VANESSA MIRANDA REIS

Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás

São Paulo

2012

VANESSA MIRANDA REIS

Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás

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

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2012

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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.2737
FMVZ

Reis, Vanessa Miranda
Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre
e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás / Vanessa Miranda Reis.
-- 2012.
41 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo,
2013.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto.

1. *Rickettsia* sp. 2. *Ehrlichia* sp. 3. Canídeos selvagens. 4. Felídeos selvagens. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Pesquisa de *Ehrlichia* spp. e *Rickettsia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás", protocolado sob o nº 2015/2010, utilizando 300 (trezentas) amostras biológicas de canídeos e felídeos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 29/09/2010.

We certify that the Research "Survey of *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. canidae and felidae in wild free life and dogs domestics of the region of Emas National Park, Goiás", protocol number 2015/2010, under the responsibility Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 09/29/2010.

São Paulo, 30 de setembro de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: REIS, Vanessa Miranda

Título: Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás.

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

Data: __/__/__

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos meus amigos, pais, irmãs, irmãos, sobrinhos e noivo,
que participam comigo de todos os meus sonhos, e
querendo ou não, me apoiam em todas as minhas
loucuras e nunca deixam de estender a mão, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus por mais esta conquista na minha vida.

À minha família, pelo incentivo, apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao namorado pela compreensão, carinho, companheirismo e amizade em todo este tempo.

À Mariana Furtado pela oportunidade da realização deste trabalho, amizade, toda orientação e paciência.

Ao pessoal do Instituto Onça-Pintada por cederem as amostras para este projeto.

Ao meu orientador José Soares Ferreira Neto por tornar esta oportunidade realidade, aceitar continuar com uma nova linha de pesquisa e pela paciência e compreensão.

Ao meu colaborador Marcelo Labruna pela compreensão e orientação.

Ao Jonas Moraes-Filho, grande colaborador, meu muitíssimo obrigada por toda ajuda, por tanto tempo demandado a responder minhas dúvidas e auxílio nos testes.

Ao Thiago Martins, por colaborar com os dados dos carrapatos e responder minhas muitas dúvidas.

À Milena Camara pelos artigos, orientações e explicações.

À Cássia Ykuta pelo carinho, amizade, longas conversas, companheirismo, incentivo e passeios.

À Gisele Oliveira, Amane Gonçalves e Sandra Sanches pela amizade e orientações.

À querida Léia pela amizade, carinho, longas conversas, abrigo, companheirismo e incentivo.

À Cássia Del Vale, Nathália Leite, Patrícia Kerr, Laura Assano, Larissa Molinari, Jéssica Domato, Michelle Luciane, Iara Cristina, Bruna Oliveira, Margareth Iazzetti, Dafne Nakazato, Isabel Paiva, Roberto Schick por me incentivarem a continuar sempre nos momentos de desânimo!

Ao pessoal da parasitárias: Renato, Danilo, Herbert, Amália, Marcos, Gisele, João, pela amizade.

Aos novos amigos Alecsandra Tassoni, Alisson Oliveira, Larissa Martins, Larissa Knupp, Marília Giorgete, Jairo Pereira, Patrícia Vicentini por me ensinarem muitas coisas, passeios, conversas e piadas!

“Você não sabe o quanto eu caminhei pra chegar até aqui. Percorri milhas e milhas antes de dormir, eu nem cochilei...” Cidade Negra

RESUMO

REIS, V. M. **Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás.** [Survey of *Rickettsia* sp. and *Ehrlichia* spp. in free ranging wild canids and felids and domestic dogs in the region of Emas National Park, Goiás, Brazil]. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Este estudo teve como objetivo pesquisar a presença de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* sp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas (PNE), Goiás. Os anticorpos detectados através da Reação de Imunofluorescência Indireta utilizando 6 espécies de riquetsias. Amostras de soros de canídeos (140) e felídeos (38) selvagens de vida livre, incluindo lobos-guarás (76), cachorros-do-mato (57), gatos-palheiros (19), jaguatiricas (10), raposinhas-do-campo (7), onças-pintadas (4), onças-pardas (4), gato-mourisco (1), e cães domésticos (134) das propriedades rurais do entorno do PNE. Para a detecção de *Ehrlichia* sp. foi realizada a técnica de PCR, utilizando amostras de sangues totais de canídeos selvagens (44), sendo cachorros-do-mato (26), lobos-guarás (16) e raposinhas-do-campo (2) e cães domésticos (17). Amostras de lobos-guarás (29), cachorros-do-mato (12), onças-pardas (2), gatos-palheiros (2), raposinha-do-campo (1) e cachorro doméstico (1) apresentaram títulos para uma ou mais riquetsias testadas. Para *Ehrlichia* sp., 6 cães domésticos apresentaram resultados positivos, com *Ehrlichia canis* com semelhança de 100% com a cepa Uberlândia, pelo sequenciamento do gene *dsb*. Este é o primeiro relato de detecção de anticorpos, sugerindo provável exposição a *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. parkeri* em lobos-guarás, cachorros-do-mato e onças-pardas; *R. parkeri* em raposinhas-do-campo; *R. amblyommii* e *R. parkeri* em gatos-palheiros; *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. rhipicephali* em jaguatiricas. Não houve evidências que comprovassem ou mesmo sugerissem a transmissão desses patógenos entre animais silvestres e domésticos.

Palavras-chave: *Rickettsia* spp. *Ehrlichia* spp. Canídeos selvagens. Felídeos selvagens.

ABSTRACT

REIS, V. M. **Survey of *Rickettsia* sp. and *Ehrlichia* spp. in free ranging wild canids and felids and domestic dogs in the region of Emas National Park, Goiás, Brazil.** [Pesquisa de *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* spp. em canídeos e felídeos selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás]. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

This study aimed to investigate the presence of *Rickettsia* sp. and *Ehrlichia* sp. in free-ranging wild canids and felids, and domestic dogs in the region of Emas National Park (ENP), Goiás. The antibodies were detected through Immunofluorescence Assay using 6 rickettsiae species. Serum samples of free-ranging wild canids (140) and felids (38), including maned wolves (76), crab-eating foxes (57), pampas cats (19), ocelots (10), hoary foxes (7), jaguars (4), pumas (4) and jaguarondi (1), and domestic dogs (134) from surrounding farms were tested. For detection of *Ehrlichia* sp., PCR was performed on whole blood samples of canids (44), among crab-eating foxes (26), maned wolves (16) and hoary foxes (2), and domestic dogs (17). Samples of maned wolves (29), crab-eating foxes (12), pumas (2), pampas cats (2), hoary fox (1) and domestic dog (1) presented one or more antibody titers for rickettsiae testing. For *Ehrlichia* spp. detection, 6 domestic dogs showed positive results for *Ehrlichia canis* with 100% similarity to the Uberlândia strain, by sequencing of *dsb* gene. This is the first report of antibodies detection, suggesting probable exposure to *R. amblyommii*, *R. rickettsii*, *R. parkeri* in maned wolves, crab-eating foxes and pumas; *R. parkeri* in hoary foxes; *R. amblyommii* and *R. parkeri* pampas cats; *R. amblyommii*, *R. rickettsii*, *R. rhipicephali* in ocelots. There was no evidence to conclusively prove or even suggest the transmission of pathogens between wild and domestic animals.

