ERIKA MIDORI KIDA HAYASHI

Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás

São Paulo

2013

ERIKA MIDORI KIDA HAYASHI

Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros 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(a)

São Paulo

2013

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2750
FMVZ

Hayashi, Erika Midori Kida

Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás / Erika Midori Kida Hayashi. -- 2013.
35 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. Cinomose. 2. Parvovirose. 3. Brucelose. 4. Carnívoros selvagens. 5. Cães domésticos. 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 "Sorodiagnóstico para cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás", protocolado sob o nº 2017/2010, utilizando amostras biológicas de 240 (duzentos e quarenta) cachorros do mato, lobos-guará, raposinhas do campo, quatis, jaratatacas, gatos-mourisco, gatos-palheiro, jaguatiricas, onças pardas, onças pintadas, cachorros domésticos e gatos domésticos, 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 24/11/2010.

We certify that the Research "Serodiagnosis for canine distemper, parvovirus and brucelose in free-ranging wild carnivores and domestic dogs in the region of the National Park of Emas, Goiás", protocol number 2017/2010, 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 11/24/2010.

São Paulo, 25 de novembro de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
Fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

Nome: HAYASHI, Erika Midori Kida

Título: **Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros 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:_____

DEDICATÓRIA

À Deus, São Francisco de Assis, aos meus pais Pedro e Alice, ao meu irmão Tiago e ao meu namorado Eduardo pelos ensinamentos e apoio para que mais um sonho pudesse ser conquistado.

AGRADECIMENTOS

Obrigada a cada pessoa que colaborou de alguma forma com esse sonho! Todos vocês foram muito importante para a sua concretização!

Aos meus pais, Pedro Hayashi e Atsuko Hayashi por acreditarem nos meus sonhos e me apoiarem em tudo o que faço.

Ao meu irmão Tiago Hayashi que colaborou e compreendeu mais uma fase da minha vida.

À minha cunhada Vanessa Morimitsu que me apoiou, ouvindo e colaborando nessa conquista.

Às minhas primas Cintia N. Kida e Ane Caroline J. Kida por todo auxílio nesse período.

Ao meu namorado Eduardo Aniya por compreender, apoiar e acreditar no meu sonho.

Aos amigos Cinthia Nunes, Edson Kavakami, Satiko Tanahara, Camilla Ono e Rogerio R. Cruz por serem meus amigos fiéis em todos os momentos.

À Mariana Furtado e à todos pesquisadores do Instituto Onça Pintada que acreditaram nos meus sonhos e colaboraram incessantemente na realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto por orientar, apoiar, acreditar, e incentivar esse trabalho.

À Biovet, em especial ao José Domingues de Ramos Filho, Cláudio J. Coelho e equipe, pela colaboração no processamento das amostras para cinomose.

À Prof. Dra. Jane Megid, Susan Allendorf, Jamili Suhel, do Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da UNESP,

campus Botucatu pela colaboração no processamento das amostras para parvovirose.

À Prof. Dra. Lara Keid, Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, o técnico João e Willian Franco, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ/USP, campus Pirassununga que colaboraram no processamento das amostras para *Brucella* spp.

À Zenaide M. de Moraes e Gisele Oliveira por todo apoio, amizade e colaboração.

Ao Renato do Laboratório de Doenças Parasitárias e Sandra Sanches, pela amizade.

Ao Danival e toda equipe pelo intenso auxílio nas documentações.

À Cássia Ykuta, Vivianne Cambuí, Amane Gonçalves pela amizade e pelo auxílio quando ingressei no departamento (VPS).

À Vanessa Miranda Reis por colaborar e dividir os mesmos trabalhos nesse longo período.

Às mais novas amizades conquistadas e por todo apoio nessa conquista: Marcos, Bruna, Vanessa Figueiredo, Rui (VPS-Pirassununga), Eduardo Marques, Melissa Yassuoka, Eduardo Cassiano, Priscila Yanai, Raquel Minami, Léia Silva, Marta B. Guimarães, Dennis Zannato, Maria Eugenia, Luciana, Lívia Rodrigues e Eduardo Reinert Barros.

Ao Prof. Dr. Jean Carlos Ramos Silva na qual eu pude ter meu primeiro conhecimento sobre animais silvestres, através do grupo de estudos e pesquisas de animais silvestres que o professor criou na Universidade Anhembi Morumbi. Obrigada por repassar parte de seu conhecimento aos seus alunos.

Ao meu orientador da graduação Prof. Dr. César Dinóla que sempre me apoiou e incentivou o meu primeiro trabalho com animais silvestres.

Ao Parque Ecológico Tietê, em especial Liliane Milanelo, Bruno Petri, Lilian Sayuri Fitorra e Melissa Alves onde eu pude estagiar, aprender e descobrir minha grande paixão que são os animais silvestres. Obrigada pelas conversas, incentivos e momentos de descontração.

RESUMO

HAYASHI, E. M. K. **Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás.** [Survey of canine distemper virus, parvovirus and brucellosis in free ranging wild carnivores and domestic dogs in the region of Emas National Park, Goiás, Brazil]. 2013. 35 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

A conservação dos animais selvagens de vida livre é ameaçada pela fragmentação de habitat, caça, diminuição de presas e, em menor escala pela ocorrência de doenças infecciosas. Reconhecendo a importância das doenças para a conservação, e considerando que o crescimento da população humana no entorno de áreas protegidas propicia o aumento do contato de animais domésticos e selvagens, o presente estudo teve como objetivo pesquisar a exposição de carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas (PNE), Goiás à cinomose, parvovirose, brucelose e brucelose canina. Entre as espécies de carnívoros selvagens amostradas estão o lobo-guará, cachorro-do-mato, raposinha-do-campo, onça-parda, jaguatirica, gato-palheiro, gato-mourisco, jaratataca e quati. Foram realizados os testes de soroneutralização, inibição de hemaglutinação, imunodifusão em gel ágar e PCR, para cinomose, parvovirose, brucelose canina e brucelose, respectivamente. Lobos-guará (12,7%, n=9), cachorros-do-mato (11,6%, n=7), jaguatiricas (18,2%, n=2) e cães domésticos (71,4%, n=25) foram expostos à cinomose. Todas as espécies de carnívoros selvagens amostradas, com exceção do quati, sendo 40,4% (n=65) dos indivíduos, e 37,1% (n=13) dos cães domésticos foram expostos à parvovirose. Apenas o lobo-guará (1,67%, n=2) foi exposto à brucelose canina e a raposinha-do-campo à *Brucella* spp. (1,47%, n=1). Este é o primeiro relato da exposição de gato-palheiro, gato-mourisco e jaratataca ao parvovírus, e de lobo-guará à *Brucella canis*. A cinomose e a parvovirose merecem atenção no PNE pela possibilidade de envolvimento de cães domésticos na sua transmissão, embora não possa ser comprovada no presente estudo. A brucelose, no momento, parece não ser uma ameaça sanitária para as populações de carnívoros do PNE.

