



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

OCORRÊNCIA DE *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. EM TAMANDUÁS-BANDEIRA (*Myrmecophaga tridactyla*) CATIVOS

HEDERMY CHRISTIEM CERQUEIRA DE PAULA TESSARI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA /DF
JULHO/2021



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

OCORRÊNCIA DE *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. EM TAMANDUÁS-BANDEIRA (*Myrmecophaga tridactyla*) CATIVOS

HEDERMY CHRISTIEM CERQUEIRA DE PAULA TESSARI

ORIENTADORA: LÍRIA QUEIROZ LUZ HIRANO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA E CIRURGIA ANIMAL

LINHA DE PESQUISA: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE AFECÇÕES DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS E SILVESTRES

BRASÍLIA /DF

JULHO/2021

Tessari, Hedermey Christiem Cerqueira de Paula

Ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) cativos/ Hedermey Christiem Cerqueira de Paula Tessari; orientação da Dra. Líria Queiroz Luz Hirano. – Brasília, 2021.

57 p.: il.

Dissertação de mestrado em Saúde Animal

Área de concentração: clínica médica e cirurgia animal

Linha de pesquisa: métodos de diagnóstico e tratamento de afecções dos animais domésticos e silvestres, 2021

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Hedermey Christiem Cerqueira de Paula Tessari

Dissertação de mestrado: Ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) cativos

Ano: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.



Hedermey Christiem Cerqueira de Paula Tessari

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: TESSARI, Hedermey Christiem Cerqueira de Paula

Título: Ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) cativos

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE
SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE
REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM SAÚDE ANIMAL.

Aprovado em: 29/07/2021

Documento assinado eletronicamente por **Liria Queiroz Luz Hirano, Professor(a) de Magistério Superior da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**, em 30/07/2021, às 22:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento na Instrução da Reitoria 0003/2016 da Universidade de Brasília.

Documento assinado eletronicamente por **Hedermey Christiem Cerqueira de Paula Tessari, Usuário Externo**, em 03/08/2021, às 18:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento na Instrução da Reitoria 0003/2016 da Universidade de Brasília.

Documento assinado eletronicamente por **Nei Moreira, Usuário Externo**, em 03/08/2021, às 18:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento na Instrução da Reitoria 0003/2016 da Universidade de Brasília.

Documento assinado eletronicamente por **Giane Regina Paludo, Professor(a) de Magistério Superior da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**, em 04/08/2021, às 09:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento na Instrução da Reitoria 0003/2016 da Universidade de Brasília.

BRASÍLIA/DF
JULHO/2021

Dedico este trabalho a todos que, diante das dificuldades, estão dando o seu melhor pela conservação e bem-estar da nossa fauna.

Em especial à **Ana Luiza Denes** (*in memoriam*), uma mulher fantástica e grande amiga, que infelizmente não pode estar presente na forma física, mas estará sempre no meu coração!

Agradecimentos

A vida é um grande presente de Deus. Todos os dias temos o privilégio de acordar e fazer um novo dia, com novas conquistas, sonhos, buscando crescimento pessoal e profissional, porém, existe uma gama enorme de fatores que acompanham de forma gratificante essa evolução, como conhecer pessoas, lugares, projetos e tudo aquilo que nos inspira nessa caminhada. Cada detalhe desse trajeto, cada pessoa que passou que seja alguns segundos comigo tenho enorme gratidão.

Quero começar agradecendo à minha base, meu porto seguro, minha família!!! Cada um de vocês, com suas lutas diárias pessoais e mesmo assim, sonhamos juntos. Esses dois anos com essa pandemia testou muita nossa fé, nossa base, pois não imaginávamos todas as perdas que tivemos, desde os bebês “sobrinho (a), irmão (a) e primo (a)”, parentes próximos, amigos até a vó (Julieta Cerqueira). Com tudo isso, ter essa estrutura de força, um segurando a mão do outro e não deixar cair, me mantém em pé hoje. Se hoje eu sigo é por amor incondicional que tenho pela minha família!!!! Quero que saibam que vejo e sinto todos vocês comigo sempre!!!!

À matriarca Gersoni Maria Cerqueira, mulher de coragem, de amor, de fé, guerreira que sempre manteve nossa família unida. Meus irmãos Hédryck Christian, Havéryk Silmarger, Huvryan Christopher e Syndel Tessari, que são uma extensão de mim, agradeço o amor de vocês e por serem parte do que sou. Minha mãe Cristina Cerqueira de Paula, obrigada pela vida e por me fazer assim, poesia. Meus tios Luciano Jenner, Ygor Thiago e Edger Raphael, que foram irmãos e pais em minha vida. Tenho orgulho de todos vocês!!! Obrigada por tudo!!!!

Agradeço à minha companheira Mayara Azevedo (família), todas as minhas amigas e amigos, que durante essa caminhada tiveram muita paciência, palavras de consolo, um ombro e principalmente, me deram muita motivação. O apoio de pessoas queridas como vocês é sempre um alicerce nos dias de tormenta. Aos meus animais que desde sempre me sensibilizam e me abrem o coração a um universo de amor sem igual que é a Medicina Veterinária.

Agradeço à minha orientadora Líria Hirano, que topou logo de cara o projeto, me ajudou a fazer contatos valiosos, me deu um mundo de opções e

possibilidades para desenvolver meu lado acadêmico e profissional. Obrigada pela paciência e por não perder a fé em mim, mesmo em meio à tanta dificuldade. À UnB (Universidade de Brasília) pelo suporte de toda a equipe do laboratório clínico, que me ensinou e me preparou para esse momento. Agradeço a disposição e a colaboração do Parque Vida Cerrado, Parque do Sábia e Zoológico de Brasília. Agradeço a colaboração da banca examinadora Nei Moreira e Giane Paludo.

Agradeço especialmente à Juliana Magnino do projeto TamanduAsas, que me deu a oportunidade de conhecer todo o trabalho espetacular que fazem, reabilitando e dando um novo mundo aos tamanduás-bandeira órfãos. O trabalho de vocês é uma inspiração para mim. O projeto Bandeiras e Rodovias, que tem o maior cuidado e carinho no monitoramento desses animais, fazem um trabalho extraordinário e com muito amor. TODOS vocês que dão suas vidas pela conservação têm minha gratidão eterna!!! O amor de vocês move o mundo e isso me move!!!!

Nós, seres humanos, estamos na natureza para auxiliar o progresso dos animais, na mesma proporção que os anjos estão para nos auxiliar.

Chico Xavier

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIações	X
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS	XIII
CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
RESUMO	1
ABSTRACT	1
1 CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE <i>MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA</i>	2
2 DOENÇAS INFECCIOSAS EM <i>MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA</i>	3
2.1 Cinomose.....	4
2.2 Parvovirose.....	5
2.3 Coronavirose	6
2.4 Leishmaniose.....	7
2.5 Clamidiose	9
REFERÊNCIAS	10
CAPÍTULO II – ARTIGO	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAIS E MÉTODOS	22
2.1 ANIMAIS	22
2.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E TESTES RÁPIDOS	24
2.3 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE	25
2.4 ENSAIO DE IMUNOABSORÇÃO ENZIMÁTICA (ELISA).....	27
3. RESULTADOS	27
4. DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXOS	36

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIações

µL	Microlitro
µM	Micromol
°C	Grau Celsius
Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
ALT	Alanina aminotransferase
CCoV	Coronavírus canino
CDV	Vírus da Cinomose Canina
CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
CoVs	Coronavírus
CPV	Parvovírus canino
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EIE	Ensaio Imunocromatográfico
ELISA	Ensaio de imonuasorção enzimática
FA	Fosfatase alcalina
FELV	Vírus da leucemia felina
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
GAPDH	Gliceraldeído-3 fosfato
HA	Hemaglutinação
IF	Imunofluorescência
IFD	Anticorpos fluorescentes
IgG	Imunoglobulina G
IHC	Ensaio imuno-histoquímico
IHQ	Análise imuno-histoquímica
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
ME	Microscopia Eletrônica
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mL	Mililitro
mm	Milímetro

pb	Pares de base
PAN	Plano de Ação Nacional
PBS	Solução salina tampão fosfato
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reação em cadeia de Polimerase em Tempo Real
SISBIO	Sistema de autorização de informações em biodiversidade
ssRNA	Ácido ribonucleico senso positivo
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Colheita de amostras biológicas em <i>Myrmecophaga tridactyla</i> . A: colheita de sangue em veia cefálica direita. B: colheita de amostra de swab retal	24
Figura 2. Resultados de titulações baixa, média e não reagente para o teste rápido imunocromatográfico de detecção de anticorpos contra cinomose em <i>Myrmecophaga tridactyla</i> de cativeiro	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações do sexo, idade aproximada e instituição responsável pelos exemplares de *Myrmecophaga tridactyla* utilizados no estudo..... 23

Tabela 2. Sequência de oligonucleotídeos, gene de origem, tamanho dos produtos de amplificação e referências das reações em cadeia de polimerase com amostras de ácido desoxirribonucleico utilizados na pesquisa..... 26

Tabela 3. Resultados do teste rápido imunocromatográfico e do ensaio de imunoabsorção enzimática (DOT-ELISA) para detecção de anticorpos contra cinomose em *Myrmecophaga tridactyla* de cativeiro.....28

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

RESUMO

Animais silvestres podem se infectar com patógenos comumente diagnosticados em criações domésticas e desenvolver quadros clínicos ou subclínicos das doenças. Esse quadro é agravado por ações antrópicas e a criação de fauna silvestre em cativeiro, que ocasionam maior proximidade entre diferentes espécies, o que pode facilitar a transmissão de agentes infecciosos e provocar impacto na conservação de grupos ameaçados de extinção. O estado de conservação do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) está classificado como vulnerável no Brasil e a espécie é foco de programas de monitoramento e conservação. Conhecer as doenças que podem afetar a espécie é importante para direcionar estratégias de revigoramento populacional e otimizar ações para a conservação desses animais. A presente revisão tem como objetivo fazer o levantamento bibliográfico sobre as principais enfermidades estudadas na espécie *Myrmecophaga tridactyla*.

PALAVRAS-CHAVE: conservação, Xenarthras, doenças infecciosas

ABSTRACT

Wild animals can become infected with pathogens commonly diagnosed in domestic livestock and develop clinical or subclinical diseases. This situation is worsened by anthropic actions and wildlife breeding in captivity, which can cause greater proximity between different species, and this may facilitate the transmission of infectious agents, and impact the conservation of endangered groups. The conservation status of the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) is classified as vulnerable in Brazil and the species is the object of monitoring and conservation programs. Knowing the diseases that can affect the species is important to guide strategies to revitalize populations and optimize actions for the conservation of these animals. The present review aims to gather literature on the main diseases studied in the species *Myrmecophaga tridactyla*.

KEY WORDS: conservation, Xenarthras, infectious diseases

1 CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE *Myrmecophaga tridactyla*

A classe Mammalia corresponde ao segundo grupo mais diversificado dentre os vertebrados terrestres (PAGLIA et al., 2012), com alta taxa de endemismo de espécies ameaçadas (MYERS et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2005). Segundo AHUMADA et al. (2011), a fragmentação de ecossistemas naturais promove perda da biodiversidade, sobretudo para espécies com grande volume corpóreo, alto requerimento de área, baixa dispersão, reduzido potencial reprodutivo e com especialização de habitat, como é o caso dos tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus 1758).

