

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LETÍCIA GRACIELLE TÔRRES DE MIRANDA ESTEVAM

**AVALIAÇÃO DE HEMOPARASITOS E ECTOPARASITOS
EM QUATIS (*Procyonidae: Nasua nasua*) NO PARQUE DAS
MANGABEIRAS, BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS.**

Belo Horizonte
Fev/2017

LETÍCIA GRACIELLE TÔRRES DE MIRANDA ESTEVAM

**AVALIAÇÃO DE HEMOPARASITOS E ECTOPARASITOS
EM QUATIS (*Procyonidae: Nasua nasua*) NO PARQUE DAS
MANGABEIRAS, BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), como requisito à obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

Área de concentração: Protozoologia

**Orientadora: Profa. Júlia Angélica Gonçalves da
Silveira**

Belo Horizonte

Fev/2017

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem Ele nada disso seria possível.

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Departamento de Parasitologia pelo apoio à minha participação no mestrado.

Ao CNPq pela concessão da minha bolsa de mestrado. E aos outros órgãos de fomento CAPES, FAPEMIG pelo suporte financeiro.

Às secretárias Sumara e Sibebe por sempre estarem dispostas a ajudar os alunos.

À minha orientadora, Júlia Angélica Gonçalves da Silveira, pela dedicação, amizade e por sempre estar presente e acompanhar todo o trabalho e dar todo o suporte.

Ao professor Múcio Flávio Barbosa Ribeiro, por sempre ter deixado as portas do Laboratório abertas para mim.

À toda a equipe do Projeto Quatis, a Nadja Hemetrio e a Lara Almeida pela coordenação das capturas dos quatis.

À toda equipe do Parque das Mangabeiras.

À Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza pelo apoio no Projeto Quatis.

Ao professor Linardi pelo auxílio na identificação das pulgas.

Ao Michel Valim pelo auxílio na identificação dos piolhos.

À professora Élide Rabelo por sempre me receber tão bem em seu laboratório e por dar todo o apoio nos procedimentos de biologia molecular.

Ao Antônio Fonseca e ao Mateus Laguardia do LANAGRO pela realização dos sequenciamentos de amostras.

À todos do Laboratório de Parasitologia Molecular, em especial ao Fernando, à Nayara, à Luciana e à Vivian, que sempre me ajudaram em todos os momentos que precisei.

À todos os professores da pós-graduação do Departamento de Parasitologia, com eles pude aprender intensamente sobre os parasitos.

À Bruna, pela amizade e pelo apoio de sempre. Sua presença durante todo o mestrado foi imprescindível.

Aos meus amigos do mestrado, Agna, Gabriella, Eduardo, Jamila, Jennifer, Raquel e Wagner. Com eles ao meu lado a caminhada foi mais leve.

Ao sr. Nery e ao Afonso pelas companhias na cantina.

Aos meus pais, Rolf e Maria Tereza e à minha irmã Fernanda, por sempre estarem ao meu lado e me apoiarem em todas as decisões da minha vida.

Ao Carlos Henrique pelo amor que a mim é compartilhado e por me aguentar nos momentos de cansaço.

Às minhas avós, Ozita e Hilda, por sempre acreditarem nas minhas vitórias.

À minha sogra, Sônia, e meus cunhados, Luís, Sílvia e Lucas, por sempre torcerem pela conquista de meus objetivos.

Aos meus familiares e amigos que sempre me incentivaram e apoiaram nessa jornada.

**“Quando você tem medo e, mesmo assim faz,
isso é coragem.” (Coraline).**

RESUMO

Os animais silvestres vêm sendo reconhecidos como potenciais reservatórios de patógenos transmitidos por vetores. A proximidade desses animais com a área urbana aumenta a necessidade de conhecer quais são esses patógenos e se estes podem acometer os animais domésticos e o ser humano. No Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, há quatis da espécie *Nasua nasua* que apresentam uma grande proximidade com a área urbana, principalmente com moradores e animais domésticos da comunidade Vila Marçola, adjacente ao parque. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi detectar, através de métodos diretos e moleculares, a presença de ecto e hemoparasitos que possam estar acometendo os quatis do Parque das Mangabeiras. Foram encontrados espécimes de carrapatos (*Amblyomma* sp., *A. ovale*, *A. sculptum* e *Rhipicephalus microplus*), piolhos (*Neotrichodectes pallidus*) e pulgas (*Rhopallosyllus lutzi lutzi* e *Ctenocephalides felis felis*) e foram detectadas infecções por *Hepatozoon* sp., *Babesia* sp., *Sarcocystis neurona*, *Trypanosoma evansi* e microfilárias. As amostras foram negativas para os *primers* utilizados para detecção de *T. cruzi*, *E. canis/A. platys* e *Ehrlichia* granulocítica, mostrando que alguns agentes zoonóticos não estão acometendo os quatis, contudo outros parasitos ainda devem ser pesquisados. Assim, foi possível mostrar que no parque há uma grande variedade de patógenos acometendo os quatis. São agentes que podem acometer uma grande diversidade de espécie animal, tanto silvestres quanto domésticos, mostrando a necessidade de uma vigilância mais ativa dos animais que vivem no parque e dos animais domésticos que vivem em seu entorno.

Palavras-chave: *Nasua nasua*, ectoparasitos, hemoparasitos, diagnóstico, Parque das Mangabeiras.

ABSTRACT

The wild animals have been recognized as potential reservoirs of vector-borne pathogens. The proximity of these animals with urban areas increases the need to know which pathogens are these and if they can infect domestic animals and human beings. In the park Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, there are coatis of the species *Nasua nasua* that live very close to the urban areas, which is mainly composed by residents and domestic animals from Vila Marçola, a neighborhood adjacent to the park. Accordingly, the objective of this study was to detect, through molecular and direct methods, the presence of ectoparasites and hemoparasites that might be infecting the coatis from Parque das Mangabeiras. There were found species of ticks (*Amblyomma* sp., *A. ovale*, *A. sculptum* and *Rhipicephalus microplus*), lice (*Neotrichodectes pallidus*) and fleas (*Rhopalopsyllus lutzi lutzi* and *Ctenocephalides felis felis*) and there were detected infections by *Hepatozoon* sp., *Babesia* sp., *Sarcocystis neurona*, *Trypanosoma evansi* and microfilariae. The samples were tested negative for the primers used for the detection of *T. cruzi*, *E. canis/A. platys* e *Ehrlichia granulocitica*, showing that some of these zoonotic agents are not infecting the coatis, though other parasites still must be researched. Consequently, it was possible to demonstrate that there is a wide variety of pathogens infecting the coatis in the park. These are parasites that can infect a wide diversity of animals, both wild and domestic, showing the need of active surveillance of the wild animals that live in the park, and of the domestic animals that live in the surrounding areas.

Keywords: *Nasua nasua*, ectoparasites, hemoparasites, diagnosis, Parque das Mangabeiras.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa da América do Sul demonstrando na parte destacada em vermelho a distribuição dos quatis pertencentes a espécie *N. nasua*.1
- Figura 2** – Vista aérea do Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG.....4
- Figura 3** - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2007.....17
- Figura 4** - Pontos em que foram colocadas armadilhas para a captura dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2008.....17
- Figura 5** - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2009. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa.....18
- Figura 6** - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2010.....18
- Figura 7**- Exemplar de quati durante os procedimentos realizados após a contenção química em uma sala adaptada no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, no ano de 2013. (A) A seta mostra região interescapular, local onde eram implantados os microchips para posterior identificação dos animais; (B) Brincos numerados colocados nas orelhas para facilitar a identificação.....19
- Figura 8** – Esfregaço sanguíneo de *N. nasua* contendo gametócitos de *H. procyonis* no interior de neutrófilos. A – Medidas de largura e comprimento citoplasmáticos; B – Medidas de largura e comprimento do núcleo; C – Medida da projeção citoplasmática. Aumento de 40x.....35
- Figura 9** – Microfilárias observadas em lâmina de esfregaço sanguíneo de *N. nasua*. A – Aumento de 100X; B – Aumento de 40X.....35
- Figura 10** – Gel de agarose em que é possível observar amostras positivas para o *primer* BabRum utilizado para a pesquisa de determinados parasitos pertencentes ao filo Apicomplexa.....38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Sequência de iniciadores utilizados para identificação dos gêneros de hemoparasito.....	22
Quadro 2 – Controles positivos utilizados durante as reações de PCR.....	23
Quadro 3 – Programas utilizados para a realização das PCRs (nested e semi-nested) para a amplificação dos alvos pesquisados.....	24

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Faixa etária dos quatis (fêmeas e machos) determinada através das informações presentes nas fichas “Protocolo de captura – Projeto Quatis”. Animais capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, durante os anos de 2007 a 2014.....27
- Tabela 2** - Ectoparasitos identificados a partir de chaves taxonômicas. Parasitos coletados dos quatis capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, no período entre 2007 e 2014.....29
- Tabela 3** – Relação de ectoparasitos coletados em quatis fêmeas e machos capturados no Parque das Mangabeiras entre os anos de 2007 e 2014.....29
- Tabela 4** – Relação entre sexo e o tipo de infestação (mono ou multiparasitismo) em quatis capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, avaliados nos anos de 2007 a 2014.....30
- Tabela 5** - Quantidade de quatis infestados por ectoparasitos de acordo com sua faixa etária e com o tipo de infestação. Animais capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....31
- Tabela 6** - Relação entre sexo, idade e o tipo de infestação (mono ou multiparasitismo) em quatis avaliados nos anos de 2007 a 2014 capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....32
- Tabela 7** – Prevalência de animais sem identificação infestados por ectoparasitos. Animais capturados durante os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....34
- Tabela 8** – Relação entre sexo e faixa etária na prevalência de hemoparasitos nos esfregaços sanguíneos de quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....37
- Tabela 9** - Relação de fêmeas positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* de acordo com a faixa etária e a presença de ectoparasitos em quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....41
- Tabela 10**- Relação de machos positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* de acordo com a faixa etária e a presença de ectoparasitos em quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.....42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Avaliação da relação entre ectoparasitos e faixa etária acometida nas fêmeas.....	33
Gráfico 2 – Avaliação da relação entre ectoparasitos e faixa etária acometida nos machos.....	33
Gráfico 3 – Avaliação das lâminas positivas para <i>H. procyonis</i> e microfilárias em relação ao sexo dos animais.....	36
Gráfico 4 – Avaliação das taxas de infecção por <i>H. procyonis</i> e microfilárias dentro das faixas etárias em cada sexo.....	37
Gráfico 5 – Análise dos resultados obtidos na PCR para o <i>primer</i> BabRum.....	44
Gráfico 6 - Análise dos resultados obtidos na PCR para <i>T. evansi</i>	45

LISTA DE ANEXO

Anexo -1.....67

LISTA ABREVIATURAS

CETAS – Centro de Triagem de Animais Silvestres

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Ácido

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Kg – Quilograma

Km - Quilômetro

Lanagro – Laboratório Nacional Agropecuário/MAPA

μL - Microlitros

mL – Mililitros

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

PEG - Polietilenoglicol

TAE – Tampão Tris-Acetato-EDTA

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Quati (<i>Nasua nasua</i>).....	1
1.2	Dinâmica de patógenos entre populações de animais e seres humanos.....	2
1.3	Parque Municipal das Mangabeiras.....	3
1.4	Ectoparasitos	5
1.4.1	Carrapatos.....	6
1.4.2	Piolhos	6
1.4.3	Pulgas	7
1.5	Hemoparasitos	7
1.5.1	<i>Hepatozoon</i>	7
1.5.2	<i>Babesia</i>	9
1.5.3	<i>Trypanosoma</i>	10
1.5.3.1	<i>Trypanosoma cruzi</i>	10
1.5.3.2	<i>Trypanosma evansi</i>	11
1.5.4	Família Anaplasmataceae	12
1.5.4.1	<i>Anaplasma platys</i>	12
1.5.4.2	<i>Ehrlichia canis</i>	12
1.6	Filarídeos.....	13
2	JUSTIFICATIVA	14
3	OBJETIVOS	15
3.1	Objetivo geral	15
3.2	Objetivos específicos	15
4	MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1	Considerações éticas.....	16
4.2	Local e realização das coletas.....	16
4.3	Captura e contenção para a coleta de material.....	18
4.4	Coleta de material biológico.....	20
4.5	Análises laboratoriais.....	20
4.5.1	Locais de realização dos experimentos.....	20
4.5.2	Identificação dos ectoparasitos.....	21
4.5.3	Leitura de lâminas de esfregaço sanguíneo.....	21
4.5.4	Análises moleculares.....	21

4.5.4.1 Extração de DNA.....	21
4.5.4.2 <i>Primers</i> utilizados (Nested, Semi-nested, Multiplex PCR).....	21
4.5.4.3 Amplificação do DNA.....	22
4.5.4.4 Sequenciamento e análise filogenética.....	25
4.6 Análise estatística.....	25
5 RESULTADOS.....	26
5.1 Classificação dos quatis quanto ao sexo e a faixa etária.....	26
5.2 Avaliação clínica dos animais capturados.....	27
5.3 Identificação e avaliação dos ectoparasitos.....	27
5.4 Análises dos esfregaços sanguíneos.....	34
5.5 Avaliação molecular de hemoparasitos.....	37
5.5.1 Análises moleculares de animais recapturados.....	45
5.6 Análises moleculares x Esfregaços sanguíneos.....	45
5.7 Resultados negativos.....	45
6 DISCUSSÃO.....	46
7 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXO 1.....	68

1. INTRODUÇÃO

1.1 Quati (*Nasua nasua*)

Nasua nasua (Linnaeus, 1766), mamífero conhecido popularmente como quati, pertence à ordem Carnivora (Bowdich, 1821) e à família Procyonidae (Gray, 1825). É uma espécie com ampla distribuição geográfica na América do Sul, ocorrendo do centro da Colômbia ao norte da Argentina e Uruguai (Figura 1) (Decker, 1991). No Brasil pode ser encontrada em todos os biomas (Silveira, 1999) e nos locais onde estão presentes, geralmente são os carnívoros mais abundantes (Robinson & Redford, 1986).



Figura 1 – Mapa da América do Sul demonstrando na parte destacada em vermelho a distribuição dos quatis pertencentes à espécie *N. nasua*. Fonte: ICMBio.

Esses animais apresentam um tamanho médio, variando de 40 a 60 cm de comprimento e, muitas vezes, o macho possui tamanhos maiores que as fêmeas (Gompper & Decker, 1998). Apresentam hábito gregário (Cullen et al. 2001; Wright et al. 1994) sendo que as fêmeas adultas e sua prole formam grupos sociais grandes e altamente estáveis. Porém, os machos adultos se dispersam quando alcançam a maturidade e mantêm-se solitários ao longo de sua vida adulta, exceto durante a época de acasalamento em que se aproximam das fêmeas (Gompper, 1997). Essa busca constante por fêmeas durante o período de acasalamento faz com que o quati macho alcance longas distâncias podendo dispersar os parasitos que o acometem através de ectoparasitos ou ao ser ingerido por seus predadores, além de poder se infectar por parasitos que não estão presentes em seu local de origem. As fêmeas constroem ninhos com emaranhados de galhos e folhas nas partes altas das árvores para parir seus filhotes. Esses ninhos, além de serem os locais do nascimento e criação de seus filhotes, também servem para o descanso desses animais (Olifiers et al., 2009). Além disso, são animais com hábitos de vida diurnos (Gompper & Decker, 1998).

Os quatis são mesopredadores que possuem uma dieta bastante variada. Compreendem como seus alimentos invertebrados, frutas, milípedes, aranhas, gastrópodes, pequenos vertebrados e bromélias (Alves-costa et al., 2004; Reis, 2011). Por possuir essa diversidade na alimentação, quando próximos a áreas urbanas e com acesso a lixos, acabam buscando alimentos e ingerindo materiais oriundos desses dejetos (Alves-Costa et al., 1998).

1.2 Dinâmica de patógenos entre populações de animais silvestres, domésticos e seres humanos

As doenças infecciosas são uma grande ameaça para a saúde pública e 71,8% das doenças emergentes infecciosas zoonóticas são causadas por patógenos de origem na vida selvagem (Jones et al., 2008; Smith, 2009). Também pode ser observada a infecção de animais silvestres por patógenos de animais domésticos, aumentando o risco de infecção das populações de vida livre. Ao introduzir-se em ambientes naturais, por exemplo, como visitante de parques, o ser humano torna-se exposto a ciclos silvestres de patógenos para os quais são susceptíveis, contribuindo para a emergência ou para a reintrodução de agentes infecciosos (Acha & Szyfres, 2003; Dantas-Torres et al., 2010).

O risco de ocorrência de doenças infecciosas pode estar ligado às pressões antrópicas decorrentes da urbanização, expansão demográfica, desmatamento, adaptação dos micro-organismos, dentre outras variáveis que determinam modificações nas relações entre

patógenos e hospedeiros. Essas alterações são potencializadas pela intensa mobilidade humana e animal a qual facilita a dispersão dos patógenos (Marsh, 2003; Fowler & Miller, 2008; Montenegro, 2011).

O conhecimento dos agentes infecciosos e/ou parasitários nos animais silvestres é essencial para elaboração de projetos de manejo e de conservação. Apesar disso, no Brasil, estudos relacionados a parasitos de mamíferos silvestres ainda são pouco numerosos (Metzger et al., 2008; Almeida, 2013) mas vêm crescendo com o passar dos anos.

A transmissão de agentes infecciosos de espécies domésticas para espécies de animais silvestres é denominada “spill-over” e pode levar à extinção local de populações silvestres, sendo uma ameaça para espécies que já estão sob o risco de extinção. Isso ocorre por serem animais que nunca tiveram o contato com determinados patógenos de animais domésticos, assim não possuem um sistema imunológico capaz de combater ou controlar as infecções. Tal fato pode levar ao desequilíbrio das populações silvestres.

Em um estudo avaliando patógenos com potencial zoonótico em animais pertencentes à família Procyonidae, a qual o quati faz parte, concluiu que doenças endêmicas mantidas em áreas silvestres podem apresentar um papel crucial no controle populacional de procyonídeos, uma vez que podem causar um reduzido, porém constante, número de óbitos. Porém, os patógenos adquiridos de animais domésticos podem causar epidemias, levando a reduções significativas na população desses animais (Guimarães et al., 2012).

Já a transmissão de patógenos de animais silvestres para animais domésticos denomina-se “spill-back” (Daszak et al, 2000). Essa transmissão pode ocorrer, por exemplo, de ruminantes silvestres para bovinos, podendo causar uma perda econômica para o produtor rural. Além de poder levar também ao aparecimento de surtos de doenças emergentes.

1.3 Parque das Mangabeiras

O Parque das Mangabeiras está localizado na zona Sul do município de Belo Horizonte (19°56'S e 43°53'O), no estado de Minas Gerais (Figura 2). A área ocupada pelo parque é de 236 hectares, considerado um dos maiores parques urbanos do Brasil, apresentando altitudes que variam de 300 a 1000m. O Parque situa-se em uma área de transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica. As vegetações lá encontradas são Floresta Estacional Semidecídua, Cerradão, Cerrado *strictu senso* e Campo Rupestre (Pedersoli, 1997). No entorno do Parque são encontradas áreas de vegetação nativa como o Parque Estadual Mata da Baleia, áreas de mineração de ferro, além de bairros residenciais (Hemetrio, 2007). São observadas duas

estações bem demarcadas, uma seca com média de chuvas de 204mm (média de 34mm/mês), durante os meses de abril a setembro, e uma chuvosa com precipitação média de 1555,8mm (média de 259,3mm/mês), durante os meses de outubro a março.



Figura 2 – Vista aérea do Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa. Autor: (HEMETRIO, 2012)

O Parque serve de abrigo para muitos animais. Já foram registradas no parque 168 espécies de aves, 16 espécies de mamíferos, distribuídas em seis ordens: Carnívora, Primatas, Xenarthra, Marsupialia, Rodentia e Lagomorfa, 19 de anfíbios e 20 de répteis (Câmara & Lessa, 1994; Hemetrio, 2007). Os mamíferos mais encontrados no parque são os quatis, os quais acabam tendo uma aproximação grande com os humanos que, ao visitarem o parque, fornecem alimentos para eles, trazendo-os para perto. Esta proximidade acaba causando acidentes como arranhões e mordidas nos visitantes (Hemetrio, 2007). A densidade populacional de quatis apresenta uma média alta em relação às médias encontradas em outras regiões. De acordo com Hemetrio (2011), este aumento na densidade populacional pode ser pelo fato de os visitantes oferecerem alimentos aos animais e por não haver predadores locais para esta espécie, como por exemplo, onças e lobos-guará. Os quatis que habitam o Parque das Mangabeiras são, frequentemente, observados se alimentando em lixeiras do parque. Além disso, há uma proximidade grande do parque com a área urbana. Moradores da comunidade Vila Marçola, próxima ao parque, depositam lixos nas calçadas e, em busca de alimentos, os quatis acabam tendo contato com esses resíduos em áreas exteriores aos limites do parque (Hemetrio, 2011), podendo ingerir objetos que podem lesionar o trato gastrointestinal, além de poderem contrair patógenos através de materiais contaminados.

Os quatis são animais muito presentes no Parque das Mangabeiras, sendo o mamífero mais encontrado na área (Hemetrio, 2007). Como a proximidade do parque e dos quatis com o meio urbano é grande, inclusive com os animais domésticos, é importante investigar os parasitos que os atingem, pois pode existir um trânsito de patógenos entre eles. O conhecimento sobre as infecções em animais silvestres é fundamental para poder avaliar o bem estar, a presença de agentes zoonóticos, além de contribuir para a conservação desses animais (Simpson, 2000).

Relatos obtidos por Hemetrio (2011) revelam que moradores da comunidade Vila Marçola, adjacente ao parque, costumam oferecer alimentos para os quatis, estreitando a relação animal silvestre-homem. Muitos quatis também são vistos em casas do bairro Mangabeiras, sendo às vezes mortos por cães dessas residências (dados não publicados). Essa aproximação leva a um contato maior também dos quatis com os animais domésticos. Os cães, por possuírem livre acesso ao parque, aumentam este contato. Além disso, os quatis, ao irem em busca de alimentos em lixos depositados nas calçadas, que não tem uma frequência regular de coleta, aumentam ainda mais as chances de contato entre esses animais, facilitando a transmissão de patógenos, incluindo os hemoparasitos, os quais são transmitidos, na maioria das vezes, por ectoparasitos que podem acometer tanto os animais domésticos quanto os silvestres.

1.4 Ectoparasitos

Em ambientes naturais, sem ação antrópica, o papel dos parasitos em relação aos seus hospedeiros é resultado da coevolução entre ambos. É visto que, na maioria das vezes, essas interações são bem complexas e equilibradas, como é observado nos carrapatos, em seus hospedeiros e os patógenos transmitidos por eles (Cançado, 2008). O processo de urbanização no Brasil, através de desmatamentos, proporciona o aumento do contato entre a população humana e a dos animais domésticos com a população dos animais silvestres. Isso pode ser visualizado também em parques presentes em áreas urbanas. Desta forma, passa a existir uma interação entre habitat silvestre e áreas antropizadas. Os ectoparasitos podem intermediar essa conexão, podendo atuar como vetores de agentes patogênicos (Maia, 2012). Esses parasitos são importantes tanto pelo fato de apresentarem uma ação espoliativa sobre o seu hospedeiro, quando se alimentam de sangue, como também por algumas vezes serem vetores de determinados patógenos.

1.4.1 Carrapatos

Os carrapatos são artrópodes pertencentes à ordem Acari. Esses parasitos se alimentam de uma grande variedade de vertebrados. Pequenos mamíferos, usualmente, são hospedeiros dos estágios imaturos de alguns carrapatos, levando em conta que os mamíferos jovens, geralmente, são reservatórios de inúmeros patógenos tornam-se uma fonte rica de patógenos para os artrópodes (Guglielmone & Nava, 2011; Saraiva et al., 2012, Szabó et al., 2013). Vetores como os carrapatos, à medida em que se adaptam a ambientes antropizados, com queda da abundância de espécies silvestres e aumento da densidade de populações de animais domésticos e humana, podem alterar sua orientação primária zoofílica para antropofílica, causando mudanças nos padrões epidemiológicos de doenças (Coura et al., 1994; Patz et al., 2000). Identificar e associar o carrapato com seu hospedeiro, entendendo a relação parasito-hospedeiro é importante para, além de avaliar a ecologia de ambos, avaliar a importância em relação à saúde pública, devido ao potencial de transmitir patógenos (Sponchiado et al., 2015).