Palavras-chave: Cinomose. Parvovirose. Brucelose. Carnívoros selvagens. Cães domésticos.

ABSTRACT

HAYASHI, E. M. K. **Survey of canine distemper virus, parvovirus and brucellosis in free ranging wild carnivores and domestic dogs in the region of Emas National Park, Goiás.** [Pesquisa de cinomose, parvovirose e brucelose em carnívoros selvagens de vida livre e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, Goiás]. 2013. 35 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

The conservation of free ranging wildlife is threatened by habitat fragmentation, hunting, decrease of prey and, to a lesser extent by the occurrence of infectious diseases. Recognizing the diseases importance for conservation, and considering that the increase of human population around protected areas provides increased contact with domestic and wild animals, the present study aimed to investigate the exposure of free ranging wild carnivores and domestic dogs in the region of Emas National Park (ENP), Goiás, Brazil for canine distemper virus (CDV), parvovirus, brucellosis and canine brucellosis. Among the species of wild carnivores sampled are the maned wolf, crab-eating fox, hoary fox, puma, ocelot, pampas cat, jaguarondi, skunk and coati. The tests performed for CDV, parvovirus, canine brucellosis and brucellosis tests were the serum neutralization test, hemagglutination inhibition, agar gel immunodiffusion and PCR, respectively. Maned wolves (12.7%, n = 9), crab-eating foxes (11.6%, n = 7), ocelots (18.2%, n = 2) and domestic dogs (71.4%, n = 25) were exposed to CDV. All species of wild carnivores sampled, except coatis, being 40.4% (n = 65) of individuals, and 37.1% (n = 13) of domestic dogs were exposed to parvovirus. Only maned wolves (1.67%, n = 2) were exposed to canine brucellosis and hoary fox to *Brucella* spp. (1.47%, n = 1). This is the first report of pampas cat, jaguarondi and skunk exposure to parvovirus, and of maned wolf to *Brucella canis*. CDV and parvovirus deserve attention in ENP by the possibility of involvement of domestic dogs in its transmission, although it can not be proven in this study. At the moment, brucellosis doesn't seem to be a sanitary threat for carnivores population at ENP.

Keywords: Canine distemper. Parvovirus. Brucellosis. Wild carnivores. Domestic dogs.

LISTA DE ABREVIATURAS

bp	pares de bases
CENAP	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros
DHVSP	Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
EUA	Estados Unidos da América
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IOP	Instituto Onça Pintada
LBM	Laboratório de Biologia Molecular
ONG	Organização não governamental
PCR	Reação em cadeia polimerase – <i>Polimerase Chain Reaction</i>
PNE	Parque Nacional das Emas
RT-PCR	Reação em cadeia polimerase em tempo real – <i>Polimerase Chain Reaction - real time</i>
SNUC	Sistema Nacional de Unidades de Conservação
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
USP	Universidade de São Paulo
VPS	Departamento de Veterinária Preventiva e Saúde Animal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1	ÁREAS DE ESTUDO	15
2.2	ANIMAIS E AMOSTRAS BIOLÓGICAS	16
2.3	ANÁLISES LABORATORIAIS	18
3	RESULTADOS	21
4	DISCUSSÃO	23
4.1	CINOMOSE	23
4.2	PARVOVIROSE	25
4.3	BRUCELOSE	27
5	CONCLUSÕES	29
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A conservação de animais selvagens de vida livre é ameaçada por diversos fatores como a fragmentação de habitat, a caça e a diminuição de presas (CHILDS; MACKENZIE; RICHT, 2007; SMITH; ACEVEDO-WHITEHOUSE; PEDERSEN, 2009). Recentemente, a ocorrência de doenças infecciosas vem sendo relatada também como uma importante ameaça, sendo que o crescimento da população humana e consequente aumento da densidade de cães domésticos no entorno de áreas protegidas propiciam o aumento do contato com animais selvagens favorecendo a transmissão de doenças (CLEAVELAND, 1997; CLEAVELAND; LAURENSEN; TAYLOR, 2001).

As populações de carnívoros selvagens são de vital importância para a estabilidade e integridade da maioria dos ecossistemas. São predadores topo da cadeia alimentar, ou seja, são espécies sentinelas e o declínio destas populações pode resultar em uma ameaça ao meio-ambiente (MURRAY et al., 1999; MACDONALD; KAYS, 2005). São também potencialmente susceptíveis a várias doenças (FOWLER, 1986; FIORELLO et al., 2004), como a cinomose (MCCARTHY; SHAW; GOODMAN, 2007), a parvovirose, a hepatite infecciosa e a raiva (FUNK et al., 2001).

Doenças virais, como a cinomose e a parvovirose podem afetar demograficamente importantes populações (FIORELLO et al., 2004). A cinomose, por exemplo, foi responsável por causar significativos declínios populacionais em animais de vida livre como os furões-de-pata-negra nos EUA (WILLIAMS et al., 1988), cachorros-selvagens-africano no Quênia (ALEXANDER; APPEL, 1994) e leões no Serengeti (ROELKE-PARKER et al., 1996). No Brasil, a exposição ao agente já foi relatado em onças-pardas, onças-pintadas, lobos-guará, cachorros-do-mato, jaguatiricas e mãos-pelada (JORGE, 2008; NAVA et al., 2008; FURTADO, 2010).

