro-do-mato, graxaim e graxaim-do-mato (BEISIGEL et al., 2013).

O cachorro-do-mato pesa em média seis quilos, com o comprimento total variando de 90 a 100 cm, sendo que a cauda possui cerca de 30 cm. Apresenta pelagem acinzentada com uma faixa enegrecida na região dorsal até a extremidade da cauda, o ventre possui uma coloração castanha e os membros são mais escuros comparados ao resto do corpo. Possui variação da pelagem de acordo com a

subespécie, sendo de coloração mais clara nos indivíduos que ocorrem na região sudeste e sul do Brasil (BERTA et al., 1982).

São animais onívoros, tendo como base alimentar crustáceos, frutas e pequenos vertebrados como mamíferos, anfíbios e répteis. Eventualmente se alimentam de carcaças de animais domésticos, além de alimentos processados e resíduos alimentícios de áreas onde existe a ocupação humana. Possuem hábitos noturnos e crepusculares, realizando a caça sozinho ou em pequenos grupos (FACURE; GIARETTA; MONTEIRO-FILHO, 2003).

Vivem em grupo de casais, com a diferença de idade dos filhotes variando até um ano de idade e, em média, não ultrapassam cinco filhotes. São monogâmicos e se comunicam com diferentes grupos por vocalização. A gestação gira em torno de 56 dias e os filhotes são dependentes dos pais até o nono mês perdurando com o grupo por no máximo dois anos (LEMOS; FACURE; AZEVEDO, 2011).

Por explorarem diversas fontes de recursos alimentares, o cachorro-do-mato é um canídeo selvagem muito versátil, com uma facilidade de adaptação aos mais diferentes habitats. Devido a essa característica, sua população é considerada estável e não há preocupação com o risco de extinção, apesar dessa estabilidade populacional não ser realmente comprovada devido a poucos estudos nesta área (COURTENAY; MAFFEI, 2008).

O cachorro-do-mato é um dos mamíferos silvestres mais atropelados no Brasil, considerando o atropelamento a maior ameaça da espécie (BRUM et al., 2018). Estima-se que mais de 490 milhões de animais silvestres morrem decorrente ao atropelamento, no qual 90% são pequenos vertebrados, 9% animais de médio porte e 1% animais de grande porte (CBEE, 2018).

Outro fator que ameaça as populações de cachorro-do mato é o confronto direto com canídeos domésticos, muitas vezes de maior porte do que a espécie silvestre, o que pode ocasionar lesões graves que resultam na morte do cachorro-do-mato (LEMOS et al., 2011). Assim como, a caça e captura de filhotes com intuito de serem criados como pet, são outros riscos importantes à conservação da espécie (BEISIGEL et al., 2013).

2.2 Doenças que acometem os cachorros-do-mato

2.2.1 Brucelose

A brucelose é uma zoonose distribuída mundialmente e encontra-se difundida no território brasileiro. A importância econômica atribuída a essa doença está baseada nas perdas diretas resultantes da morte de animais, da queda no ganho de peso, diminuição da produção de leite, do descarte precoce e condenação de carcaças no abate (DOS SANTOS et al, 2016).

É uma doença crônica de animais domésticos, silvestres e seres humanos causada por bactérias do gênero *Brucella*, que possuem grande capacidade de invadir, sobreviver por longos períodos e se multiplicarem no interior das células hospedeiras (POESTER; SAMARTINO; SANTOS, 2013).

Sua transmissão ao ser humano se dá pelo contato com fetos e membranas fetais, contato direto com vísceras, leite e produtos lácteos contaminados, o que torna profissionais médicos veterinários, vaqueiros, peões, agentes de inspeção e laboratoristas classes com maiores riscos para a infecção (DOS SANTOS et. al., 2016).

Em cães domésticos, a doença vem sendo estudada no Brasil em áreas rurais e próximas às cidades (AZEVEDO et al., 2003; AGUIAR et al., 2005). Os principais agentes são *B. canis* e *B. abortus*, tendo como principais sintomas o aborto nas fêmeas e esterilidade em machos, com casos confirmados em seres humanos (GREENE; CAMICHAEL, 2006; LUCERO et al., 2009).

Em canídeos silvestres, existem relatos em raposas da espécie *Dusicyon culpaeus* e *Dusicyon griseus* de vida livre na Argentina (MARTINO et al., 2004), em raposinhas-do-campo cativas no estado de São Paulo e na região nordeste do Brasil (OLIVEIRA-FILHO et al., 2012) e também em espécimes de vida livre (AZEVEDO et al., 2010).

2.2.2 Babesiose

A babesiose é uma doença causada por hemoprotozoários da família Babesiidae, do gênero *Babesia* (IRWIN, 2009), que infectam eritrócitos, causando hemólise nestas células (TABOADA; LOBETTI, 2006).

Com o avanço dos estudos moleculares e genéticos, o agente *Babesia canis* foi subdividido em três diferentes subespécies: *Babesia canis canis*, *Babesia canis rossi* e *Babesia canis vogeli*, sendo *B. vogeli* é a mais prevalente no território brasileiro (COSTA-JÚNIOR et al., 2009).

A doença ocasionada pelos hemoparasitos é transmitida por carrapatos ixodídeos, sendo *Babesia canis vogeli*, presente no Brasil, transmitida por *Rhipicephalus sanguineus* (IRWIN, 2009), *B. canis rossi* por *Haemophysalis leachi* e *B. canis canis* transmitida por *Demacentor reticulatus* (TABOADA; LOBETTI, 2006).

A ocorrência desta enfermidade foi descrita na América do Norte com alta prevalência de *B. microti-like* em raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) e raposa cinzenta (*Urocyon cinereoargenteus*) (BIRKENHEUR et al., 2010), assim como na África do Sul, onde foi detectada alta prevalência de *B. canis rossi* em cães silvestres (*Lycoon pictus*), por meio de diagnóstico molecular (MATJILA et al., 2008).

No Brasil existem relatos de infecção por *Babesia* sp. confirmada por PCR em graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) (RUAS et al., 2003), em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (SERRA-FREIRE et al., 1993) em raposinha-do-mato (*Pseudolopex vetulus*) (MARTINS et al., 2006) e em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) pela observação do protozoário em sangue de órgãos internos (PARAENSE; VIANA, 1948).

2.2.3 Rangeliose

A rangeliose é uma doença causada pelo piroplasmídeo *Rangellia vitalii* e foi inicialmente descrita no início do século XX, entretanto a caracterização da espécie foi descrita somente um século após aos primeiros relatos, por meio de estudos moleculares (SOARES et al., 2011; LEMOS et al., 2012).

É transmitida pelo carrapato *Amblyomma aureolatum* e se diferencia da infecção por *Babesia* sp. pelo diagnóstico molecular (FRANÇA et al., 2010).

O agente *Rangelia vitalii* foi alvo de um estudo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) no qual demonstrou que o agente é a principal causa de doença hemolítica nos cães necropsiados na região Centro Ocidental do Rio Grande do Sul (FIGHERA et al., 2008). Nesse mesmo contexto, Soares et al. (2014) citaram ser o hemoparasito mais detectado no território brasileiro.

A infecção em cães domésticos foi relatada no Brasil (FRANÇA et al., 2010; LEMOS et al., 2012;), Argentina (EIRAS et al., 2014) e Uruguai (SOARES et al., 2015). Em canídeos silvestres, foi detectada a infecção em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) no Rio Grande do Sul e São Paulo por PCR (SOARES et al., 2014). Em Santa Catarina, Quadros et al. (2015) diagnosticaram *R. vitalii* em raposinha-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) e Silveira et al. (2016) identificaram o hemoparasito em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) no estado de Minas Gerais.

2.2.4 Hepatozoonose

O gênero *Hepatozoon*, compreende mais de 300 espécies de protozoários que pertencem ao filo Apicomplexa (EWING, PANCIERA, 2003) e acometem diversas espécies de animais domésticos e silvestres (VINCENT-JOHNSON; MACINTYRE, BANETH, 1997). Esses mesmos autores citaram que a hepatozoonose canina é causada por duas diferentes espécies, *Hepatozoon canis* e *H. americanum*, sendo que no Brasil, a principal espécie relacionada a doença é *H. canis*. É transmitida no território brasileiro por *Rhipicephalus sanguineus*, quando o animal ingere o carrapato adulto contendo oocinetos maduros em sua hemocele. Em áreas rurais, pode haver envolvimento de *Amblyomma ovale* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (DE MIRANDA et al., 2014).

O primeiro relato da doença no Brasil foi no ano de 1970, no estado do Rio de Janeiro (MASSARD,1979), e tem sido diagnosticada desde então, por análises moleculares e sorológicas no estado de São Paulo (RUBINI et al., 2008), Minas Gerais (MUNDIM et al., 2008), Rio de Janeiro (FORLANO et al., 2007) e Espírito Santo (SPOLIDORIO et al., 2010).

Em animais silvestres, a manifestação clínica é na maioria das vezes assintomática (RUBINI et al., 2008), e os cães domiciliados podem apresentar anorexia, diarreia, hipertermia, anemia, apatia, prostração e alterações pulmonares (MUNDIM et al., 2008).

Estudos anteriores demonstraram que as hepatozoonoses são comumente diagnosticadas em canídeos silvestres ao redor do mundo, como no cão silvestre africano (*Lycaon pictus*) (MATJILA et al., 2008) e raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) (GIMENEZ et al., 2009). No Brasil, foi diagnosticada em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) no Rio Grande do Sul (CRIADO-FORNELIO et al., 2006) e em cachorro-vinagre (*Speothos venaticusa*), raposa-do-campo (*Pseudalopex vetulus*) e lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (ANDRÉ et al., 2010).

2.2.5 Helmintoses

O estudo sobre a ecologia e epidemiologia de helmintos em carnívoros silvestres é, de certa forma, limitado quando se compara aos estudos com animais domesticados (OTRANTO et al., 2013).

No entanto, considerando-se que o crescimento da população humana tem consequência na redução da fronteira entre animais silvestres e domésticos, é de certo que a interação entre as espécies resulta em maior prevalência de parasitos nas populações selvagens (THOMPSON; SMITH, LYMBERY, 2010; TOMPKINS et al., 2011).

Animais de vida livre possuem um equilíbrio da carga parasitária, enquanto os animais selvagens de cativeiro sofrem com problemas de estresse e restrição de habitat, que resulta em uma autoinfecção e manutenção do parasito no animal (LASPRILLA; OCAMPO; LÓPEZ, 2009; SNAK et al., 2014).

No Brasil, frequentemente são diagnosticados parasitos em cachorro-do-mato, como Horta-Duarte et al. (2004) na Zona da Mata mineira que identificaram nematódeos: *Angiostrongylus vasorum*, *Strongyloides* sp., *Capillaria* sp., *Ancylostoma* sp. e *Rictularia* sp. Foram também encontrados ovos de nematódeos e trematódeos

em *Cerdocyon thous* e *Lycopex vetulus* em um estudo conduzido na região da Serra do Cipó, também em Minas Gerais (CURI, 2005).

No estado de São Paulo, foram descritas em cachorro-do-mato *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma buclkei*, *Rictularia* sp., *Angiostrongylus vasorum*, *Athesmia heterolecithodes*, *Diphyllobothrium* sp., e *Onciola canis* (GRIESE, 2007). No Rio Grande do Sul, observaram *Ancylostma caninum*, *Molineus felineus*, *Strongyloides* sp., *Trichuris* sp., *Capillaria hepatica*, *Alaria alata*, *Athesmia heterolecithodes*, *Spirometra* sp., parasitas da família *Diphybothriidae.*, *Centrorhynchus* sp. (RUAS et al., 2008) e *Platynosomun* sp. (DUARTE, 2007; CURI, 2015).

3. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; VASCONCELLOS, S.A.; MEGID, J.; SALGADO, V.S.; CRUZ, T.F.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; SILVA, J.C.R.; MORAES, Z.M.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. **Ciência Rural**. v.35, n.5, p.1216-1219, 2005.
- ANDRÉ, M. R.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; VARGAS, G. H.; FALCADE, M.; SOUSA, L.; SALLES, A. R.; ALLEGRETTI, S. M.; FELIPPE, P. A. N.; MACHADO, R. Z. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in Brazilian and exotic wild carnivores. **Veterinary Parasitology**. v. 173, n. ½, p. 134-138, 2010
- AZEVEDO, S. S.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A.; GOMES, A. A. B., VASCONCELLOS, S. A.; ALVES, C. J. Anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*) do semiárido paraibano, Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**. v.40, n.1, 2010.
- AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; ALVES, C.J. et al. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.23, n.4, p.156-160, 2003
- BEISIEGEL, B. M.; LEMOS, F.G.; AZEVEDO, F.C.; QUEIROLO, D.; JORGE, R. S. P. Avaliação do risco de extinção do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**. v. 3 p.160–171, 2013.
- BERTA, A. *Cerdocyon thous*. **Mammalian Species**. n. 186, p. 1-4, 1982.
- BIRKENHEUER, A. D.; HORNEY, B.; BAILEY, M.; SCOTT, M.; SHERBERT, B.; CATTO, V.; MARR, H. S.; CAMACHO, A-T.; BALLMAN, A.E. *Babesia microti*-like infections are prevalent in North American foxes. **Veterinary Parasitology**. v. 172, n. 3/4, p.179-182, 2010.
- BRITO, L. G.; DA SILVA BARBIERI, F.; DE OLIVEIRA NERY, L.; FUNNES-HUACCA, M. E.; DE MATTOS, P. S. R.; FILHO, P. M. S.; FIGUEIRÓ, M. R. Avaliação da taxa de infecção por *Brucella* spp. na interface bubalinos e animais silvestres na Amazônia. **Embrapa Pantanal-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2016.
- BRUM, T. R.; SANTOS-FILHO, M.; CANALE, G. R.; IGNÁCIO, A. R. A. Effects of roads on the vertebrates diversity of the Indigenous Territory Paresi and its surrounding. **Brazilian Journal of Biology**. v. 78, n. 1, p. 125-132, 2018.
- CBEEE - Centro Brasileiro de Estudo em Ecologia de Estradas: Atropelômetro. Disponível em <<http://cbee.ufla.br/portal/atropelometro/>> Acesso em: 24/04/2018
- COSTA-JÚNIOR, L. M.; RIBEIRO, M. F. B.; REMBECK, K.; RABELO, E. M. L.; ZÄHLER-RINDER, M.; HIRZMANN, J.; PFISTER, K.; PASSOS, L. M. F. Canine babesiosis caused by *Babesia canis vogeli* in rural areas of the State of Minas Gerais, Brazil and factors associated with its seroprevalence. **Research in Veterinary Science**. n. 86, p. 257-260, 2009.
- COURTENAY O.; QUINNELL R.J.; GARCEZ L.M.; DYE C. Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for

transmission. **Parasitology**. n.125, p.407-414, 2002.

