

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

Laila Maftoum Proença

**SOROPREVALÊNCIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS CANINAS EM
POPULAÇÕES DE LOBOS-GUARÁ (*Chrysocyon brachyurus*) E
CACHORROS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA
DE ÁGUAS EMENDADAS, DF**

Orientador: Flávio Henrique Guimarães Rodrigues

Co-Orientador: Jean Carlos Ramos Silva

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Biologia da
Universidade de Brasília
como um dos requisitos
para obtenção do Título de
Mestre em Biologia Animal**

Brasília

2007

SUMÁRIO

	Página
Índice de Figuras	iv
Índice de Tabelas	v
Agradecimentos	vi
Resumo	viii
Abstract	ix
Introdução	10
Material e Métodos	15
Área de estudo	15
Espécies estudadas, manejo de captura e coleta de amostras	16
Procedimento laboratorial	17
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	17
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i>	18
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Brucella sp.</i>	18
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Leptospira spp.</i>	18
Resultados	20
Capturas	20
Testes laboratoriais	22
Discussão	24
Referências	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Localização da Estação Ecológica de Águas Emendadas (delineada em verde) no Distrito Federal. Fonte: Google earth	15
Figura 2. Pontos representativos dos locais de captura de lobos-guará (<i>C. brachyurus</i>) na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Note: cada cor representa um indivíduo e o número 3 indica o número de capturas do mesmo indivíduo num mesmo local. Fonte: Google earth	21
Figura 3. Pontos representativos dos locais de captura de cachorros-do-mato (<i>C. thous</i>) na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Note: cada cor representa um indivíduo e o número 2 indica o número de capturas de indivíduos diferentes no mesmo local. Fonte: Google earth	21
Figura 4. Pontos representando a localização dos cachorros-do-mato (<i>C. thous</i>), positivos (vermelho) e negativos (azul) para o Teste de Aglutinação Direta Modificada, para anticorpos anti- <i>T. gondii</i> , na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Nota: o número 2 indica o número de capturas de indivíduos diferentes no mesmo local. Fonte: Google earth	23

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Antígenos utilizados na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose. São Paulo, 2006.	19
Tabela 2. Quadro demonstrativo das capturas de lobos-guará (<i>C. brachyurus</i>) e cachorros-do-mato (<i>C. thous</i>) no período de fevereiro a outubro de 2006, na Estação Ecológica de Águas Emendadas - DF	20
Tabela 3. Resultados dos Testes de Aglutinação Direta Modificada (MAT), realizados nos canídeos selvagens capturados na Estação Ecológica de Águas Emendadas – DF, no período de fevereiro a outubro de 2006.	22



L. Prof.

RESUMO

A soroprevalência de doenças infecciosas caninas foi estudada em populações de lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), de vida livre, na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE), Distrito Federal (DF), no período de fevereiro a outubro de 2006. Do total de 10 amostras analisadas, oito (80%) foram soropositivas para *Toxoplasma gondii*. A prevalência de *T. gondii* dentre os lobos-guará foi de 100% (3/3), e entre os cachorros-do-mato foi de 71,4% (5/7). Nenhum dos animais apresentou anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. Esse estudo demonstrou a alta exposição das populações de canídeos selvagens, provenientes da ESECAE, DF, ao *T. gondii*, e sugere a alta contaminação ambiental da Estação, atribuída a proximidade da mesma à zonas urbanas e a invasão da unidade por gatos domésticos possivelmente contaminados.

Palavras-chave: *Chrysocyon brachyurus*, *Cerdocyon thous*, soroprevalência, doenças infecciosas.

ABSTRACT

A serologic survey for canine infectious diseases among maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and crab eating fox (*Cerdocyon thous*) free-ranging population's was done at Águas Emendadas Ecological Station (ESECAE), Distrito Federal, from February to October 2006. From the 10 samples analysed, eight (80%) were positives for *Toxoplasma gondii*. The prevalence of *T. gondii* among maned wolves was 100% (3/3), and among crab eating fox was 71,4% (5/7). None of the animals showed antibodies anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp e *Leptospira* spp. This study showed the high exposition of *T. gondii* among wild canids populations, from ESECAE, DF, and suggest a high enviromental contamination of the Estation, attributed its proximity with urban areas and the invasion of the unit for domestic cats, probably contaminated.

Key words: *Chrysocyon brachyurus*, *Cerdocyon thous*, serologic survey, infectious diseases

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas caninas têm sido amplamente estudadas nos os animais de vida livre em todo o mundo, com especial atenção aos carnívoros selvagens (Montali et al., 1983; Frölich et al., 2000; Steinel et al., 2001), dentre os quais as populações de canídeos ganham expressividade (Thomas et al., 1984; Ballard e Krausman, 1997; Davidson et al., 1999; Macinnes et al., 2001; Zarnke et al., 2001; Evers et al., 2003; Smith e Wilkinson, 2003).

Os cães domésticos são reservatórios conhecidos de vários patógenos e doenças infecciosas às quais os canídeos selvagens também são suscetíveis (Kennedy-Stoskopf, 2003). Maia e Gouveia, 2002, em estudo de mortalidade em lobos-guará de cativeiro, provenientes de vida livre, afirmaram que 10% dos óbitos ocorreram por doenças infecciosas. Outros estudos semelhantes apresentam a ocorrência das doenças infecciosas como *causa mortis* dentre os canídeos selvagens, demonstrando sua relevância na conservação das espécies (Grinder e Krausman, 2001; Kelly e Sleeman, 2003; Mörrner et al., 2005). O contato entre canídeos domésticos e selvagens em *habitats* periurbanos aumenta a probabilidade de transmissão dessas doenças entre ambos (Courtenay et al., 2001). Segundo Riley et al. (2004) o aumento da densidade populacional humana e, com ela, a população de animais domésticos, tende a aumentar a exposição dos animais selvagens aos patógenos de cães. Thoisy et al. (2003) citaram que os carnívoros selvagens possuem maior potencial de infecção, principalmente por ingestão dos microorganismos, provenientes do ambiente e/ou de suas presas.

A exposição e titulação sorológica positiva não necessariamente estão correlacionadas com a doença clínica, isto é, animais soropositivos para uma determinada enfermidade não necessariamente desenvolverão os sinais clínicos e a doença propriamente dita (Kennedy-Stoskopf, 2003). Com isso, a avaliação freqüente da soroprevalência das principais doenças infecciosas e zoonoses torna-se necessária e importante nas populações de mamíferos selvagens, para o diagnóstico precoce, prevenção e controle dessas enfermidades. Bischof e Rogers (2005) demonstraram a prevalência de 48% do Vírus do Oeste do Nilo em coiotes (*Canis latrans*), após seis meses da

detecção da doença em Nebraska, e sugeriram a utilização desta espécie como grupo sentinela para avaliar o grau de exposição e dispersão do vírus nos Estados Unidos.

No Brasil, estudos relacionados a algumas zoonoses e doenças infecciosas vêm sendo realizados sistematicamente por instituições acadêmicas e/ou de controle de doenças com interesse na saúde pública, saúde animal e na conservação da vida selvagem. Dentre elas ressaltam-se a toxoplasmose, neosporose, brucelose e leptospirose (Mathias et al., 1999; Melo et al., 2002; Azevedo et al., 2003; Cañón-Franco et al., 2004; Corrêa et al., 2004; Gennari et al., 2004; Vitaliano et al., 2004; Aguiar et al., 2005; Moore, 2005; Tiemann et al., 2005; Andrade et al., 2006; Andreotti et al., 2006; Godim, 2006;).

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório, com distribuição mundial, que pode infectar todas as espécies de sangue quente, inclusive o homem (Dubey e Beattie, 1988). Os felinos são os hospedeiros definitivos, capazes de amplificar a infecção através da excreção de oocistos nas fezes. O parasita mantém-se entre herbívoros, carnívoros e onívoros infectados, na forma encistada no tecido muscular e nervoso, servindo como fonte de infecção na cadeia alimentar (Riemann et al., 1975; Smith e Frenkel, 1995; Sedlák e Bártoová, 2006). Apresenta também potencial de transmissão vertical (transplacentária) por intermédio de taquizoítos, e por essa razão a toxoplasmose possui grande importância na saúde pública humana. A maioria dos animais é assintomática, e os sinais clínicos incluem o sistema ocular, neuromuscular, respiratório, digestório, cardíaco e reprodutor (Sherding, 1998). A ocorrência da doença no Brasil tem sido demonstrada em canídeos selvagens com altos valores de soropositividade (Gennari et al., 2004; Vitaliano et al., 2004).

