GISLAINE TAIMARA DALAZEN

**Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região
do Pantanal sul-mato-grossense**

São Paulo

2018

GISLAINE TAIMARA DALAZEN

**Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região
do Pantanal sul-mato-grossense**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Departamento de Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3604
FMVZ

Dalazen, Gislaine Taimara
Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região do Pantanal sul-mato-grossense / Gislaine Taimara Dalazen. – 2018.
62 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima.

1. Xenarthra. 2. *Leptospira interrogans*. 3. *Brucella abortus*. 4. Dasypodidae. 5. Nhecolândia. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Exposição de tatus a agentes infecciosos selecionados", protocolada sob o CEUA nº 8242020216, sob a responsabilidade de **Eliana Reiko Matushima e equipe; Gislaine Taimara Dalazen; Arnaud Leonard Jean Desbiez** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 23/11/2016.

We certify that the proposal "Exposure of wild armadillos to selected infectious agents", utilizing 40 Brazilian wild species (males and females), protocol number CEUA 8242020216, under the responsibility of **Eliana Reiko Matushima and team; Gislaine Taimara Dalazen; Arnaud Leonard Jean Desbiez** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 11/23/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **02/2016 a 02/2018**

Área: **Patologia Experimental E Comparada**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Espécies silvestres brasileiras**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **2 a 20 anos**

N: **40**

Linhagem: **Tatus da Família Dasypodidae**

Peso: **2 a 50 kg**

Registro IBAMA/Sisbio/Etc:

Método de Captura: Após a captura os indivíduos serão transferidos para caixas de madeira reforçadas com metal, nas quais os animais permanecerão até o momento do manuseio. Os animais capturados serão anestesiados com protocolo estabelecido pelo Projeto Tatu-Canastra, sendo este uma associação de fármacos: butorfanol (0,1 mg/ kg), detomidina (0,1 mg/ kg) e midazolam (0,1 mg/ kg), por via intramuscular, e novamente devolvidos a caixa até que os fármacos façam efeito e o animal possa ser manipulado. Durante o procedimento anestésico, sinais vitais serão monitorados, como a frequência cardíaca e respiratória, temperatura retal e saturação de oxigênio pelo uso de oxímetro de pulso. Todos os indivíduos serão submetidos ao exame clínico e a biometria será realizada. Após o procedimento os animais são devolvidos para as caixas de madeira até que estejam alertas e conscientes para retornar para a natureza. **LICENÇAS:** ☐ [Projeto de Pesquisa e Conservação do Tatu-canastra no Pantanal] (Nº do Projeto/Autorização: 27587-6; Data de Emissão: 14/10/2015; Data da revalidação: 12/11/2016; Titular: Arnaud Leonard Jean Desbiez, Código de autenticação: 26896198, ICMBio /SISBIO; Anexo 1).

Resumo: Diversos agentes infecciosos são generalistas, os animais domésticos e silvestres contribuem para a transmissão dessas zoonoses, entretanto a dinâmica desses agentes ainda é pouco compreendida. A vigilância de doenças é comum em animais domésticos, mas quando se trata da fauna silvestre a monitoração é quase nula. A leptospirose, brucelose e a clamidofilose são zoonoses de grande importância econômica, relevância para a saúde pública e saúde animal. Devido à escassez de informações acerca da leptospirose, brucelose e clamidofilose em tatus, no Brasil, há necessidade de entender o papel da família Dasypodidae como reservatório desses agentes infecciosos. Além disso, devido às particularidades fisiológicas e ecológicas, os tatus, se tornam únicos entre os mamíferos em termos de coexistência com patógenos. A presente proposta de pesquisa destina-se a investigar a exposição de tatus, provenientes do Pantanal da Nhecolândia, aos três agentes infecciosos já citados, a partir de determinação sorológica da prevalência de anticorpos anti-Leptospira spp., anti-Brucella spp. e Chlamydia spp. em amostras de sangue de tatus de vida livre e seus títulos. Espera-se que os resultados deste estudo forneçam importantes informações a respeito dos patógenos circulantes no Pantanal da Nhecolândia, colaborando assim para o avanço do conhecimento da cadeia epidemiológica desses agentes.

Local do experimento: Fazenda Baía das Pedras (21 K 0627555 UTM 7870292), município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Pantanal da Nhecolândia.

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Comissão de Ética no Uso de Animais

São Paulo, 29 de dezembro de 2017

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária Executiva
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: DALAZEN, Gislaine Taimara

Título: Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região do Pantanal Sul-Mato-Grossense

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Sem o apoio de minha orientadora minha pesquisa não seria possível. Sou muito grata ao constante incentivo, por todas as considerações que foram essenciais para meu amadurecimento tanto científico quanto pessoal, pela paciência com a minha extrema organização e perfeccionismo, mas especialmente por compartilhar o entusiasmo em cada descoberta. Agradeço igualmente pelo convívio, momentos de descontração e preocupação com meu bem-estar. Muito obrigada por todo conhecimento que generosamente dividiu comigo, é uma grande honra ser sua orientada.

Minha família, por compreender a importância dessa etapa para meu crescimento profissional e pessoal. Meu pai, a quem devo a escolha da minha profissão, e que despertou em mim o fascínio pela natureza. Mãe, minha fonte de bondade em quem me inspiro para tomar as melhores decisões e sempre perseverar. Minha irmã, meu modelo de dedicação e esforço. Meu amor é incondicional e sempre que tento o melhor é por vocês.

A equipe do Projeto Tatu-Canastra, que generosamente cederam as amostras e assim possibilitaram minha pesquisa com esse incrível grupo de mamíferos. Ao Dr. Arnaud Desbiez e Danilo Kluyber por todas as oportunidades e desafios que me possibilitaram sempre aprender e melhorar. Obrigada pela confiança e pela constante disposição em ajudar.

Ao Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann por disponibilizar seu laboratório e por sempre estar disponível quando as dúvidas surgiram. Antonio Francisco de Souza Filho e Gisele Oliveira de Souza, que me ensinaram todas as técnicas laboratoriais, obrigada pela paciência e ajuda. Agradeço também a Angélica Maria Sanchez Sarmiento pela ajuda com o diagnóstico molecular e pela amizade.

Imprescindível agradecer todos com quem compartilhei essa jornada. Roberta Zamana, com seu jeito único tornou tudo mais leve e engraçado, estive ao meu lado em tantos momentos que dizer apenas obrigado não me parece suficiente, espero um dia poder retribuir tamanho apoio. Sandy Pulecio, por todos os bons momentos que compartilhamos e por alimentar esse sentimento de companheirismo e zelo que nutri nossa amizade. Yamê Mineiro Davies, minha parceira na representação discente, conselheira da vida, pessoa tão meiga e forte por quem tenho um carinho sem fim. Agradeço imensamente a Amélia Mineiro Davies, minha mãe adotiva e

Adriano, que me receberam em sua casa como da família, com muito carinho e atenção.

A querida equipe das tartarugas. Silmara Rossi, uma das pessoas mais doces que já conheci e que além de uma amiga muito querida me ajudou a crescer na escrita. Marco Aurélio Gattamorta, sempre bem humorado e engraçado ao qual, sou grata pelos bons momentos e por todos os ensinamentos em biologia molecular. Fabíola Eloísa Setim Prioste, a veterinária de animais selvagens mais elegante que conheço, mulher singular que tenho grande estima.

Aos colegas: Jorge Oyakawa por toda paciência, ajuda e preocupação. Camila Molina, pelo companheirismo e por compartilhar sua experiência. Kátia Regina Groch, meu exemplo de excelência. Josué Días Delgado, pela ajuda no aprendizado com a histopatologia e por ser um grande exemplo de profissional. Sândara Pimentel Sguario, por toda ajuda técnica, conversas nas horas de micrótomo e amizade. Carlos Sancristán e Ana Carolina Ewbank pelos ensinamentos em Biologia molecular e pela amizade. Pedro Enrique Navas-Suárez, por compartilhar seu conhecimento histopatológico e pelas aulas de espanhol nos intervalos.

Meus queridos amigos, Jilma Maria Aleman Laporte e Gilbert Alvarado, sentirei saudade do convívio. Frederico Fontanelli Vaz, amigo que me apoiou e incentivou muito no processo de admissão do mestrado, pessoa por quem tenho grande carinho e admiração. A querida Verônica Molina, amiga que a pós graduação me proporcionou.

Arthur Ribeiro, pela ajuda com as figuras, conversas de encorajamento e felicidade compartilhada.

Igualmente agradeço a Isabela Caroline, que mesmo distante fisicamente nunca se fez ausente, me apoiou, incentivou e compartilhou comigo todas as etapas, nossa amizade persevera e amadurece com o tempo.

Finalmente, agradeço a Profa Dra Karla Magalhães Campião e ao Prof. Dr. Luiz Eduardo Roland Tavares grandes pesquisadores que me motivaram a seguir esse caminho, foram meus mentores, exemplos e inspiração. Obrigada por cada detalhe que me ajudou a chegar até aqui.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

*“A ciência pode classificar e nomear os órgãos de um sabiá
mas não pode medir seus encantos.
A ciência não pode calcular quantos cavalos de força existem
nos encantos de um sabiá.
Quem acumula muita informação perde o condão de adivinhar:
divinare.
Os sabiás divinam.”*

Manoel de Barros

RESUMO

DALAZEN, G. T. **Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região do Pantanal Sul-Mato-Grossense.** [Search of selected infectious agents in armadillos of the Pantanal from Mato Grosso do Sul]. 2018. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O Pantanal é considerado uma das maiores planícies inundáveis do mundo e possui uma rica biodiversidade. Das onze espécies de tatus registradas no Brasil, sete ocorrem no Pantanal. Os tatus dividem suas áreas de vida com diversas outras espécies silvestres e com o gado, pois a produção extensiva de bovinos de corte é a principal atividade econômica da região. Estudos anteriores demonstraram exposição à *Brucella abortus* e *Leptospira interrogans* em diversas espécies silvestres no Pantanal, porém sabe-se pouco quanto à exposição e/ou presença desses agentes em tatus neste bioma. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Brucella* e anti-*Leptospira interrogans* através do teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e Soroaglutinação Microscópica (SAM) em amostras de soro de tatus de vida livre, provenientes do Pantanal da Nhecolândia e realizar a pesquisa direta do DNA dos agentes através do emprego da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em amostras de sangue. Foram testados 48 indivíduos de quatro espécies, sendo *Dasypus novemcinctus* (n=2), *Cabassous unicinctus* (n=8), *Euphractus sexcinctus* (n=16) e *Priodontes maximus* (n=22). Não foi observado produto amplificado pela PCR em nenhum animal testado, da mesma forma, nenhum tatu apresentou anticorpos anti-*Brucella* pelo AAT. Na sorologia para *L. Interrogans* foi encontrada prevalência de 31,25 % (5/16) em *E. sexcinctus* e 18,18% (4/22) em *P. maximus*. Esses indivíduos foram positivos para os sorovares Autumnalis/Butembo, Cynopteri/Cynopteri e Pomona/Pomona, com títulos variando de 1: 200 a 1: 1600. Os resultados obtidos reforçam a importância da vigilância de patógenos em populações de vida livre, especialmente quando existe contato com animais de produção, além de contribuir para o conhecimento de agentes infecciosos em tatus da região do Pantanal.

Palavras-chave: *Xenarthra*. *Leptospira interrogans*. *Brucella abortus*.
Dasypodidae. Nhecolândia.

ABSTRACT

DALAZEN, G.T. **Survey of selected infectious agents in armadillos from Pantanal, in Mato Grosso do Sul, Brazil.** [Pesquisa de agentes infecciosos selecionados em tatus da região do Pantanal Sul-Mato-Grossense.]. 2018. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Pantanal is considered one of the world's largest wetlands. Seven of the eleven species of armadillos that occur in Brazil, from a total of 21 recognized species in the world, have been recorded in this area. The main local economic activity is beef cattle production, which leads to intense wildlife-livestock contact, potentially increasing wildlife exposure to several pathogens, including those with zoonotic and economic relevance. Previous studies demonstrated that several wildlife species have been exposed to *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in Pantanal; however, the exposure and/or presence of zoonotic pathogens in armadillos in this biome is still poorly understood. In order to address this question, we employed conventional polymerase chain reaction (PCR), the Rose Bengal Test (RBT) and the Microscopic Agglutination Test (MAT) to investigate the exposure and/or infection by *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in blood samples of four armadillos species: nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*) (n=2), southern naked-tailed armadillo (*Cabassous unicinctus*) (n=8), yellow armadillo (*Euphractus sexcinctus*) (n=16) and giant armadillo (*Priodontes maximus*) (n=22) caught at Nhecolândia, Pantanal, Brazil. We did not detect *Brucella abortus* by PCR or exposure to this pathogen via the RBT in the evaluated armadillos. On the other hand, the Microscopic Agglutination Test (MAT) detected *Leptospira interrogans* exposure in 31.25 % (5/16) of *E. sexcinctus* and 18.18% (4/22) *P. maximus* specimens. These individuals were positive to serovars Autumnalis/Butembo, Cynopteri/Cynopteri and Pomona/Pomona, this latter with titers ranging from 1:200 to 1:1600. Our results reinforce the importance of pathogen surveillance in wildlife living in areas of livestock production and further contribute to the study of zoonotic pathogens in armadillos in the Pantanal region.

