

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INVESTIGAÇÃO DE *ANCYLOSTOMA CANINIUM* E
SPIROMETRA SPP. EM AMOSTRAS FECAIS DE
ONÇA- PINTADA (*PANTHERA ONCA*) NO
PANTANAL BRASILEIRO: UMA ABORDAGEM EM
SAÚDE ÚNICA**

PAUL RAAD CISA

Botucatu - SP

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INVESTIGAÇÃO DE *ANCYLOSTOMA CANINIUM* E
SPIROMETRA SPP. EM AMOSTRAS FECAIS DE
ONÇA- PINTADA (*PANTHERA ONCA*) NO
PANTANAL BRASILEIRO: UMA ABORDAGEM EM
SAÚDE ÚNICA**

PAUL RAAD CISA

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em Animais
Selvagens para a obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Fornazari

Coorientador: Prof. Dr. José
Gabriel Gonçalves Lins

Botucatu - SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cisa, Paul Raad.

Investigação de *Ancylostoma caninium* e *Spirometra* spp. em amostras fecais de onça-pintada (*Panthera onca*) no Pantanal brasileiro : uma abordagem em Saúde Única / Paul Raad Cisa.
- Botucatu, 2024

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

Orientador: Felipe Fornazari

Coorientador: José Gabriel Gonçalves Lins

Capes: 50502000

1. Cestoda. 2. Diagnóstico molecular. 3. Plerocercoide. 4. Esparganose. 5. Zoonoses.

Palavras-chave: Cestoda; Diagnóstico molecular; Eespaganose; *Sparganum*; Zoonose.

Impactos da pesquisa

Este estudo representa um avanço crucial na conservação das onças-pintadas do Pantanal Norte e na compreensão da saúde ambiental da região. A identificação do parasita *Spirometra* spp. em fezes de onças destaca o potencial dessa espécie como bioindicadora, permitindo o monitoramento de zoonoses emergentes de forma não invasiva. A repercussão levou à publicação de duas reportagens na Mongabay e na National Geographic España, evidenciando a relevância internacional da pesquisa e reforçando a importância da abordagem de Saúde Única. Os resultados obtidos fornecem subsídios científicos para estratégias de manejo integradas, conciliando a conservação da biodiversidade com práticas sustentáveis na pecuária. Além disso, este estudo abre novas perspectivas para o monitoramento sanitário da fauna, contribuindo para a formulação de políticas públicas voltadas à preservação do Pantanal e à mitigação de conflitos entre humanos e grandes predadores.

Nome do autor: Paul Raad Cisa

TÍTULO: Investigação de *Ancylostoma caninium* e *Spirometra* spp. em amostras fecais de onça-pintada (*Panthera onca*) no pantanal brasileiro: uma abordagem em saúde única.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Titular Dr. Felipe Fornazari

Presidente e Orientador

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ - UNESP-
Botucatu

Prof. Titular Dr. Victor Yunes Guimarães

Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Ensino Superior e Formação
Integral – FAEF

Prof. Titular Assist. Dr. Lígia Souza Lima Silveira da Mota

Departamento de Ciências Químicas e Biológicas do Instituto de Biociências - UNESP-
Botucatu

Data da defesa: 22 de novembro de 2024.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de expressar minha sincera gratidão à minha família por seu apoio constante e amor incondicional ao longo desta jornada acadêmica. Seu apoio foi fundamental para meu sucesso e por isso sou imensamente grato.

Agradeço sinceramente à Pousada Piuval e à família Eubank por me acompanharem e fornecerem um sólido suporte logístico, econômico e operacional ao longo de toda a minha pesquisa. A oportunidade de estudar as onças-pintadas que habitam na pousada foi fundamental para o sucesso do meu projeto.

Um agradecimento especial ao Dr. Felipe Fornazari, meu orientador, e à equipe do Laboratório do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva por sua orientação, apoio técnico e recursos fornecidos ao longo de minha pesquisa.

Agradeço profundamente à Dra. Ligia, Bruna Santos e Larissa Rodriguez do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas por sua ajuda no processamento de amostras, o que foi fundamental para o desenvolvimento do meu estudo.

Um agradecimento especial ao Dr. Richard de Campos Pacheco, e à equipe do Laboratório do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), pela valiosa colaboração nas análises coproparasitológicas das amostras fecais de onça-pintada.

Expresso meu mais sincero reconhecimento à Ampara Silvestre e às diretoras Juliana Camargo e Raquel Farcuri por sua confiança em mim, seu apoio financeiro e seu compromisso ético no campo da conservação.

Não posso deixar de agradecer ao Projeto Jaguar ID e à sua fundadora Abigail Martin por sua recomendação, apoio logístico e valiosa colaboração na coleta de amostras em 2022.

Um agradecimento especial ao fotógrafo Bill Masure por sua generosidade ao me fornecer fotos e apoio financeiro durante todo o curso do

meu mestrado, bem como à Panthera Cats por seu apoio técnico e por facilitar a obtenção de amostras da região da Fazenda Jofre Velho.

Também expresso minha gratidão aos proprietários da Fazenda Capão Alto e da Pousada Arara Lodge por me permitirem coletar amostras em suas propriedades, bem como aos proprietários da Pousada Aymara por sua colaboração na coleta de amostras em sua propriedade.

Por fim, gostaria de agradecer à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Programa de Pós-graduação em Animais Selvagens pelo apoio institucional e pela oportunidade de realizar este estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Cada um de vocês desempenhou um papel crucial no sucesso da minha pesquisa, e estou sinceramente agradecido pela sua generosidade, apoio e comprometimento. Sua contribuição foi fundamental para o meu crescimento acadêmico e profissional, e estarei sempre grato por sua gentil ajuda.

