

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**PESQUISA SOROLÓGICA DE TOXOPLASMOSE, LEISHMANIOSE E  
LEPTOSPIROSE E ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE  
FELÍDEOS SELVAGENS EM DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS**

**JORGE APARECIDO SALOMÃO JUNIOR**

Botucatu – SP  
JUNHO 2026

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**PESQUISA SOROLÓGICA DE TOXOPLASMOSE, LEISHMANIOSE E  
LEPTOSPIROSE E ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE  
FELÍDEOS SELVAGENS EM DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS**

**JORGE APARECIDO SALOMÃO JUNIOR**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Botucatu-SP, para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso.

Botucatu – SP

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| S173p | <p>Salomão Jr, Jorge</p> <p>PESQUISA SOROLÓGICA DE TOXOPLASMOSE, LEISHMANIOSE E LEPTOSPIROSE E ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE FELÍDEOS SELVAGENS EM DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS / Jorge Salomão Jr. -- Botucatu, 2026</p> <p>105 p. : tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu</p> <p>Orientador: Paulo Fernandes Marcusso</p> <p>1. Morfometria Celular. 2. Felídeos Brasileiros. 3. Doenças Zoonóticas. 4. Soro. 5. Vitaminas. I. Título.</p> |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Esta pesquisa, ao avaliar parâmetros hematológicos, bioquímicos, sorológicos e moleculares em felinos selvagens cativos e de vida livre busca identificar e comparar valores de referências entre indivíduos da mesma espécie, e discorrer sobre possíveis diferenças entre felídeos *in situ* e *ex situ*. Exames atuais e resultados precisos podem melhorar e direcionar adequações para um bom manejo clínico. A realização de exames sorológicos e moleculares podem antecipar surtos de doenças importantes, principalmente em populações de vida livre, muitas estão ameaçadas e em risco de extinção, o manejo preventivo e exames complementares aumentam significativamente as chances de prevenção e disseminação de patógenos, além disso, a pesquisa ao levantar a situação clínica atual de felinos *in situ* e *ex situ*, fortalece a importância e o desafio constante de entender ciclos e trabalhar a interação entre animais silvestres, animais domésticos, saúde humana e saúde ambiental, bem como o impacto causado por essa interação diretamente na conservação de felinos selvagens.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This research, by evaluating hematological, biochemical, serological, and molecular parameters in captive and free-living wild cats, seeks to identify and compare reference values among individuals of the same species, and to discuss possible differences between felines *in situ* and *ex situ*. Current tests and accurate results can improve and guide adjustments for good clinical management. Performing serological and molecular tests can anticipate outbreaks of important diseases, especially in free-living populations, many of which are threatened and at risk of extinction. Preventive management and complementary tests significantly increase the chances of preventing and controlling the spread of pathogens. Furthermore, by assessing the current clinical situation of felines *in situ* and *ex situ*, the research reinforces the importance and constant challenge of understanding cycles and working on the interaction between wild animals, domestic animals, human health, and environmental health, as well as the impact caused by this interaction directly on the conservation of wild cats.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**JORGE APARECIDO SALOMÃO JUNIOR**

**PESQUISA SOROLÓGICA DE TOXOPLASMOSE,  
LEISHMANIOSE E LEPTOSPIROSE E ANÁLISES  
HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE FELÍDEOS  
SELVAGENS EM DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Botucatu-SP, para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Medicina Veterinária

Data da defesa: 23 de junho de 2026.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso  
UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus  
Botucatu

---

Profa. Dra. Regina K. Takahira  
UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus  
Botucatu

---

Profa. Dra. Aline Moreira de Souza  
UFF – Faculdade de Medicina Veterinária - Campus Vital Brasil

---

Prof. Dr. Leandro Martins  
UEL – Faculdade de Medicina Veterinária – Campus Universitário

---

Profa. Dra. Michelly Fernandes de Macedo  
UFERSA - Faculdade de Medicina Veterinária – Campus Mossoró.

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a todos os animais que tive o privilégio de trabalhar, de aprender, admirar, interagir, cuidar, mas em especial para a tal da gataiada, seres fantásticos que admiro, que me permitiram crescer profissionalmente, e muito mais do que isso, crescer pessoalmente. São tantos, tantos desafios, tantas espécies, tantos indivíduos que foram especiais e deram razão a minha correria, aos meus estudos a minha vida, dedico e agradeço imensamente a cada um que capturamos pelo bem da espécie, aos que foram privados de viver em vida livre, mas que estudamos e nos especializamos para dar uma vida digna e tentar minimizar o erro que cometemos em algum momento. Dedico ao Abayomi e a Kaapi dois vermeios muito especiais que partiram precocemente, mas que me ensinaram e me fizeram uma pessoa melhor, e que peço desculpas por termos falhado. Aos que me ensinam frequentemente e constantemente a anos, nossa turminha Catarina, Chico, Gaia, Xingú, Alice, Claudio, Leona, Guarani, Pitã, sempre foi e sempre será por elas.

Para finalizar, dedico ao ídolo, meu exemplo, um gigante, que tento nesses 20 anos de dedicação à medicina veterinária, a gataiada, dar um pouco de orgulho, o cara que me mostrou que trabalhando, nada é impossível, nenhum sonho é inalcançável, meu pai.

## AGRADECIMENTOS

O que não falta são pessoas a quem agradeço muito, o meu orientador Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso, pessoa e profissional o qual admiro muito, agradeço demais por ter aceitado me orientar, pela paciência, por todo o apoio e força que sempre deu. Aos colegas de profissão e empreita que estão agora chegando oficialmente, como médicos veterinários que fizeram trabalhos majestosos e foram de suma importância para a realização dessa pesquisa, Giovana Galvão Morandini e Eduardo Augusto Terra Rossi de Barros, muito obrigado. A todos os amigos e parceiros que me ajudam, inspiram no dia a dia, em especial a médica veterinária Letícia Fonseca, por toda parceria e ajuda na realização da pesquisa, A Vânia Foster, baita bióloga e grande amiga, o “velhinho” Joares May, pelos conselhos e direcionamentos. A todos os profissionais e instituições que ajudaram e permitiram o levantamento e colheita de amostras em prol da gataiada, zoos, mantenedores de fauna, projetos de pesquisa, ao Instituto Onça Pintada, que na figura do Biólogo Leandro também de pronto disponibilizou amostras importantes para a pesquisa, as instituições que tenho o privilégio de trabalhar e ter parceria, em especial a Faculdade de Americana, o Projeto onças do Iguaçu e toda a sua equipe, a Ampara Silvestre, e ao Instituto Urihi, enfim muito mas muito obrigado mesmo a todos os envolvidos direta ou indiretamente, essa pesquisa/trabalho foi literalmente construído a muitas mãos.

SALOMÃO, J.A.Jr. **Pesquisa sorológica de toxoplasmose, leishmaniose e leptospirose e análises hematológicas e bioquímicas de felídeos selvagens em diferentes biomas brasileiros.** Botucatu, 2026. 105. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP) Campus Botucatu

## **RESUMO**

A conservação de felinos selvagens, muitos ameaçados de extinção, demanda aprimoramento do manejo clínico, sanitário e preventivo. Entretanto, o conhecimento acerca da fisiologia e dos parâmetros laboratoriais dessas espécies ainda é limitado, sendo frequentemente extrapolado de felinos domésticos. Neste contexto, o presente estudo objetivou obter dados hematológicos, bioquímicos e sorológicos de felinos selvagens, contribuindo para o manejo ex situ e in situ sob a perspectiva da Saúde Única. Foram realizados manejos preventivos em 90 indivíduos pertencentes a 10 espécies, com coleta de sangue para hemogramas manuais, confecção de esfregaços sanguíneos e análises morfométricas de hemácias, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos em seis espécies. Adicionalmente, 53 amostras foram submetidas à avaliação bioquímica sérica, incluindo parâmetros renais, hepáticos e metabólicos. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre as espécies quanto à morfometria celular e aos perfis hematológicos e bioquímicos, evidenciando a necessidade de utilização de valores de referência específicos para cada espécie. As análises sorológicas foram realizadas para toxoplasmose (n=50), leptospirose (n=49) e leishmaniose (n=49). A toxoplasmose apresentou maior prevalência (58%; 29/50), seguida pela leishmaniose (18,37%) e leptospirose (16,33%; 8/49). O sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi o mais frequente, seguido por *Pomona* e *Canicola*, sendo observada sororreagência simultânea para mais de um patógeno em 11 animais. Os achados reforçam a importância da caracterização laboratorial específica de cada espécie e do monitoramento sanitário para a conservação de felinos selvagens.

**Palavras-chave:** hematologia, bioquímicos, felinos selvagens, soro, Brasil



SALOMÃO, J.A.Jr. **Serological testing for toxoplasmosis, leishmaniasis, and leptospirosis, and hematological and biochemical analyses of wild felines in different Brazilian biomes.** Botucatu, 2026. 105. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP) Campus de Botucatu

## **ABSTRACT**

The conservation of wild felids, many of which are threatened with extinction, requires improvements in clinical, sanitary, and preventive management. However, knowledge regarding the physiology and laboratory parameters of these species remains limited and is often extrapolated from domestic cats. In this context, the present study aimed to obtain hematological, biochemical, and serological data from wild felids, contributing to both ex situ and in situ management under the One Health perspective. Preventive management procedures were performed on 90 individuals belonging to 10 species, including blood collection for manual hematological analyses, blood smear preparation, and morphometric evaluation of erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, and eosinophils in six species. Additionally, 53 samples were subjected to serum biochemical analysis, including renal, hepatic, and metabolic parameters. The results demonstrated significant interspecific differences in cellular morphometry and hematological and biochemical profiles, highlighting the need for species-specific reference values. Serological analyses were performed for toxoplasmosis (n=50), leptospirosis (n=49), and leishmaniasis (n=49). Toxoplasmosis showed the highest prevalence (58%; 29/50), followed by leishmaniasis (18.37%) and leptospirosis (16.33%; 8/49). The serovar *Icterohaemorrhagiae* was the most frequently detected, followed by *Pomona* and *Canicola*, and simultaneous seroreactivity to more than one pathogen was observed in 11 animals. These findings reinforce the importance of species-specific laboratory characterization and health monitoring for the conservation of wild felids.

**Keywords:** hematology, biochemistry, wild cats, serum, Brazil.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1: Jaguatirica macho ( <i>leopardus pardalis</i> ), capturado no Parque Nacional do Iguaçu-PR, momento da coleta de material biológico. ....                                                                                                                                                                      | 19 |
| FIGURA 2: Onça - pintada ( <i>Panthera onça</i> ), capturada no Parque Nacional do Iguaçu-PR, indivíduo com amostras coletadas. ....                                                                                                                                                                                     | 20 |
| FIGURA 3: Armadilha tomahawk armada no Pantanal Matogrossense para captura de pequenos felinos. ....                                                                                                                                                                                                                     | 21 |
| FIGURA 4: Configuração da armadilha de laço utilizada para a captura de onça-pintada e onça-parda nos diversos biomas. ....                                                                                                                                                                                              | 22 |
| FIGURA 5: Jaguatirica ( <i>Leopardus pardalis</i> ) capturada no Pantanal, no exato momento da venipunção para colheita de amostras. ....                                                                                                                                                                                | 24 |
| FIGURA 6: Campo de hemácias de onça-pintada (A); eosinófilo (seta) e neutrófilo (ponta) de leão (B); linfócito de gato-do-mato (C); monócito e formação de rouleaux em jaguatirica (D); eosinófilo degranulado de gato-doméstico (E); eosinófilo de onça-parda (F). Aumento 1000x (imersão). Fonte: acervo pessoal. .... | 35 |
| FIGURA 7: Eosinófilos de algumas das espécies estudadas. Eosinófilo de jaguatirica (A); eosinófilo de leão (B); eosinófilo de onça-pintada (C). ....                                                                                                                                                                     | 35 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1: Média e desvio padrão dos valores morfométricos de área e perímetro totais das células sanguíneas das diferentes espécies de felinos. ....           | 31 |
| TABELA 2: Média e desvio padrão de eixo mínimo e eixo máximo das células sanguíneas de diferentes espécies.....                                                | 33 |
| TABELA 3: Média e desvio padrão das mensurações de núcleo das células sanguíneas nucleadas das diferentes espécies .....                                       | 34 |
| TABELA 4: Média e desvio padrão do valores hemograma do gênero <i>Panthera</i> . ( <i>Panthera tigris</i> , <i>Panthera onca</i> e <i>Panthera leo</i> ). .... | 36 |
| TABELA 5: Média de valores hemograma e leucograma, gêneros <i>Leopardus</i> , <i>Puma</i> e <i>Herpailurus</i> . ....                                          | 37 |
| TABELA 6: Média de valores enzimas, gênero <i>Panthera</i> ( <i>P. tigris</i> , <i>P. onca</i> , <i>P. leo</i> ). ...                                          | 38 |
| TABELA 7: Média de valores enzimas, gêneros <i>Leopardus</i> , <i>Puma</i> e <i>Herpailurus</i> . ....                                                         | 39 |
| TABELA 8: Média de valores de vitaminas em <i>P. onca</i> (onça-pintada) n=2, e <i>L. pardalis</i> (Jagatirica) n=2 . ....                                     | 40 |
| TABELA 9: Média de valores de vitaminas em <i>P. tigris</i> (Tigre) – N=3.....                                                                                 | 41 |
| TABELA 10: Amostras discriminadas por espécie e sexo de felídeos.....                                                                                          | 42 |
| TABELA 11: Relação de amostras sororreagentes e não reagentes para toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose por espécie de felídeos. ....                     | 43 |
| TABELA 12: Relação entre espécie de felídeos e amostras soropositivas conforme titulação sorológica para <i>Toxoplasma gondii</i> (n = 29).....                | 44 |
| TABELA 13: Relação entre espécies de felídeos e amostras soropositivas conforme titulação sorológica para <i>Leishmania</i> spp. (n = 9) .....                 | 44 |
| TABELA 14: Espécies de felídeos e respectivos sorovares reagente para leptospirose (n = 8).....                                                                | 45 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                 |                                                                            |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------|
| %               | Porcentagem                                                                |
| LIT             | Liver Infusion Tryptose                                                    |
| ML              | Mililitro                                                                  |
| Mm              | Milímetro                                                                  |
| OMS             | Organização Mundial da Saúde                                               |
| RIFI            | Prova de Imunofluorescência Indireta                                       |
| SAM             | Soroaglutinação Microscópica                                               |
| SST             | Solução Salina Tamponada                                                   |
| UI              | Unidade Internacional                                                      |
| uL              | Microlitro                                                                 |
| Um <sup>2</sup> | Micrômetro quadrado                                                        |
| X               | Vezez                                                                      |
| °C              | Grau Celsius                                                               |
| ICMBIO          | Instituto Chico Mendes de Conservação e da Biodiversidade                  |
| IUCN            | União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais |
| EX SITU         | Conservação de Espécies fora de seus Habitats Naturais                     |
| SARS            | Síndrome Respiratória Aguda Grave                                          |
| H5N1            | Gripe das aves                                                             |
| TZG             | Guia Tripartite de Doenças Zoonóticas                                      |
| LT              | Leishmaniose Tegumentar                                                    |
| LV              | Leishmaniose Visceral                                                      |
| d.C             | Depois de Cristo                                                           |
| CEUA            | Comissão de Ética no Uso de Animais                                        |
| FAM             | Faculdade Americana                                                        |
| SISBIO          | Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade                      |
| SEMA            | Secretária de Estado de Meio Ambiente                                      |
| MT              | Mato Grosso                                                                |
| Kg              | Quilogramas                                                                |
| Mg              | Miligramas                                                                 |
| Mcg             | Micrograma                                                                 |
| TPC             | Tempo de Preenchimento Capilar                                             |

|       |                                               |
|-------|-----------------------------------------------|
| ML    | Mililitros                                    |
| EDTA  | Ácido Etilenoaminotetracético                 |
| FMVZ  | Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia |
| UNESP | Universidade Estadual Paulista                |
| ALT   | Alanina-Aminotransferase                      |
| AST   | Aspartato-Aminotransferase                    |
| GGT   | Gama-Glutamiltransferase                      |
| FA    | Fosfatase Alcalina                            |
| IgG   | Imunoglobulina G                              |
| pH    | Potencial Hidrogeniônico                      |
| >     | Maior                                         |

## SUMÁRIO

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                | 1  |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA .....                                                     | 4  |
| 2.1 PANORAMA GERAL DOS FELÍDEOS .....                                              | 4  |
| 2.2 COMPOSIÇÃO DO SANGUE E HEMOGRAMA .....                                         | 7  |
| 2.3 EXAMES BIOQUÍMICOS E DOSAGEM SÉRICA DE VITAMINAS .....                         | 10 |
| 2.4 DOENÇAS ZOONÓTICAS .....                                                       | 12 |
| 3. OBJETIVOS.....                                                                  | 17 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL .....                                                           | 17 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                    | 17 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                        | 17 |
| 4.1 ÉTICA.....                                                                     | 17 |
| 4.2 ANIMAIS .....                                                                  | 17 |
| 4.3 CONTENÇÃO QUÍMICA E MONITORAMENTO .....                                        | 18 |
| 4.4 LÂMINAS E ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS .....                                          | 25 |
| 4.5 HEMOGRAMA.....                                                                 | 26 |
| 4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....                                                     | 26 |
| 4.7 VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS E LIPOSSOLÚVEIS .....                                 | 27 |
| 4.8 SOROLOGIA .....                                                                | 27 |
| 5. RESULTADOS .....                                                                | 31 |
| 5.1 ANÁLISE DESCRITIVA, COMPARATIVA E MORFOMÉTRICA<br>DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS ..... | 31 |
| 5.2 HEMATOLOGIA .....                                                              | 36 |
| 5.3 MÉDIA VALORES BIOQUÍMICOS POR ESPÉCIE.....                                     | 38 |
| 5.4 MÉDIA VALORES DAS VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS E<br>LIPOSSOLÚVEIS .....            | 40 |
| 5.5 SOROLOGIA – DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....                                      | 41 |
| 6. DISCUSSÃO.....                                                                  | 46 |
| 7. CONCLUSÕES .....                                                                | 54 |
| 8. BIBLIOGRAFIA.....                                                               | 55 |
| 9. ARTIGOS CIENTÍFICOS .....                                                       | 64 |

## 1. INTRODUÇÃO

Os animais silvestres, em diversas situações, necessitam de intervenções humanas para garantir sua sobrevivência, especialmente em casos relacionados a maus-tratos, orfandade ou manutenção ilegal em cativeiro (Bais, Tak, Mahla, 2017). Dentre esses animais, destacam-se os felinos, mamíferos carnívoros pertencentes à família Felidae, cuja origem remonta a aproximadamente 30 milhões de anos, com posterior dispersão por praticamente todos os continentes ao longo dos 25 milhões de anos subsequentes (Turner, Natón, 1997). Atualmente, a família Felidae é composta por 14 gêneros e cerca de 40 espécies reconhecidas (Clavijo & Ramírez, 2009; Wanderlei, 2011).

No Brasil, segundo dados do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, 2022), ocorrem dez espécies de felinos silvestres, das quais seis encontram-se classificadas em situação de vulnerabilidade e uma em perigo de extinção. Nesse contexto, sob a perspectiva conservacionista, torna-se indispensável a atuação de instituições como zoológicos, mantenedores de fauna e criadouros científicos, os quais desempenham papel fundamental na preservação dessas espécies e na mitigação dos impactos decorrentes das ações antrópicas.

Projetos de reintrodução e conservação têm promovido importantes estudos com animais mantidos em condições controladas, visando não apenas a preservação das espécies, mas também a promoção da educação ambiental, do bem-estar animal e da conscientização pública (Pimentel et al., 2009). Entretanto, grande parte das pesquisas envolvendo felinos silvestres concentra-se predominantemente em aspectos relacionados à dieta e ao manejo nutricional, havendo ainda lacunas significativas no conhecimento acerca da fisiologia e da sanidade desses animais. Diante da redução populacional observada em diversas espécies em decorrência da ação humana, torna-se imprescindível o investimento em pesquisas voltadas à conservação e ao entendimento dos aspectos clínicos e epidemiológicos que envolvem esses animais (Melo et al., 2016).

A avaliação da saúde dos felídeos silvestres e a compreensão da incidência de enfermidades que acometem essas espécies possuem relevância não apenas para a medicina da conservação, mas também para a saúde pública, animal e ambiental, considerando o conceito de Saúde Única. Nesse cenário, os

exames hematológicos destacam-se como ferramentas diagnósticas essenciais e amplamente utilizadas na medicina veterinária de animais domésticos, existindo vasta literatura acerca dos valores de referência para cães e gatos. Contudo, na medicina de animais silvestres, os conhecimentos relacionados aos parâmetros hematológicos ainda são limitados ou inexistentes para muitas espécies.

Um dos principais desafios para a consolidação de valores hematológicos de referência em felinos silvestres consiste na dificuldade de obtenção de amostras representativas, capazes de permitir análises estatísticas robustas. Soma-se a isso a influência exercida por fatores como manejo, contenção física ou química e condições ambientais durante os procedimentos de coleta sanguínea, os quais podem interferir diretamente nos resultados laboratoriais (Larsson et al., 2015). Dessa forma, muitos dos parâmetros laboratoriais atualmente utilizados para grandes felinos são extrapolados de estudos realizados com outras espécies, especialmente felinos domésticos. Nesse sentido, torna-se fundamental o desenvolvimento de pesquisas envolvendo populações de animais silvestres tanto em cativeiro quanto de vida livre, possibilitando a comparação e a reprodutibilidade dos achados científicos (Dias et al., 2022).

Adicionalmente, observa-se a ausência de materiais técnico-científicos que reúnam fotomicrografias descritivas e morfométricas das células sanguíneas das principais espécies de felinos silvestres manejadas e reproduzidas em cativeiro no Brasil, bem como das espécies nativas frequentemente estudadas nos diferentes biomas brasileiros.

Outro aspecto de grande relevância refere-se ao papel ecológico desempenhado pelos felinos, uma vez que, por ocuparem o topo da cadeia alimentar, esses animais podem atuar como reservatórios de diversos agentes infecciosos. Dessa forma, a investigação molecular de patógenos virais e bacterianos, bem como a pesquisa sorológica de agentes de importância em saúde pública, utilizando amostras sanguíneas desses animais, torna-se essencial para a compreensão epidemiológica das enfermidades que circulam na fauna silvestre. Além disso, as alterações ambientais e a crescente proximidade entre ambientes naturais, áreas urbanizadas e animais domésticos elevam o risco de transmissão de agentes infecciosos entre espécies, incluindo cães, gatos e bovinos, podendo favorecer tanto o adoecimento dos felídeos quanto a



disseminação desses patógenos nos ecossistemas naturais (Sacristán et al., 2021).

Diante desse panorama, o presente estudo tem como objetivo realizar a descrição qualitativa e morfométrica das células sanguíneas de felinos selvagens, bem como avaliar os principais exames bioquímicos e analisar a circulação de *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp. e *Leishmania* spp. em felídeos distribuídos em diferentes biomas brasileiros. Considerando a importância ecológica e conservacionista desses animais, bem como as crescentes preocupações relacionadas às transformações ambientais e aos impactos sobre a saúde pública, destaca-se a necessidade de ampliação dos dados epidemiológicos e sorológicos disponíveis para essas espécies. Assim, esta pesquisa configura-se como uma importante ferramenta científica para o aprimoramento do conhecimento clínico-laboratorial e epidemiológico dessas espécies, contribuindo diretamente para estratégias de conservação da fauna brasileira e para o fortalecimento das ações integradas em Saúde Única.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Panorama geral dos felídeos**

Os felinos pertencem à classe Mammalia e à família Felidae, sendo caracterizados como mamíferos carnívoros que ocupam o topo da cadeia alimentar e exercem papel ecológico fundamental na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas (Wanderlei, 2011; Luiz, 2008). A massa corporal dos representantes dessa família apresenta ampla variação entre as espécies, podendo oscilar de aproximadamente 1,3 kg a mais de 300 kg (Filoni, 2006). A família Felidae é representada por cerca de 40 espécies distribuídas em diferentes continentes e habitats (Clavijo & Ramírez, 2009).

De maneira geral, as espécies pertencentes a essa família encontram-se sob crescente ameaça de extinção ou em elevado grau de vulnerabilidade (IUCN, 2014). Entre os principais fatores responsáveis por esse cenário destacam-se as ações antrópicas, especialmente a caça para comercialização de peles, a destruição e fragmentação dos habitats naturais e o avanço exponencial das atividades agropecuárias sobre áreas florestais (Almeida, 2013).

Além desses fatores, o comportamento predominantemente solitário dos felinos constitui um agravante importante para a conservação das espécies. A fragmentação ambiental promove o isolamento geográfico das populações, reduzindo significativamente o fluxo gênico entre os indivíduos. Como consequência, ocorre diminuição da diversidade genética e redução da densidade populacional, comprometendo a viabilidade das populações a longo prazo (Oliveira, 1994; Genaro et al., 2001; Hübner & Link, 2011; Melo et al., 2016).

Diante desse panorama, os centros de manutenção em cativeiro assumem papel relevante na conservação das espécies de felídeos. Apesar das dificuldades enfrentadas por algumas instituições, como redução das taxas reprodutivas associadas ao estresse, inadequações nutricionais e recintos incompatíveis com as necessidades biológicas das espécies (Genaro et al., 2001), esses locais exercem função essencial na recuperação, proteção e manutenção de felinos selvagens debilitados ou impossibilitados de retorno imediato à vida livre (Costa, 2012).

Os animais silvestres mantidos em cativeiro podem apresentar diferentes origens: alguns já nascem sob cuidados humanos, enquanto outros são

capturados ou resgatados de seus habitats naturais ao longo da vida. Em ambas as situações, ocorre uma modificação substancial da realidade ambiental e comportamental desses indivíduos. Nesse contexto, a relação entre humanos e animais torna-se um aspecto determinante para o sucesso do manejo, uma vez que o homem, frequentemente percebido instintivamente como ameaça, deve estabelecer interações que minimizem o estresse e favoreçam a adaptação do animal ao novo ambiente (Hediger, 1950).

Os recintos destinados ao cativeiro representam um desafio constante, pois demandam infraestrutura adequada e acompanhamento médico veterinário especializado, capazes de atender às necessidades específicas de cada espécie e garantir condições satisfatórias de bem-estar animal (Bais, Tak, Mahla, 2017). Segundo a World Association of Zoos and Aquariums (WAZA, 2015), o bem-estar animal corresponde à condição geral do indivíduo, abrangendo seu estado físico, emocional e suas percepções subjetivas diante das influências ambientais. Nesse sentido, o Modelo dos Cinco Domínios constitui importante ferramenta conceitual para avaliação do bem-estar, contemplando quatro domínios físicos — nutrição, ambiente, saúde física e comportamento — além de um quinto domínio relacionado ao estado psicológico do animal.

Dessa forma, a manutenção adequada de felinos em cativeiro deve considerar tanto características gerais quanto necessidades específicas de cada espécie e indivíduo. Aspectos relacionados às exigências comportamentais e psicológicas, dimensões e estrutura dos recintos, composição social dos grupos e protocolos de manejo devem ser cuidadosamente planejados pelas instituições responsáveis, a fim de proporcionar condições compatíveis com a biologia e o bem-estar desses animais (Araújo, 2016).