Keywords: *Rickettsia* spp. *Ehrlichia* spp. Wild canids. Wild felids.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 MATERIAIS E MÉTODOS	14
2.1 ÁREA DE ESTUDO	14
2.2 ANIMAIS E AMOSTRAS BIOLÓGICAS	15
2.3 ANÁLISE LABORATORIAL	16
3 RESULTADOS	19
4 DISCUSSÃO	26
5 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Os carnívoros selvagens são predadores topo de cadeia alimentar, influenciam no equilíbrio e integridade do ecossistema em que vivem e comportam-se como espécies sentinelas (PITMAN; OLIVEIRA, 2002; CENAP, 2004; AGUIRRE, 2009). No Brasil, a grande maioria dos carnívoros selvagens está ameaçada de extinção, possui status de vulnerável ou até mesmo indefinido (CHIARELLO et al., 2008; IUCN, 2010). Entre as maiores ameaças para essas populações estão a caça, as práticas agrícolas ou florestais, a pecuária, a incidência de queimadas, a redução de presas e a emergência ou re-emergência de doenças infecciosas (MURRAY et al., 1999; POGGIANI; OLIVEIRA, 2002; BLANCOU et al., 2005; FILONI et al., 2006; AGUIRRE, 2009; TONETTI et al., 2009).

Algumas doenças re-emergentes surgem de forma epidêmica, levando a altas taxas de mortalidade e morbidade, e outras, de forma endêmica, restritas a algumas localidades, podendo se disseminar e causar grande impacto na população humana e animal. Entre as doenças infecciosas que emergiram em animais selvagens e domésticos e em humanos nas últimas décadas, estão as riquetsioses e erliquioses (RICHTER et al., 2002; CARDOSO et al., 2006; PÉREZ-OSÓRIO et al., 2006; LABRUNA et al., 2007; PINTER et al., 2008; SAITO et al., 2008; AZEVEDO et al., 2009; BORETTI et al., 2009; MÁRQUEZ; MILLAN, 2009; PENA et al., 2009; GODDARD; VARELA-STOKES, 2009). Transmitidas por vetores artrópodes, as bactérias *Rickettsia* spp. e *Ehrlichia* spp. são parasitas gram-negativas intracelulares obrigatórias e possuem grande importância em saúde pública e animal (WALKER et al., 1996; RAOULT; ROUX, 1997; SCOLA; RAOULT, 1997; KONEMAN et al., 2001; QUINN et al., 2002; CALIC, 2004; LABRUNA et al., 2004; HORTA et al., 2007; MAIOLI et al., 2009; TONETTI et al., 2009; WIDMER, 2009). Esses parasitas são amplamente estudados em cães domésticos, mas pouco se conhece sobre sua ocorrência em carnívoros silvestres.

Há relatos de *Rickettsia* sp. em animais de vida-livre como o lince-ibérico (*Lynx pardinus*), gato-gineto (*Gennetta genetta*), sacarrabos (*Herpestes ichneumon*), texugo (*Meles meles*) e raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*) na Espanha (MARQUEZ; MILAN, 2009), lobos na África do Sul (WOODROFFE; GINSBERG, 1997) e em leões

mantidos em cativeiro na Itália (TORINA et al., 2007). No Brasil *Rickettsia* sp. foi diagnosticada em onças-pintadas de vida livre do Pantanal (WIDMER, 2009).

O diagnóstico de *Ehrlichia* sp. já foi relatado em populações de animais selvagens de vida livre, como chacais (*Canis aureus*) (ALEXANDER et al., 1994), lobos (*Lycaon pictus*) (WOODROFFE; GINSBERG, 1997) e coiotes (*Canis latrans*) (KOCAN et al., 2000) nos Estados Unidos, e em guepardos (*Acinonyx jubatus*) mantidos em cativeiro em Dubai (TARELLO; RICCIER, 2008). No Brasil há descrição de *Ehrlichia* sp. em onça-pintada (*Panthera onca*) de vida livre do Pantanal (WIDMER, 2009), onça-parda (*Puma concolor*) de vida livre do Mato Grosso (FILONI et al., 2006), gato-do-mato, jaguatirica, onça parda, gato-mourisco, tigre, leão, cachorro-do-mato, lobo europeu, cachorro-vinagre provenientes de cativeiro (ANDRÉ et al., 2012).

Acredita-se que as alterações climáticas vivenciadas recentemente, como o aquecimento global, influenciem na epidemiologia das doenças transmitidas por vetores (MUNSON et al., 2008; AGUIRRE et al., 2009). Munson et al. (2008) acreditam que o surto de cinomose, que dizimou 30% da população de leões africanos no Serengeti esteve associado com a alta infecção de *Babesia* spp. encontrada nesses animais, demonstrando que eventos climáticos cada vez mais frequentes podem afetar a sincronização hospedeiro-parasita.

Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo pesquisar a exposição de canídeos e felídeos selvagens de vida livre e de cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás a *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* sp.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O Parque Nacional das Emas (PNE) está localizado no sudoeste do Estado de Goiás, nos limites entre Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Figura 1). É uma das maiores e mais importante Unidades de Conservação do bioma Cerrado, com 132.000 hectares, e habita uma importante e ameaçada diversidade faunística, incluindo espécies como a onça-pintada (*Phantera onca*), a onça-parda (*Puma concolor*), o gato-palheiro (*Leopardus colocolo*) e o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (IOP, s.d.). O parque está localizado em uma área de intensa produção agrícola e rodeado por propriedades rurais, tornando-se uma importante área para estudar a interação entre populações silvestres e domésticas.

Figura 1 – Parque Nacional das Emas

2.2 ANIMAIS E AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras biológicas utilizadas nesse projeto fizeram parte do Programa de Monitoramento de Longa Duração das Populações de Carnívoros da região do Parque Nacional das Emas e entorno desenvolvido pelos pesquisadores da ONG, Instituto Onça-Pintada. Ao longo de 10 anos as amostras foram coletadas com o objetivo de estudar aspectos ecológicos, e epidemiológicos das populações de carnívoros da região (JÁCOMO et al., 2004; FURTADO et al., 2006; FURTADO et al., 2007; JÁCOMO et al., 2009; SILVEIRA et al., 2009).

Os animais foram capturados no PNE e entorno entre janeiro de 1999 a maio de 2009. As capturas de carnívoros de pequeno e médio porte foram realizadas através de armadilhas do tipo gaiola de ferro utilizando galinhas ou pombos como isca viva, ou armadilhas do tipo trampa. Os grandes felinos foram capturados utilizando cães rastreadores treinados (FURTADO et al., 2008). Os animais foram anestesiados com a associação de tiletamina e zolazepam (Zoletil®) em doses específicas para cada espécie. Os animais amostrados apresentaram-se no momento da coleta com condição física ótima ou boa, peso corpóreo adequado e ausência de alteração ou sinal clínico de enfermidade aparente segundo estudos previamente realizados (JÁCOMO et al., 2004; FURTADO et al., 2006; FURTADO et al., 2007; JÁCOMO et al., 2009; SILVEIRA et al., 2009).