Keywords: Xenarthra. *Leptospira interrogans*. *Brucella abortus*. Dasypodidae. Nhecolândia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore filogenética da superordem Xenarthra.....	17
Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando a bainha externa, cilindro protoplasmático e flagelo periplasmático.....	28
Figura 3 - Delimitação da área de estudo (Fazenda Baía das Pedras).....	36
Figura 4 - Posicionamento da armadilha do tipo Jequi na toca de um Tatu- Canastra e contenção física de um indivíduo.....	37
Quadro 1 - Espécies conhecidas de bactérias do gênero <i>Leptospira</i> , divididas em patogênicas, intermediárias e saprófitas	27
Quadro 2- Sorovares utilizados na Soroaglutinação Microscópica (SAM)	38
Quadro 3 - Sequência dos <i>primers</i> utilizados para o diagnóstico da <i>Brucella</i> , segundo Baily et al.,1992.....	40
Quadro 4 - Sequência dos <i>primers</i> utilizados para o diagnóstico de <i>L. interrogans</i>	40
Quadro 5 - Indivíduos positivos pela SAM: espécies, sorovares e variantes sorológicas e seus respectivos títulos.....	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	FAMÍLIA DASYPODIDAE	17
2.2	OS AGENTES INFECCIOSO SELECIONADOS	19
2.2.1	<i>Brucella abortus</i>	19
2.2.2	<i>Leptospira interrogans</i>	27
3	OBJETIVOS	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	Área de estudo	34
4.2	Captura dos animais e colheita de amostras	35
4.3	Testes laboratoriais	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

A emergência de doenças infecciosas é um ponto relevante para a saúde animal, humana e para a economia global (DASZAK, 2007). As espécies silvestres são um elo na cadeia epidemiológica, pois são reservatórios de diversas zoonoses, estima-se que entre 60% a 70% das doenças infecciosas humanas emergentes sejam zoonoses (SALYER et al., 2017). Desta forma, o controle de doenças infecciosas ou parasitárias é dependente da habilidade em avaliar os riscos associados ao contato com a fauna silvestre (RHYAN et al., 2009).

A relação entre os patógenos circulantes nas populações silvestres, o meio ambiente e as atividades humanas cria uma dinâmica, na qual, novos patógenos ou novos hospedeiros podem surgir. Além disso, mudanças na densidade populacional ou no comportamento do hospedeiro afetam a prevalência da doença e o agente pode aumentar sua virulência e expandir sua gama de hospedeiros (GORTÁZAR et al., 2007).

Do ponto de vista da conservação, as doenças podem causar grande impacto sobre a dinâmica populacional dos animais silvestres. As populações desses animais podem ser colocadas em risco de forma direta, na qual os hospedeiros são levados à morte ou alternativamente, quando o tamanho e taxa de crescimento das populações são suprimidas, tornando-as vulneráveis a extinção por fatores estocásticos (WOODROFFE, 1999).

Evidências fundamentadas na literatura indicam que a perda da biodiversidade, frequentemente, leva ao aumento da transmissão de patógenos, por outro lado, áreas muito biodiversas podem funcionar como *pool* para novos patógenos (KEESING et al., 2010). O Pantanal é composto por diferentes paisagens com gradientes de habitat que oferecem nichos ecológicos reprodutivos e áreas de alimentação que sustentam uma grande diversidade animal (ALHO; CAMARGO; FISCHER, 2011). Em contraste, a principal atividade econômica no Pantanal é a produção extensiva de bovinos, que dividem suas áreas de alimentação com os animais silvestres (PELLEGRIN et al., 1999). Esse contato se intensifica nos meses de cheia, aspecto importante no âmbito da dinâmica de transmissão de agentes infecciosos (SANTOS et al., 2002; WOBESER, 2006).

A leptospirose e brucelose são zoonoses de ampla distribuição, com grande importância econômica e relevância para a saúde pública e saúde animal (FAINE et al., 1999). Do ponto de vista econômico, a presença dessas doenças no rebanho bovino leva a queda na produção (GIUFFRIDA; PAES; DA SILVA, 2010). Quanto à brucelose, torna o produto vulnerável às barreiras sanitárias e diminui a competitividade no comércio internacional (BRASIL, 2006). Consideradas doenças reemergentes, a incidência da leptospirose em regiões de clima tropical é de aproximadamente 10 casos a cada 100.000 pessoas, sendo que em surtos ocorrem aproximadamente 100 casos a cada 100.000 pessoas e a taxa de mortalidade é de 10%, já para a brucelose estima-se a incidência de 0,03 a 160 novos casos a cada 100.000 pessoas (SELEEM; BOYLE; SRIRANGANATHAN, 2010; HARTSKEERL; COLLARES-PEREIRA; ELLIS, 2011). No que se refere à saúde animal, o impacto dessas doenças em animais domésticos é bastante conhecido, em animais de vida livre existem relatos de surtos por leptospirose, com considerável mortalidade, em primatas e leões marinhos, assim como relatos de aborto em bisões causados por *B. abortus* (DIERAUF et al., 1985; RHYAN et al., 1994; NORMAN et al., 2008; SZONYI et al., 2011).

Os tatus dividem suas áreas de vida com outros animais silvestres e domésticos e ainda que alguns agentes infecciosos zoonóticos já tenham sido identificados em tatus, à exceção de *D. novemcinctus*, que foi amplamente estudado pela sua susceptibilidade ao *Mycobacterium leprae*, para a maioria das espécies de tatus existe uma grande lacuna acerca de patógenos, de forma que se desconhece a presença ou ausência de diversos agentes infecciosos e sua soroprevalência (NISHIKAKU et al., 2008; AGUILAR et al., 2014).

Considerando o contexto, a presente pesquisa teve por objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira interrogans* e anti-*Brucella abortus* em amostras de soro de tatus de vida livre, provenientes do Pantanal da Nhecolândia e realizar a pesquisa direta do DNA dos agentes através do emprego de análises de reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA DASYPODIDAE

Os tatus pertencem à superordem Xenarthra, juntamente com os tamanduás e bichos-preguiça. Constituem a família Dasypodidae, da qual são reconhecidos nove gêneros e 21 espécies, em que 11 destas ocorrem no Brasil (Figura 1) (AGUIAR, 2004; MEDRI et al., 2011). Os gêneros *Priodontes* e *Euphractus*, possuem único representante, *Priodontes maximus* e *Euphractus sexcinctus* respectivamente. O gênero *Dasypus*, conta com quatro espécies que ocorrem no Brasil, *D. hybridus*, *D. kappleri*, *D. novemcinctus*, *D. septemcinctus*. *Cabassous chacoensis*, *C. tatouay* e *C. unicinctus*, correspondem as três espécies representantes do gênero *Cabassous*. Duas espécies representam o gênero *Tolypeutes*, *T. matacus* e *T. tricinctus* (MIRANDA; 2007; MEDRI et al., 2011). Em 2016 a taxonomia de *D. kappleri* foi revisada através de análises morfométricas e morfológicas e os autores reconheceram três espécies, *D. kappleri*, *D. pastasae* e *D. beniensis* (FEIJÓ; CORDEIRO-ESTRELA, 2016)

Figura 1 - Árvore filogenética da superordem Xenarthra

Fonte: Adaptado de Vizcaín; Loughry (2008).

No Pantanal ocorrem sete espécies de tatus, sendo elas, *Cabassous unicinctus* (tatu-de-rabo-mole-pequeno), *D. kappleri* (tatu-de-quinze-quilos), *D. novemcinctus* (tatu-galinha), *D. septemcinctus* (tatu-mirim), *E. sexcinctus* (tatu-peba), *P. maximus* (tatu-canastra), e *T. matacus* (tatu-bola) (RODRIGUEZ et al., 2002). No presente estudo estão incluídas as espécies, *C. unicinctus*, *D. novemcinctus*, *E. sexcinctus* e *P. maximus*.

A espécie com maior distribuição geográfica é *D. novemcinctus*, esta ocorre do sul dos Estados Unidos, passando pela América Central até o noroeste da Argentina, Uruguai e Brasil. O peso pode variar de 3,2 kg a 4,1 kg, o comprimento do corpo varia entre 39,5 cm a 57,3 cm e a cauda entre 29 cm a 45 cm (EISENBERG; REDFORD, 1999; MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006).

Euphractus sexcinctus ocorre desde o sul do Suriname até o nordeste da Argentina, Uruguai e Brasil. O peso varia entre 3,2 kg a 6,5 kg, o comprimento do corpo é de aproximadamente 40 cm e a cauda varia entre 11,9 cm a 24,1 cm (REDFORD; M., 1985; MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006).

Cabassous unicinctus tem distribuição do leste da Colômbia, norte da Venezuela, Guianas, e Brasil ocorre nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Minas Gerais. O peso varia entre 2,2 kg a 4,8 kg, o comprimento do corpo de 34,7 cm a 44,5 cm e a cauda varia entre 16,5 cm a 20 cm (WETZEL, 1982; EISENBERG; REDFORD, 1999; MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006).

Priodontes maximus, é a maior espécie de tatu do mundo. Tem distribuição do leste dos Andes, noroeste da Venezuela até Guiana Francesa, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, norte da Argentina, Paraguai e sudeste do Brasil. Podem pesar até 60 kg, o comprimento do corpo varia de 75 cm a 100 cm e a cauda 50 cm (WETZEL, 1985; NOWAK, 1999; MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006).

Com hábitos terrestres a fossoriais, os tatus ocupam essencialmente áreas abertas, no entanto, podem ocorrer também em florestas. Andam em pequenos grupos, pares ou solitários. Ainda que algumas espécies apresentem atividade diurna, a maioria é crepuscular e/ou noturna, a sazonalidade também exerce influência no período de atividade, uma vez que a temperatura diminui podem se tornar mais diurnos (MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006).

Os tatus possuem adaptações morfológicas associadas à estratégia de alimentação. Os ossos dos membros são curtos e grossos de forma que podem

aplicar considerável força para cavar, bem como garras que lhes permitem perfurar solos compactos. Os representantes dos gêneros *Cabassous* e *Prionomys* têm garras especializadas para quebrar cupinzeiros. A maioria dos tatus tem língua alongada com superfície pegajosa permitindo a apreensão de pequenas presas móveis (VIZCAÍNO; LOUGHRY, 2008). O hábito de cavar, não apenas para obter presas como larvas de coleópteros, é também essencial para se abrigar, proteger os filhotes e/ou escapar de predadores (MEDRI; MOURÃO; RORIGUES, 2006; VIZCAÍNO; LOUGHRY, 2008).

As espécies de tatus estão sujeitos a diversas ameaças e, de acordo com avaliação nacional do estado de conservação dos Xenarthras, *P. maximus* foi classificado como espécie vulnerável (VU); resultado da perda do seu habitat. A espécie *T. matacus* foi classificada como dados insuficientes (DD), pois pouco se sabe sobre a tolerância dessa espécie à degradação ambiental e, em relação a *C. unicinctus*, *D. kappleri*, *D. novemcinctus* e *D. septemcinctus* foram categorizadas como menos preocupante (LC), por apresentarem ampla distribuição (ANACLETO et al., 2015; MIRANDA et al., 2015; SILVA et al., 2015; REIS et al., 2015; CHIARELLO et al., 2015; FARIA-CORRÊA et al., 2015).

Historicamente os tatus são alvos de caça no Brasil. Chagas e colaboradores (2015) realizaram um levantamento nos arquivos da Polícia Militar, de ocorrências de caça ilegal em 16 estados brasileiros e os representantes da família Dasypodidae aparecem em segundo lugar entre as espécies de mamíferos mais caçados, além de estarem presente nas ocorrências de todas as regiões analisadas (CHAGAS et al., 2015). Resultado semelhante foi encontrado por El Bizri et al. (2015) em pesquisa inovadora sobre a caça esportiva no Brasil utilizando como base vídeos publicados na internet. Os resultados mostraram que os tatus foram o taxa com maior frequência de postagens (EL BIZRI et al., 2015). Adicionalmente, os tatus estão entre os principais mamíferos vítimas de atropelamentos, juntamente com as espécies de tamanduás (CÁCERES et al., 2010).

2.2 OS AGENTES INFECCIOSOS SELECIONADOS

2.2.1 *Brucella abortus*

Taxonomia e Microbiologia:

Atualmente doze espécies compõem o gênero *Brucella*, as seis espécies clássicas, *Brucella abortus* (biótipo 1 a 9), *B. canis*, *B. melitensis* (biótipo 1 a 3), *B. ovis*, *B. suis* (biótipo 1 a 5), *B. neotomae* e as recentemente descobertas, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti*, *B. inopinata*, *B. papionis* e *B. vulpis* (CORBEL; BRINLEY-MORGAN, 1984; FOSTER et al., 2007; SCHOLZ et al., 2008, 2010, 2016; WHATMORE et al., 2014). Ensaios de hibridização mostram que as espécies de *Brucella* têm acima de 97% de identidade no DNA, por esse motivo anteriormente se propôs que houvesse uma única espécie, *Brucella melitensis* e seus biovars. Entretanto após reunião do Comitê Internacional de Sistemática de Procariontes em 2003 determinou-se a retomada da classificação tradicional do gênero em seis espécies, como havia sido estabelecido nos anos 80, com base na preferência de hospedeiro, fenótipo e patogenicidade (SKERMAN; MCGOWAN; SNEATH, 1980; OSTERMAN; MORIYÓN, 2006). Entretanto, nos últimos anos novas espécies foram descritas embasadas pelas recomendações do Comitê (CORBEL; BRINLEY-MORGAN, 1975), que se fundamentam na preferência pelo hospedeiro, sensibilidade a fagos e perfil metabólico oxidativo, o perfil molecular também é considerado (FOSTER et al., 2007). É importante ressaltar que não existem evidências de clara coevolução entre as espécies de *Brucella* e seus hospedeiros, mas sim uma preferência e adaptação (FICHT, 2011).