O Cerrado, como muitos dos ecossistemas brasileiros, está ameaçado e é considerado um com destaque nas estratégias de conservação mundial (MYERS et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2005). Esse bioma abriga a maior fração da população de *Myrmecophaga tridactyla* de vida livre, que se distribui desde o sul da Guatemala até o norte da Argentina, com ocorrência em todo o Brasil (MIKICH; BÉNILS, 2004).

A espécie *Myrmecophaga tridactyla* pertence à superordem Xenarthra, à ordem Pilosa e à família Myrmecophagidae. Apresenta hábito solitário, com exceção da relação entre a mãe e o filhote durante a amamentação, e na época reprodutiva, quando é possível a visualização de casais. Suas características fisiológicas, anatômicas e comportamentais relacionam-se de forma intrínseca à alimentação composta por formigas e cupins (MEDRI & MOURÃO, 2005). Os exemplares adultos possuem peso médio de 31,5 kg, no caso das fêmeas, e 45 kg para os machos (MEDRI, 2011).

Em relação ao grau de ameaça, a espécie *M. tridactyla* está classificada como “vulnerável” a tanto em nível mundial quanto no Brasil (MIRANDA et al., 2014). Estudos de monitoração das populações de tamanduá-bandeira citam como principais ameaças à conservação da espécie, a degradação de seu habitat, caça predatória, ataque por cães e os atropelamentos (MEDRI & MOURÃO, 2005; BRAGA, 2009). A incidência de fêmeas atropeladas na época reprodutiva é alta, o que resulta no encaminhamento de grande quantidade de filhotes órfãos para cuidados parentais e assistência médica veterinária (MIRANDA et al., 2014).

DESBIEZ et al. (2020) analisaram o impacto das estradas para a população de *Myrmecophaga tridactyla* de vida livre. Foram monitorados 44 animais por meio de radiocolares em três rodovias no Cerrado brasileiro do Mato Grosso do Sul. Desses, quatro (8%) indivíduos foram a óbito por colisão com veículo automotivo. As análises dos dados demonstraram a importância da coleta de informações e uso de sistemas de monitoração para o planejamento da conservação da espécie.

PÉREZ et al. (2015) reabilitaram e monitoraram 79 tamanduás-bandeira na Reserva Natural Iberá, na Argentina. Dos animais que foram soltos, 73% foram resgatados filhotes e receberam cuidados parentais humanos. O projeto monitorou os tamanduás durante quatro anos após a soltura, com relato de viabilidade da população, o que indica que essa pode ser uma estratégia para colaborar com a conservação da espécie.

2 DOENÇAS INFECCIOSAS EM *Myrmecophaga tridactyla*

Conhecer a prevalência e a distribuição de agentes infecciosos nas diferentes espécies é importante para direcionar medidas de controle (MURPHY et al., 1999). Apesar da existência de vacinas contra diversas enfermidades que acometem os animais domésticos, alguns patógenos são albergados por espécies silvestres o que, potencialmente, resulta no aparecimento de novas cepas que podem desencadear surtos (BÖHM et al., 2004).

MIRANDA (2008) realizou uma pesquisa sobre doenças em tamanduás-bandeira de vida livre no Parque Nacional das Emas, no Parque Nacional da Serra da Canastra e no Pantanal Matogrossense. Foram encontrados animais soropositivos para *Brucella abortus* e *Leptospira* dos sorovares Bataviae, Australis, Icterohaemorrhagiae, Butembo, Autumnalis, Fortbragg e Shermani. Dessa forma, faz-se também necessário ter como estratégia para a conservação de espécies ameaçadas, o levantamento e monitoração do impacto de diferentes patógenos (FILONI, 2006).

A maior parte das parasitoses que afetam tamanduás são causadas por protozoários como coccídeos, *Giardia* e amebas (CUBAS et al., 2014).

Estudo realizado por LIMA (2020) demonstrou a presença de parasitos intestinais em *M. tridactyla* de vida livre e de cativeiro em Minas Gerais. Foram encontrados protozoários do gênero *Cryptosporidium* e oocistos de coccídeos, além de helmintos das famílias Trichuridae, Strongiloididae, Ancylostomatidae e Ascarididae. Em outra pesquisa realizada por ROJANO et al. (2015) com exemplares originados da Colômbia, observou-se a presença de oocistos do gênero *Isospora* na espécie.

2.1 Cinomose

A cinomose é uma doença infecciosa causada por um morbilivírus da família Paramyxoviridae, conhecido como vírus da cinomose canina (“Canine Distemper Vírus” - CDV). Sua manifestação clínica em cães inclui sinais neurológicos, oftálmicos, dermatológicos, gastrointestinais e respiratórios (GREENE; APPEL, 2006). Mioclonias e convulsões são as observações mais comuns, porém a sintomatologia pode variar conforme o indivíduo (SILVA et al., 2007) e casos mais graves costumam ser fatais nos canídeos (FIGHERA et al., 2008).

Existe uma grande variedade de mamíferos silvestres que podem ser hospedeiros do agente da cinomose. Essa virose foi previamente descrita nas famílias Canidae, Mustelidae, Ursidae Procyonidae, Hyaenidae, Felidae e Viveridae, em diversos países (DEEM et al., 2000; KAMEO et al., 2012; NIKOLIN et al., 2012).

No caso dos Xenarthras, SHELDON (2017) relatou a contaminação de sete preguiças-de-dois-dedos (*Choloepus didactylus*) pelo vírus da cinomose, em um zoológico particular no leste do Tennessee, que resultou no óbito de cinco exemplares. Os animais manifestaram sinais clínicos de letargia, anorexia, diarreia, secreção e ulceração ocular e nasal. O exame de reação em cadeia de polimerase (PCR), com sequenciamento genético, comprovou a presença do mesmo vírus que acomete carnívoros de vida livre na região.

LUNARDI et al. (2018) relataram um caso de cinomose em filhote de tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) que apresentou alterações neurológicas. O diagnóstico foi confirmado *post-mortem* a partir de testes de

ensaio imuno-histoquímico (IHC), PCR em tempo real (RT-PCR), sequenciamento direto e análise filogenética do gene H (hemaglutinina viral). Semelhantemente, em *Myrmecophaga tridactyla*, GRANJEIRO et al. (2020) descreveram a ocorrência do vírus da cinomose em um exemplar que foi a óbito com sinais de anorexia, secreção nasal e ocular. Nas análises laboratoriais foram achadas inclusões de Lentz em linfócitos e monócitos, além de resultados positivos para teste rápido imunocromatográfico, RT-PCR do gene N e análise filogenética do gene H.

Para o diagnóstico do antígeno viral da cinomose pode ser realizada a identificação do corpúsculo de Lentz no esfregaço sanguíneo (GEBARA et al., 2004). Outros métodos laboratoriais incluem o ensaio IHC projetado para identificar a proteína N do CDV (SONNE et al., 2009), a soroneutralização, imunofluorescência indireta ou direta, teste imunoenzimático (ELISA) e PCR (BRAZ, 2009). Além disso, encontra-se disponível no mercado, testes rápidos para detecção da proteína F do CDV por uma reação de imunocromatografia, que apontam sensibilidade de 98,8% e especificidade de 97,7% em cães domésticos (GALANTE, 2009), porém há necessidade de sua validação para espécies silvestres.

2.2 Parvovirose

A parvovirose é causada pelo parvovírus canino (CPV), do gênero *Parvovirus* e da família Parvoviridae. Esse é um microrganismo envelopado, com ácido desoxirribonucleico (DNA) de fita simples e descrição de dois tipos, o CPV-1 com menor importância clínica e o CPV-2 que é mais prevalente em cães (PRATELLI et al., 2001). Ele infecta células eucarióticas de uma grande variedade de hospedeiros (PARADISO et al., 1982) e os cães contaminados geralmente apresentam sinais clínicos de enterite hemorrágica, desidratação e vômito (CASTRO et al., 2007), mas o vírus também pode afetar órgãos hematopoiéticos como baço e medula óssea (GODDARD et al., 2008).

O CPV-2 é altamente contagioso, com transmissão por secreção oronasal, fezes, fômites ou pelo ambiente (MORAES; COSTA, 2012). No Brasil, existem estudos sobre o levantamento sorológico desse vírus em cachorro-

vinagre (*Speothos venaticus*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), onça-parda (*Puma concolor*) e jaguatirica (*Leopardus pardalis*), que comprovaram a exposição desses carnívoros ao CPV (JORGE, 2008; CURTI et al., 2010; HUBNER et al., 2010), entretanto, desconhece-se pesquisas realizadas com Xenarthras.

A detecção do parvovírus pode ser feita por vários métodos laboratoriais como microscopia eletrônica (ME), reação de hemaglutinação (HA), ELISA, PCR, ensaio imunocromatográfico (EIE), análise imuno-histoquímica (IHQ) e teste de imunofluorescência (IF) (MORAES, 2012; REDDY, 2015). O isolamento viral é a técnica ouro para diagnóstico de parvovirose canina, porém o efeito citopatogênico viral, para detecção por IF, teste de HA ou PCR, ocorre de cinco a dez dias após a contaminação.

O teste EIE tem sido amplamente utilizado na rotina das clínicas por se tratar de um exame rápido, seguro e de baixo custo. Para tanto, a identificação do CPV-2 é feita com amostra de fezes (TINKY et al., 2015) e estudos mostram que seu uso na detecção do antígeno pode chegar a 100% de sensibilidade e 98,8% de especificidade em cães domésticos (MORAES, 2012; TINKY et al., 2015; REDDY, 2015).

2.3 Coronavirose

Os coronavírus (CoVs) são vírus RNA (ácido ribonucleico) envelopados, de fita simples (ssRNA) e senso positivo. São capazes de infectar uma grande variedade de hospedeiros e podem causar doenças hepáticas, respiratórias, entéricas e neurológicas. Esses vírus têm capacidade de sofrer recombinações e mutações, o que permite uma grande adaptação a hospedeiros e ambientes (WOO et al., 2012).

O coronavírus canino (CCoV) pertence ao gênero *Alphacoronavirus* 1, da família Coronaviridae (CARSTENS, 2010). Nos cães causa infecção gastrointestinal, que geralmente acomete filhotes, com sinais de vômito, diarreia, letargia e anorexia, com duração de uma a duas semanas (DECARO et al., 2008). A principal via de infecção é a oral e sua forma de dispersão no meio ocorre geralmente pelas fezes, por até 180 dias após a infecção (BRANDÃO et al.,

2012). O CCoV foi detectado em canídeos silvestres, como lobos (*Canis lupus*), coiotes (*Canis latrans say*) e hienas (*Crocuta crocuta*) (EAST et al., 2004), entretanto, não há relatos em Xenarthras.

A detecção do coronavírus canino é feita principalmente a partir de amostras de fezes ou swab retal. Para seu diagnóstico podem ser utilizadas as técnicas de ELISA, soroneutralização, imunoperoxidase, isolamento viral, imunofluorescência e RT-PCR (BRANDÃO et al., 2012). Há também no mercado teste rápido imunocromatográfico para antígeno de CCoV que, segundo Yoon et al. (2018), apresenta 93,1% de sensibilidade e 97,5% de especificidade para cães domésticos.