Já foram realizados trabalhos que avaliaram a presença de carrapatos em quatis no Brasil. Foram descritas as espécies *Amblyomma brasiliense* e *A. ovale* em *N. nasua* capturados no Paraná; *A. ovale* e *Amblyomma* sp. capturados no Mato Grosso e em São Paulo; *A. rotundatum* no Pará e *Amblyomma* sp. em quatis de Goiás. Neste trabalho realizado em Goiás foi feita uma associação dos dados obtidos pela captura dos animais de vida livre e dados de coleções e publicações anteriores (Labruna et al., 2005). Também já foi descrito *A. ovale* em quatis pertencentes ao CETAS (Centro de Triagem de Animais Silvestres) da Universidade Federal de Viçosa (Maia, 2012).

1.4.2 Piolhos

Os piolhos pertencem à ordem Phthiraptera e são divididos em quatro subordens Amblycera, Ischnocera, Rhynchophthirina e Anoplura. Piolhos das subordens Amblycera, Ischnocera e Rhynchophthirina são conhecidos como malófagos ou piolhos mastigadores. Esses ao hospedar algum vertebrado, não causam ação espoliativa. Mas quando há uma considerável infestação em seu hospedeiro animal, pode levar a queda de penas e de pelos, irritação na pele, prurido, penas e pelos quebradiços e opacos (Freitas, 1978).

Em relação aos animais silvestres, muitos trabalhos estudam a presença de piolhos em aves, já em mamíferos não há muitos estudos, assim, são necessárias pesquisas nessa área da

parasitologia de mamíferos silvestres. Em um trabalho que avaliou a presença de ectoparasitos em *N. nasua* da mata do Imperador, em Juiz de Fora, foi registrada a ocorrência de *Neotrichodectes pallidus* (Rodrigues et al., 2006).

1.4.3 Pulgas

As pulgas pertencem ao Filo Arthropoda e à ordem Siphonaptera. A maioria das espécies apresentam ctenídeos, que são cerdas que auxiliam na fixação e na locomoção nos pelos dos hospedeiros. O ciclo do ovo a adulto completa-se entre 25-30 dias que dependerá das condições de temperatura, umidade e alimentação das larvas. As pulgas que vivem sobre o hospedeiro alimentam-se incessantemente, como por exemplo, espécies dos gêneros *Ctenocephalides*, *Xenopsylla* e *Polygenis* (Linardi, 2011).

As pulgas podem parasitar várias ordens de mamíferos, como Rodentia, Marsupialia, Lagomorpha, Carnivora, dentre outras. Esses ectoparasitos podem mudar para uma espécie diferente de hospedeiro, caso o seu preferencial não esteja acessível. Elas podem causar em seus hospedeiros ação irritativa, espoliadora e inflamatória, além de atuar como vetores de alguns patógenos (Sloss et al., 1999; Linardi, 2011).

Alguns trabalhos já descreveram a presença de pulgas em mamíferos silvestres, como por exemplo, *Rhopalopsyllus lutzi lutzi* em quatis de um parque em Juiz de Fora, Minas Gerais (Rodrigues et al., 2006), *Leptopsylla segnis* e *Xenopsylla cheops* em gambás em Santa Catarina (Salvador et al., 2007).

1.5 Hemoparasitos

Muitos são os hemoparasitos que infectam os animais selvagens, incluindo a família Procyonidae, causando ou não sinais clínicos nesses animais. Esses patógenos podem ser mantidos nas populações de procionídeos de forma endêmica através da transmissão de agentes entre seus indivíduos ou ser adquiridas através do contato com os animais domésticos ou vetores. Os hemoparasitos podem afetar a saúde de seu hospedeiro, além de influenciar em vários aspectos de sua vida, como sobrevivência e acasalamento (Vandergrift et al, 2008).

1.5.1 Hepatozoon

O protozoário do gênero *Hepatozoon* pertence ao filo Apicomplexa e à família Hepatozoidae (Wenyon, 1926). O ciclo desse parasito é heteroxeno, sendo que invertebrados

hematófagos, como os carrapatos, são os hospedeiros definitivos e os hospedeiros intermediários se infectam ao ingerir carrapatos contendo oocistos maduros em sua hemocele (Smith, 1996). Os esporozoítos são liberados dos oocistos no trato gastrintestinal, penetram na parede do intestino. Através da corrente sanguínea alcançam órgãos como baço, medula óssea e gânglios linfáticos onde há formação dos merontes. Os merozoítos são liberados dos merontes, invadem linfócitos e se desenvolvem transformando em gametócitos (O'Dwyer & Massard, 2001). Os gametócitos podem ser visualizados no interior de leucócitos e, geralmente, comprimem o núcleo da célula hospedeira. Ao realizarem o repasto sanguíneo, o hospedeiro definitivo ingere os gametócitos, que são liberados dos leucócitos e se diferenciam em gametas para ocorrer a fecundação e a formação do zigoto, este processo é chamado de esporogonia, a partir daí são formados os oocistos na hemocele do carrapato. Os hospedeiros intermediários, ao ingerirem o hospedeiro invertebrado contendo os oocistos dão continuidade ao ciclo do parasito (Baneth et al., 2001, Baneth et al., 2007). É descrito também um ciclo alternativo em que algumas espécies de hospedeiros intermediários podem atuar também como hospedeiros paratênicos, desta forma, o ciclo apresenta dois hospedeiros vertebrados. No tecido do hospedeiro paratênico há a forma infectante quiescente, esta forma é descrita em espécies de *Hepatozoon* que acometem serpentes, lagartos e anuros. Ao ingerir o hospedeiro paratênico o hospedeiro intermediário se infecta com o parasito (Viana et al., 2012; Pereira et al., 2014).

No Brasil há algumas espécies de carrapatos que estão mais associadas à transmissão de *Hepatozoon* spp., como por exemplo, *A. sculptum*, *A. ovale*, *A. aureolatum* e *Rhipicephalus sanguineus* (Forlano et al., 2005, Rubini et al., 2009). Essas espécies de carrapatos podem acometer animais da espécie *N. nasua* (Rodrigues et al., 2008).

São muitos os animais silvestres que já foram demonstrados infectados com *Hepatozoon*, tanto de vida livre quanto de cativeiro. Em 1978 foi descrito um caso de um coioote (*Canis latrans*) infectado naturalmente por *Hepatozoon* sp. no Aransas National Wildlife Refuge, no Texas (Davis et al., 1978). Mais recente, no Brasil, foi demonstrada, através de PCR, a infecção por *Hepatozoon* sp. em carnívoros neotropicais de vida livre do Parque Nacional das Emas, Goiás. Estavam infectados lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), raposinha do campo (*Lycalopex vetulus*) e quati (*N. nasua*) (Metzger, 2008). Esse parasito também foi descrito em carrapatos que parasitam cobras de diferentes regiões da Tailândia (Sumrandee et al., 2015). Esses trabalhos demonstram que o gênero *Hepatozoon* podem acometer diversificadas espécies animais.

Hepatozoon canis é a espécie com maior número de estudos, pois acomete cães, causando patologias e podendo levá-los a óbito. Em cães a infecção pode ser desde subclínica, quando há uma baixa parasitemia, a casos graves que podem levar a óbito, quando há alta parasitemia. Geralmente estão associados os sinais clínicos, anorexia, mucosas pálidas, apatia, hipertermia, diarreia, vômito e alterações hematológicas (Mundim et al., 2008). Em um cachorro do mato (*C. thous*) atendido no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da UNESP (São Paulo) os sinais clínicos apresentados foram apatia e hiporexia e as alterações do hemograma foram anemia regenerativa, anisocitose e policromasia e aumento nos leucócitos devido a neutrofilia, monocitose e eosinofilia (Alencar et al., 1997). Tem sido descrita em animais pertencentes à família Procionidae a espécie *H. procyonis*, que apresenta uma morfologia diferente da *H. canis*. *Hepatozoon procyonis* já foi descrita, no Brasil, em mão-pelada (*P. cancrivorus*) e em quatis (Rodrigues et al., 2007).

Ainda são necessários mais estudos para avaliar os sinais clínicos e as patologias causadas pelo *Hepatozoon* em espécies de animais silvestres.

1.5.2 Babesia

Protozoários do gênero *Babesia* são classificados como pertencentes ao Reino Protista, Filo Apicomplexa, Subfilo Sporozoa, Classe Sporozoasida, Ordem Piroplasmida e Família Babesiidae. São parasitos intraeritrocitários de vertebrados e se multiplicam por divisão binária. Podem-se encontrar formas livres no plasma e no interior de macrófagos que contém hemácias fagocitadas, como esporozoítos e merozoítos. As hemácias podem apresentar quatro, oito ou mais parasitos (O'Dwyer & Massard, 2002).

A transmissão de *Babesia* para o hospedeiro vertebrado ocorre durante o repasto sanguíneo, através da inoculação de esporozoítos infectantes pela saliva do carrapato. Porém, para que a transmissão ocorra, há a necessidade de que o mesmo permaneça em repasto sanguíneo durante, aproximadamente, três dias. A parasitemia no hospedeiro vertebrado ocorre aproximadamente de dez a 14 dias após a inoculação do protozoário. Os esporozoítos penetram as hemácias e se diferenciam em trofozoítos, estes sofrem divisão binária (reprodução assexuada), formando de dois a quatro merozoítos. Após a multiplicação, há ruptura da célula hospedeira, liberando os merozoítos que penetram em novos eritrócitos ou são ingeridos por carrapatos (Jojima et al., 2008). A babesiose pode ser desde subclínica a casos graves da doença. O tipo de patogenia depende da intensidade da parasitemia e da espécie que está infectando o animal.

Babesia pode ser transmitida por várias espécies de carrapatos como *R. sanguineus*, *R. microplus*, *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sp.*. Atualmente foi descrita a presença de *Babesia* sp. no carrapato *Ornithodoros guaporensis* parasitando catita (*Monodelphis domestica*) e rato boiadeiro (*Thrichomys pachyurus*) no Pantanal, foi o primeiro registro desse carrapato no Brasil (Wolf et al., 2016).

No Brasil, há muitos casos de babesiose em animais domésticos, tanto em animais de companhia quanto em animais de produção, levando a grandes perdas econômicas. Em animais silvestres muitos casos de detecção de *Babesia* sp são descritos em canídeos como cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), cachorro-do-mato (*C. thous*), lobo-guará (*C. brachyurus*) e também já foi descrito em cervídeos (André et al., 2011; Silveira et al., 2011). Com relação a família Procionidae, guaxinins capturados na Flórida estavam infectados com a espécie *B. microti* (Clark et al., 2012). Em outro trabalho realizado na Carolina do Norte, também detectaram-se espécies de *Babesia* em guaxinins (Birkenheur et al., 2008). No Brasil, ainda não foi descrita a presença de *Babesia* em quatis.

1.5.3 Trypanosoma

1.5.3.1 Trypanosoma cruzi

Protozoários do gênero *Trypanosoma* pertencem à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae. A espécie *T. cruzi* tem como hospedeiro invertebrado insetos da ordem Hemiptera que são os triatomíneos. O ciclo deste parasito é heteroxeno, envolvendo o hospedeiro invertebrado e o vertebrado. O hospedeiro invertebrado, ao realizar o repasto sanguíneo, ingere o sangue contendo tripomastigotas e essas formas se diferenciam no interior do vetor – em epimastigotas e depois em tripomastigotas metacíclicas – e serão, posteriormente, eliminadas pelas fezes durante o repasto sanguíneo e penetrarão no hospedeiro vertebrado através de soluções de continuidade que podem ter formado pela alimentação do vetor ou alguma ferida já existente. No hospedeiro vertebrado, as formas tripomastigotas penetram nos tecidos como o coração e se transformam em amastigotas, as quais se multiplicam por divisão binária, rompendo a célula quando repleta, liberando tripomastigotas que caem na corrente sanguínea e podem infectar novas células ou infectar o vetor caso ele se alimente no hospedeiro infectado (Rey, 2002).

São parasitos transmitidos por triatomíneos e seus principais hospedeiros são humanos, roedores, cães e gatos no ciclo doméstico e peridoméstico e os edentatos, roedores, marsupiais e carnívoros no ciclo silvestre (Schofield et al., 2006).

Trypanosoma cruzi pode infectar mais de 180 espécies de mamíferos e pode causar alta morbidade e mortalidade tanto em humanos quanto animais domésticos e silvestres (Guedes et al., 2007, Noireau et al., 2009). Na Costa Rica, sete quatis da espécie *N. narica* foram descritos infectados com *T. cruzi* (Mehrkens et al., 2013). Quatis do Pantanal também foram encontrados parasitados com *T. cruzi*, nestes animais foram realizadas avaliações hematológicas para saber a influência desse parasito sobre os animais. Não houve associação entre a infecção por *T. cruzi* e alterações no sangue total ou no volume celular, mas o total de células brancas e de neutrófilos estava mais baixo nesses animais (Olifiers et al., 2015).

1.5.3.2 *Trypanosoma evansi*

Como o *T. cruzi*, o *T. evansi* é um protozoário do gênero *Trypanosoma* pertencente à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, é um parasito monomórfico e sua forma encontrada é a tripomastigota. No Brasil, sua disseminação ocorre através de insetos hematófagos, como *Tabanus* sp. e *Stomoxys* sp, durante o repasto sanguíneo. A transmissão é mecânica, ou seja, o parasito não se multiplica ou se transforma no vetor e quanto menor o espaço de tempo entre um repasto sanguíneo e outro, maiores as chances do parasito infectar um novo hospedeiro. Pode ocorrer também a transmissão iatrogênica, através de materiais contaminados com sangue infectado, como por exemplo, agulhas reutilizadas nos animais (Silva et al., 2002).

Este parasito pode infectar várias espécies de animais, desde domésticos como cavalos, bovinos, caprinos, suínos, cães e gatos; como silvestres, capivaras, tatus, marsupiais, cervídeos e quatis (Herrera et al., 2002; Silva et al., 2002). O primeiro caso relatado de infecção por *T. evansi* em humanos foi em um fazendeiro na Índia (Joshi et al., 2005).

Ao avaliar as alterações hematológicas em quatis (*N. nasua*) infectados com *T. evansi*, observou um menor número de glóbulos vermelhos e menor volume celular, contudo sem muita diferença para um quati sem infecção; houve anemia, mas sem alterações morfológicas nas hemácias e foi observada uma redução no número de plaquetas (Olifiers et al., 2015).

1.5.4 Família Anaplasmataceae

1.5.4.1 *Anaplasma platys*

O gênero *Anaplasma* pertence à família Anaplasmataceae. São bactérias gram-negativas, intracelulares obrigatórias e são transmitidas por carrapatos, que se replicam dentro de vacúolos parasitóforos no citoplasma de células hospedeiras (Dumler et al., 2001).

Anaplasma platys infecta plaquetas levando a episódios cíclicos de trombocitopenia, em cães e a doença causada por esse parasito é conhecida como trombocitopenia cíclica infecciosa canina (Ferreira et al., 2008). Em cães, quando há sinais clínicos eles aparecem como anorexia e alterações hematológicas, mas, geralmente, são sinais clínicos brandos. Contudo, quando há coinfeção com *Ehrlichia canis*, pode haver agravamento do caso clínico.

A infecção por *A. platys* em animais silvestres não é muito descrita. Há relatos de infecção por esse hemoparasito em alguns animais, como foi descrito em Búfalos (Machado et al., 2016), contudo, o alvo utilizado no diagnóstico molecular para a detecção é muito estável dentro do gênero *Anaplasma*. Talvez sejam necessários estudos com alvos mais específicos para confirmar a infecção por este parasito em animais silvestres.

1.5.4.2 *Ehrlichia canis*

Ehrlichia canis é um microrganismo riquetsiano pequeno, pleomórfico e é um parasito intracelular obrigatório de células sanguíneas maduras ou imaturas, principalmente do sistema mononuclear fagocitário como, macrófagos e monócitos. Pertence a Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae e ao Gênero *Ehrlichia* (Dumler, 2001; Accetta, 2008). Esses microrganismos multiplicam-se dentro de vacúolos parasitóforos no interior de células monocíticas, formando mórulas que podem ser observadas no citoplasma dessas células em esfregaços sanguíneos (Ettinger & Feldman, 2000).

Ehrlichia canis é o agente etiológico da erliquiose monocítica canina (Dumler et al., 2001). Além disso, adquire importância para a saúde pública por ocasionalmente poder infectar seres humanos (Bichard & Sherding, 2008).

É um agente transmitido pelo carrapato *R. sanguineus*, também conhecido como carrapato vermelho ou marrom do cão. A infecção ocorre através da saliva do carrapato contaminada no ponto de fixação durante a ingestão em um repasto sanguíneo. A transmissão de *E. canis* pelo *R. sanguineus* pode ocorrer pela ninfa e pelo carrapato adulto. Também pode

ocorrer através de transfusões sanguíneas, assim, animais doadores de sangue devem ser selecionados através de testes sorológicos negativos para a infecção (Meyer et al., 1995).

Os achados clínicos e laboratoriais podem variar de acordo com a fase em que a doença se encontra, podendo ser aguda, subclínica ou crônica. Durante a fase aguda, a *E. canis* multiplica-se no interior das células mononucleares circulantes e dos tecidos fagocitários mononucleares, linfonodos, fígado e baço (Ettinger & Feldman, 2000). Com frequência são observados sinais clínicos como letargia, anorexia, febre, linfadenomegalia, esplenomegalia, trombocitopenia, distúrbios hemorrágicos e hipergamaglobulinemia (Harrus et al., 2002).

Recentemente foram registrados casos de *E. canis* em carnívoros silvestres. Em 2013 foram registrados casos em raposas em Portugal e na Itália (Torina et al., 2013, Cardoso et al., 2015). Assim, é importante a pesquisa desse hemoparasito em carnívoros silvestres, principalmente em locais onde pode haver contato ou proximidade com cães domésticos.

1.6 Filarídeos

Os filarídeos são vermes nematódeos, pertencentes à superfamília Filarioidea e são distribuídos entre as famílias que agrupam as espécies desses parasitos. Podem parasitar o sistema circulatório, linfático, tecido conjuntivo e muscular de seus hospedeiros vertebrados e sempre necessitam de um hospedeiro invertebrado hematófago para que o ciclo se complete (Smith, 1994). Os ciclos desses parasitos podem variar um pouco, mas a maioria tem um ponto em comum que são as larvas de primeiro estágio – microfíliarias – na circulação sanguínea ou linfática do hospedeiro vertebrado. São parasitos que podem levar seus hospedeiros vertebrados a quadros debilitantes e algumas espécies podem acometer o homem (Basano et al., 2011).

São descritas em humanos, animais domésticos e silvestres várias espécies de filarídeos. Considerando os animais silvestres, em um trabalho realizado na América do Norte, foram encontrados alces e outros cervídeos parasitados com o filarídeo *Rumenfilaria andersoni* (Grunenwald et al., 2016), em aves de um arquipélago do Pacífico e em aves do Cerrado brasileiro também foram encontrados filarídeos que foram classificados apenas como microfíliarias por serem as formas imaturas do parasito e não ser possível aprofundar mais na classificação pela morfologia (Silveira et al., 2010; Clark et al., 2016). No Brasil, recentemente, foram descritas microfíliarias parasitando quatis das espécies *Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Acanthocheilonema reconditum*, *Mansonella* sp. e *Brugia* (Moraes, 2016).

2. JUSTIFICATIVA

Monitorar a presença de patógenos em animais silvestres é primordial para conter as doenças infecciosas emergentes e re-emergentes, uma vez que essas doenças, além de impactarem na saúde animal, podem consistir em um agravo para a saúde pública. Pouco se conhece sobre os parasitos que acometem os quatis do Parque das Mangabeiras, que são animais silvestres que possuem um íntimo contato com animais domésticos e com o homem. Assim, identificar os ectoparasitos e avaliar a presença de hemoparasitos nos quatis capturados no Parque das Mangabeiras torna possível o conhecimento dos parasitos circulantes nesses animais e se os ectoparasitos encontrados são prováveis vetores dos patógenos detectados ou vetores de outros agentes infecciosos. Justifica-se, portanto, a importância deste estudo, visto que poderá contribuir de forma relevante para estabelecer - a partir da aplicabilidade das propostas de intervenções que apresenta - uma convivência harmoniosa e saudável não só para visitantes e moradores do entorno do Parque das Mangabeiras, mas também para os quatis e demais animais que ali frequentam.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Pesquisar ectoparasitos e hemoparasitos em quatis (*N. nasua*) do Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar, com auxílio de chaves de identificação taxonômicas, os ectoparasitos presentes nos quatis capturados do Parque das Mangabeiras.
- Pesquisar através de leitura de lâminas de esfregaços sanguíneos a presença de hemoparasitos intra e extracelulares;
- Pesquisar através de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) a presença de hemoparasitos dos gêneros: *Babesia*, *Hepatozoon*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Trypanosoma* em quatis da espécie *N. nasua* presentes no Parque das Mangabeiras;
- Sequenciar as amostras positivas para hemoparasitos obtidas através da PCR;
- Pesquisar através de PCR a presença de microfírias de amostras que apresentaram lâminas positivas para filarídeos;
- Sequenciar as amostras positivas para microfírias obtidas através da PCR.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

Este trabalho possui licença e autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO e Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), fazendo parte de dois projetos multidisciplinares:

- “Levantamento Populacional e Manejo de Quatis (Procyonidae: *Nasua nasua*) no Parque das Mangabeiras e em Cinco Unidades de Conservação de Minas Gerais”: Coletas executadas entre 2007 a 2011, sob coordenação do Prof. Flávio Guimarães Rodrigues (ECMVS/ICB/UFMG) (Autorização Sisbio: 13599-1; 15292-1);

- “A população de quatis (*Nasua nasua* - Linnaeus, 1766) do Parque das Mangabeiras: convivências, adaptações e riscos sanitários”. Coletas executadas entre 2012 a 2014 sob coordenação do Prof. Pedro Lucio Lithg Pereira e da Profa. Danielle Ferreira de Magalhães Soares (Escola de Veterinária/UFMG) (Autorização Sisbio: 39817-1).

4.2 Local e realização das coletas

Os quatis foram capturados através de armadilhas distribuídas em vários pontos do Parque das Mangabeiras. O período amostral foi do ano de 2007 ao ano de 2014, sendo as capturas realizadas em campanhas ocorridas cinco dias por mês, sendo as armadilhas checadas no início da manhã e à tarde. No ano de 2007 as capturas eram realizadas através de brete ou armadilhas. No brete, vários animais do bando eram capturados ao mesmo tempo. Este era constituído de um cercado de tela de metal lisa de dimensões 5 m x 5 m x 2,20 m, com vigas de madeira e porção superior vedada para impedir a fuga dos animais e uma porta. Com esta estrutura, objetivou-se capturar os quatis que frequentavam a Praça das Águas. Em relação às armadilhas, foram utilizadas 50 armadilhas de ferro galvanizado com dimensões 70 cm x 30cm x 20cm para capturar os animais. Estas foram distribuídas procurando-se abranger a maior área possível e levando-se em consideração os locais frequentados pelos visitantes para que não houvesse interferência destes. As mesmas eram fixadas em árvores com arames para impedir que os animais as movimentassem quando capturados, evitando, dessa forma, sua

fuga e lesões nos mesmos. Foram usadas bananas como isca por se mostrarem bastante atrativas para os animais (Hemetrio, 2007).

Nos anos de 2008 e 2009 foram utilizadas 25 gaiolas em dois modelos de armadilha: uma em que o sistema de desarme é engatilhado quando o animal pisa em um pedal (do tipo Tomahawk®) e a outra que desarma quanto o animal tenta morder a isca em um gancho. Ambas confeccionadas em ferro galvanizado e possuem dimensões 70 cm x 30 cm x 20 cm. A partir de 2010 iniciou-se a utilização apenas de armadilhas do tipo Tomahawk, que minimizava o risco de fuga. Durante todo o período de captura realizou-se também o georreferenciamento, localizando onde cada armadilha era colocada (Figuras 3, 4, 5, 6) (Hemetrio, 2011). Não foram obtidas as imagens de georreferenciamento entre os anos de 2011 a 2014.



Figura 3 - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2007. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa. Autores: Luis Diego Alfaro Alvarado e Hemetrio, 2011.



Figura 4 - Pontos em que foram colocadas armadilhas para a captura dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2008. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa. Autora: Hemetrio, 2011.



Figura 5 - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2009. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa. Autora: Hemetrio; 2011.