A descrição de novas espécies se iniciou em 1994 com o isolamento em animais marinhos, até então o conhecimento sobre hospedeiros se restringia a animais terrestres. Os primeiros relatos surgiram na Escócia e Estados Unidos, em espécies de vida-livre e cativeiro, quatro focas (*Phoca vitulina*), duas toninhas (*Phocoena phocoena*), um golfinho (*Delphinus delphis*) (ROSS et al., 1994) além de um golfinho nariz de garrafa (*Tursiops truncatus*) (EWALT et al., 1994). Nos anos seguintes houve diversos relatos de *Brucella* em espécies marinhas, mas só em 2007 se propôs oficialmente a nomenclatura para essas espécies de acordo com seus hospedeiros, sendo a cepa isolada de cetáceos chamada de *Brucella ceti* e a de pinípedes nomeada *Brucella pinnipedialis* (FOSTER et al., 2007). Miller e colaboradores (2017) isolaram uma cepa em lontra marinha (*Enhydra lutris nereis*) com sinais clínicos na Califórnia e acreditam se tratar de uma nova espécie, pois os resultados dos testes moleculares mostram que esta é diferente de *B. ceti* e *B. pinnipedialis*.

Scholz e colaboradores em 2008 e 2010 propuseram duas novas espécies, *B. microti* e *B. inopinata*, a primeira isolada em roedores silvestres (*Microtus arvalis*) na República Checa e a segunda de um implante mamário em uma paciente humana com sinais clínicos de brucelose. Mais recentemente isolada de babuínos com sinais clínicos, foi proposta a espécie *B. papionis* e em 2016 a espécie *B. vulpis* isolada de aspirado de linfonodo de dois indivíduos de raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*) na Áustria (WHATMORE et al., 2014; SCHOLZ, 2016).

Microrganismos ainda não classificados, chamados de *Brucella* “atípicas” têm sido reportados em diversas espécies. Em anfíbios, os primeiros relatos ocorreram na Alemanha e foram isolados de *Pyxicephalus edulis* provenientes da Tanzânia que vieram a óbito durante a quarentena. No mesmo ano, foi isolada uma cepa de *Brucella inopinata-like* em um indivíduo de *Leptopelis vermiculatus* que apresentou uma massa na região dorsal (FISCHER et al., 2012; EISENBERG et al., 2017). Em 2015, Whatmore e colaboradores, no Reino Unido identificaram um microrganismo muito semelhante geneticamente aos representantes do gênero *Brucella* em lesões de pele de um indivíduo de *Litoria caerulea* que estava em exposição (WHATMORE et al., 2015). O primeiro relato nas Américas ocorreu em um hospital veterinário do Texas em um indivíduo de *Ceratophyrus ornate* (SOLER-LLORENS et al., 2016). No Japão foi isolado *Brucella inopinata-Like* de anfíbios de duas diferentes espécies, *Litoria caerulea* e *Polypedates dennysi* (KIMURA et al., 2017). Além dos anfíbios, recentemente foi isolada uma cepa de uma arraia (*Taeniura lymma*) que veio a óbito repentinamente durante quarentena, estendendo dessa forma o espectro de hospedeiros (EISENBERG et al., 2017).

As bactérias do gênero *Brucella* são cocobacilos gram negativos, não encapsulados e não esporulados que crescem aerobicamente. Com base nas sequências de rRNA, pertencem ao grupo α -2 proteobacterias possuindo próxima relação filogenética com *Bartonella* spp. e com alguns patógenos de plantas, como *Agrobacterium tumefaciens* e *Sinorhizobium meliloti* (CORBEL; BRINLEY-MORGAN, 1984; PAULSEN et al., 2002). Contém dois cromossomos circulares com aproximadamente 2,1 e 1,5 mb, exceto *B. suis* biovar 3 que possui um único cromossomo de 3,31 mb (CHAIN et al., 2005). O principal antígeno de parede é o S-LPS que contem os antígenos A e M, inúmeras proteínas internas e externas da membrana citoplasmática e periplasmática foram caracterizadas e algumas parecem

ter um papel da virulência e sobrevivência intracelular (MORIYÓN; LÓPEZ-GOÑI, 1998).

Brucella abortus é capaz de sobreviver por longos períodos no ambiente, mas apenas quando se encontra abrigada em locais úmidos e protegida da radiação solar, podendo permanecer 120 dias, na luz solar sobrevive por até 5 horas. Não sobrevive a processos de pasteurização, mas no leite cru a 15 graus pode ficar viável por até 38 dias. São facilmente destruídas por desinfetantes como cloro 2,5%, fenóis orgânicos 2,5%, carbonato de cálcio a 10%, formaldeído 2% e o álcool 70% (GIUFFRIDA; PAES; DA SILVA, 2010).

Etiopatogenia:

As espécies de *Brucella* podem sobreviver e se multiplicar em células fagocíticas do hospedeiro, os mecanismos de evasão intracelular da morte mediada por fagócitos “profissionais” ainda não estão completamente elucidados, mas parece envolver a inibição das funções bactericidas nas células fagocíticas, incluindo a fusão fagolisosomal, degranulação dos neutrófilos e burst oxidativo (LIAUTARD et al., 1996).

As bactérias do gênero *Brucella* têm a capacidade de invadir, replicar e sobreviver intracelularmente tanto em células fagocíticas quanto não fagocíticas, podem se replicar em inúmeros tipos celulares, macrófagos, células dendríticas, trofoblastos placentários, micróglia, fibroblastos, células endoteliais e epiteliais (DE FIGUEIREDO et al., 2015). O principal mecanismo de virulência reside na capacidade de evadir o sistema imune, já que diferente de diversas bactérias patogênicas, não possuem os fatores clássicos de virulência como cápsula, fímbrias, flagelo, exotoxinas, exoenzimas, citolisinas e plasmídios (DELVECCHIO et al., 2002; LETESSON et al., 2002).

Macrófagos e monócitos infectados se localizam nos órgãos reticuloendoteliais como baço, fígado, linfonodos e medula óssea, e a adaptação das bactérias ao ambiente intracelular requer genes de virulência, como o operon *virB* que codifica o sistema de secreção tipo IV (BOSCHIROLI et al., 2002). Esse sistema é necessário para que as bactérias que estão dentro dos vacúolos obtenham nutrientes para se replicar (CELLI; SALCEDO; GORVEL, 2005).

A eventual eliminação das brucelas é dependente da ativação de macrófagos com o desenvolvimento de uma resposta TH-1 mediada por célula. As principais

citocinas envolvidas na atividade anti-*Brucella* dos macrófagos é o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), fator de necrose tumoral- γ (TNF- γ), interleucina-1 (IL-1) e interleucina-12 (IL-12) (YINGST; HOOVER, 2003).

Transmissão, hospedeiros e sinais clínicos:

A transmissão da brucelose ocorre pelo contato direto ou indireto com animais infectados e/ou seus produtos. Diversas espécies animais são afetadas pela brucelose, entretanto os sinais clínicos não são patognomônicos, no gado, ovelhas, cabras e outros pequenos ruminantes a fase inicial da infecção é inaparente, mas quando se encontram em maturidade sexual as fêmeas prenhes podem apresentar placentite seguida de aborto no terço final da gestação e os machos podem apresentar orquite e epididimite (CORBEL, 2006).

A espécie que comumente acomete o gado é a *B. abortus*, entretanto as infecções por *B. militensis* pode ocorrer e menos frequente *B. suis* (CORBEL, 2006; BRASIL, 2006). A transmissão em bovinos e outros bovídeos (bisões, búfalos e camelos) ocorre principalmente pela via digestiva e a principal fonte de infecção são as fêmeas gestantes infectadas que eliminam grande quantidade de *Brucella* no parto e nos produtos do aborto e após um período de 30 dias ainda podem eliminar o agente nas secreções uterinas, contaminando o pasto, água e fômites (LAGE et al., 2008; BRASIL, 2006). A via aerógena e o contato direto também são relevantes na disseminação da brucelose em bovinos, enquanto a via reprodutiva parece não ser de grande importância, porém um risco é a utilização de sêmen contaminado na inseminação artificial (CORBEL, 2006; LAGE et al., 2008).

Em diversos países *B. militensis* é o agente mais relevante para os pequenos ruminantes, no Brasil *B. ovis* é a espécie que causa a brucelose ovina, *B. abortus* pode infectar caprinos e ovinos, mas a incidência é muito pequena, neste caso os animais infectados dificilmente apresentam aborto e a mastite é um sinal comum (CASTRUCCI, 2007; DE PAULA ANTUNES; MEGID, 2013). A via de transmissão mais comum é a venérea, a transmissão ocorre através da mucosa vaginal, retal, prepúcio e conjuntiva, assim, a transmissão entre machos é comum já que estes apresentam comportamento de sodomia (DE PAULA ANTUNES; MEGID, 2013). O principal sinal clínico causado pela *B. ovis* é a epididimite, podendo levar a infertilidade dos machos, enquanto as fêmeas podem apresentar placentite e aborto (DE PAULA ANTUNES; MEGID, 2013).

A brucelose canina é causada por *B. canis*, raramente os cães podem se infectar por *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*. Os sinais clínicos mais comuns são orquite e epididimite nos machos, aborto no terço final da gestação em fêmeas e infertilidade em ambos (WANKE, 2004). A transmissão se dá pela exposição direta a fluidos corpóreos como sêmen, fetos abortados e/ou placenta, leite ou urina (DAVIDSON; SYKES, 2014). *Brucella suis* é o agente causador da brucelose suína, doença que acomete suínos domésticos e ferais, na maioria dos casos os animais afetados não apresentam sinais clínicos, mas o aborto pode ocorrer em qualquer estágio da gestação (PILO et al., 2015).

Independentemente das espécies clássicas de *Brucella* possuírem preferência por hospedeiros, *B. abortus* e *B. suis* já foram isoladas inúmeras vezes em animais de vida livre (GODFROID, 2012). Desde 1917 existem relatos de apresentações clínicas de brucelose por *Brucella abortus* em bisões na América do Norte, o aborto e retenção de placenta são os sinais mais relevantes (RHYAN et al., 2009). Diversos levantamentos realizados no Parque Nacional de Yellowstone evidenciaram a prevalência de *B. abortus* nas populações de bisões, em 1932 após relatos de aborto a soroprevalência encontrada foi 53% (RUSH, 1932). Mais tarde entre 1992 e 1999 foi possível o isolamento em 46% dos animais soropositivos (ROFFE, T. J. et al., 1999). Por conta do sucesso do programa de erradicação houve uma considerável redução na infecção por *Brucella* no rebanho bovino dos Estados Unidos, e *B. abortus* está praticamente restrita a áreas de interface entre o gado e os animais silvestres no Parque Nacional de Yellowstone (SCHUMAKER; PECK; KAUFFMAN, 2012).

Nos Estados Unidos é bastante conhecida a presença de *B. suis* nas populações de javalis (*Sus scrofa*), acredita-se que esteja presente em pelo menos 16 estados com prevalências sorológicas que variam entre 0,3% e 52,6% (LEISER et al., 2013). A infecção pelos biovars 1, 2 e 3 são mais comumente reportados, sendo os biovars 1 e 3 mais frequentes nos Estados Unidos e o biovar 2 na Europa, que além do javali um importante reservatório são as lebres (*Lepus europeus* e *Lepus capensis*) (GODFROID et al., 2005; KREIZINGER et al., 2014).

Kin et al. (2014), constitui o único trabalho que investigou a presença de *Brucella* spp. em tatus e encontrou uma alta taxa de infecção em *Chaetophractus villosus*. Foram testados 150 indivíduos sorologicamente, sendo que 24 animais foram positivos pelo AAT e posteriormente confirmados pelo 2- Mercaptoetanol. Em

seguida, dois dos animais positivos foram eutanasiados e necropsiados, macroscopicamente os animais apresentavam abscessos de 1mm no fígado e baço, foi realizado cultura com resultados morfológicamente consistentes para *Brucella* sp. Com o auxílio da PCR encontrou-se uma banda de 285 bp consistente com *B. suis* biovar 1.

A brucelose em seres humanos raramente tem curso fatal, entretanto é uma afecção extremamente debilitante, com tendência a cronicidade e persistência, podendo se tornar uma doença granulomatosa e afetar qualquer órgão (FRANCO et al., 2007). *B. melitensis* é a principal espécie na doença humana, seguida de *B. abortus*, *B. suis* e *B. canis* e, as vias de transmissão para os seres humanos incluem o contato direto com animais infectados ou suas secreções através da pele ou abrasões na pele e mucosa, inalação, ingestão de produtos não pasteurizados, sendo relevante ressaltar que a brucelose é uma doença ocupacional (MEHMET; AYGEN, 2003). Diversos fatores influenciam a susceptibilidade, como o *status* imunológico, via de infecção, tamanho do inóculo e a espécie, em geral *B. melitensis* e *B. suis* são mais virulentas que *B. abortus* e *B. canis* (CORBEL, 2006).

O período de incubação normalmente varia de 1 a 3 semanas, mas pode levar meses até que os primeiros sintomas apareçam (SELEEM; BOYLE; SRIRANGANATHAN, 2010). Manifesta-se inicialmente por uma doença aguda febril, possui sintomas inespecíficos e incluem, febre, anorexia, dores de cabeça e artralgia (ACHA; SZYFRES, 2003).

O consumo de carne é uma fonte de infecção pouco comum, já que raramente esta é consumida crua e o número de bactérias é baixo no músculo (MANDELL; BENNETT; DOLIN, 2010). Em locais onde existe o hábito de consumir sangue ou ingerir o fígado cru a transmissão se faz possível (CHAN; BAXTER; WENMAN, 1989). A transmissão pessoa-pessoa é rara, entretanto existe relato de uma suspeita de transmissão sexual (MESNER et al., 2007). A brucelose não é incomum em crianças, especialmente em áreas onde a *B. melitensis* é endêmica e existe o convívio com animais (ALSHAALAN et al., 2014).

Diagnóstico:

A detecção de anticorpos é comumente utilizada para o diagnóstico da brucelose com o intuito de determinar a presença do agente em uma população e/ou área geográfica (NIELSEN, 2002). A sorologia é uma evidência indireta da infecção,

entretanto pode ser de grande valia no monitoramento de agentes infecciosos em populações de mamíferos silvestres (THORNE, 2001).