O parvovírus canino, no final da década de 70 foi responsável por uma pandemia que atingiu os lobos e coiotes selvagens além dos cães domésticos nos Estados Unidos (HUEFFER; PARRISH, 2003). No Parque Nacional Yellowstone, nos Estados Unidos, o parvovírus foi

responsável por um declínio da população de lobos em 1999, e novamente em 2005, reduzindo 30% desta população (SMITH; ALMBERG, 2007). No Brasil, há relatos de exposição de cachorros-do-mato, lobos-guará, mãos peladas, jaguatiricas, onças-pardas e cachorro-vinagre ao parvovírus (JORGE, 2008; CURI et al., 2010)

A brucelose é uma enfermidade infecto contagiosa, crônica, que infecta canídeos domésticos, silvestres e o homem, sendo considerada uma zoonose de distribuição mundial (ACHA; SZYFRES, 2001; YURI et al., 2008). Duas espécies de raposas (*Dusicyon culpaeus* e *Dusicyon griseus*) de vida livre na Argentina foram expostas a *Brucella* spp. (MARTINO et al., 2004), e no Chaco Boliviano nenhuma das raposas-do-campo (*Pseudalopex gymnocercus*) ou cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) amostrados foram soropositivos para *Brucella canis* (FIORELLO et al., 2007).

Com o intuito de aumentar o conhecimento sobre a ocorrência de cinomose, parvovirose e brucelose nas populações de carnívoros silvestres neotropicais, este estudo teve como objetivo diagnosticar a exposição a estes patógenos nos carnívoros selvagens e cães domésticos da região do Parque Nacional das Emas, uma importante área de conservação do Cerrado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

São descritos nos capítulos seguintes os materiais e métodos utilizados.

2.1 ÁREAS DE ESTUDO

O Parque Nacional das Emas (PNE), com 132.000 hectares, é uma das maiores área preservada de habitat do bioma Cerrado do Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) do Brasil. Localiza-se ao extremo sudoeste do Estado de Goiás, nos limites entre os Estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul a 18º 19' S e 52º 45' W, numa das regiões de maior produção agrícola do estado, principalmente pelo cultivo de soja, milho e algodão, onde a vegetação nativa do entorno foi convertida em extensas áreas de agricultura (IOP, [2010]) (Figura 1).

Figura 1 - Localização da área de estudo no Parque Nacional das Emas-Goiás

Fonte: (FURTADO, M., 2013)

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. O projeto teve duração de 10 anos, de 2000 a 2010 e estudou aspectos ecológicos, genéticos e epidemiológicos das populações de carnívoros selvagens da região (JÁCOMO; SILVEIRA; DINIZ-FILHO, 2004; FURTADO et al., 2006,2007; JÁCOMO et al., 2009; SILVEIRA et al., 2009).

Os carnívoros selvagens amostrados foram: lobos-guará, cachorros-do-mato, raposinhas-do-campo, jaratatacas, quatis, gatos-mourisco, gatos-palheiro, jaguatiricas e onças-pardas. Os animais foram capturados no Parque Nacional das Emas e entorno entre novembro de 2000 e julho de 2008. As capturas dos pequenos e médios carnívoros foram realizadas com armadilhas do tipo gaiolas utilizando pombos ou galinhas como isca, ou trampas (SILVEIRA et al., 2009). As onças-pardas foram capturadas utilizando cães rastreadores treinados. Os animais foram anestesiados com uma associação de tiletamina e zolazepam (Zoletil®) em dose específica para cada espécie. Em seguida foram coletadas as amostras sanguíneas através da punção da veia safena interna, cefálica ou jugular. No momento da captura foi realizado exame físico dos animais, que se apresentaram em boas ou ótimas condições físicas, peso corpóreo adequado e ausência de sinal clínico de enfermidade aparente, conforme relatado previamente em estudos realizados (FURTADO et al., 2006; SILVEIRA et al., 2009). Sempre que possível os animais foram equipados com radio-collar.

As amostras dos cães domésticos (*Canis familiaris*) das propriedades rurais pertencentes ao entorno do PNE foram coletadas entre maio de 2002 e outubro de 2003 e entre maio e novembro de 2008, com a autorização prévia de seus proprietários (Figura 2). Dois cães domésticos foram capturados no interior do parque em gaiolas utilizadas para captura de carnívoros selvagens.

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

Fonte: (FURTADO, M., 2013)

As amostras foram armazenadas no Laboratório de Zoonoses Bacterianas 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 -20°C até a realização dos testes diagnósticos.

2.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

Para a detecção de anticorpos contra o vírus da cinomose foram utilizados soros de 158 carnívoros selvagens de vida livre, sendo 71 lobos-guará, 60 cachorros-do-mato, 11 jaguatiricas, 5 raposinhas-do-campo, 4 jaratacas, 4 onças-pardas, 1 quati, 1 gato-mourisco

e 1 gato-palheiro, e soros de 35 cães domésticos. Foi realizado o teste de soroneutralização microscópica no Laboratório Biovet, localizado em Vargem Grande Paulista, São Paulo, seguindo a descrição de Appel e Robson (1973); adaptada para a utilização de fibroblastos de embriões de galinha/ml com soro fetal bovino 5% a 7% na quantidade 1ml/orifício (BIAZZONO; HAGIWARA; CORRÊA, 2001). Foram considerados positivos os títulos ≥ 8 (COURTENAY; QUINNELL; CHALMERS, 2001; FIORELLO et al., 2004).

Para a detecção de anticorpos contra o parvovírus canino foram utilizados soros de 161 carnívoros selvagens de vida livre, sendo 63 lobos-guará, 57 cachorros-do-mato, 15 gatos-palheiro, 11 jaguatiricas, 5 raposinhas-do-campo, 4 jaratatacas, 4 onças-pardas, 1 quati, 1 gato-mourisco, e soros de 35 cães domésticos. Foi realizado o teste de inibição de hemaglutinação conforme Carmichael; Joubert; Pollock, (1980) no Laboratório de Biologia Molecular (LBM) do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (DHVSP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu. Esse teste pode detectar tanto o parvovírus felino, o parvovírus canino ou o vírus da enterite dos visões (BARKER; PARRISH, 2001). Para a confirmação de qual espécie de parvovírus presente é necessário o isolamento ou a caracterização genética do agente (BARKER; PARRISH, 2001). Foram considerados positivos títulos ≥ 160 e títulos entre 80-160 foram considerados suspeito (Informação verbal) ¹

Para a detecção de anticorpos anti-*Brucella canis* foram utilizados soros de 120 carnívoros selvagens, sendo 66 lobos-guará, 40 cachorros-do-mato, 7 jaratatacas, 5 raposinhas do campo e 2 quatis e soros de 58 cães domésticos. Foi realizado o teste de imunodifusão em géil ágar utilizando o kit com proteínas de *Brucella ovis*, amostra Reo 198 do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR®), seguindo o protocolo do fabricante no Laboratório de Zoonoses Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), Campus Pirassununga.