CISA, P.R. Investigação de *Ancylostoma caninium* e *Spirometra* spp. em amostras fecais de onça-pintada (*Panthera onca*) no pantanal brasileiro: uma abordagem em saúde única. Botucatu, 2024. 66p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens – Clínica-Cirúrgica, Saúde e Meio Ambiente) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

As onças-pintadas (*Panthera onca*) do Pantanal brasileiro enfrentam sérias ameaças devido a conflitos com a pecuária, o que ressalta a necessidade de pesquisas voltadas para sua conservação. Alguns parasitas encontrados em onças-pintadas ou em suas presas possuem potencial para infectar seres humanos, representando, assim, um risco para a saúde pública. Este estudo teve como objetivo a investigação de parasitas em onças-pintadas e avaliar seu potencial como bioindicadores de saúde ambiental, especialmente na interface entre humanos e animais, de forma não invasiva. Entre junho de 2022 e setembro de 2024, foram coletadas 138 amostras de fezes na Fazenda Piuval e propriedades vizinhas, em Poconé, Mato Grosso, que foram classificadas subjetivamente com base em critérios morfológicos previamente estabelecidos, utilizando parâmetros visuais, táteis e olfativos. Dentre essas, 108 amostras foram morfolologicamente compatíveis com felídeos de grande porte. Iniciou-se a extração de DNA, utilizando cinco protocolos diferentes. Os resultados foram satisfatórios com um kit comercial, que foi posteriormente aplicado às demais amostras. Onde se extraiu DNA de 41 amostras, das quais 31 foram destinadas à análise molecular e 10 a um estudo coproparasitológico. Uma das amostras apresentou cestódeos adultos, identificados por microscopia óptica como pertencentes ao gênero *Spirometra*, os quais também foram submetidos a sequenciamento genético com sucesso. Os resultados do diagnóstico molecular foram satisfatórios para *Spirometra*, com sucesso na amplificação do parasita; em contrapartida, a amplificação para *Ancylostoma* não teve sucesso, indicando a possibilidade de que esse parasita não esteja presente nas

fezes. Entretanto, 10 amostras analisadas no estudo coproparasitológico testaram positivo para *Spirometra*, evidenciando a presença deste parasita nas fezes. Este estudo conclui a relevância de uma abordagem de saúde única no Pantanal, evidenciando o papel das onças-pintadas como bioindicadoras de zoonoses. A proteção da espécie é fundamental para a conservação da biodiversidade e para a saúde pública, permitindo a detecção precoce de patógenos. Conflitos locais, como a caça e o manejo de fauna, reforçam a necessidade de estratégias integradas que promovam a convivência sustentável entre comunidades humanas e a vida silvestre.

Palavras-chave: Cestoda, espaganose, diagnóstico molecular, *Sparganum*, zoonose.

CISA, P.R. Investigation of *Ancylostoma caninum* and *Spirometra* spp. in Fecal Samples from Jaguars (*Panthera onca*) in the Brazilian Pantanal: A One Health Approach. Botucatu, 2024. 66 pages. Dissertation (Master's Degree in Wildlife – Clinical-Surgical, Health and Environment) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

ABSTRACT

Jaguars (*Panthera onca*) in the Brazilian Pantanal face serious threats due to conflicts with livestock farming, emphasizing the need for research aimed at their conservation. Some parasites found in jaguars or their prey have the potential to infect humans, thus posing a public health risk. This study aimed to investigate parasites in jaguars and evaluate their potential as bioindicators of environmental health, particularly at the human-animal interface, using non-invasive methods. From June 2022 to September 2024, 138 fecal samples were collected at Fazenda Piuval and neighboring properties in Poconé, Mato Grosso. Samples were subjectively classified based on previously established morphological criteria, using visual, tactile, and olfactory parameters. Among these, 108 samples were morphologically compatible with large felids. DNA extraction was initiated using five different protocols. The results were satisfactory with a commercial kit, which was subsequently applied to the remaining samples. DNA was extracted from 41 samples, 31 of which were allocated for molecular analysis and 10 for coproparasitological studies. One sample contained adult cestodes, identified under optical microscopy as belonging to the genus *Spirometra*, which were successfully submitted to genetic sequencing. The molecular diagnostic results were satisfactory for *Spirometra*, with successful amplification of the parasite; however, amplification for *Ancylostoma* was unsuccessful, suggesting the absence of this parasite in the feces. Conversely, 10 samples analyzed through coproparasitological study tested positive for *Spirometra*, confirming the presence of this parasite in the feces. This study highlights the relevance of a One Health approach in the Pantanal, emphasizing the role of jaguars as bioindicators of zoonoses. Protecting this species is essential for biodiversity

conservation and public health, enabling the early detection of pathogens. Local conflicts, such as hunting and wildlife management, underscore the need for integrated strategies that promote sustainable coexistence between human communities and wildlife.