Inúmeros testes sorológicos foram desenvolvidos e muitos deles foram modificados visando o aumento do desempenho. O primeiro teste sorológico para brucelose, desenvolvido por Wright e Smith (1897), consistia em adicionar brucelas no soro do paciente e observar o padrão do “pellet” após incubação. Porém, o isotipo IgM é a aglutinina mais ativa em pH neutro desta forma havia uma grande quantidade de falso positivos por consequência de reações cruzadas. Para solucionar o problema de especificidade, modificações foram feitas com o intuito de inativar essas aglutininas. Uma das modificações foi acidificar o pH para prevenir a aglutinação por IgM e promover a aglutinação pela IgG₁ (NIELSEN, 2002).

O teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) é um método rápido, indireto e qualitativo, de diagnóstico no qual o contato entre o antígeno (cepa laboratorial de *Brucella abortus* suspensa em pH 3,6- 3,7) e as imunoglobulinas ativadas presentes no soro sanguíneo do hospedeiro geram ou não aglutinação (BRASIL, 2006).

Impacto econômico e controle:

A brucelose impacta a economia de um país tanto de forma direta, já que as restrições de comércio são uma barreira ao comércio internacional de animais e seus produtos, quanto de forma indireta, considerando os custos dos programas de controle. Os produtores relatam a queda de 10-15% no ganho de peso do gado por conta da brucelose, a diminuição da produção de bezerros entre 15%, a diminuição da produção leiteira varia entre 10-24% e um aumento de 30% na taxa de reposição, além da diminuição da fertilidade geral do rebanho elevando o intervalo entre partos para até 20 meses (GIUFFRIDA; PAES; DA SILVA, 2010).

No Brasil no ano de 2001 se instituiu o Programa Nacional de Controle da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), sendo obrigatória a vacinação de bezerras e fêmeas com idade superior a oito meses, nos rebanhos bubalinos e bovinos, assim como a exigência do diagnóstico para os animais destinados a reprodução em trânsito interestadual e animais em exposição (BRASIL, 2006).

Quanto à padronização do diagnóstico, estipulou-se ATT como o teste de triagem e o 2-Mercaptoetanol como teste confirmatório, caso existam diagnósticos

inconclusivos o teste de fixação do complemento pode ser executado (BRASIL, 2006).

2.2.2 *Leptospira interrogans*

Taxonomia e Microbiologia:

A família Leptospiraceae contém três gêneros, *Leptospira*, *Leptonema* e *Turneriella* (LEVETT et al., 2005). As espécies de *Leptospira* são divididas em um grande número de sorovares, que são definidos pela aglutinação após passarem por absorção cruzada com antisoro de coelho com antígenos heterólogos, se mais de 10% do título homólogo permanecer em pelo menos um dos dois antisoros em testes repetidos, as duas cepas pertencem a diferentes sorovares (ADLER, 2015).

Até o presente, o gênero *Leptospira* é composto por 22 espécies, as patogênicas que tem a capacidade de infectar e causar doença nos homens e nos animais, espécies intermediárias que foram isoladas de homens e animais e podem causar uma série de sintomas leves e as saprófitas que foram isoladas no ambiente e que não causam doença (Quadro 1) (BOURHY et al., 2014).

Quadro 1 – Espécies conhecidas de bactérias do gênero *Leptospira*, divididas em patogênicas, intermediárias e saprófitas

Espécies Patogênicas	Espécies Intermediárias	Espécies Saprófitas
<i>L. interrogans</i>	<i>L. inadai</i>	<i>L. biflexa</i>
<i>L. kirschneri</i>	<i>L. broomii</i>	<i>L. wolbachii</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>L. fainei</i>	<i>L. meyeri</i>
<i>L. santarosai</i>	<i>L. wolffii</i>	<i>L. vanthiellii</i>
<i>L. noguchii</i>	<i>L. licerasiae</i>	<i>L. terpstrae</i>
<i>L. weilii</i>		<i>L. idonii</i>
<i>L. alexanderi</i>		<i>L. yanagawae</i>
<i>L. kmetyi</i>		
<i>L. alstonii</i>		
<i>L. mayottensis sp. nov.</i>		

As leptospiros são bactérias aeróbias em forma de espiroqueta, medindo 0.25 × 6–25 µm, altamente móveis, possuem dois cromossomos e embora sejam citoquimicamente gram-negativas não se coram bem com corantes convencionais.

Para a visualização é necessária a utilização de um microscópio de campo escuro e a detecção em tecido é possível por impregnação por prata ou imuno-histoquímica (QUINN et al., 2015).

O lipopolissacarídeo (LPS) presente na membrana plasmática, além de um importante fator de virulência é a base para a caracterização em 24 sorogrupos e pelo menos 250 sorovares (EVANGELISTA; COBURN, 2010). Com o auxílio da tomografia crio-eletrônica sabe-se que a porção externa da membrana plasmática das leptospiros possui três camadas com diferentes densidades, as duas primeiras são compostas pelos folhetos externo e interno da membrana externa e tem espessura de 5 nm, já o terceiro folheto corresponde ao LPS. Por meio dessa ferramenta demonstrou-se que as espécies patogênicas (9,2 nm) apresentam espessura maior no terceiro folheto quando comparado com as saprófitas (6,0 nm) (RADDI et al., 2012).

As leptospiros possuem dois endoflagelos que estão dispostos no periplasma e são responsáveis pelo movimento de “saca-rolhas” característico, ancorados a aproximadamente 0,18 nm do final da extremidade, não se sobrepõem e enrolam-se envolvendo toda a extensão da bactéria (Figura 2) (ADLER, 2015).

Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando a bainha externa, cilindro protoplasmático e flagelo periplasmático

Fonte: Adaptado de Charon et al. (2002).

Tanto as espécies saprófitas quanto as patogênicas podem sobreviver em solo úmido e água por longos períodos, especialmente se o pH for levemente alcalino e, em condições laboratoriais o sorovar javanica pode sobreviver por 152 dias em água destilada (pH 7,8) (SMITH et al., 1961; TRUEBA et al., 2004). Assim como as demais espiroquetas, apresentam alta motilidade em meios viscosos em comparação com as demais bactérias, essa capacidade é elencada como umas das

responsáveis por aumentar a sobrevivência ambiental das leptospiros e favorecer a invasão aos tecidos (TAKABE et al., 2013).

Etiopatogenia:

O primeiro passo na patogênese da leptospirose é a quebra das barreiras naturais do organismo, a infecção comumente ocorre através da penetração ativa na pele com integridade comprometida (abrasões ou cortes), assim como a pele intacta pode ser invadida caso ocorra um longo período de imersão na água (LEVETT, 2001). A inalação de água ou aerossóis pode resultar na infecção via mucosa do trato respiratório, assim como é possível a infecção pelas mucosas oral e ocular (EVANGELISTA; COBURN, 2010). A transmissão sexual e transplacentária também já foi reportada em diversas espécies (WOBESER, 2001).

O segundo passo é a disseminação hematógena, após 1 ou 2 dias da infecção ocorre o período de bacteremia que pode durar uma semana, é o período no qual as leptospiros podem ser isoladas do sangue. Esse período termina assim que os anticorpos começam a circular, que podem ser detectados após 10-14 dias e atingem seus níveis máximos entre três a seis semanas. Raramente ocorre um segundo período de bacteremia (16-26 dias)(HATHAWAY et al., 1983). Os títulos máximos variam entre 1000 a 100000 pelo teste da soroaglutinação microscópica e dependendo da espécie podem se manter por até seis semanas, com um declínio gradual. Títulos baixos podem ser detectados anos após a exposição em várias espécies (ADLER, 2015).

Após o período de leptospiremia, colonizam órgãos como fígado, rins, músculo, olhos e meninges (LEFEBVRE, 2004). As leptospiros se localizam principalmente nos túbulos proximais dos rins, onde se multiplicam e são excretadas na urina, podem colonizar o útero de fêmeas prenhes, resultando em aborto e doença neonatal e após o aborto pode haver a excreção nas descargas uterinas (ADLER, 2015).

Transmissão, hospedeiros e sinais clínicos:

As espécies susceptíveis a leptospirose eliminam o agente na urina e são chamados de reservatórios, estes podem ser reservatórios de manutenção ou acidentais (LEVETT, 2001). Os reservatórios de manutenção desenvolvem pouco ou nenhum sinal clínico, exceto animais imunossuprimidos como fêmeas prenhes ou

que apresentem infecções concomitantes, e a persistência renal e excreção urinária nos reservatórios de manutenção pode durar anos (ELLIS, 1994). As condições ambientais e densidade populacional dos reservatórios de manutenção são variáveis que influenciam a manutenção de um sorovar (HATHAWAY, 1981). Comumente as infecções acidentais levam a apresentações clínicas agudas, com sinais clínicos mais graves e curto período de eliminação do agente (ADLER, 2015).

Cada região geográfica possui sorovares endêmicos que são mantidos no ambiente por reservatórios de manutenção, entretanto qualquer espécie animal pode se infectar pelos sorovares presentes na região, se tornando reservatórios acidentais (ELLIS, 1994). Os roedores são os principais carreadores e em teoria qualquer mamífero pode ser um reservatório em potencial (LEFEBVRE, 2004). Ainda que existam diversos relatos em aves, répteis e anfíbios a significância epidemiológica não está esclarecida (TORTEN; SHENBERG; VAN DER HOEDEN, 1965; EVERARD et al., 1988; GRAVEKAMP et al., 1991; BISCOLA et al., 2011; WHATMORE et al., 2015).

Nos animais de produção a leptospirose tem grande impacto nas produções de bovinos e suínos. A leptospirose bovina ocorre mundialmente, sendo o gado reservatório de manutenção do sorovar hardjo, no entanto uma grande variedade de sorovares pertencentes aos sorogrupos, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hebdomadis, Sejroe, Pyrogenes, Autumnalis, Australis, Javanica, Tarassovi e Grippotyphosa já foram reportados causando infecção acidental. Sinais clínicos severos são pouco comuns em infecções acidentais, exceto em animais jovens, comumente causado pelos sorogrupos Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa (ADLER, 2015). Em suínos a leptospirose é uma importante causa de perdas econômicas por danos reprodutivos e os sorovares associados à infecção são os sorovares Canicola, Grippothyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Bratislava, Australis e Travassoni (OLIVEIRA; LIMA, 1996; FIGUEREDO et al., 2013).

Um pequeno número de estudos investigou a leptospirose e brucelose nas espécies de tatus. Na Argentina, estudos sorológicos, bacteriológicos e histológicos foram conduzidos por Meyer et al. (1977), Scialfa et al. (2013) e Kin et al. (2015), para a espécie *Chaetophractus villosus*. Nos Estados Unidos, a espécie *D. novemcinctus* foi investigada por Stuart et al. (1977) e Motie et al. (1986). No Brasil, inquéritos sorológicos foram conduzidos por Lins & Lopes (1984) em *D.*

novemcinctus, enquanto Da Silva et al. (2008) investigaram as espécies *D. novemcinctus*, *D. hybridus*, *E. sexcinctus* e *C. tatouay*, Souza Junior et al. (2008) um pequeno número de *E. sexcinctus*, da mesma maneira que Vieira (2009).

Meyes et al. (1977) coletaram 89 indivíduos de *C. villosus*, dos quais amostras de sangue foram coletadas para SAM e posteriormente foram submetidos a eutanásia para a realização do isolamento bacteriano e exame histopatológico do tecido renal. Foi encontrado prevalência de 47,1% (42/89) com títulos que variaram entre 1:50 e 1:12.800 e os sorogrupos reagentes foram Hebdominalis e Bataviae. O isolamento de *L. interrogans* foi possível no tecido renal de 13 indivíduos (pertencentes aos sorogrupos Canicola, Bataviae e Hedbominalis), dois destes apresentaram macroscopicamente hepatomegalia e em onze foi diagnosticado nefrite intersticial crônica, que variou entre discreto (n=4), moderado (n=5) e severo (n=2). Foi realizada a coloração por impregnação de prata Warthin-Starry nos fragmentos de tecido renal e quatro indivíduos, previamente positivos no isolamento bacteriano, nos quais foram evidenciadas leptospiros em grande quantidade.

Scialfa et al. (2013), com o objetivo de identificar reservatórios silvestres testaram diversas espécies, entre estas seis indivíduos de *C. villosus*. Encontraram a prevalência de 33,3% (2/6) utilizando a SAM, e o sorovar reagente foi o Castellonis, entretanto nesses indivíduos o isolamento bacteriano foi negativo.

Kin et al. (2015) amostrou 150 indivíduos *C. villosus* e 35 (23,3%) foram positivos pela SAM para os sorovares Canicola, Castellonis, Icterohemorrhagiae e Hardjo. Vinte e quatro animais foram submetidos a eutanásia e examinados, dos quais, quatorze apresentaram lesões microscópicas com diferentes graus de comprometimento. Nos casos mais discretos havia infiltrações de células mononucleares, principalmente linfócitos e plasmócitos ao redor dos corpúsculos renais, enquanto nos casos mais severos as lesões acometiam o interstício, produzindo uma nefrite intersticial que algumas vezes comprometia a região medular. Além disso, nove animais apresentaram infiltração linfo-plasmocitária na pelve renal. A camada parietal da cápsula de Bowman estava espessada e havia retração do tufo glomerular e dilatação do espaço capsular, com depósitos cilíndricos ou em forma de lágrima de material hialino mostrando diferentes níveis de degeneração tubular. Todos os animais com alterações microscópicas apresentaram sorologia positiva com títulos entre 1:50 a 1:3.200 e os autores notaram que os animais com maiores títulos apresentaram lesões mais severas.

Stuart et al. (1977) examinaram as alterações renais de 55 indivíduos de *D. novemcinctus* previamente testados pela SAM. Trinta e quatro animais apresentaram alterações morfológicas, 19 destes foram soropositivos, apenas dois animais com títulos maiores que 100 apresentaram nefrite intersticial e *Leptospira* foi isolada do tecido renal de dois animais que não apresentaram alterações morfológicas, de forma que a etiologia das lesões renais não foi associada à leptospirose.