COURTENAY, O.; MAFFEI, L. *Cerdocyon thous*. **IUCN red list of threatened species**. 2008. Disponível em <www.iucnlist.org>, Acesso em 17 de Agosto de 2018.

CRIADO-FORNELIO, A.; RUAS, J. L.; CASADO, N.; FARIAS, N. A.; SOARES, M. P.; MÜLLER, G.; BRUMT, J. G.; BERNE, M. E.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA CARRETERO, J. C. New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **The Journal of Parasitology**. v.92, p. 93-99, 2006.

CURI, N.H.A. **Avaliação do estado de saúde e do risco de transmissão de doenças entre canídeos (Mammalia, Carnivora) silvestres e domésticos na região da Serra do Cipó, Minas Gerais: implicações para a conservação**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, PUC, Minas Gerais.

DE MIRANDA R.L, O'DWYER L.H, DE CASTRO J.R, METZGER B., RUBINI A.S, MUNDIM A.V. Prevalence and molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from urban and rural areas in Southeast Brazil. **Research in Veterinary Science**. v. 97 p. 326–329, 2014.

DUARTE HF. **Helmintofauna em *Cerdocyon thous* Linnaeus,1766 (Carnivora: Canidae) na região de Juiz de Fora, Minas Gerais**. 2007, Dissertação (Mestrado) Instituto de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora; Minas Gerais.

QUADROS, Rosiléia Marinho et al. Natural infection of the wild canid *Lycalopex gymnocercus* by the protozoan *Rangelia vitalii*, the agent of canine rangeliosis. **Journal of wildlife diseases**. v. 51, n. 3, p. 787-789, 2015.

DI BITETTI, M.S.; DI BLANCO, Y.E.; PEREIRA, J.A.; PAVIOLO, A.; PÉREZ I.J.; Time partitioning favors the coexistence of sympatric crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) and pampas foxes (*Lycalopex gymnocercus*). **Journal of Mammalogy**. n. 90, p479-490, 2009.

DORNELES E.M.S., PELLEGRIN A.O., PÉRES I.A.H.F.S., MATHIAS L.A., MOURÃO G., BIANCHI R.C., OLIFIERS N., ROCHA F.L., LAGE A.P. Serology for brucellosis in free-ranging crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) and brown-nosed coatis (*Nasua nasua*) from Brazilian Pantanal. **Ciência Rural**. v. 44, p. 2193-2196, 2014.

DOS SANTOS, R.P.; DE BRUYN DENADAI, L.; SOUSA, D.R., DONATELE, D.M.; NUNES, L.C.; OLIVEIRA, A.P.M.A. Lesões cervicais granulomatosas não estão associadas a brucelose bovina no sul do estado do Espírito Santo, Brasil. **PUBVET**. v. 10, p.636-720, 2016.

, D. F.; CRAVIOTTO, M. B.; BANETH, G.; MORÉ, G. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangeliosis) in Argentina. **Parasitology international**. v. 63, n. 5, p. 729-734, 2014.

EWING, S. A.; PANCIERA, R. J. American canine hepatozoonosis. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 16, n. 4, p. 688-697, 2003.

FACURE, G.; GIARETTA, A.A.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Food habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, in na altitudinal forest of the Mantiqueira Range, Southeastern Brazil. **Mammalia**, v.67, p. 503-511, 2003.

- FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SILVA, M. C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L., KOMMERS, G. D. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965–2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, p. 223–230, 2008.
- FORLANO, M. D.; TEIXEIRA, K. R. S.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; YOTOKO, K. S. C.; FERNANDES, K. R.; LINHARES, G. F. C.; EWING, S. A.; MASSARD C. L. Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. from Brazilian dogs and its phylogenetic relationship with other *Hepatozoon* spp. **Veterinary Parasitology**. v. 145, p. 21–30, 2007.
- FRANÇA, R.T.; SILVA, A.S.; PAIM, F.C.; COSTA, M.M.; SOARES, J.F.; MAZZANTI, C.M.; LOPES, S.T.A. *Rangelia vitalii* in dogs in southern Brazil. **Comparative Clinical Pathology**. v.19, p.383–387, 2010.
- GREENE, C.E.; CARMICHAEL, L.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed., Philadelphia: Editora Elsevier, 2006. p. 369-380.
- GRIESE, J. **Helmintofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de Botucatu, São Paulo**. 2007. Dissertação (Mestrado) –, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Lei da vida: Lei dos crimes ambientais: Lei nº 9605 de 12 de fevereiro de 1998 e Decreto nº 6514, de 22 de julho de 2008**. 2 ed., revisada e atualizada, CNIA – Brasília, 64p. 2014.
- IRWIN, P. J. Review. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. **Parasites and Vectors**. v. 1, p. 1-9, 2009.
- JORGE, R. S. P.; F. L. ROCHA; J. A. MAY JÚNIOR; R. G. MORATO. Ocorrência de patógenos em carnívoros selvagens brasileiros e suas implicações para a conservação e saúde pública. **Oecologia Australis**. v. 14, n. 3, p. 686-710. 2010.
- LASPRILLA M., OCAMPO M., LÓPEZ G. Identificación de huevos de nemátodos en carnívoros y primates ubicados en el Zoológico Santa Fe de Medellín, mediante método coprológico directo y de flotación. **Revista Spei Domus**. v. 5 p. 30-36, 2009.
- LEMOS, F. G.; FACURE, K. G.; AZEVEDO, F. C. A first approach to the comparative ecology of the hoary fox and the crab-eating fox in a fragmented human altered landscape in the Cerrado Biome at Central Brazil. Middle-sized carnivores in agricultural landscapes. New York: **Nova Sciences Publishers**, p. 143-160, 2011.
- LEMOS, T.D., CERQUEIRA, A.M.F., TOMA, H.K., SILVA, A.V., CORRÊA, R.G.B., PALUDO, G.R., MASSARD, C.L., ALMOSNY, N.R.P. Detection and molecular characterization of piroplasms species from naturally infected dogs in southeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.21, p.137–142, 2012.
- LUCERO, N.E.; CORAZZA, R.; ALMUZARA, M.N.; REYNES, E.; ESCOBAR, G.I.; BOERI, E.; Human Brucella canis outbreak linked to infection in dogs. **Epidemiology & Infection**. v.138, n.2, p.280- 285, 2009.
- MARTINO, P. E.; MONTENEGRO, J. L.; PREZIOSI, J. A.; VENTURINI, C.; BACIGALUPE, D.; STANCHI, N. O.; BAUTISTA, E. L. Serological survey of selected

pathogens of free ranging foxes in Southern Argentina, 1998-2001. **Revue Scientifique et Technique of the international Office of Epizootics**. v. 23, n. 3, p. 801-806, 2004.

MASSARD, C.A. ***Hepatozoon canis* (James, 1905) (Adeleida: Hepatozoidae) caso do Brasil, como uma revisão do gênero em membros da ordem carnívora**. 1979.. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1979.

MATJILA, P. T.; LEISEWITZ, A. L.; JONGEJAN, F.; BERTSCHINGER, H. J.; PENZHORN, B. L. Molecular detection of *Babesia rossi* and *Hepatozoon* sp. in African wild dogs (*Lycaon pictus*) in South Africa. **Veterinary Parasitology**. v. 157, p. 123-127, 2008.

MUNDIM, A. V.; MORAIS, I. A.; TAVARES, M.; CURY, M. C.; MUNDIM, M. J. S. Clinical and hematological sings associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and other hematozoa: A retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 153, p. 3-8, 2008.

OLIVEIRA-FILHO, E. F.; PINHEIRO, J. W. JR.; SOUZA, M. M. A.; SANTANA, V. L. A.; SILVA, J. C.R.; MOTA, R. A.; SÁ, F. B. Serologic survey of Brucellosis in captive neotropical wild carnivores in northeast Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 43, n. 2, p. 384-387, 2012.

OTRANTO, D., DANTAS-TORRES, F., BRIANTI, E., TRAVERSA, D., PETRIĆ, D. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. **Parasites & Vectors**. p.6-16, 2013.

PARAENSE, W. L.; VIANNA, Y. L. Algumas observações sobre a babesiose dos cães no Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 13, p. 595-603, 1948.

POESTER, F. P.; SAMARTINO, L. E.; SANTOS, R. L. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties**. v.32, n.1, p.105- 115, 2013.

RUAS J.L., MÜLLER G., FARIAS N.A., GALLINA T., LUCAS A.S, PAPPEN F.G, SINKOC A.L., BRUM J.G. Helminths of Pampas fox, *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) and of Crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) in the South of the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** v.17, n. 2 p. 87–92, 2008.

RUAS, J. L.; FARIAS, N. A. R.; SOARES, M. P.; BRUM, J. G. W. *Babesia* sp em Graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) no sul Brasil. **Arquivo do Instituto de Biologia**. v. 70, n. 1, p. 113-114., 2003.

RUBINI, A. S.; PADUAN, K. S.; LOPES, V. A.; O'DWYER, L. H. Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in dogs from rural area of São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**. v. 102, n. 5, p. 895-899, 2008

SANTANA, S.G. Fatores influentes sobre atropelamentos de vertebrados na região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **Neotropical Biolog y and Conservation**. v.7, p.26-40, 2012.

SERRA-FREIRE, N. M.; TEIXEIRA, R. H. F.; AMORIM, A.; GAZÊTA, G. S.; NUNES, A. L. V.; YADA, H. S.; TEIXEIRA, C. **Babesiose associada ao parasitismo por carrapatos em Lobo guará.** In: Congresso Brasileiro de Zoológicos, 1993, São Paulo. Anais... São Paulo: Sociedade de Zoológicos do Brasil. 1993,161 p.

SILVA J.C.R. Zoonoses e doenças emergentes transmitidas por animais silvestres, 2005. Disponível em< <http://www.abravas.org.br/>> Acesso em 16 jul. 2018

SILVEIRA, J. A. G., D'ELIA, M. L., DE OLIVEIRA AVELAR, I., DE ALMEIDA, L. R., DOS SANTOS, H. A., DE MAGALHÃES SANTOS, D. F. *Rangelia vitalii* in a free-ranging maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and co-infections. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.** n. 4, p. 280-285, 2016.

SNAK A., LENZI P.F., AGOSTINI K.M., DELGADO L.E., MONTANUCCI C.R., ZABOTT M.V. Análises coproparasitológicas de aves silvestres cativas. **Ciência Animal Brasileira.** v. 15, n. 4, p. 502-507, 2014.

SOARES, J. F. et al. Natural infection of the wild canid, *Cerdocyon thous*, with the piroplasmid *Rangelia vitalii* in Brazil. **Veterinary Parasitology.** v. 202, n. 3-4, p. 156-163, 2014.

SOARES, J. F.; GIROTTI, A.; BRANDÃO, P. E.; DA SILVA, A. S.; FRANÇA, R. T.; LOPES, S. T. A.; LABRUNA, M. B. Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. **Veterinary Parasitology.** v. 180, n. 3-4, p. 203-208, 2011.

SOARES, J. M. Piroplasmoses. In: JERICÓ, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos.** 1 ed. São Paulo: Roca, v. 1, 2015. Cap. 82, p. 741-756.

SPOLIDORIO, M. G.; LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z.; MORAES-FILHO, J.; ZAGO, A.M.; DONATELE, D. M.; PINHEIRO, S. R.; SILVEIRA, I.; CALIARI, K. M.; YOSHINARI, N. H. Survey for Tick-Borne Zoonoses in the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.** v. 83, n. 1, p. 201–206, 2010.

TABOADA, J.; LOBETTI, R. Babesiosis. In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the dog and cat.** 3 ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2006. p. 722-736.

THOMPSON, R. C. A.; LYMBERY, A. J.; SMITH, A. Parasites, emerging disease and wildlife conservation. **Journal of Parasitology.** v. 40, p.1163-1170, 2010.