Keywords: Cestoda, sparganosis, molecular diagnosis, *Sparganum*, zoonosis.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVOS.....	6
3 REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1 Pantanal	9
3.2 Ecologia da onça-pintada.....	10
3.3 Saúde Única e a onça-pintada.....	14
3.4 Parasitas.....	17
3.4.1 Gênero <i>Spirometra</i>	17
3.4.2 Gênero <i>Ancylostoma</i>	18
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 Área do estudo.....	22
4.2 Coleta de amostras.....	23
4.3 Diagnóstico parasitológico por microscopia óptica comum	28
4.4 Sequenciamento genético	29
4.5 Diagnóstico molecular	30
4.5.1 Extração de DNA	30
4.5.2 Diagnóstico molecular de <i>Spirometra spp.</i>	30
4.5 Diagnóstico molecular de <i>Ancylostoma caninum</i>	31
4.6 Diagnóstico coproparasitológico	33
5 RESULTADOS.....	36
6 DISCUSSÃO.....	36
7 CONCLUSÃO.....	48
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
9 ARTIGO CIENTÍFICO.....	61

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resultados das 10 amostras submetidas a diferentes testes coproparasitológicos.....	34
--	----

Lista de Figuras

Figura 1. Fazenda Piuval (polígono vermelho), Poconé, MT, Brasil.....	18
Figura 2. Coleta de amostras de fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>) diretamente do ambiente. Poconé, MT.....	19
Figura 3. Amostra de fezes ao lado de pegadas de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>). Poconé, MT.....	19
Figura 4. Fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>) apresentando cestódeos. Poconé, MT.....	21
Figura 5. Cestódeos obtidos de uma amostra de fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>). Botucatu, SP.....	22
Figura 6. Classificação morfológicas das cinco categorias de fezes	23
Figura 7. Cestódeos obtidos de amostra de fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>), submetidos ao processo de clarificação, e apresentando ovos no interior de proglotes. Botucatu, SP.....	27
Figura 8. Ovos de formato elíptico e casca afiladas, característicos do gênero <i>Spirometra</i> , no interior de cestódeos obtidos de amostras de fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>). Botucatu, SP.....	27
Figura 9. Ovos de formato elíptico e casca afiladas, característicos do gênero <i>Spirometra</i> , provenientes de fezes de onça-pintada (<i>Panthera onca</i>), submetidos a testes coproparasitológicos em 10 amostras de fezes. (UFMT), Mato Grosso.....	29
Figura 10. Cestódeos obtidos de amostra de fezes morfológicamente compatíveis com onça-pintada (<i>Panthera onca</i>), submetidos ao processo de clarificação, e apresentando ovos no interior de proglotes. Botucatu, SP.....	32

Figura 11. Ovos de formato elíptico e casca afiladas, característicos do gênero *Spirometra*, no interior de cestódeos obtidos de amostras de fezes morfológicamente compatíveis com onça-pintada (*Panthera onca*). Botucatu, SP.....

33

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A onça-pintada (*Pantera onca*), classificada como o maior felino do Novo Mundo e o terceiro maior do planeta, se destaca por suas características físicas (BOGONI et al., 2023; LUKE HUNTER, 2015). Apresenta uma mordida adaptada para quebrar o crânio de suas presas, como das capivaras (SEYMOUR, 1989). Seu corpo musculoso, patas largas, cauda curta e cabeça grande conferem uma aparência robusta. A pelagem destes animais apresenta uma coloração amarelada de fundo e possui desenhos em forma de rosetas em diversos tamanhos (OLIVERIA; CASSARO, 1997).

As onças-pintadas estão presentes em apenas cerca de 47% do Pantanal, abrangendo quase a metade da área total, sendo um indicador significativo da importância das onças-pintadas nesse bioma, uma vez que é considerado predador topo de cadeia alimentar, essencial para o equilíbrio do ecossistema por preda diversas espécies (TERBORGH, 1990; MORATO et al., 2013). É considerada uma espécie indicadora da qualidade ambiental, sendo sensível a quaisquer alterações em seu habitat (LEITE, 2000).

Em diferentes regiões do Brasil, seu tamanho varia consideravelmente. Na Mesoamérica as fêmeas podem pesar entre 36 a 51kg e os machos de 48 a 66kg, enquanto no Pantanal brasileiro as fêmeas possuem uma faixa de peso de 51 a 100kg e os machos 68 a 158kg (LUKE HUNTER, 2015). Estes felídeos são carnívoros crípticos, solitários e territoriais requerendo vastas áreas para viver e uma população estável de presas para garantir sua sobrevivência a longo prazo (SANDERSON et al., 2002). Desde o início do século passado estima-se que a área de ocorrência da onça-pintada reduziu em 50% (SANDERSON et al., 2002). No Brasil, ocorre em diferentes biomas tendo maiores concentrações de indivíduos na Amazônia e no Pantanal. Enquanto, em outros biomas, ocorre um intenso declínio de suas populações estando extinta nos Pampas (INDRUSIAK; EIZIRIK 2003; MORATO et al., 2013)

O Pantanal, conhecido como o maior bioma alagável do mundo, desempenha um papel crucial na preservação de diversas espécies

ameaçadas, incluindo onças-pintadas. No entanto, ainda enfrenta ameaças significativas devido ao desmatamento, expansão agrícola, caça ilegal e poluição da água (ALHO et al., 2019; ALHO; LACHER; GONÇALVES, 1988). As principais ameaças a espécie, inclui as perseguições humana tais como conflitos com pecuaristas e o abate retaliativo e a diminuição de suas presas naturais (HOOGESTEIJN; HOOGESTEIJN; MONDOLFI, 1993).

A crescente presença de animais domésticos, devido à fragmentação de habitats, tem levado a um aumento nos encontros acidentais entre a fauna silvestre e os animais domésticos. Felinos domésticos atuam como reservatórios de diversos parasitas que podem afetar a saúde dos animais silvestres, incluindo a onça-pintada. Esse contato próximo entre as espécies pode vulnerabilizar a saúde das onças-pintadas e de outras espécies silvestres (RENDÓN-FRANCO et al., 2013).

Alguns parasitas presentes nas onças-pintadas ou em suas presas podem infectar os seres humanos, logo poderiam representar um problema para a saúde pública (COELHO et al., 2011). Portanto, utilizar a onça-pintada como um indicador de doenças em um ecossistema pode ser uma forma de prevenir doenças zoonóticas que poderiam afetar a saúde humana.