¹Informação fornecida por Jane Megid em São Paulo, 2012.

Para a detecção de *Brucella* spp. foram utilizadas amostras de sangue total de 68 carnívoros selvagens de vida livre, sendo 41 cachorros-do-mato, 22 lobos-guará, 4 raposinhas-do-campo e 1 quati, e 17 amostras de cães domésticos. Foi realizada a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) conforme o protocolo descrito por Vieira (2004) no Laboratório do VPS/FMVZ/USP, campus Pirassununga. A sequência dos primers ITS 66 e ITS 279 da Invitrogen® utilizados foram respectivamente (5' ACA TAG ATC GCA GGC CAG TCA 3') e (5' AGA TAC CGA CGC AAA CGC TAC 3') que amplificam um fragmento de 214 bp (pares de bases) e são específicos pra *Brucella* spp.

O produto amplificado foi analisado através da técnica de eletroforese em gel de agarose e posteriormente foi observado em um transiluminador ultravioleta que permitiu visualizar os produtos amplificados, na qual foram comparados com um padrão de peso molecular com fragmentos múltiplos de 100 bp.

Nem todos os testes foram realizados para todas as amostras devido à quantidade de amostra disponível. Assim, levou-se em consideração a espécie amostrada e preferência do agente pelo hospedeiro.

3 RESULTADOS

Os resultados dos testes sorológicos para cinomose, parvovirose e brucelose canina e do teste molecular para brucelose estão organizados na tabela 1.

Lobos-guará, cachorros-do-mato jaguatiricas e cães domésticos foram soropositivos para cinomose com títulos que variaram de 8 a 32 para os carnívoros selvagens e 8-128 para os cães domésticos (Tabela 1). Todas as espécies amostradas, com exceção do quati, foram soropositivas para o parvovírus com títulos que variaram de 160 a >1280 (Tabela 1). Apenas os lobos-guará foram soropositivos para brucelose canina, e uma raposinha-do-campo foi positiva para *Brucella* spp. (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados dos testes para cinomose, parvovirose, brucelose canina e *Brucella* spp. realizados em carnívoros selvagens e cães domésticos do Parque Nacional das Emas e entorno entre novembro de 2000 e maio de 2008. Variação dos títulos de anticorpos das amostras consideradas positivas para cinomose e parvovirose

Espécie	Cinomose			Teste Sorológico				Brucelose canina		Teste molecular	
	P/Ex ¹ .	%	VT ²	P/Ex.	%	S ³	VT	P/	Ex. %	P/ Ex.	%
Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	9/71	12,7	8-16	21/63	33,3	5	160->1280	2/66	3,0	0/22	0
Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	7/60	11,6	8-32	32/57	56,1	9	160->1280	0/40	0	0/41	0
Raposinha-do-campo (<i>Pseudalopex vetulus</i>)	0/5	0	-	5/5	100,0	0	320->1280	0/5	0	1/4	25,0
Jaratataca (<i>Conepatus semistriatus</i>)	0/4	0	-	2/4	50,0	2	320	0/7	0	NR ⁴	
Quati (<i>Nasua nasua</i>)	0/1	0	-	0/1	0	0	-	0/2	0	0/1	0
Gato-mourisco (<i>Herpailurus yagouaroundi</i>)	0/1	0	-	1/1	100,0	0	320	NR		NR	
Gato-palheiro (<i>Leopardus colocolo</i>)	0/15	0	-	2/15	13,3	3	160-640	NR		NR	
Jaguatirica (<i>Leopardus pardalis</i>)	2/11	18,2	8	1/11	9,0	4	160	NR		NR	
Onça-parda (<i>Puma concolor</i>)	0/4	0	-	1/4	25,0	1	160	NR		NR	
Cães domésticos (<i>Canis familiaris</i>)	25/35	71,4	8-128	13/35	37,1	7	160->1280	0/58	0	0/17	0

¹P/Exs =quantidade de animais positivos/quantidade de animais examinados ; ²VT =variação do título de anticorpos das amostras consideradas positivas; ³S = animais suspeitos-títulos (80-160); ⁴NR=não realizado

4 DISCUSSÃO

A discussão deste trabalho foi dividida em tópicos, por patógenos pesquisados.

4.1 CINOMOSE

Lobos-guará, jaguatiricas e cachorros-do-mato da região do Parque Nacional das Emas foram expostos ao vírus da cinomose. A exposição dessas espécies de vida livre ao agente já foi previamente descrita por outros autores na Argentina e em algumas regiões do Brasil como Minas Gerais, São Paulo e Pantanal (JORGE, 2008; MEGID et al., 2009; FERREYRA et al., 2009; CURI et al., 2012).

A soropositividade encontrada para lobos-guará (12,7%, n=9 positivos/71 amostrados) no presente estudo foi aparentemente inferior à relatada em lobos-guará do Pantanal (37,5%, n=3/8) (JORGE, 2008) e da Reserva Natural Particular de Galheiro, em Minas Gerais (100%, n=11/11) (CURI et al., 2012). Porém, no Parque Nacional da Serra do Cipó nenhum animal foi soropositivo (CURI et al., 2010). A variação dos títulos de anticorpos (8-16) encontrada foi inferior à relatada por Curi et al. (2012) (8-64) e por Jorge (2008) (16-32).

