

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

LARA PELLEGRINI CARIZZI PEREIRA DE LIMA

**PARASITOS INTESTINAIS EM TAMANDUÁS-BANDEIRA
(*Myrmecophaga tridactyla*) DE VIDA LIVRE E DE CATIVEIRO**

UBERLÂNDIA

2019

LARA PELLEGRINI CARIZZI PEREIRA DE LIMA

**PARASITOS INTESTINAIS EM TAMANDUÁS-BANDEIRA
(*Myrmecophaga tridactyla*) DE VIDA LIVRE E DE CATIVEIRO**

Trabalho apresentado à banca examinadora, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II da graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina Cury

UBERLÂNDIA

2019

**PARASITOS INTESTINAIS EM TAMANDUÁS-BANDEIRA
(*Myrmecophaga tridactyla*) DE VIDA LIVRE E DE CATIVEIRO**

Trabalho apresentado à banca examinadora, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II da graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Profª. Dra. Márcia Cristina Cury
UFU/MG Orientadora

Prof. Dr. Fernando Cristino Barbosa
UFU/MG

MV Nathana Beatriz Martins
UFU/MG

Uberlândia, 03 de dezembro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Denise e Olegário pelo eterno amor e incentivo que me ofereceram durante todos esses anos. Foram seus carinhos e broncas que me tornaram a pessoa que sou hoje.

Agradeço à vó Neusa e tia Daisy, minhas mães postiças, por todo o cuidado que tiveram comigo desde a minha infância. Sua casa é e sempre será um porto seguro.

Agradeço à minha prima Marcella por ter me abraçado como uma irmã durante a faculdade, me auxiliando em todos os aspectos da minha vida. Sem você, não teria chegado a lugar nenhum.

Ao meu irmão Wilson por ter me segurado em momentos que achei que ninguém estaria lá por mim.

Agradeço a todas as minhas amigas pelo apoio durante a vida acadêmica, em especial a Rafaela, Kamylla e Beatriz, que estiveram ao meu lado durante meus momentos mais difíceis.

Agradeço à minha orientadora Márcia Cristina Cury por ter me dado a oportunidade de trabalhar com animais silvestres, que me fascinam como nenhum outro animal.

A Elaine Silva Marques Faria por ter me acompanhado no laboratório, sempre compartilhando seus conhecimentos.

Aos residentes do LAPAS por terem me auxiliado durante as coletas de material.

A professora Márcia Benedita de Oliveira Silva (UFTM) e sua orientada Jaqueline por terem realizado meu treinamento na técnica de Kinyoun e se disponibilizado para sanar minhas dúvidas.

Ao professor Ednaldo Carvalho Guimarães (UFU) por ter me orientado em relação às análises estatísticas.

Enfim, a todos que de alguma maneira influenciaram minha jornada durante a realização deste trabalho.

Obrigada!

RESUMO

Os animais silvestres são hospedeiros reservatórios de diversos protozoários, que podem representar uma ameaça para programas de conservação da fauna silvestre e, no caso de protozooses de caráter zoonótico, um risco à saúde humana. Os tamanduás (*Myrmecophagidae*) estão propensos a se infectar com protozoários intestinais devido ao seu contato direto com o solo e, portanto, é possível que apresentem uma grande variedade desses parasitos. Ainda há poucos estudos sobre a presença de protozoários nas fezes desses animais, embora já existam relatos de *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Entamoeba*, e *Giardia*. Este estudo avaliou a presença de protozoários intestinais em cinco tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) atendidos no ambulatório de animais selvagens do Hospital Veterinário da UFU. As técnicas escolhidas para a pesquisa foram o método de Faust e técnica de Kinyoun para identificação de cistos, trofozoítos e oocistos dos diferentes parasitos observados. Dois animais se demonstraram positivos para protozoários, um para coccídio e outro para *Cryptosporidium*. Além disso, foram identificados parasitos das famílias Ancylostomatidae, Strongiloididae, Trichuridae e Ascarididae em três dos tamanduás. Não foi realizada análise estatística dos resultados.

Palavras-chave: Tamanduá-bandeira. Protozoários Intestinais. Coccídio. *Cryptosporidium*.

ABSTRACT

Wild animals are reservoir hosts of many protozoa that may represent a threat to wildlife conservation programs and, in the case of protozoal diseases of zoonotic character, a risk to human health. Anteaters (Myrmecophagidae) are propense to infecting themselves with intestinal protozoans due to their direct contact with the soil and therefore it's possible that they present a great variety of these parasites. There are still few studies about the presence of protozoa in the feces of these animals, although there are already reports of *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Entamoeba*, and *Giardia*. This study determined the presence of intestinal protozoans in five giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) attended in UFU's wild animal ambulatory. The chosen techniques for the screening were Faust method and Kinyoun stain to identify cysts, trophozoites and oocysts of the observed parasites. Two of the animals were positive to protozoa, one for coccidium and another for *Cryptosporidium*. Furthermore, parasites of the families Ancylostomatidae, Strongiloididae, Trichuridae and Ascarididae were identified in three of the anteaters. Statistical analysis of the results was not performed.

Keywords: Giant Anteater. Intestinal Protozoans. Coccidium. *Cryptosporidium*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Oocisto de coccídio encontrado no animal 4	27
FIGURA 2	Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> encontrado no animal 3	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Identificação, dados demográficos e número de amostras coletadas por tamanduá	26
TABELA 2	Protozoários e helmintos observados nas fezes dos tamanduás coletadas no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU no período de janeiro a setembro de 2019	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
1.1	Objetivos	10
1.1.1	Objetivo Geral	10
1.1.2	Objetivos Específicos	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	<i>Eimeria</i> spp.	11
2.1.1	Morfologia	11
2.1.2	Ciclo de Vida	12
2.1.3	Patogenia e Sinais Clínicos	13
2.1.4	Diagnóstico	13
2.2	<i>Giardia</i> spp.	14
2.2.1	Morfologia	14
2.2.2	Ciclo de Vida	15
2.2.3	Patogenia e Sinais Clínicos	15
2.2.4	Diagnóstico	16
2.3	<i>Cryptosporidium</i> spp.	16
2.3.1	Morfologia	17
2.3.2	Ciclo de Vida	17
2.3.3	Patogenia e Sinais Clínicos	18
2.3.4	Diagnóstico	19
2.4	<i>Entamoeba</i> spp.	19
2.4.1	Morfologia	20
2.4.2	Ciclo de Vida	21
2.4.3	Patogenia e Sinais Clínicos	21
2.4.4	Diagnóstico	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Considerações Éticas	23
3.2	Local	23
3.3	Animais do Estudo	24
3.4	Coleta e Preservação da Amostra	24
3.5	Processamento das Amostras	24
3.5.1	Método de Faust	24
3.5.2	Coloração pela Fucsina Carbólica/Técnica de Kinyoun	25
4	RESULTADOS	26
5	DISCUSSÃO	28
6	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31
	ANEXO A - Fichas demográficas	38

1 INTRODUÇÃO

A superordem Xenarthra é composta pelas ordens Cingulata, cujos representantes são os tatus e Pilosa representada pelas preguiças e tamanduás. A ordem Cingulata possui uma única família com diversos gêneros e 21 espécies, onze delas ocorrendo no Brasil; a ordem Pilosa possui dezesseis espécies distribuídas em quatro famílias, sendo doze presentes no território brasileiro. As principais ameaças sobre os Xenarthra são a perda e alteração de habitats (mais relevante para preguiças e tamanduás), a caça (principalmente para tatus), atropelamentos e doenças infecciosas (ASASG, 2019; ICMBIO, 2012).