A Neosporose é causada pelo protozoário *Neospora caninum*, reconhecida como uma importante doença que causa aborto em bovinos e de doença neuromuscular em cães. Estudos recentes demonstraram a soropositividade para o parasita em canídeos selvagens (Lindsay et al., 2001; Melo et al., 2002; Cañón-Franco et al., 2004; Moore, 2005; Steinman et al., 2006). Os canídeos domésticos e o coiote (*Canis latrans*) são descritos como hospedeiros definitivos, capazes de dispersar oocistos após ingestão de tecido

contaminado (Lindsay et al., 1999; McAllister et al., 2004 citado por Godim et al., 2004; Godim, 2006). Herbívoros selvagens como cervídeos têm sido relatados como hospedeiros intermediários, bem como canídeos, como a raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), podendo transmitir a doença aos animais domésticos, sugerindo a existência de um ciclo silvestre do parasita (Godim et al., 2004; Almería et al., 2002; Tiemann et al., 2005; Godim, 2006). O potencial zoonótico da doença é ainda desconhecido (Dubey e Lappin, 2006)

No Brasil a brucelose vem sendo estudada entre cães domésticos de áreas rurais e periurbanas (Azevedo et al., 2003; Aguiar et al., 2005). Em cães, as principais espécies do gênero *Brucella* potencialmente causadoras da doença são a *B. canis* e *B. abortus*, em ordem crescente de importância. Suas principais consequências são o aborto nas fêmeas e esterilidade nos machos, possuindo casos confirmados da doença em seres humanos (Sherding, 1998; Lucero et al., 2005; Greene e Carmichael, 2006). A transmissão decorre do contato das mucosas com o microorganismo, sendo a forma de transmissão venérea a mais evidente. A bactéria pode estar presente em restos de abortamento, secreções genitais e urina. Tessaro e Forbes (2004), comprovaram a infecção experimental de lobos (*Canis lupus*) através da ingestão do microorganismo.

A Leptospirose é uma doença bacteriana de caráter zoonótico que afeta os animais domésticos, animais selvagens e o homem (Corrêa et al., 2004). É causada por sorovares da *Leptospira interrogans*, mantidos na natureza por hospedeiros domésticos e selvagens com potencial de transmissão da doença. A transmissão ocorre direta ou indiretamente entre os animais (Greene et al., 2006). A doença causa principalmente um quadro febril, associado a insuficiência renal e hepática agudas (Sherding, 1998). Sorovares positivos para a doença foram relatados em canídeos, roedores, marsupiais, primatas, felinos e cervídeos (Reilly, 1970; Redetzke e McCann, 1980; Mathias et al., 1999; Corrêa et al., 2004; Cox et al., 2005).

Em nosso país não sabemos o real impacto destes patógenos e das doenças infecciosas nas populações de carnívoros na natureza. Contudo, as doenças infecciosas com caráter zoonótico são particularmente relevantes ao se tratar de animais selvagens, envolvendo a saúde pública (Corrêa & Passos, 2001). No Brasil, estudos com canídeos têm sido desenvolvidos, com especial

enfoque ao lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1815), (Cabasso et al., 1956; Silva e Breckenfeld, 1968; Fletcher et al., 1979; Mann et al., 1980; Rego et al., 1997; Maia et al., 1999; Maia e Gouveia, 1999; Maia e Gouveia, 2001; Vitaliano et al., 2004; Melo et al., 2002; Moore, 2006) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766), (Melo et al., 2002; Cañón-Franco et al., 2004; Gennari et al., 2004; Godim, 2006; Moore, 2006).

Ambos os canídeos estão presentes na ESECAE, DF (Estação Ecológica de Águas Emendadas) – 10.400 ha –, um pequeno fragmento de Cerrado, situado na porção nordeste do Distrito Federal. Rodrigues (2002) estimou uma população de lobos residente na ESECAE entre quatro e cinco casais. Devido a sua proximidade com a área urbana, estão sujeitos a ameaças externas, como o atropelamento por veículo automotivo, caça, além das ameaças inerentes ao pequeno tamanho populacional e a invasão da Estação Ecológica por animais domésticos, possíveis portadores de doenças infecciosas (Rodrigues, 2002).

O lobo-guará, presente em todo Brasil central, Bolívia oriental, Paraguai e nordeste Argentino, e o cachorro-do-mato, presente da Colômbia à Argentina, são importantes hospedeiros suscetíveis para a realização de um estudo de soroprevalência de doenças infecciosas, dado o contato direto e indireto com cães e outros animais domésticos, e a adaptação a *habitats* antropizados (Dietz, 1984; Jácomo, 1999; Silveira, 1999; Rodrigues, 2002; Rodden et al., 2004).

O lobo-guará representa, dentre os canídeos sul-americanos, seu maior exemplar, chegando a medir aproximadamente 89 cm de altura (altura na cernelha) e 105 cm de comprimento (cabeça-corpo), com peso médio de 25 kg (Dietz, 1984; Rodden et al., 2004). São monogâmicos e territorialistas, com área de vida média de 57 km² (Rodrigues, 2002). Possuem dieta baseada em frutos e pequenos mamíferos e seus hábitos alimentares são característicos de um generalista (Dietz, 1984; Carvalho e Vasconcellos, 1995; Mota-Junior et al., 1996; Juarez e Marinho-Filho, 2002; Jácomo et al., 2004; Rodden et al., 2004; Rodrigues et al., no prelo). Habitam áreas abertas de campos e cerrado (Rodden et al., 2004).

O cachorro-do-mato é um canídeo de porte médio com peso aproximado de 5-7 kg, comprimento médio de 65 cm e cauda de 30 cm (Courtenay e

Maffei, 2004). São territorialistas podendo forragear aos pares e, possuem hábito alimentar generalista oportunista. Incluem em sua dieta vertebrados, aves, anfíbios, carniça, insetos e crustáceos (Juarez e Marinho-Filho, 2002; Courtenay e Maffei, 2004; Jácomo et al., 2004). Possuem hábitos crepusculares e noturnos, habitando áreas de cerrado, caatinga, transições entre chaco-cerrado e florestas (Courtenay e Maffei, 2004).

O objetivo do presente estudo foi a realização de um levantamento da soroprevalência de toxoplasmose, neosporose, brucelose e leptospirose em populações de lobos-guará e cachorros-do-mato na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF e a análise da importância da ocorrência dessas doenças nestes canídeos no tocante à saúde pública, saúde animal e na conservação da vida silvestre.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

O presente estudo foi realizado na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE) DF, que possui 10.400 ha, representando um pequeno fragmento de Cerrado, situado na porção nordeste do Distrito Federal (Fig. 1). Possui várias fisionomias vegetais representadas, dentre elas os campos, veredas, matas de galeria, cerradão e cerrado *sensu stricto* (Silva-Júnior e Fidelfi, 1996). Nela estão contidas as nascentes que drenam para as bacias Amazônica e do Paraná, incluindo a nascente que drena para ambas as bacias (Rodrigues, 2002).



Figura 1. Localização da Estação Ecológica de Águas Emendadas (delineada em verde) no Distrito Federal. Fonte: Google earth

É formada por dois fragmentos, separados pela rodovia DF 128. O fragmento maior é ainda delimitado pelas rodovias DF 345, DF 205 e a BR 020. Fazendas, chácaras e a cidade de Planaltina (120 mil habitantes) margeiam a unidade, bem como a Lagoa Bonita, situada no fragmento menor da Estação (Rodrigues, 2002).

Espécies estudadas, manejo de captura e coleta de amostra

Foram capturados espécimes de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), no período de fevereiro a outubro de 2006.

Os animais foram capturados utilizando armadilhas de desarme independente, com porta em guilhotina, confeccionada com tela de alumínio, segundo modelo proposto por Dietz (1984), totalizando 1.541 armadilhas * noite.

Os locais de instalação das armadilhas foram escolhidos conforme a quantidade de fezes na proximidade, visualização de rastros e visualização dos indivíduos pelos funcionários da Estação. As armadilhas foram iscadas com codornas vivas, as quais foram acondicionadas de duas a duas, em caixas de madeira, com frente de tela plástica e fixadas ao fundo da gaiola. Dentro de cada caixa eram colocados um bebedouro e um comedouro, ambos de plástico. As aves permaneciam com água e alimento *ad-libitum*, os quais eram trocados diariamente. Neste trabalho foram respeitadas todas as normas éticas para garantir o bem-estar animal.