Os cachorros-do-mato apresentaram frequências de soropositividade para cinomose (11,6%, n=7/60) aparentemente inferiores aos animais do Pantanal (27,9%, n=12/43) (JORGE, 2008). Mas, aparentemente superiores aos animais de Minas Gerais e da região da Amazônia, onde Curi (2010) e Courtenay; Quinnell e Chalmers (2001) não detectaram indivíduos soropositivos para o agente, respectivamente. A variação dos títulos de anticorpos detectados foi semelhante ao detectado por Jorge (2008) (8-64). Em estudo realizado no Parque Nacional “El Palmar” na Argentina (100%, n=2/2) dos cachorros-do-mato foram positivos para o agente (FERREYRA et al., 2009). No Brasil, Hübner et al (2010) e Megid et al. (2009) detectaram a presença do agente em cachorro-do-mato no Rio Grande

do Sul e São Paulo respectivamente e através da técnica de RT-PCR Megid et al. (2009) verificou semelhança genética com o CDV de cães domésticos.

As jaguatiricas da região do Parque Nacional das Emas apresentaram frequências de soropositividade aparentemente inferiores (18,2%, $n=2/11$) aos indivíduos do Pantanal (75%, $n=3/4$) (JORGE, 2008). A variação dos títulos de anticorpos (8) foi inferior à relatada por Jorge (2008), de 32-64. Em estudo realizado no Parque Nacional “Kaa-Iya” na Bolívia (70%, $n=7/10$) das jaguatiricas foram soropositivas para o agente (FIORELLO et al., 2007). Porém, Nava et al. (2008) não detectaram nenhuma jaguatirica soropositiva para o vírus da cinomose na região da Mata Atlântica.

As demais espécies selvagens (raposinha-do-campo, jaratataca, quati, gato-mourisco, gato-palheiro e onça-parda) foram soronegativas para a cinomose. Curi et al. (2010) também não detectaram raposinhas-do-campo soropositivas. Diferente do encontrado no presente estudo, Megid et al. (2010) detectaram o vírus em uma raposinha-do-campo de vida livre em Botucatu, e Cubas (1996) verificou suscetibilidade de quatis ao vírus. Em relação aos felinos, assim como no PNE, Fiorello et al. (2007) também não detectaram gato-mourisco de vida livre soropositivo para cinomose no Chaco Boliviano. Mas, Jorge (2008) e Nava et al. (2008) detectaram onças-pardas soropositivas para o agente no Pantanal e Mata Atlântica, respectivamente. Não há relatos de cinomose em gatos-palheiros e jaratatacas na literatura.

Os cães domésticos foram altamente expostos ao vírus da cinomose (71,4%, $n=25/35$). Frequência esta aparentemente superior à relatada para cães não vacinados do entorno de áreas protegidas da Mata Atlântica (40,5%, $n=45/111$) (NAVA et al., 2008) e semelhante à dos cães do entorno do Parque Nacional da Serra do Cipó (66%, $n=46/70$) e da Reserva Particular de Galheiro (100%, $n=20/20$), ambas situadas em Minas Gerais (Curi et al., 2010; 2012). Visto que a maioria dos cães do entorno do PNE não são vacinados para cinomose (FURTADO, 2010), a detecção de anticorpos se deve provavelmente à exposição natural ao agente. Apesar da vacina para cinomose ter sido desenvolvida para os cães domésticos em 1950, o seu uso é limitado ou ausente em áreas de fazenda ou suburbanas (BARRET, 1994; MEGID et al., 2009). Assim, a cinomose continua sendo uma doença comum nessas áreas (BARRET, 1994; MEGID et al., 2009).

Os resultados encontrados no presente estudo evidenciam a circulação do vírus na região do PNE. Embora não seja possível afirmar a forma de transmissão da cinomose para os carnívoros selvagens, a realidade do PNE propicia uma possível transmissão do patógeno

entre selvagens e domésticos: (1) O PNE é inteiramente delimitado por fazendas que possuem cães domésticos soropositivos para cinomose; (2) O PNE não é uma barreira aos carnívoros selvagens, que utilizam as áreas das fazendas como parte de suas áreas de vida; (3) A maioria dos cães domésticos não é vacinada para cinomose; (4) A maioria dos cães domésticos vive solta (FURTADO, 2010). Porém, para comprovar a hipótese dessas transmissões entre domésticos e selvagens é necessário pesquisas envolvendo o diagnóstico molecular dos vírus.

4.2 PARVOVIROSE

Todos os carnívoros amostrados, com exceção do quati, foram expostos ao parvovírus. Este é o primeiro relato de exposição de jaratataca, gato-mourisco e gato-palheiro de vida livre ao agente.

A frequência de lobos-guará soropositivos (33,3%, $n=21/63$) para parvovirose foi aparentemente inferior às frequências detectadas na espécie de vida livre por Curi et al. (2010) (2012) em Minas Gerais (100%, $n=11/11$) e Jorge (2008) no Pantanal (87,5%, $n=7/8$).

A frequência de soropositividade dos cachorros-do-mato (56,1%, $n=32/57$) da região do PNE para parvovirose foi aparentemente inferior aos indivíduos amostrados no Rio Grande do Sul por Hübner et al. (2010) (87,5%, $n=7/8$), em Minas Gerais por Curi et al. (2010) (100%, $n=12/12$) e no Pantanal por Jorge (2008) (97,6%, $n=42/43$). Em estudo realizado na Bolívia, (80%, $n=4/5$) dos cachorros-do-mato de vida livre foram soropositivos para o agente (FIORELLO et al., 2007), ao contrário do estudo de Courtenay,Quinnell e Chalmers, (2001) onde não houve evidência de exposição em cachorros-do-mato de vida livre.($n=73$) na Amazônia.

Todas as raposinhas-do-campo amostradas foram expostas ao agente, corroborando com Curi et al. (2010) que detectou 100% ($n=2/2$) de soropositividade nos indivíduos em Minas Gerais.

Entre os felinos amostrados, as frequências de jaguatiricas (9%, $n=1/11$) e onças-pardas (25%, $n=1/4$) soropositivas para o agente foram aparentemente inferiores às

relatadas por Jorge (2008) em felinos da mesma espécie na região do Pantanal (75%, n=3/4 e 100%, n=7/7, respectivamente).