Amostras de cães domésticos (*Canis familiaris*) residentes nas propriedades rurais do entorno do PNE foram coletadas durante o período de maio de 2002 a outubro de 2003 e maio de 2008 a novembro de 2008. Os animais domésticos foram amostrados em visitas realizadas às propriedades do entorno do parque com a devida permissão de seus proprietários (Figura 2). Em dois eventos, os cães foram, acidentalmente, capturados nas mesmas armadilhas utilizadas para captura de carnívoros selvagens no interior do parque.

Figura 2 – Parque Nacional das Emas e propriedades rurais do entorno amostradas no presente estudo

Após a coleta, as amostras foram centrifugadas e separadas em sangue total, soro, papa de leucócitos e coágulo. Foram armazenadas no banco de dados do Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) e no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros (CENAP/ICMBio) em freezer a -21°C até a análise laboratorial.

2.3 ANÁLISE LABORATORIAL

Para a detecção de anticorpos anti-rickettsias foram utilizados soros de 140 canídeos e 38 felídeos selvagens de vida livre, sendo 76 lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*), 57 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), 19 gatos-palheiros (*Leopardus colocolo*), 10 jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), 7 raposinhas-do-campo (*Lycalopex vetulus*), 4 onças-pintadas (*Panthera onca*), 4 onças-pardas (*Puma concolor*), e 1 gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*). Além de amostras de 76 canídeos (73 lobos-guarás e 3 cachorros-do-mato) e 5 felídeos (4 jaguatiricas e 1

onça-pintada) previamente capturados e recapturados. Amostras de 117 cães domésticos também foram analisadas. Foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) seguindo a descrição de Zavala-Velazquez et al. (1996). A RIFI é considerada a técnica padrão-ouro recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (CALIC, 2004; GALVÃO et al., 2005), Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2005) e o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC). Possui 70% de sensibilidade e 100% de especificidade (CALIC, 2004; BRASIL, 2005; GALVÃO et al., 2005). As amostras foram testadas para *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. bellii*, *R. rhipicephali*, *R. felis* e *R. amblyommii*, e consideradas sororreagentes ao apresentarem títulos >64 (HORTA et al., 2007). Os conjugados anti-cão e anti-gato domésticos utilizados para esta técnica foram da marca Sigma®, pois ainda não há no mercado anticorpos secundários para as espécies silvestres.

Conforme interpretações padronizadas por Horta et al. (2007), os antígenos de um hospedeiro foram considerados homólogos a uma dada espécie de *Rickettsia* quando o título apresentado para esta foi pelo menos quatro vezes maior que o título mais alto obtido para as demais espécies de *Rickettsia*, determinando assim o antígeno provável responsável pela exposição dos hospedeiros examinados.

Para a detecção de *Ehrlichia* sp. foi utilizada a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) realizada no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia (LABMAS) do VPS/FMVZ/USP seguindo o protocolo descrito por Almeida (2011), utilizando o kit Quiagen®. Cada amostra de DNA foi testada com um par de primers, DSB-330 senso e DSB-720 anti-senso para o gene *dsb* e EHR16SD senso e EHR16SR anti-senso para o gene 16S. Para se aumentar a sensibilidade diagnóstica do teste, um novo primer (DSB-380) foi desenhado para a elaboração da técnica de Nested-PCR, que amplifica um fragmento de 349-pb do gene *dsb* (tabela 1).

Tabela 1 - Primer utilizado na confecção da técnica de Nested-PCR

Par de primer e gene alvo	Especificidade	Sequência de primers (3'-- 5')	Fragmento amplificado
16S EHR16SD EHR16SR	Gênero <i>Ehrlichia</i>	F- GGTACCYACAGAAGAAGTCC R- TAGCACTCATCGTTTACAG	345-bp

Em seguida realizou-se o sequenciamento das amostras positivas, seguindo também o protocolo descrito por Almeida (2011). As amostras positivas foram purificadas utilizando-se ExoSAP-IT (USB® Corporation) e, submetidas ao sequenciamento de DNA utilizando o “Kit Big Dye 3.1”. Foram utilizados sangues totais de 44 amostras de canídeos selvagens, sendo 26 cachorros-do-mato, 16 lobos-guarás e 2 raposinhas-do-campo e 17 cães domésticos.

Por se tratar de um estudo descritivo, as frequências dos animais positivos foram apresentadas com o objetivo de identificar a exposição da população aos patógenos.

3 RESULTADOS

Os resultados obtidos na detecção sorológica de anticorpos anti-*Rickettsia* estão na tabela 2. Os resultados da análise dos títulos de anticorpos para *Rickettsia* spp. encontram-se na tabela 3. Vinte e nove lobos-guarás, doze cachorros-do-mato, duas onças-pardas, dois gatos-palheiros, uma raposinha-do-campo e um cachorro doméstico apresentaram títulos para uma ou mais riquetsias.

Todos os canídeos e felídeos selvagens foram negativos para *Ehrlichia* sp., enquanto 6 cães domésticos foram positivos para o agente (Tabela 4). Pelo sequenciamento genético, os produtos apresentaram 99% de similaridade com as sequências da cepa Uberlândia de *Ehrlichia canis*.

Tabela 2 – Resultados da detecção sorológica de anticorpos anti-*Rickettsia* em canídeos e felídeos selvagens e cães domésticos capturados no Parque Nacional das Emas e entorno entre janeiro de 1999 a maio de 2009

ESPÉCIE	<i>R. felis</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. belli</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rickettsii</i>
Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	4/76 (5,2%)	N	N	46/76 (60,5%)	30/76 (39,4%)	37/76 (48,6%)
Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	N	N	N	17/57 (29,8%)	8/57 (14%)	13/57 (22,8%)
Raposinha-do-campo (<i>Lycalopex vetulus</i>)	N	N	N	3/7 (42,8%)	2/7 (28,5%)	3/7 (48,8%)
Onça-pintada (<i>Panthera onca</i>)	N	3/4 (75%)	N	2/4 (50%)	2/4 (50%)	2/4 (50%)
Onça-parda (<i>Puma concolor</i>)	N	N	N	3/4 (75%)	1/4 (25%)	2/4 (50%)
Gato-palheiro (<i>Leopardus colocolo</i>)	N	N	N	2/19 (10,5%)	3/19 (15,7%)	N
Jagatirica (<i>Leopardus pardalis</i>)	N	5/10 (50%)	N	2/10 (20%)	6/10 (60%)	6/10 (60%)
Gato-mourisco (<i>Puma yagouaroundi</i>)	N	N	N	N	N	N
Cachorro doméstico (<i>Canis familiares</i>)	3/117 (2,5%)	N	N	1/117 (0,8%)	1/117 (0,8%)	N

Legenda: N = negativo

Tabela 3 – Títulos de anticorpos anti-*Rickettsia* sp. das amostras analisadas de canídeos e felídeos selvagens e cães domésticos capturados na região do Parque Nacional das Emas e entorno entre janeiro de 1999 e maio de 2009

(Continua)