É evidente que a onça-pintada enfrenta uma série de ameaças que a tornam altamente vulnerável à extinção. A preservação desses felídeos e de seu habitat é crucial para sua sobrevivência e para a conservação da biodiversidade. Estudos adicionais sobre doenças zoonóticas em populações de onças-pintadas são essenciais não apenas para salvaguardar a saúde destes felídeos, mas também para compreender e mitigar os riscos de transmissão para outras espécies animais e até mesmo para o homem.

A escolha de analisar o parasita *Spirometra sp.* para este trabalho, se deu, devido à sua relevância zoonótica e ao fato de nunca ter sido investigado no Pantanal, uma região com grande diversidade de fauna e rica em ecossistemas. Esse parasita é conhecido por afetar hospedeiros diversos, incluindo mamíferos silvestres, e pode ser transmitido para seres humanos, representando um risco significativo à saúde pública. A ausência de estudos

sobre *Spirometra sp.* na região do Pantanal deixa uma lacuna importante no conhecimento sobre doenças zoonóticas locais, o que torna essa pesquisa essencial para entender o impacto desse parasita na fauna regional e os potenciais riscos para as comunidades humanas que interagem com o ambiente. Além disso, a compreensão das dinâmicas de transmissão de parasitas como o *Spirometra sp.* é crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo e proteção, tanto para a fauna quanto para as pessoas que vivem nas áreas afetadas (HU et al., 2023; ZHANG et al., 2023).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar o diagnóstico dos parasitas pertencentes aos gêneros *Spirometra* e *Ancylostoma* em amostras fecais de onças-pintadas de vida livre no Pantanal brasileiro, em uma área de interface humano-fauna.

2.2 Objetivos específicos

Identificar, por meio de análises moleculares, a presença de *Spirometra* e *Ancylostoma* em amostras fecais de onças-pintadas.

Analisar coproparasitologicamente a presença de *Spirometra* e *Ancylostoma* em amostras fecais de onças-pintadas.

REVISÃO DE LITERATURA

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Pantanal*

Localizado na região central da América do Sul, o Pantanal é uma das maiores áreas contínuas de terras alagadas do planeta, situado dentro da bacia hidrográfica do alto Paraguai, que se estende por aproximadamente 496.000 km². No Brasil, essa vasta planície está distribuída pelos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, abrangendo uma área de cerca de 168.000 km², enquanto o restante se encontra na Bolívia e no Paraguai (CARVALHO, 1986).

Esse ecossistema diversificado consiste em um mosaico de paisagens e habitats distintos, fortemente influenciados pelos rios das sub-bacias que compõem o rio Paraguai. Cada sub-bacia possui características únicas, com regimes hídricos variados, solos distintos e formações geológicas variadas, (BOGGIANI; COIMBRA; HACHIRO, 1996) o que, somado aos ciclos sazonais de cheia e seca, cria um ambiente favorável à biodiversidade, promovendo a coexistência de diversas espécies de flora e fauna (ALHO, 2008; HARRIS et al., 2005).

A alternância entre períodos de cheia e seca molda esse ecossistema de forma dinâmica, adaptando a fauna local às variações no nível das águas. Esse ciclo sazonal afeta diretamente o comportamento e a distribuição espacial das espécies ao longo do ano, condicionando a ocupação de habitats e a interação entre diferentes grupos animais e vegetais (TOMAS et al., 2019).

A conservação do Pantanal é essencial para a manutenção desses processos ecológicos e para proteger espécies-chave, como a onça-pintada (*Panthera onca*), que desempenha um papel importante na estabilidade desse bioma. Predadores de topo de cadeia alimentar como a onça-pintada regulam populações de outras espécies, o que ajuda a manter o equilíbrio do ecossistema, tornando o Pantanal um ambiente resiliente e biologicamente diverso (ALHO, 2011).

3.2 Ecologia da onça-pintada

A distribuição da onça-pintada abrange uma vasta extensão geográfica, desde o norte do México até o norte da Argentina. Esses felídeos demonstram preferência por habitats florestados e arborizados, com maior densidade populacional observada em áreas subtropicais, tropicais e regiões de savanas com florestas inundáveis, como é o caso do Pantanal Brasileiro (LUKE HUNTER, 2015).

As onças-pintadas são animais solitários e territoriais, necessitando de grandes áreas com territórios ainda maiores para os machos (LUKE HUNTER, 2015). Estudos com colares de telemetria e GPS estimam que a área média de vida para onças-pintadas é de aproximadamente 83,45 km² (SOISALO; CAVALCANTI, 2006). Outras investigações reportam valores ainda mais elevados, com áreas de vida no Pantanal alcançando até 142 km². Essas variações são influenciadas por uma série de fatores, incluindo as sazonalidade (CRAWSHAW; QUIGLEY, 1991). Durante os períodos de enchente, as onças procuram áreas secas com maior disponibilidade de presas, ocasionando uma redução de 20 a 30% em sua área de vida. Por outro lado, na estação seca, as presas se dispersam, forçando as onças a explorarem novos territórios (CRAWSHAW; QUIGLEY, 1991). A atividade humana, como a perda de habitat e a fragmentação florestal, também pode contribuir para o aumento da área de vida desses animais (BOGONI et al., 2023).