2.4 Leishmaniose

A leishmaniose representa um problema de saúde pública, pois trata-se de uma doença enzoótica e zoonótica. Ela é causada por protozoários parasitas do gênero *Leishmania*, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae (CHANCE, 1985). A doença pode ser classificada em quatro tipos: tegumentar (LT), cutânea, mucocutânea e visceral (LV), e sua transmissão ocorre a partir da picada de insetos flebotomíneos dos gêneros *Lutzomyia* (Novo mundo) e *Phlebotomus* (Velho mundo) (SOUSA, 2015).

No caso da leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, essa é causada pelas espécies *Leishmania chagasi* e *L. infantum*, no Novo e no Velho Mundo, respectivamente (MARCONDES, 2011). Em cães, causa principalmente sinais clínicos de caquexia progressiva, febre intermitente, anemia, linfadenomegalia generalizada, lesões cutâneas, sinais oculares, onicogrifose e insuficiência renal (BLAVIER, 2001).

Por outro lado, a leishmaniose tegumentar é uma doença de evolução crônica, infecto-parasitária, amplamente distribuída pelo Brasil. Tem sido relatada em todas as regiões do país e é causada pelas espécies *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) guyanensis*, *L. (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) lainsoni*, *L. (Viannia) naiffi* e a *L. (Viannia) shawi* (SOUSA, 2015). Em cães pode causar úlceras cutâneas múltiplas, lesões em orelhas, bolsa escrotal e focinho (MADEIRA, 2003).

A *Leishmania* sp. pode infectar diversos mamíferos domésticos e silvestres (DANTAS-TORRES, 2007). Dos canídeos nativos do Brasil, somente o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é considerado como reservatório natural da leishmaniose visceral (SHERLOCK, 1996). Porém, há relatos de infecções em diversas outras espécies como lobo-guará (*Chysocyon brachyurus*) (CURI, 2006), raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) e cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*) (FIGUEIREDO, 2008; SOUZA, 2010), assim como nos marsupiais *Didelphis albiventris* e *D. marsupialis* (TRAVI, 1998).

No caso dos Xenarthras, há animais que também são conhecidos como reservatórios do protozoário causador da leishmaniose. Em preguiças, há relatos da detecção de *Leishmania guyanensis*, *L. panamensis*, *L. colombiensis*, *L. equatoriensis*, *L. herreri* e *L. shawi*, em tatus de *L. naiffi* e *L. guyanensis*. No caso dos tamanduás, há descrição das espécies *L. guyanensis*, *L. amazonensis* e *L. infantum* em *Tamandua tetradactyla* (De ARAÚJO et al., 2012; ROQUE; JANSEN, 2014; ESPINOSA et al., 2016).

O diagnóstico da leishmaniose canina inclui os sinais clínicos, com confirmação necessária do agente etiológico devido à relevância em saúde pública. Para tanto, utilizam-se amostras biológicas retiradas das lesões ou aspiradas do fígado, baço, medula óssea, pele ou gânglios linfáticos (DOS-SANTOS, 2015). A forma amastigota do parasita pode ser detectada por meio de citologia, histopatologia, isolamento em cultura e inoculação em cobaia, ou também na forma indireta por meio de técnicas imuno-histoquímica, hibridização com sondas de DNA, PCR, teste sorológico rápido e ELISA (VARGAS, 2019).

Segundo DANTAS-TORRES et al. (2010), o teste rápido de ensaio imunocromatográfico faz a detecção qualitativa de anticorpos anti-*Leishmania infantum* e antígenos rK39, rK9 e rK26, em amostras de soro, plasma sanguíneo e sangue total canino, com sensibilidade de 97,2% e especificidade de 99,8%. Um estudo desenvolvido por LARAIA e SANTANA (2019) demonstrou de forma comparativa a capacidade de detecção dos anticorpos dos testes comerciais autorizados pelo Ministério da Saúde brasileiro, evidenciando que todos foram capazes de detectar a presença do protozoário, confirmada pelo teste de ELISA.

2.5 Clamidiose

Várias espécies podem apresentar distúrbios reprodutivos causados por infecção bacteriana, como a clamidiose. A *Chlamydia* é uma bactéria Gram negativa, intracelular obrigatória, que pode ser transmitida de forma vertical e horizontal. Ela se destaca pelo seu potencial zoonótico e como agente causador de prejuízos econômicos (LIMA, 2019). Em aves, a espécie causadora da clamidiose é a *Chlamydia psittaci* (RASO, 2014), enquanto em ruminantes é a *C. abortus* (LIMA, 2019).

Em mamíferos de vida livre existem ainda poucas informações sobre a ocorrência de clamidiose (MIRANDA, 2008). Em humanos, a infecção por tal bactéria é conhecida como psitacose, e pode cursar como doença respiratória grave, principalmente em pessoas imunocomprometidas (VANROMPAY et al., 2007). A infecção geralmente ocorre a partir do contato direto ou indireto com aves infectadas, principalmente psitacídeos, pombos, patos e perus (HARKINEZHAD, 2009).

A doença pode ser diagnosticada utilizando amostras de fezes por PCR, que possui alta sensibilidade e especificidade. O isolamento bacteriano é considerado o padrão ouro como diagnóstico definitivo e pode ser realizado em cultura de células das linhagens McCoy, HeLa, Vero, L929 ou *Buffalo Green Monkey*, ou no saco vitelino de ovo embrionado de galinha. Também pode ser feito teste de ELISA-Ag e de IFD (RASO, 2014).

REFERÊNCIAS

- AHUMADA, J. A.; SILVA, C. E. F.; GAJAPERSAD, K.; HALLAM, C. D.; HURTADO, J.; MARTIN, E. H.; McWILLIAM, A.; MUGERWA, B.; O'BRIEN, T. G.; ROVERO, F.; SHEIL, D.; SPIRONELLO, W. R.; WINARNI, N. L.; ANDELAMN, S. J. Community structure and diversity of tropical Forest mammals: data from a global camera trap network. **Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences**, London, v. 366, n. 1578, p. 2703-2711, 2011.
- BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE, P.; GOY-THOLLOT, I.; CHABANNE, L.; CADORE, J. L. Atypical forms of canine leishmaniosis **The Veterinary Journal**, London, v. 162, n. 2, p. 108-120, 2001.
- BÖHM, M.; THOMPSON, H.; WEIR, A.; HASTED, A. M.; MAXWELL, N. S.; HERRTAGE, M. E. Serum antibody titers to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. **Veterinary Record**, London, v. 154, n. 15, p. 457-463, 2004.
- BRAGA, F. G.; SANTOS, R. E. F. Relações entre a fauna e o fogo. In: SOARES, R. V.; BATISTA, A. C.; NUNES, J. R. S. **Incêndios florestais no Brasil: o estado da arte**. Curitiba: Editores independentes, cap. 7, 2009. 246 p.
- BRANDÃO, P. E.; LOVATO, L. T.; SLHESSARENKO, R. D. Coronaviridae. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. 2.ed. Santa Maria: UFSM, cap. 24, 2012. 1008 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 816 p.
- BRAZ, G. F. **Padronização e teste da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da cinomose canina**. 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CARSTENS, E. B. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009). **Archives of Virology**, New York, v. 155, n. 1, p. 133-146, 2010.
- CASTRO, T. X.; MIRANDA, S.C.; LABARTHE, N.V.; SILVA, L.E.; CUBEL GARCIA, R. C. N. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995 – 2004. **Arquivo Brasileiro**

de Medicina Veterinária e Zootecnia, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 333-339, 2007.

CHANCE, M. L. The biochemical and immunotaxonomy of *Leishmania*. In: CHANG, M. P.; BRAY, R. S. **Leishmaniasis**. St Louis: Elsevier Science Publishing Company, p. 93-110, 1985.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

CURI, N. H. A.; MIRANDA, I.; TALAMONI, S. A. Serologic evidence of leishmania infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian national park. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 1, p. 99-101, 2006.

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

DANTAS-TORRES, F.; O papel dos cães como reservatório de parasitas *Leishmania*, com ênfase em *Leishmania (Leishmania) infantum* e *Leishmania (Vieannia) Braziliensis*. **Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 149, n. 4, p.139-146, 2007.

DANTAS-TORRES, F.; DA SILVA-SALES, K. G.; DA SILVA, L. G.; OTRANTO, D.; FIGUEREDO, L. A. Level of agreement between two commercially available rapid serological tests and the official screening test used to detect *Leishmania* seropositive dogs in Brazil. **The Veterinary Journal**, London, v. 234, n.1, p. 102-104, 2010.

De ARAÚJO, V. A. L.; BOITÉ, M. C.; CUPOLILLO, E.; JANSEN, A. M.; ROQUE, A. L. R. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. **Parasitology**, London, v. 140, n. 4, p. 455-460, 2012.

DECARO, N.; DESARIO, C.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; MARI, V.; LAVAZZ, A.; NARDI, M.; BUONAVOGLIA, C. Evidence for immunization failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus tipe 2C. **New Microbiology**, Califórnia, v. 31, n. 1, p. 125-130, 2008.

DEEM, S. L.; SPELMAN, L. H.; YATES, R. A.; MONTALI, R. J. Canine distemper in terrestrial carnivores a review. **Jornal of Zoo Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 31, n. 4, p. 441-451, 2000.

DESBIEZ, A. L. J.; BERTASSONI, A.; TRAYLOR-HOLZER, K. Population viability analysis as a tool for giant anteater conservation. **Perspectives in Ecology and Conservation**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 124-131, 2020.

DOS-SANTOS, I. B.; TORTELLY, R.; QUINTELLA, L. P.; MADEIRA, M. F.; MIRANDA, L. H. M.; FIGUEIREDO, F. B.; OLIVEIRA, R. V. C.; SCHUBACH, T. M. P. Higher sensitivity of immunohistochemistry for bona fide diagnosis of dog *Leishmania (Viannia) braziliensis*-driven American tegumentary leishmaniasis: description of an optimized immunohistochemistry method. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 109, n. 6, p. 469-476, 2015.

EAST, M. L.; MOESTL, K.; BENETKA, V.; PITRA, C.; HONER, O. P.; WACHTER, B.; HOFFER, H. Coronavirus infection of spotted hyenas in the Serengeti ecosystem. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 102, n. 1-2, p. 1-9, 2004.

ESPINOSA, O. A.; SERRANO, M. G.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G.; SHAW, J. J. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**. London, v. 145, n. 4, p. 430-442, 2016.

FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SILVA, M. C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008.

FIGUEIREDO, F. B.; GREMIÃO, I. D.; PEREIRA, S. A.; FEDULO, L. P.; MENEZES, R. C.; BALTHAZAR, D. A.; SCHUBACH, T. M. P.; MADEIRA, M. F. First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 102, n. 2, p. 200-201, 2008.

FILONI, C. **Exposição de felídeos selvagens a agentes infecciosos selecionados**. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Ciências), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GALANTE, A. C. **Imunocromatografia, conservação clínica, hematológica e bioquímica sérica de cães (*Canis familiaris*) com suspeita de cinomose.** 2009. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Estadual do Fluminense, Campos dos Goytacazes.

GEBARA, C. M. S.; WOSIACKI, S. R.; NEGRÃO, F. J.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, p. 168-174, 2004.

GODDARD A.; LEISEWITZ, A. L.; CHRISTOPHER, M. M.; DUNCAN, N. M.; BECKER, P. J. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 22, n. 2, p. 309–316, 2008.

GRANJEIRO, M. D. B.; KAVASAKI, M. L.; MORGADO, L. A. D. P.; BARROS, M.A.; FONTANA, C. First report of a canine morbillivirus infection in a giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) in Brazil. **Veterinary Medicine and Science** [online], Oxford, v. 6, n. 3, p. 606-611, 2020.