Esse é o primeiro relato de gato-palheiro exposto ao parvovírus (13,3%, n=2/15) e de jaratataca (50%, n=2/4). Não foi encontrado na literatura pesquisa de parvovirose em gato-mourisco, gato-palheiro ou jaratataca.

As variações dos títulos de anticorpos dos lobos-guará (160- >1280) e cachorros-do-mato (160->1280) foram aparentemente superiores aos valores encontrados por Jorge (2008) no Pantanal (40-160 em lobos-guará; 0-320 em cachorros-do-mato). As variações dos títulos encontrados para as jaguatiricas (160) e as onças-pardas (160) foram semelhantes ao relatado pelo mesmo autor (40-160, 80-160, respectivamente) (JORGE, 2008).

Os cães domésticos do entorno do PNE apresentaram frequência de exposição ao parvovírus (37,1%, n=13/35) aparentemente inferior aos cães domésticos não vacinados do Pantanal 96,08% (98/102) (JORGE, 2008), do Parque Nacional da Serra do Cipó e da Reserva Natural Particular de Galheiro, Minas Gerais (59%, n=41/70 e 100%, n=20/20) respectivamente (CURI et al., 2010; 2012). Cães domésticos de duas reservas naturais protegidas da Argentina também apresentaram valores elevados de soropositividade (91%, n=10/11) (UHART et al., 2012).

Os resultados indicam a circulação do parvovírus na região do PNE. Considerando que a maioria dos cães da região do PNE não são vacinados para parvovírus (informação verbal)¹, provavelmente os títulos de anticorpos encontrados referem-se à exposição natural ao agente. O parvovírus pode sobreviver por longo período no ambiente (GORDON; ANGRICK, 1986), e não é necessário o contato direto para a sua transmissão. Assim, o fato a maioria dos cães domésticos serem soropositivos, podem servir como fonte de infecção no meio-ambiente, e a utilização das áreas das propriedades rurais por carnívoros selvagens (informação verbal)² também facilitaria essa possível transmissão. No entanto, com o presente estudo, não é possível afirmar a forma de transmissão do parvovírus na região ou como o agente está se mantendo no ambiente.

Tendo em vista a exposição de diversas espécies carnívoras ao parvovírus na região do PNE e aos impactos conhecidos do agente em lobos de Wisconsin (*Canis lupus*),

^{1,3} Informação fornecida por Mariana Furtado em São Paulo, 2012.

(WYDEVEN; SCHULTZ; THIEL, 1995), na visão-europeu (*Mustela lutreola*) na França (FOURNIER-CHAMBRILLON et al., 2004) e a possível transmissão do agente entre cães selvagens e cães domésticos na África (WOODROFFE et al., 2012) é importante realizar mais estudos como PCR, análise filogenética e sequenciamento com o parvovírus, afim de compreender a epidemiologia deste vírus no PNE.

4.3 BRUCELOSE

Apenas os lobos-guarás do PNE foram expostos a *Brucella canis* e a raposinha-do-campo exposta a *Brucella* spp. Este é o primeiro relato da exposição de lobos-guará de vida livre a *B. canis* e detecção de *Brucella* spp. em raposinhas-do-campo de vida livre. Porém, no estudo de Antunes et al. (2010) uma raposinha-do-campo de cativeiro de São Paulo foi soropositiva para *Brucella* spp. e no nordeste brasileiro há relato de raposinhas mantidas em cativeiro soropositivas para *B. canis* (OLIVEIRA-FILHO et al., 2012) e de vida livre para *Brucella abortus* (AZEVEDO et al., 2010).

Os testes diagnósticos utilizados foram padronizados para cães domésticos e a sensibilidade e especificidade em carnívoros selvagens ainda são desconhecidas (OLIVEIRA-FILHO et al., 2012). A mesma raposinha-do-campo considerada positiva para *Brucella* spp. no presente estudo, foi soronegativa para *B. canis*, porém é possível que o indivíduo estivesse em fase inicial de infecção, e os títulos de anticorpos em níveis não detectáveis no teste sorológico (WANKE, 2004). Porém, na região do PNE, há relato de outro carnívoro, uma onça-pintada, soropositivo para brucela lisa (FURTADO, 2010), assim como queixadas (KASHIVAKURA et al., 2004), indicando a circulação do agente na região.

Anticorpos anti-*Brucella canis* foram detectados em coiotes, mãos-peladas e texugos nos Estados Unidos (RANDHAWA; KELLY; BAKER, 1977), porém há poucos estudos com o agente em carnívoros selvagens no Brasil. Para *Brucella* spp. há relatos de lobos-guará de vida livre da região de Botucatu exposto ao agente (ANTUNES et al., 2010).

No Brasil há relatos de cães expostos à *Brucella* spp. em São Paulo e na Paraíba (ALVES et al., 2003), porém no presente estudo os cães domésticos não foram expostos a

Brucella canis ou *B. spp.*, sugerindo que a espécie não esteja envolvida na transmissão do agente para os carnívoros selvagens na região do PNE.