A densidade populacional de onças-pintadas no Pantanal é superior quando comparado a outros biomas, com uma média de 6,7 indivíduos/100 km². Isso implicaria em uma população total de 5.320–7.000 onças para toda a área do bioma (140.000 km²) (SOISALO; CAVALCANTI, 2006). Em contraste com outros biomas, que apresentam densidades notavelmente menores, como o bioma semiárido da Caatinga, no Parque Nacional Serra da Capivara, onde varia de 1,06 a 2,67 indivíduos/100 km² (SILVEIRA et al., 2010).

Para atender às suas necessidades metabólicas diárias, as onças se alimentam de uma gama de presas de grande porte, terrestres,

semiaquáticas e aquáticas (BOGONI et al., 2023). Apresentam uma dieta versátil, abrangendo uma variedade de 86 espécies registradas (LUKE HUNTER, 2015). Potenciais presas da onça-pintada incluem queixadas (*Tayassu pecari*), catetos (*Tayassu tajacu*), capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (CRAWSHAW; QUIGLEY, 2002), jacarés (*Caiman crocodilus yacare*), cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), tatus (*Euphractus sexcinctus* e *Dasypus novemcinctus*), veados (*Mazama americana* e *M. gouazoubira*), porcos monteiros (*Sus scrofa*) (CAVALCANTI; GESE, 2010). É menos frequente a predação de outras espécies como o tamanduá-bandeira (*Tamandua tetradactyla*) e anta (*Tapirus terrestris*) (CRAWSHAW; QUIGLEY, 2002). Jacarés, queixadas e o gado demonstraram serem algumas das presas frequentes deste felino (CAVALCANTI; GESE, 2010). Há uma correlação significativa entre a presença de capivaras, queixadas e catetos e a presença de onças, visto que tais espécies representam uma parcela substancial de sua alimentação (LUKE HUNTER, 2015).

As onças-pintadas são altamente vulneráveis à presença humana, à perda de habitat e à fragmentação, tornando-se propensas à extinção (BOGONI et al., 2023). Atualmente é listada como "Quase Ameaçada" pela Lista Vermelha da UICN (International Union for Conservation of Nature) e como "Vulnerável" pelo Ministério do Meio Ambiente do Brasil, destacando a necessidade de conservação (PAULA; DESBIEZ; CAVALCANTI, 2013).

No Brasil, em particular, a conservação dessa espécie é fundamental, considerando que o país abriga a maior distribuição da onça-pintada na América, com presença em cinco dos seis biomas nacionais, com exceção do Pampa (ASTETE; SOLLMANN; SILVEIRA, 2008). A Amazônia e o Pantanal destacam-se como os biomas com maior presença de onças-pintadas, enquanto a Caatinga, o Cerrado e a Mata Atlântica apresentam registros menos frequentes, devido à fragmentação do habitat e à retaliação por conflitos com animais domésticos (MORATO et al., 2013). Juntamente com a onça-parda (*Puma concolor*), a onça-pintada é um dos maiores felídeos das Américas e, ambas as espécies, enfrentam ameaças em várias regiões do Brasil (BOGONI et al., 2023; CRAWSHAW; QUIGLEY, 2002).

As onças evitam regiões com alta pressão antropogênica, sendo as fêmeas especialmente sensíveis à presença de atividades humanas, exceto no Pantanal, onde a vasta criação de gado coexiste com uma ampla diversidade de presas disponíveis (LUKE HUNTER, 2015). No entanto, a presença de gado não beneficia a onça-pintada. Pelo contrário, é uma das principais razões pelas quais a espécie é perseguida, seja por caça retaliativa ou esportiva. Além disso, a pressão decorrente da expansão da fronteira agrícola também contribui significativamente para a degradação do habitat natural da espécie (CRAWSHAW; QUIGLEY, 2002; MORATO et al., 2013). Conforme observado por Azevedo (2008) isso pode estar relacionado à escassez de presas de grande porte disponíveis e à falta de espaço, levando-as a predação o gado de forma oportunista. A escassez de presas naturais reflete-se diretamente na taxa de mortalidade do gado causada pelas onças-pintadas, assim como na taxa de mortalidade das onças (CRAWSHAW, 2004; HOOGESTEIJN; HOOGESTEIJN; MONDOLFI, 1993).

A predação de animais de produção por onças-pintadas frequentemente resulta de um manejo inadequado do gado, especialmente durante a estação chuvosa e no período de parto. Os bovinos, confinados em áreas reduzidas e com poucos recursos alimentares, tornam-se presas vulneráveis para os predadores, resultando em perdas significativas de bezerros (QUIGLEY; CRAWSHAW, 1992). Em um estudo conduzido por Crawshaw e Quigley (2002), constatou-se que metade das presas da onça-pintada eram vacas, enquanto quase um terço eram bezerros. A taxa de predação de bezerros é mais elevada durante a estação seca em comparação com a estação úmida, como apontado por Cavalcanti e Gese (2010). Este fenômeno é atribuído a fatores humanos e ao comportamento oportunista dos felídeos, os quais demonstram preferência por presas de médio a grande porte (ASTETE; SOLLMANN; SILVEIRA, 2008).

A adaptação que as onças-pintadas desenvolveram em caçar animais domésticos é um fenômeno preocupante, conforme observado por Crawshaw (2004). O conflito entre seres humanos e grandes predadores,

especialmente no que se refere à predação de gado, está sendo cada vez mais estudado e considerado nas políticas públicas (MARCHINI; CRAWSHAW, 2015). Considerando esses desafios, existem várias estratégias que podem ser adotadas para mitigar e prevenir o conflito entre humanos e grandes predadores. Isso inclui a aplicação de medidas de manejo adequado do gado, a proibição da caça de presas naturais das onças-pintadas, e a preservação das áreas florestadas, onde esses felídeos geralmente habitam (CRAWSHAW; QUIGLEY, 2002).

