UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANIMAIS SELVAGENS

ANÁLISE MOLECULAR DE AGENTES ETIÓLOGICOS POTENCIALMENTE ZOONÓTICOS EM TAMANDUÁS-BANDEIRA (*MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA*) E MIRINS (*TAMANDUA TETRADACTYLA*) NO ESTADO DE SÃO PAULO

MATEUS OLIVEIRA MACHADO

Botucatu – SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANIMAIS SELVAGENS

ANÁLISE MOLECULAR DE AGENTES ETIÓLOGICOS POTENCIALMENTE ZOONÓTICOS EM TAMANDUÁS-BANDEIRA (*MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA*) E MIRINS (*TAMANDUA TETRADACTYLA*) NO ESTADO DE SÃO PAULO

MATEUS OLIVEIRA MACHADO

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens, área de Saúde e Meio Ambiente, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.ª Assoc. Lígia Souza Lima Silveira da Mota

Botucatu – SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE GERAÇÃO AUTOMÁTICA DE FICHAS CATALOGRÁFICAS DA UNESP. DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR.

M149

Machado, Mateus Oliveira
Análise Molecular de Agentes Etiológicos Potencialmente Zoonóticos em Tamanduás-bandeira (Myrmecophaga tridactyla) e mirins no estado de São Paulo / Mateus Machado. -- Botucatu, 2025
80 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

1. Genética da Conservação. 2. Biologia Molecular. 3. Biologia da Conservação

MINIBIOGRAFIA DO AUTOR

Possui graduação em Ciências Biológicas (bacharelado) pela Universidade Paulista (UNIP). Obteve experiência em Genética Animal e Biologia da Conservação de pequenos mamíferos durante trabalhos realizados juntamente ao Instituto de Biociências de Botucatu (UNESP). Atualmente se encontra no mestrado dentro do Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu. Realiza atividades no Laboratório de Genética Animal do Departamento de Genética, Imunologia e Microbiologia do Instituto de Biociências de Botucatu sob orientação da Prof Assoc. Lígia Souza Lima Silveira da Mota.

Nome do autor: **Mateus Oliveira Machado**

TÍTULO: **Análise molecular de agentes etiológicos potencialmente zoonóticos em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e mirins (Tamandua tetradactyla) no estado de São Paulo.**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.ª. Assoc. Lígia Souza Lima Silveira da Mota
Presidente e Orientadora
Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia -FMVZ -UNESP- Botucatu

Prof.ª. Assoc. Adriane Pinto Wasko
Instituto de Biociências de Botucatu- IBB- UNESP- Botucatu
Titular

Pós doc. Marianna Vaz Rodrigues
Faculdade Galileu
Titular

Pesq. Dra. Simone Baldini Lucheis
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-FMVZ-UNESP-Botucatu
Suplente

Pós doc. Débora Andrade Silva
University of Texas Southwestern Medical Center
Suplente

Data da defesa: 14 de novembro de 2025.

DEDICATÓRIA

Aos meus avós Dona Florinda, Nestor, Maria José e Delcir.

A toda comunidade do Capão Redondo e Goiabeiras.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família, por todo sangue e luta para me auxiliar nessa pós-graduação sem bolsas de financimento para minha pesquisa. À minha batalhadora mãe Elcia, por acreditar e prestar todo apoio emocional ao longo desse período. Meu pai Edson, por cada palavra de incentivo e sentimento compartilhado para ser acima qualquer ocasião o melhor ser humano possível, meu irmãos Felipe e Daniel, por toda inspiração e incentivo. Vocês são a minha base, amo vocês.

À minha namorada Gabriela, que traz leveza e serenidade à minha caminhada, tornando cada etapa dessa jornada mais suave. Sou imensamente grato por todo o apoio constante. Amo você.

À minha orientadora, Profa. Lígia S. L. S. Mota, por acreditar no meu trabalho e por todo o apoio oferecido, não apenas como orientadora, mas também como amiga, cuja presença e incentivo foram fundamentais para abrir as portas da minha tragetória acadêmica desde antes do início deste projeto de mestrado.

Às minhas irmãs que a vida me deu em Botucatu, Catharina e Larissa, pelo apoio emocional, amizade e incentivo incondicional desde o início desta trajetória em Botucatu.

Aos meus amigos de Botucatu por me acolherem, me receberem em suas casas, me auxiliarem nos meus experimentos e me ajudarem a passar por esse momento tão desafiador: Isabel Ferreira, Luiz Gustavo Bicas, João Mochiuti, Laura Morelli, Lívia, Maísa, Camila e Eduardo.

Ao apoio institucional do Programa de Pós Graduação em Animais Selvagens e Também da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Ao apoio social e financeiro fundamental da Coordenadoria de Permanência Estudantil (COPE).

Ao CEMPAS, em especial ao médico veterinário Gabriel por ceder as amostras dos animais incluídos neste estudo, por realizar as coletas sanguíneas dos animais.

Ao prof. Felipe Fornazzari do SDZ, por ceder gentilmente as amostras de animais também incluídos nesse estudo.

À Larissa Rodrigues, Catharina, Maísa e João por todo apoio no Laboratório de Genética Animal.

Aos professores e funcionários do Departamento de Genética, Imunologia e Microbiologia.

À Talita Aleixo por todo apoio e auxílio nas análises filogenéticas.

À Comissão de Ética no Uso de Animais da UNESP Botucatu (CEUA– FMVZ, UNESP – Campus de Botucatu), ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), pelas licenças que viabilizaram a execução do trabalho de campo da minha dissertação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa da distribuição geográfica do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) na América Latina em locais onde a espécie está possivelmente extinta (azul) e a distribuição atual da espécie (vermelho) 21

Figura 2. Distribuição geográfica atual (vermelho) do tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na América do Sul 23

Figura 3. Esquematização representativa do Ciclo de Vida da *Leishmania spp.* 25

Figura 4. Esquematização representativa do Ciclo de Vida do *Trypanosoma cruzi*.....29

Figura 5. Esquematização representativa do Ciclo de Vida da Babesia sensu stricto....34

Figura 6. Esquematização representativa do Ciclo de Vida bifasico da Chlamydia spp. 39

Figura 7. Local de aproximação entre tamanduá-bandeira e gado doméstico –Parque Nacional das Emas (PNE). No fundo da imagem um rebanho de bovinos pertencente a proprietários do entorno.....42

Figura 8. Localização do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) dentro do campus universitário da UNESP no distrito de Rubião Júnior em Botucatu-SP.....77

Figura 9. Imagens de um espécime de tamanduá-bandeira submetido a contenção química no CEMPAS.....77

Figura 10. Imagem ilustrativa dos principais locais para administração de fármacos anestésicos.....78

Figura 11. Atestado de aprovação no Comitê de Ética.....78

Figura 12. Atestado de aprovação no SISBIO.....79

Figura 13. Comprovante de submissão para Journal of WildLife Diseases 80

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BLAST – Ferramenta de Busca de Alinhamento Local Básico BLASTn – Ferramenta de Busca de Alinhamento Local Básico para nucleotídeos

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CEMPAS – Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DC – Doença de Chagas

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ICMBio- Instituto Chico Mendes Conservação da Biodiversidade

IUCN- União Internacional para Conservação da Natureza

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

sp. Espécie

spp. Espécies

cm- Centímetros

µL – Microlitro

kg- Quilogramas

fig.- Figura

ng/ µL – Nanograma/ Microlitro

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction)

SDZ- Serviço de Diagnóstico de Zoonoses

V – Voltagem

RESUMO

MACHADO, M. O. Análise molecular de agentes etiológicos potencialmente zoonóticos em tamanduás-bandeira e tamanduás-mirins no estado de São Paulo. Botucatu, 2025. 80 p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMVZ – UNESP).

As zoonoses representam 75% das doenças emergentes e reemergentes em humanos, destacando a relevância dos mamíferos silvestres como potenciais reservatórios de agentes infecciosos. Entre eles, os tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduás-mirins (*Tamandua tetradactyla*) possuem hábitos que favorecem o contato com vetores e patógenos de importância em saúde pública. Este estudo teve como objetivo investigar a presença de agentes etiológicos potencialmente zoonóticos em indivíduos provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) e do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), ambos localizados em Botucatu (SP). Foram analisadas amostras sanguíneas submetidas à triagem molecular para detecção de protozoários das famílias *Trypanosomatidae* e *Babesiidae*, e amostras de sangue e fezes para pesquisa de bactérias do gênero *Chlamydia*. O DNA total foi extraído e amplificado por PCR convencional e nested PCR, empregando primers específicos para os genes 18S rRNA e *ompA*. Os produtos amplificados foram purificados, sequenciados e comparados por análises BLASTn e inferências filogenéticas bayesianas. Dos 26 tamanduás avaliados, 42,3% foram positivos para *Trypanosoma cruzi*, confirmados por sequenciamento, enquanto não houve detecção de *Babesia spp.* ou *Chlamydia spp.*. A elevada taxa de infecção por *T. cruzi* reforça o papel desses xenartros como hospedeiros silvestres relevantes para a sinalização de zoonoses em áreas de interface entre ambientes naturais e antrópicos. Os resultados obtidos evidenciam a importância dos tamanduás como espécies sentinelas na vigilância de patógenos zoonóticos e ressaltam a necessidade de ampliar estudos que integrem saúde da fauna e saúde pública sob a perspectiva One Health.

Palavras-chave: Tamanduás, Patógenos Zoonóticos, Análises Moleculares, Análises filogenéticas, Saúde Única.

ABSTRACT

MACHADO, M. O.Molecular Analysis of Potentially Zoonotic Etiological Agents in Giant Anteaters and Lesser Anteaters in the State of São Paulo. Botucatu, 2022. 80 p. Dissertation (Master in Wild Animals), Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, Paulista State University (FMVZ – UNESP).

Zoonoses account for approximately 75% of emerging and reemerging human diseases, underscoring the importance of wild mammals as potential reservoirs of infectious agents. Among them, giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) and southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla*) exhibit ecological and behavioral traits that favor exposure to zoonotic pathogens. This study aimed to investigate the occurrence of potentially zoonotic etiological agents in individuals from the Center for Wildlife Medicine and Research (CEMPAS) and the Zoonoses Diagnostic Service (SDZ), both located in Botucatu, São Paulo State, Brazil. Blood samples were analyzed for protozoa of the *Trypanosomatidae* and *Babesiidae* families, and blood and fecal samples were screened for bacteria of the genus *Chlamydia*. Total DNA was extracted and subjected to conventional and nested PCR using primers targeting the 18S rRNA and *ompA* genes. Amplified fragments were purified, sequenced, and compared using BLASTn and Bayesian phylogenetic inference. Of the 26 anteaters evaluated, 42.3% tested positive for *Trypanosoma cruzi*, confirmed by sequencing, while no amplification was obtained for *Babesia spp.* or *Chlamydia spp.*. The high infection rate by *T. cruzi* supports the role of xenarthrans as relevant wild hosts in the maintenance of zoonotic cycles at the wildlife–human interface. These findings highlight the importance of anteaters as sentinel species for zoonotic surveillance and reinforce the need for integrated studies that link wildlife health and public health within the One Health framework.

Key-words: Anteaters; Zoonotic pathogens; Molecular analyses; Phylogenetic analyses; One Health.

Sumário

RESUMO **11**

ABSTRACT **12**

IMPACTO CIENTÍFICO DO PRODUTO GERADO **15**

CAPÍTULO I **17**

CONSIDERAÇÕES INICIAIS **17**

REVISÃO DE LITERATURA **19**

História natural e diversidade taxonômica dos Xenarthras 19

Tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) 20

Tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) 22

Tripanosomatidae 24

Leishmania sp. 24

Tripanosoma sp. 27

Tripanosomatidae em espécies silvestres 30

Babesia spp. 31

Babesia spp. em espécies silvestres 37

Chlamydia spp. 38

Chlamydia spp. em espécies silvestres 41

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **43**

CAPÍTULO II: TRABALHO CIENTÍFICO **53**

INTRODUCTION **55**

MATERIALS AND METHODS **56**

RESULTS **59**

DISCUSSION **65**

ACKNOWLEDGMENTS **68**

LITERATURE CITED **69**

SUPPLEMENTARY MATERIAL 76

IMPACTO CIENTÍFICO DO PRODUTO GERADO

A presente dissertação gerou conhecimento científico inédito e relevante sobre a ocorrência de agentes potencialmente zoonóticos em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduás-mirins (*Tamandua tetradactyla*) provenientes do estado de São Paulo. A detecção de *T.cruzi* em 42,3% dos indivíduos avaliados, confirmada por sequenciamento e análises filogenéticas, amplia significativamente a compreensão sobre o papel dessas espécies como reservatórios silvestres na manutenção do ciclo do parasita e papel importante como fonte de alimentos para triatomíneos e pela possível ingestão dos mesmos, por meio de seus hábitos mirmecófagos. O impacto científico deste achado é expressivo, pois contribui para preencher uma lacuna de conhecimento sobre a epidemiologia da tripanossomíase americana em xenartros, grupo historicamente pouco investigado, mas ecologicamente essencial.

Do ponto de vista científico, o trabalho reforça a importância do conceito de *One Health*, demonstrando a interconexão entre saúde ambiental, animal e humana. A comprovação de que tamanduás podem atuar como hospedeiros relevantes de *T. cruzi* contribui para a compreensão dos mecanismos de transmissão em áreas antropizadas, evidenciando o risco de interface entre ambientes silvestres, periurbanos e domésticos. Além disso, a utilização de técnicas moleculares sensíveis e análises filogenéticas robustas fornece dados confiáveis que poderão servir de base para estudos futuros em ecologia parasitária, genética de populações de protozoários e conservação da fauna silvestre.

No âmbito social, os resultados possuem implicações diretas para a saúde pública. A doença de Chagas permanece como uma das principais zoonoses negligenciadas da América Latina, com impacto significativo sobre populações vulneráveis. A demonstração da circulação do parasita em espécies como os tamanduás favorece a conscientização da sociedade sobre a necessidade de preservar a biodiversidade e, ao mesmo tempo, adotar estratégias eficazes de prevenção. Além disso, o estudo alerta para o risco de aproximação crescente entre humanos, animais domésticos e vida silvestre em paisagens alteradas pela urbanização e mudanças no uso do solo, incentivando o desenvolvimento de políticas públicas que integrem vigilância epidemiológica e conservação ambiental.

Do ponto de vista tecnológico, o trabalho aplicou e validou metodologias de biologia molecular, como PCR convencional, *Nested* PCR e sequenciamento gênico, empregando o marcador 18S rRNA para detecção e caracterização de tripanossomatídeos. Essa padronização metodológica pode ser aplicada em outros estudos de monitoramento de fauna, incluindo programas de resgate de animais, centros de reabilitação e diagnósticos em campo. A replicabilidade das técnicas empregadas confere ao produto um caráter de inovação aplicada, útil não apenas em contextos acadêmicos, mas também em serviços de vigilância epidemiológica e em projetos de saúde ambiental.

Outro impacto tecnológico reside na geração de sequências depositadas em bases públicas, o que amplia a disponibilidade de dados para análises comparativas globais e auxilia na vigilância molecular de parasitas de relevância médica e veterinária. Ao consolidar a presença de *T. cruzi* em tamanduás do estado de São Paulo, o trabalho também fornece subsídios para o aprimoramento de ferramentas diagnósticas e de estratégias de monitoramento em diferentes escalas geográficas.

Em síntese, o produto desta dissertação contribui de maneira robusta para o avanço da ciência, fortalece a integração entre saúde animal, humana e ambiental, gera insumos relevantes para políticas públicas de vigilância e conservação, e valida metodologias laboratoriais aplicáveis em diferentes contextos. Assim, o impacto científico, social e tecnológico transcende os limites acadêmicos, inserindo-se no esforço coletivo de compreender e mitigar os riscos associados às zoonoses, em consonância com a perspectiva integradora da *One Health*.

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Uma característica presente em 75% das doenças emergentes e reemergentes do último século é o caráter zoonótico (Zanella, 2016), que por definição compreende-se por doenças ou infecções naturalmente transmissíveis entre animais vertebrados e humanos (Asokan, 2015). O fenômeno de *spill-over* representa um fator determinante nesse processo, ocorrendo quando patógenos presentes em hospedeiros animais transpassam dentro de um intervalo espacial e temporal um conjunto de barreiras ecológicas, epidemiológicas, biológicas, imunológicas e comportamentais que condicionam um risco de transbordamento zoonótico (Plowright *et al*., 2017).

Os desequilíbrios promovidos por ações humanas sobre o meio ambiente interferem diretamente em ciclos de microrganismos naturalmente estabelecidos por meio de mudanças na distribuição dos vetores e pela maior interação de animais silvestres, domésticos e humanos (Calchi *et al*., 2023). Essas condicionantes negligenciadas são diretamente responsáveis pelo aumento na probabilidade de transmissão de patógenos entre animais silvestres e pessoas (Priyadarsini; Suresh; Huisingh, 2020).

O tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e o tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) assim como outros mamíferos selvagens possuem uma variedade de interações com patógenos zoonóticos parasitários e bacterianos (Sousa *et al*., 2020; Pessanha *et al*. 2023). Os xenartros, grupo taxonômico a qual essas espécies pertencem, possuem uma longa história coevolutiva com tripanossomatídeos (Roque; Jansen 2014). Estudos demonstram que esses protozoários podem infectar naturalmente tamanduás e não causar manifestações clínicas severas, demonstrando ser espécies importantes na compreensão das interações patógeno-hospedeiro (De Araújo *et al*.,2013; Richini-Pereira *et al*.,2014; Herrera *et al*.,2022). Um marcador molecular frequentemente utilizado para detecções sensíveis e comparação filogenética entre espécies de protozoários, incluindo tripanossomatídeos, é o gene 18S rRNA, devido à sua conservação entre táxons, combinada com regiões suficientemente variáveis que permitem distinguir linhagens próximas (Dario *et al*., 2017; Orłowska *et al*., 2025).

Embora análises moleculares recentes tenham detectado piroplasmídeos em tamanduás (Fava *et al*., 2022; Calchi *et al*., 2023) e a presença de carrapatos ixodídeos (*Amblyomma nodosum*, *A.calcaratum*, *A.pseudoconcolor* e *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato) (Muñoz-Garcia *et al*., 2019) responsáveis por transmitirem diferentes patógenos, até o momento não existem relatos de infecções causadas por protozoários do gênero *Babesia* spp. nessas espécies. No mesmo sentido que até o momento, os poucos estudos voltados à investigação de bactérias do gênero *Chlamydia* spp. em tamanduás não obtiveram resultados positivos em relação à presença do patógeno (Miranda et al.,2015; Tessari *et al*., 2022). Apesar da ausência de registros desses agentes infecciosos nesses animais, as implicações clínicas resultantes desses microrganismos são relevantes em diferentes mamíferos silvestres e domésticos, nativos e exóticos, com agravantes clínicos que impactam diretamente a conservação e a produção animal em escala nacional e global (Silva; Freitas; Müller, 2006; Bosman *et al*., 2010; Schnittger *et al*.,2012; Burnard; Polkinghorne, 2016; Turin *et al*.,2022; Calchi *et al*., 2024).

Levando-se em conta a concepção de Saúde Única (One Health) que busca compreender e discutir relações intrínsecas entre saúde ambiental, animal e humana (Cunningham; Daszak; Wood, 2017), compreender as interações de mamíferos silvestres, como os tamanduás, com patógenos zoonóticos é fundalmental tanto para subsidiar estratégias de conservação de espécies quanto para orientar medidas de vigilância e prevenção em saúde pública.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1Tamanduá-bandeira e tamanduá-mirim

História natural e diversidade taxonômica

A superordem Xenarthra, recebe esse nome por conta de suas articulações vertebrais especializadas, exclusivas desses animais. Esse traço evolutivo oferece vantagens adaptativas aos diferentes modos de vida dessas espécies (Hautier; Oliver; Pierce, 2018). Este clado se apresenta como um dos grupos mais basais de mamíferos placentários, cuja trajetória evolutiva está diretamente relacionada ao continente sul-americano (Superina; Loughry, 2015). Seu surgimento, de acordo com datações moleculares remonta aproximadamente 105 milhões de anos atrás (Santos *et al*.,2019). Desde o final do período Pleistoceno (cerca de 10.000 anos atrás), muitos representantes desse táxon foram extintos, havendo mais de 200 gêneros fósseis registrados. Os gêneros atualmente existentes representam apenas uma pequena porção do que foi a diversidade de espécies dessa superordem (Svartman; Stone; Stanyon, 2006).