GREENE, C. E.; APPEL, M. J., Canine Distemper. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. St. Louis: Elsevier, cap. 4, p. 25-41, 2006.

HARKINEZHAD, T.; GREENS, T.; VANROMPAY, D. *Chlamydophila psittaci* infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 135, n. 1-2, p. 68-77, 2009.

HUBNER, 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**, Curitiba, v. 53, n. 3, p. 593-597, 2010.

JORGE, R. S. P. **Caracterização do estado sanitário dos carnívoros selvagens da RPPN SESC Pantanal e de animais domésticos da região.** 2008. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.

KAMEO, Y.; NAGAO, Y.; NISHIO, Y.; SHIMODA, H.; NAKANO, H.; SUZUKI, K.; UNE, Y.; SATO, H.; SHIMOJIMA, M.; MAEDA, K. Epizootic canine distemper

virus infection among wild mammals. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 154, n. 3-4, p. 222–229, 2012.

LARAIA, A. C.; SANTANA, K. **Avaliação de resposta de anticorpos vacinais em animais vacinados contra Leishmaniose Visceral Canina**. 2019. 33 f. Relatório de Pesquisa (Programa de Iniciação Científica), Centro Universitário de Brasília, Brasília.

LIMA, A. M. C.; DOS-SANTOS, M. D.; DAMASCENO, M. S.; ARAÚJO, J. F.; DAMASCENO E. M.; ANDRIOLI, A.; ALVEZ F. S. F.; PINEIRO, R. R.; CARDOSO, J. F. S.; RÔMULO, N. Inquérito sorológico da infecção por *Chlamydomphila abortus* em ovinos pertencentes à mesorregião dos Sertões Cearenses. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 43, n. 2, p. 525, 2019.

LIMA, L. P. C. P., **Parasitas intestinais em Tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) de vida livre e de cativeiro**. 2019. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

LUNARDI, M.; DAROLD, G. M.; AMUDE, A. M.; HEADLEY, S. A.; SONNE, L., YAMAUCHI, C. I.; BOABAID, F. M.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Canine distemper virus active infection in order Pilosa, Family Myrmecophagidae, species *Tamandua tetradactyla*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 220, n. 1, p. 7-11, 2018.

MADEIRA, M. F.; UCHÔA, C. M.; LEAL, C. A.; SILVA, R. M.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C. M.; SERRA, C. M. B. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in naturally infected dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 5, p. 551- 555, 2003.

MARCONDES, M.; BIONDO, A. W.; GOMES, A. A.; SILVA, A. R.; VIEIRA, R. F.; CAMACHO, A. A.; QUINN, J.; CHANDRASHEKAR, R. Validation of a *Leishmania infantum* ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 175, n. 1-2, p. 15-19, 2011.

MEDRI, I. M.; MOURÃO, G. M. Home range of giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) in the Pantanal wetland, Brazil. **Journal of Zoology**, London, v. 266, n. 4, p. 365-375, 2005.

- MEDRI, I. M.; MOURÃO, G. M.; RODRIGUES, F. H. G. Ordem Pilosa. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Londrina: Produção independente, cap. 4, p. 91-106, 2011.
- MIKICH, S. B.; BÉRNILS, R. S. **Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004. 763 p.
- MIRANDA, F. R.; BERTASSONI, A.; ABBA, A. M. **Myrmecophaga tridactyla: The IUCN Red List of Threatened Species**, 2014. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T14224A47441961.en>
- MIRANDA, F. R. **Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella spp.*, *Leptospira spp.*, *Chlamydophila spp.* em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) e Parque Nacional das Emas (PNE)**. 118 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; HOFFMAN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G. A. B. **Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Cidade do México: CEMEX, 2005. 390 p.
- MORAES, M. P.; COSTA, P. R. Parvoviridae. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria, 2.ed. UFMS, cap. 15, 2012. 1008 p.
- MURRAY, E. F.; MILLER, E. **Zoo & wild medicine, current therapy**. 4.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. 494 p.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Califórnia, v. 403, n. 2000, p. 853-858, 2000.
- NIKOLIN, V. M.; WIBBELT, G.; MICHLER, F. U.; WOLF, P.; EAST, M. L. Susceptibility of carnivore hosts to strains of canine distemper virus from distinct genetic lineages. **Veterinary Microbiology**. Amsterdam, v. 156, n. 1-2, p. 45 - 53, 2012.
- PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P., SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. DA C.; MITTERMEIER, R. A.; PATTON J. L. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil**.

Occasional Papers in Conservation Biology. 2.ed. Arlington: Conservation International, 2012. 82 p.

PARADISO, P.; RHODE, S.; SINGER, I. Canine Parvovirus: a biochemical and ultrastructural characterization. **Journal of General Virology**, London, v. 62, n. 1, p. 113-125, 1982.

PÉREZ, I. J.; DELGADO, A.; DI BLANCO, Y. E.; ABUIN, R.; ANTÚNEZ, B.; GALETTO, E.; MASAT, M.; PENÁ, J.; PERNIGOTTI, R.; PONTÓN, F.; SOLÍS, G.; SPORRINGO, K. L.; HEINONEN, S. Reintroducción del hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) en la Reserva Natural Iberá (Argentina): ¿misión cumplida? **Edentata**, Buenos Aires, v. 16, n. 9, p. 11–20, 2015.

PRATELLI, A.; CAVALLI, A.; MARTELLA, V.; TEMPESTA, M.; DECARO, N.; CARMICHAEL, L. E.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus (CPV) vaccination: comparison of eutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b odified live virus vaccine. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 8, n. 3, p. 612-615, 2001.

RASO, T. F. Clamidiose - Novas Abordagens Diagnósticas e Terapêuticas. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, cap.67. p. 1369-1379, 2014.

REDDY, K. B.; SHOBHAMANI, B.; PRAMEELA, D. R. Diagnosis of canine parvo viral (CPV) infection in dogs. **Intas polivet**, Chicago, v. 16, n. 2, p. 441- 442, 2015.

ROJANO, C.; MIRANDA, L.; ÁVILA, R. Endoparasitas de *Myrmecophaga tridactyla* y *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Vermilingua) silvestres em Casanare, Colombia. **Revista Colombiana de Ciência Animal**, Sucre, v. 7, n. 2, p. 154-159, 2015.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wilddlife**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 251-62. 2014.

SHELDON, J. D; CUSHING, A. C; WILKES, R. P; ANIS, E.; DUBOVI, E.J. Serologic response to canine distemper vaccination in captive Linnaeus's two-toed sloths (*Choloepus didactylus*) after a fatal canine distemper virus outbreak. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 48, n. 4, p. 1250–1253, 2017.

SHERLOCK, I. A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 47, p. 671-683, 1996.

SILVA, M. C.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, p. 215-220, 2007.

SONNE, L.; OLIVEIRA, E. C.; PESCADOR, C. A.; SANTOS, A. S.; PAVARINI, S. P.; CARISSIMI, A. S.; DRIEMEIER, D. Achados patológicos e imunohistoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2009.

SOUSA, T. C.; FRANCISCO, A. K. P. R.; SANTOS, I. B. Leishmaniose canina em Brasília, DF: Revisão da literatura. **Tempus actas de saúde coletiva**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 187-202, 2015.

SOUZA, N. P. *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 3, p. 33-335, 2010.

TINKY, S. S.; AMBILY, R.; NAIR, S. R.; MINI, M. Utility of a rapid immunochromatographic strip test in detecting canine parvovirus infection compared with polymerase chain reaction. **Veterinary World**, Rajkot, n. 4, v. 8, p. 523-526, 2015.

TRAVI, B. L.; OSÓRIO, Y.; GUARÍN, N.; CADENA, H. *Leishmania (Leishmania) chagasi*: Clinical and Parasitological Observations in Experimentally Infected *Didelphis marsupialis*, **Experimental Parasitology**, Orlando, v. 88, n. 107, p. 73-75, 1998.

VANROMPAY, D.; HARKINEZHAD, T.; VAN DE WALLE, M.; BEECKMAN, D.; VAN DROOGENBROECK, C.; VERMINNEN, K.; LETEN, R.; MARTEL, A.; CAUWERTS, K. *Chlamydophila psittaci* transmission from pet birds to humans. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 7, p. 1108–1110, 2007.

VARGAS, J. **Leishmaniose tegumentar americana em Goiás: do meio silvestre, rural ao urbano e comportamento eclético dos insetos vetores**. 109f, 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Programa de Pós-Graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis Uni EVANGÉLICA, Anápolis.

WOO, P. C. Y.; LAU, S.K.P.; LAM, C.S.F.; LAU, C. C. Y.; TSANG, A. K. L.; LAU, J. H. N.; BAI, R.; TENG, J. L. L.; TSANG, C. C. C.; WANG, M.; ZHENG, B. J.; CHANE, K. H.; YUEN, K. Y. Discovery of seven novel mammalian and avian coronavirus in the genus *Deltacoronavirus* supports bat coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 86, n. 7, p. 995-4008, 2012.

YOON, S. J; SEO, K. W.; SONG, K. H. Clinical evaluation of a rapid diagnostic test kit for detection of canine coronavirus. **Korean Journal Of Veterinary Research**, Daejeon, v. 58, n. 1, p. 27-31, 2018.

CAPÍTULO II - ARTIGO

Ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) cativos

RESUMO

O tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) apresenta ampla distribuição no Brasil, mas a espécie está classificada em relação ao estado de conservação como vulnerável. Nesse contexto, a identificação de doenças que acometem esses animais torna-se importante para o adequado manejo sanitário de exemplares em cativeiro ou que estão inseridos em programas de reabilitação. Objetivou-se com esta pesquisa investigar a ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em tamanduás-bandeira cativos. Foram utilizadas amostras de sangue e fezes de 16 *M. tridactyla* provenientes de instituições localizadas nos estados de Minas Gerais, Bahia e do Distrito Federal, com no mínimo um ano de cativeiro. Foi utilizado teste rápido comercial de ensaio imunocromatográfico para detecção do antígeno de coronavírus e parvovírus, além de anticorpos contra leishmaniose, todos com resultados negativos. No caso do teste para anticorpos contra cinomose, quatro (4/16; 25%) tamanduás testaram média titulação, dois (2/16; 12,5%) baixa titulação e dez (10/16; 62,5%) foram não reagentes pelo mesmo tipo de teste. Entretanto, pelo método de DOT-ELISA (*dot blotting*) para detecção de imunoglobulina G, apenas um exemplar obteve a titulação 1:40. Para os testes de reação em cadeia de polimerase para *Leishmania* e *Chlamydia*, todas as amostras também obtiveram resultados negativos. Os dados obtidos nesta pesquisa podem fornecer subsídios para o plano de conservação da espécie.