Figura 6 - Pontos em que foram colocadas armadilhas para as capturas dos quatis, Parque das Mangabeiras, no ano de 2010. Fonte: Imagem Google, programa Quantum Gis 1.8.0 Lisboa. Autora: Hemetrio; 2011.

4.3 Captura e contenção para a coleta de material

Ao serem capturados, os quatis eram submetidos à sedação intramuscular de tiletamina e zolazepan (Zoletil50®, Virbac do Brasil) na dose de 0,2 mL/Kg, a fim de se realizar os procedimentos de avaliação clínica, biometria, estimativa da faixa etária e coleta de materiais biológicos (amostras de sangue e ectoparasitos).

Após a sedação completa, os animais eram retirados da gaiola e pesados com auxílio de uma balança portátil. Posteriormente, eram acomodados em uma mesa em uma sala adaptada montada no parque, ou sobre a própria gaiola de contenção quando o procedimento era realizado no local de captura. Os quatis eram marcados por *microchips*, aplicados via subcutânea na região interescapular (Figura 7A), e com brincos numerados colocados nas orelhas (Figura 7B) (Hemetrio, 2011).

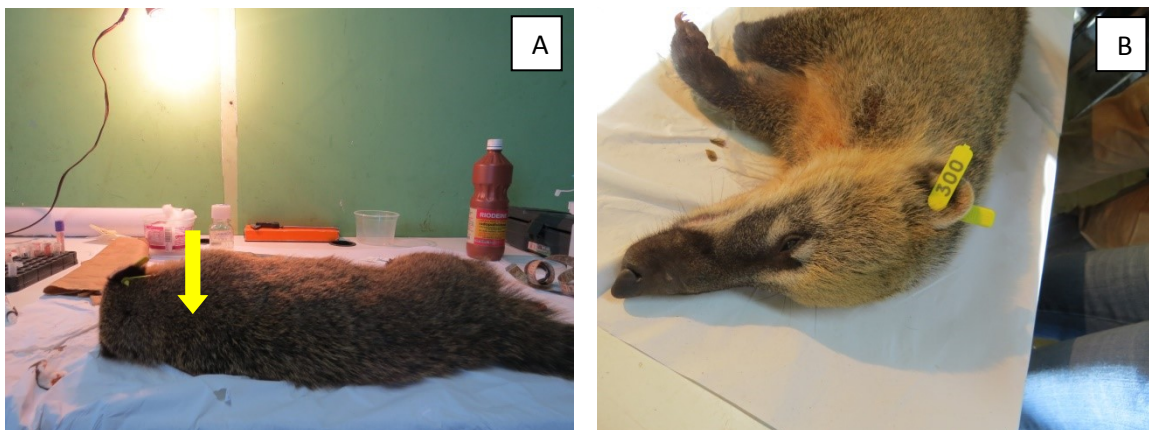


Figura 7- Exemplar de quati durante os procedimentos realizados após a contenção química em uma sala adaptada no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais, no ano de 2013. (A) A seta mostra região interescapular, local onde eram inoculados os microchips para posterior identificação dos animais; (B) Brincos numerados colocados nas orelhas para facilitar a identificação. Fonte: Lara Ribeiro de Almeida.

Para complementar os dados sobre esses animais, foram preenchidas fichas, nomeadas como “Protocolo de captura – Projeto Quatis” (Anexo 1), com dados sobre cada um dos animais capturados. As fichas foram preenchidas com o número do brinco e do *microchip* do animal, o sexo e as observações sobre o clima no momento da coleta. Também eram registrados os resultados obtidos através do exame clínico, que foi realizado para avaliar a saúde do animal e identificar ou associar possíveis patologias. Assim, foram mensuradas a frequência cardíaca, a temperatura corporal (°C), grau de hidratação, coloração das mucosas, condição corporal, aspecto da pelagem, condição reprodutiva, palpação abdominal e dos linfonodos. Além disso, estimava-se a faixa etária e o peso do animal avaliado. Porém, não foram preenchidas fichas de todos os animais que foram capturados ao longo de todos os anos.

O sexo foi determinado segundo critérios utilizados por Hemetrio (2011) através da análise da região entre uretra e ânus, presença de bolsa escrotal e tamanho da cabeça. A avaliação da sexagem é simples e a presença da bolsa escrotal pode ser observada em todas as faixas etárias dos machos.

Para determinar a faixa etária foi utilizado o peso dos animais, que é considerado um bom indicador de idade para mamíferos de médio porte (Kunz et al., 1996). Os animais foram pesados em balança com capacidade para pesar até 10Kg. Foram considerados como filhotes os quatis que apresentaram até 2Kg (até 12 meses), subadultos os animais com mais de 2Kg até 3Kg (13 a 24 meses) e adultos os quatis com mais de 3Kg (>24 meses) (Hemetrio, 2011).

Após a realização de todos os procedimentos necessários para a identificação do quati, da avaliação de sua saúde e das coletas das amostras biológicas, era aguardado o retorno

anestésico do animal. Assim que ele voltava da anestesia, o quati era solto no local em que havia sido capturado.

4.4 Coleta de materiais biológicos

As coletas das amostras biológicas foram realizadas da seguinte forma: todo o corpo do animal era inspecionado para a localização de ectoparasitos. Os ectoparasitos de um mesmo animal eram coletados e colocados em um único microtubo de 1,5mL contendo álcool 70%, identificado com o número de marcação do quati. Todas as pulgas e carrapatos presentes no animal eram coletados, contudo, quando havia infestação por piolhos não era possível a coleta total devido ao intenso parasitismo.

Quando possível, o sangue era coletado na ponta da cauda para a realização de esfregaços sanguíneos no momento da coleta. Também era coletado sangue na veia jugular para obter maior quantidade para ser utilizado para a extração de DNA e outros procedimentos. Esse sangue era colocado em tubos identificados, contendo EDTA para impedir a coagulação e mantido refrigerado até chegar ao laboratório. Quando não era possível coletar sangue periférico e o sangue total chegava a tempo no laboratório, era realizado o esfregaço sanguíneo deste sangue. No laboratório esse sangue era mantido a -20°C para posterior extração de DNA.

Os procedimentos dolorosos como, por exemplo, aplicação do *microchip*, colocação do brinco e coleta de sangue eram realizados durante o período em que a anestesia estava mais aprofundada.

4.5 Análises laboratoriais

4.5.1 Locais de realização dos experimentos

Os experimentos para a realização deste trabalho foram realizados nos Laboratórios de Protozoologia Veterinária e de Parasitologia Molecular do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB/UFMG) e os sequenciamentos foram realizados nos Laboratórios Myleus Biotecnologia e Lanagro/MG (Laboratório Nacional Agropecuário – Minas Gerais).

4.5.2 Identificação dos ectoparasitos

Os ectoparasitos foram primeiramente analisados em microscópio Olympus BX 40 e microscópio estereoscópico SZ 40. A identificação dos carrapatos foi realizada com o auxílio de chaves de identificação: Camargos e Neves (2004); Aragão e Fonseca (1961), Barros-Battesti et al. (2006). As pulgas foram identificadas de acordo com a chave de identificação proposta por Linardi e Guimarães (2000) e os piolhos com a chave Tuff (1977).

4.5.3 Leitura de lâminas de esfregaço sanguíneo

Os esfregaços sanguíneos produzidos foram secos a temperatura ambiente e corados com Panótico Rápido® (Laborclin, Brasil). Assim, além das técnicas moleculares, foi realizada a busca direta de hemoparasitos através da leitura das lâminas em microscópio óptico Olympus BX40, utilizando objetiva de 20X para busca de microfilárias e objetiva de imersão (100X) para busca de outros hemoparasitos. Foi utilizado o microscópio Opticam Microscopy Technology e programa OPT DH 3.7 (Microscopy Imaging Software) no Laboratório de Parasitologia Molecular (ICB/UFMG) para obtenção das imagens das lâminas que foram publicadas neste trabalho.

4.5.4 Análises moleculares

4.5.4.1 Extração de DNA

A extração de DNA de sangue total foi realizada com o “Wizard Genomic DNA Purification Kit” (Promega®, USA), de acordo com as recomendações do fabricante para 300µL de sangue. Após a extração a qualidade e a concentração das amostras foram determinadas através da análise em NanoDrop (Epoch Microplate Spectrophotometer, Biotek®), e os DNAs foram armazenados em freezer -20°C para a posterior amplificação gênica através da técnica de PCR.

4.5.4.2 Primers utilizados (Nested, Semi-nested, Multiplex PCR)

A partir das amostras obtidas foram realizadas PCRs utilizando iniciadores para os seguintes hemoparasitos: *Babesia*, *Hepatozoon*, *Trypanosoma*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*. Para realização da PCR para nematoda, foram selecionadas 15 amostras positivas para microfilária

no esfregaço sanguíneo. Os *primers* utilizados nas reações e os produtos de *amplicon* obtidos após a amplificação estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Sequência de iniciadores utilizados para identificação dos hemoparasitos.

Hemoparasito	Sequência (5'→3')	Iniciador	Alvo	Produto (pb)	Referência
Babesia/ Hepatozoon 1ª reação 2ª reação	CGGGATCCAACCTGGTTGATCCTGC CCGAATTCCTTGTTACGACTTCTC	RIB-19 RIB-20	18S rRNA	1700	Zahler et al., 2000
	ACCTCACCAGGTCCAGACAG GTACAAAGGGCAGGGACGTA	BAB-rumF BAB-rumR	18S rRNA	430	Silveira et al., 2011
Anaplasma platys/ Ehrlichia canis 1ª reação 2ª reação	AGAACGAACGCTGGCGGCAAG CGTATTACCGCGGCTGCTGGCA	ECC ECB	16S rRNA	478	Dawson et al., 1996
	GTCGAACGGATTTTTGTCGT TAGATCACCGCCTTGGTAGG	APYS-F APYS-R	16S rRNA	212	Rufino et al. 2013
	CAATTATTTATAGCCTCTGGCTATAGGA TATAGGTACCGTCATTATCTTCCCTAT	ECAN5 HE3	16S rRNA	389	Dawson et al., 1996
Ehrlichia Granulocítica 1ª reação 2ª reação	CACATGCAAGTCGAACGGATTATTC TTCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC	GE3a GE10r	16S rRNA	932	Massung et al., 1998
	AACGGATTATTCTTTATAGCTTGCT GGCAGTATTAAGCAGCTCCAGG	GE9f GE2	16S rRNA	546	
T. evansi 1ª reação 2ª reação	GCACAGTATGCAACCAAAAA GTGGTCAACAGGGAGAAAAT	Te1F Te1R	ITS	280	Silveira et al., 2013
	CATGTATGTGTTTCTATATG	Te2F Te1R	ITS	219	
T. cruzi/ T. rangeli	AAATAATGTACGGGTGGAGATGCATGA	S35	kDNA	760	Vallejo et al., 1999
	GGGTTTCGATTGGGGTTGGTGT	S36	kDNA	300-450	
Nematoda 1ª reação 2ª reação	GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT TTTAGTTTCTTTTCTCCGCT	NC5f NC2r	ITS ITS	700-1000	Zhu et al. 1998.

4.5.4.3 Amplificação do DNA

As reações de amplificação foram realizadas conforme padronizado por Silveira et al. (2014), utilizando o reagente GoTaq Green Master Mix (Promega®, EUA), iniciadores específicos e DNA-amostra (volume final de 15µL: 13,5µL mix e 1,5µL (10-20ng) DNA-amostra). Amostras de DNA sabidamente positivas e negativas para os alvos analisados foram utilizados como controles. As amostras de controles positivos estão descritas no Quadro 2 e os controles negativos das reações foi utilizada água de milli-Q ultra-pura DNase e RNase free que acompanha o kit do reagente GoTaq Green Master Mix. As PCRs foram realizadas

em aparelho termociclador automático (Bio-Rad®, USA) com os programas especificados no Quadro 3.

Os produtos amplificados foram misturados ao revelador GelRed (Biotium®, USA) diluído em água milli-Q ultra-pura DNase e RNase *free*, na proporção de 1:400 e posteriormente submetidos a eletroforese (30 minutos, 100V) em gel de agarose 1%, 1,5% ou 2%, de acordo com o tamanho dos *amplicons* gerados, utilizando o tampão de corrida TAE 0,5%. Para a determinação dos pesos moleculares foi utilizado marcador molecular de 100 ou de 10.000 pb (Promega®, USA), variando de acordo com o tamanho das bandas investigadas. Os resultados obtidos após a eletroforese foram visualizados através de um transiluminador de luz ultravioleta, e as amostras foram consideradas positivas após análise comparativa com a banda referente ao controle positivo.

Quadro 2 – Controles positivos utilizados durante as reações de PCRs.

Iniciador	Controle positivo	Origem
Rib19/20 – BabRumF+R	<i>Babesia bigemina</i>	Bezerro experimentalmente infectado
ECC/ECB APYSF+R – ECAN5/HE3	<i>Anaplasma platys</i> e <i>Ehrlichia canis</i>	Cão positivo com sequenciamento confirmado
GE3a/10r – GE9f/2	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Cão positivo com sequenciamento confirmado – MSP4 e MSP2
Te1F/1R – Te2F/1R	<i>Trypanosoma evansi</i>	Camundongos experimentalmente infectados (cedido pelo Laboratório de <i>Trypanosoma cruzi</i> e Doenças de Chagas - ICB/UFMG).
S35/S36	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Camundongos experimentalmente infectados (cedido pelo Laboratório de <i>Trypanosoma cruzi</i> e Doenças de Chagas - ICB/UFMG).
NC5f/NC2r	<i>Ancylostoma ceylanicum</i>	Hamsters experimentalmente infectados (cedido pelo Laboratório de Parasitologia Molecular Chagas – ICB/UFMG)

Quadro 3 – Programas utilizados para a realização das PCRs (nested e semi-nested) para a amplificação dos alvos pesquisados.

PASSOS DA MULTIPLEX		<i>E. canis</i> e <i>A. platys</i>		
1	Desnaturação Inicial	1ª reação	Passos	2ª reação - Multiplex
		94°C (3')	1	94°C (3')
2	Desnaturação	94°C (1')	2	94°C (1')
3	Anelamento dos Primers	65°C (2')	3	62°C (1')
			4	72°C (1')
4	Extensão da Fita	72°C (1')	Nº Repetição	9x
			2	94°C (1)
Nº Repetição (passos 2 a 4)		29x	3	60°C (1')
5	Extensão Final	72°C (5')	4	72°C (1')
			Nº Repetição	34x
6	Hold	10°C	5	72°C (5')
			6	10°C

PASSOS DA PCR/nPCR		<i>Babesia</i> sp. e <i>Hepatozoon</i> sp.	<i>Ehrlichia</i> granulocítica		<i>T. evansi</i>	<i>T. cruzi</i>	Nematoda
		1ª/2ª reação	1ª reação	2ª reação	1ª/2ª reação	1ª reação	1ª reação
1	Desnaturação Inicial	94°C (5')	95°C (2')	95°C (2')	94°C (5')	95°C (5')	94°C (5')
2	Desnaturação	92°C (1')	94°C (30'')	94°C (30'')	92°C (1')	95°C (1')	94°C (30'')
3	Anelamento dos Primers	54°C (1')	55°C (30'')	55°C (30'')	56°C (1')	60°C (1')	50°C (30'')
4	Extensão da Fita	72°C (2')	72°C (1')	72°C (1')	72°C (2')	72°C (1')	72°C (45'')
Nº Repetição (passos 2 a 4)		29x	40x	30x	29x	29x	39x
5	Extensão Final	72°C (8')	72°C (5')	72°C (5')	72°C (8')	72°C (5')	72°C (8')
6	Hold	12°C	12°C	12°C	12°C	10°C	12°C

4.5.4.4 Sequenciamento e análise filogenética

Amostras positivas na PCR/nPCR foram purificadas pelo QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN), segundo as recomendações do fabricante, ou através de Polietilenoglicol (PEG) (www.icb.ufmg.br/lbem). Posteriormente, cada amostra purificada foi dosada no NanoDrop (Epoch Microplate Spectrophotometer, Biotek[®]), para mensuração da quantidade e qualidade do material genético obtido. Após a etapa de purificação, as amostras foram sequenciadas a fim de verificar a identidade do produto amplificado.

O sequenciamento nucleotídico foi realizado conforme Silveira et al. (2016), utilizando os modelos Applied Biosystems ABI3130 Genetic Analyzer (Life Technologies, EUA) e o 3500 Life Technologies (Thermo[®]) e o kit de sequenciamento Applied Biosystems BigDye[®] Direct Cycle (v.3.1), utilizando o POP-7T polymer como matriz de separação e os *primers* utilizados nas reações da PCR. As sequências obtidas do sequenciador foram analisadas quanto à qualidade e os *Contigs* foram formados com o auxílio do programa *Electropherogram quality analysis*, desenvolvido pela Embrapa *Genetic Resource and Biotechnology* (<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>). Em seguida, as sequências foram submetidas à procura de homologia com as sequências depositadas em banco de dados, utilizando o software BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Após a comparação da identidade, a classificação das sequências analisadas foi realizada de acordo com o grau de similaridade com os dados já depositados no *Genbank*.

4.6 Análise estatística

A análise estatística a partir dos dados obtidos foi realizada utilizando o *software Graph Pad Prism 5.0*. A análise foi realizada utilizando uma tabela de contingência entre animais positivos e negativos, uma vez que há apenas um único dado para cada analito, tornando inviável o uso de média e desvio-padrão. As diferenças obtidas foram consideradas estatisticamente significativas quando o valor de p foi menor que 0,05 ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos neste trabalho serão apresentados a seguir seguindo uma ordem de apresentação. Após os resultados da identificação e a classificação dos ectoparasitos dentro da faixa etária e sexo dos quatis, serão sempre demonstrados os resultados obtidos para as fêmeas, os machos e respectiva faixa etária e, posteriormente, apresentados os resultados para aqueles animais que não tiveram a ficha preenchida.

5.1 Classificação dos quatis quanto ao sexo e a faixa etária

Durante o período amostral (2007 a 2014), foram coletadas um total de 216 amostras, sendo 209 amostras de primeira captura e sete amostras de recapturas, ou seja, animais que tiveram amostras de sangue coletadas duas vezes ao longo do período de coleta. Sabe-se que na última avaliação da população de quatis do parque foi estimada em 163,9 animais (Hemetrico, 2011). De acordo com as informações obtidas através das fichas de captura, das 209 amostras dos animais capturados, 36,8% (77/209) foram obtidas de quatis fêmeas, 35,4% (74/209) de machos e os outros 27,8% (58/209) não tiveram as informações preenchidas, não sendo possível diferenciar o sexo e obter outras informações, tais como a faixa etária e o estado clínico desses animais.

Para a avaliação da faixa etária foi utilizado como parâmetro o peso dos animais no momento da captura. A Tabela 1 apresenta os dados de faixa etária dos quatis que tiveram as informações preenchidas nas fichas de captura (n=151). Considerando o sexo e a idade dos animais capturados, fêmeas adultas tiveram um maior número de capturas 42,8% (33/77), enquanto que as subadultas e filhotes representaram 28,5% (22/77) das fêmeas capturadas. Em relação aos quatis machos observou-se o inverso: machos adultos representaram a minoria dos animais capturados (17,5% - 13/74), enquanto que os subadultos e filhotes apresentaram uma maior taxa de captura, 44,5% (33/74) e 37,8% (28/74), respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Faixa etária dos quatis (fêmeas e machos) determinada através das informações presentes nas fichas “Protocolo de captura – Projeto Quatis”. Animais capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, durante os anos de 2007 a 2014.

	Fêmeas			Machos		
	Total	% (total ♀)	% (total)	Total	% (total ♂)	% (total)
Filhotes	22	28,5 (22/77)	14,5 (22/151)	28	37,8 (28/74)	18,5 (28/151)
Subadultos	22	28,5 (22/77)	14,5 (22/151)	33	44,5 (33/74)	21,8 (33/151)
Adultos	33	42,8 (33/77)	21,8 (33/151)	13	17,5 (13/74)	8,6 (13/151)
TOTAL	51,0% (77/151)			49,0% (74/151)		

5.2 Avaliação clínica dos animais capturados

Além dos parâmetros sexo e faixa etária, foram realizados exames clínicos nos quatis capturados, com objetivo de avaliar o estado de saúde dos animais. A maioria dos quatis, 88,3% (68/77) das fêmeas e 90,5% (67/74) dos machos, apresentou boas condições corporais, mucosas normocoradas e pelagem íntegra. Porém, 11,7% (9/77) das fêmeas e 9,5% (7/74) dos machos apresentaram pelos opacos e ressecados, algumas cicatrizes e, durante a avaliação clínica, foram observadas a presença de ectoparasitos e linfonodos aumentados.

5.3 Identificação e avaliação dos ectoparasitos

Os ectoparasitos coletados foram classificados a partir de chaves taxonômicas. A partir da identificação foram encontrados os parasitos descritos na tabela 2. Todos os carrapatos e as pulgas encontrados eram coletados, perfazendo um resultado quantitativo. Contudo, em relação aos piolhos não foi possível coletar todos que eram visualizados devido à intensidade da infestação. Foi coletado um total de 182 ectoparasitos em todos os quatis, considerando os animais identificados e os sem identificação.

Foram coletados 36 carrapatos em 32 animais. Dentre os carrapatos, o gênero *Amblyomma* foi o que apresentou maior número de espécimes, com 94,4% (34/36), sendo que, dentro desses, dois eram adultos, *A. ovale* e *A. sculptum*, 83,3% (30/36) eram ninfas e 5,6% (2/36) eram larvas, não sendo possível chegar à espécie. Foram descritos também 5,6% (2/36) de *Rhipicephalus microplus*, sendo que os dois espécimes eram ninfas (Tabela 2). Foi coletada uma fêmea da espécie *A. ovale*, esse parasito apresenta algumas características como conformação ovoide, o escudo tende a ser pentagonal com sulcos cervicais curtos, quase reto, em geral, largo, a face ventral é lisa, sem pontuações, o orifício genital está ao nível do

intervalo entre as coxas II e III, peritrema largo. Gnatossoma mais longo que nos machos, com palpos delicados, não nodosos. Base do capítulo com bordo posterior ligeiramente côncavo. Coxa I com dois espinhos grandes característicos dessa espécie (Aragão & Fonseca, 1961). As características que diferenciam a fêmea da espécie *A. sculptum* são escudo castanho escuro com manchas esbranquiçadas ou acobreadas não interrompidas na porção média posterior, o ápice dos festões possui um pequeno tubérculo quitinoso no ângulo interno e a face dorsal é pilosa. A espécie *R. microplus* possui como principais características escudo sem manchas e sem pontuações, hipostômio mais longo que os palpos, com quatro a cinco fileiras de dentes de cada lado, peritremas circulares. Os machos possuem duas placas adanais longas, bem distintas, de cada lado do corpo, terminando posteriormente em ponta curta e aguda (Aragão & Fonseca, 1961).

Foram coletados 61 piolhos de 51 animais e todos pertencentes à espécie *Neotrichodectes pallidus* (Tabela 2). O número de piolhos coletados não corresponde ao número total de piolhos encontrados nos animais, pois quando havia infestação por piolhos, esta era intensa, não sendo possível a coleta de todos os espécimes. As características da espécie *N. pallidus* que auxiliam a chegada à sua classificação são cabeça mais larga que o tórax, aparelho bucal mastigador, antenas curtas e expostas, filiformes, constituídas de três ou cinco artículos, palpos maxilares ausentes. Todos os tarsos com uma garra, seis pares de espiráculos abdominais, machos com o segundo segmento antenal mais curto que o primeiro. Cabeça com a largura maior que o comprimento (Furman & Catts, 1982).

Em relação às pulgas foram encontrados dois gêneros dentre as 85 coletadas em 75 quatis, *Ctenocephalides* e *Rhopalopsyllus*. Destas, o gênero *Rhopalopsyllus* foi o mais encontrado, apresentando 85,9% (73/85) do total de pulgas e 14,1% (12/85) pertenciam à espécie *C. felis felis* (Tabela 2). Foram preparadas cinco pulgas do gênero *Rhopalopsyllus* sp para montagem de lâmina para a identificação de espécie, estas foram descritas como *Rhopalopsyllus lutzi lutzi*. A partir das pulgas clarificadas e identificadas, os outros espécimes foram comparados um a um de acordo com as características morfológicas dos espécimes identificados. A espécie *C. felis felis* tem como características ctenídeos presentes no tórax, cabeça, por vezes no abdome, ctenídeo genal com quatro ou mais dentes, horizontal. Presença de cerdas espiniformes na coxa posterior, metepisterno com uma ou duas cerdas. As características morfológicas da espécie *R. lutzi lutzi* são ausência de ctenídeos, os três tergitos torácicos reunidos mais longos que o primeiro tergito abdominal, sensilium com mais de 16 fossetas de cada lado. Coxas posteriores sem cerdas espiniformes, tergitos abdominais com

duas fileiras de cerdas, prosterno saliente inserido entre as coxas e as unhas do primeiro e segundo pares de pernas assimétricas (Linardi e Guimarães, 2000).