Os predadores desempenham um papel fundamental na ecologia, exercendo controle sobre a população de outros vertebrados e, por conseguinte, contribuindo para a manutenção da saúde dos ecossistemas (BOGONI et al., 2023; ESTES et al., 2011). Estas espécies, como a onça-pintada, têm altas demandas e requerem vastas áreas de habitat com uma base de presas estáveis para garantir sua sobrevivência (SANDERSON et al., 2002).

Em virtude da sua posição trófica e das suas exigências ecológicas, as estratégias de conservação voltadas para esta espécie garantem a conservação de seu ecossistema e consequentemente de outras espécies que compartilham o mesmo habitat. Logo onças-pintadas são consideradas espécie guarda-chuva, cuja conservação tem implicações significativas para a preservação da biodiversidade (BOGONI et al., 2023; DANIEL THORNTON et al., 2016).

Do ponto de vista político e social, a onça-pintada é considerada uma espécie bandeira (SOISALO; CAVALCANTI, 2006). A presença dessa espécie no Pantanal tem sido um importante atrativo para o estímulo econômico através do turismo, com pessoas indo ao local para observar e fotografar esses animais, o que aumenta o apelo pela proteção desta espécie (TORTATO et al., 2017). Devido ao seu importante papel dentro do seu ecossistema, foram criadas reservas conservacionistas nas diferentes regiões em que esta espécie ocorre, além disso permitiu a arrecadação também de fundos e recursos por organizações conservacionistas (TIM CARO, 2010).

3.3 Saúde Única e a onça-pintada

O conceito de Saúde Única integra as áreas de saúde humana, animal e ambiental, explorando como esses domínios se inter-relacionam e se influenciam mutuamente. Tal perspectiva é particularmente importante na medicina veterinária, que desempenha um papel essencial na identificação e controle de doenças zoonóticas, as quais podem ser transmitidas entre animais e humanos (GIBBS, 2014). Ao aprofundar a compreensão dos agentes patogênicos que se movem entre diferentes espécies e ambientes, os profissionais protegem a saúde animal enquanto também ajudam a evitar epidemias que poderiam afetar populações humanas, especialmente em regiões de alta biodiversidade e intensa interação humano-animal, como o Pantanal (JONES et al., 2008).

No contexto da Saúde Única, a medicina veterinária também assume um papel de liderança na vigilância de doenças emergentes na fauna silvestre, aplicando estratégias preventivas que levam em conta o ecossistema em sua totalidade. Em locais como o Pantanal, onde pessoas, animais domésticos e vida silvestre compartilham o ambiente, os veterinários são fundamentais para a detecção de ameaças zoonóticas, incluindo a propagação de parasitas e vírus resultantes da degradação ambiental e da expansão urbana (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000; KOCK, 2005).

Os predadores do topo da cadeia alimentar estão diretamente interligados com a Saúde Única. A ausência desses predadores poderia resultar em um aumento descontrolado das populações de presas, gerando um desequilíbrio no ecossistema, podendo até causar maior contato com humanos facilitando a transmissão de doenças zoonóticas (ESTES et al., 2011). Esses predadores realizam controle sobre as populações de vertebrados (BOGONI et al., 2023), mas os impactos de sua ausência muitas vezes só são percebidos tarde demais para intervenções (ESTES et al., 2011).

Algumas presas, como as capivaras (*H. hydrochaeris*), que exibem alta plasticidade as alterações ambientais, podem aumentar suas populações devido à ausência de predadores (FERRAZ et al., 2003; MARCHINI;

CRAWSHAW, 2015). Estas têm gerado grande repercussão na cidade de São Paulo, especialmente devido à sua relação direta com a reemergência da febre maculosa, juntamente com o aumento da população da espécie (MOREIRA; FERRAZ; HERRERA, 2012). Outras presas das onças, como a queixada (*Tayassu queixada*) e o cateto (*Tayassu tajacu*), podem atuar como potenciais hospedeiros de diversas agentes infecciosos, incluindo *Salmonella* spp., *Streptococcus suis*, *Brucella abortus* e Circovirus suíno tipo 2, que também podem ser transmitidas para outras espécies domésticas (REAL et al., 2010).

A carência de grandes predadores pode favorecer também o surgimento de novas espécies invasoras no ecossistema (ESTES et al., 2011). Uma das mais importantes em termos de saúde pública é o porco-monteiro (*Sus scrofa*), uma espécie de porco feral invasora no Pantanal que é reservatório de patógenos zoonóticos como leptospirose, toxoplasmose, brucelose e febre aftosa (PEDROSA et al., 2021). Estudos demonstraram que as onças-pintadas se alimentam sistematicamente de porcos-monteiro, podendo representar cerca de 4% da sua dieta (CAVALCANTI; GESE, 2010). Morcegos-vampiros, importantes reservatórios de doenças zoonóticas como a raiva, alimentam-se com frequência de porcos-monteiro, favorecendo o aumento de suas populações, representando riscos a saúde selvagem, de animais de produção e humana (GALETTI et al., 2016). Os porcos-monteiro têm impactos ecológicos, pois além de serem reservatórios de doenças infecciosas, competem com espécies nativas por recursos e degradam a paisagem devido aos seus hábitos alimentares (JEAN DESBIEZ et al., 2011). Portanto, a presença de predadores de topo de cadeia alimentar pode ter efeitos benéficos sobre os organismos autótrofos, como as plantas, uma vez que regulam as populações de herbívoros, resultando em benefícios para a flora (ESTES et al., 2011).