PALAVRAS CHAVE: Xenarthra, doenças infecciosas, cinomose

**Occurrence of *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp.,
Leishmania sp. and *Alphacoronavirus* sp. in captive giant anteaters
(*Myrmecophaga tridactyla*)**

ABSTRACT

The giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) has a wide distribution in Brazil, but its status is classified as vulnerable in terms of conservation. In this regard, the identification of diseases that affect the species becomes important for the proper health management of specimens in captivity or in rehabilitation programs. This research aimed to investigate the occurrence of *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. and *Alphacoronavirus* sp. in captive giant anteaters. Blood and fecal were used for this study from 16 animals in institutions from the states of Minas Gerais, Bahia and Distrito Federal, with at least one year in captivity. A commercial rapid chromatographic immunoassay test was used for coronavirus and parvovirus antigen detection, in addition to antibodies against leishmaniasis, being all results negative. In the case of the test for antibodies against distemper, four (4/16; 25%) anteaters tested average titration, two (2/16; 12.5%) low titration, and ten (10/16; 62.5%) non-reactive. Underwent the DOT-ELISA (dot blotting) method for detection of immunoglobulin G only one specimen obtained a 1:40 titration. For the polymerase chain reaction tests for *Leishmania* and *Chlamydia*, all samples resulted negative. The data obtained in this research is important as a tool for the conservation plan of the giant anteater.

KEY WORDS: Xenarthra, infectious diseases, distemper

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a espécie *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 compõe o grupo dos 110 táxons de mamíferos ameaçados de extinção. A espécie é conhecida popularmente como tamanduá-bandeira (YOUNG et al., 2003) e seu estado de conservação está classificado como “vulnerável” (MIRANDA et al., 2014). A espécie *M. tridactyla* pertence à superordem Xenarthra e apresenta ampla distribuição nacional, com ocorrência nas regiões Centro-Oeste, Sudeste, Norte e Nordeste (PAGLIA et al., 2012). As principais ameaças à espécie incluem atropelamentos (COPAM, 2010), destruição de habitat, caça predatória, queimadas e ataques por cães (BRAGA, 2009).

A extinção e a fragmentação de ecossistemas (PATZ et al., 2000; JORGE et al., 2010) resultam na proximidade da fauna nativa com ambientes antrópicos. Esse quadro pode causar impactos na vida dos animais silvestres, como por exemplo, o contágio por doenças cujos reservatórios são exemplares domésticos (DOBSON; CARPER, 1996). Além disso, muitas das zoonoses emergentes surgiram por mudanças na interação da fauna promovida pelo ser humano, que resultaram no contato de patógenos com novos hospedeiros (CHANG, 2020).

Há poucas pesquisas sobre os efeitos da proximidade de animais domésticos com exemplares silvestres, principalmente com a espécie *M. tridactyla* (MIRANDA, 2008). No caso de mamíferos de vida livre, VILELA (2014) ressaltou o impacto da presença de cães domésticos em unidades de conservação, pois além de predarem e competirem com espécies nativas por território e alimento, podem transmitir doenças infectocontagiosas.

Em Xenarthras, a cinomose foi relatada em sete preguiças-de-dois-dedos (*Choloepus didactylus*) por SHELDON (2017), com diagnóstico feito por teste de reação em cadeia de polimerase (PCR) e sequenciamento gênico. Resultado positivo também foi encontrado em um tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) por LUNARDI et al. (2018), a partir de testes pós-morte de PCR, ensaio imuno-histoquímico e sequenciamento gênico. Em *Myrmecophaga tridactyla*, GRANJEIRO et al. (2020) relataram a presença de inclusão de Lentz em um animal que foi a óbito com resultados positivos também no teste rápido

para antígeno de cinomose canina, PCR do gene N e análise filogenética do gene H.

Adicionalmente, para tamanduá-bandeira, há levantamentos com alguns agentes infecciosos de ocorrência em animais domésticos, como *Toxoplasma gondii* (FERRARI, 2016) e bactérias dos gêneros *Brucella* e *Leptospira* em animais de vida livre (MIRANDA, 2008), além do vírus da influenza A em exemplares cativos (NOFS, 2009). Casos de transmissão interespecífica de agentes infecciosos ressaltam a importância de medidas de biossegurança e monitoração de animais silvestres sob cuidados humanos (GRANJEIRO et al., 2020). A determinação do estado sanitário de indivíduos de cativeiro é essencial no caso de espécies ameaçadas, uma vez que eles podem ser utilizados em programas de reintrodução, translocação ou revigoramento populacional.

Devido à escassez de informações acerca da ocorrência de patógenos em tamanduás, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. em *Myrmecophaga tridactyla* de cativeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia deste estudo foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (CEUA-UnB), protocolo nº 55/2019, e Sistema de Autorização e Informações em Biodiversidade (SISBIO), nº 68635-4.

2.1 Animais

Foram utilizadas amostras de sangue e fezes 16 tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), sendo sete machos e nove fêmeas. Um dos exemplares nasceu em cativeiro, enquanto os demais foram recebidos ainda filhotes pelas instituições e mantidos, por no mínimo um ano, sob cuidados humanos.

As amostras foram colhidas de sete animais provenientes do projeto TamanduAsas e dois do Zoológico Municipal do Parque do Sabiá, ambos no

município de Uberlândia, MG. Quatro animais se encontravam sob cuidados da Fundação Jardim Zoológico de Brasília, DF, e três do Parque Vida Cerrado, em Luís Eduardo Magalhães, BA. Os animais foram escolhidos independentemente de sexo e da idade (Tabela 1).

Tabela 1. Informações do sexo, idade aproximada e instituição responsável pelos exemplares de *Myrmecophaga tridactyla* utilizados no estudo

Indivíduo	Sexo	Peso	Idade aproximada	Origem
1 – TA1	Fêmea	15 kg	2 anos	TamanduAsas, MG
2 – TA2	Fêmea	19kg	2 anos	
3 – TA3	Fêmea	7 kg	1 ano	
4 – TA4	Macho	26 kg	1 ano	
5 – TA5	Macho	37 kg	2 anos	
6 – TA6	Fêmea	28 kg	2 anos	
7 – TA7	Macho	40 kg	1 ano	
8 – PS1	Macho	38 kg	1 ano	Parque do Sabiá, MG
9 – PS2	Macho	37 kg	13 anos	
10 – ZB1	Fêmea	30 kg	2 anos	Jardim Zoológico de Brasília, DF
11 – ZB2	Fêmea	30 kg	1 ano	
12 – ZB3	Fêmea	32 kg	19 anos	
13 – ZB4	Macho	35 kg	2 anos	
14 – VC1	Macho	37 kg	10 anos	Parque Vida Cerrado, BA
15 – VC2	Fêmea	35 kg	10 anos	
16 – VC3*	Fêmea	26 kg	1 ano	

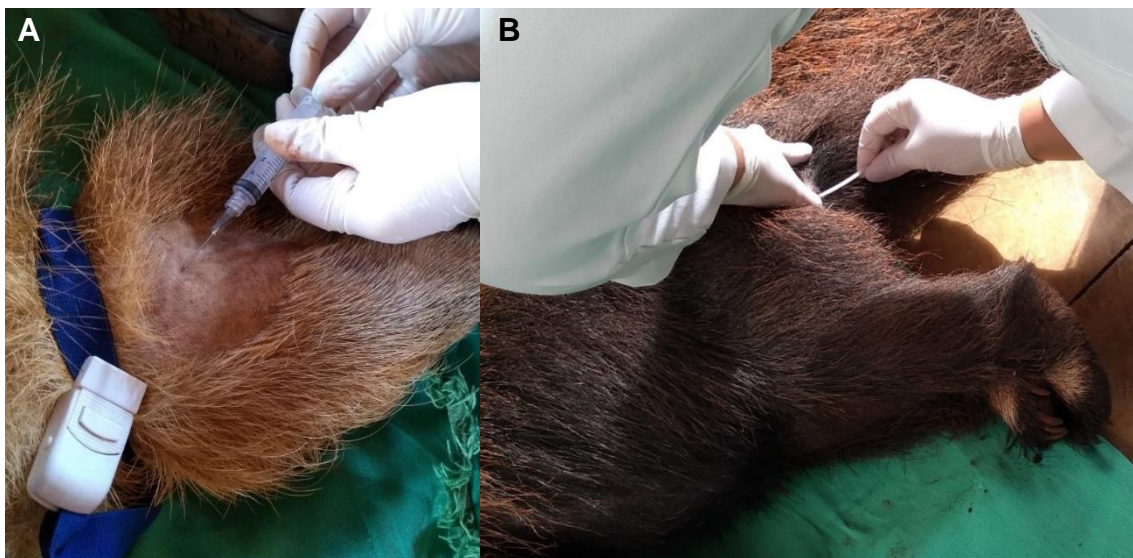
*Animal nascido em cativeiro. Os demais exemplares nasceram em vida livre e foram recebidos filhotes pelas instituições.

Foi realizado a captura e imobilização dos tamanduás com auxílio de um puçá para aplicação dos fármacos para contenção química, com variação dos protocolos de acordo com o estabelecido por cada instituição. No exame físico foi realizada a inspeção, palpação e auscultação dos tamanduás, que estavam com escore corporal entre 2,5 e 3 (escala 1 a 5), temperatura retal média de 33°C, normohidratados, fezes bem formadas, sem alteração em pelagem ou lesões em pele. Também se realizou a colheita de sangue para hemograma e bioquímica sérica de fosfatase alcalina (FA), creatinina, ureia e alanina aminotransferase (ALT).

2.2 Obtenção das amostras e testes rápidos

O sangue foi puncionado das veias cefálica (Figura 1A), safena lateral ou femoral, com uso de seringa de 5 mL e agulha descartável 25 x 0,70 mm. As amostras foram acondicionadas em tubos contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) e tubo sem anticoagulante. No caso das fezes, as amostras foram colhidas frescas diretamente no recinto quando presenciada a defecação, e por swab retal (Figura 1B), com armazenamento em frasco coletor universal e eppendorfs contendo solução tampão fosfato-salino (PBS), respectivamente.

Figura 1. Colheita de amostras biológicas em *Myrmecophaga tridactyla*. A: colheita de sangue em veia cefálica direita. B: colheita de amostra de swab retal



(Fonte: arquivo pessoal)

Imediatamente após a colheita das amostras biológicas dos animais, foram realizados testes rápidos imunocromatográficos (Alere S.A.- Bionote, Belo Horizonte, MG, Brasil) para detecção de anticorpos contra cinomose e *Leishmania infantum* (antígenos rK9, rK39 e rK26), por meio de amostra de sangue total. Adicionalmente, os mesmos tipos de testes também foram empregados para investigar a presença de antígenos de parvovírus e coronavírus canino (Test Corona/Parvo Ag[®], Alere S.A.- Bionote, Belo Horizonte,

MG, Brasil), em amostra de fezes e *swab* retal. Todos os procedimentos realizados nessa etapa seguiram as recomendações do laboratório fabricante.

2.3 Reação em cadeia de polimerase

A realização do teste molecular se iniciou com a extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) das amostras de sangue e armazenadas em tubos com EDTA e fezes em tubos de PBS. Para tanto, foi utilizado um kit comercial (Illustra Blood genomicPrep Mini Spin kit®, GE Healthcare, Piscataway, NJ, Estados Unidos) e os procedimentos seguiram as recomendações do fabricante. O material obtido foi armazenado em eppendorfs e estocado em freezer a -20°C até o momento da realização dos exames de PCR.