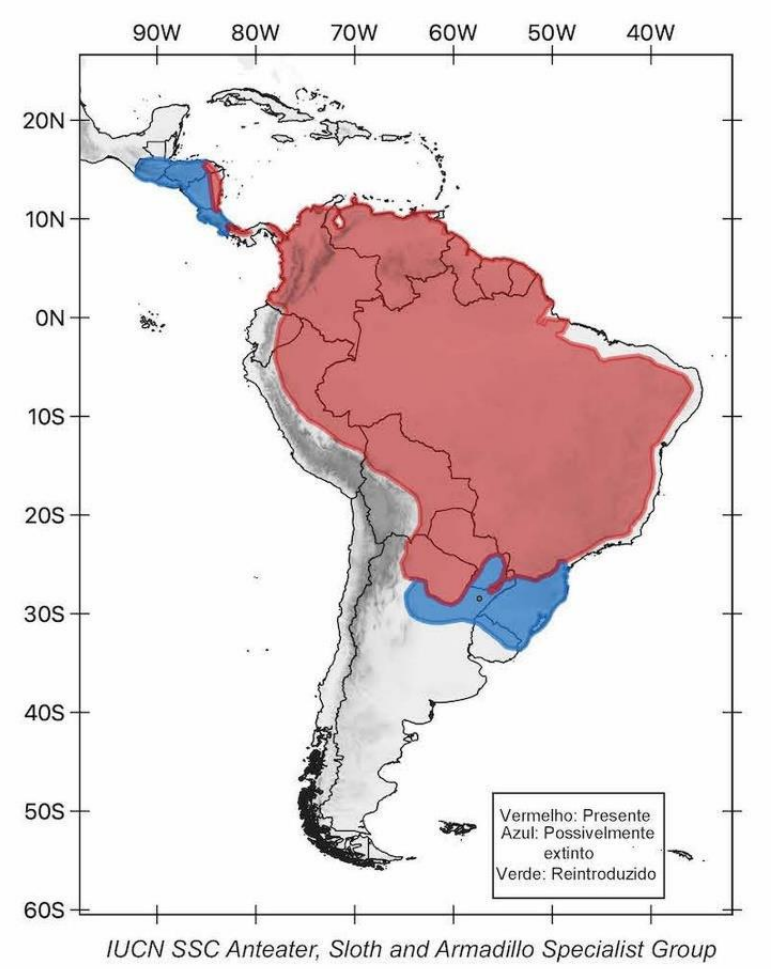
As espécies atuais estão distribuídas em regiões específicas da América Latina, com exceção do tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), que apresenta maior plasticidade geográfica, ocupando também regiões do sul dos Estados Unidos (Vizcaíno; Loughry, 2008). Até o momento, os xenartros são representados pela ordem Pilosa, composta por sete espécies de preguiças e dez espécies de tamanduás, e pela ordem Cingulata, formada por 25 espécies de tatus (Xenarthras, 2025). Os tamanduás são classificados dentro da subordem Vermilingua, sendo as espécies que ocorrem no Brasil divididas pela família Cyclopedidae, representada por cinco espécies de tamanduaís do gênero *Cyclopes* (Miranda, *et al.,* 2018), e a família Myrmecophagidae, que inclue duas espécies: o tamanduá-bandeira do gênero *Myrmecophaga* e o tamanduá-mirim do gênero *Tamandua* (Bertassoni; Novaes; Rodrigues, 2022; Abreu *et al*., 2024).

Tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*)

O tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla)* é o maior representante da família Myrmecophagidae, pesando cerca de 31 kg e chegando a medir até dois metros de comprimento. É uma espécie de hábitos crepusculares e apresenta características anatômicas peculiares diretamente relacionadas ao seu hábito alimentar (Miranda, 2020), como: ausência de dentes, focinho comprido e cônico, língua longa e pegajosa, além do uso de suas garras anteriores desenvolvidas para sua defesa e escavação de formigueiros e cupinzeiros (Bertassoni; Novaes; Rodrigues, 2022). Esses aspectos evolutivos resultam em uma dieta hipocalórica, o que permite que esses animais apresentem baixas taxas metabólicas e temperaturas corporais reduzidas em comparação com outros mamíferos placentários de mesmo peso, resultando em uma limitada capacidade de termorregulação corpórea (Girox *et al*.,2022).

A distribuição geográfica da espécie não é restrita ao território brasileiro, ocorrendo desde o sul de Belize e Guatemala, na América Central, até o sul da América do Sul e norte da Argentina (Miranda *et al*., 2014; Bertassoni; Novaes; Rodrigues, 2022) (Figura 1). No Brasil, historicamente, sua distribuição ocorria em todos os biomas; porém, a espécie encontra-se possivelmente extinta nos Pampas e na Caatinga, onde sua presença demanda confirmação (Roberto, 2018). Esses mamíferos são capazes de percorrer longas distâncias durante um único dia, e o tamanho de sua área vida varia em diferentes estudos, em razão das metodologias de monitoramento adotadas, modelos de precisão de área de vida, características do local de estudo, sazonalidade e influências antrópicas. Apesar disso, existe algumas preferências ambientais da espécie, como hábitats heterogênicos capazes de oferecer recursos alimentares, corredores ecológicos e porções florestais que funcionem como refúgios térmicos. Essas preferências evidenciam a sensibilidade comportamental da espécie aos diferentes fatores provocados por mudanças ambientais (Bertassoni; Ribeiro, 2019; Girox *et al*., 2022).

Figura 1. Distribuição geográfica do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) na América Latina em locais onde a espécie está possivelmente extinta (azul) e distribuição atual da espécie (vermelho).



Fonte: IUCN SSC Anteater, Sloth and Armadillo Specialist Group, 2025.

A espécie é classificada na categoria ´´Vulnerável´´ pela IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza), sendo uma das principais justificativas a perda de cerca de 30% de sua população nos últimos 10 anos (Damo, 2021). Os fatores principais de ameaça à espécie estão relacionados à perda e fragmentação de habitats, grandes incêndios em áreas florestais, mortalidade por atropelamentos, caça ilegal, além da aproximação com animais domésticos- resultando em mortes ou ferimentos causados por cães- e o aumento na transmissão de agentes infecciosos entre espécies (Miranda, *et al.*, 2015). Além disso, em biomas como o Cerrado, que abriga importantes populações

remanescentes da espécie, estudos recentes indicam a exposição desses animais a diferentes contaminantes ambientais como agrotóxicos e mercúrio (Carvalho *et et al*.,2021;Gomes-de-sá *et al*.,2025).

No estado de São Paulo, onde a espécie é considerada ameaçada de extinção, estima-se que as populações existentes possivelmente podem desaparecer entre 20 e 30 anos (Cesário, Clarice Silva, 2021). Isso é intensificado pela tendência de isolamento das populações remanescentes, bem como por aspectos biológicos da própria espécie, como: potencial reprodutivo limitado (geração de apenas um filhote), longo período de gestação (cerca de 190 dias), cuidado parental duradouro, (o filhote permanece cerca de 6 a 9 meses nas costas da mãe), hábitos solitários e baixa taxa metabólica, que contribuem para fenômenos de extinções locais (Sartori *et al.,* 2021).

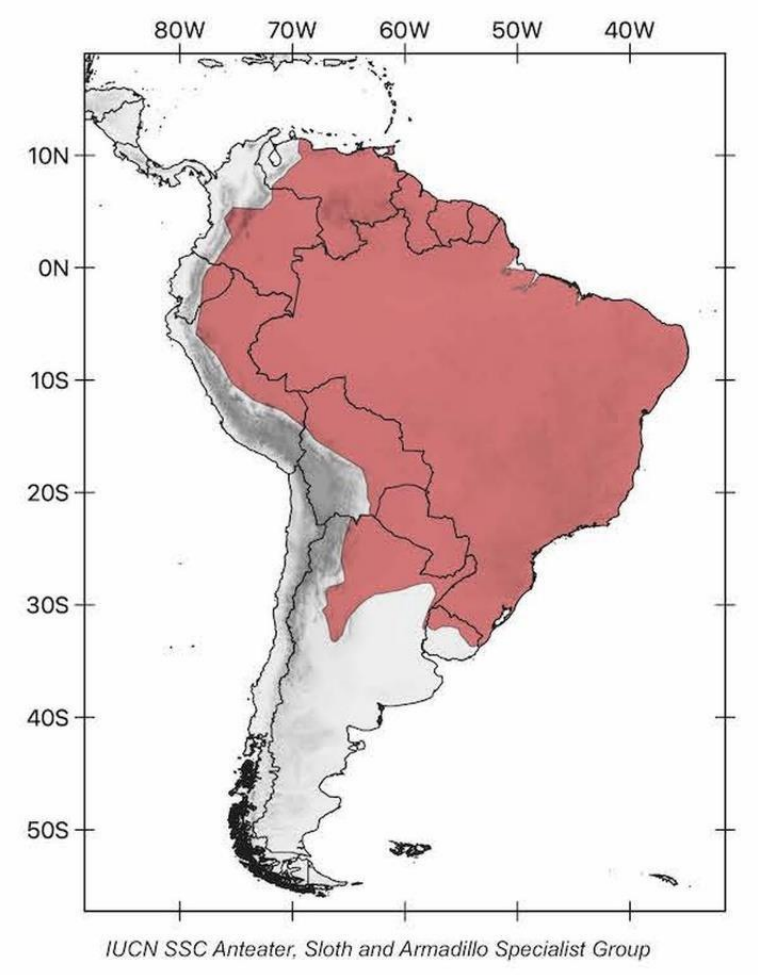
Tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*)

O tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) é um mamífero de médio porte, medindo entre 47 a 77 cm e pesando cerca de 7 kg. Apresenta adaptações morfológicas características do táxon que pertence (subordem Vermilingua), como língua vermiforme e longa, crânio alongado e convexo, sentido olfativo desenvolvido, ausência de dentes, além de possuir uma cauda preênsil (40 a 68 cm), que permite a exploração de alimentos como cupins e formigas, em diferentes extratos florestais (Bernegossi *et al*.,2018). Essa alimentação ocorre tanto em ambientes arbóreos, quanto no extrato terrestre, sendo considerada uma espécie de hábito escansorial (Bertassoni; Novaes; Rodrigues, 2022). São animais de hábitos noturnos-crepusculares, no período da tarde, costumam repousar em árvores. Suas atividades de forrageamento estão condicionadas aos períodos do dia com temperaturas mais baixas-comportamento relacionado à sua limitada capacidade de termorregulação, característica compartilhada com outras espécies de xenartros (Hayssen, 2011).

Sua distribuição geográfica é restrita ao continente sul-americano, ocorrendo desde a Venezuela até o norte da Argentina, sul do Brasil e Uruguai (Figura 2) (Lara, 2014). Em território brasileiro, a espécie está distribuída em todos os biomas e ocorre em simpatria com *M.tridactyla* em grande parte de sua distribuição (Ohana *et al*., 2014). Ocupa uma ampla variedade de habitats, desde campos abertos até florestas densas, embora apresente preferência por regiões mais florestadas. Esses ambientes favorecem o

seu deslocamento, forrageamento, termorregulação e menor exposição a predadores (Desbiez; Medri, 2010).

Figura 2. Distribuição geográfica atual (vermelho) do tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na América do Sul



Fonte: IUCN SSC Anteater, Sloth and Armadillo Specialist Group, 2025.

A nível mundial, a espécie está listada pela IUCN como ´´Menos Preocupante´´ por ser considerada comum, apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorre em áreas protegidas e possui uma população numerosa (Bertassoni; Novaes; Rodrigues, 2022; Ohana *et al*.,2014). Em nível nacional, de acordo com o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), a espécie também está categorizada como "Menos Preocupante".

As maiores ameaças que envolve o tamanduá-mirim são os incêndios, sobretudo em áreas florestadas que intrinsicamente estão relacionadas aos hábitos de vida da espécie, diminuição de habitat, os atropelamentos intensificados por aumento da matriz rodoviária, conflitos com animais domésticos, caça ilegal e, alguns locais de sua distribuição, a espécie é consumida ou utilizada como animal de estimação (Ohana *et al*.,2014).

2.3 Tripanossomatidae

A família Trypanossomatidae é composta por protozoários flagelados pertencentes à ordem Kinetoplastida e inclui diversas espécies que impactam significativamente a saúde humana, animal e vegetal (Plodipaev, 2001). Seu sucesso evolutivo é considerável, refletido em sua ampla distribuição geográfica, capacidade de parasitar diferentes espécies de vertebrados, invertebrados e até mesmo plantas. Evidências filogenéticas demonstram que esse grupo possui uma ancestralidade com origem estimada em cerca de 100 milhões de anos, a partir do qual ocorreu uma diversificação de espécies (Lopes *et al*., 2010). Os principais gêneros de importância médica e veterinária, são *Leishmania* e *Trypanossoma*, desse modo seus representantes estão incluídos no grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas (DNTs). A distribuição desses patógenos está fortemente associado a fatores socioeconômicos, como pobreza e vulnerabilidade, além de aspectos ambientais, sociais e biológicos que influenciam na distribuição espacial dos agentes etiológicos e seus vetores, impactando diretamente na prevalência de infecções em populações humanas (Matiz-González et al., 2025).

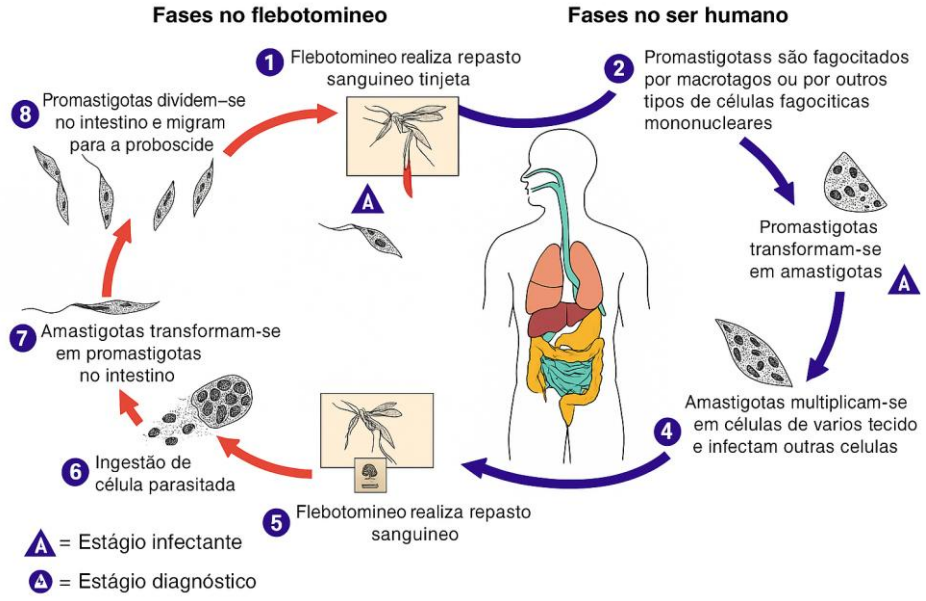
Leishmania sp.

Embora a maioria das espécies da família Trypanossomatidae apresentem ciclo monoxênico, os gêneros *Leishmania* e *Trypanossoma* possuem ciclos dixênicos, exigindo a presença de duas espécies hospedeiras para manutenção de seu ciclo biológico. A transmissão ocorre principalmente por meio de insetos hematófagos (Kaufer *et al*.,2017). No que se refere as leishmanioses, a principal via de transmissão é por meio da picada de

fêmeas de flebotomíneos, pertencente ao gênero *Phebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomia* no Novo Mundo, popularmente conhecidos como mosquito-palha. O gênero *Leishmania* compreende mais de 20 espécies distribuídas em diversos continentes, sendo endêmica em 98 países e 3 territórios, com maior impacto nos países em desenvolvimento (Pace, 2014).

O ciclo de vida da *Leishmania* consiste em duas etapas distintas. No hospedeiro mamífero, a infecção inicia-se com a introdução da forma promastigota metacíclica (forma infecciosa) por meio da picada do artrópode flebotomíneo. Essas formas promastigotas são fagocitadas por macrófagos e se diferenciam na forma amastigota intracelular, que se mantém durante todo o período de infecção no hospedeiro vertebrado. No inseto vetor, o ciclo é mais complexo, envolvendo diversas etapas de diferenciação e adaptação dentro do trato digestivo do díptero, conforme ilustrado na Figura 3 (Cecílio; Cordeiro-da-Silva; Oliveira, 2022).

Figura 3. Esquematização representativa do Ciclo de Vida da *Leishmania spp.*



Fonte: Adaptado de (Centers for Disease Control and Prevention [CDC] 2024).

A leishmaniose apresenta-se em três formas clínicas principais. A forma cutânea é a mais comum, responsável por aproximadamente 800.000 casos anuais em todo mundo, caracterizando-se por lesões e úlceras na pele de pacientes acometidos. A forma mucocutânea geralmente resultante da progressão da forma cutânea, está associada a

deformidades mais severas, incluindo lesões destrutivas nas mucosas das vias aéreas. Já a forma visceral- é conhecida como calazar- considerada a manifestação clínica mais grave da doença, com uma taxa de letalidade de até 90 % em casos não tratados (Horn, 2022).

O Brasil é uma das regiões geográficas onde o patógeno é endêmico e concentra o maior número de casos nas Américas, apresentando registros das três formas clínicas (Anversa *et al*., 2018). Os primeiros casos autóctones de leishmaniose cutânea e mucocutânea, também chamados de leishmaniose tegumentar (LT), foram relatados pelos médicos Antônio Carini e Ulysses Paranhos, no estado de São Paulo, em 1909. As principais espécies envolvidas na LT pertencem a dois subgêneros principais: *Vianna* e *Leishmania,* com destaque para: *L(V.) braziliensis*, *L(V.) guyanensis* e *L(V.) amazonensis*. Essas espécies diferem entre si quanto às manifestações clínicas, vetores e reservatórios, epidemiologia, distribuição geográfica e respostas ao tratamento (Vale; Furtado, 2005). A LT é amplamente distribuída no território brasileiro com notificações em todas as regiões do país. Entre 2001 e 2020 foram 22 registrados 235.301 casos, com mais incidência em estados como Pará e Amazônia, que juntos foram responsáveis por 58 % dos casos (Melo *et al*.,2020).

A leishmaniose visceral (LV), por sua vez, teve seu surgimento no Brasil apenas em 1934, quando um patologista do Serviço de Febre Amarela identificou formas amastigotas da *Leishmania* em amostras de fígado de pacientes inicialmente diagnosticados com febre amarela (Benchimol *et al.,*2019). A espécie mais frequentemente associada à LV no Brasil é a *L.infantum*, com cerca de 3.500 casos notificados anualmente. A doença afeta principalmente indivíduos em situação de vulnerabilidade social e com deficiências nutricionais, o que dificulta as estratégias de controle da doença em países em desenvolvimento, como o Brasil (Dantas-Torres; Brandão-Filho, 2006).

Do ponto de vista saúde animal, os cães domésticos *(Canis lupus familiaris*) desempenham papel essencial como reservatórios da doença em ciclos periurbanos e/ou urbanos atuando como importantes fontes de infecção para humanos (Cubas *et al*.,2014). A relação entre casos humanos e caninos é desproporcional, ou seja, uma média de 200 cães infectados para um caso humano notificado (Sollano-Gallego *et al*.,2011).

