

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

HEPATOZOOM SPP. EM CARNÍVOROS NEOTROPICAIS
PRESENTES EM VIDA LIVRE NO PARQUE NACIONAL DAS EMAS,
EM GOIÁS, BRASIL

BETINA METZGER

Botucatu – SP
2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

HEPATOZOOM SPP. EM CARNÍVOROS NEOTROPICAIS
PRESENTES EM VIDA LIVRE NO PARQUE NACIONAL DAS EMAS,
EM GOIÁS, BRASIL

BETINA METZGER

Tese apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de
Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Helena
O'Dwyer De Oliveira

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Nome do autor: Betina Metzger

Título: *Hepatozoon* spp. em carnívoros neotropicais presentes em vida livre no Parque Nacional das Emas, em Goiás, Brasil.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Lucia Helena O`Dwyer de Oliveira
Presidente e Orientadora
Departamento de Parasitologia
Instituto de Biociências – IB – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Tadeu Gomes de Oliveira
Membro
Departamento de Biologia
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA – São Luís

Prof. Dr. Paulo Eduardo Martins Ribolla
Membro
Departamento de Parasitologia
Instituto de Biociências – IB – UNESP – Botucatu

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Membro
Departamento de Parasitologia
Instituto de Biociências – IB – UNESP - Botucatu

Dr. Diego Peres Alonso
Membro
Departamento de Parasitologia
Instituto de Biociências – IB – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 2 de julho de 2013.

DEDICATÓRIA

A minha mãe Sonia Creimer *Pelo amor incondicional, apoio irrestrito (mesmo sem entender o motivo dessa formação) e enorme amizade que foram vitais e alicerces para que eu chegasse até aqui; por ser exemplo de mulher e pessoa extremamente corajosa, admirável, otimista, que serve de inspiração a mim e a todos que a conhecem!!!*

Ao meu pai Henrique Metzger (in memoriam)

Pelo amor incondicional e apoio irrestrito que foram fundamentais na minha formação e na realização dos meus maiores sonhos de vida!!!

Ao meu irmão Roniel Creimer Metzger

Pelo enorme carinho e constante apoio, sem os quais eu não teria chegado até aqui!!

“Diante da eterna pontaria da goteira fugir não lhe traz valia” Elvio Vargas

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e de todos, agradeço a D"us, por sempre me ajudar quando mais preciso e pela benção de ter uma família maravilhosa e amigos (as) excepcionais

À minha mãe, pelo apoio irrestrito para que eu realizasse essa conquista, pelo enorme amor demonstrado em todos esses anos, pela confiança que deposita em mim, por me encorajar nos momentos que fraquejei e necessitei, por ser uma mãe maravilhosa e carinhosa, grande amiga e companheira, um exemplo de mulher e pessoa, guerreira, batalhadora, extremamente forte e otimista, enfim, por estar ao meu lado, acreditando e apoiando como mãe, melhor amiga e companheira!!!

Ao meu pai, pelo amor incondicional, pelo apoio em todos os sonhos e desejos que tive, pela minha formação como ser humano e como profissional, por sempre ter confiado, acreditado e me compreendido. Um pai e amigo maravilhoso, um ser humano fantástico e incomum... não existe palavras que mensuram a falta que ele faz a mim e a todos que tiveram a sorte de conhecê-lo!

Ao meu irmão Roniel, pelo seu fundamental apoio, sem o qual eu também não poderia estar realizando essa conquista e nem teria me tornado veterinária! Pelo grande apoio e carinho demonstrado em tantos outros importantes momentos de minha vida, por me encorajar, me escutar toda vez que preciso, tentar me compreender, dar bons conselhos. Finalmente, por ser um irmão e ser humano absolutamente encantador, com seu excelente humor, enorme otimismo e bondade... quem o conhece quer sempre tê-lo ao lado!

Ao meu irmão Ariel pelo apoio dado, especialmente no início deste estudo, quando nem sabia direito o que eu estava fazendo, por ser esse irmão que encanta a todos com seu jeito de menino alegre e doce!