Em ambiente natural, os felídeos selvagens apresentam expectativa de vida média entre 13 e 20 anos; entretanto, essa longevidade tende a aumentar quando os animais são mantidos sob cuidados humanos, em razão da disponibilidade contínua de alimento, assistência veterinária e redução de ameaças ambientais. Ainda assim, os impactos decorrentes da degradação ambiental seguem representando importante ameaça à conservação dessas espécies. A destruição progressiva dos habitats naturais reduz a disponibilidade de recursos alimentares e áreas de refúgio, contribuindo para o aumento do número de espécies ameaçadas de extinção (Wanderlei, 2011).

Ao discutir a conservação de carnívoros silvestres, torna-se imprescindível considerar a relevância das doenças infecciosas no contexto da manutenção populacional dessas espécies. Evidências indicam que os diferentes felídeos apresentam suscetibilidade semelhante a diversos patógenos. Em ambientes de cativeiro, essa problemática pode ser intensificada, uma vez que animais provenientes de distintas regiões geográficas frequentemente compartilham o mesmo recinto, aumentando a exposição a diferentes agentes infecciosos. Além disso, o contato ocasional entre felinos selvagens e gatos domésticos favorece a transmissão de enfermidades, elevando os riscos sanitários para essas populações (Filoni, 2006).

Fatores adicionais, como estresse fisiológico, alterações imunológicas e deficiências nutricionais, podem potencializar os efeitos deletérios das doenças infecciosas, tornando essencial o monitoramento contínuo da saúde desses animais por parte das instituições responsáveis. Nesse contexto, o bem-estar animal deve ser compreendido como condição multifatorial, dependente do equilíbrio entre aspectos físicos, ambientais e psicológicos (WAZA, 2020; Mellor, 2015).

Sob a perspectiva epidemiológica, as doenças resultam da interação entre agente etiológico, hospedeiro suscetível e meio ambiente, conforme estabelecido pela tríade epidemiológica (Brasil, 2010). Alterações ambientais, incluindo as condições inerentes ao cativeiro, podem modificar significativamente as relações entre hospedeiro e patógeno, favorecendo o surgimento e a disseminação de enfermidades (Metzger, 2009).

Nesse cenário, doenças e parasitos transmitidos por artrópodes assumem especial importância, sobretudo devido ao transporte, importação e transferência de animais entre instituições, bem como ao contato prévio ou ocasional com animais domésticos (Metzger, 2009; André, 2012). Assim, torna-se necessário ampliar os estudos voltados ao monitoramento sanitário e à manutenção da saúde dos felinos selvagens, incluindo investigações sobre as interações interespecíficas envolvendo humanos, animais domésticos e fauna silvestre. Essas abordagens contribuem não apenas para a prevenção de enfermidades e melhoria do bem-estar animal, mas também para o entendimento epidemiológico de agentes transmitidos por artrópodes, como *Hepatozoon* spp., piroplasmas, *Cytauxzoon* spp. e bactérias da ordem *Rickettsiales*.

Nas últimas décadas, o crescente reconhecimento do papel ecológico e social dos animais silvestres por órgãos governamentais, organizações não governamentais e pela sociedade tem impulsionado iniciativas voltadas ao monitoramento populacional e à conservação de espécies ameaçadas. Nesse contexto, têm sido desenvolvidas estratégias destinadas à proteção e reintrodução de animais silvestres em seus habitats naturais (Wang, 2019).

A União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN) destaca-se mundialmente na elaboração de diretrizes e resoluções voltadas à preservação ambiental, reunindo-se periodicamente para discutir medidas eficazes de conservação. Sob a perspectiva da IUCN, o desenvolvimento humano deve ocorrer de maneira integrada à conservação da natureza, considerando aspectos políticos, econômicos, culturais e tecnológicos como instrumentos fundamentais para a promoção do equilíbrio ambiental e do bem-estar global (IUCN, 2019).

## **2.2 Composição do sangue e hemograma**

O sangue é um tecido conjuntivo especializado, constituído por uma fração líquida e uma fração celular. A porção líquida, denominada plasma, contém diversos solutos orgânicos e inorgânicos, incluindo minerais, enzimas, proteínas, nutrientes e hormônios. Já a fração celular é composta por eritrócitos, leucócitos e plaquetas nos mamíferos, sendo estas últimas fragmentos citoplasmáticos derivados de megacariócitos (González & Silva, 2008; Junqueira, 2023).

O volume sanguíneo total dos felídeos silvestres corresponde, em média, a aproximadamente 6 a 8% do peso corporal, equivalente a cerca de 60 a 80 mL/kg. O conhecimento desse parâmetro é fundamental para o estabelecimento de limites seguros de coleta sanguínea e para a avaliação do estado hemodinâmico dos animais durante procedimentos clínicos e anestésicos (Miller; Fowler, 2015).

Os eritrócitos são células especializadas no transporte de gases respiratórios, contendo elevadas concentrações de hemoglobina, proteína responsável pelo carreamento da maior parte do oxigênio e do dióxido de carbono no organismo (Junqueira, 2023). Sua membrana plasmática é composta por lipídios, proteínas e carboidratos, conferindo flexibilidade, resistência e permeabilidade à célula, além de determinar sua morfologia característica, a qual pode variar entre as espécies. Nos mamíferos, os eritrócitos são anucleados,

diferentemente dos demais vertebrados, cujas hemácias mantêm o núcleo celular. Em geral, apresentam formato bicôncavo e arredondado, característica observada na maioria das espécies da classe Mammalia, com exceção dos integrantes da família Camelidae, como camelos, lhamas e alpacas, que possuem eritrócitos elípticos (Thrall, 2024).

O formato bicôncavo favorece a eficiência das trocas gasosas e proporciona maior maleabilidade celular, permitindo o trânsito adequado pelos capilares sanguíneos. Além disso, essa conformação resulta em uma área central de menor intensidade de coloração, decorrente da menor concentração de hemoglobina nessa região, aspecto mais evidente em algumas espécies, como cães, do que em outras, como felinos e bovinos (Thrall, 2024).

Os leucócitos constituem as principais células de defesa do organismo, atuando na resposta imunológica frente a infecções e diferentes formas de injúria tecidual. Entre eles, os neutrófilos representam os leucócitos circulantes mais abundantes e são classificados como células polimorfonucleares. Essas células participam ativamente das respostas inflamatórias agudas, sendo uma das primeiras populações celulares a migrar para os sítios lesionados (Abbas, Lichtman, Pillai, 2021).

Os monócitos, por sua vez, são fagócitos mononucleares que, após migração para os tecidos, diferenciam-se em macrófagos. Correspondem às maiores células circulantes do sangue periférico e apresentam morfologia nuclear característica, frequentemente descrita como reniforme ou em formato de feijão (Geissmann et al., 2010; Cros et al., 2010; Abbas, Lichtman, Pillai, 2021).

Os linfócitos desempenham papel central na imunidade adaptativa, sendo responsáveis pelo reconhecimento específico de antígenos por meio de receptores especializados. Morfologicamente, caracterizam-se por apresentarem núcleo arredondado ocupando grande parte do citoplasma celular (Junqueira, 2023). Já os eosinófilos e basófilos geralmente estão presentes em menor quantidade no sangue periférico em condições fisiológicas normais (Barthold et al., 2016). Essas células possuem grânulos citoplasmáticos ricos em mediadores inflamatórios e substâncias antimicrobianas, liberados após estímulos específicos, estando fortemente associadas às respostas imunes contra helmintos e processos de hipersensibilidade (Abbas, Lichtman, Pillai, 2021).

As plaquetas, por sua vez, são fragmentos citoplasmáticos anucleados

originados dos megacariócitos da medula óssea e desempenham papel essencial na hemostasia primária, participando dos mecanismos iniciais de coagulação sanguínea (Thrall, 2024). Em animais não mamíferos, essas estruturas são denominadas trombócitos em razão da presença de núcleo celular (Claver, 2009).

O sangue exerce funções fundamentais para a manutenção da homeostasia do organismo, atuando principalmente no transporte de substâncias essenciais, como oxigênio, dióxido de carbono, nutrientes e hormônios, desde os locais de absorção ou síntese até os tecidos-alvo. Além disso, participa da remoção de metabólitos celulares e substâncias potencialmente tóxicas, conduzindo-os aos órgãos responsáveis pela excreção. Outra função de extrema relevância refere-se à defesa do organismo frente a agentes infecciosos e injúrias teciduais, uma vez que o sangue atua como veículo para o recrutamento e transporte de células imunológicas até os locais acometidos, onde ocorre a diapedese e subsequente resposta inflamatória mediada por citocinas e quimiocinas (González & Silva, 2008).

O hemograma constitui a principal ferramenta de avaliação hematológica na prática clínica e laboratorial, permitindo a análise quantitativa e qualitativa dos principais componentes celulares do sangue periférico: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Trata-se de um exame amplamente solicitado tanto para avaliações de rotina quanto como auxílio diagnóstico em diversas enfermidades, além de fornecer informações importantes sobre a resposta do organismo frente a processos infecciosos, inflamatórios e outras alterações fisiopatológicas (Dolanhol et al., 2009; González & Silva, 2008).

A avaliação hematológica pode ser realizada por métodos manuais ou automatizados, utilizando contadores hematológicos específicos. Complementarmente, a análise qualitativa é realizada por meio da avaliação microscópica de esfregaços sanguíneos corados, permitindo a identificação dos diferentes tipos celulares, avaliação morfológica e realização da contagem diferencial de leucócitos (Failace, 2015).

Na medicina veterinária, o hemograma destaca-se como um dos exames laboratoriais mais solicitados devido à sua praticidade, baixo custo e elevada utilidade clínica. Em animais silvestres, sua relevância é ainda maior, uma vez que possibilita a avaliação do estado geral de saúde e da resposta fisiológica dos indivíduos frente a diferentes fatores ambientais, nutricionais, infecciosos e

estressantes, constituindo importante ferramenta para a conservação de espécies silvestres (Mendes, 2018).

Na medicina de animais domésticos, os estudos hematológicos encontram-se amplamente consolidados, existindo extensa literatura acerca dos valores de referência e da morfologia celular das diferentes espécies. Entretanto, na medicina de animais silvestres, especialmente no caso dos felídeos selvagens, ainda há escassez significativa dessas informações (Larsson et al., 2015). Em razão dessa limitação, os parâmetros hematológicos utilizados para interpretação clínica em felinos silvestres são frequentemente extrapolados de dados obtidos em outras espécies, principalmente do gato doméstico (*Felis catus*), o que pode comprometer a precisão diagnóstica e a adequada interpretação dos resultados laboratoriais (Dias et al., 2022).

Considerando o declínio populacional e o crescente risco de extinção das espécies de felídeos selvagens, a conservação *ex situ* — definida como a manutenção de indivíduos sob cuidados humanos fora de seu habitat natural — torna-se uma estratégia fundamental para a preservação dessas espécies. Além de contribuir para a reprodução e manutenção populacional, os animais mantidos em cativeiro representam importante fonte de informações biológicas, sanitárias e genéticas, permitindo ainda a formação de bancos de material biológico e genético relevantes para pesquisas futuras (Piratelli & Francisco, 2013).

Com o aumento da necessidade de manutenção desses animais em cativeiro, observa-se também maior demanda por acompanhamento veterinário especializado. Embora o ambiente cativo possa favorecer o aumento da expectativa de vida ao reduzir fatores de risco frequentemente presentes na natureza, como escassez alimentar, predadores e acidentes, ele também pode comprometer o bem-estar animal por diferir significativamente do ambiente natural das espécies. Essas alterações ambientais podem desencadear distúrbios fisiológicos associados ao estresse crônico, à senilidade e a diferentes enfermidades relacionadas ao manejo sob cuidados humanos (Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014).

### **2.3 Exames Bioquímicos e dosagem sérica de vitaminas**

Os exames bioquímicos constituem ferramentas fundamentais para o entendimento fisiológico e para o diagnóstico das mais diversas enfermidades,



tanto na medicina veterinária de animais domésticos quanto na de animais silvestres. Esses exames permitem avaliar a integridade funcional de diferentes órgãos e sistemas, além de fornecer informações relevantes sobre o estado metabólico, nutricional e clínico dos indivíduos (Trall et al., 2024).

Entre os principais parâmetros utilizados na avaliação da função renal destacam-se a ureia sanguínea e a creatinina, ambas classificadas como substâncias nitrogenadas não proteicas. Esses compostos são normalmente filtrados pelos rins e excretados na urina; portanto, elevações em suas concentrações séricas podem indicar comprometimento da função renal e ocorrência de azotemia (Larsson et al., 2017).

Na avaliação da função hepática, a mensuração das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) apresenta grande relevância clínica, uma vez que alterações em suas concentrações séricas podem estar associadas a lesões hepatocelulares, musculares esqueléticas, cardíacas ou ainda a condições relacionadas ao exercício físico intenso (Trall et al., 2024).

Outro marcador bioquímico amplamente utilizado é a fosfatase alcalina (ALP), cuja elevação sérica pode indicar colestase decorrente de obstrução biliar intra ou extra-hepática, além de alterações hepáticas e enfermidades relacionadas ao tecido ósseo (Hill, 2011). Da mesma forma, a gama-glutamil transferase (GGT) apresenta importante valor diagnóstico, especialmente em felinos, nos quais essa enzima demonstra maior sensibilidade para identificação de doenças colestáticas quando comparada à ALP. O aumento das concentrações séricas de GGT pode estar relacionado à colestase e à necrose biliar (Bain, 2009).

Além dos parâmetros enzimáticos e metabólicos, a avaliação dos níveis séricos de vitaminas possui importante aplicação clínica e nutricional. As vitaminas lipossolúveis, como as vitaminas A, D e E, e as hidrossolúveis, como a vitamina C e diversas vitaminas do complexo B, desempenham funções essenciais em processos fisiológicos relacionados à visão, imunidade, metabolismo celular, reprodução e manutenção do sistema esquelético. Dessa forma, alterações em suas concentrações séricas podem indicar desequilíbrios nutricionais, metabólicos ou fisiopatológicos (Miller et al., 2019).

O conhecimento dos valores de referência dessas vitaminas possibilita a identificação precoce de estados de deficiência ou excesso, condições capazes

de comprometer significativamente a saúde dos animais. Deficiências vitamínicas podem resultar em imunossupressão, alterações reprodutivas, distúrbios ósseos, prejuízo da condição corporal e outras alterações sistêmicas relevantes (Cubas et.al., 2014).

As vitaminas lipossolúveis — A, D, E e K — apresentam particular importância clínica devido à sua capacidade de armazenamento no fígado e no tecido adiposo, o que reduz sua excreção e aumenta o risco de toxicidade em situações de suplementação excessiva. Assim, a mensuração sérica dessas vitaminas torna-se fundamental tanto para prevenir estados carenciais quanto para evitar quadros de hipervitaminose. Em felídeos, por exemplo, já foram descritos casos de hipervitaminose D, evidenciando a necessidade do monitoramento adequado desses compostos em animais mantidos sob cuidados humanos (Bissel, Black, Keller, 2019).

## **2.4 Doenças Zoonóticas**

As zoonoses são definidas como doenças ou infecções naturalmente transmissíveis entre animais vertebrados e seres humanos. De acordo com o Comitê de Especialistas em Zoonoses da Organização Mundial da Saúde (OMS), atualmente são conhecidas mais de 250 zoonoses. Essas enfermidades podem ser classificadas de maneira mais específica conforme o sentido da transmissão. As antropozoonoses correspondem às doenças transmitidas de animais para humanos, enquanto as zooantroponoses referem-se à transmissão de agentes infecciosos de humanos para animais (Acha et.al., 2013).

Além disso, as zoonoses podem ser categorizadas de acordo com o ciclo de manutenção do agente etiológico. As zoonoses diretas, também denominadas ortozoonoses, são transmitidas diretamente de um vertebrado infectado para um hospedeiro suscetível. As ciclozoonoses necessitam da participação de mais de uma espécie de vertebrado para completar seu ciclo de transmissão, sem envolvimento de hospedeiros invertebrados. Já as metazoonoses, também chamadas de ferozoonoses, requerem hospedeiros vertebrados e invertebrados para o desenvolvimento completo do agente infeccioso. Por fim, as saprozoonoses dependem tanto de hospedeiros vertebrados quanto de ambientes inanimados para manutenção e transmissão do patógeno (Chomel, 2014).

Os agentes zoonóticos podem apresentar diferentes naturezas etiológicas, incluindo bactérias, vírus, fungos, parasitos e agentes infecciosos não convencionais. A maioria desses patógenos possui origem em reservatórios animais, sejam eles domésticos ou silvestres (Ahmed et al., 2025). Dessa forma, as zoonoses exercem impacto significativo sobre a saúde pública, influenciando-a de maneira direta e indireta (Organização Mundial da Saúde, 2025).

Nas últimas décadas, observou-se um aumento expressivo na emergência e reemergência de doenças zoonóticas, fenômeno diretamente relacionado às atividades humanas. Entre os principais fatores associados a esse processo destacam-se a globalização, a urbanização desordenada, as mudanças climáticas, a resistência antimicrobiana e a intensificação das interações entre humanos, animais domésticos e fauna silvestre. Esses fatores favorecem a maior exposição humana a reservatórios de patógenos zoonóticos, ampliam a distribuição geográfica de vetores e reservatórios e aumentam o risco de ocorrência do chamado *spillover* ou transbordamento zoonótico (Ahmed et al., 2025).

Nesse contexto, o conceito de “Saúde Única” (*One Health*) passou a ganhar destaque no início dos anos 2000, especialmente após os surtos da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) e da influenza aviária H5N1. A partir desses eventos, tornou-se evidente a estreita relação entre saúde humana, saúde animal e equilíbrio ambiental. Segundo a *One Health Global Network*, a abordagem de Saúde Única reconhece que a saúde dos seres humanos, dos animais e dos ecossistemas é interdependente, devendo ser tratada de forma multidisciplinar, intersetorial, coordenada e colaborativa (Mackenzie & Jeggo, 2019).

Com base nesse princípio, diversas instituições internacionais passaram a desenvolver estratégias integradas para o monitoramento, prevenção e controle das zoonoses em escala global. Entre essas iniciativas destaca-se o Guia Tripartite de Doenças Zoonóticas (*Tripartite Zoonoses Guide – TZG*), criado com o objetivo de fortalecer ações intersetoriais voltadas à vigilância e controle dessas enfermidades. Contudo, a efetividade dessas medidas depende diretamente da adesão dos países participantes, bem como da disponibilidade de recursos financeiros, infraestrutura adequada e profissionais capacitados.

Dessa forma, a prevenção e o controle das zoonoses exigem uma

abordagem colaborativa e interdisciplinar fundamentada nos princípios da Saúde Única, integrando esforços das áreas da medicina humana, medicina veterinária, saúde ambiental e conservação da biodiversidade (Ahmed et al., 2025).

#### **2.4.1 Toxoplasmose**

A toxoplasmose é uma enfermidade causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um coccídio intracelular obrigatório de ampla distribuição mundial, classificado como importante agente zoonótico. O ciclo biológico desse parasito é heteroxênico, envolvendo hospedeiros definitivos e intermediários. Os mamíferos e as aves atuam como hospedeiros intermediários, enquanto os felídeos desempenham papel exclusivo como hospedeiros definitivos do agente etiológico (Dubey, Miller, Frenkel, 1970; Caldart et al., 2015).

A transmissão da toxoplasmose pode ocorrer por diferentes vias, destacando-se a ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente, o consumo de carnes cruas ou mal cozidas contendo cistos teciduais e a transmissão transplacentária. Dessa forma, a enfermidade apresenta elevada relevância tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública, especialmente em razão de sua ampla disseminação e potencial zoonótico (Dubey, 2010).

Os felídeos possuem papel central na epidemiologia da toxoplasmose, uma vez que são os únicos hospedeiros capazes de apresentar a fase sexuada do ciclo biológico de *T. gondii*. Consequentemente, esses animais são responsáveis pela eliminação de oocistos no ambiente, contribuindo diretamente para a manutenção e disseminação do parasito nos ecossistemas e na cadeia alimentar (Dubey, 2010).

Apesar da reconhecida importância epidemiológica dos felinos domésticos, ainda existem limitações significativas no conhecimento acerca da participação dos felinos selvagens no ciclo biológico de *T. gondii*, bem como sobre os impactos da infecção na morbidade e mortalidade dessas espécies (Silva et al., 2016). Nesse contexto, estudos envolvendo a ocorrência, circulação e efeitos da toxoplasmose em felídeos silvestres tornam-se essenciais para a compreensão da dinâmica epidemiológica da enfermidade e para o desenvolvimento de estratégias voltadas à conservação dessas espécies e à saúde única.

#### **2.4.2 Leishmaniose**

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, sendo considerada uma importante enfermidade parasitária de impacto na saúde pública e na medicina veterinária. Entre as espécies atualmente conhecidas, aproximadamente 21 são consideradas patogênicas para os seres humanos (Longoni, 2012).

No Brasil, os agentes etiológicos da leishmaniose tegumentar (LT) estão distribuídos em dois subgêneros principais: *Leishmania* e *Viannia*. O subgênero *Leishmania* é representado principalmente pela espécie *Leishmania amazonensis*, enquanto o subgênero *Viannia* inclui as espécies *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. naiffi* e *L. shawi* (Basano; Camargo, 2004).

Já a leishmaniose visceral (LV) no território brasileiro é causada por *Leishmania chagasi*, espécie pertencente ao complexo *L. donovani* (Gontijo; Mello, 2004). O ciclo biológico do parasito envolve hospedeiros vertebrados e invertebrados, sendo as fêmeas do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* os principais vetores da enfermidade no Brasil. Durante o repasto sanguíneo, as formas promastigotas presentes no inseto vetor são inoculadas no hospedeiro vertebrado e posteriormente fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário, transformando-se em formas amastigotas intracelulares (Gushi, 2008).

Nos felinos, a infecção por *Leishmania* pode apresentar diferentes manifestações clínicas. Alguns animais demonstram resistência natural ao parasito, permanecendo assintomáticos, enquanto outros podem desenvolver sinais clínicos, frequentemente associados a condições de imunossupressão. Estudos recentes sugerem a possibilidade de os felinos atuarem como reservatórios da leishmaniose, hipótese que ainda se encontra em investigação (Pirajá et al., 2013). Contudo, o papel epidemiológico desses animais na manutenção e transmissão da doença ainda não está completamente esclarecido (Vieira, 2016).

No Brasil, o primeiro relato de leishmaniose felina foi descrito no ano 2000, representando um marco importante para os estudos relacionados à participação dos felinos na epidemiologia da enfermidade (Savani, 2002).

Historicamente, a leishmaniose acomete populações humanas desde o século I d.C. (Basano; Camargo, 2004). Atualmente, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 2025), mais de um

bilhão de pessoas vivem em áreas endêmicas e encontram-se sob risco de infecção, evidenciando a relevância global dessa enfermidade e a necessidade de estratégias integradas de vigilância, prevenção e controle, fundamentadas nos princípios da Saúde Única.

### 2.4.3 Leptospirose

A leptospirose constitui um importante problema de saúde pública no Brasil, sendo considerada uma enfermidade infecciosa aguda de elevada relevância epidemiológica. Trata-se de uma doença causada por bactérias do gênero *Leptospira*, caracterizadas como espiroquetas gram-negativas aeróbias de morfologia helicoidal (Gomes et al., 2022).

As leptospirosas apresentam ampla distribuição entre diferentes espécies animais, acometendo animais domésticos, silvestres, espécies sinantrópicas e seres humanos. O gênero *Leptospira* inclui espécies patogênicas e saprofíticas, compreendendo mais de 250 sorovares descritos (Faine et al., 1999).

A fase inicial da infecção, denominada leptospiremia, corresponde ao quadro septicêmico agudo da enfermidade, período no qual o agente circula pela corrente sanguínea e dissemina-se pelos diferentes tecidos do organismo (Brasil, 1995). Posteriormente, as leptospirosas tendem a persistir principalmente nos túbulos renais e no trato genital dos hospedeiros infectados (Faine, 1982). Como consequência, podem ocorrer lesões teciduais locais e eliminação bacteriana pela urina, processo denominado leptospirúria, cuja duração pode variar de dias a anos, dependendo da espécie hospedeira e da resposta imunológica do indivíduo infectado (Plank & Dean, 2000).

Nos felídeos, estudos epidemiológicos sobre leptospirose ainda são relativamente escassos. Entretanto, segundo Neto (2006), em investigação realizada com felídeos observou-se maior frequência de infecção por *Leptospira interrogans*. Entre os principais sorovares identificados destacaram-se *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *pomona*.

Além disso, os resultados sugerem que os felinos selvagens, assim como os gatos domésticos, apresentam relativa resistência às infecções leptospíricas quando comparados a outras espécies animais. Ainda assim, a participação desses animais na epidemiologia da leptospirose merece maior investigação, especialmente considerando seu potencial papel na manutenção e disseminação

do agente em ambientes naturais e na interface entre fauna silvestre, animais domésticos e seres humanos (Sykes et.al., 2023).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Identificar as principais diferenças morfológicas das células sanguíneas de felinos selvagens, bem como comparar os resultados hematológicos, bioquímicos e sorológicos nas amostras de sangue das diferentes espécies coletadas.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Descrição qualitativa e morfométricas das células sanguíneas;
- Realizar análise descritiva comparada dos resultados obtidos nas diferentes espécies coletadas;
- Avaliação bioquímica das espécies de felinos selvagens;
- Analisar a circulação de *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp. e *Leishmania* spp. em felídeos distribuídos em diferentes biomas brasileiros.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Americana - FAM, Americana-São Paulo. Número de protocolo: 202402-07.

O projeto foi submetido ao Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade – SISBIO, o qual emitiu a autorização para atividades com finalidade científica sob o número 90422-1.

#### 4.2 Animais

Foram coletadas amostras de sangue de 90 felinos selvagens em cativeiro e vida livre, de espécies nativas e exóticas. Dentre as amostras, as espécies são de *Puma concolor*, *Puma Yagouaroundi*, *Panthera onca* (Figura 2), *Leopardus pardalis* (Figura 1), *Leopardus wiedii*, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus guttulus*,

*Leopardus geoffroyi*, *Leopardus colocolo*, *Panthera leo* e *Panthera tigris*. Os animais em questão são das seguintes instituições: Zoológico Municipal de Limeira, Zoológico Municipal de Americana, Zoológico de Itatiba, Mantenedor de Fauna Ampara Silvestre, Associação Mata Ciliar, Fazenda Kirongozi (todos Mata Atlântica), Refúgio Ecológico Caiman (Pantanal) e Fazenda Furnas do São Pedro em Paracatu (Cerrado), Instituto Onça-pintada (Cerrado), Projetos da Panthera Brasil (Pantanal Mato grossense) e Onças do Iguaçu (Mata Atlântica) e SEMA-MT (Pantanal), foram excluídos animais que apresentaram qualquer tipo de sinal clínico.

#### **4.3 Contenção química e monitoramento**

Os animais incluídos no estudo foram submetidos à contenção química para a realização dos procedimentos clínicos e coleta de amostras biológicas. Nos indivíduos mantidos em cativeiro, inicialmente realizou-se o manejo para condução dos animais às áreas de cambiamento dos recintos, permitindo maior segurança durante a contenção. Posteriormente, procedeu-se à administração dos agentes anestésicos por meio da projeção de dardos anestésicos utilizando zarabatana de sopro, direcionados à musculatura lateral dos membros posteriores e/ou anteriores.

Os protocolos anestésicos foram estabelecidos de acordo com as particularidades fisiológicas e o porte corporal de cada espécie, considerando que os indivíduos manejados apresentavam ampla variação de peso corporal, desde aproximadamente 3 kg até exemplares superiores a 350 kg.





FIGURA 1: Jaguatirica macho (*leopardus pardalis*), capturado no Parque Nacional do Iguaçu-PR, momento da coleta de material biológico.