***Tripanossoma* sp.**

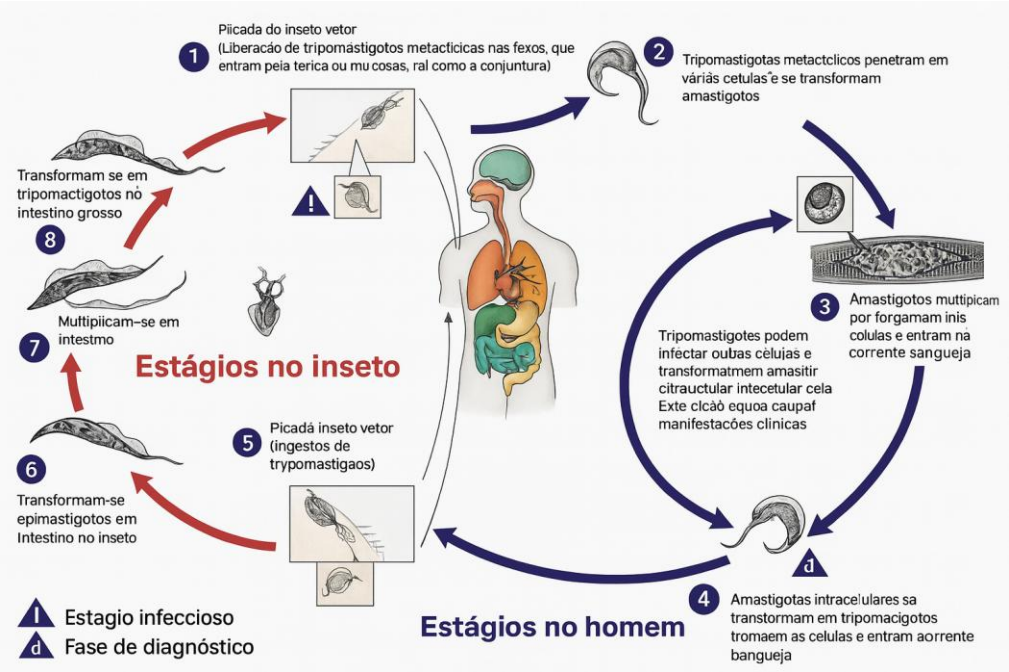
Boa parte das espécies de mamíferos são vulneráveis à infecção por protozoários hemoflagelados do gênero *Trypanossoma*. As doenças provocadas por diferentes espécies deste gênero possuem grande importância dentro da saúde pública e veterinária em diferentes continentes (Eloy; Lucheis, 2009). Entre os exemplos mais relevantes destacam-se *Trypanosoma brucei gambiense* e *Trypanossoma brucei rhodesiense* agentes etiológicos da tripanossomíase africana (doença do sono) cuja transmissão ocorre por meio da picada da mosca tsé-tsé (*Glossina spp.)* (C. Onyekwelu, 2019). Já *Trypanossoma cruzi* representa um patógeno com importância tanto médica quanto veterinária nas Américas, sendo capaz de infectar cerca de 150 espécies de mamíferos domésticos, sinantrópicos e selvagens (Cantillo-Barraza et al., 2020).

No caso dos humanos, a infecção crônica por *T.cruzi* dá origem a doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana. Esta é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma Doença Tropical Negligenciada (DTN), responsável por infectar de 8 a 10 milhões de pessoas em todo mundo. O curso clínico da doença apresenta duas fases: uma fase aguda, frequentemente assintomática ou com sintomas leves, e uma fase crônica, que pode evoluir para quatro formas clínicas principais: indeterminada, cardíaca, digestiva e cardiodigestiva (Fiocruz, 2025). A transmissão vetorial é a via predominante, ocorrendo principalmente pelo contato com fezes e urina de insetos triatomíneos 23 infectados pertencentes a subfamília Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), popularmente conhecidos como ´´barbeiros´´. Além dessa, outras vias de infecção incluem transfusões de sangue, transplantes de órgãos e a ingestão de alimentos ou líquidos contaminados (transmissão oral), transmissão vertical (da mãe para o feto durante a gestação) (Maeda *et al*.2012). Apesar da relevância da via vetorial, observou-se uma redução significativa nessa forma de contágio nas últimas décadas, resultado de ações efetivas de controle de vetores e melhorias nas condições das habitações rurais, contribuindo para transformação do cenário epidemiológico da Doença de Chagas (Cantillo-Barraza et al., 2020). A forma oral de casos agudos de DC tem ganhado relevância, principalmente pelo consumo de alimentos contaminados como açaí, principalmente na região norte do Brasil, sendo este alimento consumido na região sudeste do país elevando o risco de contaminação por T.cruzi (Barbosa et al.,2016;

Zapparoli et al.,2022), além do consumo de caldo de cana (Cardoso et al.,2006; Vargas et al.,2018).

O ciclo de vida do *Trypanossoma cruzi* envolve dois hospedeiros - vetor triatomíneo e o hospedeiro mamífero - e quatro estágios morfológicos distintos. A infecção em mamíferos inicia-se com a penetração das formas tripomastigotas metacíclicas, presentes nas excretas do vetor, que adentram o organismo por meio de lesões provocadas pela picada ou contato com mucosas. Uma vez no organismo, as formas tripomastigotas ligam-se aos receptores de células nucleadas e são internalizadas em vacúolos parasitóforos (PV). Dentro desses vacúolos, os parasitas diferenciam-se em formas amastigotas arredondas, que posteriormente extravasam o PV e colonizam o citoplasma celular. Essa transição é marcada pela perda do flagelo, caracterizando a diferenciação morfológica completa no interior da célula, as amastigotas se multiplicam por fissão binária até que parte delas se diferenciem novamente em formas tripomastigotas não replicativas, que readquirem o flagelo. Após esse processo as formas podem infectar novas células vizinhas ou entrar no sangue ou linfa. Ao ocupar a corrente sanguínea vetores triatomíneos durante o repasto sanguíneo se infectam com o parasita. O desenvolvimento do parasita dentro do inseto começa no intestino médio, onde as formas tripomastigotas tornam-se epimastigotas e se multiplicam. Por fim, as formas epimastigotas se locomovem para o intestino posterior do artrópode e sofrem transformações morfológicas resultando em formas tripomastigotas metacilicas, finalizando o ciclo e tornando-se capazes de infectar novos mamíferos hospedeiros (Figura 4) (Martín-Escolano *et al*.,2022).

Figura 4. Esquematização representativa do Ciclo de Vida do *Trypanosoma cruzi*



Fonte: Adapatado de (Centers for Disease Control and Prevention [CDC] 2024).

A doença de Chagas foi descoberta em 1909, no estado de Minas Gerais, pelo médico sanitarista Carlos Chagas. De acordo com a série histórica do Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, entre os anos 2000 e 2013, observou-se uma redução significativa na transmissão vetorial tradicional da forma aguda da doença. Em contrapartida, a partir de 2005, houve um aumento nos registros de surtos associados a transmissão oral, principalmente na região Norte do país, devido ao consumo de alimentos contaminados como açaí e caldo de cana (Ministério da Saúde, 2015). Informações históricas do mesmo Boletim Epidemiológico, dos anos entre 2009 e 2019, registram 2.821 casos, demonstrando um aumento progressivo. A transmissão oral consolidou-se como a principal via de infecção, responsável por 85,6 % dos casos, predominantemente na região Norte no país, principalmente por conta do consumo de açaí (Martins; Costa, 2022), nas demais regiões do Brasil, predominam-se casos crônicos adquiridos em décadas anteriores. Até o ano de 2023, a doença de Chagas foi responsável por cerca de 4.500 mortes anuais, ocupando a quarta posição entre as doenças infectoparasitárias no país (Ministério da Saúde, 2023).

As espécies de tripanossomíases envolvidas em infecções de animais domésticos no Brasil incluem: *Trypanosoma evansi*, transmitido por dípteros hematófagos das famílias Tabanidae e Muscidae, que acomete principalmente cães e cavalos (Silva *et al*.,1995). Outra espécie de importância veterinária é o *Trypanosoma vivax*, que afeta principalmente bovinos nas regiões Norte e Centro-Oeste (Pantanal) do país, cujos sinais clínicos mais comuns incluem anemia, perda de peso e abortos (Silva *et al*.,2009).

*Tripano*ssomatidae em espécies silvestres

As transmissões por via oral de parasitas dos gêneros *Leishmania* e *Tripanossoma* são consideradas vias importantes em espécies silvestres (Castillo-Castañeda *et al*.2022; Roque; Xavier e Jansen 2020). A compreensão dessa rota de transmissão é fundamental para entender a dinâmica da doença em reservatórios silvestres.

Pelo fato de possuir hábitos sinantrópicos, os marsupiais do gênero *Didelphis* são amplamente estudados no contexto de infecções por *Leishmania* spp. (Corredor *et al*., 1989; Sherlock *et al*.1984; Quaresma *et al*. 2011; Carreira *et al.* 2012). Da mesma forma, os gambás são reconhecidos como importantes reservatórios de *T. cruzi*, infectando-se provavelmente pelo consumo de triatomíneos ou outros artrópodes vetores (Xavier; Jansen; Roque, 2018). Esses animais também apresentam uma específica interação com *T. cruzi*, incluindo a multiplicação e diferenciação de formas epimastigotas nas glândulas odoríferas (Noireau; Diosque; Jansen 2009). Canídeos silvestres, como cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e o cachorro-vinagre (*Speothus venaticus*), também são consideradas potenciais reservatórios de *L.infantum* (Roque; Jansen, 2014).

No caso dos xenartros, esses mamíferos apresentam uma antiga história coevolutiva com tripanossomatídeos (Roque; Jansen, 2014). O tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*) por exemplo, é o único hospedeiro não humano do qual foi isolado *L.naiff* de tecidos do sangue, fígado e baço (Lainson *et al*., 1989). Na Amazônia brasileira, essa espécie de tatu é considerada um dos principais hospedeiros de *Leishmania* spp. (Souza, 2017). Um estudo conduzido no México identificou a presença de *Leishmania* em tecidos de tamanduás-do-norte (*Tamandua mexicana*) (Muñoz-Garcia *et al*.,2019). Da mesma forma, uma pesquisa utilizando ferramentas moleculares em tecidos (fígado) de animais atropelados confirmou a presença de DNA de *Leishmania* spp. em tamanduás, incluindo dois *M.tridactyla* e um *T.tetradactyla* (Richini-Pereira *et al*., 2014).

Com relação ao gênero *Trypanosoma* spp*.,* estudos realizados em áreas peridomiciliares do nordeste da Venezuela destacam a relevância epidemiológica de *D.novemcinctus* participando como reservatório da doença de Chagas, com detecção de DNA de *T.cruzi* por meio de técnicas moleculares (Morocoima *et al.*, 2012). Posteriormente, em uma área endêmica no mesmo país, foi constatada a coinfecção por T.cruzi e T.rangeli em indivíduos de T.*tetradactyla* (Herrera *et al*.,2022). Recentemente, essa perspectiva de circulação da presença de triatomíneos em áreas peridomicilares de munícipios do estado de São Paulo foi fortalecida pelos achados de Monteiro *et al.* (2025). No Brasil, especificamente no estado do Pará, uma investigação detectou infecções mistas por *T.rangeli*, *T.cruzi* e *L.infantum* em amostras de medula óssea e sangue de indivíduos de *T.tetradactyla* (De Araújo *et al*.,2012). Da mesma forma, outro estudo empregando abordagens moleculares identificou tripanossomatídeos em tecidos de tamanduás-bandeira e tamanduás-mirins, coletados de animais atropelados. Amostras de baço, fígado e linfonodos revelaram uma prevalência média de 20% desses parasitas (Fakelmman, 2023).

Nessa perspectiva, as principais motivações que norteiam a análise de tripanossomatídeos nesse estudo envolvendo os tamanduás-bandeira e mirins são: (1) a longa história evolutiva desses animais com as espécies de tripanossomatídeos (Roque e Jansen, 2014); (2) ampla documentação na literatura científica da presença de diferentes espécies de tamanduás como reservatórios desses parasitas; (3) seus hábitos mirmecofágicos, que podem incluir a ingestão de insetos triatomíneos infectados.

2.4 *Babesia* spp.

As doenças parasitárias são comumente consideradas causas de grandes impactos sobre a saúde pública de populações que vivem em regiões tropicais e subtropicais, sobretudo em razão dessas áreas promoverem condições abióticas e bióticas favoráveis à maior riqueza de espécies, incluindo um número maior de hospedeiros susceptíveis que sustentam esses patógenos (Short; Caminade; Thomas, 2017). Parte dessas doenças, como as causadas por espécies do gênero *Babesia spp*., são transmitidas por vetores artrópodes como carrapatos do gênero *Ixodes* (Alkishe; Perterson; Samy, 2017). Esses animais são hematófagos obrigatórios, e sua abundância está diretamente relacionada à presença de hospedeiros, temperatura, umidade e precipitação (Ledwaba *et al*.,2022). Em

um planeta sujeito a alterações ambientais constantes, tanto carrapatos quanto hospedeiros são diretamente afetados, em função das modificações nos habitats e nichos ecológicos dessas espécies (Ogden *et al*., 2021). Assim como os hospedeiros e vetores, os parasitas também sofrem impactos-os aumentos de temperatura modificam seus ciclos biológicos, afetando a prevalência desses organismos, uma vez que seu desenvolvimento é dependente da temperatura, tanto dentro do hospedeiro quanto no ambiente (Short; Caminade; Thomas, 2017).

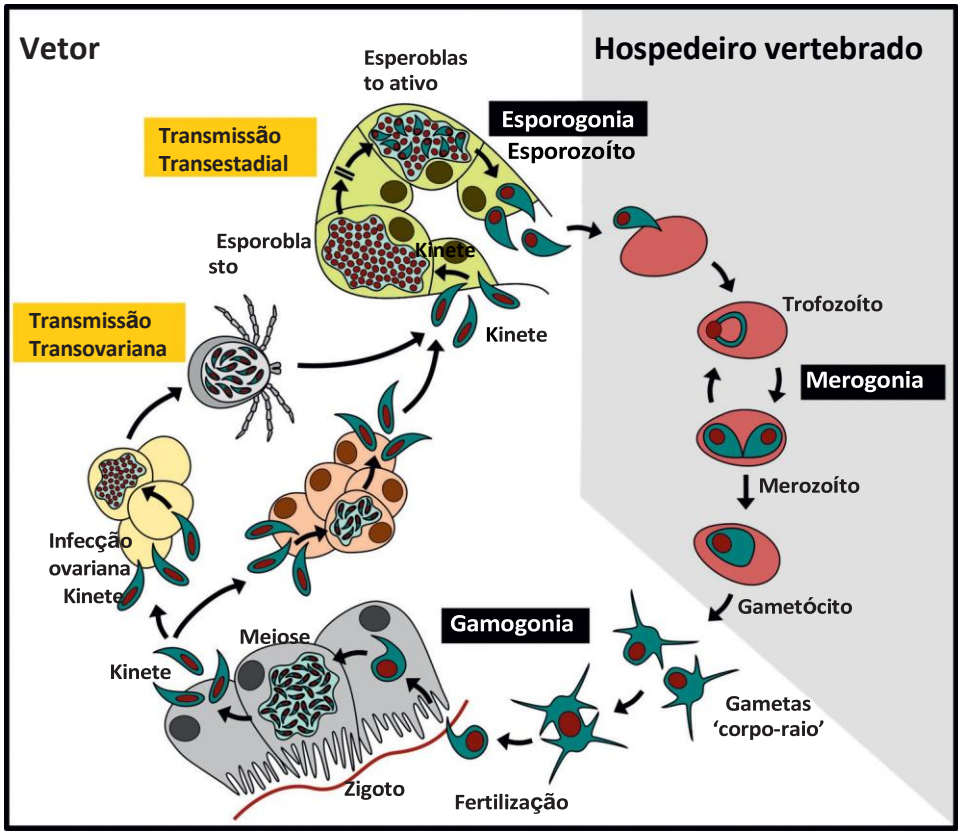
A descoberta do gênero *Babesia* ocorreu em 1988, por intermédio de investigações realizadas pelo médico Victor Babes em gado romeno que apresentava sintomas de hemoglobinúria, sendo ele o primeiro a identificar microrganismos no sangue desses animais. Logo após, Babes encontrou organismos semelhantes em glóbulos vermelhos de ovinos. Cinco anos depois, nos EUA, Smith e Kilborne demonstraram a presença de um organismo causador da ´´febre do Texas´´(babesiose), doença que afetava criadores de gado no sul do país (Smith; Kilbourne, 1893). Esse episódio é considerado o primeiro relato de transmissão transovariana de *Babesia* por um vetor artrópode. Os patógenos descritos por Victor Babes, Smith e Kilborne, posteriormente foram nomeados como *B.bovis*, *B.ovis* e *B.bigemina* (Schinttger *et al*.,2012). O patógeno foi gradualmente identificado em diversas regiões do mundo, caracterizado por seu potencial zoonótico em países tropicais e subtropicais (Laha; Das; Sen, 2015).

O gênero *Babesia* pertence a ordem Piroplasmida, composta pelas famílias Babesidae (gêneros *Babesia* e *Rangelia*) e Theileridae (genêros *Theileria* e *Cytauxzoon*), grupo de protozoários especializados em parasitar células sanguíneas como linfócitos, eritrócitos, monócitos ou células endoteliais a depender da espécie envolvida (Calchi *et al*. 2023). Algumas características fenotípicas são determinantes para a diferenciação desses táxons, especialmente quanto às particularidades envolvidas no ciclo de vida de vida. Espécies de *Babesia* spp. apresentam uma transmissão transovariana, persistindo por várias gerações do carrapato, ausência de células esquizontes e divisão exclusivamente em eritrócitos do hospedeiro vertebrado. Em contrapartida, espécies de *Theileria* spp. são reconhecidas por sua transmissão transestadial, presença de esquizontes e reprodução em linfócitos (Maria; Basil, 2006). O filo Apicomplexa, o a qual pertencem esses protozoários também incluem patógenos de importância médica e veterinária como *Plasmodium* spp. (agente causador da Malária), *Cryptosporidium* spp.,

Eimeria spp., *Isospora* spp. e *Toxoplasma gondii* (Yasbley; Shock, 2013).

Todas as espécies de *Babesia* descritas até o momento são transmitidas por carrapatos ixodídeos, que necessitam, obrigatoriamente de um hospedeiro vertebrado para manter seu ciclo de vida (Homer *et al*.,2000). Seu objetivo biológico é garantir sua propagação e transmissão entre hospedeiros por meio de estágios infecciosos especializados. O ciclo de vida da *Babesia* spp. inicia-se quando esporozoítos são transmitidos ao hospedeiro vertebrado durante a alimentação do carrapato. Esses esporozoítos invadem os glóbulos vermelhos, multiplicando-se por merogonia (fissão binária) e produzindo merozoítos, que reinfectam outras células. Parte desses merozoítos origina gametócitos, que, ao serem ingeridos por um carrapato, originam gametas. Após a fusão genética, o zigoto invade o intestino do carrapato, onde forma cinetos que se dispersam para órgãos como ovários (transmissão transovariana) e as glândulas salivares (transmissão transestadial). Quando o carrapato infectado se alimenta novamente, os esporozoítos formados completam o ciclo em um novo hospedeiro (Figura 3) (Jalovecka *et al*., 2019).

Figura 5. Esquematização representativa do Ciclo de Vida da *Babesia sensu stricto*.



Fonte: Adaptado de Jalovecka *et al*., 2019.

Com mais de 100 espécies descritas (Soares *et al.,* 2015), a *Babesia spp*. é considerada um dos hemoparasitas mais comuns do mundo, ficando atrás apenas das espécies de Tripanossoma, e apresenta uma ampla gama de vertebrados hospedeiros. Uma das principais razões para essa diversidade biológica é o grande número de mamíferos e aves já identificados como portadores do parasita. É provável que praticamente todos os vertebrados possam ser infectados, desde que ofereçam condições adequadas para o desenvolvimento das diferentes espécies de carrapatos vetores do agente etiológico. Além do mais, novas espécies continuam sendo descritas, muitas vezes em hospedeiros não tradicionais ou inesperados (Schnittger *et al*.,2012).