IDENTIFICAÇÃO	ESPECIE	SEXO	IDADE	DATA DE COLETA	<i>R. felis</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. belli</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rickettsii</i>	ANTIGENO PROVAVEL
CF48	Cachorro doméstico	M	N/A	21/05/2008	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CT5	Cachorro-do-mato	M	adulto	20/09/2006	N	N	N	N	N	P (128)	<i>R. rickettsii</i>
CT4	Cachorro-do-mato	F	adulto	08/07/2005	N	P (64)	N	N	P (256)	N	<i>R. amblyommii</i>
CT21	Cachorro-do-mato	F	adulto	11/08/2005	N	N	N	P (256)	N	P (1024)	<i>R. rickettsii</i>
CT22	Cachorro-do-mato	F	adulto	06/05/2007	N	N	N	N	P (1024)	N	<i>R. amblyommii</i>
CT30	Cachorro-do-mato	F	adulto	07/11/2007	N	N	N	P (1024)	N	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CT40	Cachorro-do-mato	M	adulto	17/07/2008	N	N	N	P (512)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CT41	Cachorro-do-mato	F	adulto	22/07/2008	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CT43	Cachorro-do-mato	F	subad	N/A	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CT49	Cachorro-do-mato	M	jovem	03/08/2003	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CT52	Cachorro-do-mato	M	adulto	16/08/2004	N	N	N	N	N	P (128)	<i>R. rickettsii</i>
CT54	Cachorro-do-mato	M	adulto	08/05/2005	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CT57	Cachorro-do-mato	M	adulto	06/11/2006	N	N	N	P (128)	N	P (512)	<i>R. rickettsii</i>
CB26	Lobo-guará	F	adulto	09/04/2004	N	N	N	P (512)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB45	Lobo-guará	F	adulto	10/05/2007	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB52	Lobo-guará	M	adulto	10/01/2006	N	N	N	P (1024)	P (128)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB10	Lobo-guará	F	adulto	10/10/2003	N	N	N	P (256)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>

(Continua)

IDENTIFICAÇÃO	ESPECIE	SEXO	IDADE	DATA DE COLETA	<i>R. felis</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. belli</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rickettsii</i>	ANTIGENO PROVAVEL
CB10	Lobo-guará	F	adulto	16/08/2004	N	N	N	P (2048)	P (256)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB32	Lobo-guará	M	adulto	15/07/2007	N	N	N	P (512)	P (64)	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB37	Lobo-guará	F	filhote	01/11/2006	N	N	N	P (1024)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB17	Lobo-guará	F	adulto	31/07/2003	N	N	N	P (1024)	P (64)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB3	Lobo-guará	M	subad	01/04/2002	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB25	Lobo-guará	F	adulto	24/08/2003	N	N	N	P (1024)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB8	Lobo-guará	F	adulto	25/03/2004	N	N	N	P (1024)	N	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB40	Lobo-guará	M	adulto	15/05/2005	N	N	N	P (256)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB40	Lobo-guará	M	adulto	10/07/2007	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB47	Lobo-guará	M	adulto	22/08/2005	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB56	Lobo-guará	M	adulto	25/01/2006	N	N	N	P (1024)	P (128)	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB41	Lobo-guará	M	adulto	29/08/2004	N	P (64)	N	N	P (512)	N	<i>R. amblyommii</i>
CB22	Lobo-guará	F	adulto	08/05/2005	N	N	N	P (256)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB22	Lobo-guará	F	adulto	20/07/2006	N	N	N	P (256)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB43	Lobo-guará	M	adulto	13/08/2006	P (64)	N	N	P (1024)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB34	Lobo-guará	F	adulto	13/06/2004	N	N	N	P (64)	P (64)	P (256)	<i>R. rickettsii</i>
CB48	Lobo-guará	M	adulto	06/05/2007	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB28	Lobo-guará	M	adulto	26/03/2004	N	N	N	P (1024)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>

(Continua)

IDENTIFICAÇÃO	ESPECIE	SEXO	IDADE	DATA DE COLETA	<i>R. felis</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. belli</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rickettsii</i>	ANTIGENO PROVAVEL
CB9	Lobo-guará	M	adulto	12/06/2004	N	N	N	P (1024)	P (256)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB20	Lobo-guará	F	adulto	15/08/2003	N	N	N	P (1024)	P (64)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB20	Lobo-guará	F	adulto	27/03/2004	N	N	N	P (512)	P (128)	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB20	Lobo-guará	F	adulto	13/08/2006	N	N	N	P (1024)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB20	Lobo-guará	F	adulto	15/07/2007	P (64)	N	N	P (1024)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB11	Lobo-guará	F	adulto	21/07/2003	N	N	N	P (1024)	P (256)	N	<i>R. parkeri</i>
CB27	Lobo-guará	M	adulto	27/09/2004	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB27	Lobo-guará	M	adulto	20/05/2005	N	N	N	P (256)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB4	Lobo-guará	M	adulto	03/05/2002	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB4	Lobo-guará	M	adulto	31/07/2003	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
CB5	Lobo-guará	M	adulto	04/05/2003	N	N	N	P (512)	P (128)	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB51	Lobo-guará	F	adulto	24/11/2005	N	N	N	P (4096)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB7	Lobo-guará	M	adulto	01/11/2002	N	N	N	P (512)	P (64)	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB2	Lobo-guará	M	adulto	23/08/2005	N	N	N	P (2048)	P (128)	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB42	Lobo-guará	M	adulto	04/05/2005	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
CB30	Lobo-guará	M	adulto	30/03/2004	N	N	N	P (1024)	N	P (64)	<i>R. parkeri</i>
CB16	Lobo-guará	M	adulto	25/07/2003	N	N	N	P (8146)	N	P (256)	<i>R. parkeri</i>
CB18	Lobo-guará	M	adulto	03/05/2005	N	N	N	P (512)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>

(Conclusão)

IDENTIFICAÇÃO	ESPECIE	SEXO	IDADE	DATA DE COLETA	<i>R. felis</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. belli</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rickettsii</i>	ANTIGENO PROVAVEL
LV5	Raposinha-do-campo	F	adulto	05/07/2003	N	N	N	P (2048)	N	P (256)	<i>R. parkeri</i>
PC4	Onça-parda	M	adulto	30/03/2001	N	N	N	P (1024)	N	P (128)	<i>R. parkeri</i>
PC5	Onça-parda	F	adulto	25/05/2002	N	N	N	P (128)	N	N	<i>R. parkeri</i>
OC8	Gato-palheiro	M	adulto	12/05/2005	N	N	N	P (2048)	P (512)	N	<i>R. parkeri</i>
OC15	Gato-palheiro	M	adulto	13/08/2004	N	N	N	P (512)	P (128)	N	<i>R. parkeri</i>

Legenda: M = macho; F = fêmea; N = negativo; P = positivo

Tabela 4 – Resultados da PCR para detecção molecular de *Ehrlichia* sp. em canídeos selvagens e cães domésticos capturados no Parque Nacional das Emas e entorno entre janeiro de 1999 a maio de 200

ESPÉCIE	PCR	SEQUENCIAMENTO
Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	N	-----
Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	N	-----
Raposinha-do-campo (<i>Lycalopex vetulus</i>)	N	-----
Cachorro doméstico (<i>Canis familiares</i>)	6/17(35,2%)	<i>Ehrlichia canis</i> (Cepa Uberlândia)

Legenda: N = negativo

4 DISCUSSÃO

Este é o primeiro relato de detecção de anticorpos, sugerindo provável exposição de lobos-guarás, cachorros-do-mato e onças-pardas a *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. parkeri*; raposinhas-do-campo a *R. parkeri*; gatos-palheiros a *R. amblyommii* e *R. parkeri* e jaguatiricas a *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. rhipicephali*.