Motie et al. (1986), testaram 291 espécimes de *D. novemcinctus*. A prevalência foi de 11,3% (33/291) pela SAM e os sorovares reagentes foram Shermani, Canicola, Tarassovi, Pomona, Javanica, Australis, Grippotyphosa, Butauiae e Celledoni, com títulos entre 1:100 e 1:400.

No Brasil, Lins & Lopes (1984) conduziram um estudo na região amazônica em indivíduos de *D. novemcinctus* e 5,2% (3/57) foram positivos para os sorovares Hebdomadis, Grippotyphosu e Cynopteri. Da Silva et al. (2008) realizaram inquérito sorológico em quatro espécies de tatus no Estado de São Paulo, 31 *D. novemcinctus*, dois *D. hybridus*, três *Euphractus sexcinctus* e dois *Cabassous tatouay* e encontraram anticorpos anti-*Leptospira* com prevalência de 9,68% para *D. novemcinctus* (sorovares Autumnalis, Grippotyphosa) e 33.33% para *E. sexcinctus* (sorovar Hardjo). Souza Junior et al. (2008) testaram cinco *E. sexcinctus* que foram negativos pela SAM.

A leptospirose é uma zoonose na qual os seres humanos atuam como hospedeiros acidentais. Uma rede de interações complexa entre os seres humanos, reservatórios animais e o ambiente compõe a ecologia da leptospirose. Nas áreas rurais a transmissão tem caráter ocupacional, com um aumento do risco em meses mais quentes e úmidos enquanto, na área urbana a infecção está associada ao baixo nível sócio-econômico, condições sanitárias inadequadas e enchentes (LAU et al., 2010). De acordo com modelagem realizada pela Organização Mundial de Saúde em 2013 estima-se que mundialmente ocorram anualmente 873000 casos humanos com 48600 mortes (ABELA-RIDDER; BERTHERAT; DURSKI, 2013).

A fase de incubação pode variar entre três dias até um mês e as apresentações clínicas são bastante variáveis. Considerada uma doença bifásica, a primeira fase, chamada de leptospirêmica tem duração de três a sete dias, enquanto a segunda é chamada de fase imune e pode ser clinicamente inaparente, com duração de um mês ou mais e corresponde a produção de IgM circulante.

Clinicamente, a doença é dividida em não-ictérica e ictero-hemorrágica (JONG; SANFORD, 2008).

Na apresentação não ictérica em geral os pacientes apresentam febre, dores de cabeça, mialgia e sufusão conjuntival. Sintomas gastrointestinais e respiratórios podem ocorrer e incluem dor abdominal, náuseas, vômito, diarreia, tosse e dores no peito. Aproximadamente 10% dos pacientes desenvolvem a forma severa da doença e, na apresentação ictero-hemorrágica os sintomas incluem icterícia, falência renal, hemorragia e insuficiência cardíaca. Uma apresentação que tem se tornado muito comum é o envolvimento pulmonar, na qual os pacientes podem apresentar hemorragia pulmonar, efusão pleural e síndrome de angústia respiratória (JONG; SANFORD, 2008).

Diagnóstico:

A apresentação clínica da leptospirose é inespecífica, em função disso o diagnóstico da leptospirose se alicerça nos resultados laboratoriais que são muitas vezes desafiadores (MUSSO; LA SCOLA, 2013).

Os testes sorológicos são o método mais utilizado para o diagnóstico da leptospirose (ADLER, 2015). A Soroaglutinação Microscópica (SAM) é o teste sorológico de referência, na qual antígenos vivos que representam diferentes sorogrupos reagem com amostras de soro e a leitura é feita através da microscopia de campo escuro (CHIRATHAWORN et al., 2014). O painel de sorovares deve incluir os sorovares locais e caso estes sejam desconhecidos ou sujeitos a mudanças, o painel deve conter sorovares que representem todos os sorogrupos (MUSSO; LA SCOLA, 2013).

A SAM tem limitações no diagnóstico de infecção crônica, tanto no diagnóstico de aborto como na identificação de comprometimento renal ou animais que podem transportar o agente no trato genital, uma vez que os títulos podem estar diminuindo ou estáticos e os animais infectados podem apresentar SAM com títulos abaixo do título mínimo aceito, a saber 100 (ADLER, 2015).

Na fase aguda, a PCR é o teste mais específico e sensível e detecta o DNA no sangue entre 5-10 dias da infecção (ADLER, 2015). A PCR tem como base a detecção de genes universalmente presentes nas bactérias do gênero *Leptospira* como *gyrB*, *secY*, ou genes restritos as espécies patogênicas como *lipL32*, *lfb1*, *ligA* e *ligB2*. Quanto ao tipo de amostra ideal para o diagnóstico molecular, a literatura

mostra que o anel leucocitário é a amostra ideal, seguida do plasma, soro e sangue total respectivamente (MUSSO; LA SCOLA, 2013).

3 OBJETIVOS

- Determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira interrogans* utilizando a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) e seus respectivos títulos, em amostras de soro de tatus de vida livre, provenientes do Pantanal da Nhecolândia;
- Determinar a prevalência de anticorpos anti-*Brucella abortus* utilizando testes preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose animal - PNCEBT;
- Realizar a detecção de *Leptospira interrogans* e *Brucella abortus* através da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue;

Figura 4 – Posicionamento da armadilha do tipo Jequi na toca de um Tatu-Canastra e contenção física de um indivíduo

Fonte: Projeto Tatu-Canastra

Após a captura os indivíduos foram transferidos para caixas de madeira reforçadas com metal, nas quais permaneceram até o momento do manuseio. Os animais capturados foram anestesiados com protocolo estabelecido pelo Projeto Tatu-Canastra, sendo este uma associação de fármacos: butorfanol (0,1 mg/ kg), detomidina (0,1 mg/ kg) e midazolam (0,1 mg/ kg), por via intramuscular, e novamente devolvidos a caixa até o momento da manipulação.

Durante o procedimento anestésico, sinais vitais foram monitorados, como as frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal e saturação de oxigênio. Todos os indivíduos foram submetidos ao exame clínico e a biometria. O sangue foi coletado através de vasos periféricos, da veia safena, femoral ou jugular, com agulha 22 G. Após a colheita, o sangue foi transferido para tubos com gel separador, foram centrifugados e armazenados a -20 °C até serem submetidos aos testes sorológicos e moleculares.

4.3 TESTES LABORATORIAIS

Sorologia

Anticorpos anti-*Leptospira interrogans* foram determinados pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) e sua execução foi realizada de acordo com as normas do Ministério da Saúde (Brasil, 1995). Foi utilizada uma bateria de antígenos vivos, mantidos em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) a 28°C (Quadro 2).

Quadro 2 - Sorovares utilizados na Soroaglutinação Microscópica (SAM)

Sorogrupo	Variante Sorológica
Australis	Australis
Australis	Bratislava
Sejroe	Guaicura
Autumnalis	Autumnalis
Autumnalis	Butembo
Ballum	Castellonis
Canicola	Canicola
Celledoni	Whitcombi
Cynopteri	Cynopteri
Grippotyphosa	Grippotyphosa
Hebdomadis	Hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
Javanica	Javanica
Pamana	Pamana
Pomona	Pomona
Pyrogene	Pyrogene
Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitmo)
Shermani	Shermani
Tarassovi	Tarassovi
Djsiman	Sentot

As amostras de soro foram diluídas a 1:50 em solução salina tamponada pH 7,4. Posteriormente cada amostra (50 µl) foi distribuída em microplacas de poliestireno com 96 poços e adicionou-se 50 µl de antígeno, obtendo-se diluição de 1:100. Cada amostra foi testada aos sorovares citados e as microplacas foram incubadas por três horas a 37 °C.

A leitura foi realizada em microscópio de campo escuro com aumento de 100x, sendo consideradas positivas amostras que apresentassem 50% ou mais de aglutinação. As amostras reagentes foram novamente testadas para o antígeno reagente para a obtenção do título, sendo este caracterizado com a maior diluição que ainda apresentasse 50% ou mais de aglutinação.

Para detecção de anticorpos anti-*Brucella* foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). O antígeno utilizado consiste de uma suspensão células de *B. abortus* na concentração de 8% pH 3.65, corado com rosa bengala. O soro e o antígeno ficaram 30 minutos à temperatura ambiente. Após este período 30 µl do soro foi depositado em uma placa de vidro padrão e 30 µl do antígeno foi depositado ao lado do soro e, a homogeneização do soro e antígeno foi realizada formando círculos de dois cm de diâmetro por quatro minutos. A leitura foi feita sob luz indireta.

Reação em cadeia da Polimerase (PCR)

Para a PCR foram utilizadas amostras de sangue total ou coágulo, o DNA das amostras foi extraído pelo método do Fenol Clorofórmio de acordo com Vieira et al., 2004. A PCR convencional foi executada para amplificar um fragmento de 223 bp do gene que codifica uma proteína de 31 kDa específica para o gênero *Brucella* (Quadro 3) (Baily et al., 1992). Os controles positivos consistiam no DNA de *B. abortus* (vacina RB-51) e como controle negativo foi utilizado água ultrapura. O ciclo utilizado consiste de 5 minutos em 94°C, 45 segundos em 94°C, 45 segundos em 60 °C, 30 segundos em 68°C, 40 ciclos go to e 3 minutos em 68 °C. A leitura do amplificado foi feito utilizando SYBR® safe (Thermo Fisher Scientific®) e o produto amplificado foi lido em gel de agarose 1,5%.

Quadro 3 - Sequência dos *primers* utilizados para o diagnóstico da *Brucella*, segundo Baily et al., 1992

<i>Primers</i>	Sequência (5'-3')
B4	TGGCTCGGTTGCCAATATCAA
B5	CGCGCTTGCCTTTCAGGTCTG

A amplificação do DNA da *Leptospira* foi feita utilizando os primers LEP-1 e LEP-2 (Quadro 4) (Mérien et al., 1992), e os ciclos foram 5 minutos a 94°C, 30 segundos em 94°C, 30 segundos em 60°C, 30 segundos em 72°C, GO to 40x e 5 minutos em 72°C. A leitura do amplificado foi feito utilizando SYBR® safe (Thermo Fisher Scientific®) e o produto amplificado foi lido em gel de agarose 1,5%.

Quadro 4 - Sequência dos *primers* utilizados para o diagnóstico de *L. interrogans*

<i>Primers</i>	Sequência (5'-3')
LEP 1	CGCGGCGCGTCTTAAACATG
LEP 2	TTCCCCCATTGAGCAAGATT

5 Resultados e Discussão

Não foi observado produto amplificado pela PCR em nenhum animal testado, da mesma forma, nenhum tatu apresentou anticorpos anti-*Brucella* pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Na sorologia para *L. Interrogans* foi encontrada prevalência de 31,25 % (5/16) em *Euphractus sexcinctus* e 18,18% (4/22) em *Priodontes maximus*. Os indivíduos das espécies *Dasypus novemcinctus* e *Cabassous unicinctus* não apresentaram anticorpos anti-*Leptospira*. O sorovar mais frequente foi Pomona/Pomona e os títulos variaram entre 1:200 a 1:1600 (Quadro 5).

Quadro 5 - Indivíduos positivos pela SAM: espécies, sorovares e variantes sorológicas e seus respectivos títulos

Espécie	Sorogrupo/Variante sorológica	Título
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Pomona/Pomona	1:200
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Autumnalis/Butembo	1:200
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Pomona/Pomona	1:200
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Pomona/Pomona	1:200
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Pomona/Pomona	1:200
<i>Priodontes maximus</i>	Pomona/Pomona	1:400
<i>Priodontes maximus</i>	Pomona/Pomona	1:1,600
<i>Priodontes maximus</i>	Pomona/Pomona	1:800
<i>Priodontes maximus</i>	Cynopteri/Cynopteri	1:800

Os tatus são conhecidamente hospedeiros e reservatórios de alguns agentes zoonóticos, como *Mycobacterium leprae*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sarcocystis* sp. e *Coccidioides immitis* (CARDONA-CASTRO et al., 1999; CORREDOR et al., 2001; TANHAUSER et al., 2001; EULÁLIO et al., 2001). Devido ao pequeno número de investigações sobre doenças nesse grupo, existe uma grande lacuna para a maioria das espécies de tatus, com exceção de *D. novemcinctus* que foi bastante utilizado em estudos experimentais com *M. leprae*.

Os tatus possuem características ecológicas que possibilitam o contato com diversos patógenos e vetores, a importância em conhecer os agentes infecciosos com potencial para causar doença nesse grupo, além de relevante do ponto de vista

da conservação é fundamental para a saúde pública, já que em diversas localidades esses animais são caçados e consumidos pela população.

No Pantanal, diversos estudos investigaram o papel de diferentes espécies de mamíferos silvestres na manutenção das leptospiros nesse bioma. Mathias et al. (1999) encontraram prevalência de 24% de soropositividade em *O. bezoarticus* (veado-campeiro), os sorovares encontrados foram Harjo, Wolffi e Mini.

Jorge et al. (2011) encontraram prevalência de 39,53% em *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) (Autumnalis, Pyrogenes Canicola, Pomona e Australis), *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará) apresentou 37,5% (Autumnalis, Pyrogenes e Canicola), 50% em *Procyon cancrivorous* (mão-pelada) (Canicola, Pomona e Pyrogenes), 28,57% em *Puma concolor* (onça-parda) (Autumnalis e Bratislava), 75% em *Leopardus pardalis* (jaguaritica) (Pomona, Canicola e Pyrogenes), e em um único exemplar de *Speothos venaticus* (cachorro-vinagre) foi reagente para três sorovares (Autumnalis, Pomona e Harjo). Vieira et al. (2016) encontrou prevalência de 80% para *C. thous* (Javanica, Djasiman), 100% para *Nasua nasua* (quati) (Castellonis e Javanica), 66,6% para *O. bezoarticus* (veado-campeiro) (Javanica, Serjoe, Australis, Castellonis) e 90% para *Sus scrofa* (javali) (Djasiman e Pomona).