TOMPKINS, D; A. DUNN, A.; M. SMITHM.; TELFER, S. Wildlife diseases: from individuals to ecosystems **Journal of Animal Ecology.** v.80, p.19-38, 2011.

VINCENT-JOHNSON, N.; MACINTYRE, D.K.; BANETH, G. Canine hepatozoonosis: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian.** v. 19, p. 51-65, 1997.

CAPITULO 1. Amplificação de DNA de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp. em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre no Espírito Santo

RESUMO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é um canídeo silvestre com distribuição em toda América do Sul e por possuir hábitos generalistas, frequentemente tem contato estreito com populações humanas e conseqüentemente animais domesticados. Essa relação de proximidade pode representar risco para esta espécie pois além das ameaças diretas, como o atropelamento, caça e perda de habitat, as doenças infecciosas, comuns às espécies silvestres e aos animais domésticos, também podem ocorrer. Assim, o presente estudo propôs investigar a ocorrência de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp. em *Cerdocyon thous* de vida livre do Espírito Santo. Para isto foram utilizados 19 cadáveres de cachorros-do-mato, vítimas de atropelamento em rodovias do Espírito Santo. Os animais foram necropsiados no setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo conforme protocolo de rotina e foram coletados fragmentos de baço. Os fragmentos foram congelados a -80°C e posteriormente transportados em caixa de isopor lacrada contendo gelo seco até o Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais para a realização da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). As análises revelaram que não houve amplificação do DNA do agente alvo em nenhuma amostra. Vale ressaltar que, por se tratarem de animais vítimas de atropelamento não foi possível se avaliar o *status* sanitário dos mesmos. Diante disto, nota-se que mais estudos devem ser realizados para esclarecer o papel do cachorro-do-mato na transmissão dessas doenças, uma vez que este animal pode funcionar como sentinela, ou mesmo reservatório. Sendo assim, deve-se pesquisar qual a participação do *C. thous* na epidemiologia da brucelose e das hemoparasitoses.

Palavras-chave: Brucelose; PCR; Hemoparasito.

ABSTRACT

The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) is a wild canid with distribution throughout South America and because it has general habits, it often has close contact with human populations and consequently domesticated animals. This proximity may be a risk for this species because, in addition to direct threats, such as trampling, hunting and habitat loss, infectious diseases common to wild species and domestic animals may also occur. Thus, the present study proposed to investigate the occurrence of *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangelia* sp. and *Hepatozoon* sp. in *Cerdocyon thous* of free life of the Espírito Santo State, Brazil. For this purpose, 19 cadavers of crab-eating fox were used, victims of trampling on highways of Espírito Santo. The animals were necropsied in the Animal Pathology sector of the Universidade Federal do Espírito Santo according to routine protocol and spleen fragments were collected. The fragments were frozen at -80° C and then transported in boxes containing dry ice to the Molecular Pathology Laboratory of the Universidade Federal de Minas Gerais for the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Analyzes revealed that there was no amplification of the target agent DNA in any sample. It is worth noting that, because they were animals that were hit by trampling, it was not possible to evaluate their sanitary status. In view of this, it is noted that further studies should be carried out to clarify the role of the crab-eating fox in the transmission of these diseases, since this animal can act as a sentinel, or even a reservoir. Therefore, it is necessary to investigate the participation of *C. thous* in the epidemiology of brucellosis and hemoparasitosis.

Key words: Brucellosis; Hemoparasites; PCR.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Cerdocyon thous*, conhecida vulgarmente como cachorro-do-mato, é um cánídeo silvestre onívoro, podendo se alimentar de crustáceos, frutas e pequenos vertebrados como mamíferos, anfíbios e répteis. Possuem hábitos noturnos e crepusculares, realizando a caça sozinho ou em pequenos grupos (FACURE; GIARETTA; MONTEIRO-FILHO, 2003).

Esta espécie possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todos os biomas brasileiros, ocupando uma gama variada de habitats sendo tolerante a perturbações antrópicas e pode estabelecer relação estreita com animais domesticados (BEISEGEL et al., 2013).

Este contato eventualmente se dá em forma de predação de carcaças de animais domésticos, além de alimentos processados e resíduos alimentícios de áreas onde existe a ocupação humana ou animais domesticados (FACURE; GIARETTA; MONTEIRO-FILHO, 2003). Essa estreita relação, pode fazer com que estes animais sejam infectados por diferentes agentes de potencial zoonótico. Desta forma, embora não sejam importantes disseminadores das doenças, podem se tornar reservatórios, o que poderia facilitar o diagnóstico de muitas destas enfermidades (PEAKALL; BOYD, 1987). Por outro lado, o fato de serem hospedeiros dos agentes, podem emergir ou reemergir agentes infecciosos em determinadas regiões (SANTOS et al., 2016).

Neste contexto, estudos sobre agentes infecciosos que causam doenças comuns em animais silvestres e domesticados são de suma importância para estabelecer a epidemiologia destas doenças de interesse médico veterinário nas populações selvagens (MARTINS et al., 2006; CRIADO-FORNELIO et al., 2006; SOARES et al., 2014; OLIVEIRA-FILHO et al., 2012).

Assim, alguns estudos foram realizados em canídeos silvestres para verificar a presença do agente infeccioso *Brucella* sp. (MARTINO et al., 2004; AZEVEDO et al., 2010; OLIVEIRA-FILHO et al., 2012), causador da brucelose, zoonose de importância mundial (DOS SANTOS et al., 2016). Além de estudos envolvendo hemoparasitoses, como: *Babesia* sp. (PARAENSE; VIANA, 1948; RUAS et al., 2003; MARTINS et al., 2006; MATJILA et al., 2008; BIRKENHEUR et al., 2010), *Rangelia* sp. (EIRAS et al., 2014; SOARES et al., 2014; QUADROS et al., 2015, SOARES et al., 2015; SILVEIRA et al., 2016), *Hepatozoon* sp. (CRIADO-FORNELIO et al., 2006; MATJILA et al., 2008; GIMENEZ et al., 2009; ANDRÉ et al., 2010).

Os diagnósticos dessas enfermidades podem ser realizados utilizando diferentes técnicas laboratoriais, entretanto, a reação em cadeia de polimerase (PCR) foi empregada como diagnóstico alternativo àqueles rotineiramente utilizados para identificação de agentes infecciosos, devido sua alta especificidade, sensibilidade e

não haver necessidade de que o patógeno se encontre viável na amostra biológica (CARVALHO, 2016).

Diante disto, no intuito de buscar melhorias para a sanidade dos animais silvestres e domésticos e conservação das espécies silvestres, além de contribuir para a adoção de políticas públicas de saúde, o presente trabalho teve por objetivo realizar a amplificação de DNA de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp. em *Cerdocyon thous* de vida livre do Espírito Santo, encontrados mortos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 19 cadáveres de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo (HOVET-UFES) provenientes da Reserva Biológica de Sooretama com sede no município de Sooretama, ES, Museu de Biologia Professor Mello Leitão com sede no município de Santa Tereza, ES, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro com sede no município de Campos dos Goytacazes, RJ, Secretaria do Meio Ambiente do município de Marataízes, ES, no período de janeiro a julho de 2018.

Este protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFES, sob número 065/2017.

Todos os animais foram mantidos congelados nos locais de origem até o envio ao Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram identificados de acordo com o número de registro de entrada no referido Laboratório.

2.2 Necropsia e coleta de amostras

Os animais recebidos foram necropsiados na Sala de Necropsia do Setor de Patologia Animal da UFES seguindo a técnica de rotina do setor que é baseada no exame externo e interno detalhado do cadáver. O exame externo consiste em avaliação do escore corporal do animal, condições de pele e pelos e presença de ectoparasitos. O exame interno consiste da avaliação macroscópica direta das cavidades e órgãos e avaliação das lesões conforme localização anatômica, distribuição e intensidade. De cada animal foram coletadas amostras de baço medindo 1cm x 1cm em duplicata.

As amostras foram acondicionadas em criotubos de 2mL, devidamente identificadas e congeladas a -80 °Celsius em ultrafreezer do Setor de Animais de Produção da UFES.

2.3 Processamento das amostras e reação em cadeia de polimerase (PCR)

As amostras foram transportadas em caixa de isopor lacrada e preenchida com gelo seco para posterior processamento no Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG.

A identificação original dos animais seguindo o registro no Laboratório de Patologia Animal foi alterada por números arábicos em ordem crescente e extração do material genético foi realizada de acordo com o protocolo de extração de guanidina (PITCHER et al., 1989).

Após a extração do DNA, a concentração de material genético foi determinada por espectrofotometria.

A reação em cadeia de polimerase para brucelose foi realizada seguindo o protocolo de Bayli et al. (1992) (Tabela 1), e a PCR para hemoparasitos (*Babesia* sp. *Rangelia* sp. e *Hepatozoon* sp.) foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Harrus et al. (2011) (Tabela 2).

Tabela 1 - Gene alvo e *primers* utilizados para a amplificação do DNA de *Brucella* sp. em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

Patógeno	Alvo	Primer	Sequência 5' → 3'	Tamanho de PB	Referência
<i>Brucella</i> sp.	BCS P31	B4f B5r	TGGCTCGGTTGCCAA TATCAA GCGGCTTGCCCTTCA AGGTCTG	223	BAYLI et al., 1992

Tabela 2 - Gene alvo e primers utilizados para a amplificação do DNA de piroplasmídeos em cachorro-domato (*Cerdocyon thous*) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

Patogeno	Alvo	Primer	Sequência 5' → 3'	Tamanho de PB	Referência
<i>Babesia</i> sp., <i>Rangelia</i> sp., <i>Hepatozoon</i> sp.	Gene 18S	PIRO Af PIRO Br	AATACCCAATCCTGA CACAGGG TTAAATACGAATGCC CCCAAC	400	HARRUS et al., 2011

Os dados foram avaliados por estatística descritiva baseado em percentuais.

3. RESULTADOS

Dos 19 animais utilizados no presente estudo, 11 (57,90%) foram originários da Reserva Biológica de Sooretama localizada no município de Sooretama, ES, seis (31,58%) do Museu de Biologia Professor Mello Leitão localizado no município de Santa Tereza, ES, um (5,26%) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sediada no município de Campos dos Goytacazes, RJ e um (5,26%) animal da Secretaria de Meio Ambiente do município de Marataízes, ES. No total foram utilizados 14 (73,68%) animais machos e cinco (26,32%) fêmeas, sendo que a fêmea proveniente de Campos dos Goytacazes tratava-se de indivíduo jovem. Os demais *C. thous* foram classificados como adultos (Figura 2).

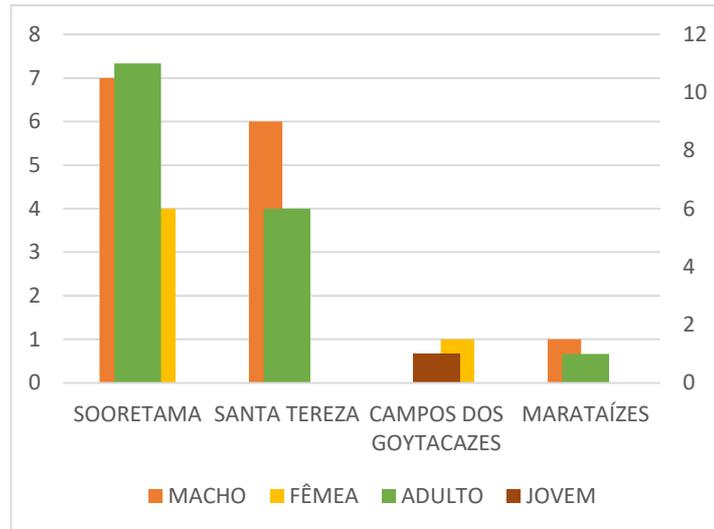


Figura 2. Valores absolutos do número de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) por município, sexo e idade necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

O trauma por atropelamento (Figura 3) foi responsável pelo óbito de 18 cachorros-do-mato, devido lesões de fraturas, hemorragias e ruptura de órgãos internos. Um animal foi submetido a eutanásia devido à grave lesão perfurocontundente provocada por ataque de um canino doméstico.



Figura 3- Exemplar de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) encontrado morto devido a lesões traumáticas provocadas por atropelamento às margens de rodovia BR101 Sul, trecho km306 x km 335, no estado do Espírito Santo.

Após a extração do DNA foram obtidos qualidade de amostra satisfatória em relação à concentração de material genético (Figura 4), mesmo que as amostras exibissem elevado grau de autólise.