Tabela 2 – Ectoparasitos identificados a partir de chaves taxonômicas. Parasitos coletados dos quatis capturados no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, no período entre 2007 e 2014.

Carrapatos	
<i>Amblyomma</i> sp.	<i>R. microplus</i>
94,4% (34/36)	5,6% (2/36)
Piolhos	
<i>Neotrichodectes pallidus</i>	
100,0% (61/61)	
Pulgas	
<i>R. lutzi lutzi</i>	<i>C. felis felis</i>
85,9% (73/85)	14,1% (12/85)

De maneira geral, foi observado que os quatis machos 63,5% (47/74) estavam mais parasitados do que as fêmeas 58,4% (45/77) (Tabela 3), sendo que 47,8% (87/182) dos ectoparasitos coletados foram encontrados nos machos em comparação com 41,8% (76/182) para as fêmeas, os outros 10,4% (19/182) dos ectoparasitos estavam em animais sem identificação.

Visando avaliar a taxa de infestação em relação ao sexo dos animais, considerou-se o número total de cada um dos ectoparasitos e o número deste ectoparasito coletado em cada um dos sexos. Foi possível observar que os machos apresentaram maior infestação por piolhos 58,8% (30/51) e pulgas 53,2% (41/77) em comparação com as fêmeas 41,2% (21/51) de piolhos e 46,8% (36/77) de pulgas; em relação aos carrapatos, as fêmeas estavam mais infestadas 52,8% (19/36) do que os machos 47,2% (17/36) (Tabela 3).

Tabela 3 – Relação de ectoparasitos coletados em quatis fêmeas e machos capturados no Parque das Mangabeiras entre os anos de 2007 e 2014.

	Total ectoparasito	Fêmeas	Machos
Carrapatos	36	52,8% (19/36)	47,2% (17/36)
Piolho	51	41,2% (21/51)	58,8% (30/51)
Pulgas	77	46,8% (36/77)	53,2% (41/77)
Total quatis parasitados		58,4% (45/77)	63,5% (47/74)

Para avaliar a relação entre o sexo do quati e o tipo de infestação (por espécie de ectoparasito), foi considerada a quantidade de animais ectoparasitados em cada sexo, o tipo de infestação (somente carrapato, pulga ou piolho) e a presença de multiparasitismo. Conforme os dados apresentados na Tabela 4, 58,4% (45/77) das fêmeas apresentaram algum tipo de

ectoparasito, enquanto que 63,5% (47/74) dos machos capturados estavam ectoparasitados. Contudo, os dados relativos ao monoparasitismo foram superiores nas fêmeas ectoparasitadas, tais como: 8,9% (4/45) das fêmeas apresentaram infestação somente por carrapatos contra 6,4% (3/47) nos machos; fêmeas infestadas apenas por piolhos representaram uma taxa de 26,7% (12/45) contra 12,8% nos machos (6/47); e o monoparasitismo por pulgas foi de 26,7% (12/45) nas fêmeas e 10,6% nos machos (5/47) (Tabela 4).

Já o multiparasitismo por dois ectoparasitos foi superior nos quatis machos 59,6% (28/47) em relação às fêmeas 31,1% (14/45). Contudo, quando foi avaliada a presença de carrapato e piolho, os machos não apresentaram parasitismo simultâneo por estes ectoparasitos, enquanto 6,7% (3/45) das fêmeas apresentaram este tipo de infestação. Já na infestação por carrapato/pulga e piolho/pulga os machos apresentaram maiores taxas de infestação em comparação com as fêmeas. Enquanto os machos tiveram uma taxa de parasitismo de 19,1% (9/47) para carrapato e pulga e de 40,4% (19/47) para piolho e pulga, as fêmeas tiveram taxas de 17,8% (8/45) para carrapato e pulga e de 6,7% (3/45) para piolho e pulga. Ambos os sexos apresentaram uma baixa taxa de multiparasitismo para três ectoparasitos, mas os machos estavam mais parasitados pelos três ectoparasitos 10,6% (5/47) do que as fêmeas 6,7% (3/45) (Tabela 4).

Tabela 4 – Relação entre sexo e o tipo de infestação (mono ou multiparasitismo) em quatis pertencentes ao Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte, avaliados nos anos de 2007 a 2014.

	Fêmeas	Machos
Nº de animais infestados	45/77(58,4%)	47/74(63,5%)
Somente carrapato	8,9% (4/45)	6,4% (3/47)
Somente piolho	26,7% (12/45)	12,8% (6/47)
Somente pulga	26,7% (12/45)	10,6% (5/47)
Com 2 ectoparasitos	31,1% (14/45)	59,6% (28/47)
- Carrapato e piolho	6,7% (3/45)	0
- Carrapato e pulga	17,8% (8/45)	19,1% (9/47)
- Piolho e pulga	6,7% (3/45)	40,4% (19/47)
Com 3 ectoparasitos	6,7% (3/45)	10,6% (5/47)

Em relação à faixa etária dos quatis e a presença de ectoparasitos, observou-se que os filhotes apresentaram maior infestação por piolhos 68,6% (24/35), seguidos por pulgas 65,7% (23/35) e carrapatos 37,1% (13/35). Os subadultos e os adultos exibiram uma maior taxa de infestação por pulgas, tendo os subadultos uma taxa de 75,9% (22/29) e os adultos de 60,7% (17/28). Contudo, foi observado um maior número de subadultos com carrapatos 44,8% (13/29), seguido por piolhos 41,4% (12/29). Já nos adultos foi observado o contrário, maior número de indivíduos com piolhos 50,0% (14/28), seguido por carrapatos 28,6% (8/28) (Tabela 5).

Tabela 5 - Quantidade de quatis infestados por ectoparasitos de acordo com sua faixa etária e com o tipo de ectoparasito. Animais capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

	Filhote (n=35)	Subadulto (n=29)	Adulto (n=28)
Carrapato	37,1% (13/35)	44,8% (13/29)	28,6% (8/28)
Piolho	68,6% (24/35)	41,4% (12/29)	50,0% (14/28)
Pulga	65,7% (23/35)	75,9% (22/29)	60,7% (17/28)

Ao avaliar a relação entre o sexo dos animais, a faixa etária a qual pertencem e o tipo de infestação, se mono ou multiparasitismo, encontraram-se os resultados descritos na tabela 6.

Analisando os valores relativos referentes aos filhotes, pode-se observar que as fêmeas apresentaram infestação de 11,8% (2/17) por carrapatos, enquanto esse parasitismo não foi encontrado nos filhotes machos. Em relação à coinfeção por carrapato/pulga e piolho/pulga houve uma inversão nos valores das fêmeas e dos machos. Enquanto foi observado 29,4% (5/17) das fêmeas filhotes infestadas por carrapato/pulga, apenas 5,5% (1/18) dos machos apresentaram esse tipo de infestação. Já na coinfeção piolho/pulga, os machos apresentaram maior prevalência, com 55,5% dos animais infestados, enquanto nas fêmeas foram apenas 5,9% (1/17). Em relação às fêmeas filhotes, a maior taxa de infestação foi somente por piolho 41,2% (7/17), nos machos filhotes, a infestação somente por piolhos apresentou a mesma taxa da coinfeção por três ectoparasitos 17,6% (3/18). Nas fêmeas a infestação por três ectoparasitos foi baixa 5,9% (1/17). Com relação à infestação somente por pulga e carrapato/piolho, não houve tanta diferença nos valores relativos entre fêmeas e machos filhotes.

Analisando os animais subadultos observou-se que na maioria dos tipos de infestação havia mais fêmeas parasitadas do que machos. Na infestação somente por carrapato, somente piolho e carrapato/piolho as fêmeas apresentaram uma taxa de infestação de 11,1% (1/9), enquanto os machos apresentaram uma taxa de 5,0% (1/20) para infestação somente por piolho e de 10,0% (2/20) somente para piolho e somente pulga, para o multiparasitismo carrapato e piolho os machos não apresentaram infestação. Nas infestações carrapato/pulga, piolho/pulga e pelos três ectoparasitos concomitantemente, os machos apresentaram uma prevalência maior, 35,0% (7/20), 30,0% (6/20) e 10,0% (2/20), respectivamente. Enquanto a infestação nas fêmeas por carrapato/pulga foi de 22,2% (2/9) e nelas não foram observadas infestações por piolho/pulga e pelos três ectoparasitos.

Diferente do que foi observado nos filhotes e nos subadultos, nos adultos havia mais machos 22,2% (2/9) infestados somente por carrapatos do que fêmeas 5,3% (1/19). Seguindo

a linha de machos com maiores infestações que fêmeas, no parasitismo carrapato/pulga a taxa foi de 11,1% (1/9) nos machos e de 5,3% (1/19) nas fêmeas, no parasitismo por piolho/pulga a porcentagem dos machos foi de 33,3% (3/9) enquanto nas fêmeas foi de 10,5% (2/19). Em todas as outras infestações as fêmeas adultas apresentaram maior taxa de infestação que os machos. O parasitismo somente por piolho foi de 21,1% (4/19), somente pulga 36,8% (7/19), carrapato/piolho e pelos três ectoparasitos 10,5% (2/19), para os machos a infestação somente por piolho foi de 11,1% (1/19) e somente pulga 22,2% (2/9). As infestações por carrapato/piolho e pelos três ectoparasitos não foram observadas nos machos adultos.

Tabela 6 - Relação entre sexo, idade e o tipo de infestação (mono ou multiparasitismo) em quatis avaliados nos anos de 2007 a 2014 pertencentes ao Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

Nº de animais infestados	Fêmea			Macho		
	Filhote	Subadulto	Adulto	Filhote	Subadulto	Adulto
	58,4% (45/77)			63,5% (47/74)		
Somente carrapato	11,8% (2/17)	11,1% (1/9)	5,3% (1/19)	0	5,0% (1/20)	22,2% (2/9)
Somente piolho	41,2% (7/17)	11,1% (1/9)	21,1% (4/19)	17,6% (3/18)	10,0% (2/20)	11,1% (1/9)
Somente pulga	5,9% (1/17)	44,4% (4/9)	36,8% (7/19)	5,5% (1/18)	10,0% (2/20)	22,2% (2/9)
Com 2 ectoparasitos						
- Carrapato e piolho	0	11,1% (1/9)	10,5% (2/19)	0	0	0
- Carrapato e pulga	29,4% (5/17)	22,2% (2/9)	5,3% (1/19)	5,5% (1/18)	35,0% (7/20)	11,1% (1/9)
- Piolho e pulga	5,9% (1/17)	0	10,5% (2/19)	55,5% (10/18)	30% (6/20)	33,3% (3/9)
Com 3 ectoparasitos	5,9% (1/17)	0	10,5% (2/19)	17,6% (3/18)	10,0% (2/20)	0

Nos resultados obtidos a partir das análises estatísticas avaliando o número de animais ectoparasitados, a faixa etária e o tipo de parasitismo, apenas a infestação por pulgas nas fêmeas apresentou diferença significativa entre as faixas etárias, ou seja, a taxa de infestação por pulgas está associada com a faixa etária ($p < 0,05$) (Gráfico 1).

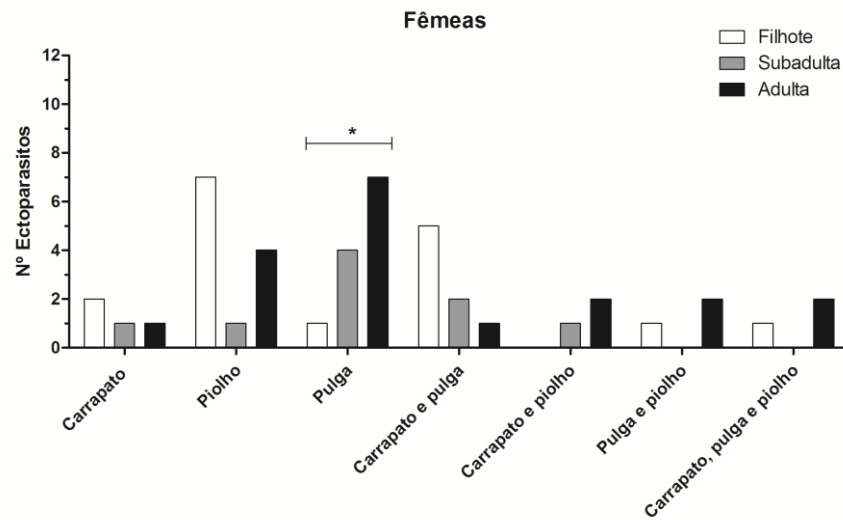


Gráfico 1 – Avaliação da relação entre ectoparasitos e faixa etária acometida nas fêmeas. Dentre todas as faixas etárias e as infestações pelos diferentes ectoparasitos, foi observada uma diferença significativa nas faixas etárias apenas na infestação por pulgas ($p < 0,05$).

Com relação aos machos, ao analisar a infestação por ectoparasitos dentro das faixas-etárias, foi observado um aumento significativo nas infestações concomitantes para carrapato e pulga ocorrendo nos subadultos ($p < 0,05$). As outras infestações não apresentaram diferença significativa entre filhotes, subadultos e adultos (Gráfico 2).

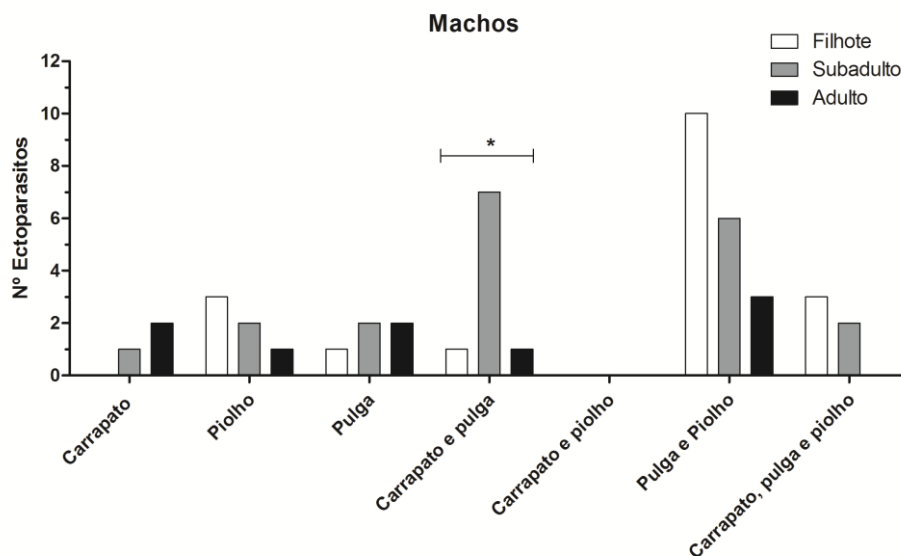


Gráfico 2 – Avaliação da relação entre ectoparasitos e faixa etária acometida nos machos. Dentre todas as faixas etárias e as infestações pelos diferentes ectoparasitos, foi observada uma diferença significativa entre as faixas etárias apenas na infestação concomitante por carrapatos e pulgas ($p < 0,05$).

Ao avaliar os quatis que não tiveram suas fichas preenchidas e, com isso, não sendo possível colocá-los dentro das classificações, observou-se que 41,4% (24/58) destes animais estavam com algum tipo de infestação por ectoparasitos. Dentro das coinfeições nenhum

quati apresentou parasitismo para carrapato/piolho. O maior número de animais infestados foi somente com pulga, atingindo 45,8% (11/24) deles, seguido por 29,7% (7/24) infestados somente por piolhos e 12,5% (3/24) com piolho/pulga. A mesma prevalência de quatis 4,2% (1/24) foi encontrada nos animais parasitados somente por carrapatos, com a coinfeção carrapato/pulga e para os três ectoparasitos concomitantemente. Esses resultados estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 – Prevalência de animais sem identificação infestados por ectoparasitos. Animais capturados durante os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

Quatis sem identificação (n=58)	
Nº de animais infestados	41,4% (24/58)
Somente carrapato	4,2% (1/24)
Somente piolho	29,7% (7/24)
Somente pulga	45,8% (11/24)
Com 2 ectoparasitos	
- Carrapato e piolho	0
- Carrapato e pulga	4,2% (1/24)
- Piolho e pulga	12,5% (3/24)
Com 3 ectoparasitos	4,2%(1/24)

5.4 Análises dos esfregaços sanguíneos

Foram realizadas lâminas de esfregaço sanguíneo de 47,2% (102/216) dos animais capturados. A partir dos esfregaços sanguíneos, realizados durante ou após as coletas das amostras, foi possível verificar a presença de *Hepatozoon procyonis*. Chegou-se a esta espécie pelo fato de as médias calculadas do tamanho e a morfologia dos gametócitos e de suas organelas terem sido próximas aos padrões encontrados em outros trabalhos. Os gametócitos apresentavam um formato alongado, com uma projeção citoplasmática oposta ao núcleo, com núcleo alongado e localizado centralmente. Foi observado que eles possuíam 11,33µm de comprimento, 3,69µm de largura, os núcleos 4,9µm de comprimento e 1,78µm de largura e as projeções citoplasmáticas apresentaram uma média de 3,75µm. Esses tamanhos se aproximam dos tamanhos citados por Richards (1961), Schneider (1968), Clark (1973) e Rodrigues (2007) (Figura 8). No presente trabalho os gametócitos foram visualizados principalmente em neutrófilos.

Também foram visualizadas microfilárias nas lâminas com as seguintes características: presença de bainha, uma cauda pontiaguda e espaço cefálico arredondado com os núcleos distribuídos em forma de gancho (Figura 9). Contudo ainda não foi realizada uma análise mais profunda para identificação desses filarídeos.

Destas lâminas, 65,7% (67/102) eram de animais com fichas preenchidas e 34,3% (35/102) de animais sem identificação. Avaliando o total de lâminas lidas, 27,5% (28/102) foram positivas para um dos hemoparasitos citados.

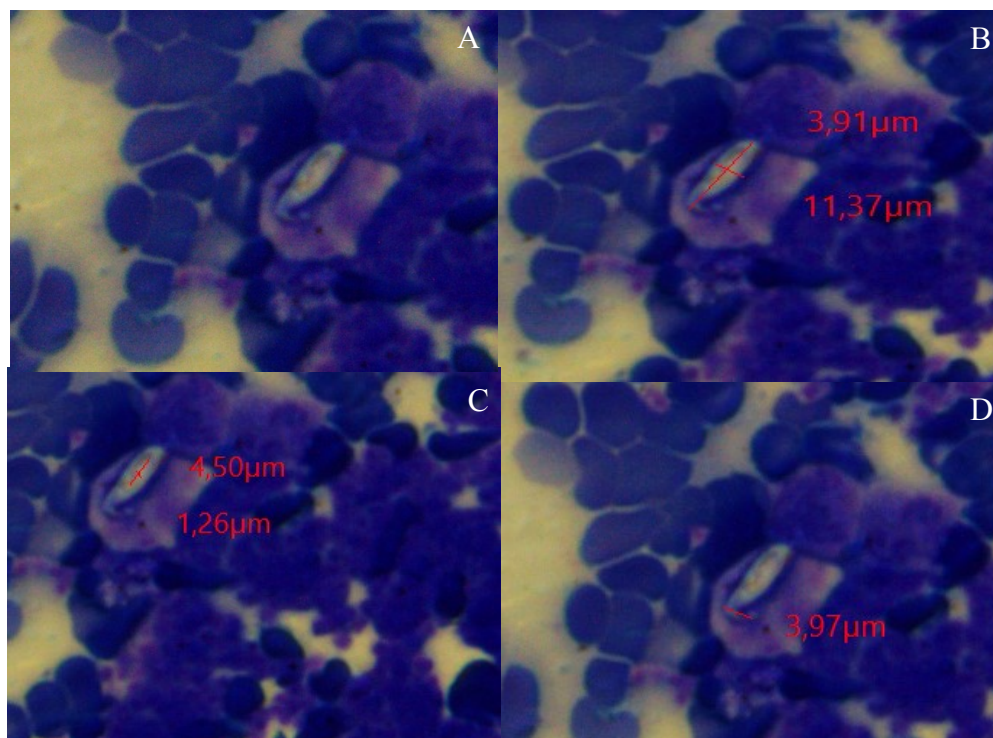


Figura 8 – A - Esfregaço sanguíneo de *N. nasua* contendo gametócitos de *H. procyonis* no interior de neutrófilos. B – Medidas de largura (3,91 μ m) e comprimento citoplasmáticos (11,37 μ m); C – Medidas de largura (1,26 μ m) e comprimento do núcleo (4,50 μ m); D – Medida da projeção citoplasmática (3,97 μ m). Aumento de 40x.

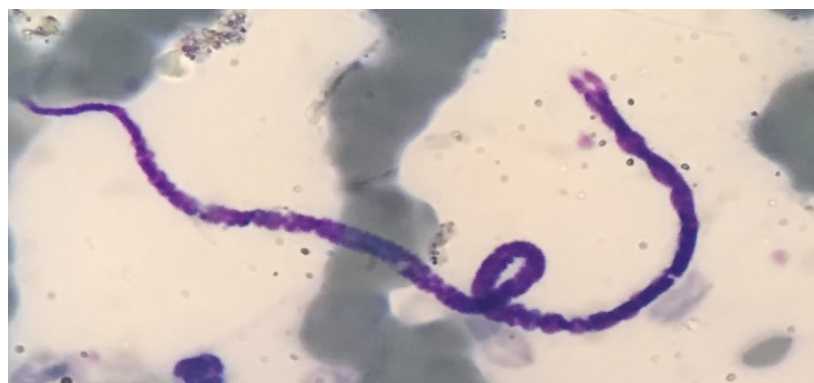


Figura 9 – Microfilárias observadas em lâmina de esfregaço sanguíneo de *N. nasua*. A – Aumento de 100X (Microfilárias apresentaram comprimento médio de 131,0 \pm 9,9 μ m, presença de bainha, cauda pontiaguda e espaço cefálico arredondado com os núcleos distribuídos em forma de gancho).

Dos animais identificados que tiveram suas lâminas analisadas, 22,4% (15/67) apresentaram microfílrias e 6,0% (4/67) *H. procyonis*. Foi observada uma maior prevalência de microfílrias nas fêmeas 29,4% (10/34) ao compará-las aos machos 15,2% (5/33), para *H.*

procyonis houve mais machos 9,1% (3/33) do que fêmeas 2,9% (1/34). Contudo, não foi encontrada diferença estatística significativa entre os sexos para infecção por *H. procyonis* e para microfilárias ($p>0,05$) (Gráfico 3A e B).

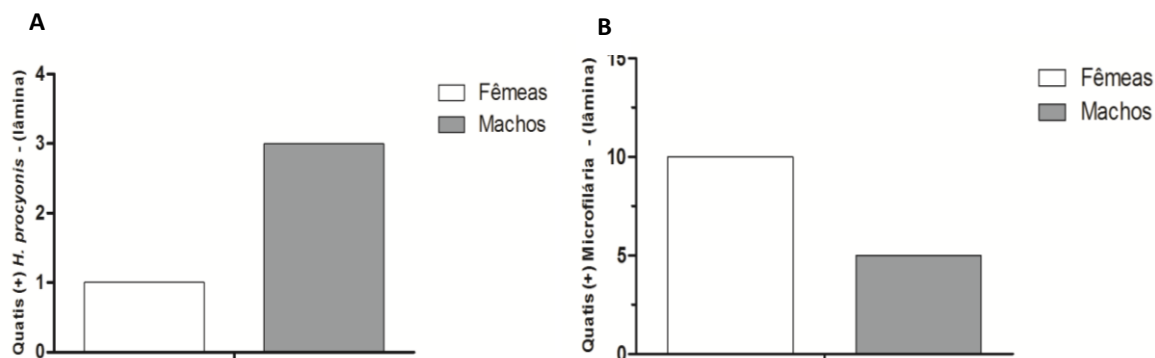


Gráfico 3 – Avaliação das lâminas positivas para *H. procyonis* e microfilárias em relação ao sexo dos animais. **A.** Avaliação das lâminas positivas para *H. procyonis* não apresentou diferença significativa ao comparar o sexo dos animais. **B.** Lâminas positivas para microfilárias, comparando machos e fêmeas, também não houve diferença significativa.