As armadilhas foram checadas diariamente no período matutino a procura de animais capturados, e suas iscas substituídas conforme a necessidade.

Quando capturados ou recapturados (com período \geq a 25 dias) os animais eram anestesiados utilizando a associação de tiletamina e zolazepan, na dose de 3-5 mg/kg pela via intramuscular e tinham seus parâmetros fisiológicos monitorados e registrados a cada cinco minutos. Uma via intravenosa era mantida durante todo procedimento. Reaplicações anestésicas eram administradas utilizando um terço da dose inicial, pela via intravenosa.

Através de venopunção cefálica, jugular ou femoral foram coletados 20 mL de sangue, utilizando tubos estéreis sem anticoagulante. Seguiam-se a identificação dos indivíduos, através de brincos plásticos e tatuagem. Ao término do procedimento os animais eram recolocados na armadilha sob monitoração anestésica e soltos tão logo estivessem recuperados.

As amostras coletadas foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo reciclável, mantidos resfriados durante todo procedimento e transporte. Do sangue total foi extraído o soro através de centrifugação, o qual foi armazenado em alíquotas de 0,5 mL, mantidas sob a temperatura de -20 °C.

Procedimento laboratorial

Foram realizados testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella abortus* e *Leptospira* spp. Os exames sorológicos de toxoplasmose e neosporose foram realizados 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); O exame sorológico para leptospirose foi realizado no Laboratório de Zoonoses Bacterianas do VPS-FMVZ/USP; e os exames sorológicos para brucelose foram realizados no Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Laboratório Regional de Agricultura (LANAGRO), PE.

Pesquisa de Anticorpos anti-Toxoplasma gondii

Para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi utilizado o Teste de Aglutinação Direta Modificada (MAT) (Dubey e Desmonts, 1987), utilizando o 2-mercaptoetanol e taquizoítos inativados pela formalina. Este teste dispensa a necessidade do uso de conjugado específico para cada espécie animal (Dubey e Thulliez, 1989; Dubey et al., 1995), o que motivou sua escolha. O ponto de corte foi estabelecido em título ≥ 25 , representando indicação de uma infecção passada pelo *T. gondii* (Dubey e Thulliez, 1989; Dubey et al., 1995). Soros controles foram incluídos em cada teste.

Pesquisa de Anticorpos anti-Neospora caninum

Utilizou-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* e os títulos foram considerados positivos para valores ≥ 40 (Paré et al., 1995).

Pesquisa de Anticorpos anti-Brucella sp

Para pesquisa de anticorpos anti-*Brucella sp* foi realizado como teste de triagem o Teste de Rosa Bengala (TRB) com antígeno acidificado tamponado utilizando como antígeno *Brucella abortus* (cepa 1119-3). Este teste de soroaglutinação é qualitativo rápido, prático e de boa sensibilidade classificando os animais como positivos ou negativos logo no início da infecção (Kruze, 1975; OMS, 1986). Resultados falso negativos são raros existindo uma correlação de 99% entre testes negativos e a ausência de infecção (Greene e Carmichael, 2006).

Pesquisa de Anticorpos anti-Leptospira spp.

Para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira spp* foi realizado o exame de soroaglutinação microscópica (SAM) (Cole et al., 1973) com uma coleção de antígenos vivos que incluiu 22 variantes sorológicas de leptospiros patogênicas e duas de leptospiros saprófitas, como mostra a Tabela 1. Os títulos ≥ 100 foram considerados positivos.

Tabela 1. Antígenos utilizados na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose. São Paulo, 2006

Leptospiras patogênicas		Leptospiras patogênicas	
Sorogrupo	Variante Sorológica	Sorogrupo	Variante Sorológica
Australis	australis 1 ^A bratislava 1B	Javanica	javanica 11
Autumnalis	autumnalis 2 ^A butembo 2B	Panamá	panamá 12
Ballum	castellonis 3	Pomona	pomona 13
Batavia	bataviae 4	Pyrogenes	pyrogenes 14
Canicola	canicola 5	Sejroe	hardjo 15A wolffi 15B
Celledoni	whitcombi 6	Shermani	shermani 16
Cynopteri	cynopteri 7	Tarassovi	tarassovi 17
Grippotyphosa	grippotyphosa 8	Djasiman	sentot St
Hebdomadis	hebdomadis 9	Leptospiras saprófitas	
Icterohaemorrhagiae	copenhageni 10 ^A icterohaemorrhagiae 10B	Andamana	andamana 18
		Seramanga	patoc 20

RESULTADOS

Capturas

Foram capturados sete cachorros-do-mato (quatro fêmeas e três machos) e três indivíduos de lobo-guará (dois machos e uma fêmea), dos quais dois deles foram recapturados durante o período de estudo, totalizando dez capturas e cinco recapturas (Fig. 2 e 3 e Tabela 2). O indivíduo número um foi recapturado quatro vezes, e as amostras foram coletadas apenas nas duas primeiras recapturas, pois as recapturas seguintes ocorreram em um intervalo de tempo \leq a 25 dias, o que não implicaria em alteração de titulação (positivo/negativo). Todos os animais capturados eram adultos e mostraram-se hígidos ao exame clínico. O peso médio dos animais coletados foi de 24,6 kg ($\pm 5,03$) entre os lobos-guará e 6,25 kg ($\pm 0,88$) entre os cachorros-do-mato.

Tabela 2. Quadro demonstrativo das capturas de lobos-guará (*C. brachyurus*) e cachorros-do-mato (*C. thous*) no período de fevereiro a outubro de 2006, na Estação Ecológica de Águas Emendadas – DF.

Animal	Espécie	Sexo	Data		
			captura	recaptura	recaptura
1	<i>C. brachyurus</i>	Macho	24/02/06	22/03/06	03, 18 e 24/07/06
2	<i>C. brachyurus</i>	Macho	23/04/06	19/05/06	
3	<i>C. brachyurus</i>	Fêmea	25/09/06		
4	<i>C. thous</i>	Fêmea	21/03/06		
5	<i>C. thous</i>	Fêmea	01/05/06		
6	<i>C. thous</i>	Fêmea	08/05/06		
7	<i>C. thous</i>	Macho	19/05/06		
8	<i>C. thous</i>	Macho	04/06/06		
9	<i>C. thous</i>	Fêmea	29/06/06		
10	<i>C. thous</i>	Macho	14/07/06		



Figura 2. Pontos representativos dos locais de captura de lobos-guará (*C. brachyurus*) na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Note: cada cor representa um indivíduo e o número 3 indica o número de capturas do mesmo indivíduo num mesmo local. Fonte: Google earth

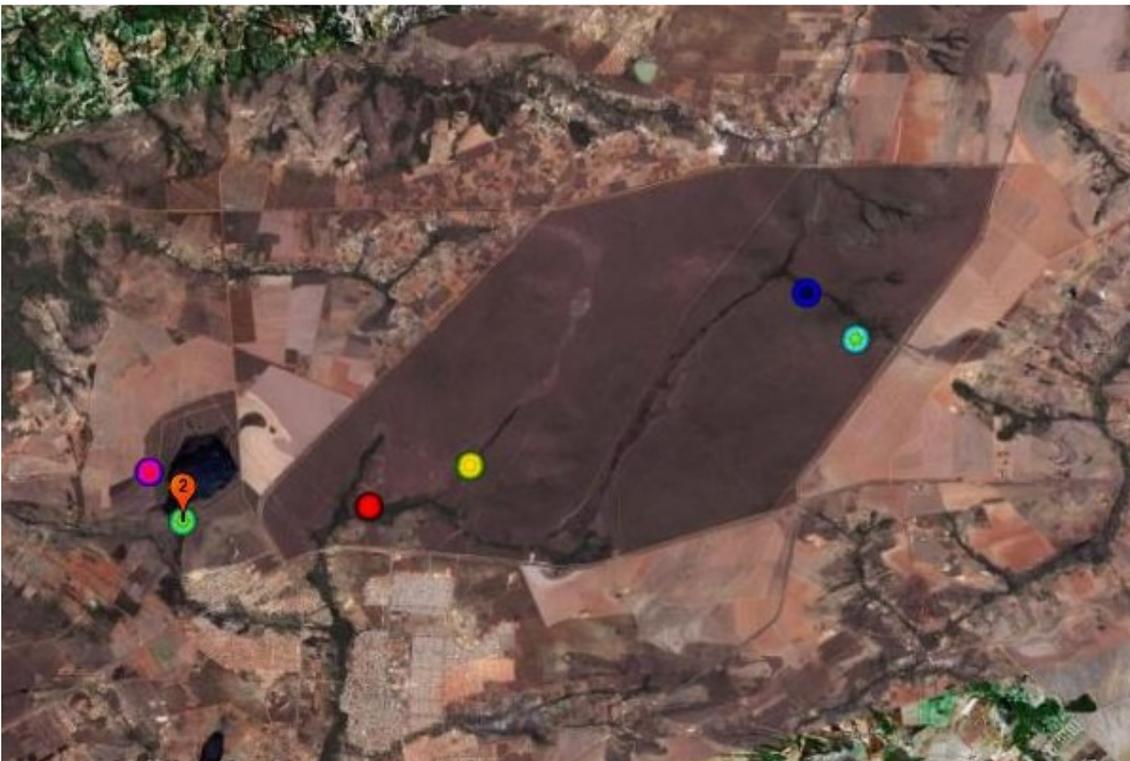


Figura 3. Pontos representativos dos locais de captura de cachorros-do-mato (*C. thous*) na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Note: cada cor representa um indivíduo e o número 2 indica o número de capturas de indivíduos diferentes no mesmo local. Fonte: Google earth