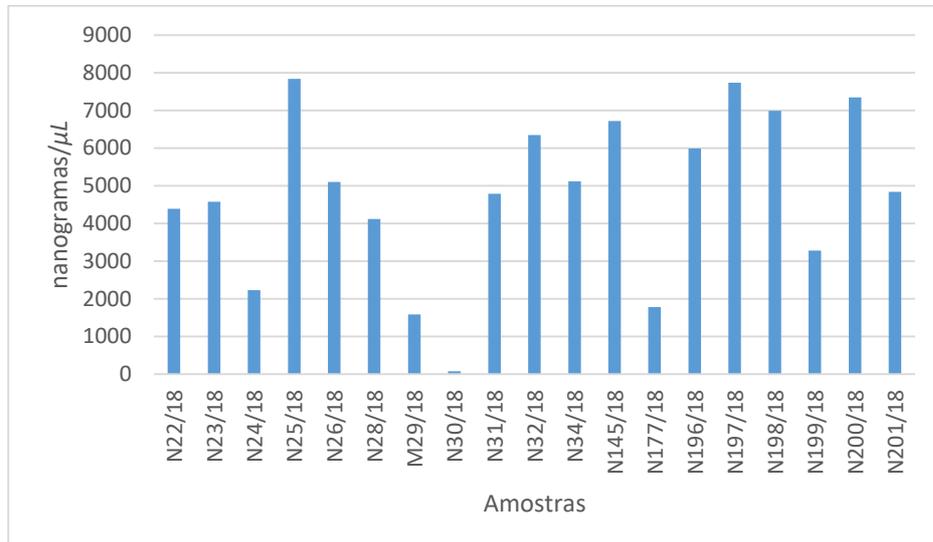


Figura 4 - Valores absolutos em nanogramas/μL da concentração de DNA obtidos após a extração de amostras de baço de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

Observou-se que a amostra 04 revelou resultado inconclusivo. Por esse motivo, repetiu-se a reação em cadeia de polimerase, somente nesta amostra, com adição de mais 2 μL da enzima taq polimerase. A reação de cadeia polimerase para o agente *Brucella* sp. (Figura 5) demonstrou que a eletroforese em gel de agarose revelou que a amplificação de DNA para o diagnóstico de *Brucella* sp. foi negativa em 100% das amostras.

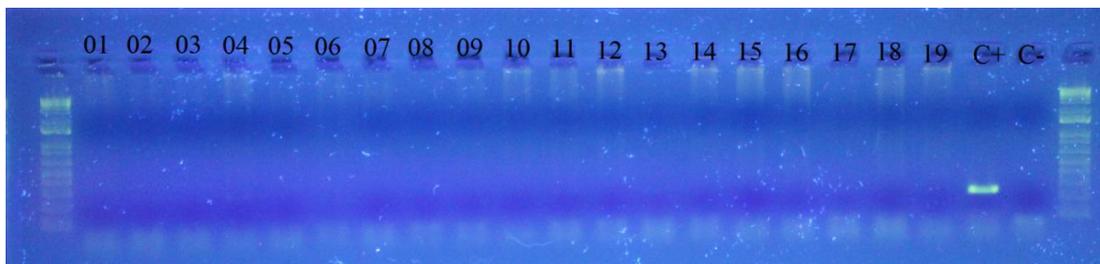


Figura 5 - Eletroforese em gel de agarose, evidenciando C+ (Controle positivo) e resultado inconclusivo na amostra 04. Demais amostras confirmados como negativo em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

Entretanto, após a reação (Figura 6) não houve amplificação de DNA do gene alvo do estudo.

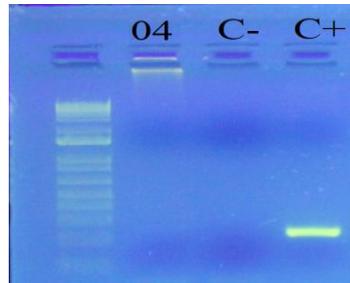


Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose após adição de TAQ na amostra 04 em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) necropsiado no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

Em relação à reação de cadeia polimerase para os agentes *Babesia* sp., *Rangelia* sp., e *Hepatozoon* sp. (Figura 7), a eletroforese em gel de agarose revelou que a amplificação de DNA com alvo no gene 18S, comum a todos os agentes testados, foi negativa em 100% das amostras.

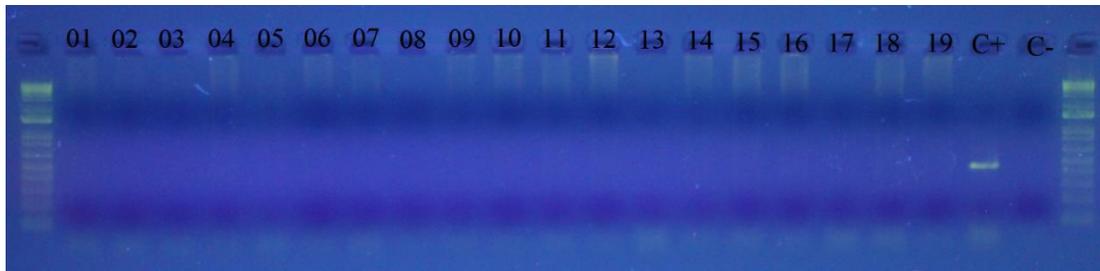


Figura 7 - Eletroforese em gel de agarose evidenciando o controle positivo (C+) em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) necropsiados no Laboratório de Patologia Animal da UFES no período de janeiro a julho de 2018.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo a alta ocorrência de animais oriundos dos municípios de Sooretama e Santa Tereza pode estar relacionada ao fato dos dois municípios possuírem monitoramento de estradas frequentes associados à diversas pesquisas na área de ecologia por diferentes instituições, como a REBIO de Sooretama e o Museu de Biologia Mello Leitão. Com isto, há maior disponibilidade de cadáveres.

Evidenciou que os animais machos e de fase adulta tendem a sofrer mais com fatores que levam a morte, principalmente por atropelamento. Essa característica corrobora com a descrita por Santana (2012) e pode ser explicada pelo cuidado parental da fêmea, que se isola para parir e amamentar os filhotes, não explorando grandes territórios.

O atropelamento foi relacionado diretamente com o óbito dos animais utilizados no presente estudo, entretanto não se pode descartar a presença de outros processos patológicos concomitantes, não elucidados por se tratarem de animais de vida livre. Sabe-se que os atropelamentos, de um modo geral, levam a ocorrência de lesões graves impossibilitando o exame detalhado de alguns órgãos. Sendo assim, o diagnóstico de outras doenças pode ser dificultado. Neste contexto, doenças infecciosas poderiam debilitar os animais facilitando a colisão dos mesmos com veículos automotores.

Em relação ao agente *Brucella* sp. investigado no presente estudo, a pesquisa conduzida por Oliveira Filho (2007) também revelou resultados negativos em cachorro-do-mato, entretanto o método de diagnóstico utilizados por estes autores foi diferente, utilizando-se o teste de antígeno acidificado tamponado (AAT) e teste de fixação de complemento (FC). É importante destacar que o teste AAT é uma prova de aglutinação rápida que indica a presença ou ausência de imunoglobulina G, enquanto que, o teste FC se baseia na inativação do complemento pelo complexo antígeno-anticorpo, ou seja, em ambos os testes há necessidade da presença de anticorpos.

Também foram realizados testes de AAT e 2-mercaptoetanol (teste que desnatura a imunoglobulina M reduzindo o número de reações inespecíficas) em 60 raposas (*Pseudalopex vetulus*) atropeladas no semiárido paraibano para detecção de *B. canis* e *B. abortus*, em que obtiveram resultado positivo em quatro amostras para o agente *B. abortus* (AZEVEDO et al. 2010). Apesar de existir proximidade taxonômica e semelhanças de hábitos entre as raposas e os cachorros-do-mato, tratam-se de espécies distintas. Um outro ponto a ser considerado é o número de amostras utilizado por Azevedo et al. (2010) que foi cerca de três vezes maior do que o presente estudo o que poderia trazer uma maior probabilidade de encontrar amostras positivas. Estes autores também tiveram período amostral maior.

Quando realizado o teste de Rosa de Bengala (RBT) e Polarização Fluorescente (FPA) em 38 *Cerdocyon thous* de vida livre da região do pantanal brasileiro, Dorneles et al. (2014), diagnosticaram o agente *B. abortus* em cinco animais, o que caracteriza uma baixa ocorrência do patógeno para a espécie. Vale ressaltar que o teste de FPA se baseia na diferença rotacional entre a molécula do antígeno solúvel (marcado com fluorocromo) e essa mesma molécula ligada ao anticorpo, portanto detecta a presença de anticorpos.

No estudo conduzido por Hayashi (2013), o diagnóstico molecular utilizando a técnica de reação em cadeia polimerase em 41 cachorros-do-mato de vida livre da região do Parque Nacional da Emas, não detectou nenhuma amostra positiva para *Brucella* sp., assim como Proença (2007) em experimento conduzido com sete *C.thous* de vida livre na Estação Ecológica de Águas Emendadas. Acredita-se que os resultados negativos para *Brucella* sp. em cachorro-do-mato, inclusive, os do presente estudo, utilizando-se testes moleculares que são altamente sensíveis e específicos, ocorreram pelo fato de não existir infecção pelo agente, pois os testes de AAT, FC, RBT e FPA, são testes sorológicos e, portanto, detectam anticorpos circulantes e demonstram que houve contato dos hospedeiros com o agente, no entanto, não indicam necessariamente infecção.

Outro fator que deve ser considerado é que a maioria dos relatos para detecção de *Brucella* sp. utilizaram animais de vida livre o que dificulta a avaliação do estado clínico e a confirmação da doença. Entretanto, alguns estudos realizaram a captura dos animais vivos e a coleta de material, no entanto, também não encontraram nenhum animal com sinal clínico (PROENÇA, 2007; HAYASHI, 2013; DORNELES et al. 2014).

Apesar do hábito alimentar generalista do cachorro-do-mato que, por vezes, pode se alimentar de fetos abortados, restos placentários, carcaças de animais de produção, o papel do cachorro-do-mato na transmissão da brucelose necessita ser melhor esclarecido, uma vez que este animal pode funcionar como sentinela, ou mesmo reservatório da doença. Sendo assim, deve-se investigar mais a fundo a participação do *C. thous* na epidemiologia da doença no território brasileiro.

Em relação aos agentes *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp., comumente são diagnosticados em animais domésticos de diferentes espécies em diversas regiões do território brasileiro, por variadas técnicas de diagnóstico. Entretanto, no presente trabalho, à amplificação de DNA do gene alvo não ocorreu em nenhuma amostra.

Todavia, em um estudo no pantanal brasileiro, 78 *C. thous* foram testados para *Babesia* sp., pelo teste de ELISA e PCR. Quando utilizado o teste de ELISA, 42 cachorros-do-mato foram sororreativos para o agente *B. vogeli*, porém quando realizado o PCR, somente um animal foi positivo (DE SOUSA et al., 2018). Por outro lado, na rodovia ES-060 entre os municípios de Guarapari e Vila Velha, Almeida et al. (2013) diagnosticaram por meio da reação em cadeia de polimerase *Babesia* sp. em 10 *C. thous* de 58 animais testados.

A alta prevalência de *Babesia* sp. nos animais avaliados por De Sousa et al. (2018) pela técnica de ELISA pode ser justificada por se tratar de teste sorológico que detecta presença de anticorpos. Assim, não caracteriza obrigatoriamente um quadro de infecção pelo agente. Contudo, Almeida et al. (2013) utilizaram amostras de animais provenientes de regiões semelhantes ao presente estudo e encontraram prevalência de 17,24%. No entanto, estes mesmos autores revelaram que no período amostrado (2004 a 2009) todos os animais positivos mostraram infestação concomitante por carrapatos. No presente estudo, além de ter sido coletado material em anos posteriores, nenhum animal avaliado revelou presença de ectoparasitos o que pode explicar os resultados negativos para *Babesia* sp.

Quando se considera a rangeliose, os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos de Almeida et al. (2013) e De Sousa et al. (2018) que também utilizaram a PCR em seus estudos. Estes dados mostram que mesmo animais que possuíam carrapatos, como os avaliados por Almeida et al. (2013) que utilizaram animais atropelados na Rodovia ES-060, não foram detectados esses hemoparasitos.

Apesar disso, a presença de *Ragellia* sp. foi diagnosticada em cachorro-do-mato utilizando a PCR em animais de São Paulo e Rio Grande do Sul, onde foram amostrados animais de vida livre e animais em cativeiro. Destes animais, 13 eram animais de vida livre e 46,2% foram diagnosticados como positivos (SOARES et al.,

2014). Na mesma região em um estudo utilizando dois cachorros-do-mato, foi diagnosticada também por meio da reação em cadeia polimerase, o agente *R. vitalli* em um animal (50%) (FREDO et al. 2015).

A alta prevalência de rangeliose observada nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul pode ser explicada por se tratarem de regiões endêmicas para este hemoparasito (SOARES et al., 2014). No estado do Espírito Santo, até o presente momento, não existem dados na literatura da presença do agente em nenhuma espécie.

A hepatozoonose é uma doença relativamente comum e de alta prevalência em cachorro-do-mato em diferentes regiões do Brasil. Na região do pantanal brasileiro, de 78 espécimes testados para o agente, 91% foram positivos (DE SOUSA et al., 2018), no Espírito Santo, dos 58 animais provenientes da ES-060 entre as cidades de Vila Velha e Guarapari, 50% foram detectados com o agente (ALMEIDA et al., 2013) e no Rio Grande do Sul, de oito *C. thous* testados, cinco foram positivos para *Hepatozoon* sp.

Conquanto, alguns estudos encontraram infecção concomitante entre *Rangelia* sp. e *Hepatozoon* sp. em canídeos silvestres no Sul do Brasil (SILVEIRA et al. 2016; SILVA et al. 2018).