Os tamanduás são classificados na subordem Vermilingua e divididos em duas famílias: Cyclopedidae (composta por sete tamanduás do gênero *Cyclopes*) e Myrmecophagidae, que engloba o tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), o tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) e o tamanduá-do-norte (*Tamandua mexicana*) (ASASG, 2019; FRANCISCO; TEIXEIRA, 2018; ICMBIO, 2012; RODRIGUES et al., 2008). Da família Myrmecophagidae apenas o tamanduá-do-norte não ocorre no Brasil (ICMBIO, 2012). O tamanduá-bandeira e o tamanduá-mirim podem habitar tanto áreas de savana (cerrado) como florestas, sendo a extensão de sua área de vida afetada por fatores como temperatura e disponibilidade de recursos (BRAGA, 2010; RODRIGUES et al., 2008).

De acordo com o Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMBIO e MMA, 2018), o tamanduá-mirim é classificado como menos preocupante – LC, ou seja, não é uma espécie ameaçada. Já o tamanduá-bandeira é considerado vulnerável – VU, pelo o critério A2c (redução da população observada, estimada, inferida ou suspeitada de ter ocorrida no passado, baseado no declínio da área de ocupação, extensão de ocorrência e/ou qualidade do habitat, sendo que as causas da redução podem não ter cessado ou não ser compreendidas ou não ser reversíveis).

Os animais selvagens são hospedeiros de uma variedade de parasitos, que podem agir como oportunistas ou agentes primários. As espécies mais patogênicas podem representar uma ameaça para os programas de manejo e recuperação de populações animais, especialmente para as espécies ameaçadas. Neste sentido, as infecções parasitárias são uma das principais doenças que acometem os animais silvestres em cativeiro (SANTOS et al., 2015).

As parasitoses intestinais mais frequentes em tamanduás são causadas por protozoários, especialmente coccídios, *Giardia* e amebas (CUBAS et al., 2014). Apesar disso,

há poucos artigos relatando a presença de protozoários intestinais em tamanduás e os existentes são dos gêneros *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Isospora*, *Entamoeba*, *Acanthamoeba* e *Giardia* (PÉREZ et al., 2015; ROJANO et al., 2015; MARINHO; VALDES, 2012; MARQUES; LUDWIG, 2011; SOLARCZYK; MAJEWSKA, 2011; SANTOS, 2011; SILVA, 2008; COKE et al., 2002; DINIZ et al., 1995; FREITAS et al., 2006; GARDNER et al., 1991; LAINSON, 1968; LAINSON; SHAW, 1990; LAINSON; SHAW, 1991). O contato direto desses animais com o solo é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de diversas enfermidades, principalmente de origem parasitária (FREITAS et al., 2006).

A detecção da presença de protozoários intestinais na fauna silvestre é importante por dois principais motivos. Primeiramente, esses parasitos afetam a capacidade de sobrevivência dos animais selvagens (podendo ser inclusive a causa primária da morte), tornando-se um fator importante a ser considerado nas tentativas de conservação da fauna silvestre livre e em cativeiro. Em segundo lugar, animais silvestres são reservatórios de protozoários com potencial zoonótico, de maneira que podem oferecer risco à saúde humana. Assim, é essencial a realização de mais estudos sobre protozoários intestinais em diferentes espécies de animais silvestres, incluindo o tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Determinar a presença de parasitos intestinais em *M. tridactyla* (tamanduá-bandeira).

1.1.2 Objetivos Específicos

Identificar quais os gêneros de protozoários presentes;

Determinar o grau de positividade dos indivíduos;

Associar a positividade a variáveis epidemiológicas (sexo, idade, procedência).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Eimeria* spp.

A *Eimeria* é protozoário monoxeno da classe Coccidia que afeta o trato gastrointestinal de mamíferos e aves domésticos (TAYLOR et al., 2016; PARA-SITE, 2010). A doença causada por protozoários do gênero é frequentemente denominada de coccidiose (CARDOSO et al., 2017). Esse é o maior gênero da família Eimeriidae, sendo também considerado um dos mais importantes. Espécies de *Eimeria* são responsáveis por doenças de alta morbidade e, com exceção de certas espécies altamente patogênicas, a maior parte não gera doença clínica (TAYLOR et al., 2016; PARA-SITE, 2010).

Apesar da grande quantidade de espécies, a maioria possui grande especificidade em relação ao hospedeiro, ou seja, são parasitos estenoxenos (CARDOSO et al., 2017). Além disso, esses protozoários possuem alto tropismo tecidual, geralmente afetando os intestinos delgado e grosso, embora também possam atingir fígado, vesícula biliar e rins (PARA-SITE, 2010).

Atualmente, na família Myrmecophagidae são descritas quatro espécies de *Eimeria*: *E. escomeli*, *E. tamanduae*, *E. corticulata* e *E. marajoensis* (DINIZ et al., 1995; FREITAS et al., 2006; GARDNER et al., 1991; LAINSON, 1968; LAINSON; SHAW, 1990; LAINSON; SHAW, 1991).

Devido ao caráter não zoonótico, a infecção de animais silvestres por *Eimeria* sp. não apresenta risco à saúde humana (BARBOSA et al., 2011).

2.1.1 Morfologia

A diferenciação dos gêneros da família Eimeriidae é feita de acordo com o número de esporocistos em cada oocisto, bem como a quantidade de esporozoítas em cada esporocisto (TAYLOR et al., 2016).

O oocisto é constituído de quatro esporocistos e cada esporocisto contém dois esporozoítas (CARDOSO et al., 2017). Os oocistos possuem formato ovoide a elipsoide e possuem comprimento de 10-40 µm e largura de 10-30 µm. Os oocistos de algumas espécies possuem estruturas especializadas, como opérculos e micrópila (PARA-SITE, 2010).

Quando saem nas fezes, os oocistos não estão esporulados e necessitam de um período de desenvolvimento até que se tornem infectantes (TAYLOR et al., 2016).

O estudo morfométrico não deve ser o único parâmetro avaliado para a identificação das diferentes espécies de *Eimeria*, haja visto que o tamanho dos oocistos é variável. A morfologia dos oocistos, a espécie afetada, tempo de esporulação, também, devem ser levados em consideração (HASSUM et al., 2007).

2.1.2 Ciclo de Vida

É parasita monóxeno (ciclo de vida completo em um único hospedeiro) que possui ciclo endógeno e exógeno (CARDOSO et al., 2017). Além disso, sua reprodução envolve uma fase assexuada seguida de uma fase sexuada (TAYLOR et al., 2016).

A porção endógena do ciclo se inicia com a infecção dos animais a partir da ingestão de oocistos esporulados a partir de água e alimentos contaminados, de maneira que a transmissão é fecal-oral (PARA-SITE, 2010).

Em seguida, os oocistos e esporocistos excistam liberando os esporozoítos, que penetram nas células epiteliais do intestino. Após um período de multiplicação, forma-se uma estrutura denominada meronte (ou esquizonte) que contém vários organismos alongados conhecidos como merozoítas. Quando o meronte completa sua maturação, ocorre o rompimento da célula hospedeira e do meronte liberando os merozoítas (TAYLOR et al, 2016). Essa fase de reprodução assexuada (chamada esquizogonia ou merogonia) se repete uma quantidade fixa de vezes de acordo com a espécie de *Eimeria* (CARDOSO et al., 2017).

Após a conclusão da merogonia, os merozoítas formam os gametócitos feminino e masculino. Os macrogametócitos (feminino) permanecem unicelulares e aumentam de tamanho até que preencham a célula parasitada. Os microgametócitos se dividem repetidamente para formar organismos flagelados denominados microgametas. A partir da fecundação de um macrogametócito por um microgameta ocorre a formação do zigoto (ou oocisto). Essa é a fase sexuada da reprodução da *Eimeria* (TAYLOR et al, 2016).

Por fim, ocorre a porção exógena do ciclo, que envolve a saída do oocisto não esporulado nas fezes do hospedeiro e sua transformação em um organismo infectante. O processo de esporulação ocorre entre dois e quinze dias e depende de fatores climáticos (CARDOSO et al., 2017).

2.1.3 Patogenia e Sinais Clínicos

As eimerias em geral são pouco patogênicas e dificilmente levam ao aparecimento de algum sintoma. Contudo, algumas espécies são altamente patogênicas, podendo levar a sintomas mais severos, especialmente em animais jovens (PARA-SITE, 2010).