Todas as amostras foram submetidas ao teste de gliceraldeído-3fosfato desidrogenase (GAPDH) para verificar a qualidade da extração, a integridade do DNA obtido e a ausência de inibidores da PCR. A mistura para essa primeira etapa foi composto de 16,55 µL de água; 2,5 µL de tampão de PCR; 1,5 µL de cloreto de magnésio (MgCl₂ 50mM/µL); 1 µL de cada oligonucleotídeo (Tabela 2) (GAPDH F e GAPDH R 10pmol/µL); 0,2 µL de desoxirribonucleotídeos fosfatados (DNTP 25mM/µL); e 0,25 µL de Taq DNA polimerase (Invitrogen®, Vila Guarani, SP, Brasil - 5U/µL); 2 µL da amostra (DNA), com um volume final de 25 µL. Após o preparo, o composto foi amplificado por etapas de desnaturação. Para tanto, inicialmente foi utilizada a temperatura de 95°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de amplificação a 94°C por 30 segundos, 52°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e extração final em 72°C por 5 minutos, conforme descrito por BIRKENHEYER et al. (2003).

Após a realização do teste de PCR para confirmar a integridade do DNA e a ausência de inibidores, cada amostra foi submetida ao protocolo para detecção de *Leishmania* e *Chlamydia*. Para a composição da mistura de PCR de *Leishmania* 18S, foi utilizada a associação de 16 µL de água; 2,5 µL de tampão de PCR; 1,5 µL de MgCl₂ (50mM/µL); 1 µL dos primers R221 e R332 (10pmol/µL); 0,2 µL de DNTP 25 µM (25mM/µL); e 0,2 µL de Taq DNA polimerase; 2,5 µL da amostra (DNA) com volume final de 25 µL. A mistura da PCR de *Leishmania* cinetoplasto foi composto por 17,35 µL de água; 2,5 µL de tampão de PCR; 0,75 µL de MgCl₂ (50mM/µL); 1 µL dos primers LFW e LBW; 0,2 µL de DNTP 25 µM

(25mM/ μ L); e 0,2 μ L de Taq polimerase; 2 μ L da amostra (DNA) com volume final de 25 μ L. A amplificação foi realizada em três etapas, iniciando com a desnaturação a 94°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de amplificação, com desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 63°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 5 minutos, conforme indicação de DISCH et al. (2003).

A mistura para *Chlamydia* foi composto por 17,05 μ L água; 2,5 μ L de tampão de PCR; 1,0 μ L MgCl₂(50mM/ μ L); 1,0 μ L dos primers Chls A e Chls B; 0,2 μ L DNTP 25 μ M (25mM/ μ L); e 0,2 μ L Taq polimerase (Invitrogen®, Vila Guarani, SP, Brasil); 2 μ L da amostra (DNA) em um volume final de 25 μ L. Em seguida, a mistura foi submetido ao protocolo de amplificação, a partir da desnaturação inicial à 94°C por 10 minutos, seguida de 34 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 54°C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto. Para finalizar, a mistura passou por extensão final a 72°C por 4 minutos e resfriamento a 4°C, conforme metodologia de SILVA (2013).

Tabela 2. Sequência de oligonucleotídeos, gene de origem, tamanho dos produtos de amplificação e referências das reações em cadeia de polimerase com amostras de ácido desoxirribonucleico utilizados na pesquisa

Reação/Primer	Sequência 5'-3'	Gene	Tamanho	Refêrencia
GAPDH	GAPDH F: CCTTCATTGACCTCAACTACAT	GAPDH	400 pb	Birkenheyer et al. (2003)
	GAPDH R: CCAAAGTTGTCATGGATGACC	GAPDH		
Leishmania 18S / R221 R332	GGTTCCTTTCTGATTTACG GGCCGGTAAAGGCCGAATAG	18S	600 pb	Van Eys et al. (1992)
Leishmania cinetoplasto/ LBW LFW	LBW: CCGCCCTATTTTACACCAACCCC	LBW	120 pb	Disch et al. (2003)
	LFW: GGGTAGGGGCGTTCTGCGAA	LFW		
MOMP / ChLS A ChLS B	ChLS A: CAGGATATCTTGTCTTGTCTGGCTTT AA	MOMP	260 pb	Raso et al. (2006); Silva (2013)
	ChLS B: GCAAGGATCGCAAGGATC	MOMP		

Todas as provas de PCRs foram feitas em aparelho termociclador (Biorad® C1000TM Thermal Cycler, Hercules, CA) e seus produtos foram visualizados em gel de agarose a 2%, por eletroforese. Para avaliação do tamanho das bandas do composto amplificado, o gel foi corado com brometo de etídio (Vetec, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, Estados Unidos) e fotografado em transluminador (UV Transilluminator UVP®, Upland, CA) sob luz ultravioleta (UV). Em todos os testes utilizou-se marcador molecular (Invitrogen®, Vila Guarani,

São Paulo, Brasil), com intervalo de pesos moleculares de 100 pb. O controle negativo foi feito com água estéril e desprovida de DNA (Milli-Q autoclavada), e como controle positivo foram usadas amostras de cães diagnosticados e confirmados pelo Laboratório de Microbiologia e Patologia Molecular do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília e vacina para detecção de *Chlamydia*.

2.4 Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)

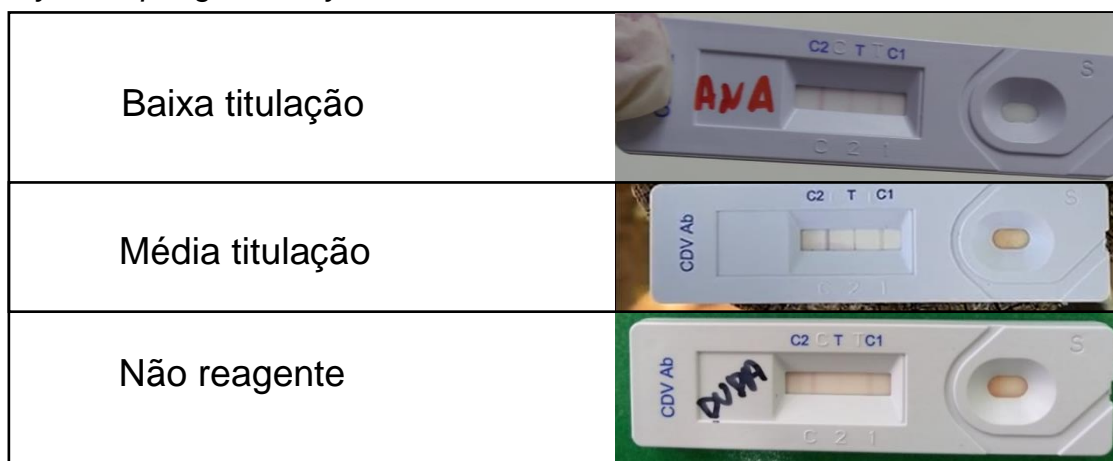
As amostras foram analisadas para detecção de IGG contra cinomose e parvovirose por meio da técnica de DOT-ELISA (*dot blotting*). A interpretação dos resultados foi realizada da seguinte forma: score zero = negativo; score 1 e 2 = baixo positivo, score 3 = médio positivo e score 4 ou maior = alto positivo. Em sequência, a partir do método de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), foram obtidos os resultados na tabela de conversão de títulos para 1:40; 1:80; 1:160 ou 1:320. As análises laboratoriais de ELISA foram realizadas pelos laboratórios TECSA® (Laboratório de Tecnologia em Sanidade Animal, Belo Horizonte, MG, Brasil) e CIVET (Uberlândia, MG, Brasil) com soro sanguíneo.

3. RESULTADOS

Quanto aos agentes infecciosos investigados, todos os 16 animais apresentaram resultado não reagente para os antígenos de coronavírus e parvovírus, bem como para anticorpos contra *Leishmania*. Todos os 16 animais testados foram reagentes para GAPDH, negativos para *Leishmania* 18S, *Leishmania* cinetoplasto e *Chlamydia* sp. na PCR. Nenhuma das amostras avaliadas foram reagentes para o vírus da parvovirose no DOT-ELISA.

No teste rápido para detecção de anticorpos contra cinomose (Figura 2), quatro (4/16; 25%) animais marcaram média titulação, dois (2/16; 12,5%) apresentaram baixa titulação e dez (10/16; 62,5%) foram não reagentes, conforme descrito na Tabela 3. Ao comparar o teste rápido com o laboratorial, a concordância foi de 68,75% (11/16), sendo que 31,25% (5/16) das amostras apresentaram resultados falso positivos pelo teste rápido.

Figura 2. Resultados de titulações baixa, média e não reagente para o teste rápido imunocromatográfico de detecção de anticorpos contra cinomose em *Myrmecophaga tridactyla* de cativeiro



(Fonte: arquivo pessoal)

Tabela 3. Resultados do teste rápido imunocromatográfico e do ensaio de imunoabsorção enzimática (DOT-ELISA) para detecção de anticorpos contra cinomose em *Myrmecophaga tridactyla* de cativeiro

Amostra	Teste Rápido	DOT-ELISA IGG
1 – TA1	Baixa titulação	Negativo
2 – TA2	Média titulação	Negativo
3 – TA3	Negativo	Negativo
4 – TA4	Negativo	Negativo
5 – TA5	Negativo	Negativo
6 – TA6	Negativo	Negativo
7 – TA7	Baixa titulação	Negativo
8 – ZB1	Negativo	Negativo
9 – ZB2	Negativo	Negativo
10 – ZB3	Negativo	Negativo
11 – ZB4	Negativo	Negativo
12 – PS1	Negativo	Negativo
13 – PS2	Negativo	Negativo
14 – VC1	Média titulação	Negativo
15 – VC2	Média titulação	Baixo positivo
16 – VC3	Média titulação	Negativo

Somente a amostra de VC2 obteve resultado positivo pelo DOT-ELISA (1/16, 6,25%), com escore 1 e titulação de 1:40 para o vírus da cinomose canina. O animal VC2, que apresentou resultado de média titulação no teste rápido imunocromatográfico, foi recebido pelo Jardim Zoológico de Brasília ainda filhote, sem sinais clínicos de doença e com um ano de idade foi transferido para o Parque Vida Cerrado, na Bahia. Os três animais da instituição estão alojados em recintos vizinhos separados por tela metálica e apresentaram resultados positivos no teste rápido. Os animais VC1 e VC2 foram acasalados em 2018, com nascimento de VC3.

4. DISCUSSÃO

A escassez de dados acerca das condições sanitárias de espécies silvestres representa um dos desafios para as estratégias de conservação, uma vez que essas informações podem ser usadas para estimar o risco de extinção (RADCHUK et al., 2016). Levantamentos acerca da ocorrência de agentes causadores de enfermidades como cinomose, parvovirose, leishmaniose e clamidiose em exemplares de *Myrmecophaga tridactyla* mantidos sob cuidados humanos são raros ou inexistentes, sendo esse o primeiro estudo em que foram realizados testes rápidos e laboratoriais comparativos para investigação de anticorpos contra o morbilivírus na espécie.

Dos seis tamanduás positivos para o teste rápido de detecção de anticorpos contra cinomose, apenas um confirmou reação no teste laboratorial de DOT-ELISA IGG. Esse tamanduá não apresentava sinais clínicos de enfermidade e há relatos de que cães errantes invadem esporadicamente o parque. Estudos nesse sentido são importantes uma vez que LUNARDI et al. (2018) relataram a ocorrência de óbito de tamanduá-bandeira por cinomose com sinais semelhantes aos apresentados por canídeos, mas ainda faltam maiores informações acerca da morbidade e da mortalidade da doença para a espécie.