Analisando a relação entre sexo e faixa etária, nenhum filhote, tanto de fêmea quanto de macho, apresentou parasitemia para *H. procyonis*. Já para microfilária, um filhote fêmea estava parasitado (10,0% - 1/10) e nenhum filhote macho. Em relação aos subadultos, os machos apresentaram uma prevalência de 26,7% (4/15) para microfilárias enquanto para as fêmeas foi de 10,0% (1/10). Não foi encontrada parasitemia para *H. procyonis* em fêmeas subadultas, nos machos a prevalência foi de 13,3% (2/15). Avaliando os quatis adultos, foram encontrados tanto as fêmeas quanto os machos apresentando infecção por *H. procyonis* e microfilária. As fêmeas apresentaram uma prevalência de infecção de 7,1% (1/14) e os machos de 25,0% (1/4) para *H. procyonis*, já para microfilárias, a infecção foi de 57,1% (8/14) nas fêmeas e de 25,0% (1/4) nos machos (Tabela 8).

Nas análises estatísticas não houve diferença significativa entre as faixas etárias, tanto nos machos quanto nas fêmeas, para infecção por *H. procyonis*. Já na infecção por microfilárias foi observado um aumento significativo na taxa de infecção das fêmeas adultas com relação às fêmeas filhotes e subadultas ($p<0,05$), os machos, contudo, não apresentaram resultados significativos entre as faixas etárias (Gráfico 4A e B).

Tabela 8 – Relação entre sexo e faixa etária na prevalência de hemoparasitos nos esfregaços sanguíneos de quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

	Fêmea (n=34)		Macho (n=33)	
	<i>H. procyonis</i>	Microfilária	<i>H. procyonis</i>	Microfilária
Filhote	0	10,0% (1/10)	0	0
Subadulto	0	10,0% (1/10)	13,3% (2/15)	26,7% (4/15)
Adulto	7,1% (1/14)	57,1% (8/14)	25,0% (1/4)	25,0% (1/4)

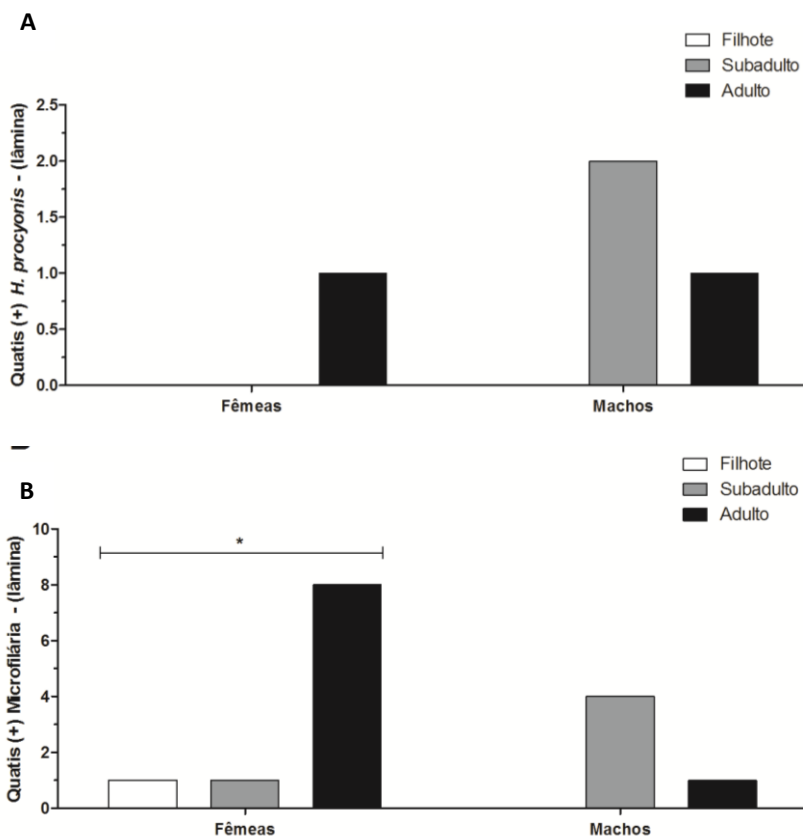


Gráfico 4 – Avaliação das taxas de infecção por *H. procyonis* e microfilárias dentro das faixas etárias em cada sexo. **A.** Análise das lâminas positivas para *H. procyonis*. Não foi observada diferença estatística significativa entre as faixas etárias das fêmeas e também dos machos. **B.** Nas análises das lâminas positivas para microfilárias foi observada uma diferença significativa entre fêmeas filhotes, subadultas e adultas ($p < 0,05$), contudo, os machos não apresentaram essa diferença entre as faixas etárias.

Dos animais sem identificação, 20,0% (9/45) apresentaram infecção por esses hemoparasitos. A prevalência de infecção somente por *H. procyonis* foi de 6,7% (3/45) e de microfilárias foi de 11,1% (5/45). Houve um caso de coinfeção por estes dois hemoparasitos (2,2% - 1/45). O animal mais parasitado foi um macho subadulto capturado em abril de 2007 e apresentou 71 microfilárias/lâmina.

5.5 Avaliação molecular de hemoparasitos

A fim de verificar a presença de hemoparasitos nos quatis, amostras de DNA extraídas de sangue total foram utilizadas para a realização de PCR, seguido de sequenciamento

nucleotídico das amostras que apresentaram bandas próximas ao tamanho esperado, utilizando iniciadores específicos para cada alvo.

Da avaliação realizada para pesquisa de hemoparasitos dos gêneros *Babesia*, *Hepatozoon*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Trypanosoma* e para nematódeos (microfilárias), foram encontradas amostras positivas utilizando os iniciadores para o filo Apicomplexa (*Babesia* e *Hepatozoon*) 78 amostras (Figura 10), específicos para *T. evansi* 33 amostras e para nematódeos (ITS) 6 amostras.

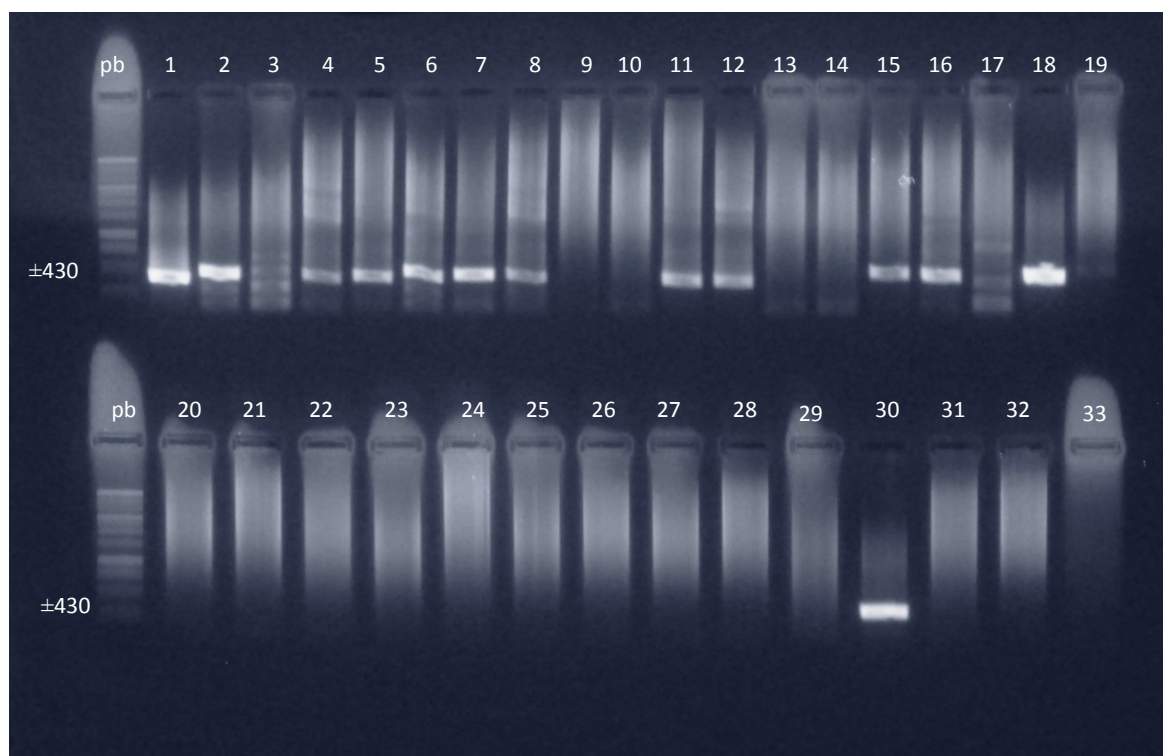


Figura 10 – Gel de agarose em que é possível observar amostras positivas para os iniciadores RIB 19/20 e BabRumF/R utilizado para a pesquisa de determinados parasitos pertencentes ao filo Apicomplexa. Linha 1: Controle positivo (*B. bigemina*); Linhas 2, 4 a 8, 11, 12, 15, 16, 18 e 30: amostras positivas; Linhas 32 e 33: branco da primeira e segunda reação, respectivamente.

Das 101 amostras positivas com os iniciadores RIB 19/20 e BabRumF/R, 78 obtiveram sucesso no sequenciamento. Dessas, 69 apresentaram identidade *Hepatozoon* spp, quando comparadas com amostras depositadas no GenBank, seis com *Sarcocystis neurona* e três com *B. bigemina*.

Das amostras similares com o gênero *Hepatozoon*, 12 obtiveram similaridade com *Hepatozoon* sp. (98-99% de identidade com amostras de sequência isolada de *Amblyomma americanum* dos EUA- KC162913.1); sete amostras com similaridade para *Hepatozoon* sp. (95 a 98% de identidade com sequência advinda de *Dromiciops gliroides* do Chile (marsupial conhecido popularmente como colocolo - FJ719814.1) e seis amostras com similaridade para

Hepatozoon sp. (97% de identidade de sequência isolada *C. thous* do Pantanal brasileiro (KT881508.1).

Seis amostras que foram positivas com os iniciadores RIB 19/20 e BabRumF/R, ao serem sequenciadas e comparadas com amostras depositadas no GenBank, apresentaram resultados diferentes de *Hepatozoon*. Duas amostras demonstraram similaridade com *B. bigemina* (99-100% de identidade com amostras isoladas de *Boophilus annulatus* da Turquia - KP745624.1) e quatro amostras foram similares a *S. neurona* (99% de identidade com amostras de guaxinins (*P. lotor*) - KT184371.1).

Das 33 amostras positivas para *T. evansi*, todas obtiveram sucesso no sequenciamento, sendo que sete amostras obtiveram similaridade com *T. evansi* (97-99% de identidade com sequência advinda de camelo da Índia - KR858268.1) e seis amostras com similaridade (98 – 100% de identidade de sequência isolada da cepa STIB 821 (KU552353.1).

Em relação aos resultados moleculares associados ao sexo, a faixa etária e ao ectoparasitismo dos quatis, a tabela 9 apresenta a relação de fêmeas positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *Babesia* sp. e *S. neurona*. Das 77 fêmeas avaliadas neste estudo, 46,8% (36/77) apresentaram-se positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *Babesia* sp., *S. neurona* ou coinfeção para *Hepatozoon* sp. e *T. evansi*. Destas amostras, 47,2% foram de fêmeas adultas (17/36), 33,3% subadultas (12/36) e 19,4% filhotes (7/36) (Tabela 9).

A infecção por *Hepatozoon* sp. foi confirmada em 77,8% das amostras (28/36), enquanto que 27,8% (10/36) foram positivas para *T. evansi* e 2,8% (1/36) para *Babesia* sp. e para *S. neurona*. A taxa de coinfeção foi de 11,1% (4/36) para *Hepatozoon* sp e *T. evansi*.

Ao avaliar a presença da infecção de fêmeas por *Hepatozoon* sp. dentro de cada faixa etária, foi observado que fêmeas adultas apresentaram a maior taxa de infecção 46,4% (13/28), seguida pela classe subadulta 32,1% (9/28), e filhote 21,4% (6/28). Em contraste, nas análises para *T. evansi* as fêmeas subadultas apresentaram maior prevalência na infecção por esse hemoparasito 40,0% (4/10), enquanto que filhotes e adultas apresentaram 30,0% (3/10) cada. Apenas uma fêmea subadulta mostrou-se infectada por *B. bigemina* e uma adulta para *S. neurona*. É importante ressaltar que 52,8% (19/36) das fêmeas infectadas por *Hepatozoon* sp. e *T. evansi* apresentaram algum tipo de infestação por ectoparasito, sendo que todas as fêmeas ectoparasitadas por carrapato foram positivas para *Hepatozoon* sp. (Tabela 9).

Nas análises dos quatis machos, 59,5% (44/74) foram positivos na PCR para *Hepatozoon* sp, *T. evansi*, *Babesia* sp., *S. neurona* ou coinfeção para *Hepatozoon* sp. e *T. evansi* ou *T. evansi* e *S. neurona*. Ao avaliar a faixa etária na qual os machos apresentaram a maior taxa de

infecção, foi observado que 52,3% (23/44) eram subadultos, 27,3% (12/44) eram filhotes e 20,5% (9/44) eram adultos (Tabela 10).

Foi confirmada a infecção por *Hepatozoon* sp. em 65,9% (29/44) das amostras dos machos, por *T. evansi* em 45,5% (20/44), por *S. neurona* em 6,8% (3/44) e por *B. bigemina* em 2,3% (1/44). A taxa de coinfeção foi de 20,5% (9/44), sendo que 15,9% (7/44) foram coinfeção para *Hepatozoon* sp e *T. evansi* e 4,5% (2/44) foram para *T. evansi* e *S. neurona*.

Analisando as faixas etárias dos machos e a prevalência das infecções dentro de cada uma, foi observado que os subadultos obtiveram uma maior taxa de infecção por *Hepatozoon* sp. 62,1% (18/29), seguido pelos adultos 20,7% (6/29) e pelos filhotes 17,2% (5/29). Na infecção por *T. evansi* foi observado uma inversão na taxa de infecção entre filhotes e adultos, os subadultos apresentaram maior taxa de infecção 45,0% (9/20), seguido pelos filhotes 35,0% (7/20) e pelos adultos 20,0% (4/20). Nos animais infectados por *S. neurona*, os filhotes foram os mais infectados, com 66,7% (2/3), seguido pelo único subadulto infectado 33,3% (1/3). Apenas um macho subadulto apresentou infecção por *B. bigemina*. Avaliando os quatis machos infectados por hemoparasitos que são transmitidos por ectoparasitos foram encontrados 75,0% (33/44) desses animais infestados por algum tipo de ectoparasito (Tabela 10).

Tabela 9 - Relação de fêmeas positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* de acordo com a faixa etária e a presença de ectoparasitos em quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

Fêmeas								
Amostras	Filhote	Subadulto	Adulto	Ectoparasito	<i>Hepatozoon</i> sp.	<i>T. evansi</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>S. neurona</i>
B.012			X	*		+		
B.030			X	<i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.033			X	*	+			
B.055	X			<i>N. pallidus</i>	+			
B.061			X	<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.062			X	*				+
B.093			X	<i>N. pallidus</i> <i>R. lutzi lutzi</i>		+		
B.103	X			<i>Amblyomma</i> sp. (larva)	+			
B.104			X	<i>Amblyomma</i> sp. (ninf) e <i>N. pallidus</i>	+			
B.129	X			<i>Amblyomma</i> sp. (ninf) e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.132		X		*	+			
B.133	X			<i>R. microplus</i> , <i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+	+		
B.144	X			<i>Amblyomma</i> sp. e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.146	X			<i>N. pallidus</i>	+	+		
B.159			X	<i>R. lutzi lutzi</i>		+		
B.160		X		*	+	+		
B.161			X	*	+			
B.175	X			*		+		
B.182		X		*	+			
B.186			X	*	+			
B.189		X		*	+			
B.195		X		<i>Amblyomma</i> sp. (ninf)	+			
B.196		X		*		+		
B.197		X		*	+			
B.198		X		<i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.203		X		*		+		
B.204			X	*	+			
B.216		X		*	+			
B.224			X	*	+			
B.225		X		<i>C. felis felis</i>	+	+		
B.350			X	<i>N. pallidus</i>	+			
B.402			X	<i>Amblyomma</i> sp. e <i>N. pallidus</i>	+			
B.957			X	<i>Rhopalopsyllus</i> sp.	+			
288622		X		*			+	
294622			X	<i>Amblyomma</i> sp. (ninf)	+			
295657			X	<i>Rhopalopsyllus</i> sp.	+			
TOTAL	7 (19.4%)	12 (33.3%)	17 (47.2%)	19/36 (52.8%)	28 (77.8%)	10 (27.8%)	1 (2,8%)	1 (2,8%)

+ = Amostras positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* na PCR.

* = Ausência de ectoparasito

Tabela 10- Relação de machos positivos para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* de acordo com a faixa etária e a presença de ectoparasitos em quatis capturados entre os anos de 2007 a 2014 no Parque das Mangabeiras – Belo Horizonte.

Machos								
Amostras	Filhote	Subadulto	Adulto	Ectoparasito	<i>Hepatozoon</i> sp.	<i>T. evansi</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>S. neurona</i>
B.014		X		*			+	
B.032		X		*	+			
B.045	X			*	+			
B.050			X	*	+			
B.052		X		<i>Amblyomma</i> sp (ninf) e <i>C. felis felis</i>		+		
B.069			X	<i>N. pallidus</i>	+			
B.109	X			<i>N. pallidus</i> e <i>C. felis felis</i>	+			
B.110	X			<i>Amblyomma</i> sp., <i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>		+		
B.121	X			<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.128			X	*		+		
B.130	X			<i>R. microplus</i> (ninf) e <i>R. lutzi lutzi</i>		+		
B.131		X		<i>N. pallidus</i>	+			
B.135			X	<i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.137		X		<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>		+		
B.138		X		<i>N. pallidus</i>	+			
B.140	X			*	+	+		
B.141		X		<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+	+		
B.142		X		*	+	+		
B.143	X			*		+		
B.145	X			<i>Amblyomma</i> sp (ninf) e <i>R. lutzi lutzi</i>				+
B.148		X		<i>N. pallidus</i>	+			
B.151		X		*	+			
B.157		X		*	+			
B.164		X		<i>R. microplus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.165			X	*		+		
B.166	X			<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>		+		+
B.172		X		*		+		
B.173	X			*		+		
B.180		X		<i>N. pallidus</i>	+	+		
B.187		X		*	+			
B.190			X	<i>C. felis felis</i>	+			
B.192		X		*	+			
B.206	X			*	+			
B.208		X		<i>R. lutzi lutzi</i>	+	+		
B.209		X		*		+		+
B.212		X		<i>N. pallidus</i>	+			
B.213		X		<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.215		X		*	+			
B.220		X		<i>C. felis felis</i>	+			

Continuação Tabela 10		Machos						
Amostras	Filhote	Subadulto	Adulto	Ectoparasito	<i>Hepatozoon</i> sp.	<i>T. evansi</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>S. neurona</i>
B.221			X	*		+		
B.414			X	<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+			
B.548			X	<i>N. pallidus</i> e <i>R. lutzi lutzi</i>	+	+		
291662		X		*	+	+		
299718	X			*		+		
Total	12 (27,3%)	23 (52,3%)	9 (20,5%)	23/44 (52,3%)	29 (65,9%)	20 (45,5%)	1 (2,3%)	3 (6,8%)

+ = Amostras positivas para *Hepatozoon* sp., *T. evansi*, *B. bigemina* e *S. neurona* na PCR.

* = Ausência de ectoparasito

Foram selecionadas 15 amostras a partir de lâminas positivas para microfilárias para a PCR para nematódeos. Dessas amostras, 40,0% (6/15) foram positivas na PCR. Das seis amostras positivas, 33,3% (2/6) eram de machos suadultos, 16,7% (1/6) de fêmea filhote, 16,7% (1/6) de fêmea subadulta e 33,3% (2/6) de fêmeas adultas. No sequenciamento apenas uma amostra de macho subadulto (B181), apresentou similaridade com *Mansonella ozzardi* da Argentina - AF228561.1 (71% de identidade, porém cobrindo apenas uma pequena parte da sequência) e outra (B61) apresentou similaridade com *Ancylostoma caninum* (99% de identidade com amostra oriunda de um cão dos EUA -JQ812694.1).

Com relação aos animais sem identificação, foram encontrados os seguintes resultados na avaliação molecular dos hemoparasitos: 20,7% (12/58) dos animais estavam infectados por *Hepatozoon* sp., 5,2% (3/58) por *T. evansi*, 1,7% (1/58) por *Babesia* sp. e 3,4% (2/58) por *S. neurona*.

Foram realizadas análises estatísticas para os resultados das PCRs para o *primer* BabRum e para *T. evansi*. Avaliando todos os animais positivos para BabRum, fêmeas e machos, não houve associação entre a porcentagem de animais infectados e o sexo ($p>0,05$) (Gráfico 5A). Avaliando a relação entre o sexo e a faixa etária, houve diferença estatística significativa entre todas as faixas-etárias das fêmeas e foi observado um aumento na taxa de infecção de acordo com o aumento da idade do quati ($p<0,05$). Já nos machos foi observada uma diferença significativa na taxa de infecção dos subadultos com relação as outras faixas-etárias, que não apresentaram diferença estatística (Gráfico 5B).

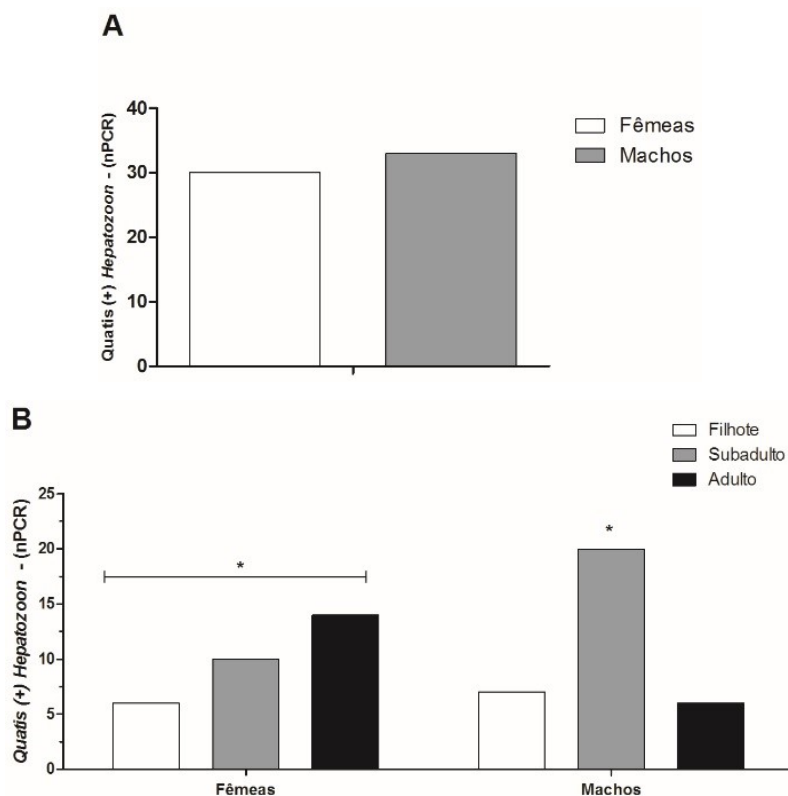
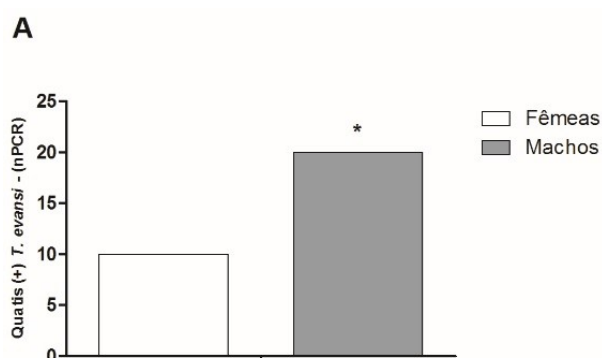


Gráfico 5 – Análise dos resultados obtidos na PCR para o *primer* BabRum. **A.** Comparação entre machos e fêmeas positivos. Não foi observada diferença significativa entre as amostras. **B.** Avaliação da taxa de infecção entre as faixas-etárias dentro do mesmo sexo. Foi observada diferença significativa entre as faixas-etárias das fêmeas, sendo observado um aumento na taxa de infecção de acordo com o aumento da idade. Nos machos foi observado um aumento significativo na taxa de infecção dos subadultos. Entre os filhotes e adultos não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

No resultado estatístico obtido para as PCRs para *T. evansi* que avaliou a taxa de infecção nas fêmeas e nos machos foi observado uma correlação entre o sexo e a taxa de infecção, sendo que os quatis machos são os animais mais acometidos ($p < 0,05$) (Gráfico 6A). Avaliando as taxas de infecções entre as faixas-etárias dentro do mesmo sexo, não houve nenhuma associação entre os animais positivos e o sexo/faixa-etária ($p > 0,05$) (Gráfico 6B).