Testes laboratoriais

Do total de 10 indivíduos analisados, oito (80%) foram soropositivas para *T. gondii* (Tabela 3). A prevalência de *T. gondii* dentre os lobos-guará foi de 100% (3/3), e entre os cachorros-do-mato foi de 71,4% (5/7) (Figura 4). Os animais recapturados (1 e 2) apresentaram resultado positivo em todas as ocasiões.

Todos os animais apresentaram resultados negativos para neosporose, brucelose e leptospirose.

Tabela 3. Resultados dos Testes de Aglutinação Direta Modificada (MAT), realizados nos canídeos selvagens capturados na Estação Ecológica de Águas Emendadas – DF, no período de fevereiro a outubro de 2006.

Data	Animal	Espécie	Sexo	Título	Resultado
24/02/06	1	<i>C. brachyurus</i>	M	100	Positivo
22/03/06	1	<i>C. brachyurus</i>	M	200	Positivo
03/07/06	1	<i>C. brachyurus</i>	M	100	Positivo
23/04/06	2	<i>C. brachyurus</i>	M	100	Positivo
19/05/06	2	<i>C. brachyurus</i>	M	100	Positivo
25/09/06	3	<i>C. brachyurus</i>	F	100	Positivo
21/03/06	4	<i>C. thous</i>	F	1600	Positivo
01/05/06	5	<i>C. thous</i>	F	50	Positivo
08/05/06	6	<i>C. thous</i>	F	100	Positivo
19/05/06	7	<i>C. thous</i>	M	<25	Negativo
04/06/06	8	<i>C. thous</i>	M	50	Positivo
29/06/06	9	<i>C. thous</i>	F	400	Positivo
14/07/06	10	<i>C. thous</i>	M	<25	Negativo

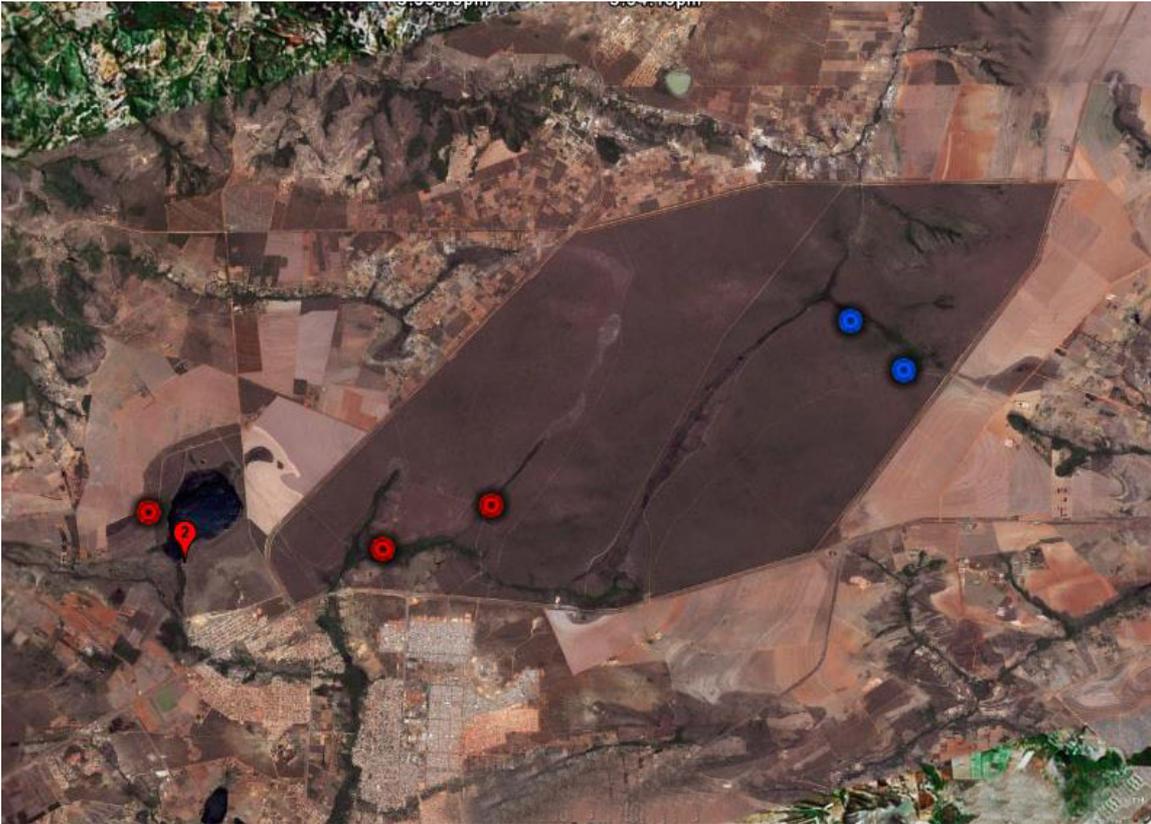


Figura 4. Pontos representando a localização dos cachorros-do-mato (*C. thous*), positivos (vermelho) e negativos (azul) para o Teste de Aglutinação Direta Modificada, para anticorpos anti-*T. gondii*, na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. Nota: o número 2 indica o número de capturas de indivíduos diferentes no mesmo local. Fonte: Google earth

DISCUSSÃO

A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* encontrada em lobos-guará e cachorros-do-mato na ESECAE foi alta, comparada a outros estudos com as espécies. Para lobos-guará, a prevalência foi de 100% (3/3), representando um resultado elevado quando comparado à prevalência de 74,6% (44/59) em lobos de cativeiro no Brasil e a ausência de contaminação em lobos-guará (0/7) provenientes de um criatório conservacionista presente na reserva ecológica da Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM), Araxá, Minas Gerais (Vitaliano et al., 2004). Entre os cachorros-do-mato a prevalência encontrada foi de 71,4% (5/7), superior a de 60% (9/15) descrita por Gennari et al. (2004) em *C. thous* de vida livre no Brasil.

Tais dados sugerem a alta contaminação ambiental da ESECAE, o que pode ser atribuído à proximidade da Estação com zonas urbanas e a invasão da unidade por gatos domésticos possivelmente contaminados. Vitaliano et al. (2004), sugeriram que a ausência de anticorpos anti-*T. gondii* nos lobos-guará do criatório conservacionista da CBMM em Minas Gerais deu-se ao fato de que o local não possui a presença de gatos domésticos, potencialmente disseminadores de oocistos no ambiente. Os autores encontraram ainda uma correlação positiva entre a idade do animal e a titulação sorológica para o parasita, e alegaram esse fato à ausência de contaminação nos lobos-guará da CBMM, já que todos os animais eram jovens.

Vários trabalhos têm demonstrado a exposição natural de *Toxoplasma gondii* em animais selvagens. Smith e Frenkel (1995), em estudo de prevalência de *T. gondii* em mamíferos selvagens no Kansas, EUA, evidenciaram a prevalência de 66% (38/58) em carnívoros, 15% (14/94) em onívoros, 11% (13/117) em herbívoros e nula (0/4) em insetívoros, demonstrando que a infecção por *T. gondii* em animais de vida livre, em geral, é maior em carnívoros. Os autores comprovaram a mesma hipótese elaborando um estudo retrospectivo da prevalência de *T. gondii* em mamíferos selvagens nos EUA com o resultado expresso numa média nacional da exposição ao parasita de 52, 21 e 9% em carnívoros, onívoros e herbívoros, respectivamente. Os autores propuseram que a probabilidade de um carnívoro

infectar-se com o parasita é maior do que em herbívoros, fato atribuído aos carnívoros ingerirem os cistos teciduais (bradizoítas) de *T. gondii* presentes no tecido nervoso e muscular de suas presas, enquanto os herbívoros teriam que ingerir oocistos provenientes do solo ou água contaminados (via de transmissão de mais difícil ocorrência). Os onívoros demonstraram resultados intermediários, entre carnívoros e herbívoros, já que parte da sua alimentação provém de plantas e outra de presas potencialmente infectadas.