O presente estudo encontrou doze cachorros-do-mato soropositivos para *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. parkeri*. Em cachorros-do-mato de vida livre no Espírito Santo, Almeida (2011) não detectou a presença de nenhum antígeno riquetsial através de técnicas moleculares.

Dentre as riquetsias analisadas *R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. felis* são de maior importância nas Américas por causarem Febre Maculosa (FMB) em humanos (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004; LABRUNA, 2009; PAROLA et al., 2009). Em Quirinópolis, Goiás, foi registrado um único caso humano suspeito de FMB até o presente momento (MARTINS, 2009).

O encontro de *R. parkeri* em cachorro doméstico, cachorro-do-mato, lobo-guará, raposinha-do-campo, onça-parda e gato-palheiro na região do PNE evidencia a circulação e a importância da pesquisa desse agente no Brasil. Até 2004, *R. parkeri* era considerada não patogênica e restrita ao carrapato *A. maculatum*, quando foi relatada pela primeira vez em humanos nos Estados Unidos (PADDOCK et al., 2004). No Brasil, *R. parkeri* já foi identificada infectando carrapatos *A. triste*, porém nenhum caso humano foi confirmado neste estudo, apenas evidências sorológicas em cães, equinos, gambás e capivaras (SILVEIRA et al., 2007). Em 2008, Saito et al. relataram títulos anti-*R. parkeri* de 64 a 65536 em cães domésticos do Sul do Brasil. Quatro lobos-guarás do presente estudo apresentaram títulos de anticorpos para *R. parkeri* quatro vezes maior entre duas ou mais capturas, no período de 1 a 48 meses, demonstrando a circulação do agente na região.

Nenhuma evidência sorologia para *R. bellii* foi encontrada nas espécies estudadas, diferentemente de Widmer et al. (2011) que relataram a exposição de onças-pintadas do Pantanal sul-matogrossense e Fortes (2010) que evidenciou o primeiro relato de *R. bellii* em cães domésticos e capivaras no Paraná.

A frequência de cães domésticos soropositivos encontrada no presente trabalho (3,73%) foi aparentemente inferior a outras áreas não endêmicas (12,9%) (LEMOS et al., 1996) e está de acordo com estudos realizados no estado de Goiás (MARTINS, 2009). Na condição de hospedeiro para os carrapatos vetores da FMB, o cão doméstico pode ser considerado uma importante espécie sentinela em estudos de vigilância epidemiológica, pois são capazes de produzir anticorpos após sobreviverem a infecção por riquetsias do grupo da Febre Maculosa (PADDOCK et al., 2002; SANGIONI et al., 2005; DEMMA et al., 2006).

Muitas vezes, as infecções causadas por riquetsias são subclínicas, portanto, a presença de animais sororreagentes indica a circulação desses agentes em uma determinada área, pelo menos nos últimos 6-12 meses (PIRANDA et al., 2008). Assim, resultados sorológicos positivos não indicam necessariamente uma infecção recente (PADDOCK et al., 2002; SANGIONI et al., 2005).

A circulação de riquetsias na natureza é um processo dinâmico que envolve a participação de diferentes espécies de carrapatos e animais vertebrados, de maneira que a vigilância epidemiológica ativa deve ser adotada continuamente, a fim de determinar precocemente o surgimento de novas áreas endêmicas para riquetsioses, mesmo antes da ocorrência de casos humanos da doença.

Optou-se pela realização da Reação de Imunofluorescência Indireta para o diagnóstico da *Rickettsia* sp., pois trata-se da técnica padrão-ouro pela Organização Mundial da Saúde, Ministério de Saúde do Brasil e pelo *Center for Disease Control and Prevention*. Também é um teste simples e econômico que detecta anticorpos IgM e IgG em amostras pareadas de soro, tanto na fase aguda da doença, como na convalescença (PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

O baixo título de anticorpos encontrados em um único cão doméstico (*R. parkeri*) sugere que não esteja ocorrendo a transmissão do patógeno entre as espécies domésticas e selvagens. Na literatura, não foi encontrado relatos da transmissão entre carnívoros silvestres e domésticos.

Nenhuma evidência molecular de bactérias do gênero *Ehrlichia* foi encontrada para os animais selvagens amostrados nesse estudo diferentemente dos resultados obtidos por Almeida (2011) que relatou a primeira detecção molecular de *Ehrlichia* sp. em cachorro-do-mato no Brasil e André et al. (2012) que encontraram positividade em jaguatirica, onça parda, gato-mourisco e cachorro-do-mato,

mantidas em cativeiro. Infecções por tais bactérias já foram relatadas em chacais no Kenia. (ALEXANDER et al., 1994) coiotes em Oklahoma (KOCAN et al., 2000) e onças-pardas no Brasil (FILONI et al., 2006) e na Califórnia (FOLEY et al., 1999). Widmer et al. (2011), detectaram em seu estudo uma nova espécie de *Ehrlichia* sp. parasitando carrapatos adultos das espécies *A. cajeense* e *A. triste* encontrados parasitando onças-pintadas.

A frequência de *E. canis* encontrada em cães domésticos (4,47%) neste estudo pode estar associada à distribuição do vetor *Rhipicephalus sanguineus*, que é considerado um dos carrapatos de maior importância médico-veterinária do mundo, e o mais encontrado parasitando cães no Brasil, principalmente em áreas urbanas (LABRUNA et al., 2004). É encontrado em todas as regiões do país e capaz de sobreviver em ambientes fechados. Importante transmissor de diversos patógenos, entre eles *Ehrlichia* sp. (MORAES-FILHO et al., 2009). *R. sanguineus* não foi relatado por Labruna et al. (2005) e Martins et al. (2011) em seus estudos com a identificação dos carrapatos que parasitavam os animais amostrados neste estudo. Possui comportamento domiciliar e peridomiciliar (PAZ et al., 2008), provavelmente, por esse motivo não tenha sido encontrado nos animais selvagens que habitam o interior do parque, explicando também, a baixa frequência de *E. canis* encontrada apenas nos cães domésticos do entorno do PNE.

E. canis cepa Uberlândia encontrada neste estudo é uma cepa relativamente nova no Brasil isolada de cão naturalmente infectado e doente. O referido estudo demonstra que esta nova cepa apresenta 100% de similaridade com sequenciamento do gene *dsb* de outros isolados de *E. canis* provenientes de diferentes geográficas, incluindo Brasil, África e América do Norte (ALVES et al., 2010). Não há relatos na literatura da ocorrência desta cepa em carnívoros selvagens, corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

Os carrapatos são os principais vetores da *Rickettsia* sp. e *Ehrlichia* sp. (LABRUNA, 2009; LABRUNA et al., 2005). Sendo que, os carrapatos que parasitavam esses carnívoros selvagens foram previamente identificados em estudos anteriores (tabela 5) (LABRUNA et al., 2005; MARTINS et al., 2011).