FIGURA 2: Onça - pintada (*Panthera onca*), capturada no Parque Nacional do Iguaçu-PR, indivíduo com amostras coletadas, ano 2025.

Para indivíduos da espécie *Panthera leo*, o protocolo anestésico preconizado consistiu na associação de tiletamina e cloridrato de zolazepam na dose de 5 mg/kg, associada à detomidina na dose de 0,01 mg/kg e atropina na



dose de 0,05 mg/kg. Para *Panthera tigris*, utilizou-se a associação de cetamina na dose de 8 mg/kg com midazolam na dose de 0,6 mg/kg. Já para as demais espécies de felinos silvestres avaliadas no estudo, o protocolo empregado consistiu na associação de cetamina na dose de 6 mg/kg com medetomidina na dose de 0,06 mg/kg.

Nos animais de vida livre, foram empregadas técnicas de captura passiva adaptadas ao porte e comportamento das espécies-alvo. Para felinos de pequeno porte, utilizaram-se armadilhas do tipo Tomahawk (Figura 3), enquanto para felinos de grande porte, como *Panthera onca* e *Puma concolor*, foram utilizadas armadilhas de laço (Figura 4).



FIGURA 3: Armadilha *tomahawk* armada no Pantanal Matogrossense - Brasil para captura de pequenos felinos, ano 2025.





FIGURA 4: Configuração da armadilha de laço utilizada para a captura de onça-pintada e onça-parda nos diversos biomas.

Nos indivíduos capturados em gaiolas, a administração anestésica foi

realizada por meio da projeção de dardos anestésicos com auxílio de zarabatana de sopro. Já nos grandes felinos capturados em armadilhas de laço, a aplicação dos anestésicos ocorreu mediante aproximação controlada da equipe e utilização de projetores de dardos acionados por ar comprimido. Em ambos os casos, os dardos foram direcionados à musculatura dos membros posteriores e/ou anteriores dos animais.

Tanto nos procedimentos realizados em animais cativos quanto nos indivíduos de vida livre, o monitoramento anestésico foi conduzido continuamente pelos médicos-veterinários da equipe. Para avaliação dos parâmetros fisiológicos foram utilizados pulso oxímetro modelo R 40 Vet da RZ equipamentos, lactímetro portátil Accutrend Plus Roche e glicosímetro G tech Free. Durante todo o manejo, foram aferidos e registrados em fichas anestésicas específicas os parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação periférica de oxigênio, tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura corporal, concentração de lactato e glicemia.

A coleta de sangue periférico foi realizada por venopunção das veias cefálica ou safena medial, de acordo com as características anatômicas e o porte de cada indivíduo, utilizando sistema *scalp* acoplado a tubos do tipo *vacutainer*. Aproximadamente 9,5 mL de sangue total foram coletados de cada animal, sendo posteriormente distribuídos em tubos contendo EDTA e em tubos secos destinados às análises sorológicas e bioquímicas.





FIGURA 5: Jaguatirica (*Leopardus pardalis*) capturada no Pantanal, no exato momento da venipunção para coleta de amostras.

Após a coleta, as amostras foram devidamente armazenadas e encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário e posteriormente processadas

no Laboratório de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista em Botucatu, SP, Brasil.

#### 4.4 Lâminas e esfregaços sanguíneos

Foram analisadas, por coloração instantânea (panóptico rápido) 30 lâminas de esfregaços sanguíneos provenientes de seis espécies de felinos, sendo cinco amostras de leão (*Panthera leo*), cinco de onça-pintada (*Panthera onca*), cinco de onça-parda (*Puma concolor*), cinco de jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (FIGURA 5), cinco de gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*) e cinco de gato doméstico (*Felis catus*).

Os esfregaços sanguíneos foram corados pela técnica de panótico rápido, método amplamente utilizado na rotina hematológica por possibilitar adequada diferenciação celular e avaliação morfológica. A técnica consiste na utilização sequencial de três soluções distintas. A primeira solução, composta por triarilmetano e metanol, atua como fixadora celular. A segunda contém água deionizada e xantenos, promovendo coloração avermelhada das estruturas celulares de caráter básico. Já a terceira solução, composta por água deionizada e tiazinas, confere coloração azulada às estruturas ácidas das células.

O procedimento de coloração foi realizado mediante imersão sequencial das lâminas em cada solução, respeitando-se o tempo padronizado de cinco minutos por etapa. Após a conclusão da última imersão, as lâminas foram lavadas em água destilada e mantidas em temperatura ambiente até completa secagem, sendo posteriormente encaminhadas para análise microscópica.

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico modelo OLYMPUS BX60, enquanto as fotomicrografias foram obtidas por meio do software OPTHD Opticam®. Foram utilizados aumentos de 400× e 1000× sob imersão em óleo, permitindo a captura de imagens de hemácias, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos na região correspondente à monocamada celular dos esfregaços sanguíneos.

Para cada espécie avaliada, foram analisadas e mensuradas 200 hemácias, 50 neutrófilos, 10 linfócitos, cinco monócitos e cinco eosinófilos, totalizando 1.200 hemácias, 300 neutrófilos, 60 linfócitos, 30 monócitos e 30 eosinófilos analisados no estudo.

A avaliação morfométrica das hemácias incluiu mensuração da área celular,

perímetro, eixo maior e eixo menor. Para os leucócitos — neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos — além das variáveis citoplasmáticas anteriormente descritas, também foram mensuradas a área e o perímetro nuclear, sendo todos os valores expressos em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ).

#### 4.5 Hemograma

Os hemogramas de 5 *Leopardus wiedii*, 4 *Leopardus guttulus*, 9 *Leopardus pardalis*, 4 *Leopardus colocolo*, 2 *Leopardus geoffroy*, 7 *Puma concolor*, 4 *Herpailurus yagouaroundi*, 7 *Panthera tigris*, 3 *Panthera leo* e 45 *Panthera onca*, foram realizados manualmente, seguindo os protocolos de rotina do Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-UNESP. Foram confeccionadas lâminas de esfregaço sanguíneo coradas pela técnica de Wright-Giemsa, destinadas à contagem diferencial de leucócitos e à avaliação qualitativa das células sanguíneas.

Além da análise hematológica convencional, procedeu-se à captura de imagens das diferentes populações celulares presentes no sangue periférico, com a finalidade de realizar avaliação morfológica descritiva, documentação científica, análise morfométrica e comparação entre as espécies de felinos selvagens e o felino doméstico.

#### 4.6 Análises bioquímicas

Após a coleta de sangue em 5 indivíduos de *Leopardus wiedii*, 4 de *Leopardus guttulus*, 9 de *Leopardus pardalis*, 4 de *Leopardus colocolo*, 2 de *Leopardus geoffroy*, 7 de *Puma concolor* e 4 de *Herpailurus yagouaroundi*, 3 *Panthera leo*, 7 *Panthera tigris* e 45 *Panthera onca* (Totalizando 90 amostras), armazenadas em tubos secos, as amostras sanguíneas foram centrifugadas para obtenção do soro, sendo posteriormente destinadas à análise imediata e/ou armazenamento sob congelamento até o momento do processamento laboratorial.

As análises bioquímicas incluíram a mensuração de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), ureia, creatinina, colesterol, triglicerídeos, proteína total sérica, albumina, globulina, bilirrubina total e suas frações (direta e indireta), amilase, lipase, creatina quinase (CK), cálcio, fósforo,



magnésio, sódio, potássio, cloreto e glicose.

Todas as análises foram realizadas utilizando kits bioquímicos comerciais (Bioclin® e Labtest®) em analisador bioquímico automático Roche® Cobas Mira Plus®, seguindo os protocolos padronizados do Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-UNESP.

#### **4.7 Vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis**

Após a coleta sanguínea, foram separados 5 mL de sangue total, acondicionados em tubos contendo heparina. As amostras foram completamente envolvidas em quatro camadas de papel alumínio, com a finalidade de evitar exposição à luminosidade e preservar a estabilidade das vitaminas fotossensíveis. Foram realizados ao todo a coleta de 7 indivíduos, sendo 3 *Panthera tigris*, 2 *Panthera onca* e 2 *Leopardus pardalis*.

Posteriormente, as amostras foram encaminhadas a laboratório parceiro especializado, o VetCheck Lab localizado na cidade de São Paulo, SP, Brasil, onde foram processadas conforme os protocolos metodológicos padronizados pela instituição responsável.

#### **4.8 Sorologia**

Foram coletadas 52 amostras de soro, sendo 10 de *Puma concolor*, 3 de *Herpailurus yagouaroundi*, 8 de *Leopardus tigrinus*, 2 de *Leopardus geoffroy*, 2 de *Leopardus wiedii*, 5 de *Leopardus pardalis*, 1 de *Panthera leo*, 4 de *Panthera tigris* e 17 de *Panthera onca*.

##### **4.8.1 Toxoplasmose**

A detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi realizada por meio da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), conforme metodologia descrita por Camargo (1974).

Inicialmente, a suspensão antigênica contendo taquizoítos foi distribuída nos poços das lâminas específicas para imunofluorescência, utilizando-se 10 µL por poço. Após incubação em temperatura ambiente por um período de dois a três minutos, visando à fixação dos taquizoítos à superfície da lâmina, o excesso da suspensão foi removido por aspiração, permanecendo apenas uma película uniforme sobre cada poço.

As lâminas foram então secas à temperatura ambiente, acondicionadas em caixas apropriadas e armazenadas sob congelamento entre  $-18^{\circ}\text{C}$  e  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento de utilização.

Posteriormente, adicionaram-se 10  $\mu\text{L}$  do soro dos animais em diluições seriadas previamente estabelecidas, iniciando-se em 1:16 até 1:1024. As lâminas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ , permitindo adequada interação antígeno-anticorpo.

Após a incubação, as lâminas foram submetidas a duas a três lavagens sucessivas com solução salina tamponada (SST) 0,01 M, pH 7,2, permanecendo imersas durante 10 minutos em cada lavagem, com renovação completa da solução a cada etapa. Após a última lavagem, as lâminas permaneceram imersas por mais 10 minutos.

Na sequência, aplicaram-se 10  $\mu\text{L}$  do conjugado anti-IgG específico diluído em solução de azul de Evans, distribuído uniformemente sobre os poços. As lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida por 30 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ . Finalizada essa etapa, realizou-se nova série de lavagens conforme previamente descrito, seguida de secagem em temperatura ambiente.

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de imunofluorescência utilizando objetiva de 40 $\times$  e ocular de 10 $\times$ . Considerou-se como ponto final da reação a maior diluição sérica na qual se observou fluorescência intensa e contínua na periferia de, no mínimo, 50% dos taquizóitos presentes no campo microscópico

#### **4.8.2 Leishmaniose**

A pesquisa de anticorpos para *Leishmania chagasi* foi realizada pela Reação de Imunofluorescência Indireta (CAMARGO, 1974), sendo utilizadas as diluições 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640. As amostras foram diluídas em microplaca, pipetando-se 190  $\mu\text{L}$  de Solução Salina Tamponada (SST) e 10  $\mu\text{L}$  de soro a ser testado no primeiro orifício (diluição 1:20). Foram distribuídos 100  $\mu\text{L}$  de SST nas cinco cavidades, pipetando-se 100  $\mu\text{L}$  da primeira diluição para a seguinte, após homogeneização, procedendo-se assim até a quinta cavidade, desprezando-se os 100  $\mu\text{L}$  desta última diluição. Tal procedimento foi repetido com amostra do soro positivo (controle positivo) e outro negativo (controle negativo). Seguindo-se o protocolo, indicando a posição de cada soro a ser

testado, incluindo-se os controles positivos e negativos, na lâmina fixada com o antígeno, foi distribuído 10 µL de cada diluição do soro nos orifícios. A seguir as lâminas foram incubadas a 37° C, em câmara úmida por 30 minutos, e lavadas com SST por 10 minutos em coplin, procedendo-se duas lavagens após secagem em estufa 37°C. O conjugado específico foi diluído segundo o seu título previamente estabelecido, em solução de azul de Evans, diluída em SST na proporção de 1:5, distribuindo 10 µL do conjugado para cada diluição nas lâminas, incubando-se por 30 minutos, a 37° C em câmara úmida, lavando-se as lâminas em SST, seguidos de secagem em estufa e montagem com glicerina tamponada pH 8,5 e lamínula 24 mm X 60 mm, examinando-se em microscópio de imunofluorescência (aumento de 40X). Após a leitura dos controles, foi considerado como título final a maior diluição do soro em que ocorreu fluorescência completa na borda de pelo menos 50 % das promastigotas. O antígeno para a sensibilização das lâminas foi produzido com promastigotas de *L. chagasi* e *L. major* mantidas em tubos rosqueados contendo 9 ml de meio LIT e 5 ml de meio NNN no Núcleo de Pesquisa em Zoonoses. As lâminas foram sensibilizadas com a suspensão de promastigotas e mantidas em laminário à -20°C, até o momento do uso.

#### **4.8.3 Leptospirose**

As amostras de soro foram testadas para anticorpos anti-*Leptospira* spp. pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo as normas do Ministério da Saúde (1995). Foi utilizada uma bateria de antígenos vivos, mantidas e repicadas semanalmente em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) (DIFCO Laboratories®, Detroit, USA), a 28°C, constituída de 25 sorovares e quatro variantes do sorovar Hardjo: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Sentot, Gryppotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc, Hardjo prajitno, Hardjo miniswajezak, Hardjo C.T.G. e Hardjo bovis. Cada amostra foi inicialmente diluída em (SST) pH 7,6 na diluição na proporção de 1:50, adicionando-se 100 µL do soro a 4,9 mL da solução em tubos de ensaio de 10 mL.

As mesmas foram transferidas utilizando-se uma micropipeta para uma

microplaca de fundo chato, e dispostas horizontalmente em 29 orifícios contendo 50 µL de amostra cada. Em seguida, 50 µL de cada um dos 29 antígenos foram adicionados na posição vertical às amostras de soro, totalizando 100 µL de material em cada orifício. SST pH 7,6 foi utilizado como controle negativo. As placas foram tampadas, levemente agitadas por 20 segundos e incubadas em estufa seca a 28°C durante uma hora.

Após a incubação, uma gota de cada orifício foi transferida para uma lâmina lisa de vidro utilizando-se uma alça bacteriológica, e a leitura realizada em microscopia ótica de campo escuro (Carl Zeiss®, Alemanha), com aumento de 100X. Foram consideradas positivas amostras que apresentaram 50% ou mais de leptospiros aglutinados. Posteriormente uma nova análise das amostras positivas foi realizada, com o objetivo de identificar seu título de anticorpos para o sorovar reagente. Para tanto, 100 µL das amostras previamente diluídas a 1:50 serão transferidos novamente para uma microplaca de fundo chato, e adicionados 50 µL de SST pH 7,6 em outros cinco orifícios dispostos horizontalmente ao lado da amostra.

Foi realizada a diluição na razão de dois, transferindo-se 50µL do primeiro orifício para o segundo, homogeneizando-se com micropipeta, e transferindo 50 µL do segundo para o terceiro orifício, procedendo-se assim por diante, obtendo-se as diluições 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600. Em seguida foi adicionado somente o sorovar que apresentou reação positiva na diluição 1:100, transferindo-se 50 µL do mesmo para cada um dos seis orifícios contendo as amostras diluídas. O título final foi correspondente à maior diluição que apresentou resultado positivo, conforme descrito anteriormente (100, 200, 400, 800 ou 1600 UI). No caso de amostras que apresentaram reação para mais de um sorovar, foi considerado como reagente somente aquele que apresentou maior título. Amostras positivas para uma ou mais das sorovariantes Hardjo bovis, Hardjo prajitno, Hardjo C.T.G. e Hardjo miniswajezak foram consideradas como reagentes para o sorovar Hardjo.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análise descritiva, comparativa e morfométrica das células sanguíneas.

A média dos valores morfométricos de área e perímetro das células sanguíneas das espécies estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1: Média e desvio padrão dos valores morfométricos de área e perímetro totais das células sanguíneas das diferentes espécies de felinos.

| Célula      | Mensur.                     | Leão<br><i>P. Leo</i> | Onça-pintada<br><i>P. onca</i> | Onça-parda<br><i>P. concolor</i> | Jaguar.<br><i>L. pardalis</i> | Gato-domato<br><i>L. tigrinus</i> | Gato-domést.<br><i>F. catus</i> |
|-------------|-----------------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Hemácias    | Área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 26,7 $\pm$ 4,35       | 29,01 $\pm$ 3,37               | 25,69 $\pm$ 3,11                 | 28,94 $\pm$ 4,1               | 28,43 $\pm$ 3,39                  | 23,61 $\pm$ 2,33                |
|             | Perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 18,32 $\pm$ 1,47      | 19,10 $\pm$ 1,11               | 18,11 $\pm$ 2,28                 | 18,99 $\pm$ 1,41              | 18,88 $\pm$ 1,12                  | 17,22 $\pm$ 0,84                |
| Neutrófilos | Área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 100,26 $\pm$ 14,58    | 156,7 $\pm$ 27,02              | 120,41 $\pm$ 13,6                | 156,05 $\pm$ 22,39            | 124,63 $\pm$ 14,67                | 113,09 $\pm$ 15,92              |
|             | Perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 35,5 $\pm$ 2,66       | 44,4 $\pm$ 3,76                | 39,04 $\pm$ 2,23                 | 43,77 $\pm$ 5,43              | 39,69 $\pm$ 2,34                  | 37,36 $\pm$ 3,99                |
| Linfócitos  | Área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 101,05 $\pm$ 10,64    | 116,29 $\pm$ 13,32             | 82,58 $\pm$ 15,74                | 80,06 $\pm$ 18,22             | 76,08 $\pm$ 13,43                 | 100,19 $\pm$ 23,11              |
|             | Perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 36,11 $\pm$ 2,05      | 39,05 $\pm$ 2,35               | 33,5 $\pm$ 3,35                  | 32,18 $\pm$ 4,58              | 31,17 $\pm$ 2,53                  | 35,39 $\pm$ 4,05                |
| Monócitos   | Área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 138,08 $\pm$ 28,1     | 172,77 $\pm$ 29,31             | 146,46 $\pm$ 16,98               | 180,53 $\pm$ 10,38            | 168,11 $\pm$ 21,02                | 163,68 $\pm$ 16,46              |
|             | Perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 41,75 $\pm$ 4,04      | 46,54 $\pm$ 3,99               | 44,74 $\pm$ 2,14                 | 47,74 $\pm$ 1,39              | 46,04 $\pm$ 2,96                  | 45,9 $\pm$ 1,75                 |
| Eosinófilos | Área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 175,44 $\pm$ 11,79    | 183,72 $\pm$ 25,1              | 138,77 $\pm$ 19,38               | 170,52 $\pm$ 40,25            | 128,33 $\pm$ 7,42                 | 135,8 $\pm$ 9,93                |
|             | Perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 47,19 $\pm$ 1,49      | 48,36 $\pm$ 2,83               | 41,75 $\pm$ 2,95                 | 46,11 $\pm$ 5,23              | 40,26 $\pm$ 1,23                  | 41,38 $\pm$ 1,48                |

OBS: Mensur. = Mensuração; Jaguar. = Jaguaritica; Gato-domest. = Gato-doméstico.

A área e o perímetro total das células foram os parâmetros principais para a comparação de tamanho celular entre as espécies.

As maiores médias dos valores obtidos das mensurações de hemácias

foram observadas em onça-pintada, com área média de  $29,01 \mu\text{m}^2$ , enquanto as menores foram observadas em gato-doméstico, com área média de  $23,61 \mu\text{m}^2$ . Em relação a morfologia, a onça-parda apresentou palidez central dos eritrócitos, o que não foi visto comumente nas outras espécies estudadas. Além disso, não houve outras diferenças morfológicas dignas de nota entre as espécies, com todas apresentando as características gerais de hemácias de mamíferos: formato circular, bicôncavas e anucleadas.

Já nos neutrófilos, as maiores médias foram observadas também em onça pintada, com média da área de  $156,7 \mu\text{m}^2$ , e as menores em leão, com área média de  $100,06 \mu\text{m}^2$ . Não houve diferenças morfológicas específicas por espécies, porém todos se apresentaram em formato citoplasmático circular, com grande diversidade em relação ao núcleo (Tabela 3), variando de não-segmentados a até oito segmentações e formatos diversos, como em “S” e em “V”, e outras conformações em que porções nucleares se sobrepõem.

Os maiores linfócitos também foram observados em onça-pintada, com  $116,29 \mu\text{m}^2$  de área média, e os menores em gato-do-mato, com  $76,08 \mu\text{m}^2$  de área média. Em todas as espécies, o citoplasma se apresentou escasso, sendo tomado quase que completamente pelo núcleo arredondado.

Os maiores monócitos foram de jaguatirica, com  $180,53 \mu\text{m}^2$  de área média, enquanto que os de leão foram os menores, com  $138,08 \mu\text{m}^2$  de área média e, apesar dos monócitos serem descritos como os maiores leucócitos circulantes (Espinoza & Emmady, 2023), os eosinófilos se apresentaram as maiores células no leão, com área média de  $175,44 \mu\text{m}^2$ , e onça-pintada, com  $183,77 \mu\text{m}^2$  de área média, porém devido ao baixo número amostral tanto de monócitos quanto de eosinófilos ( $n=5$  de cada espécie), os valores obtidos podem não estar completamente fidedignos.

Dentre os eosinófilos, os maiores foram observados em onça-pintada (área média de  $183,77 \mu\text{m}^2$ ) e os menores em gato-do-mato ( $128,33 \mu\text{m}^2$  de área média).

TABELA 2: Média e desvio padrão de eixo mínimo e eixo máximo das células sanguíneas de diferentes espécies.

| Célula      | Mensur.       | Leão<br><i>P. leo</i> | Onça-pintada<br><i>P. onca</i> | Onça-parda<br><i>Puma concolor</i> | Jaguat.<br><i>L. pardalis</i> | Gato-do-mato<br><i>L. tigrinus</i> | Gato-doméstico<br><i>F. catus</i> |
|-------------|---------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Hemácias    | Eixo mín (µm) | 5,53 ± 0,48           | 5,81 ± 0,37                    | 5,48 ± 0,37                        | 5,83 ± 0,43                   | 5,81 ± 0,36                        | 5,29 ± 0,28                       |
|             | Eixo máx (µm) | 6,12 ± 0,51           | 6,33 ± 0,39                    | 5,94 ± 0,37                        | 6,28 ± 0,46                   | 6,2 ± 0,39                         | 5,66 ± 0,3                        |
| Neutrófilos | Eixo mín (µm) | 10,72 ± 0,78          | 13,23 ± 1,32                   | 11,53 ± 0,8                        | 13,18 ± 1,11                  | 11,71 ± 0,82                       | 11,98 ± 8,74                      |
|             | Eixo máx (µm) | 11,87 ± 1,07          | 14,99 ± 1,32                   | 13,81 ± 4,08                       | 15,56 ± 3,91                  | 13,47 ± 0,99                       | 12,77 ± 1,02                      |
| Linfócitos  | Eixo mín (µm) | 10,72 ± 0,93          | 11,55 ± 1,16                   | 9,25 ± 1,35                        | 9,53 ± 1,11                   | 9,23 ± 0,98                        | 10,6 ± 1,2                        |
|             | Eixo máx (µm) | 11,79 ± 0,74          | 13,21 ± 0,94                   | 11,27 ± 1,52                       | 10,43 ± 1,3                   | 10,38 ± 0,86                       | 11,9 ± 1,47                       |
| Monócitos   | Eixo mín (µm) | 12,09 ± 1,56          | 14,14 ± 1,4                    | 12,12 ± 1,87                       | 14,3 ± 0,49                   | 13,78 ± 0,79                       | 13,89 ± 1,13                      |
|             | Eixo máx (µm) | 14,42 ± 1,08          | 15,47 ± 1,26                   | 15,22 ± 0,7                        | 16,05 ± 0,58                  | 15,5 ± 1,31                        | 14,87 ± 0,59                      |
| Eosinófilos | Eixo mín (µm) | 13,88 ± 0,95          | 14,56 ± 1,27                   | 12,66 ± 1,03                       | 14,11 ± 1,82                  | 12,1 ± 0,43                        | 12,67 ± 0,74                      |
|             | Eixo máx (µm) | 16,1 ± 0,79           | 16,06 ± 0,78                   | 13,89 ± 0,93                       | 15,23 ± 1,52                  | 13,49 ± 0,76                       | 13,75 ± 0,54                      |

OBS: Mensur. = Mensuração; Jaguat. = Jaguatirica; Gato-domest. = Gato-doméstico

TABELA 3: Média e desvio padrão das mensurações de núcleo das células sanguíneas nucleadas das diferentes espécies de felídeos.

| Célula      | Mensur.                         | Leão<br><i>P. leo</i> | Onça-pintada<br><i>P. onca</i> | Onça-parda<br><i>Puma concolor</i> | Jaguar<br><i>L. pardalis</i> | Gato-do-mato<br><i>L. tigrinus</i> | Gato-domést.<br><i>F. catus</i> |
|-------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Neutrófilos | Área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 44,53 $\pm$ 4,44      | 69,33 $\pm$ 8,7                | 65,23 $\pm$ 8,84                   | 60,34 $\pm$ 6,31             | 68,71 $\pm$ 6,97                   | 50,3 $\pm$ 4,83                 |
|             | Per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 47,15 $\pm$ 6,53      | 56,58 $\pm$ 9,61               | 60,03 $\pm$ 8,96                   | 47,55 $\pm$ 8,58             | 57,16 $\pm$ 7,63                   | 49,57 $\pm$ 7,89                |
| Linfócitos  | Área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 66,43 $\pm$ 6,08      | 75,59 $\pm$ 9,33               | 59,64 $\pm$ 11,11                  | 56,95 $\pm$ 12,15            | 54,33 $\pm$ 6,38                   | 62,59 $\pm$ 11,35               |
|             | Per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 29,76 $\pm$ 1,67      | 33,09 $\pm$ 3,81               | 28,78 $\pm$ 3,24                   | 27,38 $\pm$ 3,4              | 27,4 $\pm$ 2,47                    | 29,23 $\pm$ 2,89                |
| Monócitos   | Área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 66,06 $\pm$ 9,31      | 91,64 $\pm$ 12,72              | 89,21 $\pm$ 10,69                  | 101,95 $\pm$ 11,13           | 103,16 $\pm$ 15,93                 | 102,48 $\pm$ 12,66              |
|             | Per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 36,78 $\pm$ 2,24      | 44,87 $\pm$ 4,77               | 43,55 $\pm$ 5,91                   | 47,47 $\pm$ 5,96             | 44,26 $\pm$ 9,02                   | 42 $\pm$ 4,2                    |
| Eosinófilos | Área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 59,33 $\pm$ 8,09      | 60,18 $\pm$ 10,2               | 56,84 $\pm$ 7,87                   | 52,91 $\pm$ 4,89             | 56,64 $\pm$ 2,79                   | 47,94 $\pm$ 5,65                |
|             | Per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 39,87 $\pm$ 4,06      | 49,42 $\pm$ 8,64               | 46,32 $\pm$ 4,23                   | 39,94 $\pm$ 5,87             | 44,56 $\pm$ 5,12                   | 45,07 $\pm$ 4,04                |

OBS: Mensur. = Mensuração; Jaguar. = Jaguaritica; Gato-domest. = Gato-doméstico

Foi observado que os eosinófilos de onça-parda possuem grânulos grandes e proeminentes (Figura 6), se destacando das outras espécies estudadas. A fins comparativos, os eosinófilos de onça-parda se assemelham aos de equinos no sentido de aspecto, descritos como “framboesa” (Weiser, 2014). Os eosinófilos de jaguatirica (Figura 7) apresentaram grânulos pequenos, em formato de barril, se assemelhando ao gato-doméstico (Figura 6), do qual é bem caracterizado. Já no leão, os grânulos eosinofílicos se coraram fortemente, sendo em formatos arredondados e em grande abundância, bem distribuídos pelo citoplasma (Figuras 6 e 7). Nos eosinófilos de onça pintada, os grânulos também se apresentam de formato arredondado, ligeiramente maiores que os de leão, e com porções citoplasmáticas periféricas não preenchidas com os grânulos.