A ausência de ectoparasitas no presente trabalho pode justificar o resultado negativo para *Babesia* sp., *Rangelia* sp., e *Hepatozoon* sp., pois todos esses patógenos são transmitidos por meio dos carrapatos, tanto pelo repasto sanguíneo (Babesiose e Rangeliose), quanto pela ingestão do ectoparasita (Hepatozoonose). Uma outra justificativa para a ausência dos carrapatos pode estar relacionada a imunidade dos indivíduos, pois sabe-se que animais saudáveis dispõem de mecanismos imunológicos que podem modificar a estrutura da pele do hospedeiro e prejudicar o repasto sanguíneo do artrópode (PARIZI; MASUDA; VAZ JÚNIOR, 2007). Entretanto, no presente estudo não há como afirmar que os animais estavam totalmente saudáveis por se tratarem de animais mortos decorrentes de traumas. Um outro ponto ainda que deve ser considerado é que o tempo decorrido entre a morte dos animais e o armazenamento dos cadáveres pode ter possibilitado o despreendimento dos ectoparasitos da pele.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que os exemplares de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre do Espírito Santo, encontrados mortos, avaliados no presente estudo não possuíram amplificação do DNA de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp.

Diante disto, futuros estudos devem ser realizados para esclarecer o papel do cachorro-do-mato na transmissão dessas doenças, uma vez que este animal pode funcionar como reservatório. Sendo assim, deve-se pesquisar qual a participação do *C. thous* na epidemiologia da brucelose e das hemoparasitoses.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. P.; SOUZA, T.,D.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B. Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crabeating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**. v. 50, p. 640–646, 2013.
- ANDRÉ, M. R.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; VARGAS, G. H.; FALCADE, M.; SOUSA, L.; SALLES, A. R.; ALLEGRETTI, S. M.; FELIPPE, P. A. N.; MACHADO, R. Z. Molecular detection of *Hepatozoon* spp in Brazilian and exotic wild carnivores. **Veterinary Parasitology**. v. 173, n. 1/2, p. 134-138, 2010.
- AZEVEDO, S. S.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A.; GOMES, A. A. B., VASCONCELLOS, S. A.; ALVES, C. J. Anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*) do semiárido paraibano, Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**. v.40, n.1, 2010.
- BAILY, G. G., KRAHN, J. B., DRASAR, B. S.; STOCKER, N. G. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. **Journal of tropical medicine and hygiene**. v.95, p.271–275, 1992.
- BEISIEGEL, B. M.; LEMOS, F.G.; AZEVEDO, F.C.; QUEIROLO, D.; JORGE, R. S. P. Avaliação do risco de extinção do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**. v. 3 p.160–171, 2013.
- BIRKENHEUER, A. D.; HORNEY, B.; BAILEY, M.; SCOTT, M.; SHERBERT, B.; CATTO, V.; MARR, H. S.; CAMACHO, A-T.; BALLMAN, A.E. *Babesia microti*-like infections are prevalent in North American foxes. **Veterinary Parasitology**. v. 172, n. 3/4, p.179-182, 2010.
- CARVALHO, M.F.M. **Deteção de Bacteroides SPP, e Prevotella SPP. em amostras clínicas por PCR em tempo real**. 2016. Tese (Doutorado), Universidade Nova, Portugal.

CRIADO-FORNELIO, A.; RUAS, J. L.; CASADO, N.; FARIAS, N. A.; SOARES, M. P.; MÜLLER, G.; BRUMT, J. G.; BERNE, M. E.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA CARRETERO, J. C. New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **The Journal of Parasitology**. v. 92, p. 93-99, 2006.

DE MIRANDA, R. L.; O'DWYER, L. H.; DE CASTRO, J. R.; METZGER, B.; RUBINI, A. S.; MUNDIM, A. V. Prevalence and molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from urban and rural areas in Southeast Brazil. **Research in Veterinary Science**. v. 97 p. 326–329, 2014.

DE SOUSA, K. C. M.; FERNANDES, M. P.; HERRERA, H. M.; FRESCHI, C. R.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Diversity of piroplasmids among wild and domestic mammals and ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. v. 9, n. 2, p. 245-253, 2018.

DI BITETTI, M. S.; DI BLANCO, Y. E.; PEREIRA, J. A.; PAVIOLO, A.; PÉREZ I. J.; Time partitioning favors the coexistence of sympatric crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) and pampas foxes (*Lycalopex gymnocercus*). **Journal of Mammalogy**. n. 90, p. 479-490, 2009.

DORNELES, E. M. S.; PELLEGRIN, A. O.; PÉRES, I. A. H. F. S.; MATHIAS, L. A., MOURÃO, G.; BIANCHI, R. C.; OLIFIERS, N.; ROCHA, F. L.; LAGE, A. P. Serology for brucellosis in free-ranging crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) and brown-nosed coatis (*Nasua nasua*) from Brazilian Pantanal. **Ciência Rural**. v. 44, p. 2193-2196, 2014.

DOS SANTOS, R.P.; DE BRUYN DENADAI, L.; SOUSA, D.R., DONATELE, D.M.; NUNES, L.C.; OLIVEIRA, A.P.M.A. Lesões cervicais granulomatosas não estão associadas a brucelose bovina no sul do estado do Espírito Santo, Brasil. **PUBVET**. v. 10, p.636-720, 2016.

EIRAS, D. F.; CRAVIOTTO, M. B.; BANETH, G.; MORÉ, G. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangellosis) in Argentina. **Parasitology international**, v. 63, n. 5, p. 729-734, 2014.

FACURE, G.; GIARETTA, A.A.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Food habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, in na altitudinal forest of the Mantiqueira Range, Southeastern Brazil. **Mammalia**, v.67, p. 503-511, 2003.

FREDO, G., BIANCHI, M.V., DE ANDRADE, C.P., DE SOUZA, S.O., LEITE-FILHO, R.V., BANDINELLI, M.B., AMORIM, D.B., DRIEMEIER, D., SONNE, L. Natural infection of wild canids (*Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus*) with the intraendothelial piroplasm *Rangelia vitalii* in Southern Brazil. **Wildlife Disease Association**. v.51, p.880–884, 2015.

GIMENEZ, C.; CASADO, N.; CRIADO-FORNELIO, A.; MIGUEL, F. A.; DOMINGUEZ-PEÑAFIEL, G. A molecular survey of Piroplasmida and *Hepatozoon* isolated from domestic and wild animals in Burgos (northern Spain). **Veterinary Parasitology**. v. 162, p. 147-150, 2009.

HARRUS, S., PERLMAN-AVRAHAMI, A., MUMCUOGLU, K. Y., MORICK, D., EYAL, O., BANETH, G. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma*

platys, Candidatus *Midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel. **Clinical Microbiology and Infection**, v.17, n.3, p.459–463, 2011.

HAYASHI, E. M. K. **Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás**. 2013. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

MARTINS, T. F.; CUROTTO, S. M. R.; SILVA, F. M. P.; TEIXEIRA, C. R.; TAKAHIRA, R. K.; LOPES, R. S. *Ancylostoma* sp. e *Babesia* sp. associada ao parasitismo por *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI IXODIDAE) em Raposinha - do - campo (*Pseudalopex vetulus*) (CARNIVORA CANIDAE) no Centro de Recuperações de Animais Silvestres da FMVZ - Unesp - Botucatu - SP. In: **Congresso da Sociedade Paulista de Zoológicos**, 15; 2006.

MASSARD, C.A. ***Hepatozoon canis* (James, 1905) (Adeleida: Hepatozoidae) caso do Brasil, como uma revisão do gênero em membros da ordem carnívora**. 1979. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro,

MATJILA, P. T.; LEISEWITZ, A. L.; JONGEJAN, F.; BERTSCHINGER, H. J.; PENZHORN, B. L. Molecular detection of *Babesia rossi* and *Hepatozoon* sp. in African wild dogs (*Lycaon pictus*) in South Africa. **Veterinary Parasitology**. v. 157, p. 123-127, 2008.

MIRANDA, F. J. B.; ALBERNAZ, A. P.; MELO JR, O. A.; MACHADO, J. A. Frequência de cães infectados por *Babesia* spp. em Campos dos Goytacazes, RJ. **Ciência Animal Brasileira**. v. 9, n. 1, p. 238-241, 2008.

OIE – World Organisation for Animal Health. **Training Manual on Wildlife Diseases and Surveillance, Office International des epizooties**, FR, p. 56, 2017.

OLIVEIRA-FILHO, E. F.; PINHEIRO, J. W. JR.; SOUZA, M. M. A.; SANTANA, V. L. A.; SILVA, J. C.R.; MOTA, R. A.; SÁ, F. B. Serologic survey of Brucellosis in captive neotropical wild carnivores in northeast Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** v. 43, n. 2, p. 384-387, 2012.

PARAENSE, W. L.; VIANNA, Y. L. Algumas observações sobre a babesiose dos cães no Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 46, n. 13, p. 595-603, 1948.

PARIZI, L. F.; MASUDA, A.; VAZ JUNIOR, I. D. S. Modulação da resposta imune do hospedeiro pelos carrapatos. **Acta scientiae veterinariae**. Porto Alegre, RS. v. 35, n. 3, p. 285-294, 2007.

PAVLIN, B.I.; SCHLOEGEL, L.M.; DASZAK, P. Risk of importing zoonotic diseases through wildlife trade, United States. **Emerging Infectious Diseases Journal**. n 15: p. 1721-1726, 2009.

PEAKALL, D. B.; BOYD, H. Birds as bio-indicators of environmental conditions. ICBP **Technical Publication 6**, Cambridge, UK. p. 113-118, 1987.

PICHER, D. G.; SAUNDERS, N. A.; OWE, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**. v.8, p. 151-156, 1989.

- PROENÇA, L. M.; SILVA, J. C. R.; GALERA, P. D.; LION, M. B.; MARINHO-FILHO, J. S.; RAGOZO, A. M. A.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; VASCONCELLOS, S. A.; SOUZA, G. O.; PINHEIRO-JUNIOR, J. W.; SANTANA, V. L. A.; FRANÇA, G. L.; RODRIGUES, F. H. G. Serologic survey of infectious diseases in populations of maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Águas Emendadas Ecological Station, Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 44, p. 152–155, 2013.
- QUADROS, R. M.; SOARES, J. F., XAVIER, J. S., PILATI, C., DA COSTA, J. L., MIOTTO, B. A.; LABRUNA, M. B. Natural infection of the wild canid *Lycalopex gymnocercus* by the protozoan *Rangelia vitalii*, the agent of canine rangelirosis. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 51, n. 3, p. 787-789, 2015.
- RUAS, J. L.; FARIAS, N. A. R.; SOARES, M. P.; BRUM, J. G. W. *Babesia* sp em Graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) no sul Brasil. **Arquivo do Instituto de Biologia**. v. 70, n. 1, p. 113-114., 2003.
- SANTANA, S. G. Fatores influentes sobre atropelamentos de vertebrados na região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**. v. 17, p. 726–40, 2012.
- SANTOS, J. P.; STEINKE, V. A.; DE OLIVEIRA, S. V.; GARCÍA-ZAPATA, M. T. A. Espaço e doença: mudanças antrópicas e a hantavirose. **Hygeia**. v. 12, n. 22, p. 62-71, 2016.
- SILVA, M. R. L. D.; MATTOSO, C. R. S.; COSTA, A.; SAITO, M. E.; TCHAICKA, L.; O'DWYER, L. H. *Rangelia vitalii* and *Hepatozoon canis* coinfection in pampas fox *Lycalopex gymnocercus* from Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 27, n. 3, p. 377-383, 2018.
- SILVEIRA, J. A. G.; D'ELIA, M. L.; DE OLIVEIRA AVELAR, I.; DE ALMEIDA, L. R.; DOS SANTOS, H. A.; DE MAGALHÃES SANTOS, D. F. *Rangelia vitalii* in a free-ranging maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and co-infections. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**. n. 4, p. 280-285, 2016.
- SOARES, J. M. Piroplasmoses. In: JERICÓ, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1 ed. São Paulo: Roca, v. 1, Cap. 82, p. 741-756; 2015

CAPITULO 2. Avaliação morfológica de fígado e pulmão associados a infecção por parasitos das famílias Dicrocoeliidae e Metastroylidae em *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) de vida livre vítimas de traumas

RESUMO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), é um canídeo selvagem que habita desde a Patagônia até o norte da Venezuela. Possui hábitos generalistas e oportunistas, facilitando assim seu contato com populações humanas. Esse contato direto leva ao risco da espécie ser afetada por predação de canídeos domésticos, caça, domesticação de filhotes e atropelamentos e isto faz com que *C. thous* seja, atualmente, um dos mamíferos mais atropelados no Brasil. Essa proximidade com áreas antrópicas favorece a ocorrência de infecções por agentes comuns a animais domésticos. Assim, o presente estudo propôs realizar a avaliação morfológica de fígado e pulmão em *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) de vida livre. Para isto, foram utilizados 20 cadáveres de cachorros-do-mato, vítimas de atropelamento em rodovias do Espírito Santo e Rio de Janeiro. Os animais foram necropsiados no setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo e coletadas amostras de fígado e pulmão para histopatologia. As principais lesões observadas na macroscopia dos cadáveres foram fraturas ósseas, hemorragias cavitárias e ruptura de órgãos internos. A microscopia revelou alterações circulatórias generalizadas em fígado e pulmão que foram associadas aos traumas. Observaram-se ainda fibrose periductal, proliferação ductal, hiperplasia periductal e presença de parasitos adultos e ovos de casca espessa que foram associados a trematodas da família Dicrocoeliidae e em pulmão pneumonia granulomatosa multifocal, hemossiderose difusa e larvas de parasitos que foram associados a nematodas da família Metastroylidae. Conclui-se que existem lesões inflamatórias e fibróticas em fígado e pulmão que estão associadas ao parasitismo por espécimes das famílias Dicrocoeliidae e Metastroylidae. Estes dados demonstram a importância de se verificar a ocorrência e distribuição dos parasitos em carnívoros silvestres para criar estratégias de manejo mais adequadas à conservação, assim como a identificação da fauna parasitária nesses animais.