As espécies mais patogênicas são aquelas que afetam as células da cripta da mucosa do intestino grosso, prejudicando a taxa de renovação celular e absorção de água e nutrientes (TAYLOR et al., 2016).

Os sinais clínicos mais severos incluem anorexia e perda de peso, diarreia profusa, normalmente sanguinolenta, desidratação e morte (LIMA, 2004). Esses sintomas são causados devido a destruição da mucosa intestinal pela lise das células epiteliais (PARA-SITE, 2010).

A sintomatologia clínica costuma se manifestar em consequência do dano tecidual cumulativo resultado de sucessivas merogonias (normalmente duas ou três são suficientes) (PARA-SITE, 2010).

As lesões causadas pela coccidiose podem levar a alterações irreversíveis na mucosa intestinal, resultando em problemas digestivos, de absorção de nutrientes e de crescimento (LIMA, 2004).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico é feito a partir da anamnese, sintomatologia clínica, achados *post-mortem* e exame coproparasitológico (TAYLOR et al., 2016; PARA-SITE, 2010; LIMA, 2004).

Os achados de necrópsia incluem inflamação, hiperemia e espessamento da mucosa intestinal. Uma biópsia ou raspado desse local pode apresentar massas de gamontes e oocistos (TAYLOR et al., 2016).

Para a visualização de oocistos no exame de fezes devem ser usadas técnicas de flutuação, como o método de Faust. Não é preciso utilizar um método de coloração e os oocistos podem ser observados em microscopia de luz. Caso as fezes estejam frescas, os

oocistos não estarão esporulados, tornando-se necessário o armazenamento da amostra em dicromato de potássio para facilitar a esporulação (PARA-SITE, 2010).

2.2 *Giardia* spp.

A *Giardia* spp. faz parte da família Diplomonadidae sendo um dos principais gêneros de interesse veterinário dessa família (TAYLOR et al, 2016). Foram descritas dezenas de espécies de *Giardia*, mas a maioria é morfologicamente indistinguível (PARA-SITE, 2010).

A *Giardia duodenalis* (também denominada *G. intestinalis* ou *G. lamblia*) é protozoário causador de diarreia em mamíferos, aves e répteis, incluindo seres humanos (DUNN; JUERGENS, 2019; PARA-SITE, 2010).

A presença de *Giardia* spp. foi relatada em tamanduás primeiramente em estudo realizado por Diniz et al. (1995). Posteriormente, Solarczyk e Majewska (2011) caracterizaram um isolado de tamanduá-mirim como *G. duodenalis* assemblage B. Além disso, Santos (2011) também observou *Giardia* spp. em tamanduá-mirim e Rojano et al. (2015), em tamanduás-bandeira.

O parasito possui caráter zoonótico, de maneira que animais domésticos e silvestres podem atuar como reservatórios e transmissores desse protozoário para humanos (BARBOSA et al., 2011).

2.2.1 Morfologia

A *Giardia duodenalis* tem dois estágios de desenvolvimento: trofozoítos e cistos (PARA-SITE, 2010).

Os trofozoítos são caracterizados por sua forma piriforme a elipsoide bilateralmente simétrica e presença de flagelos (oito no total, seis deles emergindo como flagelos livres). O corpo mede aproximadamente 12–15 µm de comprimento por 5-9 µm de largura. O lado dorsal é convexo e a região ventral possui um disco adesivo responsável pela fixação da *Giardia* no intestino do animal. Além dessas estruturas, o trofozoíto possui dois núcleos anteriores, dois axóstilos e dois corpúsculos medianos curvos (TAYLOR et al., 2016).

Os cistos são ovoides a elipsoides e medem 8-12 μm de comprimento por 7-10 μm de largura. Além disso, são envolvidos por uma membrana e possuem quatro núcleos, axonemas e corpos medianos (PARA-SITE, 2010).

2.2.2 Ciclo de Vida

O ciclo de vida da *Giardia* é simples e monóxeno (BERRILLI et al., 2011). A transmissão ocorre por meio da ingestão de cistos pela via fecal-oral, de maneira que o excistamento (liberação dos trofozoítas) aconteça durante a passagem pelo sistema digestório. Os estímulos para que ocorra o excistamento incluem uma série de condições pós-gástricas (como a presença de sais biliares e enzimas) (PARA-SITE, 2010).

Os trofozoítas são a forma ativa no hospedeiro e os responsáveis pelas lesões no intestino e aparecimento de sinais clínicos. Eles se aderem ao epitélio intestinal por meio do disco adesivo, impedindo sua excreção. Por fim, alguns transformam-se em cistos, que são arrastados juntamente com as fezes, reiniciando o ciclo (DUNN; JUERGENS, 2019; CAVALINI; ZAPPA, 2011).

2.2.3 Patogenia e Sinais Clínicos

As infecções por *Giardia* raramente são graves, podendo inclusive ser assintomáticas (CAVALINI; ZAPPA, 2011). Além disso, infecções clínicas costumam ser auto-limitantes (PARA-SITE, 2010).

A adesão dos parasitos pode cobrir grande parte da mucosa intestinal, reduzindo a área disponível para absorção de nutrientes. O dano às células epiteliais também aumenta a taxa de turnover das células epiteliais, o que eventualmente leva a atrofia das vilosidades, diminuindo ainda mais a taxa de absorção (PARA-SITE, 2010).

Alguns indivíduos apresentam diminuição da motilidade gastrointestinal. Além disso, o parasito libera lectinas e proteinases tiol que possuem efeito citopático, resultando no aumento da permeabilidade e redução da habilidade de digerir sacarídeos (DUNN; JUERGENS, 2019).

O sintoma mais característico é a diarreia crônica (contínua ou intermitente), aquosa a pastosa e, por vezes, esteatorreica. Outros sintomas incluem perda de peso, retardo no desenvolvimento, borborismo, dor abdominal, flatulências e náuseas. Casos mais graves podem levar a desidratação, letargia e anorexia (DUNN; JUERGENS, 2019; TAYLOR et al., 2016; CAVALINI; ZAPPA, 2011).

2.2.4 Diagnóstico

Para diagnóstico de giardíase pode ser realizado exame de fezes ao microscópio, utilizando-se tanto análise direta (esfregaço em salina) quanto por métodos de sedimentação e flutuação (flotação por sulfato de zinco e concentração fecal por acetato de etilformalina, por exemplo) (CAVALINI; ZAPPA, 2011; DUNN; JUERGENS, 2019; PARA-SITE, 2010; TAYLOR et al., 2016). Nesse exame podem ser observados ambos os cistos e trofozoítas de *Giardia* nas objetivas de 10x e 40x (CAVALINI; ZAPPA, 2011). Como a excreção de protozoários ocorre de maneira intermitente, recomenda-se coletar três amostras fecais em dias diferentes para aumentar a sensibilidade do teste (DUNN; JUERGENS, 2019; TAYLOR et al., 2016).

A biópsia intestinal não costuma ser utilizada em casos de suspeita de giardíase (DUNN; JUERGENS, 2019). Contudo, se realizado, um exame histopatológico poderá revelar atrofia de vilosidades, hipertrofia da cripta, número aumentado de linfócitos intra-epiteliais e presença de trofozoítas (TAYLOR et al., 2016).

Atualmente estão disponíveis técnicas imunológicas mais sensíveis e específicas para detecção de antígenos em preparações fecais (PARA-SITE, 2010). Apesar disso, ainda se recomenda utilizar o exame de fezes juntamente com esses métodos, visto que o diagnóstico diferencial de *Giardia* incluem outros parasitos (DUNN; JUERGENS, 2019).

2.3 *Cryptosporidium* spp.

O gênero *Cryptosporidium* são gregarinas de ciclo monóxeno que afetam diferentes espécies de mamíferos, aves, répteis e peixes. São organismos intracelulares

extracitoplasmáticos, pois formam vacúolos parasitóforos na borda apical de células epiteliais (RYAN et al., 2016; PARA-SITE, 2010; PEREIRA et al., 2009).