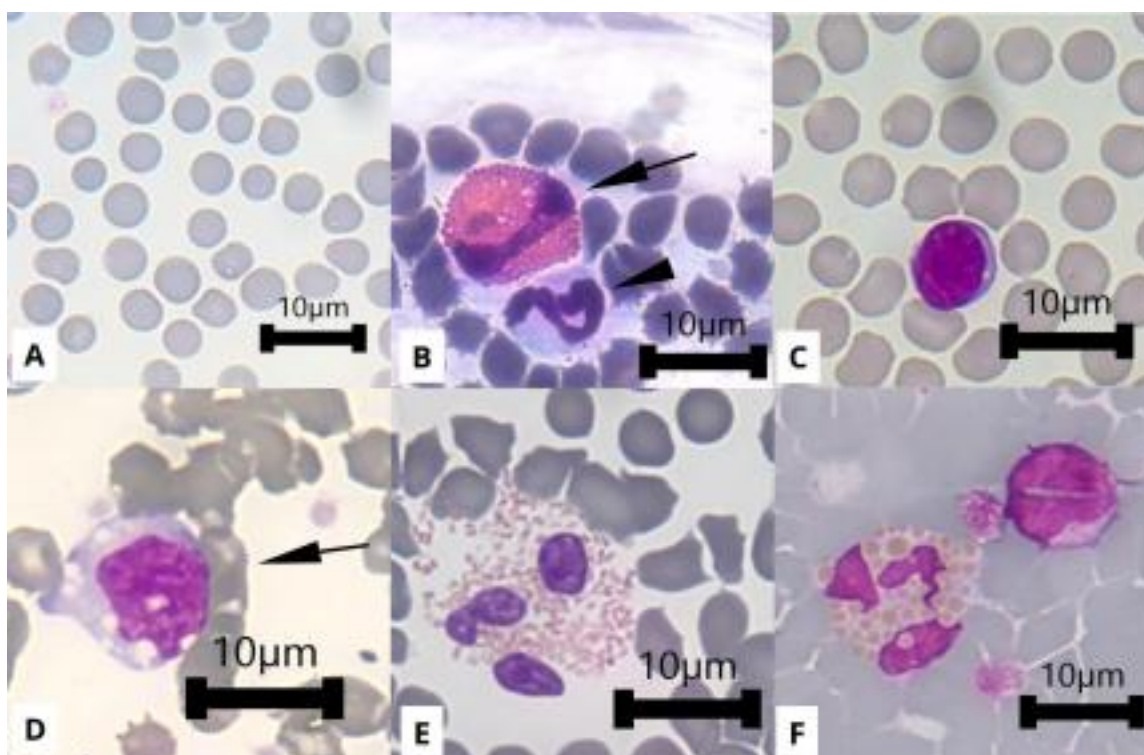


FIGURA 6: Campo de hemácias de onça-pintada (A); eosinófilo (seta) e neutrófilo (ponta) de leão (B); linfócito de gato-do-mato (C); monócito e formação de rouleaux em jaguatirica (D); eosinófilo degranulado de gato-doméstico (E); eosinófilo de onça-parda (F). Coloração Panótico rápido. Aumento 1000x (imersão). Fonte: acervo pessoal.

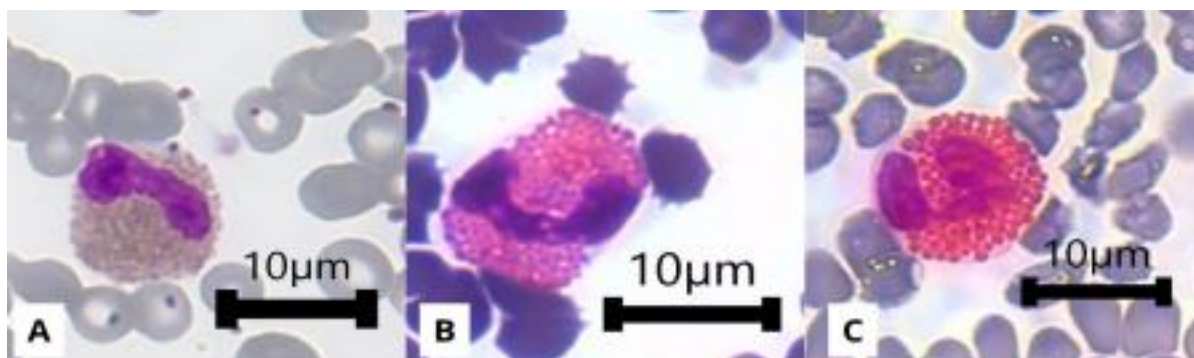


FIGURA 7: Eosinófilos de algumas das espécies estudadas. Eosinófilo de jaguatirica (A); eosinófilo de leão (B); eosinófilo de onça-pintada (C). Coloração Panótico rápido Aumento 1000x (imersão).

Segundo Cavalier-Smith, em 1978, o tamanho das células (Tabela 2) entre as espécies varia por diversos fatores, mas principalmente pela história evolutiva de cada espécie, o que pode justificar a diferença dentro da diversidade felina, pois cada espécie ocupa um nicho ecológico específico, evoluindo independentemente em diversos ambientes, sendo moldados pela evolução a

terem a capacidade de suprirem suas necessidades orgânicas, podendo estas adaptações estarem refletidas no tamanho e morfologia celular.

## 5.2 Hematologia

As médias dos valores de hemograma e leucograma dos 90 indivíduos coletados, de 10 espécies de felinos selvagens, bem como o desvio padrão estão demonstrados nas tabelas 4 e 5.

TABELA 4: Média e desvio padrão do valores hemograma do gênero *Panthera*. (*Panthera tigris*, *Panthera onca* e *Panthera leo*).

| Célula                                  | Mensur. (unid.)           | Tigre - (n = 7)     | Onça-pintada - (n = 45) | Leão (n = 3)        |
|-----------------------------------------|---------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| Hemácias                                | $\times 10^6/\text{mm}^3$ | $7,35 \pm 1,10$     | $7,79 \pm 1,67$         | $7,33 \pm 0,89$     |
| Hematócrito                             | %                         | $26,26 \pm 18,63$   | $19,50 \pm 7,71$        | $16,15 \pm 22,40$   |
| Hemoglobina                             | g/dL                      | $12,64 \pm 2,34$    | $13,21 \pm 3,42$        | $11,15 \pm 0,63$    |
| V.C.M                                   | Fl                        | $52,36 \pm 6,43$    | $48,8 \pm 3,66$         | $43,35 \pm 6,29$    |
| C.H.C.M                                 | %                         | $32,82 \pm 1,96$    | $34,47 \pm 3,46$        | $35,41 \pm 1,25$    |
| Proteína Plasmática                     | g/dL                      | $7,8 \pm 0,63$      | $8,85 \pm 0,53$         | $8,55 \pm 0,07$     |
| Metarrubríctos                          | %                         | $0 \pm 0$           | $0,12 \pm 0,35$         | $0 \pm 0$           |
| Leucócitos                              | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $10,1 \pm 2,18$     | $8,64 \pm 5413,50$      | $9,2 \pm 12975,12$  |
| Segmentados Rel.                        | %                         | $85,14 \pm 5,52$    | $80,88 \pm 7,97$        | $73,5 \pm 9,19$     |
| Segmentados Abs.                        | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $8,55 \pm 1946,85$  | $11,56 \pm 6196,24$     | $15,85 \pm 1639,07$ |
| Linfócitos Rel.                         | %                         | $8,14 \pm 5,39$     | $14,20 \pm 7,47$        | $14 \pm 1,41$       |
| Linfócitos Abs.                         | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $757,42 \pm 763,24$ | $1993,31 \pm 1131,77$   | $3029 \pm 386,08$   |
| Monócitos Rel.                          | %                         | $1,85 \pm 1,34$     | $2,17 \pm 2,35$         | $6,5 \pm 9,19$      |
| Monócitos Abs.                          | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $119,42 \pm 129,42$ | $232,90 \pm 229,78$     | $1651 \pm 2334,86$  |
| Eosinófilos Rel.                        | %                         | $3,14 \pm 2,73$     | $2,22 \pm 2,00$         | $0,5 \pm 0,70$      |
| Eosinófilos Abs.                        | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $339 \pm 341,12$    | $286,90 \pm 276,17$     | $127 \pm 179,60$    |
| Bastonetes Rel.                         | %                         | $0,14 \pm 0,37$     | $0,17 \pm 0,43$         | $3 \pm 4,24$        |
| Bastonetes Abs.                         | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $11,14 \pm 29,48$   | $27,93 \pm 95,21$       | $762 \pm 1077,63$   |
| Basófilos Rel.                          | %                         | $0,28 \pm 0,75$     | $0,06 \pm 0,24$         | $0 \pm 0$           |
| Basófilos Abs.                          | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $33,71 \pm 89,19$   | $7,19 \pm 28,18$        | $0 \pm 0$           |
| Plaquetas                               | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $270,66 \pm 162,41$ | $333,54 \pm 53,64$      | $113,33 \pm 75,48$  |
| <b>Número amostral das espécies (n)</b> |                           | <b>7</b>            | <b>45</b>               | <b>3</b>            |

OBS: Rel. = Relativo; Abs. = Absoluto; Mensur. = Mensuração; Unid. = Unidade; DP = Desvio Padrão.

TABELA 5: Média de valores de hemograma, gêneros *Leopardus*, *Puma* e *Herpailurus*.

| Célula                              | Mensuração<br>(unidade)           | Gato maracajá<br><i>Leopardus wiedii</i><br>(n = 5) | Gato-do-mato-<br>pequeno<br><i>Leopardus guttulus</i><br>(n = 4) | Jaguaririca<br><i>Leopardus<br/>pardalis</i><br>(n = 9) | Gato-palheiro<br><i>Leopardus<br/>colocolo</i><br>(n = 4) | Gato-do-<br>mato-<br>grande<br><i>Leopardus<br/>geoffroyi</i><br>(n = 2) | Onça-parda<br><i>Puma concolor</i><br>(n = 7) | Gato-mourisco<br><i>Herpailurus<br/>yagouaroundi</i><br>(n = 4) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Hemácias                            | ×10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> | 6,89 ± 2,57                                         | 8,65 ± 0,83                                                      | 6,60 ± 1,09                                             | 8,07 ± 0,26                                               | 7,3 ± -                                                                  | 7,40 ± 1,05                                   | 7,86 ± 0,82                                                     |
| Hematócrito                         | %                                 | 34,66 ± 12,34                                       | 40 ± 3,26                                                        | 36,28 ± 7,34                                            | 38,05 ± 0,63                                              | 32 ± -                                                                   | 38,14 ± 5,1                                   | 46,66 ± 9,5                                                     |
| Hemoglobina                         | g/dL                              | 11,36 ± 4,38                                        | 13,25 ± 1,06                                                     | 12,36 ± 2,41                                            | 13,1 ± 0                                                  | 10,6 ± -                                                                 | 12,47 ± 1,84                                  | 15,53 ± 3,15                                                    |
| V.C.M                               | fl                                | 51,01 ± 7,63                                        | 46,37 ± 3,67                                                     | 55,03 ± 10,51                                           | 47,15 ± 0,77                                              | 43,84 ± -                                                                | 51,66 ± 2,77                                  | 59,01 ± 6,56                                                    |
| C.H.C.M                             | %                                 | 32,47 ± 1,31                                        | 33,14 ± 0,23                                                     | 34,31 ± 1,45                                            | 40,7 ± 8,34                                               | 33,12 ± -                                                                | 32,51 ± 0,74                                  | 33,24 ± 0,05                                                    |
| Proteína Plasmática                 | g/dL                              | 8,73 ± 0,70                                         | 8,4 ± 0,43                                                       | 8,12 ± 0,24                                             | 7,2 ± 0,28                                                | 7,4 ± -                                                                  | 7,6 ± 0,82                                    | 8,8 ± 1                                                         |
| Metarrubríctos                      | %                                 | 0 ± 0                                               | 0 ± 0                                                            | 0 ± 0                                                   | 0 ± 0                                                     | 0 ± -                                                                    | 0 ± 0                                         | 0 ± 0                                                           |
| Leucócitos                          | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 10,43 ± 5,96                                        | 7,17 ± 1,51                                                      | 1016,16 ± 2821,91                                       | 14250 ± 2192,03                                           | 5,1 ± -                                                                  | 3317,12 ± 4430,51                             | 11,96 ± 6,48                                                    |
| Segmentados Rel.                    | %                                 | 58 ± 36,01                                          | 85,25 ± 2,87                                                     | 68,37 ± 30,01                                           | 59 ± 8,48                                                 | 83 ± -                                                                   | 53,14 ± 36,76                                 | 74,33 ± 8,32                                                    |
| Segmentados Abs.                    | mm <sup>3</sup>                   | 7357,66 ± 7089,88                                   | 6148,3 ± 1455,50                                                 | 12524,5 ± 9916,34                                       | 8500,5 ± 2502,45                                          | 4233 ± -                                                                 | 3816,28 ± 3153,61                             | 4366,33 ± 2502,39                                               |
| Linfócitos Rel.                     | %                                 | 26,66 ± 27,42                                       | 11,25 ± 4,11                                                     | 11,37 ± 4,98                                            | 28,5 ± 6,36                                               | 17 ± -                                                                   | 17,33 ± 9,24                                  | 15 ± 0                                                          |
| Linfócitos Abs.                     | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 1776 ± 834,38                                       | 777,75 ± 234,05                                                  | 1502,37 ± 1115,03                                       | 3991,5 ± 282,13                                           | 867 ± -                                                                  | 1097,33 ± 525,04                              | 1771,66 ± 988,86                                                |
| Monócitos Rel.                      | %                                 | 6 ± 6,08                                            | 1,25 ± 1,25                                                      | 1,62 ± 1,50                                             | 2 ± 2,82                                                  | 0 ± -                                                                    | 4,33 ± 1,50                                   | 2,33 ± 2,08                                                     |
| Monócitos Abs.                      | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 411 ± 174,47                                        | 88,75 ± 94,19                                                    | 299 ± 343,84                                            | 254 ± 359,21                                              | 0 ± -                                                                    | 311,5 ± 164,64                                | 346,66 ± 397,15                                                 |
| Eosinófilos Rel.                    | %                                 | 9,33 ± 8,02                                         | 1,75 ± 1,5                                                       | 8,62 ± 10,26                                            | 10,5 ± 0,70                                               | 0 ± -                                                                    | 2,83 ± 2,92                                   | 8,33 ± 7,50                                                     |
| Eosinófilos Abs.                    | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 755,33 ± 772,58                                     | 128,25 ± 115,49                                                  | 1833,5 ± 2778,82                                        | 1504 ± 330,92                                             | 0 ± -                                                                    | 223,16 ± 284,39                               | 843,33 ± 577,61                                                 |
| Bastonetes Rel.                     | %                                 | 0 ± 0                                               | 0,5 ± 0,57                                                       | 0,37 ± 0,74                                             | 0 ± 0                                                     | 0 ± -                                                                    | 0 ± 0                                         | 0 ± 0                                                           |
| Bastonetes Abs.                     | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 0 ± 0                                               | 32 ± 38,67                                                       | 599,5 ± 1657,19                                         | 0 ± 0                                                     | 0 ± -                                                                    | 0 ± 0                                         | 0 ± 0                                                           |
| Basófilos Rel.                      | %                                 | 0 ± 0                                               | 0 ± 0                                                            | 0 ± 0                                                   | 0 ± 0                                                     | 0 ± -                                                                    | 0,2 ± 0,44                                    | 0 ± 0                                                           |
| Basófilos Abs.                      | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 0 ± 0                                               | 0 ± 0                                                            | 0 ± 0                                                   | 0 ± 0                                                     | 0 ± -                                                                    | 12,8 ± 28,62                                  | 0 ± 0                                                           |
| Plaquetas                           | ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 146 ± 17,69                                         | 221,25 ± 69,77                                                   | 251,5 ± 44,88                                           | 498,5 ± 139,30                                            | 195 ± -                                                                  | 434,97 ± 114,42                               | 257,66 ± 26,38                                                  |
| Número amostral das<br>espécies (n) |                                   | 5                                                   | 4                                                                | 9                                                       | 4                                                         | 2                                                                        | 7                                             | 4                                                               |

OBS: Rel. = Relativo; Abs. = Absoluto; DP = Desvio Padrão

### 5.3 Média valores bioquímicos por espécie

As amostras foram coletadas em diferentes espécies, em manejos preventivos em zoológicos, mantenedores de fauna silvestres, criadores científicos e ainda em animais de vida livre submetidos a manejo e contenção química para fins de pesquisa nos estados de São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, os respectivos valores estão apresentados nas tabelas: 6 e 7.

TABELA 6: Média de valores de bioquímica sérica, gênero *Panthera* (*P. tigris*, *P. onca*, *P. leo*).

| Mensuração<br>(Unidade)                 | Tigre<br>( <i>Panthera tigris</i> )<br>(n = 7) | Onça-pintada<br>( <i>Panthera onca</i> )<br>(n = 45) | Leão<br>( <i>Panthera leo</i> )<br>(n = 3) |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Proteína Sérica (g/dL)                  | 7,38 ± 1,31                                    | 8,06 ± 0,75                                          | 6,9 ± 1,22                                 |
| Globulina (g/dL)                        | 4,08 ± 0,89                                    | 4,96 ± 0,95                                          | 4,9 ± 0,78                                 |
| Albumina (g/dL)                         | 3,3 ± 0,48                                     | 3,14 ± 0,48                                          | 2,0 ± 0,56                                 |
| Bilirrubinas Total (mg/dL)              | 0,19 ± 0,20                                    | 0,14 ± 0,10                                          | 0,2 ± 0,14                                 |
| Bilirrubinas Direta (mg/dL)             | 0,05 ± 0,05                                    | 0,02 ± 0,01                                          | 0,1 ± -0,02                                |
| Bilirrubinas Indireta (mg/dL)           | 0,14 ± 0,16                                    | 0,09 ± 0,07                                          | 0,1 ± 0,01                                 |
| Creatinina (mg/dL)                      | 2,18 ± 0,34                                    | 2,0 ± 0,80                                           | 3,93 ± 1,74                                |
| Fosfatase Alcalina (U/L)                | 13,32 ± 7,10                                   | 46,50 ± 60,38                                        | 3,5 ± 4,94                                 |
| ALT (U/L)                               | 103,5 ± 48,12                                  | 138,94 ± 141,90                                      | 22 ± 43,32                                 |
| Ureia (mg/dL)                           | 79,74 ± 38,76                                  | 89,50 ± 83,95                                        | 188,5 ± 142,12                             |
| Glicose (mg/dL)                         | 183,75 ± 82,31                                 | 128,62 ± 70,99                                       | 107 ± 93,33                                |
| AST (U/L)                               | 82 ± 42,14                                     | 46,8 ± 26,77                                         | 86 ± 98,99                                 |
| GGT (U/L)                               | 5 ± 4,9                                        | 2,29 ± 1,74                                          | 3,2 ± 2,03                                 |
| CK (U/L)                                | 175 ± 38,18                                    | 435 ± 49,98                                          | 158 ± 23,69                                |
| Colesterol (mg/dL)                      | 213,25 ± 66,98                                 | 311 ± 229,66                                         | 138 ± 94,63                                |
| Triglicérides (mg/dL)                   | 34 ± 38,18                                     | 31,11 ± 8,72                                         | 12 ± 16,21                                 |
| LDH (U/L)                               | -                                              | -                                                    | 91 ± 13,04                                 |
| Frutosamina (mmol/L)                    | -                                              | -                                                    | 95,6 ± 29,21                               |
| Amilase (U/L)                           | -                                              | -                                                    | 5955 ± 186,28                              |
| Lipase (U/L)                            | -                                              | -                                                    | 3 ± 0,98                                   |
| Cálcio (mg/dL)                          | -                                              | 8,9 ± 4,68                                           | 8,6 ± 1,74                                 |
| Fósforo (mg/dL)                         | -                                              | 5,1 ± 3,93                                           | 3,9 ± 2,29                                 |
| Magnésio (mmol/L)                       | -                                              | -                                                    | 2,6 ± 1,13                                 |
| Sódio (mmol/L)                          | -                                              | 152 ± 53,62                                          | 144 ± 19,52                                |
| Potássio (mmol/L)                       | -                                              | 4,6 ± 3,27                                           | 4 ± 2,34                                   |
| Cloreto (mmol/L)                        | -                                              | 114 ± 46,99                                          | 110,3 ± 27,36                              |
| SDMA (mcg/dL)                           | -                                              | 10 ± 4,74                                            | -                                          |
| Na/K                                    | -                                              | 33 ± 11,29                                           | -                                          |
| Osmolaridade Plasmática                 | -                                              | 310 ± 14,29                                          | -                                          |
| Colinesterase                           | -                                              | 27,5 ± 10,79                                         | -                                          |
| <b>Número amostral das espécies (n)</b> | <b>7</b>                                       | <b>45</b>                                            | <b>3</b>                                   |

OBS: DP = Desvio Padrão

TABELA 7: Média dos valores de bioquímica sérica, *gêneros Leopardus, Puma e Herpailurus*.

| Mensuração<br>(unidade)                 | Gato maracajá<br><i>Leopardus wiedii</i><br>(n = 5) | Gato-do-mato-<br>pequeno<br><i>Leopardus guttulus</i><br>(n = 4) | Jagatirica<br><i>Leopardus pardalis</i><br>(n = 9) | Gato-palheiro<br><i>Leopardus colocolo</i><br>(n = 4) | Gato-do-mato-grande<br><i>Leopardus geoffroyi</i><br>(n = 2) | Onça-parda<br><i>Puma concolor</i><br>(n = 7) | Gato-mourisco<br><i>Herpailurus<br/>yagouaroundi</i><br>(n = 4) |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Proteína sérica (g/dL)                  | 9,3 ± 3,97                                          | 7,32 ± 0,50                                                      | 7,02 ± 0,48                                        | 5,55 ± 1,20                                           | 6,4 ± -                                                      | 7,12 ± 0,85                                   | 7,6 ± 2,07                                                      |
| Globulina (g/dL)                        | 5,55 ± 2,53                                         | 3,8 ± 0,71                                                       | 4,21 ± 0,80                                        | 3,1 ± 1,41                                            | 3 ± -                                                        | 3,7 ± 0,71                                    | 3,96 ± 1,15                                                     |
| Albumina (g/dL)                         | 3,75 ± 1,51                                         | 3,52 ± 0,28                                                      | 2,78 ± 0,40                                        | 2,45 ± 0,21                                           | 3,4 ± -                                                      | 3,63 ± 0,75                                   | 3,63 ± 0,92                                                     |
| Bilirrubina Total (mg/dL)               | 1,22 ± 1,17                                         | 0,27 ± 0,12                                                      | 0,12 ± 0,04                                        | -                                                     | 0,06 ± -                                                     | 0,27 ± 0,23                                   | 0,24 ± 0,19                                                     |
| Bilirrubina Direta (mg/dL)              | 0,70 ± 0,96                                         | 0,02 ± 0,04                                                      | 0,04 ± 0,04                                        | -                                                     | 0 ± -                                                        | 0,06 ± 0,04                                   | 0,03 ± 0,03                                                     |
| Bilirrubina Indireta (mg/dL)            | 0,53 ± 0,55                                         | 0,24 ± 0,12                                                      | 0,09 ± 0,05                                        | -                                                     | 0,06 ± -                                                     | 0,21 ± 0,20                                   | 0,20 ± 0,21                                                     |
| Creatinina (mg/dL)                      | 1,23 ± 0,16                                         | 0,99 ± 0,25                                                      | 1,44 ± 0,45                                        | 1,15 ± 0,07                                           | 1 ± -                                                        | 1,74 ± 0,45                                   | 1,24 ± 0,45                                                     |
| Fosfatase Alcalina (U/L)                | 70,6 ± 46,95                                        | 54,73 ± 72,99                                                    | 31,01 ± 32,92                                      | 376 ± 5,65                                            | 45,5 ± -                                                     | 27 ± 25,22                                    | 25,23 ± 29,91                                                   |
| ALT (U/L)                               | 138,94 ± 96,82                                      | 62,17 ± 6,91                                                     | 104,3 ± 37,52                                      | 49,75 ± 11,10                                         | 45,6 ± -                                                     | 92,8 ± 82,22                                  | 199,36 ± 53,74                                                  |
| Ureia (mg/dL)                           | 76,94 ± 44,22                                       | 62,17 ± 6,91                                                     | 68,08 ± 18,01                                      | 64,5 ± 9,19                                           | 57,1 ± -                                                     | 82,49 ± 48,15                                 | 101,33 ± 36,68                                                  |
| Glicose (mg/dL)                         | 177,5 ± 38,89                                       | -                                                                | 121 ± 35,35                                        | 91,5 ± 27,57                                          | -                                                            | 198,66 ± 138,01                               | 251 ± 207,88                                                    |
| AST (U/L)                               | 166 ± -                                             | -                                                                | 112 ± 38,18                                        | 77,5 ± 14,84                                          | -                                                            | 243,33 ± 316,0                                | 210 ± -                                                         |
| GGT (U/L)                               | 12 ± 14,14                                          | 5 ± -                                                            | 7,5 ± 7,77                                         | -                                                     | -                                                            | 1,66 ± 1,15                                   | 10,45 ± 6,29                                                    |
| Colesterol (mg/dL)                      | 118 ± -                                             | -                                                                | 266,5 ± 60,10                                      | 120,5 ± 30,40                                         | -                                                            | 233 ± 36,29                                   | 204 ± 16,97                                                     |
| Triglicérides (mg/dL)                   | 48 ± -                                              | -                                                                | 11,5 ± 2,12                                        | 25,25 ± 3,88                                          | -                                                            | 40 ± 11,31                                    | 95,5 ± 14,84                                                    |
| CK (U/L)                                | -                                                   | -                                                                | 4668 ± -                                           | 558 ± 103,23                                          | -                                                            | -                                             | -                                                               |
| Relação Albumina/Globulina              | -                                                   | -                                                                | -                                                  | 0,9 ± 0,48                                            | -                                                            | -                                             | -                                                               |
| <b>Número amostral das espécies (n)</b> | <b>5</b>                                            | <b>4</b>                                                         | <b>9</b>                                           | <b>4</b>                                              | <b>2</b>                                                     | <b>7</b>                                      | <b>4</b>                                                        |

OBS: DP = Desvio Padrão.

#### 5.4 Média valores das vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis

Após o processamento das amostras, os valores obtidos foram apresentados nas tabelas: 8 e 9.