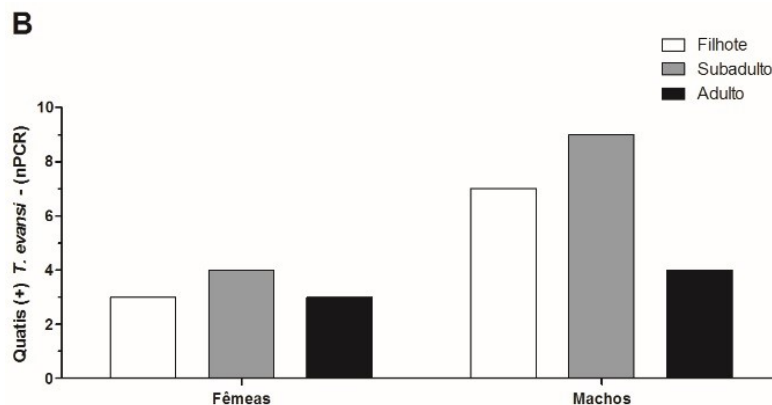


Gráfico 6 – Análise dos resultados obtidos na PCR para *T. evansi*. **A.** Ao comparar a taxa de infecção entre machos e fêmeas para *T. evansi*, foi observado um aumento significativo no número de quatis machos infectados. **B.** Ao comparar as taxas de infecções entre as faixas-etárias dentro do mesmo sexo não foi observada diferença significativa entre as fêmeas e entre os machos.

5.5.1 Análises moleculares de animais recapturados

Foram recapturados sete animais e foram realizadas PCRs para as amostras desses quatis como todos das capturas. Destes animais, 57,1% (4/7) foram negativos no BabRum nas amostras de captura e positivas nas recapturas. Um animal foi positivo em ambas as análises (captura e recaptura). Na pesquisa para *T. evansi*, 28,6% (2/7) foram negativas na captura e se mostraram positivas na recaptura.

5.6 Análises moleculares x Esfregaços sanguíneos

A análise dos resultados moleculares e dos esfregaços sanguíneos mostrou que apenas três quatis foram positivos para *Hepatozoon* sp tanto no esfregaço sanguíneo quanto nas análises moleculares. Estes animais foram uma fêmea adulta e dois machos subadultos. Em relação às microfilárias, as amostras que foram selecionadas para PCR foram as amostras que já sabidamente positivas nas lâminas.

5.7 Resultados negativos

As reações de PCR realizadas para *T. cruzi*, *A. platys*/*E. canis* e *Ehrlichia* granulocítica foram negativas. Também não foram encontrados *T. evansi* nas lâminas de esfregaços sanguíneos.

6. DISCUSSÃO

Atualmente, muitos trabalhos em todo o mundo pesquisam a presença de parasitos em animais silvestres. Isso se deve pela importância que há nas transmissões de patógenos de animais silvestres para animais domésticos e para o homem e também a transmissão inversa, do homem e dos animais domésticos para os animais silvestres. Sabe-se que 60% das enfermidades infecciosas humanas são de origem animal, tanto animais domésticos quanto animais silvestres (OIE, 2015). A vigilância de doenças e patógenos em animais silvestres é um componente que pode auxiliar programas de monitoramento, prevenção e controle, além da conservação desses animais no meio ambiente. Esse acompanhamento pode fornecer informações sobre morbidade e mortalidade de animais selvagens e detectar alterações nos padrões de ocorrência de determinados patógenos ao identificar precocemente surtos de doenças, incluindo as emergentes (OIE, 2015). De acordo com a lista de agentes patogênicos da Organização Mundial de Saúde Animal – OIE- (2015), a maioria destes agentes pode infectar os animais selvagens e ser mantidos por eles por períodos variados de tempo. Como existem muitas espécies de animais silvestres, há riscos variados de transmissão de patógenos em diferentes regiões ou áreas. Essa transmissão dependerá das espécies de animais silvestres e domésticos presentes no local.

Associando a quantidade de animais capturados, 77 fêmeas e 74 machos, com a ecologia desses animais, pode-se inferir que o número de machos adultos e os resultados dos animais desse sexo e dessa faixa etária podem estar subestimados. Foram capturados 33 fêmeas adultas e 13 machos adultos. Os machos, quando atingem a maturidade, tendem a se afastar do bando e a ter uma vida solitária, aproximando-se das fêmeas durante os períodos de acasalamento. Dessa forma, talvez seja mais difícil capturar esses animais. Como podem percorrer longas distâncias, pode ser que os machos adultos sejam os mais susceptíveis a um maior número e variedade de patógenos. Além disso, no ano de 2007 a 2010 as capturas foram realizadas através de bretes, desta forma eram capturados animais de um bando de uma só vez, como geralmente quem está no bando são as fêmeas adultas, com os subadultos e filhotes fêmeas e machos, a chance de capturar fêmeas adultas é maior que de machos adultos.

Neste trabalho foi possível descrever a presença de ecto e hemoparasitos infectando quatis que vivem no Parque das Mangabeiras, em Belo Horizonte, Minas Gerais. Este parque está localizado dentro de uma zona urbana e é próximo a muitas residências, o que permite o contato direto com animais domésticos, com visitantes do parque e moradores dos bairros próximos, além de o local também fazer divisa com uma área de mata protegida, facilitando o

contato dos quatis com outros animais silvestres. Há, ainda, uma ligação do Parque das Mangabeiras com outras áreas de fazendas e de criação de animais de produção.

Assim como outros mamíferos silvestres, os quatis servem de hospedeiro para uma grande diversidade de parasitos, principalmente quando há um equilíbrio entre hospedeiro-parasito. Avaliando a infestação por ectoparasitos associando apenas o sexo, os machos apresentaram uma maior taxa de parasitismo que as fêmeas. Esse resultado pode estar associado ao fato de os machos andarem distâncias maiores que as fêmeas. Contudo, houve diferença significativa somente na infestação dos machos subadultos na coinfeção por carrapato e pulga. Nas fêmeas somente a infestação por pulgas apresentou diferença significativa entre as faixas-etárias, havendo um aumento na taxa de infestação com o aumento da idade. Além disso, a faixa etária de fêmeas adultas foi a que apresentou infestação por todos os tipos de mono e multiparasitismo, talvez seja pelo fato de terem contato com os quatis adultos machos durante o período de acasalamento e também por irem atrás de comida e ao entrarem em contato com uma presa infestada, esses parasitos podem passar para a fêmea, além disso, as fêmeas são altamente gregárias, facilitando o trânsito de ectoparasitos entre elas.

Carrapatos pertencentes a gêneros e espécies variadas já foram descritos parasitando quatis do Brasil. Dentre esses ectoparasitos já foram descritos *A. ovale* (Koch, 1844), *A. cajennense* (Fabricius, 1787) e *A. parvum* (Aragão, 1908) (Aragão e Fonseca, 1961; Figueiredo et al., 1999). Em um trabalho realizado por Rodrigues (2006), as ninfas coletadas que sofreram muda foram identificadas como *A. cajennense*. No presente trabalho, a maioria dos carrapatos encontrados são do gênero *Amblyomma* 94,4% (34/36) e em dois desses parasitos foi possível chegar em espécie, *A. ovale* e *A. sculptum*. Como o gênero *Amblyomma* tem como característica ser trioxênico, ele necessita de três hospedeiros para realizar suas mudas, desta forma, apresentam baixa especificidade parasitária, principalmente durante os instares imaturos (Labruna, 2000). Essa característica faz com que seja um carrapato de grande importância na transmissão de patógenos, pois facilita o intercâmbio de agentes entre diferentes espécies de animais, inclusive o homem. Não é comum a espécie *A. ovale* parasitar quatis, mas já foi descrita a presença em quatis que tiveram amostras coletadas no CETAS da Universidade Federal de Viçosa (Maia, 2012). *Amblyomma sculptum* tem seus hospedeiros preferenciais quando adultos, o cavalo, a capivara e anta, contudo, quando nas fases imaturas podem variar bastante os hospedeiros, inclusive parasitar o homem.

Além dos carrapatos pertencentes ao gênero *Amblyomma*, também foram encontrados dois carrapatos pertencentes a espécie *R. microplus*, a qual é comumente encontrada em

ruminantes, principalmente em bovinos, podendo ser encontrados em equinos criados com bovinos (Labruna et al., 2001). Esse carrapato é o vetor da *B. bigemina*, contudo ele não foi encontrado em quatis que foram positivos para *Babesia*, mas como ele foi encontrado parasitando um quati, percebe-se que está presente no parque das Mangabeiras. Já foi descrita a presença desse carrapato em veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) (Massard & Fonseca, 2004) e em várias outras espécies silvestres encontradas no Pantanal, como, cachorro-do-mato (*C. thous*), lobo-guará (*C. brachyurus*), jaguar (*Pantera onca*) e cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), sendo os cervídeos os mais acometidos (Pereira et al., 2000; Labruna et al., 2005). Além disso, há registros próximos ao parque das Mangabeiras de locais com bovinos e equinos, regiões que fazem divisa com a área de mata preservada. Como os quatis, principalmente os machos, são animais que podem andar longas distâncias, podem chegar bem próximos a locais onde esses animais domésticos estão presentes e ao retornarem para seu local de origem levam consigo esses parasitos. Além de serem vetores de patógenos, os carrapatos causam prurido nos locais em que se alimentam e em uma infestação intensa podem causar anemia. Sabe-se que o gênero *Amblyomma* é de grande importância no ciclo de alguns hemoparasitos, pois como esse carrapato necessita de mais de um hospedeiro durante seu ciclo de vida, facilita a transmissão de hemoparasitos. Além disso, *Amblyomma* possui ampla distribuição geográfica (Massard e Fonseca, 2004).

Em um estudo realizado em uma floresta urbana em Juiz de Fora, Minas Gerais, foram encontrados piolhos pertencentes à espécie *Neotrichodectes pallidus* em 52,6% dos quatis. No presente estudo, foram coletados 61 piolhos e todos pertencentes à espécie *N. pallidus*, assemelhando com trabalhos que também demonstraram a presença de piolhos em *N. nasua*. No Maranhão foram encontrados piolhos em 100% (8/8) dos quatis avaliados, nesse estudo a espécie encontrada foi *T. canis* (Figueiredo, et al. 2010). Os piolhos podem levar o hospedeiro a um desconforto pelo prurido, atrapalhando para se alimentar e para repousar, e ao se coçarem, em árvores, pedras, acabam danificando seus pelos, tornando-os quebradiços e opacos (Freitas, 1978).

Após a identificação das pulgas, foram encontradas duas espécies diferentes parasitando os quatis do parque das Mangabeiras. As pulgas podem causar ações irritativas, que podem levar a pruridos intensos, podem causar ações espoliadoras e quando há uma infestação grande em seus hospedeiros, podem torná-los anêmicos. Além disso, podem atuar como vetoras ou hospedeiras intermediárias de patógenos (Linardi, 2011). Detectou-se parasitismo por *R. lutzi lutzi* e *C. felis felis*. A pulga *R. lutzi lutzi* foi a de maior prevalência entre os

quatis, chegando a 85,9%. Provavelmente foi a mais encontrada por parasitar diversos animais silvestres brasileiros, inclusive os quatis. Infestações por este parasito já foram descritas em vários hospedeiros silvestres além dos quatis, como nas ordens Marsupialia, Edentata, Rodentia e Carnivora, em alguns hospedeiros como rato-do-chão (*Akodon serrensis*), tatu (*Dasypus novemcinctus*), gambás (*Didelphis albiventris*), cachorro-do-mato (*C. thous*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), entre outros (Linardi, 1985; Barros-Battesti & Arzua, 1997), além de poderem ser encontradas livres em ninhos de quatis. Um aspecto importante em relação ao parasitismo por essa pulga é que ele está associado a hábitos predatórios dos carnívoros que acabam disseminando esse parasito (Linardi & Guimarães, 2000). Como o quati se alimenta de pequenos vertebrados, isso pode estar facilitando a infestação por essa espécie de pulgídeo nesses animais. Em um trabalho mais recente (Rodrigues et al., 2006) foi descrita a presença de *R. lutzi lutzi* em quatis de um parque urbano, mata do Morro do Imperador, na cidade de Juiz de Fora.

A espécie *C. felis felis* apresentou uma prevalência de 14,0% nos quatis deste trabalho. Tanto Linardi & Guimarães (2000) quanto Rodrigues (2006) descreveram a presença deste pulgídeo parasitando quatis. Também foi descrita esta espécie de pulga em *N. nasua* em um trabalho realizado no estado do Maranhão (Figueiredo, et al. 2010). Como são pulgas comumente encontradas parasitando cães e gatos, é possível justificar a presença desses ectoparasitos nos quatis desse trabalho. Pois como os quatis do parque das Mangabeiras acabam tendo um contato direto com os cães das residências próximas e com os cães que adentram o parque, aumentam as chances de parasitos que acometem os animais domésticos parasitarem os quatis e vice-versa, destacando a importância do trânsito de patógenos entre espécies domésticas e silvestres.

Em relação aos hemoparasitos foi diagnosticado *Hepatozoon*, *Babesia sp.*, *S. neurona*, *T. evansi* e microfilárias. Nos esfregaços sanguíneos foram visualizadas microfilárias e foram obtidas seis PCRs positivas, sendo que no sequenciamento uma amostra apresentou certa similaridade com *M. ozzardi*. Essa pequena quantidade de amostra que apresentou identidade com amostras depositadas no *Genbank* deve-se a pequena quantidade de DNA obtidas após a purificação das amostras. A baixa concentração de DNA pode ser pelo fato de ser um parasito que passa apenas uma pequena parte de seu ciclo no sangue de seu hospedeiro. Alguns trabalhos tem demonstrado a presença de microfilárias em quatis. Na Argentina o quati já foi descrito como hospedeiro silvestre de *D. immitis* (Vezzani et al.,2006), na Guiana Francesa como hospedeiro de *Brugia guyanensis* (Orihel et al., 1964) e, no Brasil, já foram encontrados

em quatis *D. repens*, *D. incrassata*, *D. immitis*, *Acanthocheilonema reconditum*, *Mansonella* sp., *Brugia* sp. e duas espécies não determinadas (Vieira et al., 2008; Moraes, 2016). De acordo com Olifiers et al. (2015), ainda não é sabido quais são os impactos desses filarídeos em espécies silvestres. No presente estudo, não houve diferença significativa entre o número de fêmeas e machos infectados com microfilárias, contudo, foi observado um aumento significativo na taxa de fêmeas adultas parasitadas. Além disso, não foi possível classificar os parasitos encontrados nas lâminas. Estudo posterior será realizado para a identificação e classificação morfológica com o auxílio de chaves taxonômicas.

Além das microfilárias foram observados nos esfregaços sanguíneos parasitos do gênero *Hepatozoon*. Foram encontrados em lâminas de fêmeas e machos, contudo, não houve diferença significativa nas taxas de infecção entre os sexos e entre as faixas etárias do mesmo sexo. Pertencente ao filo Apicomplexa, *Hepatozoon* é um hemoparasito que já foi descrito em alguns grupos de vertebrados, animais domésticos e silvestres, e em grupos de invertebrados hematófagos (Smith, 1996). Esse gênero de hemoparasito vem sendo bastante descrito em cães domésticos, sendo no Brasil a principal espécie *H. canis* (O'Dwyer, 2011). No Brasil já foi encontrado *Hepatozoon* sp. em jaguatirica (*L. pardalis*), no Mato Grosso do Sul (Braz & Umeda, 2015), *Hepatozoon* sp. em cachorro-do-mato (*C. thous*) em Minas Gerais. Também já foi descrito *Hepatozoon* sp. em carrapatos coletados de cobras na Tailândia. Essa questão de parasitar répteis, como cobras, lagartos e outros pequenos vertebrados é importante, pois eles podem atuar como hospedeiro paratênico tendo em seus tecidos a forma infectante quiescente e, ao serem ingeridos por um hospedeiro intermediário, transmitem a eles o *Hepatozoon* sp (Viana et al., 2012; Pereira et al., 2014). A infecção por esse patógeno dá-se pela ingestão do hospedeiro definitivo, que é o carrapato, contendo oocistos maduros em sua hemocele (Almosny, 2002; Dantas-Torres, 2008). No Brasil, as espécies de carrapatos associadas à transmissão de *H. canis* são *R. sanguineus*, *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* (O'Dwyer et al., 2001, Forlano et al., 2005; Rubini et al., 2008). Alguns gêneros como *Amblyomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor* e *Haemaphysalis* servem de vetores para *Hepatozoon* spp. (Otranto e Wall, 2008). É importante ressaltar que a maior parte dos carrapatos encontrados nos quatis desse trabalho pertence ao gênero *Amblyomma*.

A primeira descrição em animais pertencentes à família Procyonidae foi na América do Norte em animais conhecidos popularmente como guaxinins (*Procyon lotor*). Foi então denominada a nova espécie *Hepatozoon procyonis* que infecta procionídeos (Richards, 1961). A partir daí, novos registros foram feitos desta nova espécie. Como os procionídeos apresentam

uma ampla distribuição nas Américas, desde os Estados Unidos até o Brasil, Schneider (1968) descreveu *H. procyonis* em *P. cancrivorus* no Panamá, nos Estados Unidos esse parasito foi encontrado em *P. lotor* (Clark et al., 1973, Schaffer et al., 1978 e Hanion et al., 1989) e no Brasil o primeiro relato de *H. procyonis* foi feito por Massard & Massard (1978) em *P. cancrivorus*.

Atualmente, outros trabalhos realizados no Brasil com procionídeos também demonstraram a presença deste hemoparasito. Rodrigues (2007) caracterizou os gametócitos de *H. procyonis* em lâminas de esfregaço sanguíneo coradas com Giemsa de mão-pelada (*P. cancrivorus*) do zoológico de Campo dos Goitacazes e de quatis capturados em uma floresta urbana. No presente trabalho, foi possível identificar os gametócitos de *H. procyonis* em lâminas de esfregaço sanguíneo coradas com panótico. Os gametócitos apresentaram as características da espécie descrita por Richards (1961), uma aparência alongada, com uma projeção citoplasmática alongada oposta a região nuclear. As médias calculadas do tamanho dos gametócitos e de suas organelas foram próximas aos padrões encontrados nos trabalhos de Richards (1961), Schneider (1968), Clark (1973) e Rodrigues (2006a). As lâminas não estavam muito boas para visualização, pois já haviam sido coradas desde as primeiras capturas dos quatis, em 2007, mas foi possível visualizar e caracterizar os gametócitos encontrados.

Neste trabalho os gametócitos foram visualizados principalmente em neutrófilos, como foi descrito por Rodrigues et al. (2007) em quatis e nos mão-pelada, raramente sendo observados em monócitos. Em contrapartida, Richards (1961) e Schneider (1968) descreveram somente em monócitos de guaxinins e mão-pelada, enquanto Clark (1973), em guaxinins, encontrou monócitos parasitados e raramente neutrófilos estavam infectados.

Nos testes moleculares, 33,0% (69/209) dos quatis foram positivos para *Hepatozoon sp.*, sendo que houve mais machos positivos que fêmeas. Essa maior positividade dos machos pode ser pelo fato de serem animais que, ao atingirem a idade adulta, tendem a se dispersar do grupo e viver só, percorrendo longos caminhos, aproximando dos bandos somente durante o período de acasalamento (Goomper, 1997). Um exemplo das andanças desses animais é de um quati que havia sido capturado no Parque das Mangabeiras e, posteriormente, foi capturado no Parque Estadual Serra da Piedade, Caeté/MG, apresentando uma distância entre essas localidades de 60Km em linha reta (Lima, 2013). Nas análises realizadas no *GenBank*, não foi encontrada nenhuma similaridade com a espécie *H. procyonis*, em todas as amostras

chegou-se ao resultado *Hepatozoon* sp.. Ao procurar amostras no *GenBank* observou-se que não há amostra depositada no *GenBank* para *H. procyonis*.

Foram detectados, também nos testes moleculares, animais positivos para a espécie *T. evansi*. Estes pertencem à família Trypanosomatidae. É considerado um importante hemoparasito por causar em equinos uma patologia conhecida popularmente como “mal das cadeiras”, além de causar doenças significativas em animais, como por exemplo, em cães e bovinos, que vivem em áreas de clima tropical, como a África e a América Latina (Lun & Desser, 1995; De La Rue, 2000; Colpo et al., 2005; Silva et al., 2007). Nas Américas este parasito pode ser mantido não só pelos equinos, mas também por outros animais domésticos, como bovinos, cães, e por animais silvestres, como capivaras, morcegos e quatis (Shaw, 1977; Nunes, 1993 e Herrera, 2004). A transmissão de *T. evansi* dá-se por transmissão mecânica, ou seja, o vetor, como *Stomoxys* sp. e tabanídeos ao se alimentar de um animal infectado ingere tripomastigotas juntamente com o sangue, essas formas permanecem na região bucal dos vetores, que ao se alimentarem novamente em outro animal, inoculando essas mesmas formas do parasito na corrente sanguínea do hospedeiro. Como o parque é uma área com grande diversidade de fauna, e como no Brasil são comuns os insetos vetores desses parasitos, provavelmente no parque há insetos que podem estar transmitindo esse parasito para os animais susceptíveis, principalmente *Tabanus* e *Stomoxys*. Além dos insetos, ainda há os morcegos (*Desmodus rotundus*) que também podem participar da transmissão do *T. evansi* e a transmissão iatrogênica que pode ocorrer ao utilizar materiais contaminados de um animal infectado em outro não infectado, por exemplo, agulhas.

Animais silvestres como capivaras, quatis, pequenos roedores, búfalos, marsupiais, morcegos e tatus já foram registrados infectados com *T. evansi* no Pantanal (Franke et al, 1994 e Herrera et al., 2004). Minas Gerais não é área endêmica para *T. evansi*, contudo em 2010 houve um registro de ocorrência de *T. evansi* em equinos de uma fazenda na cidade de Itabira. Os animais foram avaliados e houve dois cavalos positivos na PCR (Nunes et al.,2012). Esta é a primeira descrição de *T. evansi* em quatis de vida livre em Minas Gerais. Foram encontrados 15,8% (33/209) de animais positivos utilizando a semi-nested PCR para a detecção.

Uma questão relacionada ao comportamento dos quatis é o fato de serem espécies gregárias e por sempre haver brigas entre esses animais, podendo ser entre animais infectados e não infectados. Desta forma, a infecção oral torna-se importante devido as mordeduras, mantendo a infecção crônica dentro do grupo social (Herrera et al., 2004). Dos quatis

positivos para *T. evansi*, 6,6% (10/151) eram fêmeas e 13,2% (20/151) machos, representando um aumento significativo na taxa de infecção dos machos. Diferente do encontrado por Magalhães-Matos (2016) no qual a porcentagem de fêmeas positivas foi maior que os machos. As formas tripomastigotas de *T. evansi* não foram observadas nos esfregaços sanguíneos examinados. A positividade na PCR e a não detecção de tripomastigotas nos esfregaços sugere que esses animais podem ser reservatórios crônicos desse agente etiológico (Magalhães-Matos, 2016). No Brasil, o *T. evansi* afeta principalmente o equino, mas o quati pode atuar como reservatório, pois ele pode manter esse parasito no ambiente em que vive (Nunes e Oshiro, 1990).