5 CONCLUSÕES

- Lobos-guará, cachorros-do-mato, jaguatiricas e cães domésticos da região do PNE e entorno foram expostos ao vírus da cinomose.
- Lobos-guará, cachorros-do-mato, raposinhas-do-campo, jaratacas, gato-mourisco, gatos-palheiro, jaguatiricas, onça-parda e cães domésticos da região do PNE e entorno foram expostos ao parvovírus.
- Lobos-guará da região do PNE foram expostos à *Brucella canis*.
- Raposinha-do-campo da região do PNE foi exposta à *Brucella* spp.
- Não há dados que comprovem a transmissão do vírus da cinomose e do parvovírus dos cães domésticos para os carnívoros selvagens.
- No momento os cães domésticos parecem não estar envolvidos na transmissão da brucelose aos carnívoros selvagens.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cinomose e a parvovirose merecem atenção no PNE, principalmente pela possibilidade de envolvimento de cães domésticos na sua transmissão, embora não possa ser comprovada no presente estudo. Considera-se importante a continuidade dos estudos realizando testes moleculares para tentar elucidar a cadeia epidemiológica dos agentes, o monitoramento das populações de carnívoros da região do PNE, vacinação dos cães domésticos da região contra cinomose e parvovirose, assim como maior rigor na vigilância do PNE, a fim de evitar a entrada de animais domésticos no interior do mesmo. Em relação à *Brucella canis* e *Brucella* spp. não parecem, no momento, apresentar uma ameaça sanitária para as populações de carnívoros do PNE.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales brucellosis**. 3. ed. Washington: OPS/OMS, 2001. p. 28-56.
- ALEXANDER, K.; APPEL, M. African wild dogs (*Lycaon pictus*) endangered by a canine distemper epizootic among domestic dogs near the Masai Mara National Reserve, Kenya. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 30, p. 481-485, 1994.
- ALVES, C. J.; ALVES, F. A. L.; ALBÉRIO, A. B. G.; AZEVEDO, S. S. de; ANDRADE, J. S. L. de; dos SANTOS, F. A. Aspectos epidemiológicos de *Brucella canis* em Patos, Paraíba, Brasil. **Ciência Animal**, v. 13, n. 1, p. 45-49, 2003.
- ANTUNES, J. M. A. P.; MACHADO, G. P.; COSTA, L. F.; FORNAZARI, F.; CIPRIANO, J. R. B.; APPOLINÁRIO, C. M.; ALLENDORF, S. D.; BAGAGLI, E.; TEIXEIRA, C. R.; MEGID, J. Comparison of infection by *Brucella* spp. in free-ranging and captive wild animals from São Paulo State, Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, n. 4, p. 654-658, 2010.
- APPEL, M.; ROBSON, D. S. A microneutralization test for canine distemper virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 34, n. 11, p. 1459-1463, 1973.
- AZEVEDO, S. SANTOS.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A.; GOMES, A. A. B.; VASCONCELLOS, S. A.; ALVES, C. J. Anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*) do semiárido paraibano, Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, 2010. ISSN 0103-8478. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a404cr1939.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2013
- BARKER, I. K.; PARRISH, C. R. Parvovirus infections. In: **Infectious diseases of wild mammals**. 3. ed. Ames: Iowa State University Press, 2001. p. 3-36.
- BARRET, T. Rinderpest and distemper viruses. In: WEBSTER, R. G.; GRANOFF, A. **Encyclopedia of virology**. New York: Academic Press, 1994. p. 1260-1269.
- BIAZZONO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORRÊA, A. R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences**, v. 38, n. 5, p. 245-250, 2001.
- CARMICHAEL JR., P.; JOUBERT, J. C.; POLLOCK, R. V. H. Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 5, p. 784-791, 1980.
- CHILDS, J.; MACKENZIE, J.; RICHT, J. **Wildlife and emerging zoonotic diseases: The biology, circumstances and consequences of cross species transmission**. Berlin: Springer, v. 315, 2007. p. 1-521.

CLEAVELAND, S. Dog vaccination around the Serengeti – Reply. **Oryx**, v. 31, p. 13-14, 1997.

CLEAVELAND, S.; LAURENSEN, M. K.; TAYLOR, L. H. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 356, p. 991-999, 2001.

COURTENAY, O.; QUINNELL, R. J.; CHALMERS, W. S. K. Contact rates between wild and domestic canids: no evidence of parvovirus or canine distemper virus in crab-eating foxes. **Veterinary Microbiology**, v. 81, p. 9-19, 2001.

CUBAS, Z. S. Special challenges of maintaining wild animals in captivity in South America. **Revue Scientifique et Technique-office International Epizooties**, v. 15, p. 267-287, 1996.

CURI, N. H. A. **Avaliação do estado de saúde e do risco de transmissão de doenças entre canídeos (Mammalia, Carnívora) silvestres e domésticos na região da Serra do Cipó, Minas Gerais: implicações para a conservação**. 2005. 101 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia de Vertebrados) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

CURI, N. H. ALMEIDA; ARAÚJO, A. S.; CAMPOS, F. S.; LOBATO, Z. I. P.; GENNARI, S. M.; MARVULO, M. F. V.; SILVA, J. C. R.; TALAMONI, S. A. Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: disease threats for canid conservation. **Biodiversity and Conservation**, v. 19, n. 12, p. 3513-3524, 2010.

CURI, N. H. ALMEIDA; COELHO, C. M.; MALTA, M. C. C.; MAGNI, E. M. V.; SÁBATO, M. A. L.; ARAÚJO, A. S.; LOBATO, Z. I. P.; SANTOS, J. L. C.; SANTOS, H. A.; RAGOZO, A. A. M.; de SOUZA, S. L. P. Pathogens of wild maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) in Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, n. 4, p. 1052-1056, 2012.

FERREYRA, H.; CALDERÓN, M. G.; MARTICORENA, D.; MARULL, C.; LEONARDO, B. C. Canine distemper infection in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 4, p. 1158-1162, 2009.

FIORELLO, C. V.; DEEM, S. L.; MATTHEW, E. G.; DUBOVI, E. J. Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the border of Madidi National Park, Bolivia. **Animal Conservation**, v. 7, p. 45-54, 2004.

FIORELLO, C. V.; NOSS, A. J.; DEEM, S. L.; MAFFEI, L.; DUBOVI, E. J. Serosurvey of small carnivores in the Bolivian Chaco. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, p. 551-557, 2007.

FOURNIER-CHAMBRILLON, C.; AASTED, B.; PERROT, A.; PONTIER, D.; SAUVAGE, F.; ARTOIS, M.; CASSIÈDE, J. M.; CHAUBY, X.; MOLIN, A. D.; SIMON, C.; FOURNIER, P. Antibodies to Aleutian Mink Disease Parvovirus in free-ranging European mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores from Southwestern France. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 3, p. 394-402, 2004.

FOWLER, M. E. Carnívora. In: _____. **Zoo and wildlife medicine**. 2. ed. Philadelphia; W.B. Saunders, 1986. cap. 48, p. 799-811.

FUNK, S. M.; FIORELLO, C. V.; CLEAVELAND, S.; GOMPPER, M. E. The role of disease in carnivore ecology and conservation. In: _____. **Carnivore conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. p. 443-466.

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. 54, 2007.

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**, n. 4, p. 41-47, 2008. Número especial.