Tabela 5 – Número de espécies de carrapatos de acordo com as espécies de hospedeiros previamente identificados nos estudos de Labruna et al., 2005 e Martins et al., 2011.

Número de espécies de carrapatos de acordo com as espécies de hospedeiros (numero de amostras individuais dos hospedeiros em parênteses)							
CARRAPATOS E ESTÁGIOS	Carnivora						
	<i>Chrysocyon brachyurus</i> (59)	Canidae <i>Cerdocyon thous</i> (29)	<i>Lycalopex vetulus</i> (4)	<i>Canis familiaris</i> (1)	<i>Phantera onca</i> (1)	Felidae <i>Leopardus pardalis</i> (3)	<i>Leopardus colocolo</i> (8)
<i>Amblyomma cajannense</i>							
Ninfa	238	206	4	2	2	11	8
Fêmea	3	-	-	-	-	-	-
Macho	-	-	-	-	1	-	-
<i>Amblyomma sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
Larva	126	50	1	-	-	2	12
Ninfa	-	9	4	-	-	-	-
<i>Amblyomma triste</i>	-	-	-	-	-	-	-
Fêmea	-	1	-	-	1	-	-
Macho	-	-	-	-	1	-	-
<i>Amblyomma tigrinum</i>	-	-	-	-	-	-	-
Fêmea	1131	19	10	-	1	-	1
Macho	2329	18	6	-	-	-	1
<i>Amblyomma ovale</i>	-	-	-	-	-	-	-
Fêmea	1	-	-	-	-	1	-
Macho	-	10	-	-	-	-	-
<i>R. microplus</i>	-	-	-	-	-	-	-
Ninfa	-	1	-	-	-	-	-
Fêmea	-	1	-	-	-	-	-
Macho	1	4	-	-	-	-	-
<i>Amblyomma parvum</i>	-	-	-	-	-	-	-
Macho	-	-	-	-	-	1	-

No presente estudo, a espécie de carrapato mais encontrada em infestações mistas ou não foi *A. cajennense*. Encontrado em lobos-guarás, cachorros-do-mato, onça-pintada e cachorro doméstico evidenciando que estes carnívoros são importantes na dispersão horizontal deste carrapato. Dentro do gênero *Amblyomma*, *A. cajennense* é sem dúvida a espécie mais importante que ocorre no Brasil. Pela sua ampla distribuição geográfica, baixa especificidade parasitária e comprovado papel na cadeia epidemiológica da Febre Maculosa (JORGE; PINTER; LABRUNA, 2003; BARROS-BATTESTI et al., 2006). A espécie ainda possui participação no ciclo epidemiológico de zoonoses como as rickettsioses, borreliose, entre outras hemoparasitoses.

A. ovale, encontrado em lobos-guarás, cachorros-do-mato e jaguatirica no presente estudo, é um carrapato comum de carnívoros em todo o Brasil, porém seu (s) principal (is) hospedeiro (s) primário (s) ainda não foi (ram) determinado (s) (JORGE; PINTER; LABRUNA, 2003). Labruna et al. (2004) encontraram uma taxa de infecção de 28% de *R. belli* em *A. ovale* na região amazônica. Apesar de *R. belli* ser apatogênica, este achado somado ao parasitismo em seres humanos (SZABÓ et al. 2006) é um indicativo de que este carrapato pode ser vetor de outras riquetsias, inclusive do grupo da Febre Maculosa.

A. triste foi encontrado parasitando cachorro-do-mato e onça-pintada do PNE. Widmer et al. (2011) encontraram uma fêmea de *A. triste* positiva na PCR para o gênero *Rickettsia* e também para a PCR específica para o grupo da Febre Maculosa, sendo a sequência genética obtida com 100% de similaridade para *R. parkeri*.

O carrapato-do-boi (*R. microplus*) é específico de bovinos e o achado em animais selvagens sugere um provável contato estreito entre estas espécies com animais domésticos.

Os resultados do presente estudo demonstram que os carnívoros selvagens foram expostos a rickettsias do grupo da FMB. A boa condição corporal e ausência de alterações físicas dos carnívoros expostos não sugerem quadro mórbido, porém não é possível afirmar a ausência de letalidade pelo agente na região.

Sugere-se a realização de estudos mais específicos que possam elucidar o papel dos animais selvagens na cadeia epidemiológica da Febre Maculosa

Brasileira, a possibilidade de transmissão entre populações silvestres e domésticas, e a susceptibilidade dos humanos.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que:

- Este é o primeiro relato de detecção de anticorpos, sugerindo provável exposição de lobos-guarás, cachorros-do-mato e onças-pardas a *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. parkeri* ; de raposinhas-do-campo a *R. parkeri* em; de gatos-palheiros a *R. amblyommii* e *R. parkeri* ; de jaguatiricas a *R. amblyommii*, *R. rickettsii* e *R. rhipicephali* .
- Os cães domésticos apresentaram baixa frequência de exposição a *Rickettsia* sp.
- Não houve evidências que comprovassem ou mesmo sugerissem a transmissão desses patógenos entre animais silvestres e domésticos
- Não foram detectadas evidências de exposição de canídeos e felídeos selvagens a *Ehrlichia* sp.
- Cães domésticos do entorno do PNE foram expostos a *E. canis* com 99% de similaridade genética com a cepa Uberlândia.

REFERÊNCIAS

AGUIRRE, A. A. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. **Parasites and Vectors**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2009.

ALEXANDER, K. A.; KAT, P. W.; WAYNE, R. K.; FULLER, T. K. serologic survey of selected canine pathogens among free-ranging jackals in Kenya. **Journal of wildlife Diseases**, v. 30, n. 4, p. 486-491, 1994.

ALMEIDA, A. P. **Pesquisa de Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma, Babesia, Hepatozoon e Leishmania em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre do Estado do Espírito Santo**. 2011. 88 p. (Dissertação Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, 2011.

ALVES, R. N.; BORGES, N. A.; UEIRA-VIEIRA, C.; RIECK, S. E.; SILVA, R. P.; BELETTI, M. E. Caracterização genética de um novo isolado de *Ehrlichia canis* no sudeste brasileiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá-SP. **Anais...** Guarujá: [s.m.], 2010. p. 117.

ANDRÉ, M. R.; DUMLER, J. S.; SCORPIO, D. G.; TEIXEIRA, R. H. F.; ALLEGRETI, S. M.; MACHADO, R. Z. Molecular detection of tick-borne bacterial agents in Brazilian and exotic captive carnivores. **Ticks and Tick-borne Diseases**, n. 3, p. 247-253, 2012.

AZEVEDO, S. S.; AGUIAR, D. M.; AQUINO, S. F.; ORLANDELLI, R. C.; FERNANDES, A. R. F.; UCHÔA, I. C. P. Soroprevalência e fatores de risco associados à soropositividade para *Ehrlichia canis* em cães do semiárido da Paraíba. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 1, p. 14-18, 2011.