Apesar de a perda de habitat ser a principal ameaça, a transmissão de doenças infecciosas entre carnívoros domésticos e selvagens está ocorrendo com maior frequência (MURRAY et al., 1999). Estudos prévios demonstraram que a exposição de onças-pintadas a carnívoros domésticos

apresenta riscos a transmissão de doenças como dirofilariose felina e toxoplasmose (LUKE HUNTER, 2015).

Carnívoros como a onça-pintada podem servir como marcadores de saúde ambiental, indicando patógenos presentes em outros grupos de vertebrados, uma vez que sua dieta é muito diversificada e infecções podem ocorrer a partir de suas presas (CLEAVELAND et al., 2006). Diversos patógenos já foi identificado em onças-pintadas, como o vírus da imunodeficiência felina (FIV), coronavírus felino (FCoV), herpesvírus felino (FHV-1), parvovírus felino (FVF), vírus da cinomose canina, *Leptospira spp.*, *Bartonella henselae*, *Bacillus anthracis*, *Brucella spp.* (FURTADO; FILONI, 2008), fungos como *Trichophyton spp.* (SEYMOUR, 1989) e *Pythium insidiosum* (FURTADO; FILONI, 2008) e protozoários como *Hammondia pardalis*, *Isospora spp.*, *Trypanosoma evansi* e *Toxoplasma gondii* (SEYMOUR, 1989).

Diversos endoparasitas foi documentado em onças, como vermes pulmonares do gênero *Paragonimus sp.*, tênias como *Diphylobothrium spp.*, *Echinococcus oligarthrus*, *Spirometra spp.*, *Spirometra mansanoides*, *Taenia macrocystis*, e nematoides como *Toxascaris sp.*, *Toxocara cati* (SEYMOUR, 1989) e *Dirofilaria immitis* (FURTADO; FILONI, 2008). Outros registros incluem acantocéfalos como *Oncicola onicola*; ancilostomídeos como *Ancylostoma tubaeforme* e *A. pleuridentatum*, *Strongylida spp.*, *A. brasiliensis*, *Aelurostrongylus spp.*, *Physaloptera anomala* e *Capillaria spp.* Quanto aos parasitas externos, há registros de *Cochliomyia hominivorax* e *Dermatobia hominis* (SEYMOUR, 1989). Para prevenir futuras diminuições populacionais, é crucial investigar as doenças relevantes e as condições ecológicas associadas à sua propagação e gravidade.

3.4 Parasitas

3.4.1 Gênero *Spirometra*

A *Spirometra spp.* (Cestoda: *Diphylobothriidea*) é um parasita de ciclo

de vida complexo, intimamente associado a cadeias alimentares aquáticas e múltiplos hospedeiros intermediários, incluindo copépodes, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos, como seres humanos (DWIGHT D. BOWMAN, 2010). Esse parasita está amplamente distribuído em regiões como Ásia, Austrália, África, América Central e do Sul, o que sugere a existência de espécies ainda não completamente descritas (MUELLER, 1974).

As espécies do gênero *Spirometra* apresentam alta variabilidade genética e morfológica, dificultando sua classificação taxonômica. Análises moleculares, como o sequenciamento do gene mitocondrial *cox1*, identificaram quatro clados principais, evidenciando diversidade genética significativa (HU et al., 2023; ZHANG et al., 2023). Dentre as espécies mais comuns, destacam-se *Spirometra mansoni*, *Spirometra mansonoides* e *Spirometra erinacei*, que possuem características morfológicas específicas, como o padrão uterino e escólex com duas fendas para fixação no hospedeiro (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

O ciclo de vida do parasita envolve fases larvais e hospedeiros variados. O coracídio, uma larva natatória, é ingerido por copépodes do gênero *Cyclops*, que servem como primeiro hospedeiro intermediário, onde evolui para procercoide em 10 a 14 dias a 23 °C (DWIGHT D. BOWMAN, 2010). Nos hospedeiros intermediários secundários, como anfíbios ou répteis, o procercoide se transforma em plerocercóide (ou espargano). Hospedeiros definitivos, como felídeos e canídeos, adquirem a infecção ao ingerir esses intermediários ou paratênicos (MUELLER, 1974). Após 10 dias, o parasita começa a liberar ovos nas fezes do hospedeiro definitivo (DWIGHT D. BOWMAN, 2010).

A *Spirometra spp.* pode causar esparganose, uma zoonose grave que acomete humanos em diferentes formas, como ocular, cerebral e visceral (KUCHTA et al., 2021). As larvas plerocercóides podem migrar pelos tecidos, causando inflamação, edema e lesões nodulares. A condição, em casos graves, pode evoluir para esparganose proliferativa, potencialmente fatal se não tratada (TAYLOR; COOP; WALL, 2016). A transmissão ocorre por

ingestão de água contaminada com copépodes infectados, consumo de carne crua de hospedeiros intermediários, como javalis, ou contato de feridas com tecidos infectados (WAESCHENBACH et al., 2017; KUCHTA, 2015).

A investigação da *Spirometra spp.* em paisagens agrícolas e semi-aquáticas é essencial para compreender o ciclo do parasita e implementar medidas preventivas. Além disso, a onça-pintada (*P. onca*) pode atuar como bioindicadora da presença desse parasita em ecossistemas, contribuindo para estratégias de manejo sustentável em áreas com interação entre humanos e fauna (URIBE et al., 2021).

3.4.2 Gênero *Ancylostoma*

São nematóides pertencentes à família Ancylostomatidae e à ordem Strongylida que infectam seus hospedeiros por via oral ou por via percutânea e completam seu ciclo de vida no intestino delgado dos hospedeiros (FORTES, 2004). Além disso, os ancilóstomos em leões-marinhos, focas e cães são capazes de infectar neonatos através de transmissão transmamária (DWIGHT D. BOWMAN, 2010).