O primeiro relato de babesiose humana foi descrito em 1957, em um paciente croata que submetido a esplenectomia. O indivíduo, um fazendeiro que apresentava sintomas de hemoglobinúria e febre, veio a óbito após o início do quadro clínico. O diagnóstico foi feito por meio de análises de fotomicrografias de esfregaços sanguíneos,

compatíveis com *B.divergens* (Hildebrandt *et al*.,2021). Após esse primeiro relato, os avanços nas áreas de microscopia, biologia celular e técnicas moleculares possibilitaram a expansão do conhecimento sobre espécies zoonóticas da protozoário, culminando na descoberta de novas espécies em diferentes continentes (Florin-Christensen; Schnittger, 2018). Os principais meios de transmissão para humanos incluem: a picada de carrapatos infectados, transfusões de sangue e a transmissão congênita durante o período gestacional (Young *et al*.,2019). As principais espécies envolvidas em infecções humanas até o momento são: *B.microti*, *B.divergens*, *B.duncani* e *B.venatorum*.

Uma das espécies zoonóticas mais importantes, *B.microti,* foi registrada pela primeira vez nos EUA em 1966. Desde então, observou-se um aumento significativo na incidência da doença no país, com aproximadamente 2.000 casos anuais. Com ênfase, entre o período de 2006 e 2011, quando houve um crescimento de 260 % nos números de casos registrados, totalizando 568 ocorrências (Ord; Lobo, 2015). Em 2011, tornou-se obrigatória a notificação da doença em 18 estados norte-americanos, diante do reconhecimento do avanço do risco de transmissão do protozoário por transfusões sanguíneas, principalmente em estados no leste do país onde a doença humana é endêmica. O principal reservatório animal nesses locais, é o roedor nativo camundongo-de-patas-brancas (*Peromyscus leucopus)* (Yasbley; Shock, 2013).

Na Europa, os primeiros registros de babesiose humana ocorreram na década de 1950, conforme descrito anteriormente. Duas décadas depois em 1970, novos casos foram relatados no Reino Unido e na França. Até o momento 19 países europeus notificaram casos da doença, sendo que grande parte dos quadros mais graves e fatais foi registrado em pacientes esplenectomizados infectados com *B.divergens*. As espécies relevantes para saúde pública europeia são: *B.microti*, *B.divergens* e *B.venatorum*, com aproximadamente 35 casos atribuídos a *B.divergens*, cinco a *B.venatorum* e 11 a *B.microti,* excluindo casos de pessoas contaminadas com a doença no continente americano (Hildebrandt *et al*.,2021). O gado bovino é considerado a principal espécie de reservatório de *B.divergens*, fato sustentado por análises de sequenciamento do gene 18 S rRNA. Apesar disso, algumas espécies de cervídeos como *C.elaphus, A.alces , R.tarandus*, *C.nippon*, também podem atuar como reservatórios e representar risco zoonótico para humanos (Fanelli, 2021). Por sua vez, *B. venatorum* e *B.microti* têm como reservatórios silvestres, respectivamente o veado *C.apreolus capreolus* e algumas espécies de pequenos

mamíferos.

Com relação ao histórico da doença no Brasil, o primeiro caso humano foi registrado no estado de Pernambuco, em 1983. O paciente apresentava sintomas semelhantes aos da malária e o diagnóstico foi realizado por meio de exame microscópico (Alecrim *et al*.1983). No geral, os casos de *Babesia* spp. diagnosticados no Brasil e na América do Sul são esporádicos e limitam-se a relatos pontuais. Em 2003, foi identificado no país um caso de infecção por *B.microti* em uma criança assintomática com hepatoblastoma. Na Bolívia, um estudo baseado em análises microscópicas e testes moleculares detectou *B. microti* em 3,3% dos indivíduos analisados, enquanto testes sorológicos revelaram uma taxa de positividade de 45,7%. Na região amazônica, foi registrado o primeiro caso de infecção humana por *B. bigemina* (Calvopiña *et al*., 2023).

As doenças parasitárias, como a babesiose, provocam perdas econômicas significativas na produção animal mundial além de afetarem o bem-estar de animais domésticos de pequeno e grande porte. As manifestações clínicas incluem febre alta, hemoglobinúria, anemia hemolítica grave, icterícia, distúrbios neurológicos e, em casos mais graves, óbitos. Sendo assim, a babesiose bovina destaca-se como uma das enfermidades mais relevantes na medicina veterinária, afetando expressivamente os rebanhos (Florin-Christensen; Schnittger, 2018). Mundialmente, a babesiose bovina é causada por seis espécies principais: *B.bigemina*, *B.bovis*, *B.occultans, B.divergens, B.major* e *B.argentina*. Dentre estes, *B.bovis* e *B.bigemina* apresentam alta patogenicidade e possui uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo na África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul e sul da Europa (Jacob *et al.,*2020). A China um dos maiores produtores mundiais de carne bovina, tem registros históricos da doença desde 1974, além de identificar uma nova espécie do protozoário, *B.* U sp. Kashi, que infecta gados chineses (He *et al*.,2021).

Ainda no contexto da saúde de animais domésticos, destaca-se a babesiose canina, causada pelas espécies *B.canis*, *B.vogeli*, *B.rossi*, *B.coco*, *B.negevi*, *B.gibsoni, B.conradae* e *B.vulpes*. Os cães atuam como hospedeiros intermediários, e a gravidade do quadro clínico varia de acordo com o parasita e o estado imunológico do animal. A forma mais grave é geralmente atribuída a infecção por *B.rossi,* enquanto, *B.vogeli* é associada a infecções leves ou subclínicas, possuindo ampla distribuição geográfica, alta variedade de vetores monotrópicos e longa coevolução com os cães (Zygner *et al*.,2023, Petra *et*

*al.,*2018, 2003; Soares, 2015; Dias e Ferreira, 2016). A hemoglobinúria intensa também pode levar a quadros de nefropatias, devido a sua nefrotoxicidade (Olicheski, 2003; Soares, 2015).

Babesia spp. em espécies silvestres

Estudos sugerem que infecções por *Babesia* em animais selvagens geralmente se manifestam de forma menos severa do que em animais domésticos (Schnittger *et al*., 2012). Essa diferença pode estar relacionada a fatores como evolução prolongada entre parasitas e seus hospedeiros selvagens, desenvolvimento de imunidade adquirida, ausência de estresse em ambientes domésticos e fatores genéticos relacionados aos processos de seleção artificial, são condições determinantes para que magnitude da doença seja mais atenuada em espécies selvagens (Keesing *et al*., 2010). Ainda assim, diversas espécies de mamíferos e aves já foram identificadas como hospedeiras de *Babesia* incluindo: gaivota (*Larus cachinnans*), átobas-pardos (*Sula leucogaster),* morcegos (*Pipistrellus sp.),* guepardo (*Acinonyx jubatus),* caracal (*Caracal caracal*), guaxinim (*Procyon lotor*), entre outros (Criado-Fornelio *et al*.,2003; Yasbley *et al*.,2006, Concannon *et al*.,2005, Bosman *et al*.,2010, Penzhorn *et al*.,2001, Birkenheuer *et al.,*2006.

No que diz respeito à fauna silvestre brasileira, destaca-se um estudo recente utilizando marcadores moleculares e análises filogenéticas para evidenciar a importância do *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) como reservatório de piroplasmídeos e *Hepatozoon sp.* no pantanal, no estado do Mato Grosso do Sul. Análises filogenéticas e a utilização de três marcadores moleculares distintos (18S rRNA, cox-1 e hsp70) sustentava a descrição de uma nova espécie de *Babesia* sp. *(Babesia pantanalensis* nov. sp.) (Calchi *et al*., 2024). Além disso, pesquisas conduzidas nos estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo com mamíferos da superordem Xenarthra, identificaram infecções por piroplasmídeos em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), tamanduás-mirins (*Tamandua tetradactyla*), tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), tatu-peba (*Euphractus sexcintus*) e tatu-canastra (*Priodontes maximus*). Os dados obtidos por meio de ensaio de nPCR sugerem a presença de pelo menos duas espécies distintas de piroplasmídeos parasitando xenarthras (Calchi *et al*., 2023). Estudos anteriores realizados em tamanduás mantidos em centros de reabilitação nos estados de Goiás e Minas Gerais, utilizando PCR

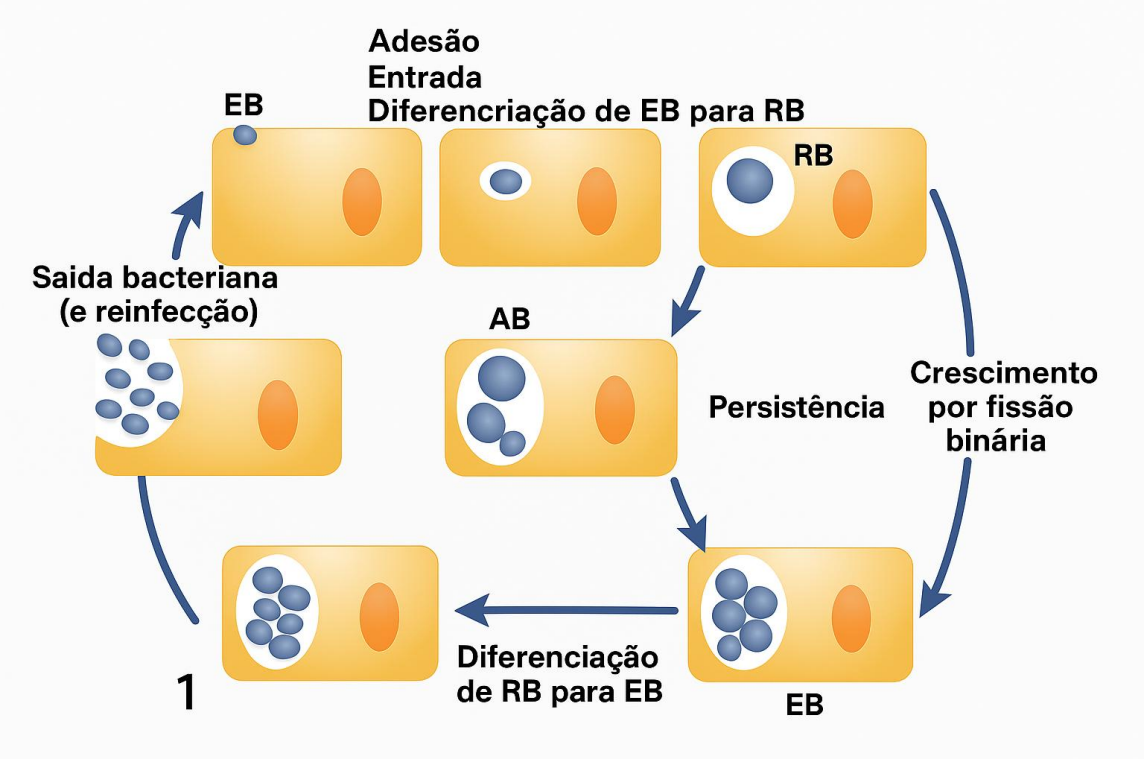
baseado no gene 18S rRNA, também detectaram a presença de piroplasmídeos, embora não tenha havido sequenciamento dos produtos amplificados (Fava *et al*.,2022).

Nesse sentido, as principais motivações para a investigação de infecção por *Babesia* em tamanduás-bandeira e mirins neste estudo são: (1) mudanças climáticas que modificam a distribuição e abundância de vetores como carrapatos em todo mundo (Short; Caminade; Thomas);(2) características morfológicas e ecológicas desses animais como grande massa corporal e pelagem densa, que aumentam a área de contato com o ambiente e, consequentemente, com ectoparasitas (Cesário, Clarice Silva, 2021); (3) A existência de registros prévios de infecções por piroplasmídeos em tamanduás-bandeira e mirins tanto em indivíduos de vida livre quanto em cativeiro (Calchi *et al*., 2023; Fava *et al*.,2022).

2.5 *Chlamydia* spp.

As bactérias da família *Chlamydiacea* são reconhecidas como importantes microrganismos patogênicos, com relevância tanto na medicina humana quanto na veterinária. Uma das características distintivas desse grupo de bactérias é a capacidade de infectar uma ampla variedade de espécies de mamíferos e aves. As espécies pertencentes a essa ordem apresentam um ciclo de vida singular bifásico e obrigatoriamente intracelular, com dependência total dos metabólitos do hospedeiro (Burnard; Polkinghorne, 2016). O ciclo inicia-se com os corpos elementares (EBs)- a forma infecciosa da bactéria que se desenvolvem no ambiente extracelular com cerca de 0,2 μm de diâmetro e infecta as células epiteliais da mucosa do hospedeiro. Após a adesão e a entrada na célula hospedeira, os EBs se diferenciam, dentro de um vacúolo endocítico não fusogênico denominado inclusão, em corpos reticulados (RBs) (cerca de 0,8 μm), forma não infecciosa, porém metabolicamente ativa, que se multiplica por fissão binária. Após diversos ciclos de replicação, os RBs sofrem uma nova diferenciação, retornando à forma de EBs infecciosos. Os EBs maduros completam o ciclo de desenvolvimento e são liberados da célula hospedeira por meio de lise celular ou extrusão celular, conforme ilustrado na (Figura 6) (Borel; Polkinghorne; Pospischil, 2018).

Figura 6. Esquematização representativa do Ciclo de Vida bifasico da *Chlamydia spp*.



Fonte: Adaptado de Borel; Polkinghorne; Pospischil, 2018.

Após revisões taxonômicas históricas, foi proposto por Greub (2010) e Stephens *et al*., (2009) a consolidação dos membros da família Chamydiaceae em um único gênero, *Chlamydia*, atualmente composto por 11 espécies, sendo elas: *C.trachomatis*, *C.pecorum*, *C.muridarum, C.pneumoniae*, *C.suis*, *C.abortus, C.felis, C.caviae, C.gallinaceae, C.avium* e *C.psittaci,* assim como as 3 espécies *Candidatus* (Ca.): Ca. C. ibidis, Ca. C.sanzinia, 168 e Ca. C.corallus (Taylor-Brown, *et al*. 2015).

Dentre elas destaca-se *Chlamydia trachomatis,* considerada por diversos autores a doença bacteriana sexualmente transmissível mais comum do mundo, além de ser a principal causa de cegueira infecciosa a nível mundial (Rohde *et al*., 2010; Thomas *et al*., 2017). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que anualmente surjam mais de 90 milhões de novos casos de infecções por clamídia (Borges *et al*., 2011).

Outra espécie relevante para medicina humana é a C.*pneumoniae*, um patógeno respiratório, sexualmente não transmissível, cuja infecção ocorre por inalação de partículas respiratórias suspensas. O patógeno é responsável por quadros de infecções respiratórias agudas, e está associado a doenças respiratórias crônicas como asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), otite média e complicações em pacientes com fibrose cística (Campbell *et al*.,1998). Somado a isso, evidências apontam sua possível relação com enfermidades neurodegenerativas como esclerose múltipla e Alzheimer (Contini *et al*.,2010), bem como sua associação com doenças cardiovasculares, como a doença arterial coronária (Al-Khatib; Al-Alawneh, 2013).

No contexto zoonótico, a *Chlamydia psittaci,* também conhecida como ornitose, psitacose ou febre do papagaio é a principal espécie com potencial zoonótico onde as aves são os reservatórios predominantes, causando prejuízos econômicos significativos na indústria avícola. A infecção humana ocorre principalmente pela inalação de aerossóis contendo partículas bacterianas provenientes de penas, carcaças ou fezes de animais contaminados ou até mesmo a exposição transitória com aves infectadas e/ou ambientes contaminados (Knittler; Sachse, 2015). Uma condição agravante para propagação da doença é o fator de estresse sobre aves contaminadas que podem intensificar a eliminação da bactéria com mais frequência favorecendo a transmissão e a contaminação ambiental. Embora as aves sejam os principais reservatórios, estudos utilizando sorologia, cultura de bactérias e testes moleculares identificaram a presença de *C.psittaci* em diferentes espécies de mamíferos (Chan *et al*., 2017; Fenga *et al*., 2007; Kampinga *et al*., 2000; Sprague *et al*., 2009). Nesses casos, os mamíferos atuam como hospedeiros intermediários contribuindo para a disseminação da bactéria ao homem, sem atuar como reservatórios naturais (Hogerwerf *et al*.,2020).

Dentre as metodologias diagnósticas, destacam-se ferramentas moleculares como sequenciamento, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real e microarrays, especialmente com base no gene da proteína A da membrana externa da bactéria que codifica MOMP (ompA), usado para determinar cepas aviárias de *Cp.psittaci* (Beeckman; Vanrompay, 2009), sendo que a técnica considerada padrão-ouro de diagnóstico para detecção de espécies de *Chlamydia* é a PCR (Mamun *et al*.,2023).

Outro patógeno importante é a *C. abortus*, associada a distúrbios reprodutivos em animais de produção e considerado uma das causas mais comuns de aborto infeccioso em

ovinos e caprinos (Turin *et al*.,2022). Apesar do patógeno acometer principalmente ruminantes, infecções também foram relatadas em equinos, cervídeos e suínos ((Silva; Freitas; Müller, 2006; Essig; Longbottom, 2015). O aborto acontece no final da gestação, de modo que, a bactéria coloniza progressivamente a placenta, provocando danos ao epitélio coriônico, resultando em lesões ao feto em diferentes graus, contribuindo para nascimentos de cordeiros com perda fetal, ou seja, abortados ou até mesmo natimortos, indivíduos fracos que não suportam até 24 horas, após o seu nascimento, em alguns casos até mesmo animais vivos e saudáveis que suportaram uma infecção placentária reduzida (Turin *et al*.,2022). Um estudo realizado nos estados de São Paulo e Minas Gerais registrou 19,55% de ovinos soropositivos para *C.abortus* (Rossi *et al*.,2012), evidenciando o impacto econômico relevante para a indústria pecuária nacional e mundial. A natureza zoonótica de *C.abortus* representa risco à saúde humana, especialmente gestantes e indivíduos imunocomprometidos que atuam em ambientes rurais, matadouros ou clínicas veterinárias, podendo ocasionar sintomas respiratórios graves e abortos espontâneos (Li *et al*., 2018; Essig; Longbottom, 2015).

Chlamydia spp. em espécies silvestres

No cenário da conservação de mamíferos selvagens, um dos relatos mais significativos envolvendo infecções de *Chlamydia* refere-se ao impacto do patógeno *C.pecorum* sobre populações de coalas australianos (*Phascolarctos cinereus*), contribuindo, juntamente com fatores antropogênicos para extinções dessas populações (Burnard; Polkinghorne, 2016). Outros estudo sobre fauna exótica também revelam a presença do patógeno. No Parque Nacional do Serengeti, técnicas moleculares e testes imuno-histoquímicos utilizando amostras de tecidos de órgãos de mamíferos selvagens africanos identificaram o DNA de *C.abortus* em búfalos africanos (*Syncerus caffer*) e em uma hiena-malhada (*Crocuta crocuta*). Em um dos búfalos positivados foi detectada infecção mista por *C.abortus* e *C.pneumoniae* por meio de sequenciamento (Pospichil *et al*.,2012). No que se trata da fauna selvagem nativa, grande parte dos esforços têm se concentrado em psitacídeos selvagens, como relatado por Raso *et al*., (2002); Raso *et al*., (2006); Proença; Fagliari; Raso, 2011, (2021); Vasconcelos *et al*., (2016). Ainda assim, há uma expressiva lacuna de informações sobre infecções de *Chlamydia* em mamíferos brasileiros. Apesar disso, dois estudos investigaram a possível presença do patógeno em

tamanduá-bandeira, o primeiro realizado por Miranda *et al*., 2015 mediante a avaliação de anticorpos de diferentes bactérias, incluindo a *Chlamydia*, em animais de vida livre do Pantanal, Parque Nacional das Emas e Parque Nacional Serra da Canastra. Os resultados foram negativos, porém, a autora relata um caso suspeito de aborto espontâneo causado possivelmente por *C.abortus* em uma fêmea de tamanduá-bandeira cativa do Zoológico de São Paulo. O segundo estudo analisou amostras fecais de tamanduás-bandeira cativos em Centros de Triagem de Minas Gerais, Bahia e Distrito Federal. Apesar do uso de testes moleculares, os resultados também não detectaram a presença da bactéria (Tessari *et al*.,2022).