Da mesma forma, a transmissão da leptospirose tem como importante via de infecção a contaminação ambiental. Considerando-se que a maioria das espécies de tatus tem hábito fossorial, passando grande parte do tempo em contato direto com o solo e matéria orgânica, essas condições possibilitam o contato com um diverso grupo de patógenos. Muitas vezes as tocas construídas pelos tatus são utilizadas por outras espécies. Pesquisa realizada por Desbiez & Kluyber (2013), no período de 2010 a 2012, mostrou que na região do Pantanal 57 espécies utilizaram as tocas construídas por *P. maximus*, dentre elas diversas espécies de pequenos roedores e outros mamíferos como *C. thous* (cachorro-do-mato), *L. pardalis* (jaguaritica), *N. nasu nasua* (quati), *P. cancrivorous* (mão-pelada), *P. concolor* (onça-parda), *S. scrofa* (javali) e *S. venaticus* (cachorro-vinagre).

Outro aspecto que deve ser considerado, é o fato do Pantanal ser uma planície periodicamente inundável com temperatura média anual de 26°C, apresentando assim características altamente propícias à ocorrência das leptospiros, pois este agente sobrevive por mais tempo em ambientes com temperatura elevada e áreas alagadas (PELLEGRIN et al., 1999; VIEIRA et al., 2013; ADLER, 2015).

Considerando agentes infecciosos que são potencialmente transmitidos troficamente, o hábito de se alimentar de outros vertebrados é um fator que deve ser considerado. Quanto ao hábito alimentar, os tatus são agrupados em quatro categorias, carnívoros-onívoros, insetívoros generalistas fossoriais, insetívoros generalistas terrestres e insetívoros generalistas (REDFORD, 1985). Os tatus têm preferência por formigas e cupins, mas quando ocorre escassez desses itens, se alimentam de outros invertebrados, frutas e até pequenos vertebrados (REDFORD, 1985; VAZ et al., 2012). A predação de pequenos vertebrados é bastante descrita na literatura para os gêneros *Dasypus* e *Euphractus* (DA SILVEIRA ANACLETO, 2007; VAZ et al., 2012).

Todos os indivíduos testados na sorologia para brucelose foram negativos, indicando que os animais testados não tiveram contato prévio com *Brucella* até o momento da colheita, resultado igualmente alcançado pela PCR. O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo e existe a necessidade de comercializar produtos de origem animal com baixo risco sanitário. Sugere-se a influência da vacinação massiva para brucelose no rebanho bovino da área de estudo como um dos fatores para esse resultado.

A transmissão da *Brucella* sp. está principalmente associada à contaminação ambiental, sabe-se que podem sobreviver por aproximadamente quatro meses em solo úmido e água (BRASIL, 2006). Dessa forma as características do bioma pantaneiro podem favorecer sua sobrevivência. Na Nhicolândia, a exposição à *B. abortus* foi relatada em *C. thous* (cachorro-do-mato) na prevalência de 13,2%, assim como 8,8%, para *Nasua nasua* (quati) e 1,2% para *Sus scrofa* (javali) (DORNELES et al., 2014; ELISEI, et al., 2010; PAES, et al., 2009). Para as espécies de tatus da região não se conhece a prevalência para esse agente, adicionalmente, até o presente momento nenhum outro estudo foi publicado no Brasil investigando *Brucella abortus* em tatus.

Os testes sorológicos disponíveis para o diagnóstico de *B. abortus* foram padronizados para bovinos, dessa forma, é importante interpretar de forma cautelosa os resultados obtidos. O isolamento bacteriano de *B. suis* biovar 1 realizado na Argentina em *C. villosus*, mostra que a sorologia pode ser de grande valia no monitoramento do agente. Importante ressaltar que a associação do diagnóstico direto confere maior especificidade ao diagnóstico.

A literatura disponível é bastante escassa a respeito de agentes infecciosos para a família Dasypodidae. Segundo a União Internacional para a Conservação das Espécies (IUCN), no Brasil a espécie *T. tricinatus* (Tatu-bola) é considerada ameaçada, enquanto *P. maximus* foi classificada como vulnerável. Conhecer os agentes infecciosos circulantes é indispensável para identificar aqueles com potencial para comprometer a sobrevivência das espécies, contribuindo então para uma avaliação de status de conservação realista.

Ressaltamos a importância de novas pesquisas com o objetivo de aumentar o conhecimento acerca de agentes infecciosos nas espécies de tatus, assim como o possível impacto dessas nas populações de vida livre.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O monitoramento de doenças em populações de animais silvestres possibilita a identificação precoce de agentes infecciosos circulantes e permite que medidas de mitigação possam ser executadas eficientemente. Considerando a importância da brucelose e leptospirose para a saúde pública e animal, monitorar a presença desses agentes em populações silvestres, as quais se sabem pouco, é de grande relevância para os programas de vigilância e erradicação.

Os resultados alcançados mostraram que as espécies *P. maximus* e *E. sexcinctus* foram expostos ao agente *Leptospira interrogans*, na Nhecolândia. Embora se desconheça o real papel das espécies de tatus como reservatórios da leptospirose, essas informações contribuem para o conhecimento dos sorovares circulantes no bioma Pantanal. O presente estudo constitui o primeiro esforço investigativo no Brasil, com o intuito de pesquisar a presença de *Brucella* nas espécies de tatus.

REFERÊNCIAS

ABELA-RIDDER, B.; BERTHERAT, E.; DURSKI, K. Global burden of Human Leptospirosis and cross-sectoral interventions for its prevention and control. In: Prince Mahidol Award Conference, 2013, Bangkok, Thailand. **Anais...** 2013. Disponível em: <<http://www.pmaconference.mahidol.ac.th/dmdocuments/2013-pmac-poster-p9-bernadette%20abela-ridder.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

ACHA, N. P.; SZYFRES, B. **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals**. 3. ed. Washington DC: Pan American Health Organization, 2003. 378 p.

ADLER, B. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3, p. 287–296, 2015.

AGUIAR, J. M. Species Summaries and Species Discussions. In: FONSECA, G.; AGUIAR, J. RYLANDS, A.; PAGLIA, A.; CHIARELLO, A.; SECHREST, W. **The 2004 Edentate Species Assessment Workshop**. Edentata. Washington, 2004. p. 24-26.

ANACLETO, T.C.S., CHIARELLO, A.G., MIRANDA, F.R., SILVA, K.F.M., VAZ, S.M.; TIMO, T.P.C. Avaliação do risco de extinção de *Cabassous unicinctus* (Linnaeus, 1758) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. I S.I.: ICMBio, 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/7102-mamiferoscabassous-unicinctus-tatu-de-rabo-mole-pequeno.html>>Oficina de Avaliação do Estafo de Conservação de Xenarthra Brasileiros.html>. Acesso em: 02 jan. 2018.

ALHO, C. J. R.; CAMARGO, G.; FISCHER, E. Terrestrial and aquatic mammals of the Pantanal. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 297-310, 2011.

ALSHAALAN, M. A.; ALALOLA, S. A.; ALMUNEEF, M. A.; ALBANYAN, E. A.; BALKHY, H. H.; ALSHAHRANI, D. A.; ALJOHANI, S. Brucellosis in children: Prevention, diagnosis and management guidelines for general pediatricians endorsed by the Saudi Pediatric Infectious Diseases Society (SPIDS). **International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine**, v. 1, n. 1, p. 40–46, 2014.

BAILY, G. G.; KRAHN, B. J.; STOKER, G. N. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, p. 271-275, 1992.

BULGIN, M. S.; ANDERSON, B. C. Association of sexual experience with isolation of various bacteria in cases of ovine epididymitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.182, p. 372–374, 1983.

BISCOLA, N. P.; FORNAZARI, F.; SAAD, E.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; CAMPAGNER, M. V.; LANGONI, H.; BARRAVIERA, B.; FERREIRA, R. S. Serological investigation and PCR in detection of pathogenic leptospire in snakes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 806–811, 2011.

BOSCHIROLI, M. L.; OUAHRANI-BETTACHE, S.; FOULONGNE, V.; MICHAUX-CHARACHON, S.; BOURG, G.; ALLARDET-SERVENT, A.; CAZEVIEILLE, C.; LIAUTARD, J. P.; RAMUZ, M.; O'CALLAGHAN, D. The *Brucella suis* virB operon is induced intracellularly in macrophages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 3, p. 1544–1549, 2002.
Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC122227/>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

BOURHY, P.; COLLET, L.; BRISSE, S.; PICARDEAU, M. *Leptospira mayottensis* sp. nov., a pathogenic species of the genus *Leptospira* isolated from humans. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. 2014, p. 4061–4067, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT**. Brasília, DF, 2006.

CÁCERES, N. C.; HANNIBAL, W.; FREITAS, D. R.; SILVA, E. L.; ROMAN, C.; CASELLA, J. Mammal occurrence and roadkill in two adjacent ecoregions (Atlantic Forest and Cerrado) in south-western Brazil. **Zoologia**, v. 27, n. 5, p. 709–717, 2010.

CARDONA-CASTRO, N.; BELTRÁN, J.C.; ORTIZ-BERNAL, A.; VISSA, V. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) from the Andean region of Colombia. **Leprosy Review**, v.80, p. 424-431, 2009.

CASTRUCCI, G. *Brucella melitensis*. In: **Diseases of Sheep**. 4. Ed. Oxford:Blackwell

Publishing, 2007. p.149 - 158.

CELLI, J.; SALCEDO, S. P.; GORVEL, J.-P. *Brucella* coopts the small GTPase Sar1 for intracellular replication. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 5, p. 1673–1678, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC547823/>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

CHAGAS, A. T. A.; DA COSTA, A. M.; MARTINS, V. P. A.; RESENDE, C. L.; KALAPOTHAKIS, E. Illegal hunting and fishing in Brazil: a study based on data provided by environmental military police Aline. **Natureza & Conservação**, v. 3, p. 183–189, 2015.

CHARON, W. N.; GOLDSTEIN, F.S. Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: the spirochetes. **Annual Review of Genetics**, v. 36, p. 47 - 73, 2002.

CHAIN, P. S. G.; COMERCI, D. J.; TOLMASKY, M. E.; LARIMER, F. W.; Malfatti, S. A.; VERGEZ, L. M.; AGUERO, F.; LAND, M. L.; UGALDE, R. A.; GARCIA, E. Whole-Genome Analyses of Speciation Events in Pathogenic Brucellae. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 12, p. 8353–8361, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1307078/>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

CHAN, J.; BAXTER, C.; WENMAN, W. M. Brucellosis in an Inuit Child, Probably Related to Caribou Meat Consumption. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 337–338, jan. 1989.

CHIARELLO, A.G, ROHE. F., MIRANDA, F.R., MOURÃO, G.M., SILVA, K.F.M. & ANACLETO, T.C.S. Avaliação do risco de extinção de *Priodontes maximus* (kerr, 1792) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira.S.I.: ICMBio, 2015. < Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/7014-priodontesmaximus.html>>. Acesso em: 04 jan. 2018.

CHIRATHAWORN, C.; INWATTANA, R.; POOVORAWAN, Y.; SUWANCHAROEN, D. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. October 2016, p. S162–S164, 2014.

CORBEL, M. J. **Brucellosis in humans and animals**. Geneva, Switzerland: WHO Library catalogue in publication, 2006. p.102.

CORBEL, M. J.; BRINLEY-MORGAN, W. J. Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 25, p. 83–89, 1975.

CORBEL, M. J.; BRINLEY-MORGAN, W. J. Genus *Brucella*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins, p. 377–388, 1984.

CORREDOR, G. G.; CASTAÑO, J. H.; PERALTA, L. A.; DÍEZ, S.; ARANGO, M.; MCEWEN, J.; RESTREPO, A. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*), in an endemic area for paracoccidioidomycosis in Colombia. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.16,p.216-20, 1999.

Da SILVA, C. R.; ZETUN, B. C.; BOSCO, G. M. S.; BAGAGLI, E.; ROSA, P. S.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. **Veterinary Parasitology**, v. 157, p. 291-293, 2008.

DA SILVEIRA ANACLETO, T. C. Food habits of four armadillo species in the Cerrado area, Mato Grosso, Brazil. **Zoological Studies**, v. 46, n. 4, p. 529–537, 2007.

DASZAK, P. Emerging Infectious Diseases of Wildlife: Threats to Biodiversity and Human Health. **Science**, v. 287, n. 5452, p. 443–449, 2007.

DAVIDSON, A. P.; SYKES, J. E. Canine Brucellosis. In: **Canine and Feline Infectious Diseases**. Saint Louis: W.B. Saunders, p. 512–519, 2014.

DEZBIEZ, A.J.L.; KLUYBER, D. The role of Giant armadillos (*Priodontes maximus*) as physical ecosystem engineers. **Biotropica**, v. 45, p. 537-540, 2013.

DE FIGUEIREDO, P.; FICHT, T. A.; RICE-FICHT, A.; ROSSETTI, C. A.; ADAMS, L. G. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: Review of *Brucella*-host interactions. **American Journal of Pathology**, v. 185, n. 6, p. 1505–1517, 2015.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

DE PAULA ANTUNES, J. M. A.; MEGID, J. *Brucella ovis*: Invasão, tráfego, fatores de virulência e resposta imune. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1301–1312, 2013.