TABELA 8: Média de valores de vitaminas em *P.onca* (onça-pintada) n=2, e *L.pardalis* (Jaguaririca) n=2 .

| Vitaminas (Unidade)                 | Alice<br>( <i>P. onca</i> )<br>Onça-pintada | Catarina<br>( <i>P. onca</i> )<br>Onça-pintada | Macho<br>( <i>L. pardalis</i> )<br>Jaguaririca | Piá<br>( <i>L. pardalis</i> )<br>Jaguaririca |
|-------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| B1 – Tiamina (µg/mL)                | 23,89                                       | 53,29                                          | 380,41                                         | 42,87                                        |
| B2 – Riboflavina (ng/mL)            | 92,53                                       | 73,22                                          | 15,93                                          | 55,10                                        |
| B3 – Niacina (µg/L)                 | 13,36                                       | 12,07                                          | 13,90                                          | 20,89                                        |
| B5 – Ácido Pantotênico (µM/L)       | 3,28                                        | 7,81                                           | 13,27                                          | 6,19                                         |
| B6 – Piridoxina (µg/L)              | 15,82                                       | 14,46                                          | 13,53                                          | 9,92                                         |
| B7 – Biotina (ng/L)                 | 195,38                                      | 210,0                                          | 164,10                                         | 208,21                                       |
| Vitamina C – Ácido Ascórbico (µM/L) | 60,05                                       | 27,79                                          | 281,61                                         | 112,12                                       |
| Vitamina A – Retinol (µg/mL)        | 0,29                                        | 0,25                                           | 0,03                                           | 0,34                                         |
| Vitamina D – 1,25 Diidróxi (pg/mL)  | 78,35                                       | 62,95                                          | 62,21                                          | 74,85                                        |
| Vitamina D – 25 OH D (ng/mL)        | 106,84                                      | 78,63                                          | 80,96                                          | 71,17                                        |
| D2 (ng/mL)                          | 57,34                                       | 51,82                                          | 25,60                                          | 54,46                                        |
| D3 (ng/mL)                          | 49,50                                       | 26,81                                          | 55,36                                          | 16,71                                        |
| Vitamina E – Alfa-tocoferol (µg/mL) | 18,28                                       | 11,13                                          | 10,25                                          | 17,5                                         |
| Vitamina K – Filoquinona (ng/mL)    | 1,34                                        | 1,36                                           | 0,98                                           | 1,83                                         |
| Beta-caroteno (µM/L)                | 0,38                                        | 0,33                                           | 0,04                                           | 0,31                                         |

TABELA 9: Média de valores de vitaminas em *P. tigris* (Tigre) – N=3

| <b>Vitaminas<br/>(Unidade)</b>            | <b>Darja<br/>(<i>P. tigris</i>)</b> | <b>Duquesa<br/>(<i>P. tigris</i>)</b> | <b>Punjab<br/>(<i>P. tigris</i>)</b> | <b>Média</b>  |
|-------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------|
| B1 – Tiamina<br>(µg/mL)                   | 27,58                               | 11,41                                 | 44,92                                | <b>27,97</b>  |
| B2 – Riboflavina<br>(ng/mL)               | 59,92                               | 55,82                                 | 51,55                                | <b>55,76</b>  |
| B3 – Niacina<br>(µg/L)                    | 4,16                                | 13,32                                 | 18,27                                | <b>11,92</b>  |
| B6 – Piridoxina<br>(µg/L)                 | 14,36                               | 23,70                                 | 14,09                                | <b>17,38</b>  |
| B5 – Ácido<br>Pantotênico<br>(µM/L)       | 2,62                                | 2,86                                  | 2,63                                 | <b>2,70</b>   |
| B7 – Biotina (ng/L)                       | 207,89                              | 255,16                                | 293,03                               | <b>252,03</b> |
| Vitamina C –<br>Ácido Ascórbico<br>(µM/L) | 129,24                              | 28,99                                 | 87,59                                | <b>81,94</b>  |
| Vitamina A –<br>Retinol (µg/mL)           | 0,14                                | 0,19                                  | 0,36                                 | <b>0,23</b>   |
| Vitamina D – 1,25<br>Diidrôxi (pg/mL)     | 50,61                               | 46,97                                 | 67,85                                | <b>55,14</b>  |
| Vitamina D – 25<br>OH D (ng/mL)           | 30,58                               | 48,72                                 | 341,57                               | <b>140,29</b> |
| D2 (ng/mL)                                | 9,99                                | 13,64                                 | 182,12                               | <b>68,58</b>  |
| D3 (ng/mL)                                | 20,59                               | 35,08                                 | 159,43                               | <b>71,70</b>  |
| Vitamina E – Alfa-<br>Tocoferol (µg/mL)   | 11,80                               | 13,07                                 | 21,31                                | <b>15,39</b>  |
| Vitamina K –<br>Filoquinona<br>(ng/mL)    | 0,24                                | 0,48                                  | 6,0                                  | <b>2,24</b>   |
| Beta-caroteno<br>(µM/L)                   | 1,07                                | 0,33                                  | 0,24                                 | <b>0,55</b>   |

### 5.5 Sorologia – Diagnóstico laboratorial

As 52 amostras foram coletadas entre os meses de janeiro e dezembro de 2024, e os soros foram devidamente acondicionados e organizados no Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ/UNESP, campus Botucatu. Posteriormente, foram transferidos para o Laboratório de Zoonoses da mesma instituição. A maioria das coletas concentrou-se em animais cativos da região Sudeste do Brasil (n = 40), enquanto as demais foram provenientes da região Centro-Oeste (n = 12). As amostras estão apresentadas na Tabela 10.

TABELA 10: Amostras discriminadas por espécie e sexo de felídeos

| <b>Espécie</b>                                   | <b>Macho</b> | <b>Fêmea</b> | <b>Total por espécie</b> |
|--------------------------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| <i>Puma concolor</i> (onça-parda)                | 6            | 4            | 10                       |
| <i>Puma yagouaroundi</i> (gato-mourisco)         | 3            | 0            | 3                        |
| <i>Leopardus tigrinus</i> (gato-do-mato-pequeno) | 7            | 1            | 8                        |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> (gato-do-mato-grande) | 2            | 0            | 2                        |
| <i>Leopardus wiedii</i> (gato-maracajá)          | 1            | 1            | 2                        |
| <i>Leopardus pardalis</i> (jagatirica)           | 3            | 2            | 5                        |
| <i>Panthera onca</i> (onça-pintada)              | 9            | 8            | 17                       |
| <i>Panthera leo</i> (leão)                       | 0            | 1            | 1                        |
| <i>Panthera tigris</i> (tigre)                   | 2            | 2            | 4                        |
| <b>Total</b>                                     | <b>33</b>    | <b>19</b>    | <b>52</b>                |

Entre os meses de janeiro até março de 2025, os soros foram analisados por meio da Prova de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *Toxoplasma gondii* e *Leishmania spp.* e da técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para *Leptospira spp.*. Após esse período, os resultados obtidos foram organizados e apresentados na Tabela 11, com base em análise fundamentada na literatura científica.



TABELA 11: Relação de amostras sororreagentes e não reagentes para toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose por espécie de felídeos.

| Espécie                    | Toxoplasmose |           | Leptospirose |           | Leishmaniose |           |
|----------------------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
|                            | Reagente     | NR        | Reagente     | NR        | Reagente     | NR        |
| <b>Amostragem</b>          | <b>50</b>    |           | <b>49</b>    |           | <b>49</b>    |           |
| <i>Puma concolor</i>       | 5            | 5         | 1            | 9         | 2            | 8         |
| <i>Puma yagouaroundi</i>   | 1            | 2         | 1            | 2         | 0            | 3         |
| <i>Leopardus tigrinus</i>  | 1            | 5         | 0            | 7         | 0            | 6         |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> | 2            | 0         | 0            | 2         | 0            | 2         |
| <i>Leopardus wiedii</i>    | 1            | 1         | 0            | 1         | 0            | 2         |
| <i>Leopardus pardalis</i>  | 2            | 3         | 2            | 3         | 2            | 3         |
| <i>Panthera onca</i>       | 14           | 3         | 4            | 12        | 3            | 13        |
| <i>Panthera leo</i>        | 0            | 1         | 0            | 1         | 1            | 0         |
| <i>Panthera tigris</i>     | 3            | 1         | 0            | 4         | 1            | 3         |
| <b>Total</b>               | <b>29</b>    | <b>21</b> | <b>8</b>     | <b>41</b> | <b>9</b>     | <b>40</b> |

Durante a testagem, notou-se que algumas das amostras não teriam volume de soro suficiente para a realização das três análises inicialmente propostas. Diante disso, foi preconizado otimizar o volume disponível de cada amostra a fim de conseguir um resultado mais completo. Em relação à toxoplasmose, duas amostras de *Leopardus tigrinus* tiveram volume insuficiente. Já para leptospirose faltou quantidade de uma amostra de *Leopardus tigrinus*, uma de *Leopardus wiedii* e uma de *Panthera onca*. Por fim, para leishmaniose faltou soro de dois *Leopardus tigrinus* e uma *Panthera onca*.

Considerando que as análises sorológicas utilizadas são quantitativas, foi realizada a titulação de cada amostra reagente com a finalidade de avaliar a resposta imune dos animais testados. A seguir, apresentam-se os animais sororreagente, acompanhados de suas respectivas titulações para toxoplasmose (Tabela 12) e leishmaniose (Tabela 13).

TABELA 12: Relação entre espécie de felídeos e amostras soropositivas conforme titulação sorológica para *Toxoplasma gondii* (n = 29)

| <b>Espécie</b>             | <b>Titulação 1:16</b> | <b>Titulação 1:64</b> | <b>Reagentes</b> |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------|
| <i>Puma concolor</i>       | 4                     | 1                     | 5                |
| <i>Puma yagouaroundi</i>   | 1                     | 0                     | 1                |
| <i>Leopardus tigrinus</i>  | 1                     | 0                     | 1                |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> | 2                     | 0                     | 2                |
| <i>Leopardus wiedii</i>    | 1                     | 0                     | 1                |
| <i>Leopardus pardalis</i>  | 1                     | 1                     | 2                |
| <i>Panthera onca</i>       | 12                    | 2                     | 14               |
| <i>Panthera tigris</i>     | 3                     | 0                     | 3                |
| <b>Total</b>               | <b>25</b>             | <b>4</b>              | <b>29</b>        |

TABELA 13: Relação entre espécies de felídeos e amostras soropositivas conforme titulação sorológica para *Leishmania* spp. (n = 9)

| <b>Espécie</b>            | <b>Titulação 1:40</b> |
|---------------------------|-----------------------|
| <i>Puma concolor</i>      | 2                     |
| <i>Leopardus pardalis</i> | 2                     |
| <i>Panthera leo</i>       | 1                     |
| <i>Panthera onca</i>      | 3                     |
| <i>Panthera tigris</i>    | 1                     |
| <b>Total</b>              | <b>9</b>              |

Para a leptospirose (Tabela 14), foi usado o Método de Aglutinação Direta com a titulação de 25 sorovares e quatro variantes do sorovar *Hardjo*, sendo eles: *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcombi*, *Cynopteri*, *Djasiman*, *Sentot*, *Gryppotyphosa*, *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Javanica*, *Panama*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Wolffi*, *Shermani*, *Tarassovi*, *Andamana*, *Patoc*, *Hardjo prajitno*, *Hardjo miniswajezak*, *Hardjo C.T.G.* e *Hardjo bovi*.

TABELA 14: Espécies de felídeos e respectivos sorovares reagente para leptospirose (n = 8)

| <b>Espécie</b>            | <b>Sorovar reagente</b>                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Puma concolor</i>      | <i>Icterohaemorrhagiae</i> : 100                                                                                                                                                                              |
| <i>Puma yagouaroundi</i>  | <i>Icterohaemorrhagiae</i> : 100<br><i>Pomona</i> : 200                                                                                                                                                       |
| <i>Leopardus pardalis</i> | <i>Icterohaemorrhagiae</i> : 100                                                                                                                                                                              |
| <i>Panthera onca</i>      | <i>Pomona</i> : 200<br><i>Autumnalis</i> : 200<br><i>Cynopteri</i> : 200<br><i>Pomona</i> : 1600<br><i>Canicola</i> : 100<br><i>Icterohaemorrhagiae</i> : 100<br><i>Pomona</i> : 200<br><i>Canicola</i> : 100 |

## 6. DISCUSSÃO

Quanto à análise descritiva das células sanguíneas, o presente estudo teve como objetivo a análise morfométrica e morfológica das células sanguíneas em seis espécies de felinos, abrangendo desde pequenos (*Leopardus tigrinus*) até grandes (*Panthera leo* e *Panthera onca*) representantes, incluindo o modelo de comparação padrão, o gato-doméstico (*Felis catus*). Os resultados confirmam a existência de variações significativas nos parâmetros de área e perímetro celular entre as espécies, fornecendo subsídios para a compreensão da diversidade hematológica dentro da família Felidae.

A variação no tamanho celular entre espécies é um fenômeno amplamente reconhecido, postulado por Cavalier-Smith (1978) como intrinsecamente ligado à história evolutiva e ao nicho ecológico. Os dados morfométricos obtidos, nos quais a onça-pintada (*Panthera onca*) consistentemente apresentou médias superiores de área e perímetro para hemácias, neutrófilos e linfócitos, corroboram esta hipótese, sugerindo que a evolução independente em ambientes e dietas distintos moldou as características celulares de cada espécie.

No que se diz respeito às hemácias, a onça-pintada apresentou os maiores valores médios de área ( $29,01 \mu\text{m}^2$ ), enquanto o gato-doméstico exibiu os menores ( $23,61 \mu\text{m}^2$ ). Embora a morfologia geral dos eritrócitos (circular, bicôncava e anucleada) tenha sido conservada, conforme esperado para mamíferos, a detecção de palidez central na onça-parda (*Puma concolor*) merece destaque.

A palidez central é usualmente associada a um maior volume celular ou à forma bicôncava acentuada, e sua proeminência nesta espécie, em contraste com as demais, pode indicar adaptações sutis na relação área/volume ou na rigidez de membrana, potencialmente influenciadas por demandas metabólicas específicas. Já análise dos leucócitos demonstrou uma ampla variabilidade, particularmente nos neutrófilos, onde a onça pintada registrou a maior área média ( $156,7 \mu\text{m}^2$ ) e o leão (*Panthera leo*) a menor ( $100,06 \mu\text{m}^2$ ). A morfologia nuclear dos neutrófilos, com segmentação variando de não-segmentado a múltiplos lóbulos, em formatos diversos como "S" e "V", foi observada em todas as espécies, indicando que a diversidade nuclear é uma característica inerente à linhagem, mas não um marcador específico de espécie neste estudo. É

fundamental discutir a discrepância observada no tamanho relativo dos leucócitos, embora monócitos sejam classicamente descritos como os maiores leucócitos circulantes (Espinoza & Emmady, 2023), no leão e na onça-pintada, os eosinófilos apresentaram áreas médias superiores. Esta inversão no tamanho relativo, com os eosinófilos da onça-pintada atingindo  $183,77 \mu\text{m}^2$ , deve ser interpretada com cautela, dada a limitação amostral de  $n=5$  células analisadas para monócitos e eosinófilos em cada espécie. O baixo número de células mensuradas pode introduzir um viés de amostragem, onde poucas células atipicamente grandes poderiam inflacionar a média. As diferenças morfológicas mais notáveis e potencialmente mais significativas para a diferenciação específica foram encontradas nos eosinófilos, especificamente na morfologia dos grânulos.

Podemos destacar a onça-parda (*Puma concolor*) por possuir grânulos eosinofílicos grandes e proeminentes, uma característica que Weiser (2014) descreve como similar à morfologia "framboesa" observada em equinos. Esta morfologia pode estar associada a um espectro único de proteínas granulares ou à sua compactação intracelular, a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) os grânulos foram descritos como pequenos e em formato de barril, uma característica que os assemelha ao bem documentado eosinófilo do gato-doméstico, sugerindo uma conservação de características celulares em felinos menores. O leão (*Panthera leo*) os grânulos apresentaram coloração forte, eram arredondados, abundantes e uniformemente distribuídos, indicando uma alta concentração e afinidade tintorial, na Onça-Pintada (*Panthera onca*): Os grânulos eram arredondados e ligeiramente maiores que os do leão, com a peculiaridade de apresentarem porções citoplasmáticas periféricas sem preenchimento granular. Este padrão pode sugerir um estado de atividade celular, um estágio de maturação diferente, ou uma distribuição polarizada dos grânulos.

Essas variações granulares são cruciais, pois os eosinófilos desempenham um papel central na imunidade contra parasitas e em reações alérgicas. As diferenças morfológicas podem ser um reflexo de pressões seletivas específicas em cada nicho ecológico, influenciando a capacidade de resposta imune contra patógenos regionais. A morfologia granular distinta, portanto, atua como um biomarcador celular que pode auxiliar na identificação e na avaliação da saúde de felinos selvagens.

O presente estudo em relação ao hemograma e valores de bioquímica sérica, fornece um conjunto extenso e comparativo de dados de dez espécies de felinos selvagens. A obtenção de dados basais de referência para animais selvagens é crucial, pois os parâmetros clínicos-patológicos são frequentemente influenciados pelo *status* fisiológico, estresse de manejo e contenção química, e variam significativamente entre espécies devido a adaptações evolutivas e dietéticas (Hawkey et al., 1991). A coleta de amostras em animais de vida livre ou cativeiro submetidos a manejo preventivo, invariavelmente, expõe os indivíduos a um alto grau de estresse e ao uso de agentes de contenção química. Este cenário é refletido nos resultados por duas anomalias-chave. Primeiramente, os níveis de glicose mostram-se consistentemente elevados em várias espécies, notadamente no gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*, 251 mg/dL) e na onça-parda (*Puma concolor*, 198,66 mg/dL), indicando uma resposta de estresse aguda (hiperglicemia catecolaminérgica) comum à contenção. Em segundo lugar, a Creatina Quinase (CK), embora incompleta em algumas tabelas, apresenta valores extremamente altos em espécies como a jaguatirica (*Leopardus pardalis*, 4668 U/L), e presumivelmente nos demais, devido ao esforço muscular e possíveis danos causados pela imobilização ou miopatia por captura. A interpretação da Ureia e da Creatinina também deve considerar o status de hidratação induzido pelo jejum e estresse. Os valores mais altos de Creatinina (3,93 mg/dL) e Ureia (188,5 mg/dL) no leão (*Panthera leo*), embora baseados em uma amostra reduzida (n=3), exigem cautela, podendo refletir tanto um estado de desidratação pós-captura quanto uma alta carga proteica na dieta.

A série vermelha demonstrou relativa uniformidade nas médias de Hemácias e Hemoglobina entre as espécies. O Volume Corpuscular Médio (VCM) mais elevado no gato-mourisco (59,01 fL) e na jaguatirica (55,03 fL) sugere que os eritrócitos destas espécies são ligeiramente maiores, enquanto o VCM mais baixo no leão (43,35 fL) e na onça-pintada (48,8 fL) aponta para células menores, um achado comum em grandes felinos. A ausência de Metarrubríctos na maioria das espécies indica um padrão de eritropoiese madura e funcional, sem estresse medular significativo.

Valores notavelmente baixos de hematócrito (Ht) foram observados no leão (16,15%) e na onça-pintada (19,50%), acompanhados por altos desvios padrão, podendo sugerir que parte dos animais analisados estava anêmica ou

desidratada no momento da coleta, reforçando a dificuldade em definir um valor de referência estreito. A contagem diferencial de leucócitos revelou padrões esperados para felinos, com predominância de Neutrófilos Segmentados em todas as espécies (variando de 53,14% a 85,25%). A onça-pintada, com a maior amostra (n=45), exibiu uma alta contagem absoluta de segmentados, que, embora possa indicar inflamação subclínica, é mais provavelmente um reflexo da leucocitose induzida pelo estresse, caracterizada pela neutrofilia madura sem desvio à esquerda.

Um achado particularmente relevante para a saúde de felinos de vida livre é a Eosinofilia. As espécies de pequenos felinos neotropicais, como o gato-palheiro (*L. colocolo*, 10,5%), o gato-maracajá (*L. wiedii*, 9,33%) e a jaguatirica (*L. pardalis*, 8,62%), apresentaram os maiores valores relativos de Eosinófilos. Este padrão é um forte indicador de exposição crônica ou atual a parasitas, incluindo helmintos e protozoários, uma condição quase ubíqua na fauna selvagem, e atesta a funcionalidade da resposta imune mediada por eosinófilos.

A avaliação bioquímica forneceu *insights* sobre o metabolismo e a função de órgãos vitais, a função hepática: As enzimas hepáticas demonstraram alta variabilidade. A alanina-aminotransferase (ALT) apresentou médias elevadas, especialmente no gato-mourisco (199,36 U/L) e na onça-pintada (138,94 U/L), assim como a aspartato-aminotransferase (AST) na onça-parda (243,33 U/L) e no gato mourisco (210 U/L). É crucial correlacionar esses picos de AST e ALT com os níveis de CK, uma vez que o dano muscular induzido pela contenção libera ambas as enzimas, tornando difícil a distinção precisa entre dano hepático primário e dano muscular. Por outro lado, a gama-glutamilttransferase (GGT) manteve-se consistentemente baixa (<12 U/L), o que é fisiologicamente esperado para a espécie Felidae. Os valores de proteína sérica foram elevados (média acima de 7,0 g/dL na maioria das espécies), com uma notável alta média de globulina (acima de 4,0 g/dL em *P. onca*, *P. leo*, *L. wiedii*). Esta hiperglobulinemia é frequentemente indicativa de estimulação antigênica crônica, como a observada em animais com alta carga parasitária, ou o reflexo de infecções prévias/subclínicas.

A relação Albumina/Globulina (A/G), um importante indicador de *status* proteico, apresentou um valor relativamente baixo no gato-palheiro (0,9), sugerindo a prevalência da resposta inflamatória crônica. Os perfis lipídicos

apresentaram-se dentro da variação esperada, com Colesterol variando de 118 mg/dL (*L. wiedii*) a 311 mg/dL (*P. onca*). Os Triglicerídeos se mantiveram geralmente baixos, exceto pelo gato-mourisco (95,5 mg/dL), que pode ter um metabolismo lipídico distinto ou uma resposta mais acentuada ao estresse/jejum.

Já nos exames sorológicos, a toxoplasmose foi a zoonose com maior casuística entre as analisadas no presente projeto, seguida pela leishmaniose e, por último, a leptospirose. Destaca-se que onze animais apresentaram amostras soro reagentes para mais de um patógeno. Nenhum apresentou titulação positiva para as três doenças zoonóticas pesquisadas neste estudo.

Das 50 amostras testadas para toxoplasmose, 29 apresentaram soropositividade, correspondendo a uma prevalência de 58% nos felinos selvagens em situação de cativeiro. Isto está de acordo com o estudo de Canôn-Franco de 2013, que encontrou prevalências de 52,8% à 59,6% na população de pequenos felinos neotropicais selvagens em zoológicos no Brasil. Da mesma forma, Montazeri et al. (2020), relataram uma soroprevalência mundial de aproximadamente 59% em felinos selvagens. Ao comparar entre sexos, 36% das amostras positivas correspondem aos machos, enquanto 22% correspondem a fêmeas. Quanto à localização dos animais, vinte felinos soropositivos encontram-se em cativeiros na região Sudeste, enquanto nove estão na região Centro-Oeste do Brasil.

Das 29 amostras reagentes analisadas, 86,21% tiveram título sorológico final de 1:16, enquanto 13,79% resultaram em uma titulação de 1:64. Ao considerar o ponto de corte de titulação de  $\geq 1:16$  na análise sorológica pelo RIFI (Ribeiro et al, 2015), nota-se que títulos mais baixos apresentam um nível menor de anticorpo, indicando uma provável infecção antiga ou uma exposição leve. Já em titulações acima de 1:64, sugerem infecção mais recente ou com resposta mais intensa à toxoplasmose.

Em relação à leishmaniose, o Ministério de Saúde considera sororreagente as amostras com titulação iguais ou superiores a de 1:40 em cães (Brasil, 2014). Atualmente, é preconizado o teste ELISA para a triagem e a RIFI para a confirmação dos cães sororreagentes. Para além disso, existe ausência de um consenso sobre o ponto de corte para a positividade em felinos selvagens. Para gatos, é aceito o valor de título de anticorpos e critérios igual ao de cães (Camprigher et al., 2019).



Seguindo esse viés, as nove amostras reagentes para leishmaniose representam uma prevalência de 18,37%. Todas apresentaram o título final de 1:40 no método RIFI. Nota-se que três *Panthera onca*, duas *Puma concolor*, dois *Leopardus pardalis*, uma *Panthera leo* e uma *Panthera tigris* estão infectados ou tiveram contato com o protozoário do gênero *Leishmania*. Em relação ao sexo, observou positividade de 10,21% para fêmeas e 8,16% para machos. Vale destacar que oito felinos estão localizados na região Sudeste do Brasil e apenas um felino na região do pantanal. Dentre os animais soropositivos, três são habitantes do Mantenedor de Fauna Ampara Silvestre, enquanto outros três pertencem ao Zoológico Municipal de Limeira. Apenas um felino é proveniente da Fazenda Kirongozi, um do Zoológico de Americana e um do Refúgio Ecológico Caiman.

Para a leptospirose, o sorogrupo com a maior aglutinação de titulação no MAD é o provável causador da infecção. Assim como a leishmaniose, não tem um consenso sobre o cutt-off mais apropriado nesse experimento, sendo uma titulação  $\geq 100$  considerado para resultados positivos em gatos (Miotto *et al.*, 2024). Títulos de  $\geq 400$  são suspeitos para infecção recente ou ativa (Bourassi *et al.*, 2021). No geral, os gatos reagem a leptospirose com baixa titulação de anticorpos pelo MAD. Isso pode trazer resultado falso-negativo nos estágios iniciais da doença devido a falta de anticorpo específico no sistema imunológico ou anticorpo baixo no resultado (Andityas *et al.*, 2024).

Ampliando os estudos de felinos domésticos para felinos selvagens, o estudo encontrou soropositividade de 16,33%. Entre elas, o sorovar Icterohaemorrhagiae foi o mais reagente, seguido de Pomona, Canicola, Cynopteri e Autumnalis. Ademais, temos destaque para a espécie *Panthera onca*, que representou metade das amostras positivas. O felino com a maior titulação do sorovar Pomona, indicando uma possível infecção ativa, é uma onça pintada localizada no Refúgio Ecológico Caiman. Os demais animais soropositivos indicam contato prévio com a leptospirose, mas pode estar relacionado com uma infecção antiga ou estágios iniciais da doença. Quatro das amostras positivas são provenientes de animais do estado de São Paulo e as outras quatro do estado de Mato Grosso do Sul.

Ao comparar a proporção de felinos positivos, a região Centro-Oeste apresentou maior prevalência para toxoplasmose (75%) e leptospirose (33,3%)

em relação à região Sudeste, o qual apresentou prevalência de 50% e 10%, respectivamente. Por outro lado, a prevalência para leishmaniose foi superior na região Sudeste, com valor de 20%, em contraste com os 8,3% observados na outra área.

Quanto às vitaminas hidrossolúveis geralmente não são armazenadas em grandes quantidades, exigindo uma ingestão contínua. A Biotina (B7) apresentou o maior valor médio (252,03 ng/L) entre as vitaminas B e, notavelmente, possui um alto desvio padrão (42,61). A diferença entre Darja (207,89 ng/L) e Punjab (293,03 ng/L) é significativa, sugerindo variações na absorção ou diferenças metabólicas individuais, a Tiamina (B1) exibe o maior Desvio Padrão percentual do Complexo B (DP de 16,77 em relação à Média de 27,97 ug/ml), impulsionado pelo valor baixo de Duquesa (11,41 ug/ml) e alto de Punjab (44,92 ug/ml). Essa grande dispersão pode indicar diferenças acentuadas na dieta ou ainda no estado de saúde gastrointestinal, e deve ser alvo de observação.

O Ácido Ascórbico (C) apresentou a maior variação (DP: 50,65) entre as vitaminas hidrossolúveis. O valor extremamente alto em Darja (129,24 uM/L) em contraste com o baixo de Duquesa (28,99 uM/L) pode refletir a influência do estresse ou doença na concentração de vitamina C, já que grandes felinos podem sintetizá-la, mas suas concentrações plasmáticas podem ser influenciadas por fatores ambientais ou de saúde.