Palavras chave: Canídeos silvestres; Helmintos; Histopatologia.

ABSTRACT

The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), is a wild canid that inhabits from Patagonia to the north of Venezuela. It has generalist and opportunistic habits, thus facilitating its contact with human populations. This direct contact leads to the risk of the species being affected by predation of domestic canids, hunting, domestication of puppies and trampling, and this fact makes *C. thous* to be one of the most actually one of the most trample mammals in Brazil. This proximity to anthropic areas favors the occurrence of infections by agents common to domestic animals. Thus, the present study proposed to perform the morphological evaluation of liver and lung in *Cerdocyon thous* (crab-eat fox) of free life. For this, 20 cadavers of crab-eating foxes were used, victims of trampling on highways in Espírito Santo and Rio de Janeiro. The animals were necropsied in the Animal Pathology Sector of the Universidade Federal do Espírito Santo and liver and lung samples were collected for histopathology. The main lesions observed in macroscopy of cadavers were bone fractures, cavitory hemorrhages and internal organ rupture. Microscopy revealed generalized circulatory changes in liver and lung that were associated with trauma. Periductal fibrosis, ductal proliferation, periductal hyperplasia and the presence of adult parasites and thick eggs were observed, which were associated with trematodes of the family Dicrocoeliidae and multifocal granulomatous pneumonia, diffuse hemosiderosis and larvae of parasites that were associated with nematodes of the family Metastrogylidae. We conclude that there are inflammatory and fibrotic lesions in the liver and lung that are associated with parasitism by specimens of the families Dicrocoeliidae and Metastrogylidae. These data demonstrate the importance of verifying the occurrence and distribution of parasites in wild carnivores to create management strategies more appropriate to conservation, as well as the identification of parasitic fauna in these animals.

Key-words: Helminths; Histopathology; Wild canides.

1. INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), canídeo silvestre conhecido popularmente também como raposa, lobinho e graxaim-do-mato, não é um animal

ameaçado de extinção e é amplamente distribuído por toda América do Sul (BEISEGEL et al., 2013)

Essa espécie ocupa diversos habitats, desde cerrado, caatinga e florestas adensadas, ocorrendo desde o extremo norte da Venezuela até a região da Patagônia (LEMOS; FACURE; AZEVEDO, 2011) sendo sua ampla distribuição favorecida pelo seu hábito alimentar, pois além de possuírem uma dieta generalista, são animais oportunistas que frequentam com certa facilidade locais em que existem modificações antrópicas, alimentando-se também de resíduos de consumo humano (FACURE; GIARETTA; MONTEIRO-FILHO, 2003). Também desempenha um papel ecológico fundamental em ambientes naturais, regulando as comunidades faunísticas e assim influenciando toda dinâmica do ecossistema (BERTA et al., 1982).

Porém, o estreito contato com seres humanos resulta em grandes ameaças para a sobrevivência do cachorro-do-mato, sendo relatado ataques de canídeos domésticos, caça, captura de filhote, atropelamentos e enfermidades comuns às espécies domiciliadas acometendo a espécie silvestre (BRUM et al., 2018).

Neste contexto, a causa mais comum de mortalidade em canídeos silvestres é o atropelamento desses. Geralmente, ocorrem lesões torácicas, ósseas, neurológicas, tegumentares e abdominais. Dentre as lesões torácicas mais comuns estão o pneumotórax, contusões pulmonares, hemotórax, fraturas de costela e hérnia diafragmática (CULP; SILVERSTEIN, 2015).

Por outro lado, diversas enfermidades que acometem *C. thous* podem ser responsáveis por elevados índices de morbidade, assim destacam-se às provocadas por helmintos, como: *Angiostrongylus vasorum*, *Platynosomum illiciens*, *Ancylostoma buckleyi*, *Pterygodermatites affinis*, *Athesmia heterolecithodes*, *Ancylostoma caninum*, *Molineus felineus*, *Strongyloides* sp., *Trichuris* sp., *Capillaria hepatica*, *Alaria alata*, *Spirometra* sp., parasitas da família *Diphybothriidae* sp., e *Centrorhynchus* sp. (DUARTE, 2007; RUAS et al., 2008).

Embora alguns helmintos que infectam cachorros-do-mato sejam descritos na literatura, no Espírito Santo esses dados ainda são escassos. Assim, é importante verificar a ocorrência e distribuição dos parasitos em carnívoros silvestres para que sejam criadas estratégias de manejo mais adequadas à conservação dessas espécies. Diante disso, objetivou-se descrever os achados histopatológicos e

parasitários em fígado e pulmão de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre, vítimas de traumas no intuito de contribuir com o conhecimento da diversidade parasitária nesse hospedeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 20 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo (HOVET-UFES) provenientes da Reserva Biológica de Sooretama com sede no município de Sooretama - ES, Museu de Biologia Professor Mello Leitão com sede no município de Santa Tereza – ES, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro com sede no município de Campos dos Goytacazes – RJ e Secretaria de Meio Ambiente do município de Marataízes – ES, no período de janeiro a julho de 2018, todos vítimas de traumas, seja por atropelamentos ou de ataques por cães domésticos.

Este protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFES, sob número 065/2017.

Todos os animais foram mantidos congelados nos locais de origem até o envio ao laboratório de Patologia Animal.

Os animais foram identificados de acordo com o número de registro de entrada no referido Laboratório.

2.2 Coleta e processamento das amostras

Os animais recebidos foram necropsiados na Sala de Necropsia do Setor de Patologia Animal do HOVET-UFES seguindo a técnica de rotina do setor. Todos os cadáveres foram fotodocumentados.

Durante a necropsia, foi realizada a descrição macroscópica das lesões observadas e foram coletadas amostras de fígado e pulmão, sendo essas armazenadas em solução de formalina a 10%.

As amostras fixadas em formol foram submetidas ao processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo rotativo manual com 3µm de espessura e, em seguida, foram depositados em lâminas de vidro. As lâminas foram coradas pela técnica de HE (hematoxilina e eosina) e submetidas à análise por microscopia de luz.

As lâminas que apresentaram lesões, foram fotografadas e tanto os ovos quanto os fragmentos dos parasitas adultos foram medidos utilizando o programa ImageJ 64-bit Java 1.8.0_112.

3. RESULTADOS

Dos 20 animais utilizados no presente estudo, 12 foram originários da Reserva Biológica de Sooretama localizada no município de Sooretama - ES, seis do Museu de Biologia Professor Mello Leitão localizado no município de Santa Tereza - ES, um da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sediada no município de Campos dos Goytacazes e um da Secretaria de Meio Ambiente do município de Marataízes. No total, 14 animais eram machos e seis eram fêmeas, em que a fêmea proveniente de Campos dos Goytacazes tratava-se de indivíduo jovem. Os demais *C. thous* foram classificados como adultos.

Os principais achados macroscópicos observados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3. Principais lesões macroscópicas de *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.

Animal	Lesões		
	Fraturas	Alterações vasculares	Ruptura de órgãos internos
N22/18	+	+	+
N23/18	+		
N24/18	+		+
N25/18	+	+	+
N26/18	+		+
N27/18	+		+
N28/18	+	+	+
N29/18	+		
N30/18		+	
N31/18	+	+	
N32/18		+	+
N34/18	+		
N145/18	+		
N177/18	+		
N196/18	+	+	+
N197/18	+		
N198/18	+	+	+
N199/18	+		
N200/18	+	+	+
N201/18	+		

A avaliação microscópica do fígado revelou congestão hepática (75% - 15/20), fibrose periductal (65% - 13/20), proliferação ductal (15% - 3/20), hiperplasia periductal (5% - 1/20), infiltrado inflamatório mononuclear (5% - 1/20) e parasitos hepáticos (30% - 6/20) e, em relação a morfologia dos parasitos, observaram-se ventosas, em corte transversal, que mediram em média 204,03µm de comprimento e 166,27µm de largura. Além disto, foram evidenciados fragmentos de ovos que mediram em média

32,64µm de comprimento e 18,73µm de largura, com casca espessa de coloração marrom, operculados com miracídeos no interior (Tabela 4 e Figura 8).

Tabela 4. Lesões microscópicas de fígado de *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.

Animal	Lesões hepáticas					
	Congestão	Parasitas	Fibrose periductal	Hiperplasia periductal	Proliferação ductal	Inflamação
N22/18	+	+		+		
N23/18	+					
N24/18						
N25/18	+	+	+			
N26/18	+	+	+		+	
N27/18			+			
N28/18	+					
N29/18	+		+			
N30/18	+		+			
N31/28	+		+			
N32/18	+					
N34/18	+		+			
N145/18	+					
N177/18	+	+	+			+
N196/18			+			
N197/18	+					
N198/18			+		+	
N199/18		+	+			
N200/18	+	+	+		+	
N201/18	+		+			

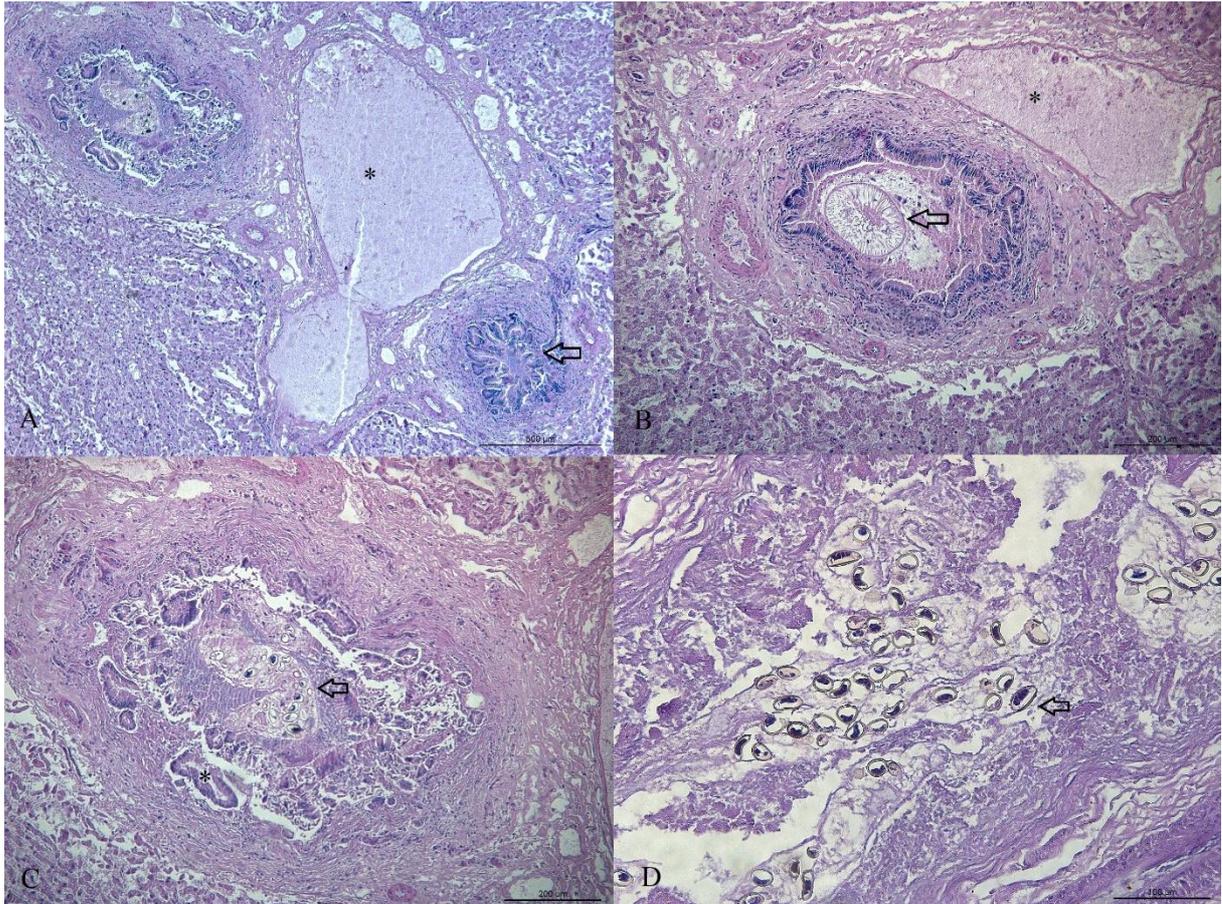


Figura 8. Fotomicrografia de fígado de *Cerdocyon thous*: A) Congestão (*), fibrose periductal, proliferação ductal e hiperplasia ductal (seta) e fragmento de parasito adulto dentro do ducto biliar (barra 500µm); B) Congestão (*), ventosa de parasito no interior do ducto biliar (seta) associado a discreto infiltrado inflamatório periductal (barra 200µm); C) Fibrose periductal, proliferação de ductos (*) e parasitos com ovos (seta) dentro do ducto biliar (barra 200µm); D) Fragmentos de ovos de parasitos com casca marrom espessa difusos no parênquima (barra 100µm). Coloração de hematoxilina-eosina.