De acordo com Silva (1997) e Herrera (2002), quando quatis possuem alta parasitemia de *T. evansi* apresentam anemia macrocítica normocrômica que com o tempo pode se transformar em anemia normocítica normocrômica. Porém, não foi possível afirmar qual era o perfil hematológico dos quatis deste experimento por não terem sido realizadas análises. Em 2012 foi realizado um trabalho que avaliou o perfil hematológico de alguns espécimes de quatis do Parque das Mangabeiras pertencentes ao presente estudo. Foram avaliados 31 animais, e, baseado na média dos valores obtidos pelos hemogramas, tanto os machos quanto as fêmeas mostraram valores dentro da normalidade, não apresentando algum indício de anemia (Lima, 2013). Em estudos realizados anteriormente, foi demonstrado que quatis infectados experimentalmente por *T. evansi* apresentaram sinais clínicos da doença causada por este parasito. Foram observados sinais como depressão, letargia, fraqueza e mucosas hipocoradas (Herrera et al., 2001). Quatis experimentalmente infectados e em fase crônica apresentaram anemia severa, alterações nos exames bioquímicos, miocardites e encefalites (Herrera et al., 2002). De acordo com o observado nas fichas preenchidas, 3,9% (6/151) dos animais avaliados apresentaram alterações ao exame clínico, como por exemplo, pelos opacos, mucosas hipocoradas, escoriações em algumas patas, algumas regiões com alopecia, linfonodos aumentados, algumas feridas ou cicatrizes em regiões determinadas do corpo e desidratação. Contudo, esses sinais clínicos não são patognomônicos e podem ser causados por outras patologias. Talvez não tenham sido encontrados quatis com sinais clínicos mais específicos de infecção por *T. evansi* pelo fato de os animais com infecção ativa poderem ficar mais letárgicos e apáticos e não andarem com o bando e nem chegarem em armadilhas em busca de alimentos. Pode ser por isso também que não foram visualizados tripomastigotas nas lâminas desses animais, por não terem sido pegos animais em fase aguda.

Após os sequenciamentos das amostras positivas na PCR, além da identificação dos parasitos *Hepatozoon* e *T. evansi*, foram identificados *B. bigemina* e *S. neurona*. *Babesia bigemina* pertence ao filo Apicomplexa e a ordem Piroplasmida. Esse parasito é considerado uma grande espécie de *Babesia* por apresentar uma forma larga e irregular e permanecer em um ângulo agudo no interior da hemácia parasitada (Mahoney, 1973). Os hospedeiros comumente acometidos são os bovinos e ela é transmitida por ninfas e adultos do carrapato *R. microplus*. É importante ressaltar que esta foi uma das espécies de carrapatos encontradas parasitando os quatis deste trabalho. Nos bovinos, *B. bigemina* pode levar o animal a um quadro de anemia progressiva, palidez de mucosas, hemoglobínúria, febre e inapetência (Souza et al., 2000), fatores que levam a uma grande perda para os produtores. Existem vários trabalhos que descreveram a presença de *Babesia* em animais silvestres. Na África do Sul foi realizado o diagnóstico molecular de *B. canis rossi* em cães silvestres (Matjila et al., 2008). Alguns estudos realizados no Brasil demonstraram a infecção também por uma espécie de *Babesia* próxima de *B. bigemina* em uma raposa do mato (*Lycalopex vetulus*) (Martins et al., 2006) e em graxaim-do-mato (*C. thous*) (Ruas, et al., 2003). A espécie encontrada nesse trabalho acometendo quatis aproximou-se com sequências de *B. bigemina* depositadas no *GenBank*. Contudo, não é comum encontrar esse parasito acometendo carnívoros. É importante ressaltar que o *primer* utilizado para a detecção de parasitos do filo Apicomplexa tem como alvo a região 18S do DNA, essa é uma região muito estável, grande e que se mantém praticamente em todos os organismos próximos. Assim, é importante realizar uma busca mais específica nesses animais que deram positivos para essa espécie de *Babesia*, utilizar *primers* mais específicos para poder confirmar o resultado. Por isso, neste presente estudo, os animais positivos para *B. bigemina* foram considerados positivos para *Babesia* sp..

Sarcocystis neurona é um protozoário que causa mieloencefalite protozoária equina (EPM), levando a sérias alterações neurológicas em cavalos nas Américas. É sabido que os gambás são os hospedeiros definitivos desse parasito, tanto na América do Norte quanto na do Sul e várias espécies animais podem ser hospedeiros intermediários. Contudo, é necessária a formação de cistos teciduais contendo bradizoítos para completar o ciclo de vida do parasito no hospedeiro intermediário. No cavalo observam-se apenas esquizontes e é a espécie animal até agora conhecida que apresenta sinais clínicos pela infecção. Nas outras espécies que realmente atuam como hospedeiros intermediários são observados cistos teciduais maduros. Os gambás excretam oocistos, com dois esporocistos em seu interior, com quatro esporozoítos em cada um, ao alimentarem-se de hospedeiros intermediários como os felinos, guaxinins,

tatus entre outras espécies (Tanhauser et al., 2001, Dubey et al., 2001a, 2001b, 2001c; Dubey et al., 2015).

Foram encontrados apenas quatro quatis positivos para *S. neurona* neste trabalho. Sabe-se que no parque das Mangabeiras são encontrados gambás que, como demonstrado anteriormente, são os hospedeiros definitivos deste parasito. Como o parque possui uma grande diversidade de vertebrados, isso mostra que o ciclo deste parasito pode estar presente no parque acometendo não só os quatis como outros animais. É importante ressaltar o que já foi discutido com relação ao resultado de *B. bigemina*, os primers utilizados tem como alvo uma região grande e bastante estável em organismos próximos, isso faz com que sejam necessários estudos mais profundos para a presença de *S. neurona* infectando os quatis do parque das Mangabeiras. Além disso, utilizando *primers* mais específicos pode até obter mais resultados obtidos do que deste trabalho.

Tanto esse resultado para *S. neurona*, quanto para os outros resultados obtidos, demonstram a necessidade de mais estudos com os animais que estão presentes no parque e estudos no ambiente em que esses animais vivem.

Em relação aos resultados negativos, nenhum patógeno com potencial zoonótico foi detectado nos quatis, como nas PCRs em que foram utilizados *primers* para *Ehrlichia* granulocítica, que detecta *A. phagocytophilum* e nos *primers* para *T. cruzi*. São importantes hemoparasitos, pois podem acometer também os animais domésticos e o homem.

Mas é importante que prossigam os estudos no parque das Mangabeiras, tanto com os animais quanto com os insetos e artrópodes vetores presentes no parque para que haja um melhor monitoramento dos animais silvestres e dos patógenos que podem estar parasitando esses animais.

7. CONCLUSÃO

A partir do trabalho realizado foi descrito a presença de ecto e hemoparasitos acometendo os quatis do Parque das Mangabeiras. Das espécies de ectoparasitos encontradas foram descritos os carrapatos (*Amblyomma* sp., *A. ovale*, *A. sculptum* e *Rhipicephalus microplus*), o piolho (*Neotrichodectes pallidus*) e as pulgas (*Rhpallopsyllus lutzi lutzi* e *Ctenocephalides felis felis*). Foi encontrada a presença dos hemoparasitos *Hepatozoon* sp., *Babesia* sp., *S. neurona*, *T. evansi* e microfilárias.

É importante ressaltar a presença de carrapatos vetores de hemoparasitos que foram encontrados infectando os quatis, como, por exemplo, o *A. ovale* e o *A. sculptum*, que fazem parte do ciclo de transmissão do *Hepatozoon*. As espécies de carrapatos encontradas também podem participar do ciclo da *Babesia*.

Belo Horizonte não é área endêmica para *T. evansi*, parasito de grande importância para animais domésticos, principalmente, o equino. Esta é a primeira descrição deste parasito em quatis de Minas Gerais.

Os resultados encontrados para microfilárias, para espécie *S. neurona* e o gênero *Babesia*, precisam ser estudados mais a fundo para confirmar suas classificações.

Apesar de encontrados todos esses ecto e hemoparasitos parasitando os quatis, a maioria dos animais foi encontrada apresentando boas condições corporais ao exame clínico.

Deve-se ressaltar que os parasitos encontrados podem acometer os animais domésticos. Assim, deve-se continuar avaliando outros animais que habitam o parque, além dos animais domésticos e os moradores que vivem no entorno do parque e estudar os insetos e artrópodes que são vetores de patógenos que também estão presentes na região.

REFERÊNCIAS

- ACCETTA, E.M.T., 2008. *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) trombocitopênicos da região dos lagos do Rio de Janeiro. 61f. (Mestrado em Patologia e Ciências Clínicas) – Instituto de Veterinária, Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- ACHA PN, SZYFRES B. 2003 **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**, 3. Ed. Organización Panamericana de La Salud.
- ANDRÉ, M., ADANIA, C.H., FRICIELLO, R.H., ALLEGRETTI, S. MACHADO, R. 2011. Molecular and serological detection of *Babesia* spp. in Neotropical and exotic carnivores in Brazilian Zoos. **J Zoo Wildl Med.** 42(1):139–143.
- ALENCAR, N.X., KOHAYAGAWA, A., SANTAREM, V.A. 1997. Hepatozoon canis infection of wild carnivores in Brazil. Short communication. **Vet. Parasitol.** 70:279-282.
- ALMEIDA, R. F. C. 2013 **Epidemiologia de Rickettsias do Grupo da Febre Maculosa no Estado de Mato Grosso do Sul**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.
- ALMOSNY, N.R.P. 2002 **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária Ltda, p.80-87.
- ALVES, F.M. et al. 2011 Modulation Variables of Trypanosoma cruzi and Trypanosoma evansi Transmission in Free-ranging Coati (*Nasua nasua*) from the Brazilian Pantanal Region. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases.** 11(7):835-841.
- ALVES-COSTA, C. P. 1998 **Frugivoria e dispersão de sementes por quatis (Procyonidae: Nasua nasua) no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG**. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.
- ALVES-COSTA, C. P.; FONSECA, G.A.B.; CHRISTÓFARO, C. 2004 Variation in the diet of the brown-nosed coati (*Nasua nasua*) in southeastern Brazil. **Journal of Mammalogy,** 5(3):478-482.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. 1961 Notas de Ixodologia VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 59:115-130.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. 1961. Notas de Ixodologia. IX. O complexo ovale do gênero Amblyomma. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** 59(2):131-148.
- BANETH, G.; SAMISH, M.; ALEKSEEV, E.; AROCH, I., SHKAP, V. 2001. Transmission of hepatozoon canis to dogs by naturally-fed or percutaneously-injected Rhipicephalus sanguineus ticks. **J. Parasitol.** 87(3):606-11.
- BANETH, G.; SHKAP, V. 2003. Monozoic Cysts of *Hepatozoon canis*. **J. Parasitol.** 89(2):379-381.

BANETH, G. SAMISH, M., SHKAP, V. 2007. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **J. Parasitol.** 93(2):283-99.

BASANO, S.A., CAMARGO, J.D.E.S., VERA, L.J., VELASQUES, S.N., OGAWA, G.M., MEDEIROS, J.F., FONTES, G., CAMARGO, L.M. 2011. Investigation of the occurrence of *Mansonella ozzardi* in the State of Rondônia, Western Amazonia, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Brasília.** 44(5):600-603.

BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M. 1997 Geographical distribution by biomes of some Marsupial Siphonaptera from the state of Paraná, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 92:485-486.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. 2006. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.** São Paulo: Vox; ICTTD-3; Butantan, 223p.

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: clínica de Pequenos Animais.** 3 ed. São Paulo: Roca, 2008. 2072p.

BIRKENHEUER, A.J., MARR, H.S., HLADIO, N. ACTON, A.E. 2008. Molecular evidence of prevalent dual piroplasma infections in North American raccoons (*Procyon lotor*). **Parasitology.** 135(1):33-7.

CÂMARA, E. M. V.C.; LESSA, L. G. 1994 Invetário dos Mamíferos do Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais. **Bios.** 2:31-35.

CANÇADO, P. H. D. 2008 **Cararrapatos de Animais Silvestres e Domésticos no Pantanal sul Mato- grossense (Sub-região da Nhecolândia): Espécies, Hospedeiros e Infestações em Áreas com Manejos Diferentes.** Tese de Doutorado. Escola de Veterinária – UFRRJ, Seropédica-RJ, 65p.

CARDOSO, L., GILAD, M., CORTES, H.C.E., NACHUM-BIALA, Y., LOPES, A.P., VILA-VIÇOSA, M.J., SIMÕES, M., RODRIGUES, P.A., BANETH, G. 2015. First report of *Anaplasma platys* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) and molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* in foxes from Portugal. **Par. Vectors.** 8:144.

CLARK, K.A., ROBINSON, R.M., WEISHUHN, L.L., GALVIN, T.J., HORVATH, K. 1973 *Hepatozoon procyonis* infections in Texas. **J. Wildl Dis.** 9(2):182-193.

CLARK, K., SAVICK, K., BUTLER, J. 2012. *Babesia microti* in Rodents and Raccoons from Northeast Florida. **J. Parasitol.** 98(6):1117-1121.

CLARK, N.J., WELLS, K., DIMITROV, D. 2016. Co-infections and environmental conditions drive the distributions of blood parasites in wild birds. 85(6):1461-1470.

COLPO, C.B., MONTEIRO, S.G., STAINKI, D.R., COLPO, E.T.B., HENRIQUES, G.B. 2005. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães. **Ciênc. Rural.** 35(3):717-719.

- COURA J. C., JUNQUEIRA, A.C.V., GIORDANO, C.M., FUNATSU, I.R.K. 1994 Chagas disease in the Brazilian Amazon - a short review. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, 36:363-368.
- CULLEN, L.; BODMER, E.R.; VALLADARES-PADUA, C. 2001 **Ecological consequences of hunting in Atlantic forest patches.** ed Oryx (35):São Paulo, Brazil., p.137-144.
- CURI, N.H.A.; MIRANDA, I.; TALAMONI, S.A. 2006. Serologic evidence of Leishmania infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian National Park. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 101(1):99-101.
- DANTAS-TORRES, F. 2008 Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors.** 1(25): 1-17.
- DANTAS-TORRES, F., FERREIRA, D.R., DE MELO, L.M., LIMA, P.A., SIQUEIRA, D.B., RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L.C., DE MELO, A.V., RAMOS, J.A. 2010 Ticks on captive and free-living wild animals in northeastern Brazil. **Exp. Appl. Acarol.** 50:181-189.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. 2000 Emerging Infectious Diseases of Wildlife – Threats to Biodiversity and Human Health. **Science's Compass.** 287:443-449.
- DAVIS, D.S., ROBINSON, R.M., CRAIG, T.M. 1978. Naturally occurring hepatozoonosis in a coyote. **J. Wildl. Dis.** 14(2):244-6.
- DECKER D. M. 1991 Systematics of the coatis, genus *Nasua* (Mammalia, Procyonidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington.** 104:370-386.
- DE LA RUE, M.L.; SILVA, J.C.R., DE CARLI, G.A. 2000. Leukocytes and reticulocytes counts in acute infection of dogs with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888. **Rev. Latinoamer de Microbiol.** 42:163-166.
- DUMLER, J.S., BARBET, A.F., BEKKER, C.P., DASCH, G.A., PALMER, G.H., RAY, S.C., RIKIHISA, Y., RURANGIRWA, F.R. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **Int. J. Evol. Microbiol.** 51(6):2145-65.
- ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. 2004. **Tratado de Medicina Interna Veterinária.** 5 ed: São Paulo. 1038p.
- FERREIRA, R.F., CERQUEIRA ADE, M., PEREIRA, A.M., VELHO, P.B., AZEVEDO, R.R., RODRIGUES, I.L., ALMOSNY, N.R. 2008. Cross-reaction evaluation of PCR-Anaplasma platys positive dogs tested to Anaplasma phagocytophilum antibodies by commercial ELISA. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 17(1):5-8.
- FIGUEIREDO, L.T., BADRA, S.J., PEREIRA, L.E., SZABÓ, M.P. 1999 Report on ticks collected in Southeast and Mid-west regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 32:613-619.
- FIGUEIREDO, M.A.P., SANTOS, A.C.G., GUERRA, R.M.S.N.C. 2010 Ectoparasitos de animais silvestres no Maranhão. **Pesq. Vet. Bras.** 30(11):988-990.

FORLANO, M.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; FERNANDES, K.R.; EWING, S.A.; MASSARD, C.L. 2005 Diagnosis of *Hepatozoon* spp. In *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. **Vet Parasitol.** 134(1-2):1-7.

FOWLER e MILLER. 2008 **Zoo and Wild life medicine.** v.6, Ed. Elsevier Health Sciences, p.68-80.

FRANKE, C.R., GREINER, M., MEHLITZ, D. 1994 Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Poconé (Mato Grosso, Brazil). **Acta Trop.** 58:159-169.

FREITAS, M.G. 1978. **Entomologia e Acarologia Médica e Veterinária.** 4ª:Rabelo e Brasil. Rio de Janeiro. 252p.

GOMPPER, M. E., 1997 Population ecology of the white-nosed coati (*Nusua narica*) on Barro Colorado Island, Panama. **J. Zool., Lond.** 241:441-455.

GOMPPER, M. E. e DECKER, D. M. 1998 *Nasua nasua*, **Mammalian species**, 580:1-9.

GRUNENWALD, C.M., CARSTENSEN, M., HILDEBRAND, E., ELAM, J., LAAKSONEN, S., OKSANEN, A., GERHOLD, R.W. 2016. Epidemiology of the lymphatic-dwelling filarioid nematode *Rumenfilaria andersoni* in free-ranging moose (*Alces alces*) and other cervids of North America. 9(1):450.

GUEDES, P.M.M., VELOSO, V.M., CALIARI, M.V., CARNEIRO, C.M., SOUZA, S.M., LANA, M., CHIARI, E., BAHIA, M.T., GALVÃO, L.M.C. 2007. *Trypanosoma cruzi* high infectivity in vitro is related to cardiac lesions during long-term infection in beagle dogs. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 102(2):141-147.

GUGLIELMONE, A.A., NAVA A.A. 2011 Rodents of the subfamily Sigmodontinae (Myomorpha: Cricetidae) as hosts for South American hard ticks (Acari: Ixodidae) with hypotheses on life history. **Zootaxa.** 2904:45-65.

GUIMARÃES F.R.; SADDI, T.M.; CARDOSO, J.R.; ARAÚJO, L.B.M.; ARAÚJO, E.G. 2012 Estudo de Patógenos de Potencial Zoonótico em Procionídeos. **Revista de Patologia Tropical.** 41(3):253-269.

HANLON, C.L., HAYES, D.E., HAMIR, A.N., SNYDER, D.E., JENKINS, S., HABLE, C.P., RUPPRECHT, C.E. 1989 Proposed field evaluation of a rabies recombinant vaccine for raccoons (*Procyon lotor*): site selection, target species characteristics, and placebo battling trials. **J Wildl Dis.** 25(4):555-567.

HARRUS, S., ALLEMAN, A.R., MAHAN, S.M., WANER, T. 2002. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. **Vet Microb.** 86(4):361-368.

HEMÉTRIO, N. S. 2007 **Levantamento populacional de quatis (Procyonidae: *Nasua nasua*) no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG.** Monografia, 30p. Universidade Federal de Minas Gerais.

HEMÉTRIO, N. S. 2011 **Levantamento Populacional e Manejo de Quatis (Procyonidae: *Nasua nasua*) no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte, MG.** Dissertação de Mestrado, 106p. Univerddade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

HERRERA, H. M. AQUINO, L.P.C.T.; MENEZES, R.F.; MARQUES, L.C.; MORAES, M.A.V., WERTHER, K., MACHADO, R.Z. 2001 *Trypanosoma evansi* experimental infection in south american coati (*Nasua nasua*): clinical, parasitological and humoral immune response. **Veterinary Parasitology**.103:209-216.

HERRERA H.M., ALESSI, A.C., MARQUES, L.C., SANTANA, A.E., AQUINO, L.P., MENEZES, R.F., MORAES, M.A., MACHADO, R.Z. 2002. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in South American coati (*Nasua nasua*): hematological, biochemical and histopathological changes. **Acta Trop.** 81:203–10.

HERRERA, H.M., DÁVILA, A.M.R., NOREK, A.; ABREU, U.G.; SOUZA, S.S., D'ANDREA, P.S., JANSEN, A.M. 2004 Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, **Brazil. Vet. Parasitol.** 125(3-4):263-275.

JOJIMA, F.S. et al. 2008. Ocorrência e caracterização molecular de espécies de *Babesia* em cães de uma população hospitalar da região de Londrina, PR. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo. 17(1):277-283.

JONES, E. K., PATEL, N.G., LEVY, M.A., STOREYGARD, A., BALK, D., GITTLEMAN, J.L., DASZAK, P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**. Vol. 451 Fev. 2008.doi:10.1038/nature06536.

JOSHI, P.P., SHEGOKAR, V.R., POWAR, R.M., HELDER, S., KATTI, R., SALKAR, H.R., DANI, V.S., BHARGAVA, A., JANNIN, J., TRUC, P. 2005. Human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in India: the first case report. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 73(3):491-5.

KUNZ, T.H.; WEMMER, K.; HAYSEN, V. Sex, age and reproductive condition of mammals. In: Wilson, D.E.; Cole, F.R.; Nichols, J.D.; Rudran, R.; Foster, M.S. 1996. **Measuring and monitoring biological diversity – Standard methods for mammals**. Smithsonian Institution Press, Washington e Londres.

LABRUNA, M.B. 2000. Aspectos da biologia e epidemiologia dos carrapatos de equinos no Estado de São Paulo. 76 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LABRUNA, M.B., KERBER, C.E., FERREIRA, F., FACCINI, J.L., DE WAAL, D.T., GENNARI, S.M. 2001. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the State of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.** 97(1):1-14.

LABRUNA, M.B. JORGE, R.S.P., SANA, D.A., JÁCOMO, A.T.A., KASHIVAKURA, C.K., FURTADO, M.M., FERRO, C., PEREZ, S.A., SILVEIRA, L., SANTOS, T.S., MARQUES, S.R., MORATO, R.G., NAVA, A., ADANIA, C.H., TEIXEIRA, R.H.F. 2005. Ticks (Acari:Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**. 36:149-163.

LIMA, P.C.S. 2013 **Perfil hematológico de quatis (*Nasua nasua*) do Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte/MG**. Monografia de Pós-graduação – Instituto Qualittas, Universidade Castelo Branco..

LINARDI, P.M. 1985. Dados complementares sobre hospedeiros de sifonápteros Ropalopsilinos. **Rev. Bras. Biol.** 45:73-78.

LINARDI, P.M.; GUIMARÃES, L.R. 2000. **Sifonápteros do Brasil**. Ed. Museu de Zoologia USP/FAPESP. 291p.

LINARDI, P.M. 2011. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotrop.** 11(1):607-617.

LUN, Z.R.; DESSER, S.S. 1995. Is the broad range of hosts and geographical distribution of *Trypanosoma evansi* attributable to the loss of maxicircle kinetoplast DNA? **Parasitol. Today.** 11(4):131-133.

MACHADO, R.Z., TEIXEIRA, M.M.G., RODRIGUES, A.C., ANDRÉ, M.R., GONÇALVES, L.R., SILVA, J.B., PEREIRA, C..L. 2016. Molecular diagnosis and genetic diversity of tick-borne Anaplasmataceae agents infecting the African buffalo *Syncerus caffer* from Marromeu Reserve in Mozambique. 9:454.

MAGALHÃES-MATOS, P.C.; CUNHA-SANTOS, R.; SOUSA, P.G.S.; SAMPAIO-JÚNIOR, F.D.; BARROS, F.N.L.; MOURÃO, F.R.P.; OLIVEIRA, W.B.L.; GABRIEL, A.M.; MONTEIRO, S.G.; GÓES-CAVALCANTE, G.; SCOFIELD, A. 2016. Molecular detection of *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in procyonids (Carnivora: Procyonidae) in Eastern Amazon, Brazil. **Ciênc. Rural.** 46(4):663-668.

MAHONEY, D.F. 1973. **Babesiosis of cattle**. Australian Meat Research Committee. 23, p.1-21.

MAIA, N. L., 2012. **Identificação e caracterização de bioagentes da Ordem Rickettsiales veiculados por carrapatos e pulgas em animais recebidos no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) da Universidade Federal de Viçosa**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa.

MARSH, L. K. 2003. The nature of fragmentation. In: MARSH, L. K. (Ed) Primates in Fragments. **Ecology and Conservation**. Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, p.1-10.

MARTINS, T.F.; CUROTTO, S.M.R.; SILVA, F.M.P.; TEIXEIRA, C.R., TAKAHIRA, R.K.; LOPES, R.S. 2006. *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**, n.15.

MASCARELLI, P. E., ELMORE, S.A., JENKINS, E.J., ALISAUSKAS, R.T., WALSH, M., MAGGI, R.G. 2015. Vector-borne pathogens in arctic foxes, *Vulpes lagopus*, from Canada. **Res. Vet. Sci.**, 99:58-59.