DELVECCHIO, V. G.; KAPATRAL, V.; REDKAR, R. J.; PATRA, G.; MUJER, C.; LOS, T.; IVANOVA, N.; ANDERSON, I.; BHATTACHARYYA, A.; LYKIDIS, A.; REZNIK, G.; JABLONSKI, L.; LARSEN, N.; D'SOUZA, M.; BERNAL, A.; MAZUR, M.; GOLTSMAN, E.; SELKOV, E.; ELZER, P. H.; HAGIUS, S.; O'CALLAGHAN, D.; LETESSON, J.-J.; HASELKORN, R.; KYRPIDES, N.; OVERBEEK, R. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 1, p. 443–448, 2002. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.221575398>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

DIERAUF, L. A.; VANDENBROEK, D. J.; ROLETT, J.; KOSKI, M.; AMAYA, L.; GAGE, L. J. Leptospirosis Epizootic among California Sea Lions. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 187, n. 11, p. 1145–1148, 1985.

DORNELES, E.M.S.; PELLEGRIN, A.O.; SCHABIB PÉRES, I.A.H.F.; MATHIAS, L.A.; MUORÃO, G.; BIANCHI, R.C.; OLIFIERS, N.; ROCHA, F.L.; LAGE, A. P. Serology for brucellosis in free-ranging crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) and brown-nosed coatis (*Nasua nasua*) from Brazilian Pantanal. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2193-2196, 2014.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the Neotropics: The Central Neotropics. Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil**. Chicago: The University of Chicago Press, 1999.

EISENBERG, T.; RIBE, K.; SCHAUERTE, N.; GEIGER, C.; BLOM, J.; SCHOLZ, H. C. Isolation of a novel “atypical” *Brucella* strain from a bluespotted ribbontail ray (*Taeniura lymma*). **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 110, n. 2, p. 221–234, 2017.

EL BIZRI, H. R.; MORCATTY, T. Q.; LIMA, J. J. S.; VALSECCHI, J. The thrill of the chase: Uncovering illegal sport hunting in Brazil through youtube™ posts. **Ecology and Society**, v. 20, n. 3, 2015.

ELISEI, C.; PELLEGRIN, A.; TOMAS, W.M.; SOARES, C.O.; ARAÚJO, F.R.; FUNES-HUACCA, M.E.; ROSINHA, G.M.S. Evidência molecular de *Brucella* spp. em *Ozotoceros bezoarticus* (veado-campeiro) do Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.503- 509, 2010.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a Cause of Reproductive Failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 10, n. 3, p. 463–478, 1994.

EULÁLIO, K. D.; DE MACEDO, R. L.; CAVALCANTI, M. A.; MARTINS, L. M.; LAZÉRA, M. S.; WANKE, B. *Coccidioides immitis* isolated from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in the state of Piauí, northeast Brazil. **Mycopathologia**, v. 149. p.57-61, 2001.

EVANGELISTA, K.; COBURN, J. *Leptospira* as an emergin pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future Microbiology**, v. 5, n. 9, p. 1413–1425, 2010.

EVERARD, C. O. R.; CARRINGTON, D.; KORVER, H.; EVERARD, J. D. Leptospire in the Marine Toad (*Bufo Marinus*) on Barbados. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 2, p. 334–338, 1988.

EWALT, D. R.; PAYEUR, J. B.; MARTIN, B. M.; CUMMINS, D. R.; MILLER, W. G. Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 4, p. 448–452, 1994.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.A. & PEROLAT, P. *Leptospira* and leptospirosis. **Medicine and Science**, p. 296, 1999.

FARIA-CORRÊA, M.A, SILVA, K.F.M., ANACLETO, T.C.S. & TIMO, T.P.C. Avaliação do risco de extinção de *Dasypus septemcinctus* Linnaeus, 1759 no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira.S.I.: ICMBio, 2015. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/7107-mamiferosdasypus-septemcinctus.html>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

FEIJÓ, A.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Taxonomic revision of the *Dasypus kappleri* complex , with revalidations of *Dasypus*. **Zootaxa**, v. 2, n. September, p. 271–297, 2016.

FICHT, T. *Brucella* taxonomy and evolution. **Future Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 859–866, 2011.

FIGUEREDO, I. F.; ALVES, C. J.; SILVA, L. C. A.; OLIVEIRA, R. M.; AZEVEDO, S. S. Leptospirose suína: uma importante causa de falhas e perdas reprodutivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, p. 344–353, 2013.

FISCHER, D.; LORENZ, N.; HEUSER, W.; KÄMPFER, P.; SCHOLZ, H. C.; LIERZ, M. Abscesses associated with a *Brucella inopinata*-like bacterium in a big-eyed tree frog (*Leptopelis vermiculatus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 43, n. 3, p. 625–628, 2012. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1638/2011-0005R2.1>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

FOSTER, G.; OSTERMAN, B. S.; GODFROID, J.; JACQUES, I.; CLOECKERT, A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 2688–2693, 2007.

FRANCO, M. P.; MULDER, M.; GILMAN, R. H.; SMITS, H. L. Human brucellosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 1473, p. 775–786, 2007.

GIUFFRIDA, R.; PAES, C. A.; DA SILVA, R. C. Doenças infecciosas da reprodução. In: PIRES, A. V. (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 960–970.

GODFROID, J. Brucellosis. In: Dolorés Gavier-Widen, D.; Meredith, A.; J. Paul Duff, J. P. **Infectious Diseases of Wild Mammals and Birds in Europe**. s.l.: Wiley-Blackwell, 2012. p. 318–328.

GODFROID, J.; CLOECKAERT, A.; LIAUTARD, J. P.; KHOLER, S.; FRETIN, D.; WALRAVENS, K.; GARIN-BASTUJI, B.; LETESSON, J. J. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. **Veterinary Research**, v. 36, p. 313–326, 2005.

GORTÁZAR, C.; FERROGLIO, E.; HÖFLE, U.; FRÖLICH, K.; VICENTE, J. Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. **European Journal of Wildlife Research**, v. 53, p. 241–256, 2007.

GRAVEKAMP, C.; KORVER, H.; MONTGOMERY, J.; EVERARD, C. O. R.; CARRINGTON, D.; ELLIS, W. A.; TERPSTRA, W. J. Leptospire Isolates from Toads and Frogs on the Island of Barbados. **Zentralblatt für Bakteriologie**, v. 275, n. 3, p. 403–411, 1991.

HARTSKEERL, R. A.; COLLARES-PEREIRA, M.; ELLIS, W. A. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: Dynamics of infection in the changing world. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 4, p. 494–501, 2011.

HATHAWAY, S. C. Leptospirosis in New-Zealand - an Ecological View. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, n. 7, p. 109–112, 1981.

HATHAWAY, S. C.; ELLIS, W. A.; LITTLE, T. W.; STEVENS, A. E.; FERGUSON, H. W. *Leptospira interrogans* serovar hardjo in pigs: a new host-parasite relationship in the United Kingdom. **Veterinary Record**, n. 113, p. 153–154, 1983.

JONG, E. C.; SANFORD, C. **The Travel and Tropical Medicine Manual**. S.I: Elsevier, 2016. p.664.

JORGE, R. S.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; VASCONCELLOS, S. A.; LIMA EDE, S.; MORAIS, Z. M.; SOUZA, G. O. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.106, p.441–444, 2011.

KEESING, F.; BELDEN, L. K.; DASZAK, P.; DOBSON, A.; HARVELL, C. D.; HOLT, R. D.; HUDSON, P.; JOLLES, A.; JONES, K. E.; MITCHELL, C. E.; MYERS, S. S.; BOGICH, T.; OSTFELD, R. S. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, v. 468, n. 7324, p. 647–652, 2010.

KIMURA, M.; UNE, Y.; SUZUKI, M.; PARK, E.S.; IMAOKA, K.; MORIKAWA, S. Isolation of *Brucella inopinata*-Like Bacteria from White's and Denny's Tree Frogs. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.20, p. 110-124, 2017.

KIN, S.J.; FORT, M.; DE ECHAIDE, T.S.; CASANAVE, B.E. *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina. **Veterinary Microbiology**, v.170, p.442- 445, 2014.

KIN, S. M.; BRIHUEGA, B.; FORT, M.; DELGADO, F.; BEDOTTI, D.; CASANAVE, B. E. Presence of antibodies against *Leptospira* serovars in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae), La Pampa province, Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia**, v.47, p. 41 -46, 2015.

KREIZINGER, Z.; FOSTER, J. T.; RÓNAI, Z.; SÜLYÖK, K. M.; WEHMANN, E.; JÁNOSI, S.; GYURANECZ, M. Genetic relatedness of *Brucella suis* biovar 2 isolates from hares, wild boars and domestic pigs. **Veterinary Microbiology**, v. 172, n. 3–4, p. 492–498, 2014.

LAGE, A. P.; POESTER, F. P.; PAIXÃO, T. a; SILVA, T. M. a; XAVIER, M. N.; MINHARRO, S.; MIRANDA, K. L.; ALVES, C. M.; MOL, J. P. S.; SANTOS, R. L. Brucelose bovina : uma atualização. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n.3, p. 202–212, 2008.

LAU, C. L.; SMYTHE, L. D.; CRAIG, S. B.; WEINSTEIN, P. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: Fuelling the fire?. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n.10, p. 631–638, 2010.

LEFEBVRE, B. R. Spiral-Curved Organisms V: *Leptospira*. In: **Veterinary Microbiology**. 2.ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 148–152.

LEISER, O. P.; CORN, J. L.; SCHMIT, B. S.; KEIM, P. S.; FOSTER, J. T. Feral swine brucellosis in the United States and prospective genomic techniques for disease epidemiology. **Veterinary Microbiology**, v.166, p.1–10, 2013.

LETESSON, J. J.; LESTRATE, P.; DELRUE, R. M.; DANESE, I.; BELLEFONTAINE, F.; FRETIN, D.; TAMINIAU, B.; TIBOR, A.; DRICOT, A.; DESCHAMPS, C.; HAINE, V.; LEONARD, S.; LAURENT, T.; MERTENS, P.; VANDENHAUTE, J.; DE BOLLE, X. Fun stories about *Brucella*: The “furtive nasty bug”. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p.317–328, 2002.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology**, v.14, n.2, p.296–326, 2001.

LEVETT, P. N.; MOREY, R. E.; GALLOWAY, R.; STEIGERWALT, A. G.; ELLIS, W. A. Reclassification of *Leptospira parva* (Hovind-Hougen et al., 1982) as *Turneriella parva* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n. 55, p.1497–1499, 2005.

LIAUTARD, J. P.; GROSS, A.; DORNAND, J.; KÖHLER, S. Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp. **Microbiologia (Madrid, Spain)**, v. 12, n. 2, p. 197–206, 1996.

LINS, Z.C.; LOPES, M.L. Isolation of *Leptospira* from wild forest animals in Amazonian Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, p.124-126, 1984.

MANDELL, G.; BENNETT, J.; DOLIN, R. **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. 7th Editio ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

MATHIAS, A. L.; GIRIO, R.J.S.; DUARTE, M. B. Survey for antibodies against *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in Pampas deer from Brazil. **Journal of Wildlife diseases**, v. 35, p. 112-114,1999.

MEDRI, M. I.; MOURÃO, M. G.; RORIGUES, G. H. F. Ordem Cingulata. In: REIS, R. N.; PERACCHI, L. A.; PEDRO, A. W.; LIMA, P. I. **Mamíferos do Brasil**. 2 ed ed, 2011.p. 75–86.

MEHMET, D.; AYGEN, B. Human brucellosis : an overview. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 7, n. 3, p. 173–182, 2003.

MESNER, O.; RIESENBERG, K.; BILIAR, N.; BORSTEIN, E.; BOUHNİK, L.; PELED, N.; YAGUPSKY, P. The many faces of human-to-human transmission of brucellosis: congenital infection and outbreak of nosocomial disease related to an unrecognized clinical case. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 12, p. e135--e140, 2007.

MILLER, M.A.; BURGESS, T.L.; DODD, E.M.; RHYAN, J.C.; JANG, S.S.; BYRNE, B.A.; GULLAND, F.M.; MURRAY, M.J.; TOY-CHOUTKA, S.; CONRAD, P.A.; FIELD, C.L.; SIDOR, I.F.; SMITH, W.A. Isolation and characterization of a novel marine *Brucella* from a Outhern Sea Otter (*Enhydra lutris nereis*), California, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 53, p. 215-227, 2017.

MIRANDA, F. & COSTA, M.A. Xenarthra (Tamanduá, Tatu, Preguiça). In: SILVA, R. C. J. ; CATÃO-DIAS, J.L.; CUBAS, S. Z. **Tratado de Animais Selvagens**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2007. p: 707 - 722.

MIRANDA, F.R; ROHE, F. ; VAZ, S.M. ; ANACLETO, T.C.S & TIMO, T.P.C. Avaliação do risco de extinção de *Dasypus kappleri* Krauss, 1862 no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. S.L.:ICMBio. 2015 Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/7104-mamiferosdasypus-kappleri-tatu-de-quinze-quilos.html>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

MORIYÓN, I.; LÓPEZ-GOÑI, I. Structure and properties of the outer membranes of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. **International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology**, v.1, p.19–26, 1998.

MOTIE, A.; MYERS, M.D.; STORRS, E.E. Serologic Survey for Leptospire in Nine-banded Armadillos (*Dasypus novemcinctus* L.) in Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v.22, p.423-424, 1986.

MUSSO, D.C. ; LA SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.46, n.4, p. 245–252, 2013.

MYERS, D.M.; CAPARO, A.C.; MORENO, J.P. Aislamiento del serotipo *Hardjo* y otras leptospiras de armadillos de Argentina. **Boletín de la Sanitaria Panamericana**, v.83, p.56---65, 1977.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 447–459, 2002.

NISHIKAKU, S.A., PERAÇOLI, S.T.M., BAGAGLI, E., SUGUZAKI, F.M. & SARTORI, A. Experimental infections with *Paracoccidioides brasiliensis* obtained from Armadillos: Comparison to Clinical Isolates. **The Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 12,p. 57 – 62, 2008.

NORMAN, S. A.; DIGIACOMO, R. F.; GULLAND, F. M.; MESCHKE, J. S.; LOWRY, M. S. Risk factors for an outbreak of leptospirosis in California sea lions (*Zalophus californianus*) in California. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n.4, p.837–844, 2008.