Outros estudos também reforçam uma alta prevalência em carnívoros, como na Carolina do Sul, EUA, onde 61,5% (16/26) das raposas-cinza (*Urocyon cinereoargenteus*) estudadas demonstraram anticorpos para *T. gondii*, indicando a alta exposição e contaminação do ambiente com o parasita (Lindsay et al., 2001). Taxas menores de prevalência em carnívoros foram relatadas por Thoisy et al. (2003) e Smith e Frenkel (1995) (35 e 66%, respectivamente).

Os mamíferos terrestres, comparativamente aos outros mamíferos, são também os mais infectados, resultado da exposição oral ao *T. gondii* através do forrageamento no solo e/ou carnívoria. Nos animais capturados na Guiana Francesa, a soroprevalência mostrou-se inferior em primatas (2%, n=100) e marsupiais (15%, n=62). As ordens Xenarthra e Rodentia demonstraram prevalência intermediária (24% n=240), enquanto Carnívora e Artiodactyla exibiram as médias mais elevadas, com valores de 35 (n=17) e 57% (n=37) respectivamente (Thoisy et al., 2003), confrontando os valores apresentados nos estudos citados anteriormente, os quais demonstram uma maior prevalência para os carnívoros.

Riemann et al. (1975) confirmaram a manutenção do *T. gondii* em animais africanos de vida livre, com 13% de soropositividade (20/157). Os autores sugeriram que o parasita mantém-se entre herbívoros e carnívoros com infecção crônica, e atribuem aos felinos, dentre eles os leões (*Panthera leo*), a amplificação e disseminação da infecção entre os mamíferos de vida livre, demonstrando que todas as condições necessárias para a perpetuação do *T. gondii* estão presentes na área estudada.

Trabalhos similares foram realizados com mamíferos de cativeiro, ao exemplo do estudo de Sedlák e Bártoová (2006), evidenciando a prevalência de 34,7% (193/556) de mamíferos soropositivos para *T. gondii*, em zoológicos da

Eslováquia e República Tcheca. Nesse estudo os carnívoros foram os responsáveis pela maior prevalência, 89,7% (78/87), com o lobo-guará apresentando taxas de 100% (6/6) de soropositividade, a maior entre elas. Os felinos obtiveram 92,7% (38/41) de prevalência. Os autores sugeriram que a principal via de transmissão para os carnívoros foi a carne contaminada com cistos teciduais de *T.gondii* e possivelmente por felinos soropositivos com acesso livre aos zoológicos.

Em se tratando de toxoplasmose, os ambientes fragmentados, delimitados por áreas urbanas e/ou periurbanas, podem ser comparados a grandes zoológicos, como exemplo a ESECAE, cercada por fazendas e a cidade de Planaltina, DF. Ambos sofrem com as mesmas influências capazes de contaminar esses ambientes com *T. gondii*, os gatos domésticos e alimento contaminado.

Os gatos domésticos têm acesso livre à Estação, com visualizações e capturas já registradas (F. Rodrigues, comunicação pessoal), podendo exercer papel de disseminadores de oocistos no ambiente. Outra possível via de transmissão são os pequenos mamíferos, classificados como presas de ambos os canídeos. Smith e Frenkell (1995) documentaram a prevalência de 16% (11/65) de anticorpos anti-*T. gondii* em pequenos mamíferos formadores do nível basal da pirâmide de predação. Os autores citaram ainda a eficácia cumulativa no ciclo de presa-predador do *T. gondii*, evidenciando a infecção de consumidores secundários e terciários através da cadeia alimentar.

A fragmentação ambiental e o pequeno tamanho da ESECAE – DF (10.400 ha) contribuem para a utilização das áreas adjacentes à Estação pelos lobos-guará residentes na reserva. Rodrigues (2002) reportou a área de vida de uma fêmea da espécie como em sendo maior que a área total da Estação, e ocupações de 15 a 48% da área para outros indivíduos, demonstrando que a reserva não comporta a população de lobos em seu interior e os mesmos utilizam as fazendas que margeiam a unidade. Para tanto, pode-se presumir que as populações de canídeos selvagens podem se infectar com o *T. gondii* ao utilizarem as áreas peri-urbanas potencialmente contaminadas, através de oocistos disseminados por gatos domésticos soropositivos para toxoplasmose.

A exemplo do estudo de Riemann et al. (1975), que propuseram que os felinos selvagens eram hospedeiros definitivos do *T. gondii*, os felinos

selvagens da ESECAE podem também estar contaminados com o parasita e por conseguinte podem estar disseminando oocistos no ambiente. A transmissão do parasita aos felinos selvagens pode ter ocorrido com a ingestão de pequenos mamíferos, previamente contaminados por oocistos provenientes de gatos domésticos, criando um ambiente favorável para a disseminação e manutenção do parasita no ambiente e nos animais selvagens.

Os felinos (selvagens e domésticos) infectados exercem papel fundamental na difusão da toxoplasmose no meio urbano, principalmente para o homem. Por intermédio do contato direto e indireto, podem disseminar os oocistos de *T. gondii* e servir de fonte de infecção da doença. Inquéritos sorológicos são indicados na população humana local e regional, por se tratar de uma zoonose de interesse na saúde pública, mormente para indivíduos imunossuprimidos e mulheres grávidas, cuja transmissão vertical (transplacentária) pode ocorrer (Darcy e Zenner, 1993). Arias et al. (1996) em inquérito sorológico realizado com 1234 costa-riquenhos detectaram 76% de prevalência do parasita na população.

Outras preocupações são inerentes à saúde pública, como a caça de animais selvagens no local, reportada por Rodrigues (2002). Além do impacto intrínseco da caça para a conservação, os mamíferos da ESECAE provavelmente estão infectados com o parasita e podem desenvolver cistos teciduais no tecido nervoso e/ou muscular. Mediante ingestão de carne crua ou mal cozida a toxoplasmose pode ser transmitida aos seres humanos. Thoisy et al. (2003) reportaram altas taxas de prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* na ordem Artiodactyla com 57% (n=37), incluindo nessa amostra espécimes de cervídeos (*Mazama* spp.) e cateto (*Pecari tajacu*), duas espécies potencialmente predadas pelo homem e de ocorrência na ESECAE (Marinho-Filho et al., 1996).

A invasão da estação por animais domésticos acarreta, ainda, em outras conseqüências. Cães domésticos já foram avistados predando espécies selvagens, como o lobo-guará (Rodrigues, 2002), e podem ser infectados nesse momento com a ingestão de bradizoítos em cistos teciduais. Daí a implicação maior dar-se-á no caso de felinos domésticos predarem pequenos mamíferos (roedores, por exemplo) infectados com cistos teciduais, levando a possível infecção pelo *T. gondii* ao meio urbano, já que serão capazes de

dispersar oocistos em suas fezes. Os felinos selvagens também podem dispersar o parasita no meio urbano, ao utilizarem os perímetros da Estação em sua área de vida. Um exemplo desse fenômeno pode ocorrer quando os mesmos buscam alimento fora da Estação, predando animais domésticos e possivelmente contaminam o ambiente com oocistos durante o forrageamento.

Os lobos-guará e cachorros-do-mato da ESECAE, a exemplo de outros carnívoros, servem como espécies sentinelas na avaliação do grau de exposição do *T. gondii* entre a população residente da Estação, bem como indicadores ambientais dessa dispersão. Tais dados são imprescindíveis no estabelecimento de alternativas de manejo para a conservação, como o estabelecimento de corredores ecológicos e translocações.