Ao meu irmão Daniel, um homem observador, de bem poucas e sábias palavras, pelo carinho sempre demonstrado; pelo apoio constante e por ter estado ao meu lado em momentos importantes que precisei.

Ao meu irmão Michel, pelos sábios e importantes conselhos, um irmão que sempre tem algo interessante a ensinar; e que junto com minha cunhada Sissa, sempre tiveram muito carinho e preocupação durante esses anos.

À minha muito querida orientadora Lucia, por todos os conhecimentos transmitidos durante esses anos, pela dedicação constante, enorme compreensão, apoio e carinho!! Não há palavras que demonstram adequadamente o quanto eu sou e sempre serei grata por tudo isso!!!

À todos da equipe do Instituto Onça Pintada, em especial, à Mariana Malzoni Furtado, pela parceria realizada, sem a qual esse estudo não teria sido possível. Agradeço imensamente também pela compreensão perante intercorrências que ocorreram durante esses anos.

À Carine, agradeço de coração pelo apoio e ajuda no laboratório que foram essenciais para a realização deste estudo e por todos os ensinamentos transmitidos de biologia molecular. Sua surpreendente e enorme ajuda, em especial no fim desse estudo foram fundamentais para a finalização deste.

Ao professor Paulo Ribolla por ter permitido o uso de seu laboratório durante esses anos e por sempre ter se disponibilizado a transmitir seus conhecimentos quando tive dúvidas.

À professora Débora pelos conhecimentos transmitidos, por sempre ter se disponibilizado a ajudar com um sorriso no rosto.

À todos os outros docentes do Departamento de Parasitologia do IB, que sempre foram muito cordiais e simpáticos comigo!

Ao professor e amigo Tadeu Gomes de Oliveira, por ter me estendido a mão em um momento crucial de minha vida, pelo apoio fundamental e enorme ajuda (em coleta de material, projeto, confecção de artigo) para que o meu Mestrado se realizasse, sem o qual eu não teria chegado no Doutorado.

À querida e enorme amiga do coração Giovana, pela fiel e preciosa amizade, por sempre ter estado ao meu lado e me apoiado com grande carinho todas as vezes que precisei (inclusive ficando com minha gatinha Tatá em algumas ocasiões) e que foram fundamentais nesses últimos anos.

À querida e encantadora amiga Larissa, pela importante amizade, pelo apoio e carinho em tantas ocasiões, inclusive com minha cadela Lolly, hospedando-a algumas vezes, apesar dos chatos e frequentes latidos, além de ter me auxiliado com algumas referências e sempre ter se disponibilizado a ajudar com um sorriso no rosto no que fosse necessário.

À Natália pela recente amizade, pelo carinho demonstrado e por sempre se disponibilizar a ajudar.

À muito querida amiga Karina Rodrigues dos Santos, por ter me apresentado à Lúcia, pelo enorme apoio e carinho, por ser essa pessoa e amiga tão especial e encantadora!

À querida amiga Mariana, pelo enorme carinho sempre demonstrado e pela alegria e bom humor contagiantes!

Aos queridos amigos Bruna, Érica Zica, Érica e Drauzio pela importante amizade, conversas, apoio em diversas ocasiões e pelos momentos de alegria e descontração!

Aos amigos muito queridos Thiago e Audrey, pelo carinho, excelente humor e otimismo que estão "longe dos olhos, mas perto do coração", citando minha também muito querida amiga Bruna.

Aos técnicos Valdir, Bicho e Alessandra por sempre serem tão prestativos e terem me auxiliado muito durante os dois estágios de docência que fiz, e também pela contagiante alegria e bom humor, fundamentais em um ambiente de trabalho.

Ao pessoal da secretaria da Pós Graduação, José, Carlos e Maria que sempre foram muito solícitos, prestativos e atenciosos em todos os momentos que precisei.

À Capes pela bolsa concedida.

Ao pessoal da biblioteca, sempre tão atenciosos e prestativos.

A todas as outras pessoas, não menos importantes, que passaram por minha vida deixando um pouco de si e levando um pouco de mim.