NOWAK, R. M. **Walker's Mammals of the World**. 6. ed. London: The Johns Hopkins University Press, 1999.

OLIVEIRA, J. S.; LIMA, R. C. P. Leptospirose em suínos: etiologia, diagnóstico e controle (revisão). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.2, n.1, p.119–128, 1996.

OSTERMAN, B.; MORIYÓN, I. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Minutes of the meeting, 17 September 2003, Pamplona, Spain. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, n.5, p.1173–1175, 2006.

PAES, R.C.S.; RIBEIRO, O.C.; MONTEIRO, L.A.R.C.; FIGUEIREDO, A.O.; NETO, A.A.C.; OLIVEIRA, J.M.; DA ROSA, G.O.; KEUROGLIAN, A.; PIOVEZAN, U.; HERRERA, H.M. Enfermidades de Ocorrência no Porco Monteiro (*Sus scrofa*) no Pantanal Sul-Mato-Grossense, Brasil. **Suiform Soundings**, v.9, p.29-34, 2009.

PAULSEN, I. T.; SESHADRI, R.; NELSON, K. E.; EISEN, J. A.; HEIDELBERG, J. F.; READ, T. D.; DODSON, R. J.; UMayAM, L.; BRINKAC, L. M.; BEANAN, M. J.; DAUGHERTY, S. C.; DEBOY, R. T.; DURKIN, A. S.; KOLONAY, J. F.; MADUPU, R.; NELSON, W. C.; AYODEJI, B.; KRAUL, M.; SHETTY, J.; MALEK, J.; VAN AKEN, S. E.; RIEDMULLER, S.; TETTELIN, H.; GILL, S. R.; WHITE, O.; SALZBERG, S. L.; HOOVER, D. L.; LINDLER, L. E.; HALLING, S. M.; BOYLE, S. M.; FRASER, C. M. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 20, p. 13148–13153, 2002.

PELLEGRIN, A. O.; GUIMARAES, P. H. da S.; SERENO, J. R. B.; FIGUEIREDO, J. P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. **Comunicado Técnico**, n. 67, p.1–9, 1999.

PILO, C.; TEDDE, M. T.; ORRÙ, G.; ADDIS, G. *Brucella suis* infection in domestic pigs in Sardinia (Italy). **Epidemiology and Infection**, p. 2170–2177, 2015.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P. J. Spirochaetes. In: **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. Second ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2015. p. 354–359.

RADDI, G.; MORADO, D. R.; YAN, J.; HAAKE, D. A.; YANG, X. F.; LIU, J. Three-dimensional structures of pathogenic and saprophytic *Leptospira* species revealed by cryo-electron tomography. **Journal of Bacteriology**, v.194, n.6, p.1299–1306, 2012.

REDFORD, K. H. Food habits of armadillos (Xenarthra: Dasypodidae). In: **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. [s.l: s.n.]p. 229–237.

REDFORD, K. H.; M., W. R. *Euphractus sexcinctus*. Mammalian Species. **Northampton**, v. 252, p.1–4, 1985.

REIS, M.L, MOURÃO, G.M., VAZ, S.M., BELENTANI, S.C.S. & ANACLETO, T.C.S. Avaliação do risco de extinção de *Tolypeutes matacus* (Desmarest, 1804) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. S.I.: ICMBio, 2015. ível em: < <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies/7112-mamiferos-tolypeutes-matacus-tatu-bola.html>. 2015>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

RHYAN, J. C.; AUNE, K.; ROFFE, T.; EWALT, D.; HENNAGER, S.; GIDLEWSKI, T.; OLSEN, S.; CLARKE, R. Pathogenesis and epidemiology of brucellosis in yellowstone bison: serologic and culture results from adult females and their progeny. **Journal of Wildlife Diseases**, v.45, n.3, p.729–739, 2009.

RHYAN, J. C.; QUINN, W. J.; STACKHOUSE, L. S.; HENDERSON, J. J.; EWALT, D. R.; PAYEUR, J. B.; JOHNSON, M.; MEAGHER, M. Abortion caused by *Brucella abortus* biovar 1 in a free-ranging bison (*Bison bison*) from Yellowstone National Park. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 30, n. 3, p. 445–6, 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7933293>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

RODRIGUES, G.H.F.; MEDRI, M.I., TOMAS, M.W.; MOURÃO, M.G. **Revisão do Conhecimento sobre Ocorrência e Distribuição de Mamíferos do Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002.

ROFFE, T. J., J. C.; RHYAN, K.; AUNE, L. M.; PHILO, D. R.; GILLEWSKI, T. Brucellosis in Yellowstone National Park bison: quantitative serology and infection. **The Journal of Wildlife Management**, v. 63, p.1132–1137, 1999.

ROSS, H. M.; FOSTER, G.; REID, R. J.; JAHANS, K. L.; MACMILLAN, A. P. *Brucella* species infection in sea-mammals. **The Veterinary Record**, v.134, n.14, p.359, 1994.

RUSH, W. M. Bang's disease in Yellowstone National Park buffalo and elk herds. **Journal of Mammalogy**, v.13, p.371–372, 1932.

SANTOS, S.A. Aspectos Agro e Zoológicos. In: **Sistema de produção de gado de**

corte do Pantanal. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. p.14-17.

SALYER, S. J.; SILVER, R.; SIMONE, K.; BARTON BEHRAVESH, C. Prioritizing Zoonoses for Global Health Capacity Building—Themes from One Health Zoonotic Disease Workshops in 7 Countries, 2014–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n.13, p.2014–2016, 2017.

SCHOLZ, H. C.; HUBALEK, Z.; SEDLÁČEK, I.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; MELZER, F.; KÄMPFER, P.; HEUBAUER, H.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M. S.; WHATMORE, A. M.; FALSEN, E.; BAHN, P.; GÖLLNER, C.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, H. J.; NÖCKLER, K. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.58, n. 2, p.375–382, 2008.

SCHOLZ, H. C.; NOCKLER, K.; BAHN, P.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; KAMPFER, P.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M. S.; WHATMORE, A. M.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, H. J.; DE, B. K. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n.4, p. 801–808, 2010.

SCHOLZ, H. C.; REVILLA-FERNÁNDEZ, S.; DAHOUK, S. AI; HAMMERL, J. A.; ZYGMUNT, M. S.; CLOECKAERT, A.; KOYLASS, M.; WHATMORE, A. M.; BLOM, J.; VERGNAUD, G.; WITTE, A.; AISTLEITNER, K.; HOFER, E. *Brucella vulpis* sp. Nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2090–2098, 2016.

SCIALFA, E.; BRIHUEGA, B.; VENZANO, A.; MORRIS, E.W.; BOLPE, J.; SCHETTINO, M. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Lycalopex griseus* (South American gray fox) in Argentina shows new MLVA genotype. **Journal of Wildlife Diseases**, n.49, p. 168-172, 2013.

SCHUMAKER, B. A.; PECK, D. E.; KAUFFMAN, M. E. Brucellosis in the Greater Yellowstone area: disease management at the wildlife– livestock interface. **Human–Wildlife Interactions**, v. 6, n. 1, p. 48–63, 2012.

SELEEM, M. N.; BOYLE, S. M.; SRIRANGANATHAN, N. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 392–398, 2010.

SILVA, J.S.V.; ABDON, M.M.; SILVA, M.P. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas subregiões. Encontro sobre sensoriamento remoto aplicado a estudos no Pantanal. Livro de resumos, Corumbá. São José dos Campos, INPE, p. 9 -10, 1995.

SKERMAN, V. B. D.; MCGOWAN, V.; SNEATH, P. H. A. Approved lists of bacterial names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 30, p. 225–420, 1980.

SMITH, C. E. G.; TURNER, L. H.; BIN, J.; ADAM, H. The Effect of pH on the Survival of Leptospire in Water. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 24, p. 35–43, 1961.

STUART, B. P.; CROWELL, W. A.; ADAMS, W. V.; CARLISL, J. C. Spontaneous renal disease in louisiana armadillos (*Dasypus novemcinctus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.13,p.240-244, 1977.

SOLER-LLORÉNS, P. F.; QUANCE, C. R.; LAWHON, S. D.; STUBER, T. P.; EDWARDS, J. F.; FICHT, T. A.; ROBBE-AUSTERMAN, S.; O'CALLAGHAN, D.; KERIEL, A. A *Brucella* spp. Isolate from a Pac-Man Frog (*Ceratophrys ornata*) Reveals Characteristics Departing from Classical Brucellae. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. September, p. 116, 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fcimb.2016.00116/abstract>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

SOUZA JÚNIOR, M.F.S.; PORTELA LOBATO, P.L.Z.; LOBATO, F.C.F.; MOREIRA, C.E.; DE OLIVEIRA, R.R.; LEITE, G.G.; FREITAS, T.D.; DE ASSIS, R.A. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, p.292-294, 2006.

SZONYI, B.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; RAMÍREZ, M.; MORENO, N.; KO, A.; VET. J. An outbreak of severe leptospirosis in Capuchin (*Cebus* spp.) monkeys. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 2, p. 237–239, 2011.

TAKABE, K.; NAKAMURA, S.; ASHIHARA, M.; KUDO, S. Effect of osmolarity and viscosity on the motility of pathogenic and saprophytic *Leptospira*. **Microbiology and Immunology**, v. 57, p. 236–239, 2013.

TANHAUSER, S.M. ; CHEADLE, M.A.; MASSEY, E.T.; MAYER, B.A.; SCHROEDTER, D.E.; DAME, J.B.; GREINER, E.C.; MACKAY, R.J. The nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*) is naturally infected with *Sarcocystis neurona*. **International Journal of Parasitology**, v.31, p. 325-329, 2001.

THORNE, T. E. Brucellosis. In: **Infectious Diseases of Wild Mammals**. Third ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2001. p. 372–389.

TORTEN, M.; SHENBERG, E.; VAN DER HOEDEN, J. The Role of Birds in the Epidemiology of Leptospirosis. **Tropical and Geographical Medicine**, v. 17, n. 4, p. 353–358, dez. 1965.

TRUEBA, G.; ZAPATA, S.; CULLEN, P.; HAAKE, D.; TRUEBA, G. Cell aggregation : a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive. p. 35–40, 2004.

VAZ, V. C.; SANTORI, R. T.; JANSEN, A. M.; DELCIELLOS, A. C.; D'ANDREA, P. S. Notes on Food Habits of Armadillos (Cingulata, Dasypodidae) and Anteaters (Pilosa, Myrmecophagidae) at Serra Da Capivara National Park (Piauí State, Brazil). **Edentata**, v. 13, n. 1, p. 84–89, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5537/020.013.0107>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.

VIEIRA, A.S. **Levantamento de *Leptospira* spp em animais silvestres do Pantanal Sul-Mato-Grossense por meio de técnicas sorológicas e moleculares**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em ciências veterinárias) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2011.

VIEIRA, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; VASCONCELLOS, S. A.; DE MOARIS, Z. M.; VIANA, R. C.; DE OLIVEIRA, C. E.; SOARES, C. O.; DE ARAÚJO, F. R.; MOURÃO, G. M.; DE CASSIA BIANCHI, R.; OLIFIERS, N.; MERTINS, V. R.; ROCHA, F. L.; PELLEGRIN, A. O. Identificação de mamíferos silvestres do pantanal sul-mato-grossense portadores de *Leptospira* spp. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 373–380, 2013.

VIEIRA, A.S.; NARDUCHE, L.; MARTINS, G.; SCHABIB PÉRES, I.A.; ZIMMERMANN, N.P.; JULIANO, R.S.; PELLEGRIN, A.O.; LILENBAUM, W. Detection of wild animals as carriers of *Leptospira* by PCR in the Pantanal biome, Brazil. **Acta Tropica**, v. 163, n. 87-89, 2016.

VIZCAÍNO, S. F.; LOUGHRY, W. J. **The Biology of the Xenarthra**. S.I.: University Press of Florida, 2008. 370 p.

WANKE, M. M. Canine brucellosis. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 195–207, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432004000946>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

WETZEL, R. M. Systematics, distribution, ecology, and conservation of South American Edentates. In: **Mammalian Biology in South America**. Pittsburgh: The University of Pittsburgh, p. 345–375, 1982.

WETZEL, R. M. Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae. In: **The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, p. 23–46, 1985.

WOODROFFE, R. Managing disease threats to wild mammals. **Animal Conservation**, v. 2, p. 185–193, 1999.

WHATMORE, A. M.; DALE, E.-J.; STUBBERFIELD, E.; MUCHOWSKI, J.; KOYLASS, M.; DAWSON, C.; GOPAUL, K. K.; PERRETT, L. L.; JONES, M.; LAWRIE, A.; WHATMORE, C. A. Isolation of *Brucella* from a White's tree frog (*Litoria caerulea*). **Journal of the Microbiology Society Case reports**, n. May 2017, p. 1–5, 2015.

WHATMORE, A. M.; DAVISON, N.; CLOECKAERT, A.; AL DAHOUK, S.; ZYGMUNT, M. S.; BREW, S. D.; PERRETT, L. L.; KOYLASS, M. S.; VERGNAUD, G.; QUANCE, C.; SCHOLZ, H. C.; DICK, E. J.; HUBBARD, G.; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. E. *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. May, p. 4120–4128, 2014.

WRIGHT, A. E.; SMITH, F. On the application of the serum test to differential diagnosis of typhoid and Malta fever. **Lancet**, v. 1, p. 656–659, 1897.

WOBESER, G. Miscellaneous bacterial infections. In: **Infectious Diseases of Wild Mammals**. Third ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2001. p. 498–501.

YINGST, S.; HOOVER, D. L. T Cell Immunity to Brucellosis. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 29, n. 4, p. 313–331, jan. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/713608012>>. Acesso em: 02 de jan. 2018.