A avaliação microscópica do pulmão revelou congestão (100% - 20/20), edema (95% - 19/20), hemorragia (55% - 11/20), infiltrado inflamatório mononuclear (15% - 3/20), pneumonia granulomatosa multifocal intensa (5%-1/20), hemossiderose difusa intensa (5% - 1/20), além de parasitos pulmonares (5% - 1/20). Os parasitos pulmonares observados, em cortes transversal e longitudinal, revelaram larvas alongadas, arranjadas em formato de espiral que mediram em média 176,21µm de comprimento e 14,23µm de largura. Foram evidenciadas larvas menores que mediram

em média 66,33µm de comprimento e 40,5µm de largura, envoltas por intensa reação inflamatória granulomatosa com inúmeros macrófagos, células gigantes tipo Langhans e hemossiderose difusa intensa. Não foram evidenciados fragmentos de parasitos adultos ou de ovos (Tabela 5 e Figura 9).

Tabela 5. Lesões microscópicas de pulmão de *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) vítimas de traumas necropsiados entre janeiro e julho de 2018 no Laboratório de Patologia Animal da UFES.

Animal	Lesões pulmonares				Parasitos
	Congestão	Edema	Hemorragia	Infiltrado inflamatório	
N22/18	+	+			
N23/18	+			+	+
N24/18	+	+			
N25/18	+	+			
N26/18	+	+			
N27/18	+	+	+		
N28/18	+	+	+		
N29/18	+	+	+		
N30/18	+	+	+		
N31/28	+	+	+		
N32/18	+	+			
N34/18	+	+	+		
N145/18	+	+			
N177/18	+	+	+		
N196/18	+	+	+	+	
N197/18	+	+		+	
N198/18	+	+	+		
N199/18	+	+	+		
N200/18	+	+	+		
N201/18	+	+		+	

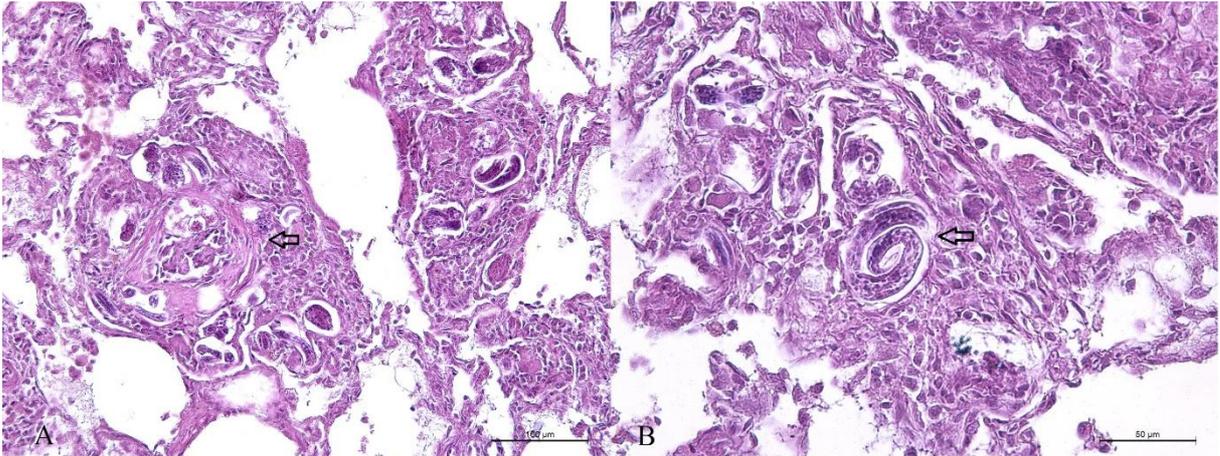


Figura 9. Fotomicrografia de pulmão de *Cerdocyon thous*: A) Pneumonia granulomatosa (seta) e fragmentos de larvas de parasitos no interior (barra 100µm); B) Pulmão com fragmento de larva de parasito alongada e espiralada (barra 50µm). Coloração de Hematoxilina-eosina.

4. DISCUSSÃO

Em relação à prevalência, o município de Sooretama – ES foi responsável pelo maior número dos animais utilizados no presente estudo, seguido por Santa Tereza – ES. Esses municípios possuem unidades de conservação de âmbito federal, com grandes áreas naturais preservadas e por consequência uma maior quantidade de animais silvestres. Entretanto, devido a maior abundância de fauna, as características da malha rodoviária da região e aos hábitos de *C. thous*, ocorrem muitos atropelamentos destes animais aumentando a disponibilidade de cadáveres para realização das necropsias.

Dentre as lesões observadas na macroscopia, as fraturas de crânio, fraturas de membros torácicos e pélvicos e fraturas torácicas (costelas e esterno) foram as mais prevalentes nos animais avaliados no presente estudo, corroborando com estudos anteriores em que o atropelamento foi a causa mais comum de fratura em animais domésticos e silvestres (SANDE; WEST, 2010). Estas lesões também foram responsáveis pela maioria dos óbitos de cães domésticos atropelados na cidade de Santa Maria – RS, acometendo membros, região cervical, torácica e abdominal, desencadeando também a ruptura de órgãos internos (FIGHERA et al, 2008).

O trauma torácico também foi responsável por alta mortalidade, 25% das mortes provocadas por trauma, em que 70% dessas lesões são decorrentes de atropelamentos (OIKONOMOU; PRASSOPOULOS, 2011). Neste contexto, alguns estudos retrospectivos de casos de fraturas em cães atendidos em hospitais veterinários comprovaram que o atropelamento é a causa de 64,7% das fraturas em membros torácicos no norte do Paraná (KEMPER; DIAMANTE, 2010) e a principal causa de fratura de pelve e fêmur (ROEHSIG et al., 2008)

As rupturas de órgãos internos também foram frequentes no presente estudo como baço, rim, fígado, estômago, diafragma e pulmão e podem explicar os quadros de hemorragias encontrados. Esses tipos de lesões são comumente relacionadas a traumas por atropelamento. Por isto, Figuera et al. (2008) relataram que 29,6% animais apresentavam ruptura de órgãos parenquimatosos.

Assim, acredita-se que as lesões macroscópicas observadas neste estudo podem ser relacionadas com a força do impacto de veículos automotivos sobre os animais. O fato da maioria dos cadáveres terem sido recolhidos a beira das rodovias reforça o intenso tráfego existente e uma maior velocidade máxima permitida pelas vias, resultando na morte dos animais.

Neste estudo um dos animais apresentou fraturas devido ao ataque de cão doméstico. Por se tratar de animal de vida livre, a demora para receber os primeiros atendimentos, comprometeu o membro lesionado e resultou na eutanásia do mesmo. Desta forma, sabe-se que por ser um animal de pequeno/médio porte e utilizar áreas onde existe a ocorrência de animais domésticos, *C. thous* é altamente susceptível aos ataques de canídeos domiciliados, o que torna esse contato um fator risco para a espécie.

Em relação às lesões microscópicas observadas neste estudo, as alterações circulatórias foram as mais prevalentes na maioria das amostras de fígado e pulmão, em que a congestão foi a principal lesão. Essas alterações são compatíveis com os traumas ocorridos, principalmente as fraturas torácicas e as rupturas dos órgãos internos.

Além disto, o exame histopatológico revelou lesões inflamatórias e fibróticas no fígado, bem como, fragmentos de parasitos e ovos no parênquima hepático. De

acordo com as características morfológicas dos helmintos e das lesões associadas ao parasitismo, sugere-se infecção por trematodas.

Dentre as principais espécies de trematodas que acometem canídeos silvestres, destacam-se os da família Dicrocoeliidae: *Platynosomum* sp. e *Athesmia heterolecithodes* (DUARTE, 2007; RUAS et al., 2008). De acordo com Duarte et al. (2007), quando avaliados morfológicamente *Platynosomum illiciens* de *C. thous* verificou-se que estes parasitos apresentavam corpo de forma elipsoide ou ovoide, com extremidades afiladas com 4.159,61µm de comprimento e 739,34µm de largura. A ventosa oral (anterior) apresentou comprimento de 284,64±30,85µm e largura de 259,64±31,22µm e a ventral comprimento de 305,67±45,38µm e largura de 272,34±32,00µm. Estes mesmos autores avaliaram morfológicamente *Athesmia heterolecithodes* e verificaram corpo alongado com 8.335,00µm de comprimento e 585,41µm de largura. A ventosa oral apresentou comprimento de 300,83±49,23µm e largura de 267,00±38,66µm e a ventral comprimento de 245,00±26,70µm e largura de 246,67±18,61µm, com destaque de que a ventosa acetabular (ventral) nesta espécie é intracecal.

Neste estudo a morfometria da ventosa do parasito hepático encontrado revelou semelhança com a ventosa oral de *P. illiciens* e com a ventosa ventral de *A. heterolecithodes*. No entanto, a ventosa ventral de *A. heterolecithodes* é intracecal o que sugere tratar-se de parasitos do gênero *Platynosomum*.

Um outro fator que justifica ser mais provável a ocorrência de *Platynosomum* sp. neste estudo é que *A. heterolecithodes* é um parasito mais alongado e possui maior tamanho quando comparado com *P. illiciens*. Porém, o fato de não terem sido obtidos fragmentos de parasitos que permitissem a mensuração do comprimento e largura totais, dificultam essa analogia.

O tamanho dos ovos dos parasitos neste estudo foi semelhante às espécies citadas anteriormente. Duarte et al. (2007) verificaram que os ovos de *P. illiciens* possuem superfície lisa, são operculados e apresentam comprimento de 39,38±2,07µm e largura de 25,92±2,71µm enquanto que *A. heterolecithodes* apresentam comprimento de 36,96±3,60µm e largura de 23,39±2,06µm. Desta forma,

entende-se que, se fossem considerados apenas os fragmentos de ovos, não seria possível identificar a espécie de trematoda envolvida.

Diante disso, alguns fatores epidemiológicos devem também ser considerados como o fato de não existirem relatos de *A. heterolecithodes* no estado do Espírito Santo. Outrossim, existem relatos na literatura sobre a infecção de canídeos com *Platynosomum* sp., como o descrito Duarte et al. (2007) no município de Juiz de Fora - MG, diagnosticando o agente em *C.thous* por meio da coleta do parasito adulto no momento da necropsia e posterior confirmação com chaves de identificação e por Curi et al. (2010), na região da Serra do Cipó - MG, diagnosticando por meio de exame fecal a presença de ovos deste parasito em *C. thous* e *Chrysocyon brachyurus* (loboguará).

Assim, devido aos hábitos alimentares do cachorro-do-mato, ao ciclo biológico do agente, a presença de relato da doença em animal silvestre (PINTO et al., 2017) e a ocorrência do parasito no estado do Espírito Santo em felinos domésticos (GAVA et al., 2015; CAMPOS et al., 2018) e felinos silvestres (SRBERK-ARAUJO et al., 2014) diagnosticados em região semelhante do presente trabalho, sugere ainda mais que o parasito encontrado na histopatologia seja *Platynosomum* sp.

Além desses relatos, outro fator que contribui para o diagnóstico desse agente em *C. thous*, alvo do presente estudo, são as lesões hepáticas encontradas na microscopia. Fibrose periductal, hiperplasia periductal, proliferação ductal, presença de ovos e parasito adulto intraductal também foram descritas em felinos domésticos diagnosticados com *Platynosomum* sp. (ANDRADE et al., 2012; JESUS et al., 2015; GAVA et al., 2015; TERRA et al., 2015; BRAGA, 2016; FILGUEIRA et al., 2017; RAMOS et al., 2017).

No entanto, essas lesões hepáticas têm sido associadas a várias outras enfermidades parasitárias, como *Fasciola hepatica* e *Capillaria hepatica*. Porém, as características histológicas desses agentes são bastante diferentes. *F. hepatica*, por exemplo, possui os ovos com comprimento de 117,39µm e largura de 70,88µm (OYARZÚN-RUIZ et al., 2018) enquanto que *C. hepatica* comprimento de 20,00µm e largura de 8,12µm (DUARTE et al., 2007). Além disto, não existem relatos de *F. hepatica* em canídeos silvestres e *C. hepatica* é um nematoide.

Em relação às lesões pulmonares encontradas nos animais deste estudo, as alterações mais evidentes como congestão, edema e hemorragia podem também estar associadas aos traumas decorrentes do atropelamentos.

Contudo, a lesão mais grave encontrada no estudo foi a pneumonia granulomatosa multifocal com presença de macrófagos e células gigantes associadas às larvas de parasitos. Sabe-se que a pneumonia granulomatosa é causada por organismos ou partículas que resistem à fagocitose e levam à reação inflamatória local com numerosos macrófagos alveolares e intersticiais, linfócitos, alguns neutrófilos e células gigantes (McGAVIN; ZACHARY, 2009). Assim, esse tipo de resposta é comum em infecções parasitárias.

Shneyder et al. (2010) realizaram infecção experimental com o parasito *Angyostrongilus vasorum* em cães domésticos e definiram o diagnóstico por meio de histopatologia. Além de verificar pneumonia proliferativa granulomatosa ao redor das larvas e ovos dos parasitos, observaram hemorragia e hemossiderina intracelular.