Diante disso, este estudo justifica-se pelas seguintes motivações que norteiam a análise de *Chlamydia* em tamanduás-bandeira e mirins: (1) longos ciclos reprodutivos dessas espécies, especialmente do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) uma espécie ameaçada de extinção, que sendo impactada por uma doença capaz de causar danos reprodutivos pode representar um sério risco à conservação (Miranda *et al*.,2015);(2) As condições de estresse de aves em cativeiro potencializa a transmissão da bactéria, aumentando as chances de transmissão para mamíferos susceptíveis, como tamanduás (Chan *et al*., 2017) e (3) Os fatores antrópicos como fragmentação e perda de hábitats que intensificam o contato entre animais selvagens e animais de produção elevando o risco de infecção, por meio da interação direta com fluídos e materiais procedentes de aborto de animais infectados (Figura 7) (Miranda *et al*.,2015).

Figura 7. Local de aproximação entre tamanduá-bandeira e gado doméstico – Parque Nacional das Emas (PNE). No fundo da imagem um rebanho de bovinos pertencente a proprietários do entorno.



Fonte: Dissertação Miranda (2008) - Foto de Leandro Silveira, PNE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Edson F. *et al.* **Lista de Mamíferos do Brasil**. Zenodo, , 20 dez. 2024. Disponível em: <https://zenodo.org/doi/10.5281/zenodo.14536925>. Acesso em: 29 set. 2025.

ALECRIM, I. *et al*. Registro do primeiro caso de infecção humana por Babesia spp. no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 12, n. 1, p. 11–29, 1983.

AL-KHATIB, A. J. M.; AL-ALAWNEH, M. Exploring the relationship between the infection of C. pneumoniae and coronary artery disease**. European Scientific Journal**, v. 9, n. 6, p. 195–213, 2013.

ALKISHE, Abdelghafar A.; PETERSON, A. Townsend; SAMY, Abdallah M. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick Ixodes ricinus. **PLOS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0189092, 5 dez. 2017.

ANVERSA, Laís *et al.* Human leishmaniasis in Brazil: A general review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, n. 3, p. 281–289, mar. 2018.

ASOKAN, Govindaraj V. One Health and Zoonoses: The Evolution of One Health and Incorporation of Zoonoses. **Central Asian Journal of Global Health**, v. 4, n. 1, 23 jul. 2015.

BENCHIMOL, Jaime Larry *et al.* Leishmanioses: sua configuração histórica no Brasil com ênfase na doença visceral nos anos 1930 a 1960. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 14, n. 2, p. 611–626, ago. 2019.

BERNEGOSSI, Agda Maria *et al.* Evaluation of collared anteaters (Tamandua tetradactyla) presented in a wildlife health reference center of São Paulo state, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 1, 8 fev. 2018.

BERTASSONI, Alessandra; NOVAES, Marisa De Oliveira; RODRIGUES, Flávio Henrique Guimarães. Tamanduás (Vermilingua, Pilosa) da Bacia do Alto Paraguai: uma revisão do conhecimento do planalto à planície pantaneira. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, v. 17, n. 1, p. 71–93, 3 jun. 2022.

BERTASSONI, Alessandra; RIBEIRO, Milton Cezar. Space use by the giant anteater (Myrmecophaga tridactyla): a review and key directions for future research. **European Journal of Wildlife Research**, v. 65, n. 6, p. 93, dez. 2019.

BIRKENHEUER, Adam J. *et al.* Molecular Characterization of a Babesia Species Identified in a North American Raccoon. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n. 2, p. 375–380, abr. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico: Doença de Chagas aguda no Brasil - Série histórica de 2000 a 2013**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2015.

BOREL, Nicole; POLKINGHORNE, Adam; POSPISCHIL, Andreas. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists? **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 3, p. 374–390, maio 2018.

BORGES, João Bosco Ramos *et al.* Prevalence of Chlamydia trachomatis infection among women seen at the lower genital tract pathology clinic, Jundiaí School of Medicine, Brazil. **Einstein (São Paulo)**, v. 9, n. 3, p. 332–336, set. 2011.

BOSMAN, Anna-Mari *et al. Babesia lengau* sp. nov., a Novel *Babesia* Species in Cheetah (*Acinonyx jubatus* , Schreber, 1775) Populations in South Africa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2703–2708, ago. 2010a.

BOSMAN, Anna-Mari *et al. Babesia lengau* sp. nov., a Novel *Babesia* Species in Cheetah (*Acinonyx jubatus* , Schreber, 1775) Populations in South Africa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2703–2708, ago. 2010b.

BURNARD, Delaney; POLKINGHORNE, Adam. Chlamydial infections in wildlife–conservation threats and/or reservoirs of 'spill-over' infections? **Veterinary Microbiology**, v. 196, p. 78–84, nov. 2016.

C. ONYEKWELU, Kenechukwu. Life Cycle of *Trypanosoma cruzi* in the Invertebrate and the Vertebrate Hosts. *In*: DE SOUZA, Wanderley (Org.). **Biology of Trypanosoma cruzi**. *[S.l.]*: IntechOpen, 2019.

CALCHI, Ana Cláudia *et al.* Molecular detection of piroplasmids in mammals from the Superorder Xenarthra in Brazil. **Parasitology Research**, v. 122, n. 12, p. 3169–3180, dez. 2023.

CALCHI, Ana Cláudia *et al.* Phylogenetic inferences based on distinct molecular markers reveals a novel Babesia (Babesia pantanalensis nov. sp.) and a Hepatozoon americanum-related genotype in crab-eating foxes (Cerdocyon thous). **Experimental Parasitology**, v. 262, p. 108786, jul. 2024a.

CALCHI, Ana Cláudia *et al.* Phylogenetic inferences based on distinct molecular markers reveals a novel Babesia (Babesia pantanalensis nov. sp.) and a Hepatozoon americanum-related genotype in crab-eating foxes (Cerdocyon thous). **Experimental Parasitology**, v. 262, p. 108786, jul. 2024b.

CALVOPIÑA, Manuel *et al.* Case report: First report on human infection by tick-borne Babesia bigemina in the Amazon region of Ecuador. **Frontiers in Public Health**, v. 11, p. 1079042, 4 ago. 2023.

CAMPBELL, L. A.*et al*. *Chlamydia pneumoniae,* asthma, and COPD: what is the evidence? Annals of Allergy, **Asthma & Immunology**, v. 83, p. 271–288, 1998.

CANTILLO-BARRAZA, Omar *et al.* Trypanosoma cruzi infection in domestic and synanthropic mammals such as potential risk of sylvatic transmission in a rural area from north of Antioquia, Colombia. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 11, p. e00171, nov. 2020.

CARVALHO, Gabriel Oliveira De *et al.* Biomonitoring mercury contamination using fur from roadkilled giant anteaters. **Chemosphere**, v. 270, p. 128644, maio 2021.

CASTILLO-CASTAÑEDA, J. M. *et al*. Molecular detection of trypanosomatids among cave-dwelling bats from Colombia. International Journal for Parasitology: **Parasites and Wildlife**, v. 20, p. 1–10, 2022.

CECÍLIO, Pedro; CORDEIRO-DA-SILVA, Anabela; OLIVEIRA, Fabiano. Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with Leishmania parasites. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 305, 4 abr. 2022.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *Parasites – American trypanosomiasis (also known as Chagas disease), life cycle of Trypanosoma cruzi*. Division of Parasitic Diseases and Malaria (DPDx). 2024. Disponível em: https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html. Acesso em: 2 out. 2025.

CESÁRIO, CLARICE SILVA. **Aspectos parasitológicos e sanitários de tamanduás-bandeira (Myrmecophaga tridactyla) de vida livre**. 17 maio 2021. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/7369a252-1428-48b0-9f3e-f6de226e7f43>.

CONCANNON, R. *et al.* Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. **Parasitology**, v. 131, n. 4, p. 489–496, out. 2005.

CRIADO-FORNELIO, A. *et al.* Molecular studies on Babesia, Theileria and Hepatozoon in southern Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 3–4, p. 189–201, maio 2003.

CUNNINGHAM, Andrew A.; DASZAK, Peter; WOOD, James L. N. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, n. 1725, p. 20160167, 19 jul. 2017.

DAMO, J.S. **Fatores da paisagem que influenciam a abundância e a detectabilidade do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) em seis unidades de conservação do Brasil**.2021.50p. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

DANTAS-TORRES, Filipe; BRANDÃO-FILHO, Sinval Pinto. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151–156, jun. 2006.

DARIO, Maria Augusta *et al.* Small subunit ribosomal metabarcoding reveals extraordinary trypanosomatid diversity in Brazilian bats. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005790, 20 jul. 2017.

DE ARAÚJO, Vitor Antônio L. *et al.* Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi* , *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. **Parasitology**, v. 140, n. 4, p. 455–460, abr. 2013.

DE FREITAS RASO, Tânia *et al.* Chlamydophila psittaci in free-living Blue-fronted Amazon parrots (Amazona aestiva) and Hyacinth macaws (Anodorhynchus hyacinthinus) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 117, n. 2–4, p. 235–241, out. 2006.

ELOY, Lj; LUCHEIS, Sb. Canine trypanosomiasis: etiology of infection and implications for public health. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. 589–611, 2009.

ESSIG, Andreas; LONGBOTTOM, David. Chlamydia abortus: New Aspects of Infectious Abortion in Sheep and Potential Risk for Pregnant Women. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 2, n. 1, p. 22–34, mar. 2015.

EVIDENCE OF CHLAMYDOPHILA PSITTACI INFECTION IN CAPTIVE AMAZON PARROTS IN BRAZIL. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 2, p. 118–121, jun. 2002.

FANELLI, Angela. A historical review of Babesia spp. associated with deer in Europe: Babesia divergens/Babesia divergens-like, Babesia capreoli, Babesia venatorum, Babesia cf. odocoilei. **Veterinary Parasitology**, v. 294, p. 109433, jun. 2021.

FAVA, Natália M. N. *et al.* Occurrence and Molecular Identification of Hemoparasites in Wild Mammals Kept in Rehabilitation Centers in Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 67, n. 1, p. 476–486, mar. 2022.

FENGA, C. et al**.** Occupational exposure and risk of *Chlamydia psittaci* infection in humans: a seroepidemiological study among poultry workers in Sicily. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, v. 20, n. 3, p. 265–270, 2007.

FLORIN-CHRISTENSEN, Monica; SCHNITTGER, Leonhard (ORGS.). **Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets**. 1st edition 2018 ed. Cham: Springer International Publishing, 2018.

GIROUX, Aline *et al.* The role of environmental temperature on movement patterns of giant anteaters. **Integrative Zoology**, v. 17, n. 2, p. 285–296, mar. 2022.

GOMES-DE-SÁ, Érica Fernanda Gonçalves *et al.* Conservation Blind Spots: Scenarios for Assessing the Exposure Risk of Brazilian Mammals to Pesticides. **Mammal Review**, v. 55, n. 4, p. e12386, out. 2025.

GREUB, Gilbert. International Committee on Systematics of ProkaryotesSubcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: Minutes of the inaugural closed meeting, 21 March 2009, Little Rock, AR, USA. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. 11, p. 2691–2693, 1 nov. 2010.

H. LOPES, Angela *et al.* Trypanosomatids: Odd Organisms, Devastating Diseases. **The Open Parasitology Journal**, v. 4, n. 1, p. 30–59, 10 dez. 2010.

HAYSSEN, Virginia. Tamandua tetradactyla (Pilosa: Myrmecophagidae). **Mammalian Species**, v. 43, p. 64–74, 21 jan. 2011.

HE, Lan *et al.* Babesiosis as a potential threat for bovine production in China. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 460, dez. 2021.

HERRERA, Leidi *et al.* Infections and Coinfections by Trypanosomatid Parasites in a Rural Community of Venezuela. **Acta Parasitologica**, v. 67, n. 2, p. 1015–1023, jun. 2022.

HILDEBRANDT, Anke *et al.* Human Babesiosis in Europe. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1165, 9 set. 2021.

HOGERWERF, Lenny *et al.* Animal sources for zoonotic transmission of psittacosis: a systematic review. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 192, dez. 2020.

HOMER, M. J.*et al*.. Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 3, p. 451–469, 2000.

HORN, David. A profile of research on the parasitic trypanosomatids and the diseases they cause. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 1, p. e0010040, 13 jan. 2022.

JACOB, Siju Susan *et al.* Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 283, p. 109136, jul. 2020.

JALOVECKA M. *et al.* Babesia Life Cycle- When Phylogeny Meets Biology **Trends in Parasitology,** v.35, e.5, p.356-358, mai. 2019.

JANSEN, Ana Maria; XAVIER, Samanta Cristina Das Chagas; ROQUE, André Luiz Rodrigues. Trypanosoma cruzi transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 502, dez. 2018.

KAUFER, Alexa *et al.* The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 287, dez. 2017.

KEESING, F. *et al*. Effects of species diversity on disease risk. **Ecology Letters**, v. 14, n. 7, p. 700–707, 2010.

KNITTLER, M.R.; SACHSE, K. Chlamydia psittaci update on an underestimated zoonotic agente. **Pathogens ands Diseases,** Oxford, v.3 (1), p.1-15,.2015.

LAHA, Ramgopal; DAS, M.; SEN, A. Morphology, epidemiology, and phylogeny of Babesia: An overview. **Tropical Parasitology**, v. 5, n. 2, p. 94, 2015.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonian brazil. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 64, n. 1, p. 3–9, 1989.

LARA, Camila Clozato. **Estrutura populacional em tamanduá-mirim (Tamandua tetradactyla Linnaeus, 1758): variação molecular em regiões genômicas neutras e**

sob-seleção. Doutorado em Biologia—São Paulo: Universidade de São Paulo, 18 dez. 2014.

LEDWABA, Maphuti B. *et al.* Distribution and prevalence of ticks and tick-borne pathogens of wild animals in South Africa: A systematic review. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 2, p. 100088, 2022.

MELO, Maria Gabriella Nunes De *et al.* Clinical and epidemiological profiles of patients with American cutaneous leishmaniasis from the states of Pernambuco and Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. e20200083, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença de Chagas** . Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/d/doenca-de-chagas>. Acesso em: 27 mar. 2025.

MIRANDA, A. **Avaliação comportamental e espacial de tamanduá-bandeira *Myrmecophaga tridactyla* (LINNAEUS, 1758) reabilitado na Fazenda Orgânica Vale do Tamanduá, Aragoiânia, Goiás**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Escola de Ciências Agrárias e Biológicas de Goiás, Pontíficia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 30 p., 2020.

MIRANDA, F. R *et al*. Avaliação do risco de extinção de *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus 1758 no Brasil. Avaliação do Risco de Extinção de Xenartros Brasileiros. **Série Estado de Conservação da Fauna Brasileira nº2** Brasília, v.2, p. 89-106, 2014.

MIRANDA, Flávia R. *et al.* Serosurvey of Leptospirainterrogans, Brucellaabortus and Chlamydophilaabortus infection in free-ranging giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla) from Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 462–465, maio 2015.

MIRANDA, Flávia R. *et al.* Taxonomic review of the genus Cyclopes Gray, 1821 (Xenarthra: Pilosa), with the revalidation and description of new species. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 183, n. 3, p. 687–721, 28 jun. 2018.

MONTEIRO, Eliana Ferreira *et al.* Molecular Characterization of Trypanosoma cruzi from Triatomine Species in São Paulo State, an Area Free of Vector-Borne Chagas Disease. **Insects**, v. 16, n. 2, p. 161, 4 fev. 2025.

MOROCOIMA, Antonio *et al.* Trypanosoma cruzi III from armadillos (Dasypus novemcinctus novemcinctus) from Northeastern Venezuela and its biological behavior in murine model. Risk of emergency of Chagas' disease. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 3, p. 341–347, nov. 2012.

MUÑOZ-GARCÍA, Claudia I. *et al.* The role of sloths and anteaters as Leishmania spp. reservoirs: a review and a newly described natural infection of Leishmania mexicana in the northern anteater. **Parasitology Research**, v. 118, n. 4, p. 1095–1101, abr. 2019.

NOIREAU, François; DIOSQUE, Patricio; JANSEN, Ana Maria. *Trypanosoma cruzi* : adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, v. 40, n. 2, p. 26, mar. 2009.

OGDEN, Nicholas H. *et al.* Possible Effects of Climate Change on Ixodid Ticks and the Pathogens They Transmit: Predictions and Observations. **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 4, p. 1536–1545, 16 jul. 2021.

OHANA, J.A.B *et al.* Avaliação do risco de extinção de *Tamandua tetradactyla* Linnaeus 1758 no Brasil. Avaliação de Risco de Extinção de Xenarthros Brasileiros. **Série Estado de Conservação da Fauna Brasileira nº2** Brasília, v.2, p.107-117, 2014.

ORD, Rosalynn Louise; LOBO, Cheryl A. Human Babesiosis: Pathogens, Prevalence, Diagnosis, and Treatment. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 2, n. 4, p. 173–181, dez. 2015.

ORŁOWSKA, Blanka *et al.* First detection and phylogenetic analysis of Trypanosoma species in European wolves and bears: discovery of novel haplotypes. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 4160, 4 fev. 2025.

PACE, David. Leishmaniasis. **Journal of Infection**, v. 69, p. S10–S18, nov. 2014.

PENZHORN, Barend L. *et al. Babesia leo* N. Sp. from Lions in the Kruger National Park, South Africa, and Its Relation to Other Small Piroplasms. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 681–685, jun. 2001.

PESSANHA, Thaíla Santos *et al.* "Mi Casa, Tu Casa": the coati nest as a hub of Trypanosoma cruzi transmission in the southern Pantanal biome revealed by molecular blood meal source identification in triatomines. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 26, 23 jan. 2023.

PLOWRIGHT, Raina K. *et al.* Pathways to zoonotic spillover. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 8, p. 502–510, ago. 2017.

PODLIPAEV, Sergei. The more insect trypanosomatids under study-the more diverse Trypanosomatidae appears. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 5–6, p. 648–652, maio 2001.

POSPISCHIL, Andreas *et al.* Evidence for Chlamydia in Wild Mammals of the Serengeti. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, n. 4, p. 1074–1078, out. 2012.

PRIYADARSINI, S. Lakshmi; SURESH, M.; HUISINGH, Donald. What can we learn from previous pandemics to reduce the frequency of emerging infectious diseases like COVID-19? **Global Transitions**, v. 2, p. 202–220, 2020.

PROENÇA, Laila Maftoum; FAGLIARI, José Jurandir; RASO, Tânia De Freitas. Infecção por C. psittaci: uma revisão com ênfase em psitacídeos. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, p. 841–847, maio 2011.

RICHINI-PEREIRA, Virginia *et al.* Molecular detection of Leishmania spp. in road-killed wild mammals in the Central Western area of the State of São Paulo, Brazil.

Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 20, n. 1, p. 27, 2014.

ROBERTO, Vinicius Alberici. **Distribuição potencial e atual do tamanduá-bandeira (Myrmecophaga tridactyla) e indicação de áreas prioritárias para sua conservação**. Mestrado em Ecologia Aplicada—Piracicaba: Universidade de São Paulo, 9 maio 2018.

ROHDE, Gernot *et al.* Chlamydial Zoonoses. **Deutsches Ärzteblatt international**, 12 mar. 2010.

ROQUE, André Luiz R.; JANSEN, Ana Maria. Wild and synanthropic reservoirs of Leishmania species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, dez. 2014.

ROSSI, Rodolfo Santos *et al.* Sinais clínicos e ocorrência de anticorpos anti-Chlamydophila abortus em ovinos de São Paulo e Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2018–2024, 25 set. 2012.