FURTADO, M. M. **Estudo epidemiológico de patógenos circulantes nas populações de onça-pintada e animais domésticos em áreas preservadas de três biomas brasileiros: Cerrado, Pantanal e Amazônia**. 2010. 282 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GORDON, J. C.; ANGRICK, E. J. Canine parvovirus: environmental effects on infectivity. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, p. 1464-1467, 1986.

HÜBNER, S. O.; PAPPEN, F. G.; RUAS, J. L.; VARGAS, G. D.; FISCHER, G.; VIDOR, T. Exposure of pampas fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the Southern region of Brazil to canine distemper virus (CDV), canine parvovirus (CPV) and canine coronavirus (CCoV). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 593-597, 2010.

HUEFFER, K.; PARRISH, C. R.; Parvovirus host range, cell tropism and evolution. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, p. 392-398, 2003.

IOP. INSTITUTO ONÇA-PINTADA. **Cerrado: Parque Nacional das Emas**. [2010]. Disponível em: <<http://www.jaguar.org.br/instituto.ondetrabalhamos.php>>. Acesso em: 28 maio 2010.

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

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.

JORGE, R. S. P. **Caracterização do estado sanitário dos carnívoros selvagens da RPPN SESC Pantanal e de animais domésticos da região**. 2008. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; JACOMO, A. T. A.; MARVULO, M. F.; SILVA, J. C. R.; SUERO, D. R.; FERRO, C.; ASTETE, S.; TORRES, N. M.; SILVEIRA, L. Brucelose em queixadas (*Tayassu pecari*), de vida livre da região do Parque Nacional das Emas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 25., 2004, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2004.

MACDONALD, D. W.; KAYS, R. W. Carnivores of the world: an introduction. In: NOWAK, R. M. **Walker's carnivores of the world**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. p. 1-67.

MARTINO, P. E.; MONTENEGRO, J. L.; PREZIOSI, J. A.; VENTURINI, C.; BACIGALUPE, D.; STANCHI, N. O.; BAUTISTA, E. L. Serological survey of selected pathogens of free ranging foxes in southern Argentina, 1998-2001. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 23, n. 3, p. 801-806, 2004.

MCCARTHY, A. J.; SHAW, M.; GOODMAN, S. J. Pathogen evolution and disease emergence in carnivores. **Proceedings of the Royal Society**, v. 274, p. 3165-3174, 2007.

MEGID, J.; SOUZA, V. A. F. de; TEIXEIRA, C. R.; CORTEZ, A.; AMORIN, R. L.; HEINEMMAN, M. B.; CAGNINI, D. Q.; RICHTZENHAIN, L. J. Canine distemper vírus in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Brazil: case report and phylogenetic analyses. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 527-530, 2009.

MEGID, J.; TEIXEIRA, C. R.; AMORIN, R. L.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; ANTUNES, J. M. A. de P.; COSTA, L. F. da; FORNAZARI, F.; CIPRIANO, J. R. B.; CREMASCO, A.; RICHTZENHAIN, L. J. First identification of canine distemper vírus in hoary fox (*Lycalopex vetulus*): Pathologic aspects and virus phylogeny. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 46, n. 1, p. 303-305, 2010.

MORAES, C. C. G. de; MEGID, J.; SOUZA, L. C. de; CROCCI, A. J. Prevalência da Brucelose canina na microrregião da Serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p.7-10, 2002.

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.

NAVA, A. F. D.; JR CULLEN, L.; SANA, D. A.; NARDI, M. S.; RAMOS FILHO, J. D.; LIMA, T. F.; ABREU, K. C.; FERREIRA, F. First evidence of canine distemper in brazilian free-ranging felids. **Ecohealth**, v. 5, p. 513-518, 2008.

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

RANDHAWA, A. S.; KELLY, V. P.; BAKER, E. F. Agglutinins to *Coxiella burnetii* and *Brucella* spp. with particular reference to *Brucella canis*, in wild animals of southern Texas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 171, p. 939-942, 1977.

- ROELKE-PARKER, M. E.; MUNSON, L.; PACKER, C.; KOCK, R.; CLEVELAND, S.; CARPENTER, M.; O'BRIEN, S. J.; POSPISCHIL, A.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LUTZ, H.; MWAMENGELE, G. L. M.; MGASA, M. N.; MACHANGE, G. A.; SUMMERS, B. A.; APPLE AND MAX, J. G. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). **Nature**, v. 379, p. 441-445, 1996.
- 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.
- SMITH, D. W.; ALMBERG, E. Wolf diseases in Yellowstone National Park. **Yellowstone Science**, v. 15, n. 2, p.17-19, 2007.
- SMITH, K. F., ACEVEDO-WHITEHOUSE, K.; PEDERSEN, A. B. The role of infectious diseases in biological conservation. **Animal Conservation**, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2009.
- UHART, M. M.; RAGO, M. V.; MARULL, C. A.; FERREYRA, H. V.; PEREIRA, J. A. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from Central Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, n. 4, p. 899-909, 2012.
- VIEIRA, N. R. **Desenvolvimento de uma reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção de Brucella spp. em amostras de sangue de cães naturalmente infectados**. 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- WANKE, M. M. Canine brucellosis. **Animal Reproduction Science**, v. 82/83, p. 195-207, 2004.
- WILLIAMS, E. S.; THORNE, E. T.; APPEL, M. J.; BELITSKY, D. W. Canine distemper in black-footed ferrets (*Mustela nigripes*) from Wyoming. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, p. 385-398, 1988.
- WOODROFFE, R.; PRAGER, K. C.; MUNSON, L.; CONRAD, P. A.; DUBOVI, E. J.; MAZET, J. A. Contact with domestic dogs increases pathogen exposure in endangered African wild dogs (*Lycaon pictus*). **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2012.
- WYDEVEN, A. P.; SCHULTZ, R. N.; THIEL, R. P. Gray wolf monitoring in Wisconsin 1979-1991. In: CARBYN, L. D.; FRITTS, S. H.; SEIP, D. R. **Ecology and behavior of wolves in a changing world**. Edmonton, Alberta: Canadian Circumpolar Institute, 1995. p. 147-156
- YURI, E. S.; PENHA, G. A.; UEDA, F. S.; SALVARANI, R. S.; ALVES, M. L. Brucelose canina: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 10, 2008.