Aos meus queridos e verdadeiros anjos de quatro patas que sempre demonstraram paciência em todos esses anos; meus inestimáveis companheiros gatos, em especial Felix (in memorian), Mel (in memorian), adorável Talita e a mais nova integrante Pan (lembrança da Parasito/Micro), amo vocês demais! Ao querido Sansão (in memorian) que infelizmente não me apressei mais em tirá-lo do condomínio, mas que continuará em minhas lembranças e no meu coração para sempre. À querida, fiel e obediente cadela Lolly.

METZGER, B. *Hepatozoon* spp. em carnívoros neotropicais presentes em vida livre no Parque Nacional das Emas, em Goiás, Brasil. Botucatu, 2013. 118 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência de *Hepatozoon* spp. em carnívoros neotropicais de vida livre no Brasil. Foram analisadas 158 amostras sanguíneas de Canidae, Procyonidae e Mephitidae presentes no Parque Nacional das Emas, em Goiás. Do total amostral, 75 foram obtidas de *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará), 65 de *Cerdocyon thous* (cachorro do mato), 10 de *Conepatus semistriatus* (jaratataca), 06 de *Lycalopex vetulus* (raposinha do campo) e dois de *Nasua nasua* (quati). O diagnóstico de *Hepatozoon* spp. foi feito através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) após a extração de DNA. Do total analisado, 63,92% das amostras estavam parasitadas por *Hepatozoon*, sendo que deste total, 41,14% eram provenientes de *C. brachyurus*, 18,35% de *C. thous*, 3,79% de *L. vetulus* e 0,63% de *N. nasua*. A maioria da população de *C. brachyurus* (86,66%) apresentou-se infectada, assim como 44,61% dos exemplares de *C. thous* e 100% dos *L. vetulus* estudados. A caracterização molecular dos isolados obtidos foi feita após o sequenciamento e a análise filogenética. Essa última demonstrou que isolados sequenciados de *C. thous* e a maioria dos de *C. Brachyurus* apresentaram alta similaridade com *Hepatozoon* sp. isolado de *C. thous* no Espírito Santo e também com *Hepatozoon americanum*. O isolado de *N. nasua* apresentou similaridade com *H. felis* e os de *L. vetulus* com *Hepatozoon canis* em cão doméstico. A identificação molecular de *Hepatozoon* sp. em *N. nasua* e os relatos das infecções por este hematozoário em *C. brachyurus* e em *L. vetulus* de vida livre são inéditos no mundo.

Palavras-chave: Hemoparasita, Carnívoros neotropicais; *Hepatozoon*; Análise filogenética; Animais silvestres.

METZGER, B. *Hepatozoon* spp. in free ranging neotropical carnivores from Emas National Park, in Goiás, Brazil Botucatu, 2013. 118 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the occurrence of *Hepatozoon* spp. in free ranging neotropical carnivores from Brazil. 158 blood samples were analyzed from Canidae, Procyonidae and Mephitidae from Emas National Park, in the State of Goiás, Brazil. From the sampling total, 75 were obtained from *Chrysocyon brachyurus* (maned wolf), 65 from *Cerdocyon thous* (crab-eating dog), 10 from *Conepatus semistriatus* (striped hog-nosed skunk), 06 from *Lycalopex vetulus* (hoary fox) and two from *Nasua nasua* (South American coati). *Hepatozoon* spp. were diagnosed by Polymerase Chain Reaction (PCR) after DNA was extracted. From the total analyzed, 63.92% samples were parasitized by *Hepatozoon*; and from the positive samples 41.14% were collected from *C. brachyurus*, 18.35% from *C. thous*, 3.79% from *L. vetulus* and 0.63% from *N. nasua*. The majority of *C. brachyurus* population (86.66%) was infected and also 44.61% of *C. thous* and 100% of *L. vetulus* studied. Molecular characterization of the isolates was performed after sequencing and phylogenetic analyses. These demonstrated that the isolates from *C. thous* and the majority of the ones from *C. Brachyurus* showed high similarity with *Hepatozoon* sp. from *C. thous* from the State of Espírito Santo and also with *Hepatozoon americanum*. The isolate of *N. nasua* showed similarity with *H. felis*; and the ones from *L. vetulus* with *H. canis* from domestic dog. The molecular identification of *Hepatozoon* sp. from *N. nasua* as well as the infection by this hematozoa in free ranging *C. brachyurus* and *L. vetulus* are novelties in the world.