A viabilização de trânsito de animais entre áreas diferentes implica potencialmente na transmissão dos patógenos entre populações. As translocações de animais selvagens são realizadas rotineiramente por órgãos governamentais, como a polícia ambiental e zoológicos. Tais manejos são realizados indiscriminadamente, não levando em consideração os inquéritos sorológicos entre os indivíduos translocados (potencialmente portadores de doenças) e a população residente. Em contrapartida, os corredores ecológicos podem proporcionar o trânsito de animais contaminados (selvagens ou domésticos) entre as áreas interligadas por eles. No entanto, deve-se levar em consideração sua relevância na conservação da variabilidade genética, principalmente entre populações fragmentadas, como é o caso da ESECAE. Inquéritos sorológicos nas populações da Estação e nos animais domésticos da matriz (zonas peri-urbana e urbana) devem ser realizados antes e após a implementação desses manejos, a fim de evitar a disseminação de doenças e o declínio dessas populações.

Além de todas as implicações ambientais e de saúde pública já descritas anteriormente, existe ainda a preocupação com as populações de *C. brachyurus* e *C. thous* em si. O desenvolvimento da doença propriamente dita pode acarretar no declínio da população direta e/ou indiretamente. O declínio direto ocorre com o desenvolvimento da doença e seus sinais clínicos, que incluem febre, anorexia, depressão, sinais oculares, respiratórios, neuromusculares, digestórios e cardíacos. Dubey et al. (1990) e Dubey e Lin (1994) relataram a ocorrência de toxoplasmose, com sintomas neurológicos em

canídeos de vida livre, como raposas-cinzas e vermelhas (*Urocyon cinereoargenteus* e *Vulpes vulpes*). Todavia, o *T. gondii* é um parasita que causa infecção comum e doença rara nos animais endotérmicos acometidos (Dubey e Beattie, 1988). O declínio indireto está intimamente ligado aos sintomas reprodutores, que compreendem em abortos, no nascimento de fetos natimortos, ou fetos fracos que virão a óbito precocemente e esterilidade nos machos (Sherding, 1998). Levando em consideração o tamanho pequeno das populações em fragmentos como a ESECAE e as pressões negativas que sofrem, como a caça, atropelamentos e a baixa variabilidade genética, a diminuição na taxa reprodutiva pode acelerar a extinção local dessas populações em curto ou médio prazo.

Com relação aos outros patógenos analisados neste estudo (*Neospora caninum*, *Brucella abortus* e *Leptospira* spp.) para a ocorrência de anticorpos, apesar da importância dos canídeos na cadeia epidemiológica, não foi identificado nenhum canídeo soropositivo. Esse é o primeiro estudo da prevalência de *Leptospira* spp. e *Brucella* sp. em canídeos selvagens de vida livre no Brasil, não havendo relatos anteriores em *C. brachyurus* e *C. thous* de vida livre em outras localidades.

Em semelhança aos resultados apresentados neste trabalho, Melo *et al.* (2002) não identificaram nenhum animal positivo para *N. caninum* dentre os 48 lobos-guará e 2 cachorros-do-mato provenientes de zoológicos do Brasil e de vida livre em Minas Gerais. Vitaliano *et al.* (2004) também encontraram valores nulos para *C. brachyurus* provenientes do criatório conservacionista da CBMM (0/7), no entanto, descreveram variações entre 0 a 50% nos valores de soropositividade em outros lobos-guará de cativeiro, totalizando uma média de 8,5% (5/59). Em contrapartida, Cañón-Franco *et al.* (2004), constatou a prevalência de 41,6% (5/12), 0% (0/0) e 26,6% (4/15) respectivamente em *Lycalopex gymnocercus*, *Lycalopex vetulus* e *Cerdocyon thous*, de vida livre no Brasil.

Os canídeos domésticos e o coiote (*Canis latrans*) são descritos como hospedeiros definitivos do *Neospora*, capazes de dispersar oocistos após ingestão de tecido contaminado (Lindsay *et al.*, 1999; McAllister *et al.*, 2004 citado por Godim *et al.*, 2004; Godim, 2006). A fim de determinar a existência de outros hospedeiros definitivos, Almería *et al.* (2002), pesquisaram a hipótese

em raposas-vermelhas (*Vulpes vulpes*) positivas para *N. caninum*, com cistos teciduais em tecido nervoso mas nenhuma evidência de oocistos nas fezes, confirmando que a espécie é hospedeira intermediária natural do parasita. Pesquisas semelhantes são necessárias em canídeos selvagens brasileiros, de modo que o ciclo epidemiológico do parasita possa ser determinado.

Godim et al. (2004) demonstraram a possibilidade de transmissão entre cervídeos (*Odocoileus virginianus*) e animais domésticos, através da ingestão de cistos teciduais. Os autores sugeriram ainda a presença de um ciclo selvagem do *N. caninum*, e atribuem a transmissão do parasita por intermédio da ingestão de cistos teciduais por carnívoros selvagens, provenientes de carcaças de cervídeos abandonadas por caçadores. Cervídeos, de vida livre e de cativeiro, do gênero *Mazama*, contaminados com *N. caninum* foram encontrados em diferentes regiões brasileiras, com taxas de 42% (63/150) de soropositividade (Tiemann et al., 2005). O gênero *Mazama* também está presente na ESECAE (Marinho-Filho et al., 1996), e esses dados alertam para a possibilidade de transmissão do *Neospora* entre os animais selvagens. No entanto, ao menos entre os canídeos analisados, isso não foi evidenciado.

Corrêa et al., 2004, descreveram a prevalência de *Leptospira* spp. em animais selvagens provenientes de cativeiro, em São Paulo, obtendo 19,5% (59/302) de positividade para o microorganismo. Canídeos foram positivos para os antígenos castellonis (2/4 = 50%), cynopteri (1/4 = 25%) e mini (1/4 = 25%). Estudo similar foi realizado com cervídeos (*Ozotoceros benzoarticus*) provenientes do Mato Grosso do Sul (MS) e Goiás (GO). Das amostras coletadas no Mato Grosso Sul 24% (4/17) foram positivas e todas as 24 amostras de Goiás foram negativas para a bactéria (Mathias et al., 1999).

Diversos estudos para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em canídeos selvagens de vida livre vêm sendo realizados em outros países. As prevalências são descritas para raposas (*Vulpes vulpes* e *Urocyon cinereoargenteus*), com valores entre 0 e 80% (Reilly, 1970; Cirone, 1978; Kingscote, 1986; Riley et al., 2004), para coiotes (*Canis latrans*) com 100% de positividade (Cirone et al., 1978) e para lobos (*Canis lupus*) com 11% de prevalência (Khan et al., 1991).

Poucos trabalhos foram desenvolvidos a fim de evidenciar a prevalência de *Brucella sp.* em canídeos selvagens. A infecção natural e experimental de lobos (*Canis lupus*) com a bactéria já foi descrita por Neiland (1970) e Tessaro e Forbes (2004). No Brasil inquéritos sorológicos foram realizados apenas com cães domésticos e demonstraram baixa prevalência, 2,2% (39/410) em São Paulo e 0,3% (1/304) em Rondônia (Azevedo et al., 2003; Aguiar et al., 2005). Azevedo et al. (2003) em estudo comparativo, evidenciou que cães com acesso irrestrito à rua estiveram mais expostos ao risco da infecção por *B. canis* do que cães domiciliados. Isto leva a crer que a população de canídeos selvagens da ESECAE pode estar sujeita a infecção, já que o contato entre eles e os cães domésticos não domiciliados é intenso na Estação. A infecção das populações de *C. brachyurus* e *C. thous* por *Brucella sp.* poderia acarretar na diminuição da taxa reprodutiva das espécies, visto que a brucelose causa aborto nas fêmeas e esterilidade nos machos, inviabilizando diretamente a reprodução dos indivíduos.

A ausência de estudos prévios sobre a prevalência de *Leptospira spp.* e *Brucella sp.* em *C. brachyurus* e *C. thous* de vida livre, impossibilita a análise comparativa dos dados descritos nesse trabalho e os existentes em literatura.

Os resultados negativos encontrados nesse estudo para *Neospora caninum*, *Brucella abortus* e *Leptospira spp.* demonstram que as populações de *C. brachyurus* e *C. thous* da ESECAE não possuem anticorpos contra esses agentes infecciosos e possivelmente não tiveram contato com os mesmos. O contato com esses agentes poderia provir, principalmente, do contato com animais domésticos e pragas urbanas contaminados, sobretudo com cães, gatos, bovinos e roedores, das zonas urbanas que margeiam a Estação. Porém, para confirmação de que os animais domésticos não oferecem riscos de transmissão dessas doenças aos canídeos selvagens seria necessário um inquérito sorológico detalhado nessas populações domésticas, principalmente dos animais supracitados.