SANTOS, Paloma Marques *et al.* NEOTROPICAL XENARTHRANS: a data set of occurrence of xenarthran species in the Neotropics. **Ecology**, v. 100, n. 7, p. e02663, jul. 2019.

SARTORI, Ricardo Quiterio *et al.* Identifying Priority Giant Anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) Populations for Conservation in São Paulo State, Brazil. **Ecology and Evolution**, v. 11, n. 2, p. 700–713, jan. 2021.

SHORT, Erica E.; CAMINADE, Cyril; THOMAS, Bolaji N. Climate Change Contribution to the Emergence or Re-Emergence of Parasitic Diseases. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v. 10, p. 1178633617732296, 1 jan. 2017.

SILVA, R. A. *et al*. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cru*z***, v. 91, n. 5, p. 561–562, 1996.

SILVA, Aleksandro Schafer Da *et al.* Primeiro registro de Trypanosoma vivax em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550–2554, 25 set. 2009.

SILVA, Francielle Gibson Da; FREITAS, Julio Cesar De; MÜLLER, Ernst Eckehardt. Chlamydophila abortus em animais de produção. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 342–348, fev. 2006.

SMITH, Theobald; KILBORNE, F. L. **Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever**. Washington, D.C: U.S. Dept. of Agriculture, Bureau of Animal Industry, 1893.

SOARES, Herbert S. *et al.* Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 1, p. 125–140, jan. 2015.

SOLANO-GALLEGO, Laia *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 1, p. 86, dez. 2011.

SPRAGUE, L. D. et al. Detection of *Chlamydophila psittaci* in asymptomatic animals. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 47, n. 6, p. 175–181, 2009.

SOUSA, Mônica S. *et al. Leptospira interrogans* infection of southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla* , Linnaeus, 1758) in Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, p. tbed.13523, 6 mar. 2020.

SOUZA, Danilo Kluyber De. **Avaliação da prevalência de patógenos zoonóticos de importância para a saúde pública em tatus de vida livre - Mato Grosso do Sul - Brasil**. Mestrado em Doenças Tropicais e Saúde Internacional—São Paulo: Universidade de São Paulo, 24 jan. 2017.

SVARTMAN, Marta; STONE, Gary; STANYON, Roscoe. The Ancestral Eutherian Karyotype Is Present in Xenarthra. **PLoS Genetics**, v. 2, n. 7, p. e109, 21 jul. 2006.

TESSARI, H. C. C. P. *et al.* Investigation of Chlamydia sp., Morbillivirus sp., Parvovirus sp., Leishmania sp. and Alphacoronavirus sp. in captive giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 74, n. 5, p. 833–840, out. 2022.

THOMAS, Pierre *et al.* Burden of Chlamydia trachomatis in India: a systematic literature review. **Pathogens and Disease**, v. 75, n. 5, 31 jul. 2017.

Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. *[S.l.]*: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2014.

TURIN, Lauretta *et al.* Recent advances and public health implications for environmental exposure to Chlamydia abortus: from enzootic to zoonotic disease. **Veterinary Research**, v. 53, n. 1, p. 37, 31 maio 2022.

VALE, Everton Carlos Siviero Do; FURTADO, Tancredo. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 421–428, ago. 2005.

VIZCAÍNO, Sergio F.; LOUGHRY, W. J. **The biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida, 2008.

XENARTHRA. **Espécies tamanduás.** Disponível em: https://xenarthrans.org/pt/tamanduas/. Acesso em: 5 jan.2025.

XENARTHRA. **Southern Tamandua.** Disponível em: https://xenarthrans.org /species/anteaters/southern-tamandua/. Acesso em: 6 jan. 2025.

XENARTHRA. **Tamandua-bandeira.** Disponível em: https://xenarthrans.org/ pt/tamanduas/tamandua-bandeira-myrmecophaga-tridactyla/ Acesso em: 6 jan. 2025.

YABSLEY, Michael J.; SHOCK, Barbara C. Natural history of Zoonotic Babesia: Role of wildlife reservoirs. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 2, p. 18–31, dez. 2013.

YOUNG, Kaitlin M. *et al.* Zoonotic Babesia: A scoping review of the global evidence. **PLOS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0226781, 30 dez. 2019.

ZANELLA, Janice Reis Ciacci. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 510–519, maio 2016.

ZYGNER, Wojciech *et al.* Canine Babesiosis Caused by Large Babesia Species: Global Prevalence and Risk Factors—A Review. **Animals**, v. 13, n. 16, p. 2612, 13 ago. 2023.

CAPÍTULO II: TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho enviado para a *Journal of Wildlife Diaseases*

Normas disponíveis em: https://meridian.allenpress.com/jwd/pages/Author-Information

RRH: MACHADO ET AL. – ZOONOTIC AGENTS IN ANTEATERS

Potentially Zoonotic Agents in Giant Anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) and Southern Tamanduas (*Tamandua tetradactyla*) from São Paulo State, Brazil.

Mateus Oliveira Machado[1,2,5], Larissa Pereira Rodrigues [1,2], João Otávio Mochiuti [1,2] , Catharina Eulasya Resende[1,2] Talita Aleixo Nakajima[2] e Lígia Souza Lima Silveira da Mota[1,2].

ABSTRACT: The giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) and the southern tamandua (*Tamandua tetradactyla*) are wild mammals with a potential role as reservoirs of zoonotic pathogens. This study investigated the presence of trypanosomatids, *Babesia* spp., and *Chlamydia* spp. in anteaters from different municipalities in São Paulo State, Brazil. A total of 31 blood and fecal samples were analyzed using molecular techniques (PCR and nested PCR) and sequencing of the 18S rRNA gene. All samples contained endogenous mammalian DNA (GAPDH), and 11 (42.3%) were positive for trypanosomatids, identified as *Tripanosoma cruzi* (*T.cruzi*) by sequencing and Bayesian phylogenetic analysis. No infections with *Babesia* spp. or *Chlamydia* spp. were detected. These findings indicate that anteaters participate in natural cycles of *T. cruzi*, reinforcing their role as relevant wild hosts, with important implications for animal and human health and conservation under the One Health framework. This work contributes to understanding the zoonotic epidemiology of xenarthrans, providing insights for surveillance and prevention strategies of transmissible diseases.

Key-words: Anteaters, One Health, *Trypanosoma cruzi*, Wild reservoirs, Zoonoses.

INTRODUCTION

Approximately 75% of the emerging and re-emerging diseases identified in the last century are of zoonotic origin (Zanella 2016), defined as diseases or infections naturally transmissible between vertebrate animals and humans (Asokan 2015), representing a major challenge to global public health. The phenomenon of spillover represents a determining factor in this process, occurring when pathogens present in animal hosts overcome, within a certain spatial and temporal interval, a set of ecological, biological, and behavioral barriers resulting in the risk of zoonotic spillover (Plowright et al. 2017).

Human-driven environmental imbalances directly affect the natural cycles of microorganisms, either by altering the distribution of vectors or by increasing interactions among wildlife, domestic animals, and humans (Calchi et al. 2023). These factors, often neglected, are directly associated with the increase in the probability of pathogen transmission among wildlife and human populations (Priyadarsini et al. 2020).

The giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) and the southern tamandua (*Tamandua tetradactyla*), as well as other wild mammals, interact with multiple zoonotic pathogens, including parasitic and bacterial agents (Sousa et al. 2020; Pessanha et al. 2023). The xenarthrans, taxonomic group to which these species belong, present a long coevolutionary history with trypanosomatids (Roque and Jansen 2014). Studies demonstrate that these protozoa can naturally infect anteaters without causing severe clinical manifestations, reinforcing the importance of these species in the understanding of host–pathogen interactions (De Araújo et al. 2013; Richini-Pereira et al. 2014; Herrera et al. 2022). A molecular marker commonly used for sensitive detections and phylogenetic comparison among protozoa, including trypanosomatids, is the 18S rRNA gene, due to its high conservation across taxa, combined with variable regions that allow the discrimination of closely related lineages (Dario et al. 2017; Orłowska et al. 2025).

Although recent molecular analyses have detected piroplasmids in anteaters (Fava et al. 2022; Calchi et al. 2023) and the presence of ixodid ticks (*Amblyomma nodosum, A. calcaratum, A. pseudoconcolor* and *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*) (Muñoz-Garcia

et al. 2019) responsible for the transmission of several pathogens, there are, to date, no reports of infections by protozoa of the genus *Babesia* spp. in anteaters. In the same way, the few studies directed to the investigation of bacteria of the genus *Chlamydia* spp. in anteaters did not obtain positive results regarding the presence of the agent (Miranda et al. 2015; Tessari et al. 2022). Despite the absence of records of these microorganisms in these animals, their clinical implications are relevant in different wild and domestic mammals, both native and exotic, resulting in diseases that directly impact wildlife conservation and animal production on a national and global scale (Silva et al. 2006; Bosman et al. 2010; Schnittger et al. 2012; Burnard and Polkinghorne 2016; Turin et al. 2022; Calchi et al. 2024).

Aligned with the One Health framework, which seeks to understand and address the intrinsic links among environmental, animal, and human health (Cunningham et al. 2017), this study aimed to investigate and identify, through molecular techniques, the presence of DNA of trypanosomatids, *Babesia* spp. and *Chlamydia* spp. in anteaters from the state of São Paulo.

MATERIALS AND METHODS

Sample Collection

Individual samples of whole blood and feces, collected between 2012 and 2025 from 30 individuals of the species *Myrmecophaga tridactyla* and *Tamandua tetradactyla*, were provided by the Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) and the Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ), both part of the Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) of the Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), located in the municipality of Botucatu, São Paulo. The samples were obtained from animals referred to CEMPAS and SDZ originating from 18 municipalities in the state of São Paulo. The weight, sex, and age class (infant, juvenile, subadult and adult) were determined based on physical evaluations performed by the veterinarians responsible for the collection (Table 1).

Table 1. Total number of animals referred to CEMPAS and SDZ, according to species, weight range, sex and age.

Species	Weight (kg)	Sex		Age			
		M	F	FI	J	SA	A
M. tridactyla	0,8-41	16	8	2	1	3	18
T.tetradactyla	2,0-6,0	3	3	0	1	1	4
							Total:30

*M= male; F=female; FI= infant; J= juvenile; SA= subadult; A= adult.

For sample collection of biological samples, the animals were subjected, when necessary, to chemical restraint through intramuscular administration in the forelimbs or hindlimbs with ketamine (Quetamina®, Vetnil, Brazil) and midazolam (Dormire®, Cristália, Brazil), at doses of 8 mg/kg and 0.3 mg/kg respectively, according to the anesthetic protocol adopted in the institutions. Throughout the anesthetic procedure, animals were monitored for basic physiological parameters to ensure their welfare.

Blood samples were obtained by venipuncture, with approximately 2 mL of whole blood collected and stored in EDTA vacuum tubes (Vacutainer®), then frozen at –20ºC until DNA extraction. Fecal samples were opportunistically collected immediately after defecation, placed in 50 mL Falcon-type plastic tubes, and stored at –20 ºC.

The protocols involving the handling and management of animals were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA, protocol no. 0562/2023) and by the Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO, authorization no. 86964-1).

Molecular Analyses

Total DNA was extracted from fecal samples using the phenol-chloroform technique, according to the protocol described by Sambrook and Russel (2012). For blood samples, the extraction of total DNA was performed with the DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN) according to the manufacturer's instructions. DNA quantification was performed by spectrophotometry (ND-1000 Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific), measuring absorbance at 260–280 nm to assess purity and concentration. The extracted DNA was tested for the presence of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene.

Conventional Polymerase Chain Reactions (PCR) and Nested PCR were employed to detect the presence of pathogens of the genera *Babesia* spp., *Chlamydia* spp., and species of the family Trypanosomatidae.

All PCR reactions were performed in a final volume of 25 µL, containing 12.5 µL of 2.0× Taq DNA Polymerase Master Mix (Class Five), 0.5 µL of each primer (50 ng/µL), 1–7 µL of DNA (100 ng/µL), and 10.5–4.5 µL of ultrapure water. For Nested PCR reactions, 1–7 µL of the amplified product from the first assay was used as template. The primers used, their sequences, target genes, and expected amplicon sizes are detailed in Table 2. As positive controls, each assay included 10 ng of DNA from pathogens of different sources. For trypanosomatid analyses, including *T. cruzi*, the Y strain of *T. cruzi* from the protozoan collection of the Oswaldo Cruz Institute (COLPROT 0106) was used. DNA of *Babesia* spp. was obtained from the whole blood of an infected opossum, and DNA of *Chlamydia* spp. from an *in vitro* culture of *C. psittaci* (Cpsi/Mm/BR01 – GenBank JQ926183.1). Sterile ultrapure water (Milli-Q) was used as a negative control in all reactions.

Table 2. Primers used in this study, nucleotide sequences, target genes, and expected size of amplicons.

Primer	Sequence (5'-3')	Target Gene (locus)	Product (pb)	Reference
GAPDH-F	CCTTCATTGACCTCAACTACAT	GAPDH	400	Birkenheyer et al. (2003)
GAPDH-R	CCAAAGTTGTCATGGATGACC			
TRY816-F	CAGAAAGAAACACGGGAG	18S (SSU) rRNA	816/650	Noyes et al. (1999)
TRY816-R	CCTACTGGGCAGCTTGGA			
SSU450-F	TGGGATAACAAAGGAGCA			
SSU450-R	CTGAAGCTGTAACCCTCAAAGC			
BAB 143-167F	CCGTGCTAATGTAGGGCTAATACA	18S rRNA	700	Lemos et al. (2012)

BAB 858-834R	CCTCTGCAAGTAAATAGCCTACT			
Chl5AF	CAGGATATCTTGTCTGGCTTTAA	MOMP	260	Raso et al. (2006)
Chl5BR	GCA AGG ATC GCA AGG ATC			
121	AAATAATGTACGGGTGAGATGCATA	kDNA (cinetoplasto)	330	Viettri et al. (2018)
122	GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAATAA			

*pb= base pairs; F= forward; R= reverse; MOMP= Major Outer Membrane Protein, kDNA= kinetoplast mitochondrial DNA.

The reactions were performed in an Eppendorf Mastercycler Nexus X2 thermocycler. PCR products were visualized and separated by electrophoresis in 1.5% agarose gel stained with GelRed® (Uniscience) for 1 h at 110 V. The gels were observed under a transilluminator (Benchtop UV Transilluminator, Cambridge, UK), and images were processed using UVP® VisionWorksLS™ software (LifeScience Software), comparing the fragments to a 100 bp molecular weight standard (Class Five NeoBio).

Genetic Sequencing

PCR-positive products were purified by enzymatic reaction, adding 1 µL of ExoSAP-IT enzyme (GE Healthcare) to 4 µL of the product, followed by incubation at 37 ºC for 45 min and inactivation at 80 ºC for 25 min, according to the manufacturer's instructions.

The purified amplicons were sent to the Instituto de Biotecnologia (IBTEC/UNESP) for sequencing by the Sanger method, in an ABI 3100 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Sequencing reactions were prepared with 2 µL of Save Money buffer (400 mM Tris-HCl pH 9, 0.10 mM $MgCl_2$), 2 µL of BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems), 5 pmol of forward and reverse primers, and the purified PCR product (up to 400 ng of DNA), completing the volume with ultrapure water.

Sequence quality and electropherograms were assessed in BioEdit and ClustalW Multiple Sequence Alignment. For validation, ChromasPro v1.42 (Technelysium Pty Ltd)

was used. Sequence identity was confirmed by alignment against the GenBank database using BLASTn.

Phylogenetic Analyses

The sequences obtained were aligned with validated references from NCBI using the MUSCLE algorithm (Edgar 2004), and phylogenetic grouping was assessed by Bayesian inference in BEAST 2 software (Bouckaert et al. 2014). The convergence of the Markov chains and the burn-in period were verified in Tracer (Drummond and Rambaut 2007). Final summarization and visualization were performed with TreeAnnotator and FigTree v1.3.1 (Drummond and Rambaut 2007). *Trypanosoma vivax* (MH184518.1) was used as an outgroup.

All analyses, except for Sanger sequencing, were carried out at the Laboratório de Genética Animal, Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, UNESP.

RESULTS

Molecular Analyses

All 31 DNA samples analyzed were positive for the endogenous mammalian gene (GAPDH). Of these, 26 were blood samples, 11 of which (42.3%) tested positive for trypanosomatids, including seven giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*; 63.6% of the animals) and four southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla*; 36.3%). Molecular analyses for *Babesia* spp. and *Chlamydia* spp. showed no amplification in any sample, including the five fecal samples screened for *Chlamydia*. For samples positive for trypanosomatids, an additional primer set (121 and 122) was used to amplify a specific region of the kinetoplast DNA (kDNA) of *Trypanosoma cruzi*; however, kDNA was not detected in any of the samples.

Among *M. tridactyla* individuals that tested positive, five (71.4%) were males and two (28.5%) were females. In *T. tetradactyla*, two males (50%) and two females (50%) tested positive. All animals referred to the institutions originated from the state of São Paulo. The municipalities of Lençóis Paulista, Piratininga, Areiópolis, Avaré, Capão

Bonito, Jaú, Promissão, and Cerqueira César each had at least one infected animal, whereas Botucatu presented the highest number of positives, with three 3 animals (Table 3; Figure 1).

Table 3. Trypanosomatid infections detected in 11 anteaters (*Myrmecophaga tridactyla* and *Tamandua tetradactyla*) in municipalities of São Paulo State.

Species	Sample ID (sex)	Municipality	*T.cruzi* 121/122	Tripanossomatidae	*Babesia* spp.	*Chlamydia* spp.
M. tridactyla	(MT-01 male)	Botucatu	-	Positive	-	-
T.tetradactyla	(TT-01 male)	Lençóis Paulista	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-02 male)	Botucatu	-	Positive	-	-
T.tetradactyla	(TT-03 female)	Piratininga	-	Positive	-	-
T.tetradactyla	(TT-04 male)	Areiópolis	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-07 male)	Avaré	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-09 female)	Capão Bonito	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-11 male)	Jaú	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-14 female)	Botucatu	-	Positive	-	-
M.tridactyla	(MT-15 male)	Promissão	-	Positive	-	-
T.tetradactyla	(TT-06 female)	Cerqueira César	-	Positive	-	-

*Negative (-)

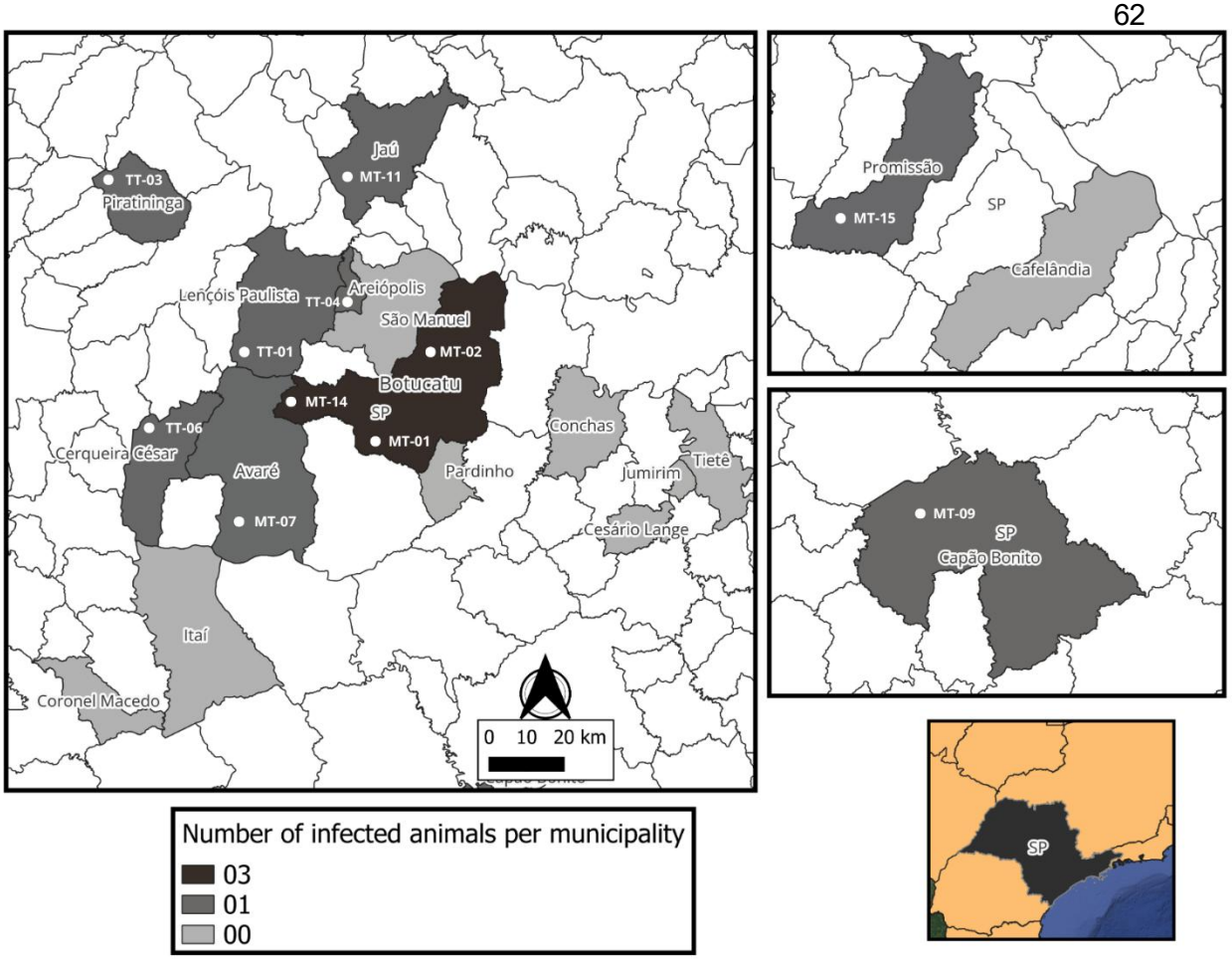


Figure 1. Geographic distribution of the sampled and positive animals by municipality of São Paulo State.