As vitaminas lipossolúveis são armazenadas no tecido adiposo e no fígado, e suas concentrações tendem a refletir um estado nutricional de longo prazo. Assim, a vitamina D é o parâmetro que demonstrou a maior dispersão e variação, com o maior desvio padrão para o total (341,57 ng/ml em Punjab vs. 30,58 ng/ml em Darja; DP: 175,70), o valor de Punjab se apresentou dez vezes maior do que o dos outros dois tigres, especialmente devido às altas concentrações de D2 (182,12 ng/ml) e D3 (159,43 ng/ml). Essa disparidade sugere uma suplementação dietética ou exposição solar (UVB) altamente variável ou inconsistente, ou, no caso extremo de Punjab, um consumo excessivo que pode levantar preocupações sobre toxicidade em níveis tão elevados.

A vitamina K (Filoquinona) também exibiu uma variação muito grande (DP de 3,29 em relação à Média de 2,24 ng/ml). O valor de Punjab (6,0 ng/ml) foi significativamente mais alto do que o da Darja (0,24 ng/ml) e do que o da Duquesa (0,48 ng/ml), apontando para grandes diferenças na ingestão alimentar, a

vitamina E (Alfa-Tocoferol), por sua vez demonstrou uma variação considerável (DP: 5,20), com Punjab novamente apresentando o maior valor (21,31 ug/ml). Níveis adequados de vitamina E são cruciais devido ao seu papel como antioxidante, e a dispersão sugere a necessidade de padronizar a fonte de gordura na dieta. O Beta Caroteno por sua vez, apresentou a maior variação relativa (DP: 0,46, Média: 0,55 uM/L) entre as lipossolúveis, principalmente devido ao valor mais elevado de Darja (1,07 uM/L) e valores muito baixos nos outros. Os felinos não conseguem converter o beta caroteno em vitamina A eficientemente, o acompanhamento e mensuração constante podem trazer respostas importantes.

A extrema variabilidade da vitamina D (e K) entre os tigres foi o achado mais preocupante, a alta concentração em Punjab pode estar no limite da hipervitaminose D, um estado tóxico. Esta variação sugere que a formulação dietética e/ou o manejo ambiental (exposição à luz solar/UVB) para os tigres em cativeiro precisa de uma urgente padronização para garantir perfis nutricionais mais seguros e consistentes.

## 7. CONCLUSÕES

A morfometria comparada demonstrou que a onça-pintada apresenta as maiores células (hemácias, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos), com exceção dos monócitos, dos quais se apresentaram os maiores na jaguatirica. Quanto aos hemogramas e perfis bioquímicos, este estudo conseguiu delinear perfis hematológicos e bioquímicos distintos para dez espécies de felinos selvagens, significativos para a prática clínica e a pesquisa. Os resultados reforçam o impacto da contenção química no aumento de glicose e enzimas musculares (CK, AST/ALT), sublinhando a necessidade de cautela diagnóstica. As diferenças mais significativas foram observadas na eosinofilia dos pequenos felinos (sugerindo alta exposição parasitária) e nas variações nos marcadores renais e hepáticos, que, embora influenciadas pelo manejo, podem refletir as singularidades dietéticas e fisiológicas de cada espécie. Os resultados do levantamento e mensuração de vitaminas revelam uma extensa heterogeneidade nos perfis de vitaminas entre os três tigres, particularmente nas concentrações das vitaminas lipossolúveis (D e K) e B1 e C. As vitaminas B5 (Ácido Patotênico) e B2 (Riboflavina) apresentaram os menores desvios padrão, indicando que a ingestão ou o metabolismo dessas vitaminas é o mais consistente entre os indivíduos, sugerindo uma fonte dietética estável ou um forte controle homeostático. Em relação às sorologias realizadas, o presente estudo avaliou a prevalência de toxoplasmose, leishmaniose, e leptospirose em felinos selvagens, analisando os títulos sorológicos para cada doença e relacionando-os às regiões de cativeiro dos animais.

Os resultados indicaram maior número de amostras soropositivas para toxoplasmose, seguida de leishmaniose e, por fim, leptospirose. Proporcionalmente, a região Centro Oeste do Brasil apresentou maior número de animais soropositivos para essas enfermidades zoonóticas. Observou-se casos de soropositividade múltipla, evidenciando a complexidade epidemiológica e necessidade de vigilância das zoonoses.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico**. 6. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2021. ISBN 9788595158672.
- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals**. 3. ed. Washington, DC: Pan American Health Organization, 2003. v. 1. ISBN 92-75-11580-9.
- AHMED, M. M. et al. Holistic approaches to zoonoses: integrating public health, policy, and One Health in a dynamic global context. **Zoonotic Diseases**, v. 5, p. 5, 2025. DOI: 10.3390/zoonoticdis5010005.
- ALMEIDA, A. B. P. F. et al. Short Report: Brazil: *Brucella abortus* & *Brucella canis* em felídeos selvagens cativos. **Int. Zoo Yb**, v. 47, p. 204-207, 2013.
- ALMEIDA, L. et al. Avaliação do estado de conservação do gato-mourisco *Puma yagouaroundi* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1083) No Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 99-106, 2013.
- ÁLVARO, Laboratório. **Laboratório Álvaro**. 2010. Disponível em: <http://www.alvaro.com.br>. Acesso em: 13 de outubro de 2024.
- ANDRÉ, M. R. **Deteção sorológica e caracterização moleculares de agentes Anaplasmataceae, micoplasmas hemotróficos, piroplasmas e Hepatozoon sp. em carnívoros selvagens mantidos em cativeiro no Brasil**. 2012. 209 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2012.
- ARAÚJO, M. de P. **Avaliação do bem-estar em Felinos selvagens em cativeiro**. 2016. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2016.
- BAIN, J. B. Topics. In: VADEN, S. L. et al. **Blackwell's five minute veterinary consult: laboratory tests and diagnostics procedures**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. p. 322-323.
- BAIS, B.; TAK, L.; MAHLA, S. Study of preventive health measures for wildlife in captivity a review of management approaches. **International Int J Avian & Wildlife Biol**, v. 2, n. 2, p. 73-75, 2017.
- BARTHOLD, S. W. et al. **Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits**. [Inserir Local de Publicação]: John Wiley & Sons, 2016.

- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, p. 328-337, 2004.
- BISSELL, H.; BLACK, P.; KELLER, D. Hypervitaminosis D in felids following feed contamination. In: BROOKS, M.; FREEL, T.; KOUTSOS, E. (ed.). **Proceedings of the Thirteenth Conference on Zoo and Wildlife Nutrition**. Saint Louis, MO: Zoo and Wildlife Nutrition Foundation and AZA Nutrition Advisory Group, 2019.
- BOURASSI, E.; SAVIDGE, C.; FOLEY, P.; HARTWIG, S. Serologic and urinary survey of exposure to *Leptospira* species in a feral cat population of Prince Edward Island, Canada. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 23, n. 3, p. 169–177, 2021
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Módulo de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades (MOPECE)**. Washington, DC: Programa Especial de Análises de Saúde do Escritório Central da Organização Pan Americana da Saúde, 2010. v. 2, p. 11-45. ISBN: 92 75 32407 7.
- BRASIL. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). **Portaria MMA Nº 148, de 7 de junho de 2022**. Brasília, DF: ICMBio, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/aves-silvestres/arquivos/portaria-148-2022.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de leptospirose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 1995. 98 p.
- CALDART, E. T. et al. Zoonosis in dogs and cats attended by the Birth Control Project: *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp.* and *Leptospira spp.*, serodiagnosis and epidemiology. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 253–265, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n1p253>.
- CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Rev. Bras. Patol. Clin.**, v. 10, p. 143-169, 1974.
- CAMPOS, B. et al. Padrão de Atividade de Onças Pintadas (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) Mantidas em Cativeiro – Manejo e Comportamento. **Revista de Etologia**, v. 7, n. 2, p. 75-77, 2005.
- CAÑÓN-FRANCO, William Alberto et al. *Toxoplasma gondii* in free-ranging wild small felids from Brazil: molecular detection and genotypic characterization. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 3–4, p. 462–469, 2013. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.07.019.

- CAVALIER-SMITH, Thomas. *The evolutionary origin and phylogeny of microtubules, mitotic spindles and eucaryotic flagella*. **BioSystems**, Amsterdam, v. 10, n. 1-3, p. 93–114, 1978. DOI: 10.1016/0303-2647(78)90022-4.
- CHOMEL, B. B. Zoonoses. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 2014. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.02426-0.
- CLARK, P. et al. Collection and handling of blood samples. In: CLARK, P. et al. **Atlas of clinical avian hematology**. 1. ed. Singapura: Wiley-Blackwell, 2009. cap. 1, p. 01-32.
- CLAVER, J. A.; QUAGLIA, A. I. E. Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 2, p. 87–97, abr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>.
- CLAVIJO, A.; RAMÍREZ, G. F. Taxonomía, distribución y estado de conservación de los felinos suramericanos: Revisión monográfica. **Boletín Científico Museo de Historia Natural**, v. 13, n. 2, p. 43-60, 2009.
- CONTINI, C. et al. Evaluation of a Real-time PCR-based assay using the lightcycler system for detection of *Toxoplasma gondii* bradyzoite genes in blood specimens from patients with toxoplasmic retinochoroiditis. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 275–283, 2005.
- CORRÊA, E. S. et al. Investigação molecular de *Ehrlichia spp.* e *Anaplasma platys* em felinos domésticos: alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 10, p. 899-909, 2011.
- CROS, J. et al. Human CD14dim Monocytes Patrol and Sense Nucleic Acids and Viruses via TLR7 and TLR8 Receptors. **Immunity**, v. 33, n. 3, p. 375–386, set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.012>.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2014. v. 2. ISBN 978-85-277-2649-8.
- COSTA, R. da et al. Saúde oral de primatas da espécie *Cebus apella* (Linnaeus, 1758) mantidos no centro de triagem de animais silvestres-Ibama, estado do Rio De Janeiro. **Revista Brasileira De Medicina Veterinária**, Seropédica - RJ, v. 34, n.2, p.86-90, 2012.
- DALANHOL, M. et al. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, p. 29-35, 2009.

- DEEM, S. et al. Health assessment of free-ranging three-banded (*Tolypeutes matacus*) and nine-banded (*Dasypus novemcinctus*) armadillos in the gran chaco, bolivia. **Journal Of Zoo And Wildlife Medicine**, v. 40, p.245-256, 2009.
- DESMONTS, G.; REMINGTON, J. S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, p. 562-568, 1980.
- DIAS, F. et al. Parâmetros hematológicos de gatos selvagens das espécies *Puma concolor*, *Panthera onca* e *Panthera leo* mantidos em cativeiro. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e35711629288, 2022.
- DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **Journal of Experimental Medicine**, v. 132, n. 4, p. 636–662, 1970.
- DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. ISBN 978-1-4200-9236-3.
- DUDA, N. C. B. et al. Laboratory and clinical findings and their association with viral and proviral loads in cats naturally infected with feline leukemia virus. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, v. 71, p. 101491, maio 2020. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101491.
- FAILACE, R. **Hemograma**. Porto Alegre: Grupo A, 2015. ISBN 9788582712290.
- FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: Medicine Science, 1999.
- FILONI, C. **Exposição de felídeos selvagens a agentes infecciosos selecionados**. 2006. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. DOI: 10.11606/T.10.2006.tde-26012007-171939.
- FORNAZARI, F.; LANGONI, H. Principais zoonoses em mamíferos selvagens. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 1, p. 10-24, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/140902>. Acesso em: 08 de novembro de 2024.
- FOX, M. et al. Hematologic and serum biochemistry reference values in wild-caught white-footed tamarins (*Saguinus leucopus*) housed in captivity. **J Zoo Wild Med**, v.39, p.548 - 557, 2008.
- GASPARI, M. M. F. **Estudo epidemiológico de patógenos circulantes nas populações de onça-pintada e animais domésticos em áreas preservadas de três biomas brasileiros: Cerrado, Pantanal e Amazônia**. 2010. Tese



(Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GEISSMANN, F. et al. Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells. **Science**, v. 327, n. 5966, p. 656–661, fev. 2010.

GENARO, G. et al. Pequenos Felinos Brasileiros Desconhecidos e Ameaçados. **Ciência Hoje**, v. 29, p. 34-40, 2001.

GOMES, L. G. O.; GOMES, G. O.; FODRA, J. D.; MASSABNI, A. C. Zoonoses: as doenças transmitidas por animais. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 25, n. 2, p. 158-174, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2022.v25i2.1261>.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, p. 338-349, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Patologia Clínica Veterinária: Texto Introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.

GUERRA NETO, G. **Frequência de anticorpos contra Leptospira spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

GUIMARÃES, A. **Diagnóstico morfológico, sorológico e molecular de agentes anaplasmatáceas em felinos domésticos da região metropolitana do rio de janeiro**. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.

GUSHI, L. T. **Estrutura populacional de Lutzomya longipalpis através da amplificação e sequenciamento do segmento ribossomal 12s de DNA mitocondrial**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

HAWKEY, C. M. et al. Erythrocyte size, number and haemoglobin content in vertebrates. **British Journal of Haematology**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 392–397, 1991.

HEDIGER, H. **Wild animals in captivity**. London: Butterworths Scientific Publication, 1950. 207 p.

HILL, M. E. Doenças inflamatórias do fígado. In: AUGUST, J. R. **Medicina interna de felinos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 215-226.

HOOVER, T. A.; VODKIN, M. H.; WILLIAMS, J. C. A. A *Coxiella burnetii* repeated DNA *element* resembling a bacterial insertion sequence. **J Bacteriol**, v. 174, p. 5540–5548, 1992.

HÜBNER, P. R.; LINK, D. Preservação do gato-do-mato na região do alto uruguai. **Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental**, v. 4, n. 4, p. 530-540, 2011.

IUCN. The International Union For Conservation Of Nature. **Red List Of Threatened Species**. Gland, Suíça: IUCN, 2014. Disponível em: [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Acesso em: 26 de novembro de 2024.

IUCN. The International Union For Conservation Of Nature. **Annual Report .2019**. Gland, Suíça: IUCN, 2020. Disponível em: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2020-025-En.pdf>. Acesso em: 11 de outubro de 2024.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica: texto e atlas*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchôa; CARNEIRO, José. *Histologia básica: texto e atlas*. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

LARSSON, M. et al. Hematologic parameters of captive lions (*Panthera leo*) and siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1, p. 1-6, 2015.

LARSSON, A. et al. *Laboratory predictors of bleeding and the effect of platelet and RBC transfusions on bleeding outcomes in the PLADO trial*. **Blood**, v. 130, n. 10, p. 1247–1258, 2017. DOI: 10.1182/blood-2017-01-757930.

LONGONI, S. S. et al. Detection of different Leishmania spp. and Trypanosoma cruzi antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, v. 35, n. 5, p. 469-476, 2012.

LUIZ, M. Ecologia e conservação de mamíferos de médio e grande porte na reserva biológica estadual do Aguaí. **Universidade Do Extremo Sul Catarinense**, Criciúma. 2008.

MACKENZIE, J. S.; JEGGO, M. The One Health Approach—Why Is It So Important? **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 2, p. 88, 2019. DOI: 10.3390/tropicalmed4020088.

MELLOR, D. J.; HUNT, S.; GUSSET, M. (ed.). **Caring for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy**. Gland: WAZA Executive Office, 2015.

87 p.

- MELO, L. F. et al. Histórico e perspectiva da conservação dos felinos silvestres ocorrentes no Brasil com estudos realizados entre os anos de 1945 a 2014. **Revista Presença**, v. 2, n. 4, p. 42-57, abr. 2016.
- MENDES, Calebe Pereira. *Efeito de variáveis ambientais e perturbações antrópicas sobre o comportamento animal*. 2018. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2018.
- METZGER, Jean Paul. Conservation issues in the Brazilian Atlantic forest. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1138–1153, 2009.
- MILLER, R. E.; FOWLER, M. E. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*. 8. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2015. v. 8. ISBN 978-1-4557-7397-8.
- MILLER, R. E.; FOWLER, M. E. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy*. 9. ed. St. Louis: Elsevier, 2019. v. 9. ISBN 978-0-323-55228-8.
- MIOTTO, Bruno Alonso et al. *Current knowledge on leptospirosis in cats: a systematic review with meta-analysis on direct detection, serological response, and clinical data*. **Research in Veterinary Science**, v. 174, p. 105292, 2024. DOI: 10.1016/j.rvsc.2024.105292.
- MONTAZERI, M. et al. *Toxoplasma gondii infection in humans and animals: a global systematic review and meta-analysis*. **Acta Tropica**, v. 207, 2020. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105515.
- OLIVEIRA, R. G. de. *Fragmentação de habitats e efeitos sobre populações naturais*. 1994.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Zoonoses**. [S. l.]: OMS, [20--?]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>. Acesso em: 14 de outubro de 2024.
- PIMENTEL, J. S. et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 1009-1014, 2009.
- PIRAJÁ, G. V. et al. Leishmaniose felina: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 20, n. 2, p. 203-216, jun. 2013.
- PIRATELLI, A. J.; FRANCISCO, M. R. *Ecologia da conservação e fragmentação de habitats: fundamentos e aplicações na biodiversidade*. In: \_\_\_\_\_ (org.). **Temas em Ecologia e Conservação da Biodiversidade**. São Paulo: Rima,

2013.

- PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1265-1276, 2000.
- PUERTO, H. L. del et al. Canine distemper virus detection in asymptomatic and non-vaccinated dogs. **Pesq Vet Bras**, v. 30, n. 2, p. 139–144, fev. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000200007>.
- RIBEIRO, D. P. et al. *Serological and molecular diagnosis of Toxoplasma gondii infection in animals and humans: evaluation of IFAT and other assays*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 2, p. 123–130, 2015.
- SACRISTÁN, I. et al. *Infectious agents in wild felids: a global systematic review of pathogens and their implications for conservation and public health*. **Parasites & Vectors**, v. 14, art. 512, 2021. DOI: 10.1186/s13071-021-05051-9.
- SAVANI, E. S. M. M. et al. Primeiro caso de Leishmaniose felina causada por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* na América. In: Congresso de Parasitologia Veterinária, 2002, São Paulo. Anais. São Paulo: Comissão de Cultura e Extensão Universitária do ICB/USP, 2002.
- SILVA, C. C. et al. Soroprevalência e pesquisa de oocistos de *Toxoplasma gondii* em felídeos selvagens procedentes do estado do Pará, Brasil. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 15, n. 2, p. 150-157, abr./jun. 2016.
- SYKES, J. E. et al. 2023 ACVIM consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 37, n. 4, p. 1273-1295, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.16786>
- THRALL, M. A. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2024.
- TURNER, A.; ANTÓN, M. **The Big Cats and their fossil relatives**. New York: Columbia University Press, 1997.
- VIEIRA, J. M. C. **Leishmaniose felina: por que devemos nos preocupar?**. 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Clínica Médica de Felinos Domésticos) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- WANDERLEI, L. L. **Reprodução de felinos selvagens no Brasil (Revisão de Literatura)**. 2011. Trabalho de conclusão de curso – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.
- WANG, H. et al. Captive breeding of wildlife resources—China's revised supply-

side approach to conservation. **Wildlife Society Bulletin**, Hoboken, v. 43, n. 3, p. 425–435, 2019.

WEISER, G. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. Geneva: WHO, [20-?]. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1). Acesso em: 14 de novembro de 2024.

## 9. ARTIGOS CIENTÍFICOS

**ARTIGO I:** Trabalho a ser enviado para a revista Journal of Wildlife Diseases (JWD)

SALOMÃO JR., ET AL. **Serological analysis of wild felids.**

**Jorge. Salomão Jr.,<sup>1</sup> Giovana. Morandini,<sup>1</sup> Vania. Foster,<sup>2</sup> Paulo. Marcusso,<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Hospital Veterinário-FMVZ/UNESP, Serviço de Patologia Clínica Veterinária, Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Distrito de Rubião Junior, Botucatu, SP.

<sup>2</sup> Projeto Onças do Iguaçu, Parque Nacional do Iguaçu, BR 469, KM 18, Caixa postal 5, Foz do Iguaçu, PR.

email: jorge.salomao@unesp.br.

Rua Três, 137, Americana/SP. 55 (11) 9.9410-7502, Brazil.

**ABSTRACT:** Wild felids are potential hosts of various infectious diseases, including zoonotic ones. Understanding this family's role in the epidemiology of certain diseases is essential for the conservation of Brazilian fauna and for public, animal and environmental health. Anthropogenic interference in natural ecosystems results in the approximation between wildlife with urban environments, leading to consequences that have not been clarified yet. Concomitant, there is a lack of information regarding *Leishmania* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma Gondii* in wild animals. It is known that these pathogens affect the health of felines, in addition to serve as a source of infection for other animals and humans. Therefore, their zoonotic potential and associated implications must be further investigated. The present project aims to analyze the presence of Leishmaniasis, Leptospirosis and Toxoplasmosis through the analysis of serum samples collected from 52 different wild felids of different species, originating from various regions of Brazil, in order to expand knowledge about their health status. The analysis of results revealed that twenty-nine felids were seroreactive for toxoplasmosis using the Indirect Immunofluorescence Assay (IFA). Regarding leishmaniasis, as

determined by the Microscopic Agglutination Test (MAT), nine samples showed a serological titer of 1:40. Lastly, eight animals were seropositive for leptospirosis based on Indirect Immunofluorescence Assay (IFA) results, with emphasis on serovars Icterohaemorrhagiae, Pomona, Canicola, Cynopteri, and Autumnalis.

**KEY WORDS:** Word or phrase, word or phrase, word or phrase, word or phrase, Felids, *Leishmania* spp., *Leptospira* spp., *Toxoplasma Gondii*, conservation, zoonosis, public health.

## INTRODUCTION

Felines are carnivorous mammals belonging to the Felidae family. They emerged approximately 30 million years ago and subsequently spread across almost all continents over the following 25 million years (Turner, Natón, 1997). Currently, their taxonomy is divided into 14 genera and 40 species (Clavijo & Ramírez, 2009; Wanderlei, 2011). According to the ICMBio (2022), Brazil is home to ten species of wild felines. Among these, six species are classified as vulnerable, and one is categorized as endangered. From a conservationist perspective, the need for institutions to prevent the worsening of this situation arises.

In the wild, felines occupy the top of the food chain through their predatory activities, playing a fundamental role in maintaining ecosystem balance. Wild felids generally live for an average of 13 to 20 years, though longevity tends to increase in captivity (Filoni, 2006). However, as anthropogenic environmental degradation intensifies, the habitat of wild felines is progressively reduced. With the scarcity of native flora and fauna, some species are currently threatened with extinction (Wanderlei, 2011). According to the ICMBio (2022), Brazil is home to ten species of wild felines, six of which are classified as vulnerable and one as endangered. From a conservationist perspective, the need for institutions to prevent the worsening of this situation arises.

Some wild animals require intervention to ensure their survival, whether due to mistreatment, orphanhood, or illegal captivity (Bais, Tak, Mahla, 2017). Taking this into consideration, institutions such as holding facilities, sanctuaries, zoos, research centers, and reintroduction projects promote studies of animals in controlled situations with the objectives of conservation, preservation, recreation,

and environmental education (Pimentel et al., 2009). Captive animals may either be born in these restricted realities or have been removed from their natural habitat at some point in their lives. In both scenarios, humans modify the individual's reality, and the successful relationship requires a reframing of the human role, which is instinctively viewed as an enemy by the animal (Hediger, 1950).

Captive enclosures represent a challenge, as they require specialized veterinary care and facilities that closely approximate the ideal for each species, ensuring animal welfare (Bais, Tak, Mahla, 2017). According to the World Association of Zoos and Aquariums (2015), welfare is the individual's overall condition encompassing their emotional state and subjective sensations, with external influences resulting in their physical health. The Five Domains Model aids in understanding this condition, being based on four physical/functional domains (nutrition, environment, physical health, and behavior) in addition to the fifth domain which addresses the animal's psychological state. Therefore, general and specific characteristics must be considered for the maintenance of each captive species, including behavioral and psychological needs, enclosure dimensions and design, size and composition of the social group, and handling procedures (Araújo, 2016).

Research concerning wild felines is predominantly focused on the diets of these animals. Given this, there is still limited knowledge regarding the physiology and health of this family as a whole. With the decline of some species due to anthropogenic action, it becomes necessary to invest in research with the goal of preserving these species (Melo et al., 2016). Assessing the health of these animals and researching the incidence of diseases is of great importance for public, animal, and environmental health, besides ensuring their well-being.

When addressing the conservation of carnivorous species, it is essential to discuss infectious diseases. There is evidence that all felid species are susceptible to the same pathogens. Furthermore, captive animals from distinct geographical origins housed in the same enclosure are exposed to a greater variety of pathogens. Wild felines under human management may also have occasional contact with domestic cats, increasing the risk of infectious contamination. Factors such as physiological stress and nutritional deficiencies can aggravate the deleterious effects of diseases (Filoni, 2006).



Although disease containment measures are practiced in this population, they are often ineffective. Diseases, including zoonotic ones, occur in both free-ranging and captive animals (Fornazari, 2014). Studies must prioritize the monitoring and promotion of animal health, considering inter-species interactions with humans, disease prevention, the improvement of welfare in confinement situations, and the investigation of the epidemiology of relevant zoonotic diseases. The increasing recognition by governmental bodies, non-governmental organizations, and the public regarding the ecological and social role of wild animals has led to greater care in monitoring population reduction (Wang, 2019). The international community, through organizations like the IUCN, stresses that human progress does not preclude nature conservation, with policies, economic, cultural, and technological actions contributing to the well-being of the entire planet (IUCN, 2019).

A zoonosis is defined as a disease or infection naturally transmissible between vertebrate animals and humans. With over 250 known zoonoses (Chomel, 2014), the emergence of new or re-emerging zoonoses is mainly driven by human activity, including globalization, urbanization, climate change, antimicrobial resistance, and the interaction between humans and animals (Ahmed et al, 2025). The direct and indirect impact of these agents on public health is significant.

In the early 2000s, the concept of “One Health” was first employed in global events following the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) and H5N1 avian influenza outbreaks. The One Health Global Network defines this as a concept that recognizes that the health of humans, animals, and ecosystems are interconnected and must be addressed in a multidisciplinary, intersectoral, coordinated, and collaborative manner (Mackenzie; Jeggo, 2019). Consequently, international institutions have created frameworks like the Tripartite Zoonoses Guide (TZG) to control these diseases, underscoring that zoonosis prevention requires a collaborative and interdisciplinary approach founded on One Health (Ahmed et al, 2025).

The present study, therefore, aims to evaluate and monitor the circulation of *Toxoplasma gondii*, *Leptospira spp.*, and *Leishmania spp.* in the Felidae family across different Brazilian biomes. The relevance of felines generates current concerns about ecosystem transformations and public health, which are countered

by the scarcity of available serological data. This scientific study is an important tool, as it contributes to the improvement of the epidemiological understanding of these diseases and to the conservation of Brazilian fauna.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals**

Serum samples were collected from 52 captive wild felines, including native and exotic species. The sampled species included: *Puma concolor*, *Puma yagouaroundi*, *Panthera onca*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus wiedii*, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus guttulus*, *Leopardus geoffroyi*, *Leopardus colocolo*, and *Panthera leo*.