BLANCOU, J.; CHOMEL, B. B.; BELOTTO, A.; MESLIN, F. X. Emerging or re-emerging bacterial zoonoses: factors of emergence, surveillance and control. **Veterinary Research**, v. 26, p. 507-522, 2005.

BORETTI, F. S.; PERRETEN, A.; MELI, M. L.; CATTORI, V.; WILLI, B.; WENGI, N.; HORNOK, H.; HEGGLIN, D.; WOELFEL, R.; REUSCH, C. E.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Molecular investigations of *Rickettsia helvetica* infection in dogs, foxes, humans, na ixodes ticks. **Applied an Environmental Microbiology**, v. 75, n. 10, p. 3230-3237, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 816 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 813 p.

CALIC, S. B. Sorologia das riquetsioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 185-187, 2004.

CARDOSO, L. D.; FREITAS, R. N.; MAFRA, C. L.; NEVES, C. V. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 495-501, 2006.

CENAP. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DOS PREDADORES NATURAIS. **Plano de Ação**: pesquisa e conservação de mamíferos carnívoros do brasil. São Paulo: IBAMA, 2004. p.7-8.

CHIARELLO, A. G.; AGUIAR, L. M. S.; CERQUEIRA, R.; MELO, F. R.; RODRIGUES, F. H. G.; SILVA, V. M. F. Mamíferos Ameaçados de Extinção no Brasil. In: FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de Extinção**. Brasília: Fundação Biodiversitas, 2008. p. 680-874.

DEEMA, L. J. EREMEEVA, M. E.; NICHOLSON, C. D.; TRAEGER, M. S.; BLAU, D. M.; PADDOCK, C. D.; LEVIN, M. L.; FASCH, G. A.; CHEEK, J. E.; SWERDLOW, D. L.; McQUISTON, J. H. Na outbreak of Rocky Mountain Spotted Fever associated with a novel tick vector, *Rhipicephalus sanguineus*, in Arizona, 2004: preliminary report. **Animals of the New Yor Academy of Sciences**, v, 1078, p. 342-343, 2006.

DÍAZ, I. A. C. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella), estado actual em Uruguay. **Revista de Medicina do Uruguay**, v. 17, n. 2, p. 119-124, 2001.

FILONI, C; CATÃO-DIAS, J. L.; BAY, G.; DURIGON, E. L.; JORGE, R. S. P.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. first evidence of feline herpesvirus, calicivirus, parvovirus and *Ehrlichia* exposure in brazilian free-ranging felids. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n. 2, p. 470-477, 2006.

FOLEY, J. E.; FOLEY, P.; JECKER, M.; SWIFT, P. K.; MADIGAN, J. E. Granulocytic Ehrlichiosis and tick infestation in mountain lions in California. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 4, p. 703-709, 1999.

FORTES, F. S. **Infecção por *Rickettsia* sp. em cães no município de São José dos Pinhais e em capivaras no município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.** 2010. 105 f. Dissertação (Sanidade Animal e Medicina Veterinária Preventiva) – Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2010.

FURTADO, M. M.; CARRILLO-PERCASTEGUI, S. E.; JACOMO, A. T. A.; POWELL, G.; SILVEIRA, L.; VYNNE, C.; SOLLMANN, R. Studying jaguars in the wild: past experiences and future perspectives. **Cat News**, special issue, The jaguar in Brazil, n. 4, p. 41-47, 2008.

FURTADO, M. M.; KASHIVAKURA, C. K.; FERRO, C.; JÁCOMO, A. T. A.; SILVEIRA, L.; ASTETE, S. Immobilization of free-ranging maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) with tiletamine and zolazepam in Central Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 37, p. 68-70, 2006.

FURTADO, M. M.; KASHIVAKURA, C. K.; FERRO, C.; JÁCOMO, A. T. A.; SILVEIRA, L.; ASTETE, S.; LOPES, F. M. Prevalence of crown trauma in free-ranging maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) in Central Brazil. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 24, p. 231-234, 2007.

GALVÃO, M. A. M. MAFRA, C.; CHAMONE, C. B.; CALIC, S. B.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J. E.; WALKER, D. H. Clinical and laboratorial evidence of *Rickettsia felis* infections in Latin America. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 3, p. 238-240, 2004.

GALVÃO, M. A. M.; SILVA, L. J.; NASCIMENTO, E. M. M.; CALIC, S. B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 5, p. 850-856, 2005.

GODDARD, J.; VARELA-STOKES, A. S. Role of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (L.), in human and animal diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 160, p. 1-12, 2009.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of Sao Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793-801, 2007.

IOP. INSTITUTO ONÇA-PINTADA. **Cerrado:** Parque Nacional das Emas. s.d. Disponível em: <<http://www.jaguar.org.br/instituto.ondetrabalhamos.php>>. Acesso em: 24 mai. 2010.

IUCN. UNIÃO INTERNACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DA NATUREZA E DOS RECURSOS NATURAIS. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2010. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/41633/0>>. Acesso em: 27 mai. 2010.

JÁCOMO, A. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FERRO, C.; FURTADO, M. M.; ASTETE, S. P.; TÔRRES, N. M.; SOLLMANN, R.; SILVEIRA, L. Maned wolf home-range and spatial organization in the Brazilian Grasslands. **Journal of Mammalogy**, v. 90, n. 1, p. 150-157, 2009.

JÁCOMO, A. T.; SILVEIRA, L.; DINIZ-FILHO, L. J. A. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), crab-eating fox, (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in the Cerrado of Central Brazil. **Journal of Zoology**, v. 262, p. 99-106, 2004.

KOCAN, A.; LEVESQUE, G. C.; WHITWORTH, L. C.; MURPHY, G. L.; EWING, S. A.; BARKER, R. W. Naturally occurring *Ehrlichia chaffeensis* infection in coyotes from Oklahoma. **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, n. 5, p. 477-480, 2000.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. **Diagnóstico microbiológico:** texto e atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi Editora, 2001. p. 1275-1277.

LABARTHE, N.; DE CAMPOS PEREIRA, M.; BARBARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA, C.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. **Veterinary Therapeutics**, v. 4, p. 67-75, 2003.

LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial diseases. In: INTERNATIONAL CONFERENCE, 5., 2009, Boston: **New York Academy of Sciences**, 2009 p. 11.

LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T. PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 2, p. 249-255, 2007.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. D. S. P.; SANA, D. A.; JÁCOMO, A. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; FERR, C.; PEREZ, A. A.; SILVEIRA, L.; SANTOS JUNIOR, T. S.; MARQUES, S. R.; MORATO, R. G.; NAVA, A.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; GOMES, A. A. B.; CONFORTI, V. A.; AZEVEDO, F. C. C.; PRADA, A. S.; SILVA, J. C. R.; BATISTA, A. F.; MARVULO, M. F. V.; MORATO, R. L. G.; ALHO, C. J. R.; PINTER, A.; FERR EIRA, P. M.; FERREIRA, F.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental Applied Acarology**, v. 36, p. 149-163, 2005.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 90-98, 2004.

LEMOES, E. R.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A. M.; CHAGAS, N. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: serological survey of dogs and horses in an endemic area in the state of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, p. 427-430, 1996.