A maioria das espécies afeta o intestino delgado (principalmente em mamíferos), mas algumas atingem o estômago (répteis) ou o trato respiratório (aves) (PARA-SITE, 2010).

Esse é único gênero da nova subclasse Cryptogegrarria, e existem mais de 20 espécies e aproximadamente 40 genótipos (TAYLOR et al., 2016; PEREIRA et al., 2009). Estudos recentes identificaram uma série de genótipos com especificidade variável para mamíferos, com algumas espécies sendo altamente específicas (*C. hominis*, por exemplo) e outras sendo encontradas em uma série de hospedeiros (como *C. parvum*) (RYAN, et al. 2016; PARA-SITE, 2010).

No Brasil, a criptosporidíase foi relatada por Silva et al. (2008) e por Santos (2011) em tamanduás-mirim, e por Marques e Ludwig (2011) e Pérez et al. (2015) em tamanduás-bandeira.

Assim como a giardíase, a infecção por *Cryptosporidium* é zoonose na qual os animais silvestres podem ser reservatórios e apresentar risco para a saúde humana (BARBOSA et al., 2011).

2.3.1 Morfologia

O gênero *Cryptosporidium* possui três estágios de desenvolvimento: merontes, gamontes e oocistos (PARA-SITE, 2010).

Os oocistos possuem formato ovoide ou esférico, parede lisa e dupla e medem de 3,0 a 8,5 μm de diâmetro. Em seu interior contém quatro esporozoítos e um corpo residual, mas não possuem esporocistos. A maioria dos oocistos possuem parede espessa (80%) e o resto possui parede delgada, sendo estes responsáveis pela autoinfecção do hospedeiro (PEREIRA et al., 2009). Os oocistos liberados já são infectantes, pois a esporulação ocorre dentro do hospedeiro (TAYLOR et al., 2016).

2.3.2 Ciclo de Vida

O ciclo de vida do *Cryptosporidium* é similar ao de coccídios (como a *Eimeria*) (TAYLOR et al., 2016).

A transmissão ocorre via fecal-oral, a partir da ingestão de oocistos infectantes contidos em água, alimentos e fômites contaminados (PARA-SITE, 2010; PEREIRA et al., 2009).

No intestino delgado ocorre o desencistamento, liberando os esporozoítos, que invadem as células da mucosa intestinal e formam os vacúolos parasitóforos. Os esporozoítos transformam-se em trofozoítos, que por divisão múltipla formam o meronte (PEREIRA et al., 2009). Cada meronte possui quatro a oito merozoítas em seu interior. Com o rompimento do meronte (e da membrana do enterócito), os merozoítas são liberados (OLIVEIRA et al., 2012). Os merozoítas de tipo I são os responsáveis por infectar outras células, continuando a esquizogonia (reprodução assexuada) (PEREIRA et al., 2009).

Após uma ou duas gerações de merontes inicia-se a gametogonia (reprodução sexuada) (TAYLOR et al., 2016). Os merozoítas de tipo II diferenciam-se em micro e macrogametócitos, sendo este fecundado e forma-se o zigoto (PEREIRA et al., 2009). Os zigotos se diferenciam em oocistos, sendo alguns deles (cerca de 20%) de parede fina, que se rompem ainda dentro do hospedeiro (autoinfecção interna). O restante dos oocistos possui parede espessa e são liberados já infectantes com as fezes do animal (OLIVEIRA et al., 2012).

2.3.3 Patogenia e Sinais Clínicos

A criptosporidíase pode se apresentar de diferentes maneiras dependendo do estado imunológico e exposição prévia do hospedeiro. Em indivíduos imunocompetentes, a doença pode ser assintomática. Na forma aguda, surgem sintomas como diarreia intermitente, aquosa, amarelada, fétida e profusa, náusea, vômito, dor abdominal e perda de peso. Em pacientes imunossuprimidos pode ocorrer disseminação extra-intestinal do protozoário, ocorrendo problemas respiratórios, hepatite e colecistite (TAYLOR et al., 2016; PARA-SITE, 2010; PEREIRA et al., 2009).

A diarreia observada é decorrente tanto de mecanismos de má-absorção quanto de má-digestão. A má-absorção ocorre devido a ruptura dos enterócitos durante a fase de esquizogonia, levando a atrofia, entumescimento e fusão das microvilosidades. Além disso, a

digestão de proteínas e carboidratos é comprometida, havendo, por exemplo, diminuição no nível da enzima lactase (OLIVEIRA et al., 2012; PARA-SITE, 2010).

2.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico é feito a partir do exame das fezes do animal infectado. A observação de oocistos em exames coproparasitológicos de rotina é difícil devido ao pequeno tamanho dessas estruturas (OLIVEIRA et al., 2012). Além disso, os oocistos não corados podem ser confundidos com leveduras (PARA-SITE, 2010).

Um método de pesquisa que pode ser utilizado é a flutuação em solução saturada de sacarose, sendo os oocistos observados no aumento de 400 vezes (OLIVEIRA et al., 2012). Também pode-se usar a centrífugo-sedimentação pelo formaldeído-éter modificado (DE CARLI, 2001)

Para facilitar a pesquisa dos oocistos, recomenda-se utilizar microscópio de contraste de fases ou métodos de coloração (OLIVEIRA et al., 2012). O método de escolha é a coloração de Ziehl-Neelsen, na qual os esporozoítas aparecem vermelho-brilhante (TAYLOR et al., 2016). Essa coloração é capaz de diferenciar leveduras e oocistos, pois estes são ácido resistentes e se coram bem com fucsina (PARA-SITE, 2010). Também pode ser usado o método modificado de Kinyoun (DE CARLI, 2001)

Técnicas imunológicas e moleculares, como imunofluorescência e ELISA, também podem ser utilizadas (OLIVEIRA et al., 2012). Esses métodos são essenciais para classificar as diferentes espécies de *Cryptosporidium* (TAYLOR et al., 2016).

Atualmente, pesquisadores já desenvolveram métodos mais sensíveis utilizando a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) seguida de eletroforese (PARA-SITE, 2010).

2.4 *Entamoeba* spp.

A *Entamoeba* faz parte do subfilo Sarcodina, cujos membros se caracterizam por possuírem pseudópodes utilizados para movimentação e alimentação. Além disso, seu citoplasma possui uma porção mais externa (denominada ectoplasma) e uma interna contendo vacúolos alimentares e núcleos (endoplasma) (TAYLOR et al., 2016).

Nem todas as espécies de *Entamoeba* são patogênicas, como, por exemplo, a *E. dispar*. A espécie de maior importância, tanto na veterinária quanto na medicina humana, é a *E. histolytica* (FRADE et al., 2017; CHAVES et al., 2010).

A disenteria amebiana é mais comum em primatas (humanos e não humanos), sendo mais relatada em primatas de cativeiro, e algumas vezes em cães e gatos (FRADE et al., 2017). A *Entamoeba histolytica/E. dispar* também afeta suínos, bovinos e roedores (TAYLOR et al., 2016; PARA-SITE, 2010).

A *Entamoeba* é parasito de intestino grosso, mas pode se disseminar para outros órgãos via circulação sanguínea, principalmente fígado, pulmões e cérebro (CHAVES et al., 2010; PARA-SITE, 2010)

Em um estudo de Diniz et al. (1995) sobre desordens clínicas em tamanduás de cativeiro foi detectada a presença de *Entamoeba* spp. em animais da família Myrmecophagidae. Posteriormente, esse protozoário foi relatado em tamanduás-bandeira por Coke et al. (2002), Marinho e Valdes (2012) e Rojano et al. (2015).

O potencial zoonótico da amebíase é questionável, visto que animais de companhia (cães e gatos) não eliminam a forma infectante da *Entamoeba histolytica/E. dispar* pelas fezes (FRADE et al., 2017).