The animals were housed at the following institutions: Limeira Municipal Zoo (*Zoológico Municipal de Limeira*), Americana Municipal Zoo (*Zoológico Municipal de Americana*), Piracicaba Municipal Zoo (*Zoológico Municipal de Piracicaba*), Itatiba Zoo (*Zoológico de Itatiba*), Ampara Silvestre Fauna Keeper (*Mantenedor de Fauna Ampara Silvestre*), Mata Ciliar Association (*Associação Mata Ciliar*), Kirongozi Farm (*Fazenda Kirongozi*), Caiman Ecological Refuge (*Refúgio Ecológico Caiman*), and Furnas do São Pedro Farm in Paracatu (*Fazenda Furnas do São Pedro em Paracatu*).

### **Sample Collection**

The felines underwent chemical restraint according to the specific protocol for each target species. First, they were contained in the shifting area of their respective enclosures. They were darted in the limb musculature using a blowpipe containing anesthetics. The dose and drug varied according to the animal, but the association of ketamine at a dose of 6 mg/kg associated with medetomidine at a dose of 0.6 mcg/Kg was primarily recommended. Throughout the procedure, they were monitored by veterinary physicians every 15 minutes, from start to finish, to check the following parameters: heart rate, respiratory rate, oxygen saturation, capillary refill time (CRT), body temperature, lactate, and blood glucose level. Peripheral blood was collected by puncturing the cephalic or medial saphenous vein using a *Vacutainer* scalp vein set. A total of 9.5 ml of blood was introduced into a dry tube for serological testing.

The samples were stored at the Veterinary Clinical Laboratory and processed at the Zoonoses Laboratory of FMVZ (University of Veterinary Medicine and Animal Science)/UNESP (São Paulo State University), Botucatu campus.

### **Laboratory Diagnosis**

Antibodies against *T. gondii* were investigated using the Indirect Immunofluorescence Antibody Test (IFAT), developed by Camargo (1974). The antigenic solution was added to the wells of specific slides for IFAT, remaining for a period of 2 to 3 minutes for the fixation of tachyzoites to the slide surface. The excess solution was removed by aspiration, leaving a thin film over each well or perforation to be used in the reaction. The slides were dried at room temperature, packaged in appropriate wooden boxes or slide holders, and stored at freezing temperature, between -18 °C and -20 °C, until use.

Initially, 10 µL of the antigenic suspension was pipetted into each well of the appropriate immunofluorescence slide. After incubation for 2 to 3 minutes at room temperature for tachyzoite fixation, the excess suspension was removed by aspiration, leaving a uniform film. Subsequently, 10 µL of the animal's serum (in previously established serial dilutions, starting at 1:16 and continuing up to 1:1,024) was added. The slides were incubated in a humid chamber for 30 minutes at 37 °C, ensuring effective contact between antibodies and antigens. Following this phase, a series of two to three washes was performed with a 0.01 M Phosphate-Buffered Saline (PBS), pH 7.2, each lasting 10 minutes, with the PBS completely replaced in each wash. After the final wash, the slide was kept immersed for another 10 minutes. Next, 10 µL of the specific anti-IgG conjugate diluted in Evan's blue solution was applied, distributing it uniformly. The slides were incubated again for 30 minutes at 37 °C in a humid chamber. After this time, a final wash, identical to the previous ones, was performed, followed by drying at room temperature. The slide was examined using an immunofluorescence microscope, utilizing a 40x objective and a 10x eyepiece. The endpoint of the reaction was considered to be the highest serum dilution at which intense and continuous fluorescence was still observed on the borders of at least 50% of the tachyzoites present in the microscopic field.

The detection of antibodies against *Leishmania chagasi* was performed using the Indirect Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) (CAMARGO, 1974),

using the following dilutions: 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, and 1:640. Samples were diluted in a microplate by pipetting 190  $\mu$ L of Phosphate-Buffered Saline (PBS) and 10  $\mu$ L of the serum to be tested into the first well (1:20 dilution). 100  $\mu$ L of PBS was distributed into five cavities, and 100  $\mu$ L of the first dilution was transferred to the next one, after homogenization, proceeding thus until the fifth cavity, discarding the 100  $\mu$ L from this last dilution. This procedure was repeated with a positive control serum and a negative control serum.

Following the protocol, which indicated the position of each serum to be tested, including positive and negative controls, 10  $\mu$ L of each serum dilution was distributed into the wells of the slide fixed with the antigen. The slides were then incubated at 37 °C in a humid chamber for 30 minutes and washed with PBS for 10 minutes in a Coplin jar, performing two washes after drying in an oven at 37 °C. The specific conjugate was diluted according to its previously established titer, in Evan's blue solution, diluted in PBS at a ratio of 1:5, and 10  $\mu$ L of the conjugate was distributed to each dilution on the slides. This was incubated for 30 minutes at 37 °C in a humid chamber, followed by washing the slides in PBS, drying in an oven, mounting with buffered glycerol pH 8.5 and a 24 mm x 60 mm coverslip, and examining under an immunofluorescence microscope (40X magnification). After reading the controls, the final titer was considered the highest serum dilution at which complete fluorescence occurred on the border of at least 50% of the promastigotes. The antigen for sensitizing the slides was produced with *L. chagasi* and *L. major* promastigotes maintained in screw-cap tubes containing 9 ml of LIT medium and 5 ml of NNN medium at the Zoonoses Research Center. The slides were sensitized with the promastigote suspension and stored in a slide holder at -20°C until the moment of use.

Serum samples were tested for anti-*Leptospira spp.* antibodies using the Microscopic Agglutination Test (MAT), according to the standards of the Ministry of Health (1995). A battery of 25 live serovars and four variants of the Hardjo serovar was used, maintained and subcultured weekly in Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) medium (DIFCO Laboratories®, Detroit, USA) at 28 °C. The serovars included: *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcombi*, *Cynopteri*, *Djasiman*, *Sentot*, *Gryppotyphosa*, *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Javanica*,

*Panama, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc, Hardjo prajitno, Hardjo miniswajezak, Hardjo C.T.G., and Hardjo bovis.*

Each sample was initially diluted in PBS pH 7.6 at a 1:50 dilution by adding 100  $\mu$ L of serum to 4.9 mL of the solution in 10 mL test tubes. The samples were then transferred using a micropipette to a flat-bottom microplate, horizontally arranged in 29 wells containing 50  $\mu$ L of sample each. Subsequently, 50  $\mu$ L of each of the 29 antigens were added vertically to the serum samples, totaling 100  $\mu$ L of material in each well. PBS pH 7.6 was used as a negative control. The plates were capped, gently agitated for 20 seconds, and incubated in a dry oven at 28 °C for one hour.

After incubation, a drop from each well was transferred to a clean glass slide using a bacteriological loop, and the reading was performed using a dark-field optical microscope (Carl Zeiss®, Germany) at 100X magnification. Samples that showed 50% or more agglutinated leptospire were considered positive. Subsequently, a new analysis of the positive samples was performed to identify their antibody titer for the reactive serovar. For this purpose, 100  $\mu$ L of the previously diluted (1:50) samples were transferred again to a flat-bottom microplate, and 50  $\mu$ L of PBS pH 7.6 were added to five other wells horizontally positioned next to the sample. A two-fold serial dilution was performed, transferring 50  $\mu$ L from the first well to the second, homogenizing with a micropipette, and transferring 50  $\mu$ L from the second to the third well, and so on, to obtain dilutions of 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, and 1:1600. Next, only the serovar that showed a positive reaction at the 1:100 dilution was added, transferring 50  $\mu$ L of it to each of the six wells containing the diluted samples. The final titer corresponded to the highest dilution that showed a positive result (100, 200, 400, 800, or 1600 IU). In the case of samples that reacted to more than one serovar, only the one with the highest titer was considered reactive. Positive samples for one or more of the serovariants *Hardjo bovis*, *Hardjo prajitno*, *Hardjo C.T.G.*, and *Hardjo miniswajezak* were considered reactive for the Hardjo serovar.

## RESULTS

The 52 samples were collected up until December 2024, and the serum were properly conditioned and organized at the Zoonoses Laboratory in the Veterinary Clinical Laboratory of FMVZ/UNESP, Botucatu campus. Most of the

collections were concentrated on captive animals from the Southeast region of Brazil (n = 40), while the remaining samples originated from the Midwest region (n = 12) (Table 1).

Between the months of January and March 2025, the serum were analyzed using the Indirect Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) for *Toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.*, and the Microscopic Agglutination Test (MAT) for *Leptospira spp.*. Following this period, the results obtained were organized and presented in Table 2, based on an analysis supported by the scientific literature.

During testing, it was noted that some samples did not have sufficient serum volume to perform the three initially proposed analyses. Consequently, it was necessary to optimize the available volume of each sample to achieve the most complete results possible. Regarding toxoplasmosis, two samples from *Leopardus tigrinus* had insufficient volume. For leptospirosis, there was an inadequate quantity of one sample each from *Leopardus tigrinus*, *Leopardus wiedii*, and *Panthera onca*. Finally, for leishmaniasis, serum was missing from two *Leopardus tigrinus* and one *Panthera onca*. Nevertheless, it was possible to obtain the initially desired total number of toxoplasmosis tests, and only one sample less than the expected number for both leptospirosis and leishmaniasis.

Considering that the serological analyses used are quantitative, the titration of each reactive sample was performed to evaluate the immune response of the tested animals to toxoplasmosis and leishmaniasis. Of the 50 samples tested for toxoplasmosis, 29 presented seropositivity, corresponding to a prevalence of 58% in the captive wild felines (Table 3, Table 4).

For leptospirosis, the Microscopic Agglutination Test (MAT) was used to titrate 25 serovars and four variants of the Hardjo serovar (Table 5). These included: *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcombi*, *Cynopteri*, *Djasiman*, *Sentot*, *Gryppotyphosa*, *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Javanica*, *Panama*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Wolffi*, *Shermani*, *Tarassovi*, *Andamana*, *Patoc*, *Hardjo prajitno*, *Hardjo miniswajezak*, *Hardjo C.T.G.*, and *Hardjo bovis*.

## DISCUSSION

Toxoplasmosis was the zoonosis with the highest casuistry (case incidence) among those analyzed in the present study, followed by leishmaniasis and, lastly,

leptospirosis. Notably, eleven animals presented seroreactive samples for more than one pathogen. None of the animals exhibited positive titration for all three zoonotic diseases investigated in this study.

The observed toxoplasmosis seropositivity indicates a high prevalence of *Toxoplasma gondii* exposure in the captive wild felid population, this finding aligns with previous studies in similar contexts. For instance, Canôn-Franco (2013) reported comparable prevalence rates ranging from 52.8% to 59.6% in wild neotropical small felids housed in Brazilian zoos. Likewise, a global seroprevalence review by Montazeri et al. (2020) reported an overall prevalence of approximately 59% in wild felids. When comparing sexes, 36% of positive samples corresponded to males, while 22% corresponded to females. Geographically, twenty seropositive felines were located in captivity in the Southeast region of Brazil, with nine originating from the Midwest region.

Of the 29 reactive samples analyzed, the majority (86.21%) showed a final serological titer of 1:16, while 13.79% resulted in a titer of 1:64. Considering the RIFI serological analysis (Ribeiro et al., 2015), the predominance of lower titers (1:16) suggests a lower antibody level, likely indicating chronic or past infection, or mild exposure. In contrast, higher titers (e.g.,  $\geq 1:64$ ) may be suggestive of a more recent infection or a more intense immune response to toxoplasmosis.

Regarding leishmaniasis, the Brazilian Ministry of Health establishes a cutoff of the 1:40 for seroreactivity in dogs (Brasil, 2014), where ELISA is recommended for screening and RIFI for confirmation. However, a consensus on the definitive cutoff point for positivity in wild felines is currently lacking. For domestic cats, the antibody titer value and criteria are generally accepted to be the same as those used for dogs (SPRISSLER et al., 2019).

Following this criterion, the nine samples reactive for leishmaniasis represent a prevalence of 18.37%. All reactive samples exhibited a final IFAT titer of 1:40. Specifically, three *Panthera onca*, two *Puma concolor*, two *Leopardus pardalis*, one *Panthera leo*, and one *Panthera tigris* were found to be either infected or previously exposed to the *Leishmania* protozoan. Seropositivity was observed in 10.21% of females and 8.16% of males. It is worth noting that eight of the seropositive felines were located in the Southeast region of Brazil, and only one in the Pantanal region. Among the seropositive animals, three resided at the Ampara Silvestre Fauna Keeper, and another three belonged to the Limeira Municipal Zoo,

with one each from Fazenda Kirongozi, Americana Zoo, and Caiman Ecological Refuge.

For leptospirosis, the Microscopic Agglutination Test (MAT) was used, where the serogroup with the highest agglutination titer is considered the probable cause of infection. Similar to leishmaniasis, there is no consensus on the most appropriate cutoff value for wild felines in this experiment; however, a titer  $\geq 100$  is generally considered positive for domestic cats (Miotto et al, 2024). Titers  $\geq 400$  are often considered suspicious for a recent or active infection (Bourassi et al., 2021). Generally, cats react to leptospirosis with low antibody titers via MAT. This phenomenon may lead to false-negative results in the initial stages of the disease due to a lack of specific antibodies or low antibody levels (Andityas et al., 2024).

Extending the findings from domestic to wild felines, the study found a seroprevalence of 16.33% for leptospirosis. Among the positive samples, the Icterohaemorrhagiae serovar was the most reactive, followed by *Pomona*, *Canicola*, *Cynopteri*, and *Autumnalis*. Notably, the species *Panthera onca* accounted for half of the positive samples. The jaguar (*Panthera onca*) with the highest titer (for serovar *Pomona*), suggesting a possible active infection, was located at the Caiman Ecological Refuge. The remaining seropositive animals indicate prior contact with leptospirosis, which may be associated with an old infection or early disease stages. Four of the positive samples originated from animals in São Paulo state, and the other four from Mato Grosso do Sul state.

Comparing the proportion of positive felines by region, the Midwest region showed a higher prevalence for toxoplasmosis (75%) and leptospirosis (33.3%) compared to the Southeast region (prevalence of 50% and 10%, respectively). Conversely, the prevalence for leishmaniasis was higher in the Southeast region (20%), in contrast to the 8.3% observed in the Midwest.

Ultimately, the observed patterns, particularly the multiple co-exposures and regional variations, confirm the complex epidemiological dynamics at the wild feline-human interface. This necessitates continuous surveillance and the implementation of robust management strategies to ensure animal welfare, conservation success, and human health protection.

## LITERATURE CITED



- AHMED, M. M. et al. Holistic approaches to zoonoses: integrating public health, policy, and One Health in a dynamic global context. **Zoonotic Diseases**, v. 5, p. 5, 2025. DOI: 10.3390/zoonoticdis5010005.
- ARAÚJO, M. de P. **Avaliação do bem-estar em felinos selvagens em cativeiro**. 2016. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2016.
- BAIS, B.; TAK, L.; MAHLA, S. Study of preventive health measures for wildlife in captivity a review of management approaches. **International Int J Avian & Wildlife Biol**, v. 2, n. 2, p. 73-75, 2017.
- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, p. 328-337, 2004.
- BRASIL. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). **Portaria MMA Nº 148, de 7 de junho de 2022**. Brasília, DF: ICMBio, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/aves-silvestres/arquivos/portaria-148-2022.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de leptospirose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 1995. 98 p.
- CALDART, E. T. et al. Zoonosis in dogs and cats attended by the Birth Control Project: *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp.* and *Leptospira spp.*, serodiagnosis and epidemiology. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 253–265, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n1p253>.
- CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Rev. Bras. Patol. Clin.**, v. 10, p. 143-169, 1974.
- CAÑÓN-FRANCO, William Alberto et al. *Toxoplasma gondii* in free-ranging wild small felids from Brazil: molecular detection and genotypic characterization. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 3–4, p. 462–469, 2013. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.07.019.
- CHOMEL, B. B. Zoonoses. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 2014. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.02426-0.
- CLAVIJO, A.; RAMÍREZ, G. F. Taxonomía, distribución y estado de conservación de los felinos suramericanos: Revisión monográfica. **Boletín Científico Museo de Historia Natural**, v. 13, n. 2, p. 43-60, 2009.

- DESMONTS, G.; REMINGTON, J. S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, p. 562-568, 1980.
- DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **Journal of Experimental Medicine**, v. 132, n. 4, p. 636–662, 1970.
- FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: Medicine Science, 1999.
- FILONI, C. **Exposição de felídeos selvagens a agentes infecciosos selecionados**. 2006. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. DOI: 10.11606/T.10.2006.tde-26012007-171939.
- FORNAZARI, F.; LANGONI, H. Principais zoonoses em mamíferos selvagens. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 1, p. 10-24, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/140902>. Acesso em: [inserir dia e mês de acesso].
- GOMES, L. G. O.; GOMES, G. O.; FODRA, J. D.; MASSABNI, A. C. Zoonoses: as doenças transmitidas por animais. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 25, n. 2, p. 158-174, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2022.v25i2.1261>.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, p. 338-349, 2004.
- GUERRA NETO, G. **Frequência de anticorpos contra Leptospira spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006. (Nota: Corrigido para "Guerra Neto", pois "Neto" é agnome e deve acompanhar o último sobrenome).
- GUSHI, L. T. **Estrutura populacional de Lutzomya longipalpis através da amplificação e sequenciamento do segmento ribossomal 12s de DNA mitocondrial**. 2008. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, [Inserir Cidade da Defesa], 2008.
- HEDIGER, H. **Wild animals in captivity**. London: Butterworths Scientific Publication, 1950. 207 p.

- LONGONI, S. S. et al. Detection of different *Leishmania spp.* and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, v. 35, n. 5, p. 469-476, 2012.
- MACKENZIE, J. S.; JEGGO, M. The One Health Approach—Why Is It So Important? **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 2, p. 88, 2019. DOI: 10.3390/tropicalmed4020088.
- MELLOR, D. J.; HUNT, S.; GUSSET, M. (ed.). **Caring for Wildlife**: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy. Gland: WAZA Executive Office, 2015. 87 p.
- MELO, L. F. et al. Histórico e perspectiva da conservação dos felinos silvestres ocorrentes no Brasil com estudos realizados entre os anos de 1945 a 2014. **Revista Presença**, v. 2, n. 4, p. 42-57, abr. 2016. Disponível em: <http://revistapresenca.celsolisboa.edu.br/index.php/numerohum/article/view/71>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- MIOTTO, Bruno Alonso et al. *Current knowledge on leptospirosis in cats: a systematic review with meta-analysis on direct detection, serological response, and clinical data*. **Research in Veterinary Science**, v. 174, p. 105292, 2024. DOI: 10.1016/j.rvsc.2024.105292.
- MONTAZERI, M. et al. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals: a global systematic review and meta-analysis. **Acta Tropica**, v. 207, 2020. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105515.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Zoonoses**. [S. l.]: OMS, [20--?]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- PIMENTEL, J. S. et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 1009-1014, 2009.
- PIRAJÁ, G. V. et al. Leishmaniose felina: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 20, n. 2, p. 203-216, jun. 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/ec18e558-df0b-4c4e-b07c-92c6269843a0/content>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira spp.* in humans. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1265-1276, 2000.

- RIBEIRO, D. P. et al. *Serological and molecular diagnosis of Toxoplasma gondii infection in animals and humans: evaluation of IFAT and other assays*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 2, p. 123–130, 2015.
- SAVANI, E. S. M. M. et al. Primeiro caso de Leishmaniose felina causada por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na américa. In: [INSERIR NOME DO EVENTO ONDE O TRABALHO FOI APRESENTADO], 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Comissão de Cultura e Extensão Universitária do ICB/USP, 2002. (Nota: Obras publicadas em eventos exigem o nome do evento).
- SILVA, C. C. et al. Soroprevalência e pesquisa de oocistos de *Toxoplasma gondii* em felídeos selvagens procedentes do estado do Pará, Brasil. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 15, n. 2, p. 150-157, abr./jun. 2016.
- SPRISSLER, F.; JONGWATTANAPISAN, P.; LUENGYOSLUECHAKUL, S.; PUSOONTHORNTUM, R.; PRAPASARAKUL, N.; KURILUNG, A.; GORIS, M.; AHMED, A.; REESE, S.; BERGMANN, M.; DORSCH, R.; KLAASEN, H.; HARTMANN, K. Leptospira infection and shedding in cats in Thailand. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 66, n. 2, p. 954-963, 2019.
- TURNER, A.; ANTÓN, M. **The Big Cats and their fossil relatives**. New York: Columbia University Press, 1997.
- UNIÃO INTERNACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DA NATUREZA (IUCN). América do Sul - Escritório Regional. **Relatório Anual 2019**. [Inserir Cidade de Publicação]: IUCN, 2019.
- VIEIRA, J. M. C. **Leishmaniose felina: por que devemos nos preocupar?**. 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Clínica Médica de Felinos Domésticos) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/210313>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- WANDERLEI, L. L. **Reprodução de felinos selvagens no Brasil (Revisão de Literatura)**. 2011. [Inserir Tipo de Trabalho Acadêmico] – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.
- WANG, H. et al. Captive breeding of wildlife resources—China’s revised supply-side approach to conservation. **Wildlife Society Bulletin**, Hoboken, v. 43, n. 3, p. 425–435, 2019. DOI: 10.1002/wsb.988.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. Geneva: WHO, [20-?]. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1). Acesso em: 31 jul. 2025.

## TABLES

Table 1. Samples discriminated by felid species and sex.

| Species                    | Male      | Female    | Total     |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>Puma concolor</i>       | 6         | 4         | 10        |
| <i>Puma yagouaroundi</i>   | 3         | 0         | 3         |
| <i>Leopardus tigrinus</i>  | 7         | 1         | 8         |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> | 2         | 0         | 2         |
| <i>Leopardus wiedii</i>    | 1         | 1         | 2         |
| <i>Leopardus pardalis</i>  | 3         | 2         | 5         |
| <i>Panthera onca</i>       | 9         | 8         | 17        |
| <i>Panthera leo</i>        | 0         | 1         | 1         |
| <i>Panthera tigris</i>     | 2         | 2         | 4         |
| <b>Total</b>               | <b>33</b> | <b>19</b> | <b>52</b> |

Table 2. Relationship between seroreactive and non-reactive samples for toxoplasmosis, leptospirosis, and leishmaniasis by felid species.

|                            | Toxoplasmose |                     | Leptospirose |                     | Leishmaniose |                     |
|----------------------------|--------------|---------------------|--------------|---------------------|--------------|---------------------|
| Sample                     | 50           |                     | 49           |                     | 49           |                     |
| Espécie                    | Reagent<br>e | Não<br>Reagent<br>e | Reagent<br>e | Não<br>Reagent<br>e | Reagent<br>e | Não<br>Reagent<br>e |
| <i>Puma concolor</i>       | 5            | 5                   | 1            | 9                   | 2            | 8                   |
| <i>Puma yagouaroundi</i>   | 1            | 2                   | 1            | 2                   | 0            | 3                   |
| <i>Leopardus tigrinus</i>  | 1            | 5                   | 0            | 7                   | 0            | 6                   |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> | 2            | 0                   | 0            | 2                   | 0            | 2                   |
| <i>Leopardus wiedii</i>    | 1            | 1                   | 0            | 1                   | 0            | 2                   |
| <i>Leopardus pardalis</i>  | 2            | 3                   | 2            | 3                   | 2            | 3                   |
| <i>Panthera onca</i>       | 14           | 3                   | 4            | 12                  | 3            | 13                  |
| <i>Panthera leo</i>        | 0            | 1                   | 0            | 1                   | 1            | 0                   |
| <i>Panthera tigris</i>     | 3            | 1                   | 0            | 4                   | 1            | 3                   |
| <b>Total</b>               | <b>29</b>    | <b>21</b>           | <b>8</b>     | <b>41</b>           | <b>9</b>     | <b>40</b>           |

Table 3. Distribution of seropositive samples by felid species and serological titer for *Toxoplasma gondii* (n = 29).

| Species                    | Titer 1:16 | Titer 1:64 | Reagent |
|----------------------------|------------|------------|---------|
| <i>Puma concolor</i>       | 4          | 1          | 5       |
| <i>Puma yagouaroundi</i>   | 1          | 0          | 1       |
| <i>Leopardus tigrinus</i>  | 1          | 0          | 1       |
| <i>Leopardus geoffroyi</i> | 2          | 0          | 2       |
| <i>Leopardus wiedii</i>    | 1          | 0          | 1       |
| <i>Leopardus pardalis</i>  | 1          | 1          | 2       |
| <i>Panthera onca</i>       | 12         | 2          | 14      |
| <i>Panthera tigris</i>     | 3          | 0          | 3       |
| <b>Total</b>               | 25         | 4          | 29      |

Table 4. Distribution of seropositive samples by felid species and serological titer for *Leishmania* spp. (n = 9).

| Espécie                   | Titulação 1:40 |
|---------------------------|----------------|
| <i>Puma concolor</i>      | 2              |
| <i>Leopardus pardalis</i> | 2              |
| <i>Panthera leo</i>       | 1              |
| <i>Panthera onca</i>      | 3              |
| <i>Panthera tigris</i>    | 1              |
| <b>Total</b>              | <b>9</b>       |

Table 5. Felid species and respective reactive serovars for leptospirosis (n = 8).

| Species                   | Serovar reagent                                          |
|---------------------------|----------------------------------------------------------|
| <i>Puma concolor</i>      | Icterohaemorrhagiae: 100                                 |
| <i>Puma yagouaroundi</i>  | Icterohaemorrhagiae: 100<br>Pomona: 200                  |
| <i>Leopardus pardalis</i> | Icterohaemorrhagiae: 100<br>Icterohaemorrhagiae: 100     |
|                           | Pomona: 200                                              |
|                           | Autumnalis: 200<br>Cynopteri: 200<br>Pomona: 1600        |
| <i>Panthera onca</i>      | Canicola: 100<br>Icterohaemorrhagiae: 100<br>Pomona: 200 |
|                           | Canicola: 100                                            |

**ARTIGO II** Trabalho a ser enviado para a revista Veterinary Clinical Patology (VCP).

## **Comparative Blood Cell Morphometry in Domestic and Wild Felids: Morphologic Variation of Eosinophils Among Species**

Eduardo Augusto Terra Rossi de Barros  
Jorge Aparecido Salomão Junior  
Paulo Fernandes Marcusso

Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ)  
São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

Jorge Aparecido Salomão Junior  
E-mail: jorge.salomao@unesp.br

### **ABSTRACT**

*Background:* Species-specific information regarding blood cell morphology in nondomestic felids remains limited, and hematologic interpretation is frequently based on reference data from domestic cats.

*Objectives:* To describe and compare blood cell morphometry and morphology among domestic and wild felid species.

*Methods:* Peripheral blood smears from *Panthera leo*, *Panthera onca*, *Puma concolor*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus tigrinus*, and *Felis catus* (n = 5/species) were evaluated using light microscopy. Morphometric measurements were obtained from erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, and eosinophils. Cell area, perimeter, minimum axis, maximum axis, and nuclear measurements were recorded.

*Results:* Morphometric variation was observed among species for all evaluated cell populations. *Panthera onca* presented the highest mean measurements for erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, and eosinophils, whereas *Felis catus* exhibited the smallest erythrocytes. *Leopardus pardalis* exhibited the largest monocytes. Eosinophils demonstrated the greatest morphologic diversity among species, particularly regarding cytoplasmic granule size, staining intensity, and intracellular distribution.

*Conclusions:* Domestic and wild felids exhibit substantial variation in blood cell morphometry and eosinophil morphology. These findings provide baseline information for species-specific hematologic interpretation and may assist veterinary clinical pathologists evaluating blood smears from nondomestic felids.

### **Keywords**

Blood Cells; Eosinophils; Felidae; Hematology; Morphometry; Wildlife.