Genetic Sequencing

BLASTn analyses of the 18S (SSU) rRNA sequences obtained in this study showed that the seven sequences from giant anteaters exhibited identities ranging from 93.66% to 99.31%. Six sequences were identical to the ribosomal RNA gene of the small subunit isolate C00964 from *T. cruzi*, while one sequence corresponded to the ribosomal RNA gene of the small subunit isolate C00259N of *T. cruzi*. The sequence detected in a southern tamandua (TT-06) showed 99.65% identity with the C00964 isolate, whereas the other three sequences obtained from the same species ranged from 97.18% to 99.17% identity with the 18S rRNA gene of the *T. cruzi* Y strain (Table 4).

Table 4. Results of BLASTn analyses of sequences obtained in the amplification of target genes for trypanosomatids in blood samples of giant anteaters and southern tamanduas.

Sample	Target gene	Size (bp)	Query coverage (%)	E-Value	Identity (%)	GenBank sequence (accession no.)
MT-01	18S (SSU) rRNA	908	100	0	97,20	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)
TT-01	18S (SSU) rRNA	2242	100	0	97,18	Complete ribosomal RNA gene of *T. cruzi* Y strain (AF301912.1)
MT-02	18S (SSU) rRNA	558	100	2e-154	93,66	Ribosomal RNA gene of *T. cruzi* isolate C00259N
TT-03	18S (SSU) rRNA	2242	100	0	99,17	Complete ribosomal RNA gene of *T. cruzi* Y strain (AF301912.1)
TT-04	18S (SSU) rRNA	2242	100	0	98,46	Complete ribosomal RNA gene of *T. cruzi* Y strain (AF301912.1)
MT-07	18S (SSU) rRNA	908	100	0	98,94	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)
MT-09	18S (SSU) rRNA	908	100	0	98,80	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)
MT-11	18S (SSU) rRNA	908	100	2e-65	99,31	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)
MT-14	18S (SSU) rRNA	908	100	0	98,55	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)
MT-15	18S (SSU) rRNA	908	100	2e-65	98,86	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)

Sample	Target gene	Size (bp)	Query coverage (%)	E-Value	Identity (%)	GenBank sequence (accession no.)
TT-06	18S (SSU) rRNA	908	100	2e-65	99,65	*T. cruzi* ribosomal RNA isolate C00964 (OR237562.1)

Phylogenetic Analyses

Bayesian phylogenetic analysis, performed using 650 bp of the 18S rRNA marker, produced a well-resolved topology for the higher-level groupings and showed low intraspecific divergence among *T. cruzi* sequences. The tree was rooted with *T. vivax* as the outgroup, which remained consistently separated from the *T. cruzi* clade, confirming the appropriateness of the outgroup selection.

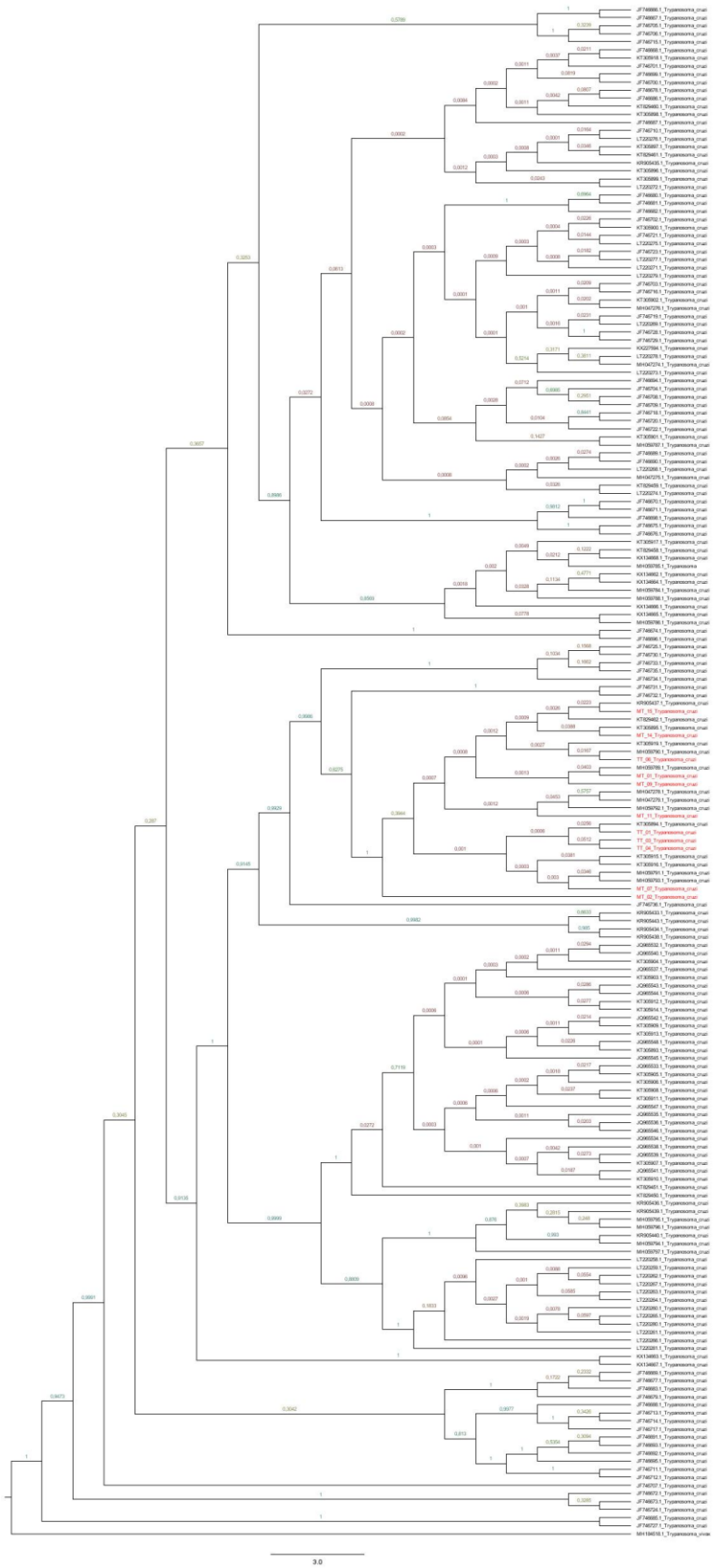


Figure 2. The phylogenetic reconstruction of *Trypanosoma cruzi* based on 650 bp of the 18S rRNA gene. Node values represent posterior probabilities obtained in BEAST. Specimens marked in red were obtained in the present study, while those in black correspond to reference sequences from NCBI.

The 11 *T. cruzi* sequences obtained from anteaters (marked in red in Figure 2) clustered within the known diversity of *T. cruzi* and, forming a well-supported clade in most cases. Nodes defining the main clade containing the anteater sequences showed high posterior probabilities (many nodes with $p \geq 0.95$), indicating strong statistical support relative to the reference sequences from NCBI (marked in black). Within this main clade, some internal structure (subclades) was observed ; however, branch lengths were short and sequence differences minimal, consistent with the conserved nature of the 18S rRNA marker.

The sequences obtained from anteaters were phylogenetically close to, or interspersed with, reference sequences from NCBI, suggesting affinity with previously documented *T. cruzi* variants. No strong segregation by geographic origin or host individual was observed, indicating low diversity detected by the 18S rRNA marker among these anteater samples.

DISCUSSION

The data presented here corroborate previous reports indicating that giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) and southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla*) are naturally susceptible to trypanosomatid infections (Roque and Jansen 2014; Muñoz-Garcia et al. 2019). This host–parasite relationship is supported by historical records of infections (Rodrigues and Melo 1942) and by recent studies employing diverse diagnostic techniques, which identified infections and coinfections by species such as *Trypanosoma rangeli* and *T. cruzi* (DTUs) (De Araújo et al. 2012; Santos et al. 2019; Reis et al. 2019; Herrera et al. 2022; Fakelmann 2023; Pessanha et al. 2023), in addition to detecting triatomines infected by *T. cruzi* parasitizing these hosts (Bilheiro et al. 2024).

Acquisition of these protozoa by anteaters may be related to their myrmecophagous feeding habits, considering that oral transmission is a relevant route in wild species (Jansen et al. 2020; Matiz-González et al. 2025). Moreover, interactions in natural environments suggest a potential role of *T. tetradactyla* in linking different *T. cruzi* cycles between canopy and soil, a hypothesis associated with their scansorial behavior, including

interspecific interactions with giant armadillo (*Priodontes maximus*) burrows (Desbiez and Kluyber 2013) and arboreal coati (*Nasua nasua*) nests (Pessanha et al. 2023), indicating the presence of these animals in *T. cruzi* transmission environments.

The animals analyzed originated from municipalities in São Paulo historically characterized by anthropized areas. Landscape structure and the distribution of human dwellings, combined with artificial lighting, are factors favoring the dispersal of triatomine vectors (Leite et al. 2011). Consequently, the participation of wild species in peri-urban *T. cruzi* cycles is significant, including reports of simultaneous infection by *T. cruzi* and *T. rangeli* in southern tamanduas and humans in peri-urban landscapes (Herrera et al. 2022).

The 18S rRNA marker, although highly conserved, proved adequate to confirm that the sequences isolated from anteaters belong to *T. cruzi*. Bayesian analysis generated a stable topology with strong statistical support at main nodes, reinforcing the reliability of this marker for interspecific identification and phylogenetic analysis. While its conserved nature limits resolution at the intraspecific level, preventing clear differentiation among *T. cruzi* lineages, it remains a robust reference for contextualizing new sequences relative to data in international public databases.

From an ecological and epidemiological perspective, the consistent detection of *T. cruzi* in anteaters expands the understanding of wild hosts maintaining the parasite in natural cycles. Clustering of the sequences with reference sequences from diverse hosts suggests no host-specific segregation, indicating that these lineages likely circulate in other mammals and vectors. This host plasticity highlights the importance of anteaters as reservoirs in sylvatic transmission and underscores the potential interconnection between sylvatic and domestic cycles, with implications for human health.

Although the 18S rRNA marker does not allow definitive characterization of intraspecific diversity or lineage assignment, it is fundamental for confirming sample identity as *T. cruzi*, demonstrating placement in well-supported clades and highlighting the ecological role of anteaters as relevant hosts. Nonetheless, future studies would benefit from complementary markers to achieve higher resolution phylogenetic analyses.

Negative results for *Chlamydia* spp. are consistent with previous studies using these species and similar sample sizes (Miranda et al. 2015; Tessari et al. 2022). Methodological factors may have contributed to these negatives, particularly the predominant use of blood samples, as bacterial load in this tissue may be insufficient for molecular detection. Fecal samples, while used in other taxa, may also be limited due to intermittent bacterial shedding, hindering PCR detection. Rectal, ocular, and nasal swabs may improve diagnostic success, especially with sporadic fecal elimination (Balsamo et al. 2017; Bressan et al. 2021). Other factors influencing detection include host immune status, sample collection, storage, and DNA extraction methodology (Balsamo et al. 2017). Despite these limitations, *Chlamydia* spp. remain relevant for wild mammal conservation, particularly due to reproductive disorders described in Australian koalas (*Phascolarctos cinereus*) (Burnard and Polkinghorne 2016). Species with prolonged gestation and parental care, such as anteaters, may represent potentially susceptible groups, even if no cases have been reported to date.

Although *Babesia* spp. were not detected in blood samples, piroplasmids are widely described in xenarthrans. In biomes such as the Amazon, Cerrado, and Pantanal, molecular and phylogenetic studies using 18S rRNA detected *Theileria sensu stricto* in *Dasypus novemcinctus*, sequences phylogenetically close to *Babesia* spp. in *Priodontes maximus*, and new piroplasmids species in *Myrmecophaga tridactyla* and *Tamandua tetradactyla* (Soares et al. 2017; Calchi et al. 2023). Additionally, traits such as large body mass and dense fur observed in anteaters facilitate colonization by ixodid ticks (Munhoz-Garcia et al. 2019; Cesário, Clarice Silva 2021).

Thus, negative results for *Babesia* spp. and *Chlamydia* spp. do not exclude circulation of these pathogens in these species, but indicate that they were not detected in the analyzed samples.

In summary, this study provides robust evidence for the presence of *T. cruzi* in anteaters from São Paulo, highlighting their role as wild hosts in parasite maintenance. The findings underscore the relevance of the One Health approach by demonstrating interconnections

between sylvatic, peri-urban, and domestic cycles. Furthermore, results contribute to understanding zoonotic epidemiology in xenarthrans, informing surveillance strategies, wild species management, and prevention of transmissible diseases in humans and domestic animals. Future studies with larger sample sizes, diverse biological materials, and complementary techniques are essential to deepen knowledge of *T. cruzi* infection diversity and dynamics, as well as other pathogens in anteaters.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Gabriel Corrêa Camargo (CEMPAS) and Prof. Dr. Felipe Fornazzari for providing the samples, Dr. Tânia Freitas Raso (FMVZ-USP) and Benedito Dozinete Menozzi (FMVZ-UNESP) for providing pathogen controls, and the Student Permanence Coordination (COPE) and the Graduate Program in Wildlife (PPG Selvagens) for financial and institutional support.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material for this article is online at http://dx.doi.org/10.7589/manuscript number

LITERATURE CITED

Asokan GV. 2015. One Health and Zoonoses: The Evolution of One Health and Incorporation of Zoonoses. *Cent Asian J Glob Health* 4. http://cajgh.pitt.edu/ojs/cajgh/article/view/139. Accessed August 2025.

Balsamo G, Maxted AM, Midla JW, Murphy JM, Wohrle R, Edling TM, Fish PH, Flammer K, Hyde D, Kutty PK, et al. 2017. Compendium of Measures to Control *Chlamydia psittaci* Infection Among Humans (Psittacosis) and Pet Birds (Avian Chlamydiosis), 2017. *J Avian Med Surg* 31:262–282.

Bilheiro AB, Costa GDS, Araújo MS, Ribeiro WAR, Finamore-Araújo P, Moreira OC, Medeiros JF, Fontes G, Camargo LMA. 2024. Detection and Genotyping of *Trypanosoma cruzi* Samples in Species of Genus *Rhodnius* from Different Environments in the Brazilian Amazon. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 24:95–103.

Birkenheuer AJ, Levy MG, Breitschwerdt EB. 2003. Development and Evaluation of a Seminested PCR for Detection and Differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) and *B. canis* DNA in Canine Blood Samples. *J Clin Microbiol* 41:4172–4177.

Bosman A-M, Oosthuizen MC, Peirce MA, Venter EH, Penzhorn BL. 2010. *Babesia lengau* sp. nov., a Novel *Babesia* Species in Cheetah (*Acinonyx jubatus* , Schreber, 1775) Populations in South Africa. *J Clin Microbiol* 48:2703–2708.

Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu C-H, Xie D et al (2014) BEAST 2: A software platform for Bayesian evolutionary analysis. PLoS Comput Biol. https:// doi. org/10. 1371/ journ al. pcbi. 10035 37.

Bressan M, Rampazzo A, Kuratli J, Marti H, Pesch T, Borel N. 2021. Occurrence of Chlamydiaceae and Chlamydia felis pmp9 Typing in Conjunctival and Rectal Samples of Swiss Stray and Pet Cats. *Pathogens* 10:951.

Burnard D, Polkinghorne A. 2016. Chlamydial infections in wildlife–conservation threats and/or reservoirs of ‘spill-over’ infections? *Vet Microbiol* 196:78–84.

Calchi AC, Braga LDQV, Bassini-Silva R, Castro-Santiago AC, Herrera HM, Soares JF, Barros-Battesti DM, Machado RZ, Rocha FL, André MR. 2024. Phylogenetic inferences based on distinct molecular markers reveals a novel Babesia (Babesia pantanalensis nov. sp.) and a Hepatozoon americanum-related genotype in crab-eating foxes (Cerdocyon thous). *Exp Parasitol* 262:108786.

Calchi AC, Yogui DR, Alves MH, Desbiez ALJ, Kluyber D, Vultão JG, Arantes PVC, De Santi M, Werther K, Teixeira MMG, et al. 2023. Molecular detection of piroplasmids in mammals from the Superorder Xenarthra in Brazil. *Parasitol Res* 122:3169–3180.

Cesário, Clarice Silva. 2021. Aspectos parasitológicos e sanitários de tamanduás-bandeira (Myrmecophaga tridactyla) de vida livre. 146 pp. https://repositorio.unesp.br/entities/publication/7369a252-1428-48b0-9f3e-f6de226e7f43. Accessed.

Cunningham AA, Daszak P, Wood JLN. 2017. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 372:20160167.

Dario MA, Moratelli R, Schwabl P, Jansen AM, Llewellyn MS. 2017. Small subunit ribosomal metabarcoding reveals extraordinary trypanosomatid diversity in Brazilian bats. *PLoS Negl Trop Dis* 11:e0005790.

De Araújo VAL, Boité MC, Cupolillo E, Jansen AM, Roque ALR. 2013. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi* , *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. *Parasitology* 140:455–460.

De Freitas Raso T, Seixas GHF, Guedes NMR, Pinto AA. 2006. Chlamydophila psittaci in free-living Blue-fronted Amazon parrots (Amazona aestiva) and Hyacinth macaws (Anodorhynchus hyacinthinus) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Vet Microbiol* 117:235–241.

Desbiez ALJ, Kluyber D. 2013. The Role of Giant Armadillos (*Priodontes maximus*) as Physical Ecosystem Engineers. *Biotropica* 45:537–540.

Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evol Biol 7:214. https:// doi. org/ 10. 1186/ 1471- 2148-7- 214.

Edgar RC (2004) MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics 5:113. https:// doi. org/ 10. 1186/1471- 2105-5- 113.

Fakelmann T. 2023. >bi/i< e >i/i< em Xenarthras monitorados e encontrados atropelados em rodovias brasileiras>/b<. Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo. https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-19042023-164614/. Accessed September 2025.