2.4.1 Morfologia

O gênero *Entamoeba* é caracterizado por possuir quatro estágios de desenvolvimento: trofozoíto, metacisto, pré cisto (fase intermediária) e cisto (CHAVES et al., 2010).

A *Entamoeba histolytica* possui duas formas de trofozoítos, sendo uma forma grande (20-30 µm de diâmetro) e uma pequena (12-15 µm), sendo que a pequena pode ser considerada como uma espécie separada (*E. dispar*). O núcleo é vesicular e, quando corado, é possível visualizar um endostômio central com um anel de pequenos grânulos periféricos. As fibrilas acromáticas radiais conferem ao núcleo uma aparência de “roda de carroça” (TAYLOR et al, 2016; PARA-SITE, 2010).

Os cistos são esféricos, de 10-15 μm de diâmetro e contém quatro núcleos que possuem corpúsculos de cromatina em forma de bastão (TAYLOR et al, 2016; PARA-SITE, 2010).

2.4.2 Ciclo de Vida

O ciclo de vida da *Entamoeba* é simples e monóxeno (CHAVES et al., 2010) e a transmissão ocorre via fecal-oral pela ingestão de cistos maduros, normalmente por água ou alimentos contaminados (MATHEW; HORRALL, 2019).

O excistamento ocorre no intestino delgado, sendo que há divisão do núcleo e do citoplasma e liberação de oito amebas a cada cisto. Os trofozoítos liberados migram para o intestino grosso, onde se multiplicam por fissão binária. Alguns dos trofozoítos produzidos encistam ambos os estágios são eliminados nas fezes (MATHEW; HORRALL, 2019; TAYLOR et al., 2016).

2.3.3 Patogenia e Sinais Clínicos

A amebíase pode se manifestar na forma intestinal e extra-intestinal, sendo esta mais rara (CHAVES et al., 2010).

Na forma intestinal, a doença comumente se apresenta de maneira assintomática. Quando aparecem, os sintomas variam de dores abdominais moderadas, diarreia aquosa, evacuações frequentes e febre, a diarreia mucohemorrágica e colite severa (MATHEW; HORRALL, 2019; CHAVES et al., 2010).

Os sintomas são decorrentes da ação proteolítica de enzimas secretadas pelos trofozoítas que produzem úlceras em forma de frasco na mucosa do intestino grosso. Ocasionalmente, a erosão da parede permite que haja migração amebiana através da corrente sanguínea, resultando na forma extra-intestinal da doença (TAYLOR et al., 2016).

Dentre as formas extra-intestinais a mais comum é a formação de abscessos hepáticos, que raramente podem se romper na cavidade pleural ou pericárdio. Apesar de ser ainda mais

incomum, também é possível que coração, cérebro, rins, baço e pele sejam afetados (MATHEW; HORRALL, 2019).

2.4.4 Diagnóstico

O diagnóstico é feito, principalmente, a partir do exame coproparasitológico e de testes de imunodiagnóstico (MATHEW; HORRALL, 2019; CHAVES et al., 2010).

O exame parasitológico de fezes é simples e barato. A principal estrutura visualizada são os cistos, mas também é possível encontrar trofozoítas. Os métodos de coproscopia mais utilizados são o exame direto com lugol, Hoffman, Faust e hematoxilina férrica (sendo esta utilizada também na coloração histopatológica do fígado). Nesse exame é impossível diferenciar a *Entamoeba histolytica* da *E. dispar* (CHAVES et al, 2010).

A pesquisa de antígenos em amostras fecais também pode ser utilizada. Esse teste apresenta alta sensibilidade e especificidade, mas também um alto custo (CHAVES et al, 2010).

Exames sorológicos para detecção de anticorpos, como ELISA, aglutinação no látex, fixação do complemento e hemaglutinação indireta, são bastante sensíveis e capazes de diferenciar entre as espécies de *E. histolytica* e *E. dispar*. Contudo, os anticorpos circulantes são persistentes, de maneira que não é possível diferenciar infecções recentes de antigas (TAYLOR et al., 2016; CHAVES et al, 2010).

Embora menos utilizada, a PCR parece ser um método sensível e específico, capaz de diferenciar entre as espécies de *Entamoeba* (TAYLOR et al., 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações Éticas

O projeto foi aprovado pelo SISBIO (número de documento 66093/1) e pela Comissão de Ética na Utilização de Animais – CEUA (protocolo 096/18).

3.2 Local

Os animais utilizados foram provenientes do Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia – MG, Brasil. O Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU atende animais silvestres trazidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e pela Polícia Militar Ambiental e pets exóticos.

Ao chegarem no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU, os pets exóticos são encaminhados ao ambulatório onde recebem atendimento médico veterinário. Após o exame físico, em caso de necessidade é realizada a prescrição da medicação e em seguida, devolvidos aos domicílios. Em relação aos animais apreendidos pelo IBAMA e Polícia Militar Ambiental, os hígidos são mantidos em quarentena e em seguida encaminhados ao recinto existente no laboratório. Nesse local, os animais permanecem até o retorno do IBAMA, o qual promove a soltura em áreas de reserva florestal na cidade de Uberlândia e região, ou são encaminhados para outras instituições para permanecer em cativeiro. Os doentes recebem tratamento adequado, permanecendo no ambulatório tempo necessário para recuperação total ou parcial.

A espécie *Myrmecophaga tridactyla* é típica do Cerrado e há relatos na região do município de Uberlândia. Assim, há um fluxo razoável de tamanduás resgatados no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU, de forma que eles ficam alojados o tempo necessário para realização do tratamento e soltos na natureza sempre que considerados aptos a sobreviver.

3.3 Animais do Estudo

Para o estudo foram incluídos os indivíduos das espécies *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira) atendidos no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU entre janeiro e setembro de 2019.

Foram elaboradas fichas demográficas com informações sobre os animais, como sexo, idade e procedência (Anexo A).

3.4 Coleta e Preservação da Amostra

As amostras foram colhidas da porção superior do bolo fecal (que não estava em contato com o solo), na quantidade desejada de 3g de fezes sólidas, ou 10 mL de fezes diarreicas. As fezes foram acondicionadas em potes coletores previamente identificados e transportadas ao Laboratório de Protozoologia (LAPRO), Departamento de Parasitologia (DEPAR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). No laboratório as mesmas foram colocadas sob refrigeração, até o momento de serem processadas, tempo esse que não ultrapassou a 24 horas para o método de Faust (1938). Em seguida, as fezes foram conservadas em formol 10% sob refrigeração até a realização do método de Kinyoun (1983).

3.5 Processamento das Amostras

3.5.1 Método de Faust

O método de Faust et al (1938) modificado consiste na centrífugo-flutuação em sulfato de zinco a uma densidade de 33%, com densidade de 1,18 g/ml. Após diluídas em água destilada, as fezes são homogeneizadas e filtradas. Em seguida, a mistura é transferida para tubo cônico e centrifugada a 2500 rpm por 60 segundos. O sobrenadante é desprezado e o sedimento ressuspenso em água destilada e novamente centrifugado. Esse processo é repetido até que o sobrenadante fique claro, sendo o conteúdo ressuspenso em solução de sulfato de zinco a 33%, com densidade de 1,18 g/ml. Essa nova mistura é centrifugada (2500 rpm por 1 minuto) e, ao final do processo, as estruturas leves (alguns cistos e ovos) estão na película superficial. O material foi examinado em microscopia óptica, objetiva de 40X.

3.5.2 Coloração pela Fucsina-Carbólica/Técnica de Kinyoun

A técnica de Kinyoun (1983) modificada é um método de coloração que facilita a visualização de oocistos de algumas espécies de protozoários intestinais, como *Cryptosporidium*, *Cyclospora* e *Isospora*. Primeiramente, as fezes (previamente acondicionadas em formol 10%) foram sedimentadas pelo método do formol-éter modificado. O esfregaço é elaborado a partir de pequena quantidade de sedimento sobre uma lâmina, com auxílio de um “swab”, deixando-se a amostra secar a temperatura ambiente. Após secagem, fixa-se com metanol. Em seguida, a lâmina é corada com fucsina carbólica (ou fenicada) por 15 minutos, descorada com ácido sulfúrico 10% por três minutos e contracorada com verde-malaquita por dois minutos. O material foi examinado em microscopia convencional em objetiva de 100X.