A presença de hemorragia e hemossiderose também foram achados descritos por McGavin e Zachary (2009) em pneumonias parasitárias em cães domésticos causadas por *Angyostrongilus vasorum* e *Dirofilaria immitis*. Segundo estes autores esses agentes são parasitos das artérias pulmonares e do ventrículo direito e podem produzir diferentes formas de lesões pulmonares: os parasitos adultos podem causar arterite crônica que resultam em hipertensão pulmonar, pneumonia intersticial, fibrose intersticial pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva do lado direito e, eventualmente, síndrome da veia cava caudal.

Ferreira Júnior et al. (2017) encontraram arterite granulomatosa multifocal a coalescente em *C. thous* associada a presença de parasitos que mediram de 100 a 200µm de comprimento e afirmaram tratar-se de *Angyostrongilus vasorum*.

No presente estudo as diferentes fases lavais encontradas no pulmão possuem tamanhos compatíveis com os achados de Ferreira Júnior et al. (2017) e, portanto, sugere infecção por este agente. Vale ressaltar que não se pode associar a infecção

observada neste estudo ao agente *D. immitis* por se tratar de parasita com características histológicas bem distintas das encontradas no presente estudo.

O gênero *Angyostrongilus* é encontrado em animais domésticos e silvestres de diferentes partes do globo terrestre sendo relatado em cão doméstico na Costa Rica, por meio de diagnóstico histopatológico (ALFARO-ALARCÓN et al., 2015), raposas-vermelhas na Alemanha por meio de reação de cadeia de polimerase (PCR) (SCHUG et al., 2018) e *Puma yagouaroundi* no Brasil, por meio de microscopia ótica e eletrônica (VIEIRA et al., 2013).

Quando se considera somente *Cerdocyon thous*, os relatos no território brasileiro para o gênero *Angyostrongilus* foram descritos no estado do Paraná, após a coleta do parasito adulto e posterior utilização de chave de identificação (DUARTE et al., 2007) técnica também utilizada por Viera et al. (2017) em Minas Gerais. No estado de São Paulo foi diagnosticado por meio da amplificação de DNA (CAPRIOLI et al., 2018), e no Centro Oeste brasileiro, o agente foi diagnosticado com base na histopatologia em *C. thous* (FERREIRA JÚNIOR et al., 2017). Esses estudos demonstraram que a espécie é comumente diagnosticada como parasitada por *Angyostrongilus* sp., o que reforça a suspeita do agente como possível parasito encontrado no presente estudo.

5. CONCLUSÕES

Conclui-se que existem lesões microscópicas inflamatórias e fibróticas em fígado e pulmão que foram associadas aos parasitos das famílias Dicrocoeliidae e Metastrogylidae, respectivamente. Estes dados demonstram a importância de se verificar a ocorrência e distribuição dos parasitos em carnívoros silvestres mais adequadas a sua conservação, assim como a identificação da fauna parasitária nesses animais.

6. REFERÊNCIAS

ALFARO-ALARCÓN, A.; VENEZIANO, V.; GALIERO, G.; CERRONE, A.; GUTIERREZ, N.; CHINCHILLA A. First report of a naturally patent infection of

Angiostrongylus costaricensis in a dog. **Veterinary Parasitology**. v.212 p.431-4, 2015.

ANDRADE, R. L. F. S. OLIVEIRA, D. M. DANTAS, A. F. M. SOUZA, A. P. D. NÓBREGA NETO, P. I. D. RIET-CORREA, F. Tumores de cães e gatos diagnosticados no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 32, n. 10, p. 1037-1040, 2012.

BEISIEGEL, B. M.; LEMOS, F.G.; AZEVEDO, F.C.; QUEIROLO, D.; JORGE, R. S. P. Avaliação do risco de extinção do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**. v. 3 p.160–171, 2013.

BERTA, A. *Cerdocyon thous*. **Mammalian species**, n. 186, p. 1-4, 1982.

BRAGA, R. R.; TEIXEIRA, A. C.; OLIVEIRA, J. A. A.; CAVALCANTI, L. P. G. Prevalence of *Platynosomum fastosum* infection in free roaming cats in northeastern Brazil: Fluke burden and grading of lesions. **Veterinary Parasitology**. [s.l.], v. 227, p.20-25, ago. 2016. Elsevier BV.

BRUM, T. R.; SANTOS-FILHO, M.; CANALE, G. R.; IGNÁCIO, A. R. A. Effects of roads on the vertebrates diversity of the Indigenous Territory Paresi and its surrounding. **Brazilian Journal of Biology**. v. 78, n. 1, p. 125-132, 2018.

CAMPOS N. C.; SIQUEIRA, D. F.; PERIN, L. R.; OLIVEIRA, L. C.; CAMPOS, D. R., MARTINS, I. V. F. Infecção natural por *Platynosomum fastosum* em felino doméstico no município de Alegre, Espírito Santo e sucesso no tratamento com praziquantel. **Medicina Veterinária (UFRPE)**. v.12, n.1 (jan-mar), p.17-21, 2018.

CAPRIOLI, R. A.; DE ANDRADE, C. P.; ARGENTA, F. F.; EHLERS, L. P.; SOARES, J. F.; PAVARINI, S. P.; SONNE, L. Angiostrongylosis in *Cerdocyon thous* (crab-eating fox) and *Lycalopex gymnocercus* (Pampas fox) in Southern Brazil. **Parasitology**. p. 1-8, 2018.

CURI, N. H. A.; ARAURJO, A. S.; CAMPOS, F. S.; LOBATO, Z. I. P; GENNARI, S. M.; MARVULO, M. F. V.; SILVA, J. C. R.; TALAMONI, S. A. Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: disease threats for canid conservation **Biodiversity and Conservation**. v.19, p.3513-3524, 2010.

DUARTE, H. F. **Helmintofauna em *Cerdocyon thous* Linnaeus,1766 (Carnivora: Canidae) na região de Juiz de Fora, Minas Gerais** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Juiz de Fora; Minas Gerais.

FACURE, G.; GIARETTA, A. A.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Food habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, in na altitudinal forest of the Mantiqueira Range, Southeastern Brazil. **Mammalia**. v.67, p. 503-511, 2003.

FERREIRA JÚNIOR, J. A.; BLUME, G. R.;GARDINER, C. Anatomopathological aspects of parasitism by nematodes of the superfamily Metastrongyloidea in wild crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Midwestern Brazil. **Ciência Rural**. v.47, n.2, 2017.

FIGHERA, R., SILVIA, M., SOUZA, T. Aspectos patológicos de 155 casos fatais de cães atropelados por veículos automotivos. **Ciência Rural**. v.38, n.5, p.1375-1380, 2008.

FILGUEIRA, K.; AHID, S. M. M.; BEZERRA, A. C.; PAULA, VALÉRIA; BATISTA, J. S. Aspectos histopatológicos do sistema hepatobiliar de três felinos domésticos parasitados por *Platynosomum concinnum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). **Revista Científica de Medicina Veterinária: Pequenos Animais e Animais de Estimação**. v. 19, n. 6, p.229-232, 2008.

GAVA, M. G.; HIURA, E.; LOPES, A. D. C.; VIEIRA, F. T.; FLECHER, M. C.; FONSECA, L. A.; SOARES, F. E. F.; GIUBERTI, T. Z.; LEITE, F. L. G.; LENZ, D.; RASSELE, A. C.; PAZ, J. S.; ALVES, A.; BRAGA, F. R. *Platynosomum fastosum* in an asymptomatic cat in the state of Espírito Santo: first report. **Revista de Patologia Tropical**. v.44, n.4, p.496-502, 2015.

JESUS, M. F. P.; BRITO, J. A.; SILVA, V. C.; PEDROSO, P. M. O.; PIMENTEL, L. A.; MACEDO, J. T. S. A.; SANTIN, F.; SILVA, S. M.; NETO, A. F. S.; RIBEIRO, R. R. Natural Infection by *Platynosomum illiciens* in a Stray Cat in Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, [s.l.], v. 1, n. 8, p.25-28, mar. 2015.

KEMPER, B.; DIAMANTE, G.A.C. Estudo Retrospectivo das Fraturas do Esqueleto Apendicular de Cães Atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Norte do Paraná (Unopar) no Período de Janeiro de 2007 a Março de 2009. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 2, 2014.

LEMONS, F. G.; FACURE, K. G.; AZEVEDO, F. C. A first approach to the comparative ecology of the hoary fox and the crab-eating fox in a fragmented human altered landscape in the Cerrado Biome at Central Brazil. Middle-sized carnivores in agricultural landscapes. New York: **Nova Sciences Publishers**. p. 143-160, 2011.

MCGAVIN M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**, 4 ed., Elsevier Editora, 2009.

OIKONOMOU A, PRASSOPOULOS P. CT imaging of blunt chest trauma. **Insights Imaging**. v.2 p281-295, 2011.

OYARZÚN-RUIZ, P.; ALVELO, C.; VERA, F.; MORONI, M. Histopathological findings of *Fasciola hepatica* infection in non-native European hare (*Lepus europaeus*) in Southern Chile **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. n. AHEAD, 2018.

PINTO H. A.; MATI V. L. T.; PUJONI D. F.; MELO A. L. *Platynosomum illiciens* (Trematoda: Dicrocoeliidae) in captive black-tufted marmoset *Callithrix penicillata* (Primates: Cebidae) from Brazil: a morphometric analyses with taxonomic comments on species of *Platynosomum* from nonhuman primates. **Journal of Parasitology**. v.103 p.14-21, 2017.

RAMOS, D. G. D. S.; SANTOS, A. R. G. L. O.; FREITAS, L. D. C.; BRAGA, I. A.; SILVA, E. P. D.; SOARES, L. M. C.; ANTONIASSI, N. A. B.; FURLAN, F. H. PACHECO, R. D. C. Feline platynosomiasis: analysis of the association of infection levels with pathological and biochemical findings. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 54-59, Mar. 2017.

ROEHSIG, C.; ROCHA, L. B.; BARAUNA JUNIOR, D.; CHIORATTO, R.; MELO E SILVA, S. R. A.; KEMPER, B.; ARAÚJO, F. P.; ALMEIDA, A. C. M.; TUDURI, E. A. Fixação de fraturas ilíacas em cães com parafusos, fios de aço e cimento ósseo de polimetilmetacrilato. **Ciência Rural**. v.38 n.6. p.1675-1681, 2008.

RUAS, J. L.; MÜLLER, G.; FARIAS, N.A.; GALLINA, T.; LUCAS, A.S.; PAPPEN, F.G.; SINKOC, A. L., BRUM, J. G. Helminths of Pampas fox, *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) and of Crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) in the South of the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.17, n. 2 p. 87–92, 2008.

SANDE A., WEST, C. Traumatic brain injury: a review of pathophysiology and management. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v. 20, n 2, p.177-190, 2010.

SCHNYDER, M.; FAHRION, A.; RIOND, B.; OSSENT, P.; WEBSTER, P.; KRANJC A.; GLAUS, T.; DEPLAZES, P. Clinical, laboratory and pathological findings in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum*. **Parasitology Research**. v.107 p.1471–1480, 2010.

SCHUG, K.; KRÄMER, F.; SCHAPER, R.; HIRZMANN,J.; FAILING, K.; HERMOSILLA, C.; TAUBERT, A. Prevalence survey on lungworm (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*) infections of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) in Central Germany. **Parasites & Vectors**. v. 11, p.85, 2018.

SRBEK-ARAÚJO, A.C.; SANTOS, J.L.C.; ALMEIDA, V.M.; GUIMARÃES, MP.; CHIARELLO, A.G. First Record of intestinal parasites in a wild population of jaguar in the Brazilian Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 23, p. 393-398, 2014.

TERRA, J. P. COSTA, M. M. D. LOBO, M. H. D. S.; BONFIM, L. S. MIGUEL, M. P. Diagnóstico anatomopatológico de linfoma mediastínico, aelurostrongilose e platinosomose em um felino. **Enciclopédia Biosfera**. Goiânia, v. 11, n. 21, p.2167-2173, jun. 2015.

VIEIRA, F. M.; MUNIZ-PEREIRA, L. C.; DE SOUZA, L. S.; NETO, A. H. M.; GUIMARÃES, E. V.; LUQUE, J. L. A new metastrongyloidean species (Nematoda) parasitizing pulmonary arteries of Puma (*Herpailurus*) yagouaroundi (É. Geoffroy, 1803) (Carnivora: Felidae) from Brazil. **Journal of Parasitology**. v. 99, n. 2, p. 327-31, 2013.

VIEIRA, F. M.; MUNIZ-PEREIRA, L. C.; DE SOUZA-LIMA, S.; ROCHA, B. M.; LUQUE, J. L. Parasitic nematodes of three species of wild carnivore mammals from Atlantic forest in the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**. v. 88, n. 4, p. 801-806, 2017.

CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que os cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre encontrados mortos no Espírito Santo, avaliados no presente estudo, mostraram lesões indicativas de traumas por atropelamento, tanto macro quanto microscopicamente e não mostraram amplificação do DNA de *Brucella* sp., *Babesia* sp., *Rangellia* sp. e *Hepatozoon* sp.. No entanto, as lesões causadas por parasitos foram bastante importantes nestes indivíduos, prevalecendo os agentes das famílias Dicrocoeliidae e Metastrogylidae.