MASSARD, C.A., MASSARD, C.L. 1978. *Hepatozoon procyonis* Richards, 1961 (Protozoa: Haemogregarinidae) em *Procyon cancrivorus* (Goldman) no estado do Rio de Janeiro. **Anais Cong. Soc. Bras. Med. Trop. e III Cong. Soc. Bras. Parasitol.** João Pessoa – Paraíba. p.401.

MASSARD, C.L.; FONSCCECA, A.H. 2004. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária.** 135(1):15-23.

MATJILA, P.T.; LEISEWITZ, A.L.; JONGEJAN, F.; BERTSCHINGER, H.J.; PENZHORN, B.L. 2008. Molecular detection of *Babesia rossi* and *Hepatozoon* sp. in African wild dogs (*Lycaon pictus*) in South Africa. **Vet. Parasitol.** 157(1-2):123-127.

- MEHRKENS, L.R., SHENDER, L.A., YABSLEY, M.J., SHOCK, B.C., CHINCHILLA, F.A., SUAREZ, J., GILARDI, V.K. 2013. White-Nosed Coatis (*Nasua narica*) Are a Potential Reservoir of *Trypanosoma cruzi* and Other Potentially Zoonotic Pathogens in Monteverde, Costa Rica. **J. Wildlife Disease**. 49(4):1014-1018.
- METZGER, B., DOS SANTOS PADUAN, K., RUBINI, A.S., DE OLIVEIRA, T.G., PEREIRA, C., O'DWYER, L.H. 2008. The first report of *Hepatozoon* sp. (Apicomplexa: Hepatozoidae) in neotropical felids from Brazil. **Vet. Parasitol.**, 152:28-33.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICK, L.J. 1995. **Medicina de Laboratório Veterinário**. São Paulo: Roca. 308p.
- MONTENEGRO, M.M.V. 2011 **Ecologia de *Cebus flavius* (Schreber, 1774) em remanescentes de Mata Atlântica no estado da Paraíba**. Tese, 131p. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba.
- MORAES, M.F.D. 2016. **Estudos parasitológicos em cães domésticos errantes e carnívoros selvagens generalistas no Parque Nacional do Iguaçu, Foz do Iguaçu**. 107p. Dissertação de Mestrado. UNESP/Campus Jaboticabal.
- MUNDIM, A.V., MORAIS, I.A., TAVARES, M., CURY, M.C., MUNDIM, M.J.S. 2008. Clinical and hematological signs associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon* sp. and with other hematozoa. A retrospective study in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 153(1-2):3-8.
- NOIREAU, F., DIOSQUE, P., JANSEN, A.M. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Vet. Researc.** 40:26.
- NUNES, V.L.B., OSHIRO, E.T., DORVAL, M.F.C., GARCIA, L.A.M., DA SILVA, A.A.P., BOGLIOLO, A.R. 1993. Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma (trypanozoon) evansi* no Pantanal sul-matogrossense. Estudos de reservatórios. **Braz. J. Vet. Parasitol.** 2:41-44.
- NUNES, J.T.S.N.; SILVA, A.S.; DORNELES, S.F.; TONIN, A.A.; LAZZAROTTO, C.; MILETTI, L.C.; MONTEIRO, S.G. 2012. Occurrence of *Trypanosoma evansi* in Horses in the State of Minas Gerais, Brazil. **Journ. of equine vet. science.** 32(4):205-207.
- OIE – World Organization For Animal Health – Guidelines for Wildlife Disease Surveillance: An Overview. Paris. França. 2015. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Internationa_Standard_Setting/docs/pdf/WGWildlife/OIE_Guidance_Wildlife_Surveillance_Feb2015.pdf>. Acessado em: 22 de novembro de 2016.
- O'DWYER, L.H.; MASSARD, C.L.; SOUZA, J.C.P. 2001. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. 94:143-150.
- O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L. 2002. Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonose. In: ALMOSNY, N. R. P. Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. Rio de Janeiro: L.F. Livros de veterinária, cap. 2. p.57-67.
- O'DWYER, L.H. 2011. Brazilian canine Hepatozoonosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 20(3):181-193.

- OLIFIERS, N., BIANCHI, R.C., MOURÃO, G.M., GOMPPER, M.E. 2009. Construction of arboreal nests by brown-nosed coatis, *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) in the Brazilian Pantanal. **Zoologia**. 26(3):571-574.
- OLIFIERS, N., JANSEN, A.M., HERRERA, H.M., BIANCHI, R.C., D'ANDREA, P.S., MOURÃO, G.M., GOMPPER, M.E. 2015. Co-infection and Wild Animal Health: Effects of Trypanosomatids and Gastrointestinal Parasites on Coatis of the Brazilian Pantanal. **PlosOne**, 10(12):1-19.
- ONÓFRIO, V. C. **Revisão do gênero *Amblyomma* Koch, 1884 (Acari: Ixodidae) no Brasil**. Tese de Doutorado. 2007. Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária – UFRRJ, Seropédica/RJ.
- ORIHTEL TC. 1964. *Brugia guyanensis* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from the coatimundi (*Nasua nasua vittata*) in British Guiana. **J Parasitol**. 50:115.
- PATZ J. A., GRACZYK, T.K., GELLER, N., VITTOR, A.Y. 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases, **Int. J. Parasitol**. 30(12-13):1395-1405.
- PEDERSOLI, J. L. 1997. **Resultados e relações das plantas no Parque das Mangabeiras**. Relatório final. Convênio PMBH/FUNDEP.
- PEREIRA, M. C.; SZABÓ, M.P.; BECHARA, G.H.; MATUSHIMA, E.R.; DUARTE, J.M.; RECHAV, Y.; FIELDEN, L.; KEIRANS, J.E. 2000. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal Region of Brazil. **J. Med Entomol**, 37(6):979-983.
- PEREIRA, G.R., SOARES, P., GOMES, M.Q., VIANA, L.A., MANSO, P.P., MACHADO, M.P., PAIVA, F., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. 2014. Are fish paratenic natural hosts of the caiman haemoparasite *Hepatozoon caimani*? **Parasitol. Res.** 113(1):39-45.
- REY, L. 2002. **Parasitologia**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 161-178.
- RICHARDS, C.S. 1961. *Hepatozoon procyonis*, n. sp., from the raccoon. **J. Protozool.** 8(4):360-362.
- ROBINSON G. J. e REDFORD K. H., 1986. Body size, dite, and Population Density of Neotropical Forest Mammals. **The American Naturalist**. 128(5).
- ROCHA, F. L., ROQUE, A.L.R., LIMA, J.S., CHEIDA, C.C., LEMOS, F.G., AZEVEDO, F.C., ARRAIS, R.C., BILAC, D., HERRERA, H.M., MOURÃO, G., JANSEN, A.M. 2013. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores (Mammalia: Carnivora): At the Top of the *T. Cruzi* Transmission Chain. **Plos One**. 8(7):1-12.
- RODRIGUES, A.F.S.F., DAEMON, E. e MASSARD, C.L. 2006. Ectoparasites of *Nasua nasua* (Carnivora, Procyonidae) from an urban forest in Southeastern. **Brazil. Arq. Bras Med. Vet. Zootec.** 58:969-971.
- RODRIGUES, A.F.S.F., DAEMON, E. e MASSARD, C.L., 2007. Morphological and morphometrical characterization of gametocytes of *Hepatozoon procyonis* Richards, 1961 (Protista, Apicomplexa) from a Brazilian wild procionid *Nasua nasua* and *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae). **Parasitol Res.** 100:347-350.

- RODRIGUES, D.F., DAEMIN, E., RODRIGUES, A.F.S.F. 2008. Caracterização da população de ectoparasitos em cães de núcleos de expansão urbana de juiz de fora, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 17(4):185-188.
- RUAS, J.L.; FARIAS, N.A.R., SOARES, M.P.; BRUM, J.G.W. 2003. *Babesia* sp em Graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) no sul do Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, 70(1):113-114.
- RUBINI, A.S., DOS SANTOS PADUAN, K., VON AH LOPES, V. O'DWYER, L.H. 2008. Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in dogs from rural area of Sao Paula state, Brazil. **Parasitology Research**. 102(5):895-899.
- RUBINI, AS, PADUAN, K.S., MARTINS, T.F., LABRUNA, M.B.; O'DWYER, L.H. 2009. Acquisition and transmission of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) by the tick *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.** 164(2-4):324-7.
- SALVADOR, C.H., CARVALHO-PINTO, C., CARVALHO, R., GRAIPEL, M.E., SIMÕES-LOPES, P.C. 2007. Interação parasito-hospedeiro entre ectoparasitos (Ixodida & Siphonaptera) e gambás *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826 (Mammalia: Didelphimorphia), no continente e em ilhas do litoral de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Biotemas**. 20(4):81-90.
- SARAIVA, D. G., FOURNIER, G.F., MARTINS, T.F., LELA, K.P., VIEIRA, F.N., CÂMARA, E.M., COSTA, C.G., ONOFRIO, V.C., BARROS-BATTESTI, D.M., GUGLIELMONE, A.A., LABRUNA, M.B. 2012. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with small terrestrial mammals in the state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Exp. Appl. Acarol.** 58(2):159-166.
- SCHAFFER, G.D., HANSON, W.L., DAVIDSON, W.R., NETTLES, V.F. 1978. Hemotropic parasites of translocated raccoons in the southeast. **J. Am Vet Med Assoc.** 173(9):1148-1151.
- SCHOFIELD CJ, JANNIN J, SALVATELLA R. 2006. The future of Chagas disease control. **Trends Parasitol.** 22(12):583-8.
- SCOFIELD, A., RIERA, M.D.F., ELISEI, C., MASSARD, C.L., LINARDI, P.M. 2005. Ocorrência de *Rhopalopsyllus lutzi lutzi* (Baker) (Siphonaptera, Rhopalopsyllidae) em *Canis familiaris* (Linnaeus) de zona rural do município de Piraí, Rio de Janeiro, Brasil. **Ver. Bras. Entomol.** 49(1):159-161.
- SHAW, J.J. 1977. The epizootiology of American Surra with special reference to the Lower Amazon Region. **Protozoology**. 3:119-128.
- SILVA, R.A.M.S.; VICTÓRIO, A.M.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R.; TRAJANO, V. 1997. Effects of *Trypanosoma evansi* on the blood chemistry and hematology of coatis (*Nasua nasua*) naturally infected in the Pantanal, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 92(1):110.
- SILVA, R.A.M.S., SEIDL, A., RAMIREZ, L., DÁVILA, A.M.R. 2002. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*. *Biologia, Diagnóstico e Controle*. 21ed: Corumbá, Mato Grosso do Sul. 141p.
- SILVA, A.S., OLIVEIRA, C.B., ZANETTE, R.A., SOARES, C.D.M., CORADINI, G., POLENZ, C.H., SANTURIO, J.M., MONTEIRO, S.G. 2007. Ocorrência de *Trypanosoma evansi* em bovinos de uma propriedade leiteira no município de Videira - SC, Brasil. **Acta Sci. Vet.** 35(3):373-376.

SILVA, R.D.C.; LANGONI, H. 2009. Dirofilariose: Zoonose emergente negligenciada. **Ciênc. Rural.** 39(5):1615-1624.

SILVEIRA L. 1999. **Ecologia e conservação dos mamíferos carnívoros do Parque Nacional das Emas, Goiás.** Dissertação de mestrado, 125p, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

SILVEIRA, P., BELO, N.O., RODELLO, D., PINHEIRO, R.T., BRAGA, E.M. 2010. Microfilariae infection in wild birds from the Brazilian cerrado. **J. Wildl. Dis.** 46(4):1305-9.

SILVEIRA, J.A.G.; RABELO, E.M.L.; RIBEIRO, M.F.B. 2011. Detection of *Theileria* and *Babesia* in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the State of Minas Gerais, Brazil. **Vet. Parasitol.** 177:61-66.

SIMPSON, V. R. 2000. Veterinary advances in the investigations of wildlife diseases in Britain. **Res. Vet. Sci.** 69:11-16.

SLOSS, M.W., ZAJAC, A.M., KEMP, R.L. 1999. **Parasitologia Clínica Veterinária.** . 6ªEd: Manole. p.134-135.

SMITH, J.D. 1994. Introduction to Animam parasitology. Cambridge, University Press, 549p.

SMITH, T.G. 1996. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **J. Parasitol** 82(4):565-585.

SMITH, K. F.; ACEVEDO-WHITEHOUSE, K.; PEDERSEN, A.B. 2009. The role of infectious diseases in biological conservation. **Animal Conservation.** 12:1-12.

SOUZA, J.C.P; SOARES, C. O.; SCOFIELD, A.; MADRUGA, C.R.; CUNHA, N.C.; MASSARD, C.L; FONSECA, A.H. 2000. Soroprevalência de *Babesia bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. **Pesq. Vet. Bras.** 20(1):26-30.

SPONCHIADO, J., MELO, G.L., MARTINS, T.F., KRAWCZAK F.S., LABRUNA, M.B., CÁCERES, N. C. 2015 Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, Argasidae) of small mammals in Cerrado fragments, western Brazil. **Exp. Appl. Acarol.** 65:389-401.


SUMRANDEE, C., BAIMAI, V., TRINACHARTVANIT, W., AHANTARIG, A. 2015. *Hepatozoon* and *Theileria* species detected in ticks collected from mammals and snakes in Thailand. **Ticks and Tick-borne Diseases.** 6(3):309-315.

SZABÓ, M. P. J., NIERI-BASTOS, F.A., SPOLIDORIO, M.G., MARTINS, T.F., BARBIERI, A.M., LABRUNA, M.B. 2013. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology.** 140:719-728.

TOLNAI, Z.; SRÉTER-LANCZ, Z.; SRÉTER, T. 2015. Spacial distribution of *Anaplasma phagocytophilum* and *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. **Ticks Tick Borne Dis.** 6:645-648.

- TORINA, A., BLANDA, V., ANTOCI, F., SCIMECA, S., D'AGOSTINO, R., SCARIANO, E., PIAZZA, A., GALLUZZO, P., GIUDICE, E., CARACAPPA, S. 2013. A Molecular survey of *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Ehrlichia canis* and *Babesia microti* in foxes and fleas from Sicily. **Transbound Emerg. Dis.** 60(2):125-30.
- VANDEGRIFT K.J.; RAFFEL, T. R.; HUDSON, P.J. 2008. Parasites prevent summer breeding in white-footed mice, *Peromyscus leucopus*. **Ecology.** 89(8):2251–2258.
- VEZZANI D, EIRAS DF, WISNIVESKY C. 2006. Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. **Vet Parasitol.** 136:259–73.
- VIANA, L.A., SOARES, P., SILVA, J.E., PAIVA, F., COUTINHO, M.E. 2012. Anurans as paratenic hosts in the transmission of *Hepatozoon caimani* to caimans *Caiman yacare* and *Caiman latirostris*. **Parasitol. Res.** 110(2):883-6.
- VIEIRA FM, LUQUE JL, MUNIZ-PEREIRA LC. 2008. Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. **Zootaxa.** 23:1–23.
- WOLF, R.W., ARAGONA, M., MUÑOZ-LEAL, S., PINTO, L.B., MELO, A.L.T., BRAGA, I.A., COSTA, J.S., MARTINS, T.F., MARCILI, A., PACHECO, R.C., LABRUNA, M.B., AGUIAR, A.M. 2016. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks Tick Borne Dis.** 7(3):449-456.
- WRIGHT, S. J., GOMPPER, M.E., DeLEON, B. 1994. **Are large predators keystone species in Neotropical forests. The evidence from Barro Colorado Island.** 71(2):279-294.

ANEXO - 1

Projeto Quatis	
Protocolo de Captura n° _____	
Preenchido por: <u>10 Oniela C. Barcelos</u>	
Nome: <u>Janaína</u>	
Chip (etiqueta) COLAR AQUI	
	
Equipe:	
<input checked="" type="checkbox"/> Nadja <input checked="" type="checkbox"/> Simone <input type="checkbox"/> Júlia <input type="checkbox"/> Rogério <input type="checkbox"/> Paula <input type="checkbox"/> Lara <input checked="" type="checkbox"/> Wander <input type="checkbox"/> Iuri <input checked="" type="checkbox"/> Outros: <u>Oniela</u>	
1. Captura em armadilha (responsável: _____)	
Data: <u>28/10/08</u> Local: <u>Trilha 12 (tabuleiro em casa)</u> Hora: <u>14:34</u> Ponto em GPS: _____ Coleta de fezes (Dicromato de Potássio): <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não Obs.: _____ Isca: <u>Porco</u>	
Estado Geral: <input checked="" type="checkbox"/> Bom <input type="checkbox"/> Regular <input type="checkbox"/> Ruim Obs.: _____ Atividade: <input checked="" type="checkbox"/> Ativo <input type="checkbox"/> Calmo <input type="checkbox"/> Excitado Obs.: _____ Comportamento: <input type="checkbox"/> Alerta <input checked="" type="checkbox"/> Apreensivo <input type="checkbox"/> Deprimido <input type="checkbox"/> Agressivo <input type="checkbox"/> Assustado Outros: _____ (responsável: <u>Nadja</u>)	
Temperatura ambiental: _____ °C Lua: <input type="checkbox"/> Cheia <input type="checkbox"/> Nova <input type="checkbox"/> Crescente <input type="checkbox"/> Minguante Tempo: <input checked="" type="checkbox"/> Sol <input type="checkbox"/> Nublado <input type="checkbox"/> Parcialmente nublado <input type="checkbox"/> Chuva fina <input type="checkbox"/> Chuva forte Vento: <input type="checkbox"/> Parado <input checked="" type="checkbox"/> Brisa <input type="checkbox"/> Médio <input type="checkbox"/> Forte (responsável: <u>Nadja</u>)	
2. Colocação de jornais sobre a armadilha e contenção física (êmbolo) (responsável: _____)	
3. Contenção química (responsável: <u>Simone</u>)	
Drogas administradas Zoletil 100 Dose: <u>0,14 mg</u> Volume: <u>0,14 mL</u> Via: <u>IM</u> Hora: <u>14:36</u> <u>Zoletil 100</u> Dose: _____ Volume: _____ mL Via: _____ Hora: <u>15:00</u> 0,04	
10. Condição reprodutiva (responsável: <u>Nadja</u>)	
Distância entre a uretra e o ânus: <u>2,2 cm</u>	
Mamas:	
Número: <u>2 abelhoncis</u>	
Coloração: <input checked="" type="checkbox"/> Clara <input type="checkbox"/> Escura <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Presença de leite: <input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Vagina:	
Coloração: <input checked="" type="checkbox"/> Clara <input type="checkbox"/> Escura <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Rompida: <input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Cio: <input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Formato: _____	
Sinais de gestação	
<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Em gestação	
<input type="checkbox"/> Gestação recente <input type="checkbox"/> Gestação não recente	
Bolsa escrotal	
Coloração: <input type="checkbox"/> Clara <input type="checkbox"/> Escura <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Externo: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
* 1= duro, 2= normal, 3= flácido ** $V = C \times L^2 \times 0,524$; onde V= volume testicular (cm ³), C= comprimento testicular (cm) e L= largura testicular (cm). *** ? Pênis: _____	
11. Classe etária (responsável: <u>Nadja</u>)	
<input type="checkbox"/> Infante <input checked="" type="checkbox"/> Jovem <input type="checkbox"/> Sub-adulto <input type="checkbox"/> Adulto <input type="checkbox"/> Adulto idoso	
Obs.: _____	
12. Biometria (responsável: <u>Nadja</u>)	
Massa Corpórea (peso em kg): <u>2,0</u> kg Comprimento da cabeça: <u>14,5</u> cm Circunferência da cabeça: <u>14</u> cm Tamanho da orelha: <u>3,5</u> cm Largura da orelha: <u>3,5</u> cm Distância entre os olhos: <u>5,0</u> cm Circunferência do pescoço: <u>19,0</u> cm Circunferência do tórax: <u>23,0</u> cm Comprimento do tronco: <u>34,0</u> cm Comprimento da cauda: <u>5,6</u> cm Comprimento total: <u>72,0</u> cm Comprimento máximo da pata anterior DIREITA com unha: <u>29,5</u> cm Comprimento máximo da pata anterior DIREITA sem unha: <u>22,0</u> cm Altura escapular: <u>22,0</u> cm Largura máxima da pata anterior DIREITA: <u>10,0</u> cm Comprimento máximo da pata posterior DIREITA com unha: <u>29,0</u> cm Comprimento máximo da pata posterior DIREITA sem unha: <u>21,8</u> cm Largura máxima da pata posterior DIREITA: <u>16,0</u> cm	
4. Monitoramento: (responsável: <u>Simone</u>)	
Tempo total de anestesia: <u>início 19:30</u>	
Temperatura retal: <u>39,2</u> °C	
Auscultação cardíaca: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> Irregular Obs.: <u>200 bat./min</u>	
Auscultação pulmonar: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> Irregular Obs.: <u>90 bat./min</u>	
5. Marcação (responsável: <u>Simone / Nadja</u>)	
Microchip: <input checked="" type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
Brinco: <input checked="" type="checkbox"/> sim n° <u>126</u> <input type="checkbox"/> não	
6. Coleta de sangue (responsável: <u>Simone</u>)	
2 mL EDTA (Júlia) <u>X</u>	
1 mL DNA (Bárbara) eppendorf com álcool 70% <u>X</u>	
1 mL EDTA (Júlia) para Hemograma <u>X</u>	
3 mL soro (Simone) <u>X</u>	
2 mL (Paula e Iuri) <u>X</u>	
Total: 9 mL <u>X</u>	
7. Esfregaço sanguíneo (responsável: <u>Simone</u>)	
<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
8. Sexo (responsável: <u>Simone</u>)	
<input type="checkbox"/> Macho <input checked="" type="checkbox"/> Fêmea	
9. Dentição (responsável: <u>Wander</u>)	
Fórmula: <u>3/3, 1/1, 4/4, 2/2 = 40</u>	
Dentes: <input checked="" type="checkbox"/> leite <input type="checkbox"/> definitivos <input checked="" type="checkbox"/> em troca	
n° dentes arcada superior: <u>20</u> inferior: <u>18 20</u>	
Desgaste dentário:	
Incisivos: <input type="checkbox"/> pouco ou nenhum <input checked="" type="checkbox"/> médio <input type="checkbox"/> muito <input type="checkbox"/> não se aplica	
Caninos: <input type="checkbox"/> pouco ou nenhum <input checked="" type="checkbox"/> médio <input type="checkbox"/> muito <input type="checkbox"/> não se aplica	
Molares e pré-molares: <input checked="" type="checkbox"/> pouco ou nenhum <input type="checkbox"/> médio <input type="checkbox"/> muito <input type="checkbox"/> não se aplica	
Comprimento do canino superior: <u>0,4</u> cm (paquímetro) canino inferior: <u>0,6</u> cm	
Comprimento 4° molar: <u>0,45</u> cm (paquímetro) superior 4° molar inferior: <u>0,45</u> cm.	
Coloração:	
<input type="checkbox"/> Claros/brancos <input checked="" type="checkbox"/> Pouco amarelado <input type="checkbox"/> Muito amarelo	
Obs.: _____	
13. Coleta de Ectoparasitos em álcool 70% (Júlia) <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
(responsável: <u>Nadja</u>)	
Obs.: _____	
14. Exame Clínico (responsável: <u>Simone</u>)	
Pele, pêlos, hidratação: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> Irregular Obs.: _____	
Mucosas: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> Irregular Obs.: _____	
Cavidade oral: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> Irregular Obs.: _____	
Narinas: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular Obs.: _____	
Olhos: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular Obs.: _____	
Orelhas: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular Obs.: _____	
Linfonodos: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular Obs.: _____	
Palpação abdominal: <input checked="" type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular Obs.: _____	
Marcas aparentes?: <input checked="" type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
Qual (is)? <u>Alopecia</u>	
Outros: _____	
15. Patas (responsável: <u>Nadja</u>)	
Pigmentação das almofadas: <input checked="" type="checkbox"/> Total <input type="checkbox"/> Média <input type="checkbox"/> Pouca	
Estado das almofadas: <u>Bom</u>	
Impressão das patas: <input checked="" type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não ANEXAR A IMPRESSÃO A ESTA FICHA	
Colocar no papel com a impressão as medidas das patas	
Obs.: _____	
16. Observações adicionais	
<u>Notícia no membro anterior esquerda no altura do osso náda</u>	
<u>Artrite no fêmur náda do braço direito.</u>	

Anexo 1- Ficha Protocolo de captura Projeto Quatis. Ficha em que eram feitas as anotações referentes ao quati capturado.