4 RESULTADOS

Ao todo, foram coletadas fezes de cinco tamanduás-bandeira. Os dados demográficos e o número de amostras coletadas por animal estão dispostos na Tabela 1.

Não foi possível saber a idade exata dos tamanduás, apenas a faixa etária aproximada. Para este projeto, os animais foram divididos em filhotes e adultos. São considerados filhotes aqueles que ainda não atingiram a maturidade sexual, que seria menos de dois anos e meio para tamanduás-bandeira (*M. tridactyla*) (ASP, 2019).

No momento em que se iniciou as coletas (janeiro de 2019), não havia nenhum tamanduá alojado no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU. Dentre os indivíduos que foram recebidos posteriormente, apenas o animal 2 pode ser considerado de cativeiro, pois foi capturado e criado ilegalmente fora da natureza.

Tabela 1 - Identificação, dados demográficos e número de amostras coletadas por tamanduá

Animal	Sexo	Faixa Etária	Procedência	Número de Amostras
1	Macho	Adulto	Vida livre	1
2	Fêmea	Filhote	Cativeiro	3
3	Fêmea	Filhote	Vida livre	3
4	Fêmea	Adulta	Vida livre	1
5	Fêmea	Filhote	Vida livre	1

Todas as nove amostras foram processadas dentro de 24 horas pelo o método de Faust modificado e posteriormente pela técnica de Kinyoun modificada para pesquisa de protozoários. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 2.

O único animal positivo para protozoários pelo método de Faust foi o animal 4, no qual foi observado um único oocisto da subfamília Coccidia (Figura 1), porém a espécie não foi identificada devido a não realização de esporulação. Pela técnica de Kinyoun foi possível verificar a presença de *Cryptosporidium* (Figura 2) na terceira amostra do animal 3.

Apesar de não ser o foco deste estudo, também foram identificados ovos de diferentes famílias de nematódeos em três tamanduás. No animal 1, observou-se grande quantidade de

ovos de Trichuridae, Strongiloididae, Ancylostomatidae e Ascarididae. O tamanduá 4 também apresentou ovos de Strongiloididae, Ancylostomatidae, Ascarididae. No animal 3 foi identificada uma única larva de Ancylostomatidae na segunda amostra.

Tabela 2 – Protozoários e helmintos observados nas fezes dos tamanduás coletadas no Ambulatório de Animais Selvagens HV-UFU no período de janeiro a setembro de 2019

Animal	Protozoários	Helmintos
1	Nenhum	Strongiloididae, Ancylostomatidae, Ascarididae, Trichuridae
2	Nenhum	Nenhum
3	<i>Cryptosporidium</i>	Ancylostomatidae (larva)
4	Coccidia	Strongiloididae, Ancylostomatidae, Ascarididae
5	Nenhum	Nenhum

Figura 1 – Oocisto de coccídio encontrado no animal 4



Figura 2 – Oocisto de *Cryptosporidium* encontrado no animal 3



5 DISCUSSÃO

A presença de coccídios em tamanduás foi relatada em diversos trabalhos, especialmente o gênero *Eimeria* (DINIZ et al., 1995; FREITAS et al., 2006; GARDNER et al., 1991; LAINSON, 1968; LAINSON; SHAW, 1990; LAINSON; SHAW, 1991). Além disso, Rojano et al. (2015) observaram oocistos de *Isospora* sp. em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), bem como outros coccídios que não foram identificados. Nesse estudo a presença de coccidio foi observada, apesar do gênero não ter sido identificado.

A ocorrência de *Cryptosporidium* foi observado em um unico indivíduo, apesar de Santos (2011) comentar que esse protozoário é de elevada prevalência em vários animais silvestres, dentre eles os tamanduás, principalmente populações *in situ*, isto é, espécimes amostrados na natureza. Apesar disso, poucos trabalhos relatam a presença de *Cryptosporidium* em tamanduás-mirim (*Tamandua tetradactyla*) (SANTOS, 2011; SILVA, 2008) e tamanduás-bandeira (*M. tridactyla*) (MARQUES; LUDWIG, 2011; PÉREZ et al., 2015). Nenhum desses estudos descreve a espécie, de forma que não se sabe se os tamanduás são afetados por *Cryptosporidium* de alta ou baixa especificidade de hospedeiro ou ambas.

Apesar de terem sido encontrados em tamanduás, não foram observados *Giardia* e *Entamoeba* nas amostras. Contudo, ressalta-se que coletou-se apenas uma amostra de alguns animais, devido a sua reintegração na natureza após a captura e exames clínicos. Dessa forma os resultados podem ter sido influenciados, visto que a excreção destes protozoários e outros parasitos ocorre de maneira intermitente (DUNN; JUERGENS, 2019; TAYLOR et al., 2016).

Todos os helmintos encontrados neste estudo já foram observados na família Myrmecophagidae. Em tamanduás-bandeira (*M. tridactyla*), há relatos de *Strongyloides* spp. (DINIZ et al., 1995; MARINHO; VALDES, 2012), *Ancylostoma* spp. (MARINHO; VALDES, 2012), *Ascaris* spp. (ROJANO et al., 2015; ROJANO-BOLAÑO et al., 2014) e *Trichuris* spp. (DINIZ et al., 1995).

De acordo com o Cubas et al. (2014), os protozoários mais frequentes em Myrmecophagidae são coccídios, *Giardia*, amebas; e dentre os nematódeos citam-se *Trichuris*, *Strongyloides*, *Ascaris*, *Schistosoma* e *Ancylostoma*. Os achados deste estudo corroboram com essa informação e estão de acordo com artigos que relatam presença de parasitos intestinais em tamanduás.

Não foi possível realizar testes estatísticos para relacionar a positividade dos animais à variáveis epidemiológicas como idade, sexo e procedência do animal. Isso se deve primeiramente ao pequeno número de animais amostrados (cinco). Além disso, os estratos da população (faixa etária, sexo e procedência) não estavam bem representados: dos cinco tamanduás, apenas um era macho, e apenas um de cativeiro.

Este trabalho buscou colaborar com a pesquisa de protozoários (e outros parasitos) na família Myrmecophagidae, algo muito importante ao se considerar a escassez de estudos sobre esse assunto. Contudo, é perceptível a necessidade de um projeto mais amplo, abrangendo maior número e variedade de espécies. Sugere-se realizar a coleta de fezes *in-situ* e em outras instituições com animais em cativeiro, de maneira a obter uma amostra maior e representativa.

6 CONCLUSÃO

- Foram observados coccídeo e *Cryptosporidium* e nematódeos nas amostras fecais de tamanduás;
- Não foram encontrados *Giardia* e *Entamoeba*;
- O baixo número amostral comprometeu a avaliação das variáveis epidemiológicas, não podendo se fazer associações entre positividade e idade, sexo ou procedência.

REFERÊNCIAS

AQUÁRIO DE SÃO PAULO (ASP). **Tamanduás – Reprodução**. Departamento de Escolas do Aquário de São Paulo, 2019. Disponível em: (<http://aquariodesp.com.br/tamandua/reproducao>). Acesso em: 25 ago. 2019.

BARBOSA, A. D.; MARTINS, N. R. S.; MAGALHÃES, D. F. Zoonoses e saúde pública: riscos da proximidade humana com a fauna silvestre. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 14, fascículo 1-2-3, p.1-9, 2011.

BERRILLI, F.; PRISCO, C.; FRIEDRICH, K. G; DI CERBO, P.; DI CAVE, D.; DE LIBERATO, C. *Giardia duodenalis* assemblages and *Entamoeba* species infecting non-human primates in na Italian zoological garden: zoonotic potential and management traits. **Parasites & Vectors**, v. 4, artigo 199, out. 2011. Disponível em: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3214166/>). Acesso em: 14 abr. 2019.