## Introduction

The complete blood count is one of the most commonly used diagnostic tests in veterinary medicine because it provides essential information regarding erythrocytes, leukocytes, and platelets. In addition to quantitative measurements, microscopic evaluation of blood smears remains a fundamental component of hematologic assessment and contributes substantially to clinical interpretation.

Reference hematologic information is widely available for domestic animal species, particularly dogs and cats. In contrast, morphologic and morphometric descriptions of peripheral blood cells remain limited for many wild felid species. As a result, interpretation of hematologic findings in nondomestic felids often relies on information derived from domestic cats, despite potential interspecific differences in blood cell morphology.

Wild felids are important from both conservation and clinical perspectives. The growing need for veterinary care in captive populations has increased the demand for species-specific diagnostic information. Accurate characterization of blood cell morphology may improve interpretation of hematologic findings and support clinical management, conservation programs, and health monitoring of these species.

Previous studies have reported hematologic parameters for selected felid species; however, comparative evaluations of blood cell morphometry across multiple domestic and wild felids remain scarce. Furthermore, information regarding species-specific leukocyte morphology, particularly eosinophil morphology, is limited.

The objective of this study was to describe and compare morphometric and morphologic characteristics of peripheral blood cells among domestic and wild felid species, emphasizing potential interspecific differences that may influence hematologic interpretation.

## Materials and Methods

**Study Design and Blood Smear Evaluation.** A descriptive comparative morphometric and morphologic study was conducted using peripheral blood smears obtained from six felid species, including lion (*Panthera leo*), jaguar (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*), ocelot (*Leopardus pardalis*), oncilla (*Leopardus tigrinus*), and domestic cat (*Felis catus*). Five blood smear preparations from each species were evaluated.

Blood smears were stained using a rapid panoptic staining method. The staining protocol consisted of sequential immersion in a methanol-based fixative solution containing triarylmethane dyes, followed by immersion in a xanthene-containing solution and a thiazine-containing solution. Slides remained in each solution for 5 minutes, followed by rinsing with distilled water and air drying.

### Microscopy and Image Acquisition

Blood smears were examined using a BX60 microscope (Olympus Corporation, Tokyo, Japan). Digital photomicrographs were obtained using an Opticam HD imaging system (Opticam®, São Paulo, Brazil). Images were acquired from the monolayer region of each blood smear using 400× and 1000× (oil immersion objective) magnification.

### Morphometric Analysis

Morphometric measurements were performed on erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, and eosinophils. For each species, 200 erythrocytes, 50

neutrophils, 10 lymphocytes, 5 monocytes, and 5 eosinophils were evaluated, resulting in measurements from 1200 erythrocytes, 300 neutrophils, 60 lymphocytes, 30 monocytes, and 30 eosinophils overall.

For erythrocytes, the following parameters were measured:

- Cell area ( $\mu\text{m}^2$ )
- Cell perimeter ( $\mu\text{m}$ )
- Minimum axis length ( $\mu\text{m}$ )
- Maximum axis length ( $\mu\text{m}$ )

For nucleated cells (neutrophils, lymphocytes, monocytes, and eosinophils), measurements included:

- Cell area ( $\mu\text{m}^2$ )
- Cell perimeter ( $\mu\text{m}$ )
- Minimum axis length ( $\mu\text{m}$ )
- Maximum axis length ( $\mu\text{m}$ )
- Nuclear area ( $\mu\text{m}^2$ )
- Nuclear perimeter ( $\mu\text{m}$ )

#### Morphologic Evaluation

Morphologic assessment was performed concurrently with morphometric analysis. Particular attention was given to overall cellular morphology, nuclear characteristics, cytoplasmic features, and eosinophil granule morphology. Representative photomicrographs were obtained to document species-specific morphologic findings.

## Results

### Blood Cell Morphometry

Morphometric measurements of blood cells are summarized in Tables 1 and 2.

Variation in cell dimensions was observed among the evaluated felid species. Jaguar (*Panthera onca*) erythrocytes exhibited the largest mean cellular area ( $29.01 \pm 3.37 \mu\text{m}^2$ ), whereas domestic cat (*Felis catus*) erythrocytes displayed the smallest mean area ( $23.61 \pm 2.33 \mu\text{m}^2$ ). Similar patterns were observed for leukocyte populations, with *Panthera onca* presenting the largest neutrophils ( $156.70 \pm 27.02 \mu\text{m}^2$ ), lymphocytes ( $116.29 \pm 13.32 \mu\text{m}^2$ ), and eosinophils ( $183.72 \pm 25.10 \mu\text{m}^2$ ) among the evaluated species (Table 1).

Monocyte measurements differed from this pattern. The largest monocytes were observed in *Leopardus pardalis* ( $180.53 \pm 10.38 \mu\text{m}^2$ ), whereas *Panthera leo* exhibited the smallest monocyte area ( $138.08 \pm 36.48 \mu\text{m}^2$ ).

Measurements of minimum and maximum cellular axes generally paralleled findings observed for cellular area and perimeter. *Panthera onca* consistently demonstrated larger dimensions for most cell populations, whereas *Leopardus tigrinus* frequently exhibited smaller measurements, particularly among lymphocytes and eosinophils (Supplementary Table S1).

### Nuclear Morphometry

Nuclear morphometric measurements are summarized in Table 2.

Among neutrophils, *Panthera onca* exhibited the largest mean nuclear area ( $69.33 \pm 19.59 \mu\text{m}^2$ ), whereas *Panthera leo* exhibited the smallest ( $44.53 \pm 17.06 \mu\text{m}^2$ ). Similar variation

was observed among lymphocytes, with *Panthera onca* presenting the largest nuclei ( $75.59 \pm 8.38 \mu\text{m}^2$ ) and *Leopardus tigrinus* presenting the smallest ( $54.33 \pm 8.50 \mu\text{m}^2$ ).

Monocyte nuclear dimensions varied among species, with *Leopardus tigrinus* ( $103.16 \pm 20.56 \mu\text{m}^2$ ) and *Felis catus* ( $102.48 \pm 24.57 \mu\text{m}^2$ ) exhibiting the largest mean nuclear areas.

#### Morphologic Findings

Erythrocytes from all evaluated species exhibited the expected mammalian morphology, characterized by anucleate, discoid cells. Central pallor was most apparent in *Puma concolor* erythrocytes and was less evident in the remaining species (Figure 1A).

Neutrophils exhibited typical segmented nuclear morphology across all species. Nuclear segmentation varied from nonsegmented forms to cells containing multiple nuclear lobes connected by thin chromatin filaments (Figure 1B).

Lymphocytes demonstrated the characteristic morphology of small mononuclear cells with a round nucleus occupying most of the cellular area and a narrow rim of cytoplasm (Figure 1C).

Monocytes exhibited variable nuclear conformations, including kidney-shaped and irregularly folded nuclei. Representative monocyte morphology is illustrated in *Leopardus pardalis* (Figure 1D).

Eosinophils demonstrated the greatest degree of morphologic variation among species (Figures 1 and 2). *Puma concolor* eosinophils contained large, prominent cytoplasmic granules that resembled the morphology described in equine eosinophils (Figure 1F). *Leopardus pardalis* eosinophils displayed smaller barrel-shaped granules (Figure 2A), whereas *Panthera leo* eosinophils exhibited abundant densely staining granules distributed throughout the cytoplasm (Figure 2B). In *Panthera onca*, granules appeared larger and less uniformly distributed, leaving portions of peripheral cytoplasm devoid of granules (Figure 2C).

#### Discussion

The present study provides a comparative morphometric and morphologic description of peripheral blood cells from domestic and wild felid species. The principal finding was the existence of substantial interspecific variation in blood cell dimensions, affecting both cellular and nuclear morphometry. Additionally, eosinophils exhibited marked species-specific morphologic characteristics, representing the leukocyte population with the greatest observable variation among the evaluated species.

Among all species studied, *Panthera onca* consistently exhibited the largest erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, and eosinophils. This pattern was observed across multiple morphometric variables, including cell area, perimeter, and cellular axes, suggesting that the differences were not restricted to a single morphometric parameter. In contrast, *Felis catus* generally exhibited smaller erythrocytes, whereas *Leopardus tigrinus* presented the smallest lymphocytes and eosinophils. These findings support the concept that blood cell size is influenced by species-specific biological characteristics and may reflect evolutionary divergence within the family Felidae.

Variation in cell size among species has long been recognized as a biologic phenomenon associated with evolutionary history, metabolic adaptations, and cellular physiology. Cavalier-Smith proposed that cellular dimensions are influenced by

evolutionary and ecological factors that shape species-specific requirements. Although the present study was not designed to investigate the mechanisms underlying these differences, the consistent variation observed among felid species suggests that blood cell morphology may represent another manifestation of phylogenetic diversification within the group.

The erythrocyte findings are particularly relevant from a clinical pathology perspective. Hematologic interpretation in nondomestic felids frequently relies on information derived from domestic cats because detailed species-specific descriptions remain scarce. However, the present results demonstrate that erythrocyte size differs among felid species, with *Panthera onca* exhibiting substantially larger erythrocytes than *Felis catus*. These observations indicate that extrapolation of morphologic expectations from domestic cats to wild felids may not always be appropriate.

Leukocyte morphometry also varied considerably among species. Jaguar neutrophils and lymphocytes consistently exhibited larger dimensions than those observed in the remaining species, whereas *Leopardus pardalis* presented the largest monocytes. Interestingly, the species exhibiting the largest cells were not necessarily those exhibiting the largest nuclei, suggesting that cytoplasmic and nuclear compartments may vary independently among felid species. This finding highlights the importance of evaluating both cellular and nuclear measurements when describing morphologic variation.

The most distinctive morphologic findings involved eosinophils. Differences in granule size, staining intensity, granule distribution, and overall cellular appearance were readily observed among species. *Puma concolor* eosinophils exhibited large, prominent cytoplasmic granules that resembled the characteristic appearance described for equine eosinophils. In contrast, *Leopardus pardalis* eosinophils displayed smaller granules similar to those commonly reported in domestic cats. Eosinophils from *Panthera leo* and *Panthera onca* demonstrated distinct granule patterns that further emphasized species-specific morphologic variation.

From a diagnostic perspective, these findings are particularly important because eosinophils are frequently evaluated during routine blood smear examination. Recognition of normal species-specific eosinophil morphology may help prevent misinterpretation of cytoplasmic granulation patterns as evidence of cellular activation, toxic change, or staining artifacts. The results therefore reinforce the importance of considering species identity when evaluating leukocyte morphology in nondomestic felids.

Another noteworthy observation was the relative morphologic conservation of erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, and monocytes across species. Although measurable differences in size were identified, these cell populations generally maintained the expected mammalian morphologic characteristics described in veterinary hematology references. In contrast, eosinophils displayed conspicuous qualitative differences, suggesting that this leukocyte population may be particularly useful for comparative hematologic studies within the Felidae.

Several limitations should be acknowledged. First, the study included a relatively small number of individuals per species. Second, monocyte and eosinophil morphometric analyses were based on fewer measured cells than erythrocyte and neutrophil analyses.

Third, inferential statistical comparisons were not performed; therefore, the findings should be interpreted as descriptive observations rather than statistically validated differences.

Future studies incorporating larger sample sizes and formal statistical analyses will be important to further characterize interspecific variation in felid hematology.

In conclusion, domestic and wild felids exhibit substantial variation in blood cell morphometry. *Panthera onca* consistently presented the largest dimensions for most evaluated cell populations, whereas eosinophils demonstrated the greatest degree of species-specific morphologic variation. These findings provide baseline information that may assist veterinary clinical pathologists in the interpretation of blood smears from nondomestic felids and support the use of species-specific morphologic references whenever possible.

## Conclusions

The results of this study demonstrate that blood cell morphometry varies among domestic and wild felid species. *Panthera onca* consistently presented the highest mean measurements for most evaluated cell populations, whereas *Felis catus* and *Leopardus tigrinus* generally exhibited smaller cellular dimensions. Among all leukocytes evaluated, eosinophils displayed the greatest degree of species-specific morphologic variation.

These findings highlight the importance of considering species-specific characteristics during blood smear evaluation and provide baseline morphologic information that may contribute to clinical pathology, zoological medicine, and conservation programs involving nondomestic felids.

## Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Eduardo Augusto Terra Rossi de Barros for his collaboration, technical assistance, and valuable contributions throughout the development of this study. The authors also express their sincere gratitude to Prof. Paulo Fernandes Marcusso for his guidance, mentorship, and scientific support during all stages of this research. The authors acknowledge the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil, for providing the facilities and infrastructure necessary for the completion of this study.

## References

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System. 6th ed. Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan; 2021.
- Barthold SW, Griffey SM, Percy DH. Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits. 4th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2016.
- Claver JA, Quaglia AIE. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. J Exot Pet Med. 2009;18(2):87-97.
- Cros J, Cagnard N, Woollard K, et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. Immunity. 2010;33(3):375-386.

Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária. 2nd ed. São Paulo, Brazil: Roca; 2014.

Dalanhol M, et al. Quantitative effects of peripheral blood storage on automated complete blood count determinations. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009;31:29-35.

Dias F, et al. Hematologic parameters of captive wild cats from the species *Puma concolor*, *Panthera onca*, and *Panthera leo*. Res Soc Dev. 2022;11(6):e35711629288.

Failace R. Hemograma. 6th ed. Porto Alegre, Brazil: Artmed; 2015.

Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. Science. 2010;327(5966):656-661.

González FHD, Silva SC. Veterinary Clinical Pathology: Introductory Text. Porto Alegre, Brazil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology: Text and Atlas. 14th ed. Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan; 2017.

Larsson M, et al. Hematologic parameters of captive lions (*Panthera leo*) and Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). Acta Sci Vet. 2015;43(1):1-6.

Mendes SCM. Indicators of Internal Parasitism in the Hemogram of Wild Birds. Doctoral dissertation. University of Lisbon; 2018.

Piratelli AJ, Francisco MR. Biodiversity Conservation: From Concepts to Actions. Rio de Janeiro, Brazil: Technical Books Editora; 2013.

15. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. 3rd ed. Rio de Janeiro, Brazil: Roca; 2024.

## Tables and Figure Legends

### Table 1.

Mean  $\pm$  SD cell area and perimeter measurements of peripheral blood cells from domestic and wild felid species.

Abbreviations: SD, standard deviation.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD. Measurements were obtained from five individuals of each species.

| Célula      | Mensuração                  | Leão                  | Onça-pintada          | Onça-parda            | Jaguaririca           | Gato-domato           | Gato-doméstico        |
|-------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Hemácias    | área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 26,7<br>$\pm 4,35$    | 29,01<br>$\pm 3,37$   | 25,69<br>$\pm 3,11$   | 28,94<br>$\pm 4,1$    | 28,43<br>$\pm 3,39$   | 23,61<br>$\pm 2,33$   |
|             | perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 18,32<br>$\pm 1,47$   | 19,10<br>$\pm 1,11$   | 18,11<br>$\pm 2,28$   | 18,99<br>$\pm 1,41$   | 18,88<br>$\pm 1,12$   | 17,22<br>$\pm 0,84$   |
| Neutrófilos | área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 100,26<br>$\pm 14,58$ | 156,7<br>$\pm 27,02$  | 120,41<br>$\pm 13,6$  | 156,05<br>$\pm 22,39$ | 124,63<br>$\pm 14,67$ | 113,09<br>$\pm 15,92$ |
|             | perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 35,5<br>$\pm 2,66$    | 44,4<br>$\pm 3,76$    | 39,04<br>$\pm 2,23$   | 43,77<br>$\pm 5,43$   | 39,69<br>$\pm 2,34$   | 37,36<br>$\pm 3,99$   |
| Linfócitos  | área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 101,05<br>$\pm 10,64$ | 116,29<br>$\pm 13,32$ | 82,58<br>$\pm 15,74$  | 80,06<br>$\pm 18,22$  | 76,08<br>$\pm 13,43$  | 100,19<br>$\pm 23,11$ |
|             | perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 36,11<br>$\pm 2,05$   | 39,05<br>$\pm 2,35$   | 33,5<br>$\pm 3,35$    | 32,18<br>$\pm 4,58$   | 31,17<br>$\pm 2,53$   | 35,39<br>$\pm 4,05$   |
| Monócitos   | área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 138,08<br>$\pm 28,1$  | 172,77<br>$\pm 29,31$ | 146,46<br>$\pm 16,98$ | 180,53<br>$\pm 10,38$ | 168,11<br>$\pm 21,02$ | 163,68<br>$\pm 16,46$ |
|             | perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 41,75<br>$\pm 4,04$   | 46,54<br>$\pm 3,99$   | 44,74<br>$\pm 2,14$   | 47,74<br>$\pm 1,39$   | 46,04<br>$\pm 2,96$   | 45,9<br>$\pm 1,75$    |
| Eosinófilos | área ( $\mu\text{m}^2$ )    | 175,44<br>$\pm 11,79$ | 183,72<br>$\pm 25,1$  | 138,77<br>$\pm 19,38$ | 170,52<br>$\pm 40,25$ | 128,33<br>$\pm 7,42$  | 135,8<br>$\pm 9,93$   |
|             | perímetro ( $\mu\text{m}$ ) | 47,19<br>$\pm 1,49$   | 48,36<br>$\pm 2,83$   | 41,75<br>$\pm 2,95$   | 46,11<br>$\pm 5,23$   | 40,26<br>$\pm 1,23$   | 41,38<br>$\pm 1,48$   |

**Table 2.**

Mean  $\pm$  SD minimum and maximum axis measurements of peripheral blood cells from domestic and wild felid species.

Abbreviations: SD, standard deviation.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD. Axis measurements are reported in micrometers ( $\mu\text{m}$ ).

| Célula      | Mensuração                 | Leão                | Onça-pintada        | Onça-parda          | Jaguaririca         | Gato-domato         | Gato-doméstico      |
|-------------|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Hemácias    | eixo mín ( $\mu\text{m}$ ) | 5,53<br>$\pm 0,48$  | 5,81<br>$\pm 0,37$  | 5,48<br>$\pm 0,37$  | 5,83<br>$\pm 0,43$  | 5,81<br>$\pm 0,36$  | 5,29<br>$\pm 0,28$  |
|             | eixo máx ( $\mu\text{m}$ ) | 6,12<br>$\pm 0,51$  | 6,33<br>$\pm 0,39$  | 5,94<br>$\pm 0,37$  | 6,28<br>$\pm 0,46$  | 6,2<br>$\pm 0,39$   | 5,66<br>$\pm 0,3$   |
| Neutrófilos | eixo mín ( $\mu\text{m}$ ) | 10,72<br>$\pm 0,78$ | 13,23<br>$\pm 1,32$ | 11,53<br>$\pm 0,8$  | 13,18<br>$\pm 1,11$ | 11,71<br>$\pm 0,82$ | 11,98<br>$\pm 8,74$ |
|             | eixo máx ( $\mu\text{m}$ ) | 11,87<br>$\pm 1,07$ | 14,99<br>$\pm 1,32$ | 13,81<br>$\pm 4,08$ | 15,56<br>$\pm 3,91$ | 13,47<br>$\pm 0,99$ | 12,77<br>$\pm 1,02$ |
| Linfócitos  | eixo mín ( $\mu\text{m}$ ) | 10,72<br>$\pm 0,93$ | 11,55<br>$\pm 1,16$ | 9,25<br>$\pm 1,35$  | 9,53<br>$\pm 1,11$  | 9,23<br>$\pm 0,98$  | 10,6<br>$\pm 1,2$   |
|             | eixo máx ( $\mu\text{m}$ ) | 11,79<br>$\pm 0,74$ | 13,21<br>$\pm 0,94$ | 11,27<br>$\pm 1,52$ | 10,43<br>$\pm 1,3$  | 10,38<br>$\pm 0,86$ | 11,9<br>$\pm 1,47$  |
| Monócitos   | eixo mín ( $\mu\text{m}$ ) | 12,09<br>$\pm 1,56$ | 14,14<br>$\pm 1,4$  | 12,12<br>$\pm 1,87$ | 14,3<br>$\pm 0,49$  | 13,78<br>$\pm 0,79$ | 13,89<br>$\pm 1,13$ |
|             | eixo máx ( $\mu\text{m}$ ) | 14,42<br>$\pm 1,08$ | 15,47<br>$\pm 1,26$ | 15,22<br>$\pm 0,7$  | 16,05<br>$\pm 0,58$ | 15,5<br>$\pm 1,31$  | 14,87<br>$\pm 0,59$ |
| Eosinófilos | eixo mín ( $\mu\text{m}$ ) | 13,88<br>$\pm 0,95$ | 14,56<br>$\pm 1,27$ | 12,66<br>$\pm 1,03$ | 14,11<br>$\pm 1,82$ | 12,1<br>$\pm 0,43$  | 12,67<br>$\pm 0,74$ |
|             | eixo máx ( $\mu\text{m}$ ) | 16,1<br>$\pm 0,79$  | 16,06<br>$\pm 0,78$ | 13,89<br>$\pm 0,93$ | 15,23<br>$\pm 1,52$ | 13,49<br>$\pm 0,76$ | 13,75<br>$\pm 0,54$ |

**Table 3.**

Mean  $\pm$  SD nuclear area and perimeter measurements of leukocytes from domestic and wild felid species.

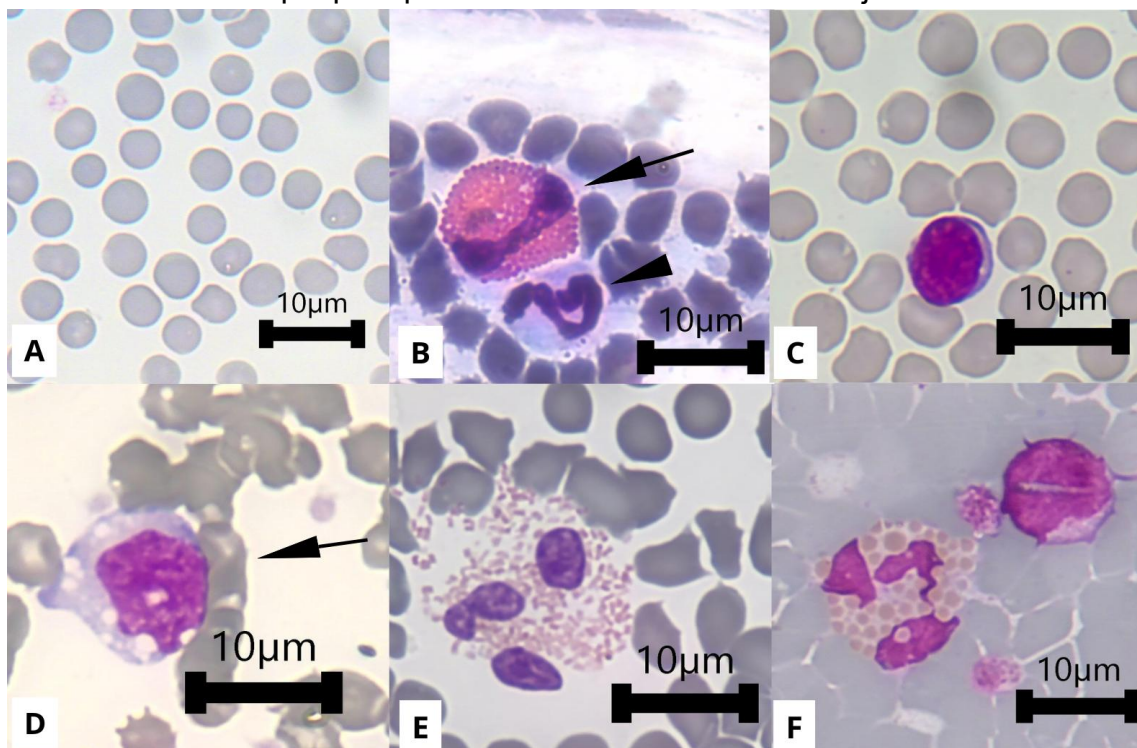
Abbreviations: SD, standard deviation.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD. Nuclear measurements are reported in square micrometers ( $\mu\text{m}^2$ ) and micrometers ( $\mu\text{m}$ ).

| Célula      | Mensuração                      | Leão                | Onça-pintada         | Onça-parda           | Jaguatirica           | Gato-domato           | Gato-doméstico        |
|-------------|---------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Neutrófilos | área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 44,53<br>$\pm 4,44$ | 69,33<br>$\pm 8,7$   | 65,23<br>$\pm 8,84$  | 60,34<br>$\pm 6,31$   | 68,71<br>$\pm 6,97$   | 50,3<br>$\pm 4,83$    |
|             | per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 47,15<br>$\pm 6,53$ | 56,58<br>$\pm 9,61$  | 60,03<br>$\pm 8,96$  | 47,55<br>$\pm 8,58$   | 57,16<br>$\pm 7,63$   | 49,57<br>$\pm 7,89$   |
|             |                                 |                     |                      |                      |                       |                       |                       |
| Linfócitos  | área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 66,43<br>$\pm 6,08$ | 75,59<br>$\pm 9,33$  | 59,64<br>$\pm 11,11$ | 56,95<br>$\pm 12,15$  | 54,33<br>$\pm 6,38$   | 62,59<br>$\pm 11,35$  |
|             | per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 29,76<br>$\pm 1,67$ | 33,09<br>$\pm 3,81$  | 28,78<br>$\pm 3,24$  | 27,38<br>$\pm 3,4$    | 27,4<br>$\pm 2,47$    | 29,23<br>$\pm 2,89$   |
|             |                                 |                     |                      |                      |                       |                       |                       |
| Monócitos   | área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 66,06<br>$\pm 9,31$ | 91,64<br>$\pm 12,72$ | 89,21<br>$\pm 10,69$ | 101,95<br>$\pm 11,13$ | 103,16<br>$\pm 15,93$ | 102,48<br>$\pm 12,66$ |
|             | per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 36,78<br>$\pm 2,24$ | 44,87<br>$\pm 4,77$  | 43,55<br>$\pm 5,91$  | 47,47<br>$\pm 5,96$   | 44,26<br>$\pm 9,02$   | 42<br>$\pm 4,2$       |
|             |                                 |                     |                      |                      |                       |                       |                       |
| Eosinófilos | área núcleo ( $\mu\text{m}^2$ ) | 59,33<br>$\pm 8,09$ | 60,18<br>$\pm 10,2$  | 56,84<br>$\pm 7,87$  | 52,91<br>$\pm 4,89$   | 56,64<br>$\pm 2,79$   | 47,94<br>$\pm 5,65$   |
|             | per. núcleo ( $\mu\text{m}$ )   | 39,87<br>$\pm 4,06$ | 49,42<br>$\pm 8,64$  | 46,32<br>$\pm 4,23$  | 39,94<br>$\pm 5,87$   | 44,56<br>$\pm 5,12$   | 45,07<br>$\pm 4,04$   |
|             |                                 |                     |                      |                      |                       |                       |                       |

**Figure1.**

Representative blood cell morphology in domestic and wild felids. (A) Erythrocyte field from *Panthera onca*. (B) Eosinophil (arrow) and neutrophil (arrowhead) from *Panthera leo*. (C) Lymphocyte from *Leopardus tigrinus*. (D) Monocyte and rouleaux formation from *Leopardus pardalis*. (E) Degranulated eosinophil from *Felis catus*. (F) Eosinophil from *Puma concolor*. Rapid panoptic stain. 100 $\times$  oil immersion objective. Scale bars = 10  $\mu\text{m}$ .





**Figure2.**

Comparative eosinophil morphology among felid species. (A) *Leopardus pardalis*. (B) *Panthera leo*. (C) *Panthera onca*. Rapid panoptic stain. 100× oil immersion objective. Scale bars = 10  $\mu$ m.