O *M. tridactyla* reagente para anticorpo contra cinomose no teste laboratorial foi resgatado quando filhote e se encontrava há dez anos em cativeiro, por isso, não é possível determinar quando e onde ocorreu seu contato com o morbilivírus. Segundo MONTI (2004), cães que foram expostos ao vírus

da cinomose canina de forma experimental apresentaram titulação de anticorpos no 9º dia após a exposição. Além disso, estudos demonstram que a duração da imunidade contra a doença pode se prolongar por período maior do que nove anos (ANGÉLICO, PEREIRA, 2012).

O emprego de testes rápidos na rotina médica veterinária é interessante pela possibilidade de obtenção de resultados imediatos, sobretudo para animais de vida livre e cujo manejo depende de contenção química, como é o caso da espécie *M. tridactyla*. Entretanto, apesar do teste rápido imunocromatográfico utilizado neste estudo apresentar sensibilidade e especificidade de 100% para cães (ALERE® Cinomose Ac Test Kit), neste estudo observou-se que 31,25% das amostras obtiveram resultados falso-positivos em tamanduás-bandeira. Por isso, ainda é necessário validar tais testes para uso na espécie e a confirmação por prova laboratorial se faz interessante, principalmente para resultados positivos no teste rápido.

O gênero *Leishmania* foi descrito em diversas espécies de mamíferos silvestres e os Xenarthras são conhecidos como reservatórios do protozoário. Há relatos da detecção desse patógeno em preguiças, tatus e tamanduás, porém sem observação de manifestações clínicas (De ARAÚJO et al., 2012; ROQUE; JANSEN, 2014; ESPINOSA et al., 2016). Apesar das amostras testadas terem obtido resultados negativos neste estudo, por se tratar de uma zoonose importante para saúde pública, a investigação de *Leishmania* sp. foi relevante uma vez que há registros da ocorrência de leishmaniose canina nas cidades próximas às instituições em que estão alojados os tamanduás (LEITE, 2014; SOUSA et al., 2015; REIS et al., 2020).

No caso do *Alphacoronavirus 1* e o *Parvovirus*, não foram encontrados relatos de contágios ou pesquisa das doenças em Xenarthras. Neste estudo, todos os animais testados foram negativos nas análises propostas, porém são necessárias maiores investigações para descartar a possibilidade de infecção de tamanduás-bandeira pelos vírus.

A *Chlamydia* é uma bactéria que causa distúrbio reprodutivo em diversas espécies de mamíferos domésticos e destaca-se pelo seu potencial zoonótico e por causar prejuízos econômicos (LIMA, 2019). O Instituto de Pesquisa em Conservação de Tamanduás no Brasil (IPCTB) descreveu um indivíduo da espécie *M. tridactyla* de cativeiro de um zoológico no estado de São

Paulo, com diagnóstico positivo para a doença após aborto espontâneo (MIRANDA, 2008). Todos os animais amostrados neste estudo foram negativos para *Chlamydia*, semelhantemente, à pesquisa realizada por MIRANDA (2008) com exemplares de vida livre.

Entender a forma de contágio das doenças, a progressão e como evitar a disseminação são importantes para garantir a saúde sanitária de animais silvestres sob cuidados humanos. Alguns tamanduás desta pesquisa fazem parte de projetos de reabilitação, por isso, a realização de exames sanitários é fundamental para avaliação de saúde dos animais e reduzir as chances da transmissão de agentes infectocontagiosos para populações de vida livre. Dados obtidos no presente estudo podem subsidiar decisões a serem implementadas no Plano de Ação Nacional (PAN) para a conservação da espécie *M. tridactyla*.

5. CONCLUSÃO

Os exemplares de *Myrmecophaga tridactyla* de cativeiro apresentaram resultados negativos para pesquisa de *Chlamydia* sp., *Morbillivirus* sp., *Parvovirus* sp., *Leishmania* sp. e *Alphacoronavirus* sp. nos testes realizados. Seis tamanduás obtiveram reação positiva no teste rápido imunocromatográfico para detecção de anticorpos contra *Morbillivirus*, mas apenas um foi confirmado pela técnica de DOT-ELISA, com ocorrência de 31,25% de resultados falsos-positivos.

REFERÊNCIAS

- ALERE® Cinomose Ac Test Kit, **Bula do teste**, Bionote Inc, Gyeonggi-do, 2013.
- BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. **Jornal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 9, p. 4172-4177, 2003.
- ANGÉLICO, S. M. R.; PEREIRA, C. A. D. Novas diretrizes vacinais para cães – uma abordagem técnica e ética. **Revista Clínica Veterinária**, Cotia, v. 17, n. 97, p. 62-81, 2012.
- BRAGA, F. G.; SANTOS, R. E. F. Relações entre a fauna e o fogo. In: SOARES, R. V.; BATISTA, A. C.; NUNES, J. R. S. **Incêndios florestais no Brasil: o estado da arte**. Curitiba: Editores independentes, cap. 7, 2009. 246 p.
- CHANG, J. China needs to establish a directory system of wildlife prohibited from hunting, breeding, transferring or eating urgently. **Derecho Animal**, Barcelona, v. 11, n. 1, p. 59-64, 2020.
- COMISSÃO DE POLÍTICA AMBIENTAL DE MINAS GERAIS (COPAM). **Deliberação normativa nº 147, de 30 de abril de 2010**. A aprovada a lista de espécies da fauna ameaçadas de extinção no Estado de Minas Gerais. 2010.
- De ARAÚJO, V. A. L.; BOITÉ, M. C.; CUPOLILLO, E.; JANSEN, A. M.; ROQUE, A. L. R. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. **Parasitology**, London, v. 140, n. 4, p. 455-460, 2012.
- DESBIEZ, A. L. J.; BERTASSONI, A.; TRAYLOR-HOLZER, K. Population viability analysis as a tool for giant anteater conservation. **Perspectives in Ecology and Conservation**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 124-131, 2020.
- DISCH, J.; MACIEL, F. C.; OLIVEIRA, M. C. D. E.; ORSINI, M.; RABELLO, A. Detection of circulating *Leishmania chagasi* DNA for the non-invasive diagnosis of human infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 97, n. 4 p. 391-395, 2003.
- DOBSON, A. P.; CARPER, E. R. Infectious diseases and human population history. **BioScience**, Washington, v. 46, n. 2, p. 115-126, 1996.
- ESPINOSA, O. A.; SERRANO, M. G.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G.; SHAW, J. J. Na appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids

presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**, London, v. 145, n. 4, p. 430-442, 2016.

FERRARI, M. V. **Isolamento e caracterização genética de *Toxoplasma gondii* em *Myrmecophaga tridactyla* (Linnaeus, 1758)**. 47 f, 2016. Dissertação (Mestrado em Genética Animal e Evolução), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

GRANJEIRO, M. D. B.; KAVASAKI, M. L.; MORGADO, L. A. D. P.; BARROS, M.A.; FONTANA, C. First report of a canine morbillivirus infection in a giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) in Brazil. **Veterinary Medicine and Science** [online], Oxford, v. 6, n. 3, p. 606-611, 2020.

JORGE, R. S. P.; F. L. ROCHA; J. A. MAY JÚNIOR; R. G. MORATO. Ocorrência de patógenos em carnívoros selvagens brasileiros e suas implicações para a conservação e saúde pública. **OEcologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 686-710. 2010.

LEITE, M. D. X. **Leishmaniose Visceral Canina – Distribuição e delimitação de área de risco em Barreiras, Bahia**. 123 f, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos), Universidade Federal da Bahia, Salvador.

LIMA, A. M. C.; DOS-SANTOS, M. D.; DAMASCENO, M. S.; ARAÚJO, J. F.; DAMASCENO E. M.; ANDRIOLI, A.; ALVEZ F. S. F.; PINEIRO, R. R.; CARDOSO, J. F. S.; RÔMULO, N. Inquérito sorológico da infecção por *Chlamydomyxa abortus* em ovinos pertencentes à mesorregião dos Sertões Cearenses. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 43, n. 2, p. 525, 2019.

LUNARDI, M.; DAROLD, G. M.; AMUDE, A. M.; HEADLEY, S. A.; SONNE, L., YAMAUCHI, C. I.; BOABAID, F. M.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Canine distemper virus active infection in order Pilosa, Family Myrmecophagidae, species *Tamandua tetradactyla*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 220, n. 1, p. 7-11, 2018.

MIRANDA, F.; BERTASSONI, A.; ABBA, A. M. ***Myrmecophaga tridactyla*: The IUCN Red List of Threatened Species**, 2014. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T14224A47441961.en>

MIRANDA, F. R. **Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella spp.*, *Leptospira spp.*, *Chlamydomyxa spp.* em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC**

Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) e Parque Nacional das Emas (PNE). 118 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ Universidade de São Paulo, Piracicaba.

NOFS, S.; ELDAIM, M. A.; THOMAS, K. V.; TOPLON, D.; ROUSE, D.; KENNEDY, M. Influenza virus A (H1N1) in giant Anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 15, n. 7, p. 1081-1083, 2009.

PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P., SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. DA C.; MITTERMEIER, R. A.; PATTON J. L. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil.** Occasional Papers in Conservation Biology. 2.ed. Arlington: Conservation International, 2012. 82 p.

MONTI, F. S. **Anticorpos contra o vírus da cinomose em cães vacinados em diferentes estabelecimentos da área urbana do município de Viçosa/MG.** 67 f. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade de Viçosa, Viçosa.

PATZ, J. A.; T. K. GRACZYK; N. GELLER; A. Y. VITTOR. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal of Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 13, p. 1395-140, 2000.

RADCHUK, V.; OPPEL, S.; GROENEVELD, J.; GRIMM, V.; SHTICKZELLE, N. Simples ou complexo: impacto relativo da disponibilidade de dados e propósito do modelo na escolha dos tipos de modelo para análises de viabilidade populacional. **Ecologia Modelo**, Rio de Janeiro, v. 323, n. 3, p. 87 – 95, 2016.

RASO, T. F.; SEIXAS, G. H. F.; GUEDES, N. M. R.; PINTO, A. A. *Chlamydophila psittaci* in free-living Bluefronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 117, n. 4, p. 235-241, 2006.

REIS, F. G. R. C.; ANDRADE, E. F. F. A.; TEIXEIRA, P. A.; JUNQUEIRA JUNIOR, D. G. Prevalência de Leishmaniose canina em cães de abrigo no município de Uberlândia – Minas Gerais – Estudo de caso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Jandaia, v. 17, n. 31, p. 186, 2020.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Washington, v. 3. n. 3, p. 251-62, 2014.

SHELDON, J. D.; CUSHING, A. C.; WILKES, R. P.; ANIS, E.; DUBOVI, E. J. Serologic response to canine distemper vaccination in captive Linnaeus's two-toed sloths (*Choloepus didactylus*) after a fatal canine distemper virus outbreak. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Washington, v. 48, n. 4, p. 1250–1253, 2017.

SILVA, S. S. **Avaliação e diagnóstico da ocorrência de *Chlamydophila psittaci* em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) de criadores comerciais de Brasília DF**. 87 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

SOUSA, T. C.; FRANCISCO, A. K. P. R.; SANTOS, I. B. Leishmaniose canina em Brasília, DF: Revisão de Literatura. *Tempus – Actas de Saúde Coletiva*, Brasília, v. 9 n. 3, 2015.


VAN EYS, G. J. J. M.; SCHOONE, G. J.; KROON, N. C. M.; EBELING, S. B. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 51, n. 1, p. 133–142, 1992.