BRAGA. F.G. **Ecologia e comportamento de tamanduá-bandeira *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 no município de Jaguariaíva, Paraná**. 2010. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

CARDOSO, E.; MORENO, M. I. C.; BRUNA, E. M.; VASCONCELOS, H. L. Mudanças fitofisionômicas no Cerrado: 18 anos de sucessão ecológica na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia – MG. **Revista Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 10, n. 32, p. 254-268, dez. 2009.

CARDOSO, I. F.; MARQUES, L. S. J.; ALVES, M. C. D.; SAKAMOTO, C. A. M. Biologia e epidemiologia da eimeriose em ruminantes. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Maringá, v. 4, edição suplementar 2 – IX JAV, out 2017. Disponível em (<http://ojs.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/article/view/39790/pdf>). Acesso em: 15 set. 2018.

CAVALINI, P. P.; ZAPPA, V. Giardíase Felina – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano IX, n. 16, jan. 2011. Disponível em: (http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/SQPBNAqBpoH7XPY_2013-6-26-11-8-48.pdf). Acesso em: 15 set. 2018.

CHAVES, A. C. P.; SEIXAS FILHO, J. T.; DANTAS, M. M. L. Revisão do mecanismo fisiopatológico da amebíase. **Revista Augustus**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 29, p. 74-87, fev. 2010. Disponível em: (http://apl.unisuam.edu.br/augustus/pdf/ed29/rev_augustus_ed29_07.pdf). Acesso em: 15 set. 2018.

COKE, R. L.; CARPENTER, J. W.; ABOELLAIL, T.; ARMBRUST, L.; ISAZA, R. Dilated cardiomyopathy and amebic gastritis in a giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 3, p. 272-279, 2002. Disponível em: ([https://bioone.org/journals/Journal-of-Zoo-and-Wildlife-Medicine/volume-33/issue-3/1042-7260\(2002\)033\[0272:DCAAGI\]2.0.CO;2/DILATED-CARDIOMYOPATHY-AND-AMEBIC-GASTRITIS-IN-A-GIANT-ANTEATER-span/10.1638/1042-7260\(2002\)033\[0272:DCAAGI\]2.0.CO;2.short](https://bioone.org/journals/Journal-of-Zoo-and-Wildlife-Medicine/volume-33/issue-3/1042-7260(2002)033[0272:DCAAGI]2.0.CO;2/DILATED-CARDIOMYOPATHY-AND-AMEBIC-GASTRITIS-IN-A-GIANT-ANTEATER-span/10.1638/1042-7260(2002)033[0272:DCAAGI]2.0.CO;2.short)). Acesso em: 06 nov. 2019.

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

DE CARLI, G. A. **Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 120 p., il.

DINIZ, L. S.; COSTA, E. O.; OLIVEIRA, P. M. Clinical disorders observed in anteaters (*Myrmecophagidae*, *Edentata*) in captivity. **Veterinary Research Communications**, Amsterdã, v. 19, n. 5, p. 409-415, 1995. Disponível em: (<https://link.springer.com/article/10.1007%2F01839320>). Acesso em: 06 nov. 2019.

DUNN, N.; JUERGENS, A. L. Giardiasis. **StatPearls**. 2019. Disponível em: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513239/>). Acesso em: 16 abr. 2019.

FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S.; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J.; WALKER, J. H. A Critical Study of Clinical Laboratory Technics for the Diagnosis of Protozoan Cysts and Helminth Eggs in Feces. I. Preliminary Communication. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, v. s1-18, n. 2, p. 169-183, 1938. Disponível em: (<http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.1938.s1-18.169>). Acesso em: 15 nov. 2019.

FAYER, R.; UNGAR, B. L. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiology Reviews**, Washington DC, v. 50, n. 4, p. 458-483, 1986. Disponível em: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373083/?page=16>). Acesso em: 15 nov. 2019.

FRADE, M. T. S.; NASCIMENTO, E. M.; OLINDA, R. G.; SILVA, R. A. F.; OLIVEIRA, F. M. S.; CALIARI, M. V.; DANTAS, A. F. M. Colite necrohemorrágica causada por *Entamoeba histolytica* em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 45, supl. 1, 2017. Disponível em: (http://www.ufrgs.br/actavet/45-suple-1/CR_203.pdf). Acesso em: 16 set. 2018.

FRANCISCO, A. R.; TEIXEIRA, P. S. S. Biologia e manejo nutricional de tamanduás das espécies *Myrmecophaga tridactyla* e *Tamandua tetradactyla* mantidos em cativeiro: Revisão. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Maringá, v. 5, n. 1, 2018/1. Disponível em: (<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/article/view/37690>). Acesso em: 14 set. 2018.

FREITAS, F. L. C.; ALMEIDA, K. S.; ZANETTI, A. S.; NASCIMENTO, A. A.; MACHADO, C. R.; MACHADO, R. Z. Espécies do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758) em cativeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 15, n. 1, p. 29-32, 2006. Disponível em: (<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/68707/2-s2.0-33750945654.pdf?sequence=1&isAllowed=y>). Acesso em: 06 nov. 2019.

GARDNER, S. L.; UPTON, S. J.; LAMBERT, C. R.; JORDÁN, O. C. Redescription of *Eimeria escomeli* (Rastegaieff, 1930) from *Myrmecophaga tridactyla*, and a First Report from Bolivia. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, Washington, v. 58, n. 1, p. 16-18, 1991. Disponível em: (https://pdfs.semanticscholar.org/f8e3/e6918f3de268ae35c185831d1f5b99eeb152.pdf?_ga=2.228585693.1390887745.1572985213-1951452804.1572985213). Acesso em: 06 nov. 2019.

GRUPO DE ESPECIALISTAS EM TAMANDUÁS, PREGUIÇAS E TATUS (ASASG). União Internacional para a Conservação da Natureza, Comissão de Sobrevivência de Espécies (IUCN/SSC). Presidido por Mariella Superina. 2019. Disponível em: (<https://www.xenarthrans.org/pt/inicio-2/>). Acesso em: 14 dez. 2019.

HASSUM, I. C.; VALLADARES, G. S.; DE MENEZES, R. C. A. A. Diferenciação das espécies de *Eimeria* parasitas de ovinos pelo uso da regressão linear e algoritmos morfológicos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 97-104, 2007.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBIO). **Mamíferos – Cingulata e Pilosa**. Ponto focal: Amely Branquinho Martins. 2012. Disponível em: (<http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservação/2801-mamiferos-xenarthras>). Acesso em: 14 set. 2018.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBIO); MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume I**. 1ª ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2018. 492 p., il., gráfs., tabs.

LAINSON, R. Parasitological studies in British Honduras III. Some coccidial parasites of mammals. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 62, n. 1, p. 252-259, 1968. Disponível em: (<https://patua.iec.gov.br/bitstream/handle/iec/831/Parasitological%20studies%20in%20British%20Honduras%20III%20-%20Some%20coccidial%20parasites%20of%20mammals%20%ef%bb%bf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>). Acesso em: 06 nov. 2019.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Coccidia of Brazilian Mammals: *Eimeria corticulata* N. Sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Anteater *Tamandua tetradactyla* (Xenarthra: Myrmecophagidae) and *Eimeria zygodontomyis* N. Sp. from the Cane Mouse *Zygodontomys lasiurus* (Rodentia: Cricetidae). **Journal of Protozoology**, v. 37, n. 1, p. 51-54, 1990. Disponível em: (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1550-7408.1990.tb01115.x#reference>). Acesso em: 06 nov. 2019.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Coccidia of Brazilian Mammals: *Eimeria marajoensis* N. Sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Anteater, *Tamandua tetradactyla* (Xenarthra: Myrmecophagidae). **Journal of Protozoology**, v. 38, n. 1, p. 28-30, 1991. Disponível em: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1997674>). Acesso em: 06 nov. 2019.