Por fim, esse estudo demonstrou a alta exposição do *Toxoplasma gondii* entre as populações de canídeos (*C. brachyurus* e *C. thous*), provenientes da ESECAE, DF, sua importância como espécies sentinelas e sugere a dispersão desta parasita no meio ambiente. Inquéritos sorológicos futuros com animais domésticos do entorno, humanos, bem como com as espécies predadas pelos

lobos e cachorros-do-mato são necessárias para o estudo sistemático do ciclo do *T. gondii* no ambiente selvagem e sua relação e implicações com o ambiente urbano.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; VASCONCELLOS, S. A.; et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. *Ciência Rural*. v.35, n.5, p.1216-1219, 2005.
- ALMERÍA, S.; FERRER, D.; PABÓN, M. et al. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are natural intermediate host of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. v.107, p. 287-294, 2002.
- ANDRADE, H. M.; REIS, A. B.; DOS SANTOS, S.L. et al. Use of PCR-RFLP to identify *Leishmania* species in naturally-infected dogs. *Veterinary Parasitology*. v.140, p 231-238, 2006.
- ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J.M.; SILVA, E.A. et al. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation whit visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.135, p.375-379, 2006.
- ARIAS, M. L.; CHINCHILLA, M.; REIS, L. et al. Seroepidemiology of toxoplasmosis in humans: possible transmission routes in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop*. v. 44, n.2, p.377-381, 1996.
- AZEVEDO, S. S.; VASCONCELLOS, S. A.; ALVES, C. J. et al. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, estado de São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.23, n.4, p.156-160, 2003.
- BALLARD, W. B.; KRAUSMAN, P. R. Occurrence of rabies in wolves of Alaska. *Journal of Wildlife Disease*. v.33, n.2, p.242-245, 1997.
- BISCHOF, R.; ROGERS, D. G. Serologic survey of select infectious diseases in coyotes and raccoons in Nebraska. *Journal of Wildlife Disease*. v.41, n.4, p.787-791, 2005.
- CABASSO, V. J.; SCHROEDER, C. R.; STEBBINS, M. R. Isolation of distemper virus from the south american maned wolf (*Chrysocyon jubatus*). *Veterinary Medicine*. p.330-332, 1956.

- CARVALHO, C. T.; VASCONCELLOS, L. E. M. Disease, food and reproduction of the maned wolf – *Chrysocyon brachyurus* (Illiger) (Carnivora, canidae) in Southeast Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*. v.12, n.3, p.627-640, 1995.
- CAÑÓN-FRANCO, W.A.; YAI, L. E. O.; SOUZA, S. L. P. et al. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycaloptex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.123, p. 275-277, 2004.
- CIRONE, S.M.; REIMANN, H.P.; RUPPANNER, R. et al. Evaluation of the hemagglutination test for epidemiologic studies of leptospiral antibodies in wild mammals. *Journal of Wildlife Disease*. v.14, p.193-202, 1978.
- COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PURSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Applied Microbiology*, v. 25, p. 976-980, 1973.
- CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. Wild Animal and Public Health. In: MILLER, F.; CUBAS, Z. S. (Ed). *Biology, medicine, and surgery of South American wild animals*. Iowa: Iowa State University Press/Ames, 2001. p. 493-499.
- CORRÊA, S.H.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAES, Z. et al. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação parque Zoológico de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. v.41, n.3, p.189-193, 2004.
- COX, T.E.; SMYTHE, L.D.; LEUNG, L.K.P. Flying foxes as carriers of pathogenic *Leptospira* species. *Journal of Wildlife Disease*. v. 41, n.4, p.753-757, 2005.
- COURTNAY, O.; MAFFEI, L. *Cerdocyon thous* species account. *Canid Action Plan*. IUCN, 2004. 80 p.
- COURTENAY, O.; QUINNELL, R. J.; CHALMERS. 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.
- DARCY, F; ZENNER, L. Experimental models of Toxoplasmosis. *Res. Immunol*. v.144 p.16-22, 1993.
- DAVIDSON, W. R.; LOCKHART, J. M.; STALLKNECHT, D. E. et al. Susceptibility of red and gray foxes to infection by *Ehrlichia chaffeensis*. *Journal of Wildlife Disease*. v.35, n.4, p.696-702, 1999.

- DIETZ, J. M. Ecology and Social Organization of the Maned Wolf (*Chrysocyon brachyurus*). Zoology. v.392, p.1-51, 1984.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220 p.
- DUBEY, J. P.; DESMONTS, G. Serologic responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Equine Veterinary Journal. v. 19, n. 4, p. 337-339, 1987.
- DUBEY, J. P.; HAMIR, A.N.; RUPPRECHT, C.E. Acute Disseminated Toxoplasmosis in a Red Fox (*Vulpes vulpes*). Journal of Wildlife Disease. v.26, n.2, p.286-290, 1990.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: GREENE, C. E. Infectious Diseases of the dog and cat. 3^a ed. Saunders. Philadelphia: Elsevier, 2006. p. 754-774.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R.; THULLIEZ, P. Long-term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. Journal of Parasitology, v.81, n.6, p.887-893, 1995.
- DUBEY, J. P.; LIN, T.L. Acute Toxoplasmosis in a gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*). Veterinary Parasitology. v.51, p. 321-325, 1994.
- DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Serologic diagnosis of toxoplasmosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. Journal of the American Veterinary Medical Association. v.194, n.9, p.1297-1299, 1989.
- EVER, H. V.; KOCAN, A. A.; REICHARD, M. V. et al. Journal of Wildlife Disease. v.39, n.4, p.904-908, 2003.
- FLETCHER, K. C.; EUGSTER, K.; SCHMIDT, R. E. et al. Parvovirus infection in Maned Wolves. Journal American Veterinary Medical Association. v.175, n.9, p.897-900, 1979.
- FRÖLICH, K.; CZUPALLA, O.; HAAS, L. et al. Epizootiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. Veterinary Microbiology. v.74, p.283-292, 2000.
- GENNARI, S. M.; CAÑÓN-FRANCO, W. A.; YAI, L. E. O. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies from wild canids from Brazil. Veterinary Parasitology. v.121, p.337-340, 2004.
- GODIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. Trends in Parasitology. v.22, n.6, p.247-252, 2006.

- GODIM, L.F.P.; MCALLISTER, M. M.; MATEUS-PINILLA, N. E. et al. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *Journal Parasitology*. v.90, n.6, p.1361-1365, 2004.
- GREENE, C. E. Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. *Infectious Diseases of the dog and cat*. 3^a ed. Saunders. Philadelphia: Elsevier, 2006. p. 685-694.
- GREENE, C.E.; CARMICHAEL, L. E. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E. *Infectious Diseases of the dog and cat*. 3^a ed. Saunders. Philadelphia: Elsevier, 2006. p. 369-380.
- GRINDER, M.; KRAUSMAN. Morbidity-mortality factors and survival of an urban coyote population in Arizona. *Journal of Wildlife Disease*. v.37, n.2, p.312-317, 2001.
- JÁCOMO, A. T. A. Nicho alimentar do lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811) no Parque Nacional das Emas-GO. 1999. 30f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal do Goiás, Goiás.
- 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. *J. Zool., Lond.* v.262, p. 99-106. 2004.
- JUAREZ, K. M; MARINHO-FILHO, J. Diet, habitat use, and home ranges of sympatric canids in central Brazil. *Journal of mammology*. v.84,n.4, p.925-933, 2002.
- KELLY, T.R.; SLEEMAN, J. M. Morbidity and mortality of red foxes (*Vulpes vulpes*) and Gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) admitted to the Wildlife Center of Virginia, 1993-2001. *Journal of Wildlife Disease*. v.39, n.2, p.467-469, 2003.
- KENNEDY-STOSKOPF, S. Canidae. In: MILLER, F. (Ed). *Zoo and wild animal medicine*. 5^o ed. USA: Elsevier Science, 2003. p. 482-490.
- KRUZE, M. V. Metodos de diagnostico en el control de brucelosis bovina. II. Metodos serologicos. *Archives of Medicine Veterinary*, v.7, n.2, p.52-64, 1975.
- KHAN, M. A.; GOYAL, S.M.; DIESC, S. L. et al. Seroepidemiology os leptospirosis in Minnesota wolves. *Journal of Wildlife Disease*. v.27, n.2, p.248-253, 1991.