VILELA, A. L. O.; GUEDES, V. L.; Cães domésticos em unidades de conservação: Impacto e controle. **HOLOS Environment**, Rio Claro, v. 14 n. 2, p. 199, 2014.

YOUNG, R. J.; C. M. COELHO; D. R. WIELOCH. A note on the climbing abilities of giant anteaters, *Myrmecophaga tridactyla* (Xenarthra, Myrmecophagidae). **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 41-46, 2003.

ANEXOS

Anexo 1 – Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília





Universidade de Brasília
 Instituto de Ciências Biológicas
 Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 31 de maio de 2019.


DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "PREVALÊNCIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CONJUNTIVA OCULAR EM TAMANDUÁS-BANDEIRAS (MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA) NOS ESTADOS DE MINAS GERAIS, GOIÁS E DISTRITO FEDERAL.", Protocolo n.º 55/2019, sob responsabilidade da Professora Líria Queiroz Luz Hirano foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Myrmecophaga tridactyla* (30). A presente aprovação é válida pelo período de: 01/06/2019 a 01/02/2021.





Prof. Dr. Cássio José da Silva
 Coordenador da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

ANEXO 2 – Autorização do Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade - SISBIO:



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68635-4	Data da Emissão: 08/05/2020 16:58:47	Data da Revalidação*: 01/12/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Líria Queiroz Luz Hirano	CPF: 076.534.676-10
Título do Projeto: Prevalência de doenças infecciosas de animais domésticos e avaliação microbiológica de conjuntiva ocular em tamanduás-bandeiras (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>) de cativeiro do Cerrado	
Nome da Instituição: Fundação Universidade de Brasília	CNPJ: 00.038.174/0001-43

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Colheita de secreção oftálmica	05/2019	12/2020
2	Colheita de amostras sanguíneas	05/2019	12/2020
3	Processamento das amostras em laboratório	05/2019	01/2020
4	Análise estatística dos resultados e redação do artigo	08/2019	02/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Hedemy Christiem Cerqueira de Paula Tessari	Colheita de sangue e processamento das amostras	364.711.858-39	Brasileira
2	Juliana Macedo Magnino Silva	Manejo, captura e monitoração pós-soltura (Projeto ASAS MG)	083.383.526-24	Brasileira
3	Daniilo Kluyber de Souza	Anestesia e colocação de radiocolar	221.814.338-01	Brasileira
4	Débora Regina Yogui	Anestesia e colocação dos radiocolares	327.694.068-09	Brasileira
5	Paula Damasceno Gomes	Manejo dos tamanduás para colheita das amostras	038.199.871-18	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido a COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68635-4	Data da Emissão: 08/05/2020 16:58:47	Data da Revalidação*: 01/12/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Líria Queiroz Luz Hirano	CPF: 076.534.678-10
Título do Projeto: Prevalência de doenças infecciosas de animais domésticos e avaliação microbiológica de conjuntiva ocular em tamanduás-bandeiras (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>) de cativeiro do Cerrado	
Nome da Instituição: Fundação Universidade de Brasília	CNPJ: 00.038.174/0001-43

Observações e ressalvas

7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Fundação Jardim Zoológico de Goiânia	Goiânia-GO	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
2	Universidade Federal de Uberlândia	Uberlândia-MG	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
3	Zoológico Municipal do Parque do Sabiá	Uberlândia-MG	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
4	Instituto Lina Galvin	Barreiras-BA	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
5	Projeto de Áreas de Soltura de Animais Silvestres - ASAS	Uberlândia-MG	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
6	Centro de Triagem de Animais Silvestres - GO	Goiânia-GO	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
7	Centro de Triagem de Animais Silvestres - DF	Brasília-DF	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
8	Propriedade privada cadastrada em projeto ASAS (Área de soltura de animais silvestres)	Uberlândia-MG	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
9	Fundação Jardim Zoológico de Brasília	Brasília-DF	Cerrado	Não	Fora de UC Federal

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Fundação Universidade de Brasília	Laboratório
2	Fundação Universidade de Brasília	Laboratório
3	Fundação Universidade de Brasília	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

ANEXO 3- Metodologia dos testes rápidos: ALERE® para Cinomose Ac; para Parvo/Corona Ag e para Leishmaniose Ac

3.1 - Cinomose (<http://alerevet.com.br/Cinomose-Ac.html>)

Procedimento

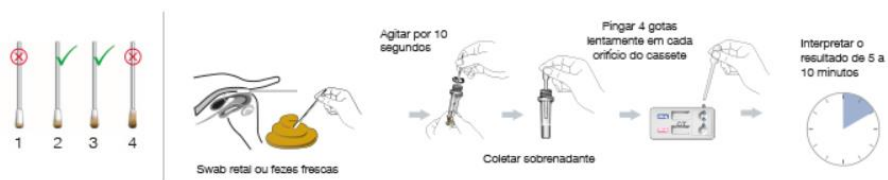


Interpretação

Alta Titulação	Média Titulação	Baixa Titulação	Não Reagente
<p>Linha T de intensidade maior do que as Linhas C1 e C2. Indica alta concentração do anticorpo contra o Vírus da Cinomose (acima de 1:128 - soroneutralização)</p>	<p>Linha T de intensidade maior do que a Linha C1 e menor do que a linha C2. Indica concentração média de anticorpo contra o Vírus da Cinomose (de 1:16 a 1:64 - soroneutralização)</p>	<p>Linha T de intensidade menor do que as Linhas C1 e C2. Indica baixa concentração do anticorpo contra o Vírus da Cinomose - (abaixo de 1:16 - soroneutralização)</p>	<p>Presença das Linhas Controle (C1 e C2) e ausência da Linha T na Janela. Indica ausência de anticorpos contra o Vírus da Cinomose.</p>

3.2 - Parvo/Corona (<http://alerevet.com.br/Parvo-corona.html>)

Procedimento

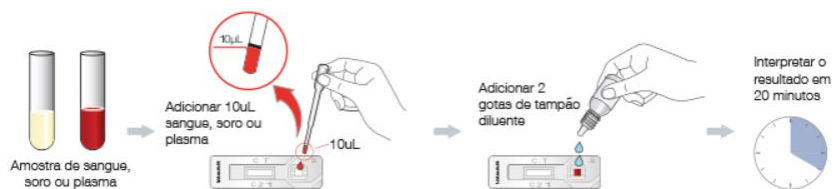


Interpretação



3.3 – Leishmaniose (<http://alerevet.com.br/Leishmaniose.html>)

Procedimento



Interpretação



Resultado reagente

Duas linhas coradas (C e T)



Resultado não reagente

Somente a linha (C) corada

ANEXO 4 – Protocolos de contenção química utilizados nos exemplares de *Myrmecophaga tridactyla*, conforme instituição

- **TamanduAsas:** tiletamina e zolazepam 3mg/kg; detomidina 30µg /kg.
- **Zoológico de Brasília:** cetamina 4mg/kg; midazolam 1mg/kg.
- **Parque do Sabiá:** dexmedetomidina 5mg/kg; midazolam 0,3mg/kg; cetamina 4mg/kg.
- **Parque Vida Cerrado –** cetamina 6mg/kg; midazolam 0,1mg/kg; xilazina 0,2mg/kg.

Anexo 5 – Resultados dos exames de hemograma e bioquímica sérica de exemplares cativos de *Myrmecophaga tridactyla*

5.1 - Laboratório CIVET

Parâmetro	Unidade	Referência	TA1	TA2	TA3	TA4	TA5	TA6
Hemácias	milhões/mm ³	2.05-2.67	2,55	2,2	1,43	2,53	3,23	2,15
Hemoglobina	g/dL	10.6-12.9	8,9	9,9	7	12,2	13,6	9,5
Hematócrito	%	35.44-40.1	25,5	25,2	17,2	30,7	36,6	24,8
VCM	fl	146.12-184.11	108	115	120	121	112	115
HCM	pg	46.11-56.02	38,7	45,2	49	45,2	42	44
CHCM	%	29.15-33.26	34,2	39,2	40,8	39,8	33,7	38,2
RDW	%	-	15,5	14,8	24,2	17,9	13,4	14,5

LEUCOGRAMA

Leucócitos totais	/mm ³	5.59-18.14	9100	6100	6000	11500	11100	15800
Neutrófilos segmentados	/mm ³	3.91-13.88	6097	4819	4440	7820	7437	7749
Neutrófilos bastonetes	/mm ³		91	0	0	0	0	0
Eosinófilos	/mm ³	0.08-1.86	728	366	120	920	666	2370
Basófilos	/mm ³	0	0	0	0	0	0	0
Linfócitos típicos	/mm ³	1.07-2.53	2093	1830	1440	2300	2997	5530
Linfócitos atípicos	/mm ³		0	0	0	0	0	0
Monócitos	/mm ³	0.09-0.29	91	305	0	460	0	158
Plaquetas x10 ³	/mm ³	123.45±31.36	260	115	111	122	148	138

Legenda: - sem referência

Parâmetro	Unidade	Referência	TA1	TA2	TA3	TA4	TA5	TA6
Albumina	g/dL	3.29±0.33	2	1,2	0,8	1,4	1,5	2,3
ALT	UI/L	15.49±7.98	43	36	48	38	24	38
AST	UI/L	21.12±7.5	38	45,4	xx	17,4	19,2	22,7
Colesterol	mg/dL	62.79±20.08	137	67	195	111	61	92
Creatinina	mg/dL	1.05±0.37	1	1	0,6	0,8	0,9	1,2
Fosfatase alcalina	U/L	-	60	27	24	74	71	49
Gama GT	UI/L	65.18±54.57	8	6	31	14	63	23
Glicose	mg/dL	103.71±29.63	67	45	32	25	63	73
Proteína total	g/dL	6.23-9.33	6,8	5,8	4,8	5,9	5	4,9
Ureia	mg/dL	53.46±18.28	37	36	26	31	57	72

Legenda: - sem referência

5.2 - Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Brasília

Parâmetros	Unidade	Referência	ZB1	ZB2	ZB3	ZB4	VC1	VC2	VC3
Hemácias	µL	1,67 – 2,47x10 ⁶	2.1	1.9	2.2	2.5	2.1	2.2	1.8
Hemoglobina	dL	9,2-13,5	0	0	0	0	0	0	0
Hematócrito	%	32-44%	39	42	45	48	38	44	37
VCM	fl	164-208	215	210	180	254	180	200	205
HCM	pg	46.11-56.02	0	0	0	0	0	0	0
CHCM	dl	27-32	0	0	0	0	0	0	0
RDW	%	29.15-33.26	0	0	0	0	0	0	0

LEUCOGRAMA									
Leucócitos totais	/mm ³	5.59-18.14	7000	6900	7100	7230	7900	6400	7800
Neutrófilos segmentados	/mm ³	3.91-13.88	4777	4580	4430	4930	4740	3392	5772
Neutrófilos bastonetes	/mm ³	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos	/mm ³	0.08-1.86	356	330	378	408	1027	448	468
Basófilos	/mm ³	0	0	0	0	0	0	64	0
Linfócitos típicos	/mm ³	1.07-2.53	1690	1730	1554	2078	1817	2112	1482
Linfócitos atípicos	/mm ³	0	0	0	0	0	0	0	0
Monócitos	/mm ³	0.09-0.29	353	301	376	0	316	384	78
Plaquetas x10 ³	/mm ³	123.45±31.36	92000	95000	92000	83000	92000	96000	90000