LIMA, J. D. Coccidiose dos Ruminantes Domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 13, suplemento 1, p 9-13, set. 2004. Trabalho apresentado no XIII

Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, 2004.

LOPES, L. F. D. **Apostila Estatística**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2003. 139 p. Apostila.

MARINHO, A. V.; VALDES, S. A. C. Diagnóstico de parasitas gastrintestinais de tamandúas-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758) mantidos em cativeiro e terapia farmacológica: relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, v. 17, n. 96, 2012. Disponível em: ([https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/clinica-veterinaria/17-\(2012\)-96/diagnostico-de-parasitas-gastrintestinais-de-tamanduas-bandeira-myrmec/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/clinica-veterinaria/17-(2012)-96/diagnostico-de-parasitas-gastrintestinais-de-tamanduas-bandeira-myrmec/)). Acesso em: 15 nov. 2019.

MARQUES, S. M. T.; LUDWIG, R. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in mammals at a zoo in Southern Brazil. **Revista Ibero-latinoamericana de Parasitologia**, v. 70, n. 1, p. 122-128, 2011. Disponível em: (https://www.researchgate.net/profile/Sandra_Marques6/publication/282914094_Occurrence_of_Cryptosporidium_spp_oocysts_in_mammals_at_a_zoo_in_southern_Brazil/links/562295f708ae70315b58fa2b/Occurrence-of-Cryptosporidium-spp-oocysts-in-mammals-at-a-zoo-in-southern-Brazil.pdf). Acesso em: 06 nov. 2011.

MATHEW, G.; HORRAL, S. Amebiasis. **StatPearls**. 2019. Disponível em: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519535/>). Acesso em: 16 abr. 2019.

OLIVEIRA, S.; WILMSEN, M. O.; ROSALINSKI-MORAES, F. Criptosporidiose em ruminantes: revisão. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 8, art. 1309, mar. 2012. Disponível em: (<http://www.pubvet.com.br/artigo/3216/cryptosporidiose-em-ruminantes-revisatildeo>). Acesso em: 15 set. 2018.

PARA-SITE. **Australian Society for Parasitology**. 2010. Recurso de multimídia eletrônica interativa dedicada a parasitologia. Disponível em: (<http://parasite.org.au/para-site/introduction/index.html>). Acesso em: 15 set. 2018.

PEREIRA, J. T.; SOCCOL, V. T.; COSTA, A. O.; CASTRO, E. A.; OSAKI, S. C.; PAULINO, R. C. *Cryptosporidium* spp.: para controlar é preciso conhecer. **Revista Saúde e Ambiente** =

Health and Environment Journal, Cuiabá, v. 10, n. 2, p. 13-25, dez. 2009. Disponível em: (<https://www.researchgate.net/publication/43248852>). Acesso em: 15 set. 2018.

PÉREZ, I. J.; DELGADO, A.; DI BLANCO, Y. E.; ABUIN, R.; ANTÚNES, B.; GALETTO, E.; MASAT, M.; PEÑA, J.; PERNIGOTTI, R.; PONTÓN, F.; SOLÍS, G.; SPØRRING, K. L.; HEINONEN, S. Reintroducción del hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) em la Reserva Natural Iberá (Argentina): ¿misión cumplida?. **Edentata**, v. 16, p. 11-20, 2015. Disponível em: (https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/80095/CONICET_Digital_Nro.c31962e3-1240-4b63-b3c1-fad5efba64bf_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y). Acesso em: 06 nov. 2019.

RODRIGUES, F. H. G.; MEDRI, I. M.; MIRANDA, G. H. B.; CAMILO-ALVES, C.; MOURÃO, G. Anteater behavior and ecology. In: VIZCAÍNO, S. F. (Ed); LOUGHRY, W. J. (Ed). **The Biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida, 2008, p. 257-268.

ROJANO, C.; MIRANDA, L.; ÁVILA, R. Endoparasitas de *Myrmecophaga tridactyla* y *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Vermilingua) silvestres en Casanare, Colombia. **Revista Colombiana de Ciencia Animal**, Sucre, v. 7, n. 2, p. 154-159, 2015. Disponível em: (<https://www.recia.edu.co/index.php/recia/article/view/255/296>). Acesso em: 06 nov. 2019.

ROJANO-BOLAÑO, C.; MIRANDA-CORTÉS, L.; ÁVILA-AVILÁN, R.; ÁLVAREZ-OTERO, G. Parámetros hematológicos de Hormigueros gigantes (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758) de vida libre em Pore, Colombia. **Veterinaria y Zootecnia**, Caldas, v. 8, n. 1, p. 85-98, 2014. Disponível em: (<http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v8n1a06.pdf>). Acesso em: 07 nov. 2019.

RYAN, U.; PAPANINI, A.; MONIS, P.; HIJJAWI, N. It's official – *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? **Water Research**, v. 105, p. 305-313, 2016. Disponível em: (https://www.researchgate.net/publication/308046848_It's_official_-_Cryptosporidium_is_a_gregarine_What_are_the_implications_for_the_water_industry/link/59c38d7ba6fdcc69b9353ebb/download). Acesso em: 19 dez. 2019.

SANTIAGO, R. Mastofauna de médio e de grande porte da Estação Experimental Sygenta de Uberlândia – MG. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 9, n. 1, p. 132-149, fev. 2016.

SANTOS, P. M. S.; SILVA, S. G. N.; FONSECA, C. F.; OLIVEIRA, J. B. Parasitos de aves e mamíferos silvestres em cativeiro no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira = Brazilian Journal of Veterinary Research**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 9, p. 788-794, set. 2015. Disponível em: (<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v35n9/1678-5150-pvb-35-09-00788.pdf>). Acesso em: 15 nov. 2019.

SANTOS, R. C. F. **Importância de mamíferos neotropicais na epidemiologia de protozooses: diagnóstico, caracterização molecular e aspectos ecológicos da infecção por *Giardia* e *Cryptosporidium***. 2011. 165 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SILVA, A. S.; SOARES, C. D. M.; GRESSLER, L. T.; LARA, V. M.; CARREGARO, A. B.; MONTEIRO, S. G. Criptosporidíase gastrointestinal em tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*). **Revista Brasileira de Zootecias**, UFJF, Juiz de Fora, v. 10, n. 2, p. 175-177, ago. 2008. Disponível em: (<https://periodicos.ufjf.br/index.php/zoociencias/article/view/24066>). Acesso em: 15 nov. 2019.

SOLARCZYK, P.; MAJEWSKA, A. C. Prevalence and multilocus genotyping of *Giardia* from animals at the zoo of Poznan, Poland. **Wiadomości Parazytologiczne**, v. 53, n. 3, p. 169-173, ago. 2011. Disponível em: (https://www.researchgate.net/profile/Piotr_Solarczyk/publication/51875036_Prevalence_and_multilocus_genotyping_of_Giardia_from_animals_at_the_zoo_of_Poznan_Poland/links/553773340cf2058efdeabd3c.pdf). Acesso em: 27 out. 2019.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. Revisão técnica de Maria Cecília Reale Vieira Bressan. Tradução de Cid Figueiredo, Idília Ribeiro Vanzellotti, Ronaldo Frias Zanon. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 742 p., il. Tradução de: *Veterinary Parasitology*, 3rd ed.

ANEXO A – Fichas demográficas

Nome: -			Código: 1
Espécie	Idade	Sexo	Procedência
Bandeira	Adulto	Macho	Vida livre

Nome: Duda			Código: 2
Espécie	Idade	Sexo	Procedência
Bandeira	Adulto	Fêmea	Cativeiro

Nome: Ágata			Código: 3
Espécie	Idade	Sexo	Procedência
Bandeira	Filhote	Fêmea	Vida livre

Nome: -			Código: 4
Espécie	Idade	Sexo	Procedência
Bandeira	Adulto	Fêmea	Vida livre

Nome: Eva			Código: 5
Espécie	Idade	Sexo	Procedência
Bandeira	Filhote	Fêmea	Vida livre