- KINGSCOTE, B.F. Leptospirosis in red foxes in Ontario. *Journal of Wildlife Disease*. v.22, n.4, p.475-478, 1986.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. v.82, p.327-333, 1999.
- LINDSAY, D.S.; WESTON, J.L.; LITTLE, S.E. Prevalence os antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina. *Veterinary Parasitology*. v.97, p.159-164, 2001.
- LUCERO, N.E.; ESCOBAR, G.I.; AYALA, S.M. et al. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*. v.54, p.457-461, 2005.
- MACINNES, C. D.; SMITH, S. M.; TINLINE, R. R. et al. Elimination of rabies from red foxes in Eastern Ontario. *Journal of Wildlife Disease*. v.37, n.1, p.119-132, 2001.
- MAIA, O. B.; GOUVEIA, A. M. G. Vacinação de lobos-guarás *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) contra os vírus da cinomose e parvovirose caninas. *Cães & Gatos*. n.84, p. 18-26, 1999.
- MAIA, O. B.; GOUVEIA, A. M. G. Serologic response of maned wolves *Chrysocyon brachyurus* to canine distemper virus and canine parvovirus vaccination. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. v.32, n.1, p. 78-80, 2001.
- MAIA, O. B.; GOUVEIA, A. M. G. Birth and mortality of maned wolver *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) in captivity. *Brazilian Journal Biol.* v.62, n.1, p.25-32, 2002.
- MAIA, O.B.; GOUVEIA, A. M. G.; SOUZA, A. M. et al. Avaliação pós-vacinal de lobos guarás *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) contra os vírus da cinomose e parvovirose caninas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.51, n.5, p.415-420, 1999.
- MANN, P.C.; BUSH, M.; APPEL, M.J.G. et al. Canine parvovirus in south american canids. *Journal American Veterinary Medical Association*. v.177, n.9, p. 779-783, 1980.
- MARINHO-FILHO, J.S.; RODRIGUES, F.H.G.; GUIMARÃES, M.M. et al. Os Mamíferos da Estação Ecológica de Águas Emendadas, Planaltina, DF. In: MARINHO-FILHO, J. S.; RODRIGUES, F. H.G. GUIMARÃES, M.M. et al.

- (Eds.). Vertebrados da Estação Ecológica de Águas Emendadas: História Natural e Ecologia em um fragmento de cerrado do Brasil Central. Distrito Federal: SEMARH, 1998. p.34-63.
- MATHIAS, L. A.; GIRIO, R. J. S.; DUARTE, J. M. B. Serosurvey for antibodies against *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in pampas deer from Brazil. *Journal of Wildlife Disease*. v.35, n.1, p.112-114, 1999.
- MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are a definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*. v.34, p.159-161, 2004.
- MELO, C. B.; LEITE, R. C.; LEITE, F. S. C. et al. Serological surveillance on South American wild canids for *Neospora caninum*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.54, n.4, p.444-447, 2002.
- MONTALI, R. J.; BARTZ, C. R.; TEARE, A. et al. *Journal American Veterinary Medical Association*. v.183, n.11, p.1163-1167, 1983.
- MOORE, D. P. Neosporosis in South America. *Veterinary Parasitology*. v.127, p.87-97, 2005.
- MÖRNER, T.; ERIKSSON, H.; BRÖJER, C. et al. Disease and mortality in free-ranging brown bear (*Ursus arctos*), gray wolf (*Canis lupus*), and wolverine (*Gulo gulo*) in Sweden. *Journal of Wildlife Disease*. v.41, n.2, p.298-303, 2005.
- MOTA-JUNIOR, J. C.; TLAMONI, S. A.; LOMBARDI, J. A. et al. Diet of maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in central Brazil. *Journal Zoology, London*. v.240, p.277-284, 1996.
- NEILAND, K.A. Rangeline brucellosis in Alaskan canids. *Journal of Wildlife Disease*. v.6, p.136-139, 1970.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD – OMS. Comité Mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis. Ginebra: Série de informes técnicos, 740. 1986, 149p.
- PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Medical Diagnosis Investigation*, v. 7, p. 273-275, 1995.
- REDETZKE, K.A.; MACCANN, M.J. Isolation of *Leptospira* from desert rodents of west Texas. *Journal of Wildlife Disease*. v.16, n.3, p.333-337, 1980.

- REGO, A.A.M.S.; MATUSHIMA, E.R.; PINTO, C.M. et al. Distemper in Brazilian wild canidae and mustelidae: case report. *Brazilian Journal Vet. Res. Animal Science*. v.3, n.3, p. 156-158, 1997.
- REILLY, J. R. The susceptibility of five species of wild animals to experimental infection with *Leptospira grippotyphosa*. *Journal of Wildlife Disease*. v.6, p.289-294, 1970.
- RIEMANN, H. P.; BURRIDGE, M. J.; BEHYMER, D. E. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies in free-living African mammals. *Journal of Wildlife Disease*. v.11, p.529-533, 1975.
- RILEY, S. D.; FOLEY, J.; CHOMEL, B. Exposure to feline and canine pathogens in bobcats and gray foxes in urban and rural zones of a National Park in California. *Journal of Wildlife Disease*. v.40, n.1, p.11-22, 2004.
- RODDEN, M.; RODRIGUES, F.H.G.; BESTELMEYER, S. Maned wolf species account. *Canid Action Plan*. IUCN, 2004. 80 p.
- RODRIGUES, F. H. G. *Biologia e conservação do Lobo-guará na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF*. 2002. 96f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, SP.
- RODRIGUES; F.H.G.; HASS, A.; LACERDA, A.C.R.; et al. Feeding habitats of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the Brazilian cerrado. *Mastozoologia Neotropical*, no prelo.
- SEDLÁK, K; BÁRTOVÁ, E. Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Veterinary Parasitology*. v.136, p.223-231, 2006.
- SHERDING, R.G. Toxoplasmose, neosporose e outras infecções protozoárias multissistêmicas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. *Manual Saunders: Clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 1998. p.157-164.
- SHERDING, R.G. Leptospirose, brucelose e outras doenças infecciosas bacterianas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. *Manual Saunders: Clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 1998. p.143-147.
- SILVA, R.A.; BRECKENFELD, S.G.B. Ocorrência da raiva em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger 1815). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.3, p. 369-371.

- SILVA-JUNIOR, M.C.; FELFILI, J.M. A vegetação da Estação Ecológica de Águas Emendadas. Secretaria de Meio Ambiente e Tecnologia do Distrito Federal, Brasília, DF.1996. 43 pp.
- SILVEIRA, L. Ecologia e conservação dos mamíferos carnívoros do Parque Nacional das Emas, Goiás. 1999. 117f. Dissertação (Doutorado em Biologia) - Universidade Federal do Goiás, Goiás.
- SMITH, D.D.; FRENKEL, J.K. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. *Journal of Wildlife Disease*. v.31, n.1, p.15-21, 1995.
- SMITH, G. C.; WILKINSON, D. Wilkinson. Modeling control of rabies outbreaks in red fox populations to evaluate culling, vaccination, and vaccination combined with fertility control. *Journal of Wildlife Disease*. v.39, n.2, p.278-286, 2003.
- STEINEL, A.; PARRISH, C. R.; BLOOM, M. E. et al. Parvovirus infections in wild carnivores. *Journal of Wildlife Disease*. v.37, n.3, p. 594-607, 2001.
- STEINMAN. A.; SHPINGEL, N. Y.; KING, S. et al. Low seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild canids in Israel. *Veterinary Parasitology*. v.137, p.155-158, 2006.
- TESSARO, S. V.; FORBES, L. B. Forbes. Experimental *Brucella abortus* infection in wolves. *Journal of Wildlife Disease*. v.40, n.1, p.60-65, 2004.
- THOISY, B.; DEMAR, M.; AZNAR, C. et al. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging neotropical mammals. *Journal of Wildlife Disease*. v.39, n.2, p.456-459, 2003.
- THOMAS, N. J.; FOREYT, W.J.; EVERMANN, J. F. et al. Seroprevalence of canine parvovirus in wild coyotes from Texas, Utah, and Idaho (1972 to 1983). *Journal American Veterinary Medical Association*. v.185, n.11, p.1283-1287, 1984.
- TIEMANN, J. C. H.; RODRIGUES, A.A.R.; DE SOUZA, S. L. P. et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in Brazilian cervids kept in captivity. *Veterinary Parasitology*. v.129, p.341-343, 2005.
- VITALIANO, S. N.; SILVA, D. A. O.; MINEO, T. W. P. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves

(*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.122, p. 253-260, 2004.

ZARNKE, R. L; EVERMANN, J. ; VER HOEF, J. M. et al. Serologic survey for canine coronavirus in wolves from Alaska. *Journal of Wildlife Disease* v.37, n.4, p.740-745, 2001.