Fava NMN, Alves TS, Lopes MG, Labruna MB, Santos AQ, Cury MC. 2022. Occurrence and Molecular Identification of Hemoparasites in Wild Mammals Kept in Rehabilitation Centers in Brazil. *Acta Parasitol* 67:476–486.

Green MR, Sambrook J. 2012. *Molecular cloning: a laboratory manual*4th ed. Cold Spring Harbor laboratory press, Cold Spring Harbor.

Herrera L, Morocoima A, Lozano-Arias D, García-Alzate R, Viettri M, Lares M, Ferrer E. 2022. Infections and Coinfections by Trypanosomatid Parasites in a Rural Community of Venezuela. *Acta Parasitol* 67:1015–1023.

Jansen AM, Xavier SCDC, Roque ALR. 2020. Landmarks of the Knowledge and Trypanosoma cruzi Biology in the Wild Environment. *Front Cell Infect Microbiol* 10:10.

Leite GR, Dos Santos CB, Falqueto A. 2011. Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest: Dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats. *J Biogeogr* 38:651–663.

Lemos TD, Cerqueira ADMF, Toma HK, Silva AVD, Corrêa RGB, Paludo GR, Massard CL, Almosny NRP. 2012. Detection and molecular characterization of piroplasms species

from naturally infected dogs in southeast Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária* 21:137–142.

Matiz-González JM, Silva-Ramos CR, Herrera-Sepúlveda MT, Patiño LH, Ramírez JD, Mateus J, Pavia PX, Miguel Pinto C, Pérez-Torres J, Cuervo C. 2025. Molecular detection of trypanosomatids among cave-dwelling bats from Colombia. *Int J Parasitol* 55:253–261.

Miranda FR, Superina M, Vinci F, Hashimoto V, Freitas JC, Matushima ER. 2015. Serosurvey of Leptospirainterrogans, Brucellaabortus and Chlamydophilaabortus infection in free-ranging giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla) from Brazil. *Pesqui Veterinária Bras* 35:462–465.

Muñoz-García CI, Guzmán-Cornejo C, Rendón-Franco E, Villanueva-García C, Sánchez-Montes S, Acosta-Gutierrez R, Romero-Callejas E, Díaz-López H, Martínez-Carrasco C, Berriatua E. 2019. Epidemiological study of ticks collected from the northern tamandua (Tamandua mexicana) and a literature review of ticks of Myrmecophagidae anteaters. *Ticks Tick-Borne Dis* 10:1146–1156.

Noyes H a, Stevens JR, Teixeira M, Phelan J, Holz P. 1999. A nested PCR for the ssrRNA gene detects Trypanosoma binneyi in the platypus and Trypanosoma sp. in wombats and kangaroos in Australia1. *Int J Parasitol* 29:331–339.

Orłowska B, Świsłocka-Cutter M, Filip-Hutsch K, Młocicki D, Olszewski A, Asman M, Anusz K, Werszko J. 2025. First detection and phylogenetic analysis of Trypanosoma species in European wolves and bears: discovery of novel haplotypes. *Sci Rep* 15:4160.

Pessanha TS, Herrera HM, Jansen AM, Iñiguez AM. 2023. “Mi Casa, Tu Casa”: the coati nest as a hub of Trypanosoma cruzi transmission in the southern Pantanal biome revealed by molecular blood meal source identification in triatomines. *Parasit Vectors* 16:26.

Plowright RK, Parrish CR, McCallum H, Hudson PJ, Ko AI, Graham AL, Lloyd-Smith JO. 2017. Pathways to zoonotic spillover. *Nat Rev Microbiol* 15:502–510.

Priyadarsini SL, Suresh M, Huisingh D. 2020. What can we learn from previous pandemics to reduce the frequency of emerging infectious diseases like COVID-19? *Glob Transit* 2:202–220.

Reis FC, Minuzzi-Souza TTC, Neiva M, Timbó RV, De Morais IOB, De Lima TM, Hecht M, Nitz N, Gurgel-Gonçalves R. 2020. Trypanosomatid infections in captive wild mammals and potential vectors at the Brasilia Zoo, Federal District, Brazil. *Vet Med Sci* 6:248–256.

Richini-Pereira V, Marson P, Hayasaka E, Victoria C, Da Silva R, Langoni H. 2014. Molecular detection of Leishmania spp. in road-killed wild mammals in the Central Western area of the State of São Paulo, Brazil. *J Venom Anim Toxins Trop Dis* 20:27.

Rodrigues BDA, Melo GDB. 1942. Contribuição ao estudo da Tripanosomiase Americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 37:77–90.

Roque ALR, Jansen AM. 2014. Wild and synanthropic reservoirs of Leishmania species in the Americas. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 3:251–262.

Santos FM, Barreto WTG, De Macedo GC, Barros JHDS, Xavier SCDC, Garcia CM, Mourão G, De Oliveira J, Rimoldi AR, Porfírio GEDO, et al. 2019. The reservoir system for Trypanosoma (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) species in large neotropical wetland. *Acta Trop* 199:105098.

Schnittger L, Rodriguez AE, Florin-Christensen M, Morrison DA. 2012. Babesia: A world emerging. *Infect Genet Evol* 12:1788–1809.

Silva FGD, Freitas JCD, Müller EE. 2006. Chlamydophila abortus em animais de produção. *Ciênc Rural* 36:342–348.

Soares HS, Marcili A, Barbieri ARM, Minervino AHH, Moreira TR, Gennari SM, Labruna MB. 2017. Novel piroplasmid and Hepatozoon organisms infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 6:115–121.

Sousa MS, Cristiny Rodrigues Silva ML, Santos Azevedo S, Araújo Júnior JP, Malossi CD, Sabrina Ullmann L, Nascimento HHL, Kommers GD, Nery TFL, Lucena RB. 2020. *Leptospira interrogans* infection of southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla* , Linnaeus, 1758) in Brazil. *Transbound Emerg Dis*:tbed.13523.

Tessari HCCP, Paludo GR, Scalon MC, Silva JMM, Hirano LQL. 2022. Investigation of Chlamydia sp., Morbillivirus sp., Parvovirus sp., Leishmania sp. and Alphacoronavirus sp. in captive giant anteaters (Myrmecophaga tridactyla). *Arq Bras Med Veterinária E Zootec* 74:833–840.

Turin L, Surini S, Wheelhouse N, Rocchi MS. 2022. Recent advances and public health implications for environmental exposure to Chlamydia abortus: from enzootic to zoonotic disease. *Vet Res* 53:37.

Viettri M, Herrera L, Aguilar CM, Morocoima A, Reyes J, Lares M, Lozano-Arias D, García-Alzate R, Chacón T, Feliciangeli MD, et al. 2018. Molecular diagnosis of Trypanosoma cruzi/Leishmania spp. coinfection in domestic, peridomestic and wild mammals of Venezuelan co-endemic areas. *Vet Parasitol Reg Stud Rep* 14:123–130.

Zanella JRC. 2016. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. *Pesqui Agropecuária Bras* 5

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Figure 3. Image of the agarose gel with the 100 bp Ladder, positive control and negative control and six amplified bands positive for trypanosomatids at the height of 650 bp. On the right of the image, a specific band amplified in the 1st nested PCR at the height of 816 bp.

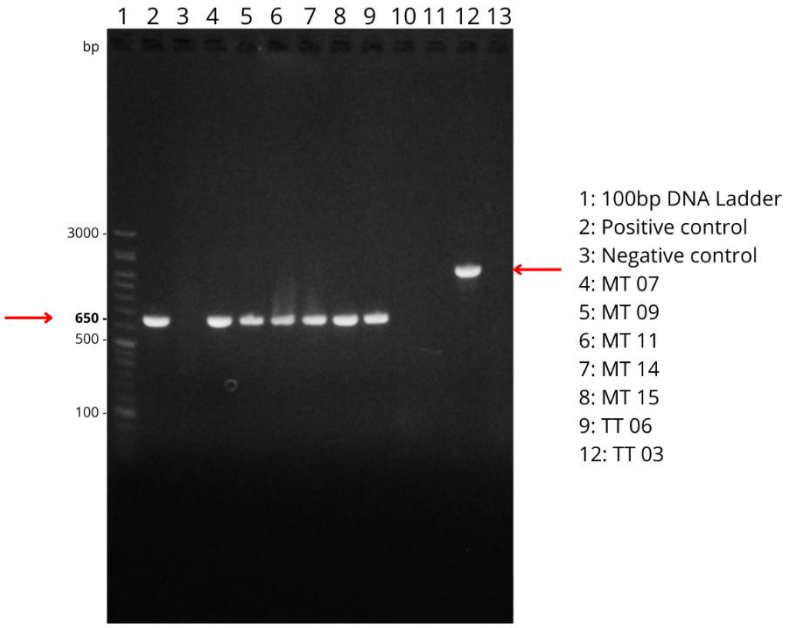
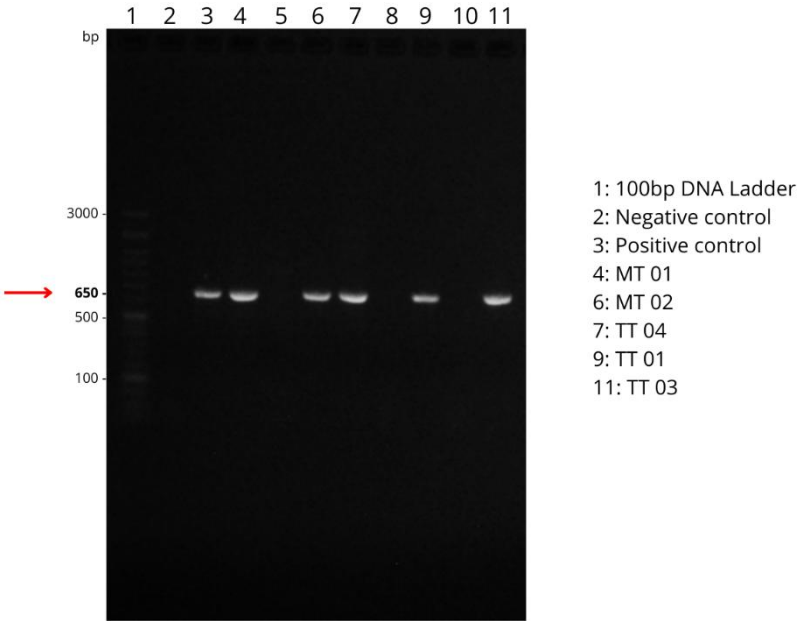


Figure 4. Image of the agarose gel with the 100 bp Ladder, positive and negative control and five amplified bands positive for trypanosomatids at the 650 bp height.



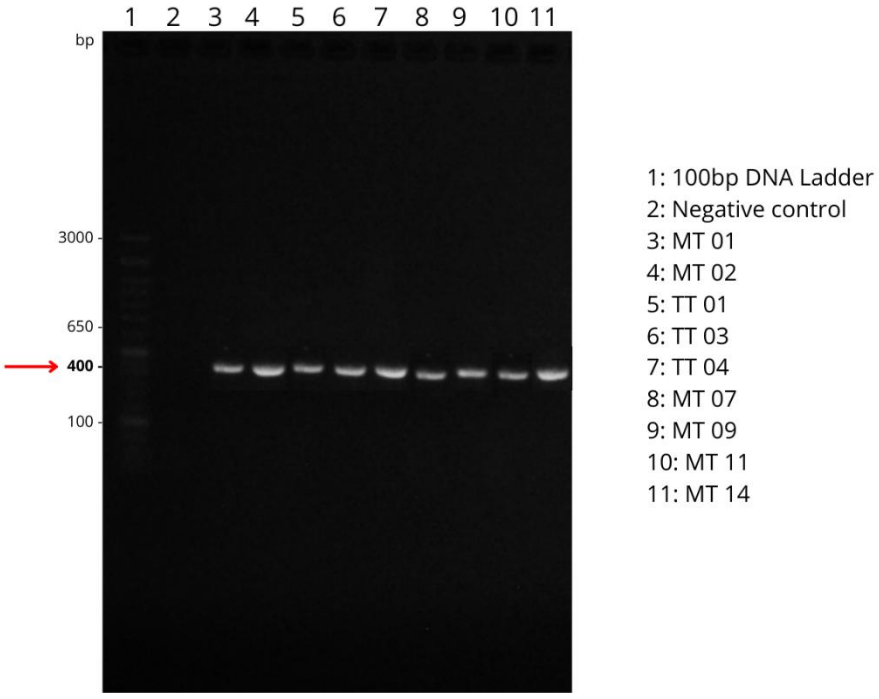


Figure 5. Image of the agarose gel with the 100 bp Ladder, negative control and nine samples positive for gapdh at the 400 bp height.

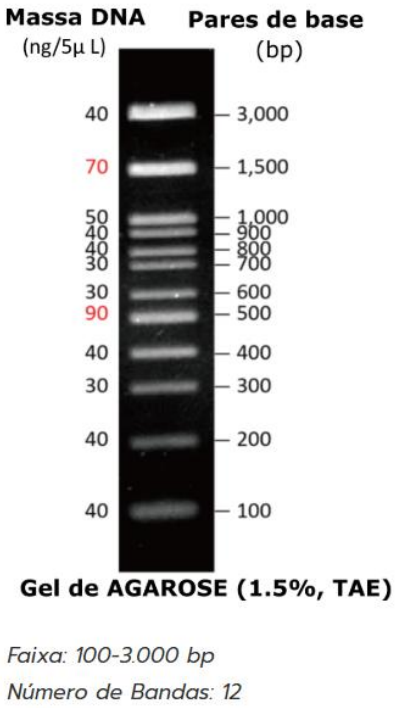


Figure 6. Representation of the molecular marker used Class Five 100bp DNA Ladder.

Figura 8. Localização do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) dentro do campus universitário da UNESP no distrito de Rubião Júnior em Botucatu-SP.



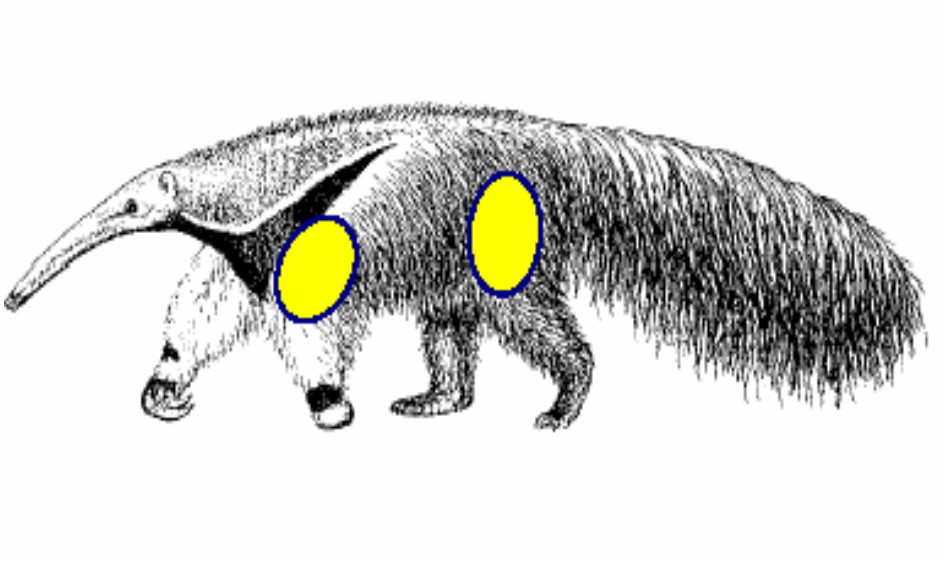
Fonte: Adaptado de Google *Earth*.

Figura 9. Imagens de um espécime de tamanduá-bandeira submetido a contenção química no CEMPAS.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 10. Imagem ilustrativa dos principais locais para administração de fármacos anestésicos.



Fonte: Manual Clínico del Oso hormigueiro Gigante (Miranda; Superina; Jimenez, 2006).

Figura 11. Atestado de aprovação no Comitê de Ética.

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

fmvz - unesp
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu

ATESTADO

Atesto que o Projeto ""Análise molecular de infecção bacteriana por Chlamydia spp. em Myrmecophaga tridactyla (tamanduá-bandeira) e Tamandua tetradactyla (tamanduá-mirim) no município de Botucatu, São Paulo"" **Protocolo CEUA 0562/2023** , a ser conduzido por Mateus Oliveira Machado , responsável/orientador Lígia Souza Lima Silveira da Mota , para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 12. Atestado de aprovação no SISBIO.

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

Gerado em 04/10/2025 15:34:16

Extrato da solicitação

Dados básicos da Solicitação

Número	Tipo de solicitação	Situação atual	Data da situação atual	Validade da autorização	Renovação da autorização	Título da solicitação
86964	Autorização para atividades com finalidade científica	Documento concedido	19/09/2023 13:10:45	26/01/2024	26/02/2024	Investigação molecular e sorológica de agentes causadores de Leishmanioses e doença de Chagas em mamíferos no estado de São Paulo

Dados do Pesquisador

Nome	Nacionalidade	CPF	E-mail	Telefone
Larissa Pereira Rodrigues	Brasileira	433.817.048-42	larissaprodrigues2@gmail.com	

Endereço	CEP	Município	UF
João Dias Cordeiro	18609450	Botucatu	SP

Outras solicitações deste pesquisador

Número	Título	Tipo de Solicitação	Situação atual	Data da situação atual
78287	Infecção por agentes de Leishmaniose e Doença de Chagas em pequenos mamíferos no município de Botucatu, São Paulo.	Autorização para atividades com finalidade científica	Pesquisa concluída/encerrada	09/11/2022 11:15:51

Instituição	Nome Fantasia	CNPJ	Tipo de Vínculo	Telefone	E-mail
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO	CAMPUS DE BOTUCATU FAC MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNI	48.031.918/0020-97	Aluno regular de pós-graduação	(18) 99682-6230	larissaprodrigues2@gmail.com

Membros da equipe

Nome do pesquisador	CPF	Nacionalidade	Função	Situação atual
Lígia Souza Lima Silveira da Mota	098.890.428-43	Brasileira	Pesquisador	Autorizado
Marcella Katheryne Marques Bernal	008.665.772-03	Brasileira	Pesquisador	Autorizado
Mateus Oliveira Machado	473.212.048-20	Brasileira	Pesquisador	Autorizado

Atividades da solicitação

Descrição das atividades/Substrato	Tipo de atividade	Situação atual
Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal	Autorizado
Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal	Autorizado
Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal	Autorizado
Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Atividades ex-situ (fora da natureza)	Autorizado
Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal	Autorizado

Locais onde as atividades serão executadas

Descrição do local	Bioma	Município-UF	Tipo do Local	Abrange caverna?	Situação atual
Fazenda Experimental Lageado	Mata Atlântica	Botucatu-SP	Fora de UC Federal	Não	Autorizado
Vigilância Ambiental em Saúde	Mata Atlântica	Botucatu-SP	Fora de UC Federal	Não	Autorizado
Fazenda Experimental Edgardia	Mata Atlântica	Botucatu-SP	Fora de UC Federal	Não	Autorizado
Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens	Mata Atlântica	Botucatu-SP	Fora de UC Federal	Não	Autorizado

Figura 13. Comprovante de submissão para Journal of WildLife Diseases.

Journal of Wildlife Diseases

Agentes potencialmente zoonóticos em tamanduás-bandeira (Myrmecophaga tridactyla) e tamanduás-do-sul (Tamandua tetradactyla) do estado de São Paulo, Brasil

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JWD-D-25-00168
Article Type:	Regular Article
Keywords:	Anteaters; One Health; Trypanosoma cruzi; Wild reservoirs; Zoonoses
Corresponding Author:	Mateus Oliveira Machado BRAZIL
First Author:	Mateus Oliveira Machado
Order of Authors:	Mateus Oliveira Machado
	Larissa Pereira Rodrigues
	João Otávio Mochiuti
	Catharina Eulasya Resende
	Talita Aleixo Nakajima
	Lígia Souza Lima Silveira da Mota
Manuscript Region of Origin:	BRAZIL