MAIOLI, G.; HORTA, M. C.; OGRZEWALSKA, M.; CAPELLI, G.; SOUZA, S. O.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. First detection of *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* fleas from Italy. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p. 222-223, 2009.

MARTINS, M. E. P. **Aspectos epidemiológicos da febre maculosa no município de Quirinópolis, Goiás, Brasil**. 2009. 108 p. (Tese Doutorado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, 2009.

MARTINS, T. F.; FILADELFO, T.; FONSECA, P. M.; CARVAHO, G. M.; ASSIS, E. C. P.; SILVA, T. F.; ABREU, R. COELHO, D.; ALVES, M. S.; LABRUNA, M. B. Ocorrência de carrapatos em animais silvestres da Caatinga e mata Atlântica no Estado da Bahia. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS, 2., 2011, Campinas-SP. **Anais...** Campinas: [s.m.], 2011 p. 15.

MÁRQUEZ, J.; MILLAN, J. Rickettsiae in Ticks from wild and domestic carnivores of Donana National Park (Spain) and surrounding area. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 21, p. 224-226, 2009.

MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; GUTMANN, T. B.; BARBOSA, S. O.; GONZALEZ, M. A. R. M.; MURANO, M. A.; CECÍLIO, S. R. M.; LABRUNA, M. B. New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the

State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 9, n. 1, p. 73-78, 2009.

MUNSON, L.; TERIO, K. A.; KOCK, R.; MLENGEYA, T.; ROELKE, M. E.; DUBOVI, E.; SUMMERS, B.; SINCLAIR, A. R. E.; PACKER, C. Climate extremes promote fatal co-infections during canine distemper epidemics in African lions. **PLoS One**, v. 3, n. 6, p. 1-6, 2008.

MURRAY, D. L.; KAPKE, C. A.; EVERMANN, J. F.; FULLER, T. K. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. **Animal Conservation**, v. 2, p. 241-254, 1999.

OLIVEIRA, R. P.; GALVÃO, M. A.; MAFRA, C. L.; CHAMONE, C. B.; SILVA, S. U.; WALKER, D. H. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. **Emerging Infectious Disease Journal**, v. 8, n. 3, p. 317-319, 2002.

OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Organização Mundial da Saúde. **Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final**. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 2004. Disponível em: <<http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2012.

PADDOCK, C. D.; SUMNER, J. W.; COMER, J. A.; ZAKI, S. R.; GOLDSMITH, C. S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S. L. F.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever Rickettsiosis in the United States. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 805, 2004.

PADDOCK, C. D.; BRENNER, O.; VAID, C. BOYD, D. B.; BERG, J. M.; JOSEPH, R. J.; ZAKI, S. R.; CHILDS, J. E. Short report: concurrent Rocky Mountain spotted fever in a dog and its owner. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, n. 2, p. 197-199, 2002.

PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v. 11, p. 40-50, 2009.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenge old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

PAZ, G. F.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) no Canil da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 41-44, 2008.

PENA, D. C. H.; MAFRA, C. L.; CALIE, S. B.; LABRUNA, M. B.; MILAGRES, B. S.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Serologic survey for antibodies to *rickettsia* among domestic and wild animal populations in Brazil. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p. 243-244, 2009.

PÉREZ-OSÓRIO, C.; ZAVALA-VELÁZQUEZ, J. E.; LEÓN, J. J. A.; ZAVALA-CASTRO, J. E. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 7, p. 1019-1023, 2006.

PINTER, A.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B. Sorologia para *Rickettsia* spp. em cães e humanos de uma área endêmica para febre maculosa no Estado de São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 247-252, 2008.

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L.; PINTER, A.; SAITO, T. B.; PACHECO, R. C.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 7, p. 696-701, 2008.

PITMAN, M. R. P. L.; OLIVEIRA, T. G. Por que promover a conservação de carnívoros? In: PITMAN, M. R. P. L.; OLIVEIRA, T. G.; PAULA, R. C.; INDRUSIAK, C. **Manual de identificação, prevenção e controle de predação por carnívoros**. Brasília: Edições IBAMA, 2002. p. 21-23.

POGGIANI, F.; OLIVEIRA, R. E. Indicadores para conservação dos núcleos de vida silvestre. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 31, p.45-52, 1998.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, E. G. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002, p. 206-215.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.

RICHTER, J.; FOURNIER, P. E.; PETRIDOU, J.; HÄUSSINGER, D.; RAOULT, D. *Rickettsia felis* Infection acquired in Europe and documented by polymerase chain reaction. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 2, p. 207-208, 2002.

SAITO, T. B.; CUNHA, N. A.; PACHECO, R. C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F. G.; FARIAS, N. A. R.; LARSSON, C. E.; LABRUNA, M. B. Canine infection by *Rickettsia* and *Ehrlichia* in Southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SCOLA, B.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of Rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 11, p. 2715-2727, 1997.

SILVEIRA, L.; FURTADO, M. M.; TÔRRES, N. M.; SOLLMANN, R.; UHL, G.; JÁCOMO, A. T. A. Maned wolf density in a Central Brazilian Grassland Reserve. **Journal of Wildlife Management**, v. 73, n. 1, p. 68-71, 2009.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, A. P.; RAMOS, H. G. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1111-1113, 2007.

TARELLO, W.; RICCIER, N. Probable ehrlichiosis in cheetahs (*Acinonyx jubatus*). **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 7, p. 403-407, 2008.

TONETTI, N.; BERGGÖTZ, M.; RUHLE, C.; PRETORIUS, A. M.; GERN, L. Ticks and tick-borne pathogens from wildlife in the Free State Province, South Africa. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 437-446, 2009.

TORINA, A.; NARANJO, V.; PENNISI, M. G.; PATANIA, T.; VITALE, F.; LARICCHIUTA, P.; ALONGI, A.; SCIMECA, S.; KOCAN, K. M.; FUENTE, J. Serologic and molecular characterization of tick-borne pathogens in lions (*Panthera leo*) from the Fasano Safari Park, Italy. **Journal of Zoo Wildlife Medicine**, v. 38, n. 4, p. 591-593, 2007.

ZAVALA-VELAZQUEZ, J. E.; YU, X. J.; WALKER, D. H. Unrecognized spotted fever group rickettsiosis masquerading as dengue fever in Mexico. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, p. 157-159, 1996.

WALKER, D. H.; BARBOUR, A. G.; OLIVER, J. H.; LANE, R. S.; DUMLER, J. S.; DENNIS, D. T.; PERSING, D. H.; AZAD, A. F.; MCSWEEGAN, E. Emerging bacterial

zoonotic and vector-borne diseases – ecological and epidemiological factors. **Journal of The American Medical**, v. 275, n. 6, p. 463-469, 1996.

WIDMER, C. E.; AZEVEDO, F. C.C.; ALMEIDA, A. P.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Tick-Borne bacteria in free-living jaguars in Pantanal, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, p. 1001-1005, 2011.

WOODROFFE, R.; GINSBERG, J. R. Past and future causes of wild dogs population decline. In: IUCN. **African wild dog status survey and action plan**. IUCN/SSC Canid Specialist Group, 1997.