Key words: Hemoparasite; Neotropical carnivores; *Hepatozoon*; Phylogenetic analyses; Wild animals.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A perda global da diversidade biológica afeta o bem estar de animais e de humanos. A destruição de habitats, somada à extinção de espécies animais e vegetais, tem levado a importantes modificações nos ecossistemas, como mudanças na relação patógeno-hospedeiro (ALLCHURCH, 2002). Alterações ambientais e climáticas podem romper o equilíbrio desta relação e permitir o surgimento de doenças em populações que mantinham uma convivência historicamente estável com os diferentes patógenos, sejam esses virais, bacterianos e/ ou parasitários (MUNSON et al., 2008).

O conhecimento das infecções e causas de mortalidade de animais selvagens é de extrema importância por diversos fatores. Dentre estes, estariam a crescente preocupação com o bem estar da vida selvagem, principalmente em relação às espécies ameaçadas de extinção, o interesse nas doenças zoonóticas transmitidas por esses animais, o uso de animais selvagens pelos ecologistas para monitorar a poluição ambiental, além do interesse veterinário, não só para o benefício da vida selvagem e para a sua conservação, mas também devido às doenças que os animais selvagens podem transmitir aos animais domésticos e vice-versa (SIMPSON, 2000).

O aquecimento global, o crescimento da população humana, o desmatamento, a globalização, o comércio de animais selvagens e a poluição dos mares e fontes de água podem ter um impacto na prevalência e distribuição de patógenos. Neste contexto, doenças transmitidas por artrópodes a animais selvagens podem ter implicações na conservação destes animais e nas interações entre animais domésticos e animais selvagens (AGUIRRE, 2009).

Por estarem no topo da cadeia trófica, os carnívoros são importantes agentes na manutenção da dinâmica das comunidades onde vivem (BERGER, 2007) e, desta forma, preservá-los significa preservar todas as outras espécies a eles subordinados.

Uma das ferramentas conservacionistas importante para restabelecimentos populacionais é a reintrodução (OLIVEIRA¹, 2008), sendo que o diagnóstico de agentes infecciosos e parasitários é muito relevante para evitar que exemplares reintroduzidos representem ameaça às populações de vida livre, por meio da introdução de patógenos.

Além disso, o estresse severo causado pela captura, translocação ou reintrodução pode romper o vital equilíbrio parasito-hospedeiro, colocando a vida do animal reintroduzido, e de outros carnívoros da comunidade, em risco (KETZ-RILLEY et al., 2003; PENZHORN, 2006).

Apesar do conhecimento de agentes infecciosos e/ou parasitários nos animais selvagens ser essencial para a elaboração de planos de manejo e de conservação bem sucedidos, no Brasil, estudos envolvendo parasitas de mamíferos silvestres ainda são escassos (METZGER et al., 2008; ANDRÉ et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013). Assim, a pesquisa de hemoparasitas em carnívoros neotropicais pode contribuir de forma relevante para a realização de medidas eficazes de conservação e de manejo “in-situ” e “ex- situ”.

¹ OLIVEIRA, T.G., Comunicação Pessoal, 2008.

7. CONCLUSÕES

De acordo com as metodologias empregadas e os resultados obtidos, foi possível concluir que:

- 1- Carnívoros neotropicais das espécies *C. thous*, *C. brachyurus*, *L. vetulus* e *N. nasua* se infectam por *Hepatozoon* spp.
- 2- Não foram observadas infecções pelo hematozoário em nenhum dos *C. semistriatus* analisados.
- 3- Exemplos de *C. brachyurus* apresentaram ser ótimos hospedeiros de *Hepatozoon* sp.
- 4- *C. thous* apresentaram ser bons hospedeiros de *Hepatozoon* sp.