Este parasita possui um aparelho bucal com três pares de dentes localizados na margem ventral do orifício oral. Sua coloração pode variar entre branco-acinzentada e avermelhada, com os machos medindo entre 9 e 13 mm de comprimento, enquanto as fêmeas podem variar de 14 a 20 mm (URQUHART et al., 1998; FORTES, 2004).

Alguns parasitas do gênero *Ancylostoma* são conhecidos por usar felídeos como hospedeiros e são os causadores da larva migrans cutânea, uma condição que também pode afetar os seres humanos, sendo considerada uma zoonose (COELHO et al., 2011). Em humanos os casos de infecção percutânea das larvas podem causar complicações dermatológicas (ARAÚJO et al., 1999). A espécie *A. braziliense* é comum em carnívoros domésticos e selvagens na maioria das regiões tropicais, com registros de casos em humanos no Brasil (ROBERT; JANOVY JR, 2000).

A transmissão cruzada de patógenos entre animais domésticos,

como gatos, e felídeos silvestres representa um risco significativo para estes últimos, podendo ser fatal e colocar em perigo a integridade da espécie (RENDÓN- FRANCO et al., 2013). Um estudo realizado por Seymour (1989), relata-se a presença do gênero *Ancylostoma* em onças-pintadas, com registros de várias espécies, incluindo *Ancylostoma tubaeformae*, *A. pleuridentatum* e provavelmente *A. brasiliensis*. Outros estudos, baseados na coleta de fezes e na identificação de ovos de onças pintadas, também demonstraram a presença da família Ancylostomatidae como um dos grupos mais detectados, evidenciando a grande incidência desse parasita na espécie (SRBEK-ARAUJO et al., 2014).

Outros nematodes identificados em onças e pequenos felídeos no Panamá incluem *Ancylostoma tubaeforme*, que compartilha semelhanças morfológicas com *A. caninum* e afeta o trato intestinal superior. Possivelmente a transmissão deste parasito ocorreu devido a atividade de predação de aves doméstica por estas onças, possibilitando o contato com fezes de felinos doméstico. *Ancylostoma pluridentatum* também foi registrado, distinguindo-se pela presença de apenas dois pares de dentes ventrais (VERNON E. THATCHER, 1971). Essas descobertas destacam a diversidade de parasitas que afetam essas espécies de felídeos na região.

A presença de gatos ferais como reservatórios do *Ancylostoma* representa um desafio significativo para os felídeos silvestres, incluindo espécies como gato-do-mato (*L. pardalis*), onça-parda (*Puma concolor*), *P. onca*, gato- mourisco (*Puma yagouaroundi*) e gato-maracajá (*Leopardus wiedii*). A fragmentação de habitats leva à aproximação da fauna silvestre aos animais domésticos, aumentando o risco de transmissão de patógenos. Portanto, medidas profiláticas em animais de estimação são essenciais para proteger a vida selvagem (RENDÓN-FRANCO et al., 2013).

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área do Estudo

A área de estudo tem início na Pousada Piuval, situada no Pantanal Norte mato-grossense, abrangendo uma extensão de 70.000 a 80.000 km², dentro do município de Poconé. Além disso, foram incluídas diversas propriedades adjacentes e contíguas à Pousada Piuval, formando uma área de 237 km² (Figura 1). Essa área é composta pelas pousadas Piuval, Aymara Lodge, fazenda Capão Alto, Arara Lodge e fazenda Jofre Velho. A Pousada Piuval está localizada no km 10 da Rodovia Transpantaneira, a uma distância de 110 km da cidade de Cuiabá e 10 km da cidade de Poconé. Trata-se de uma fazenda tradicional do Pantanal, com uma área de 7.200 hectares, dedicada à criação de gado de corte e atividades turísticas. As propriedades Arara Lodge (km 29) e Capão Alto (km 23) também se dedicam à pecuária, enquanto a primeira também oferece turismo. Por outro lado, Aymara Lodge (km 25) é dedicada exclusivamente ao turismo. Todas as propriedades estão contiguamente conectadas, com apenas cercas como divisão, exceto a área de estudo final na fazenda Jofre Velho, localizada na região de Porto Jofre, no km 148 da Transpantaneira, com uma área de 10.000 hectares às margens do rio Cuiabá, dedicada ao turismo e à pecuária.

A Fazenda Ipiranga, conhecida como Pousada Piuval, é a principal área de estudo, localizada próxima à civilização. Com mais de 150 anos de história, a fazenda passou por várias gerações e se destaca como uma das maiores propriedades de gado de corte da região de Poconé, com um rebanho de 2.200 cabeças. Além disso, é uma das principais pousadas de Mato Grosso para o avistamento de fauna, sendo um modelo de referência para a comunidade agropecuária local. A região se caracteriza por sua diversidade de paisagens, que incluem áreas de cerrado, regiões alagadas do Pantanal e zonas intermediárias. O Rio Bento Gomes, que atravessa a fazenda, é considerado um hotspot de biodiversidade, abrigando uma rica fauna e flora. O clima da região é tropical, com uma temperatura média anual de 25,8 °C,

com máximas de 34,1 °C e mínimas de 16,6 °C. A precipitação anual média é de 1.384,3 mm, com uma estação seca de maio a setembro e uma chuvosa no restante do ano.

Nas últimas três décadas, a região tornou-se um destino muito procurado para a observação de vida selvagem no Mato Grosso, com frequentes avistamentos de espécies emblemáticas, como onças-pintadas, onças-pardas, tamanduás-bandeira, antas, araras-azuis e tatus-canastras.

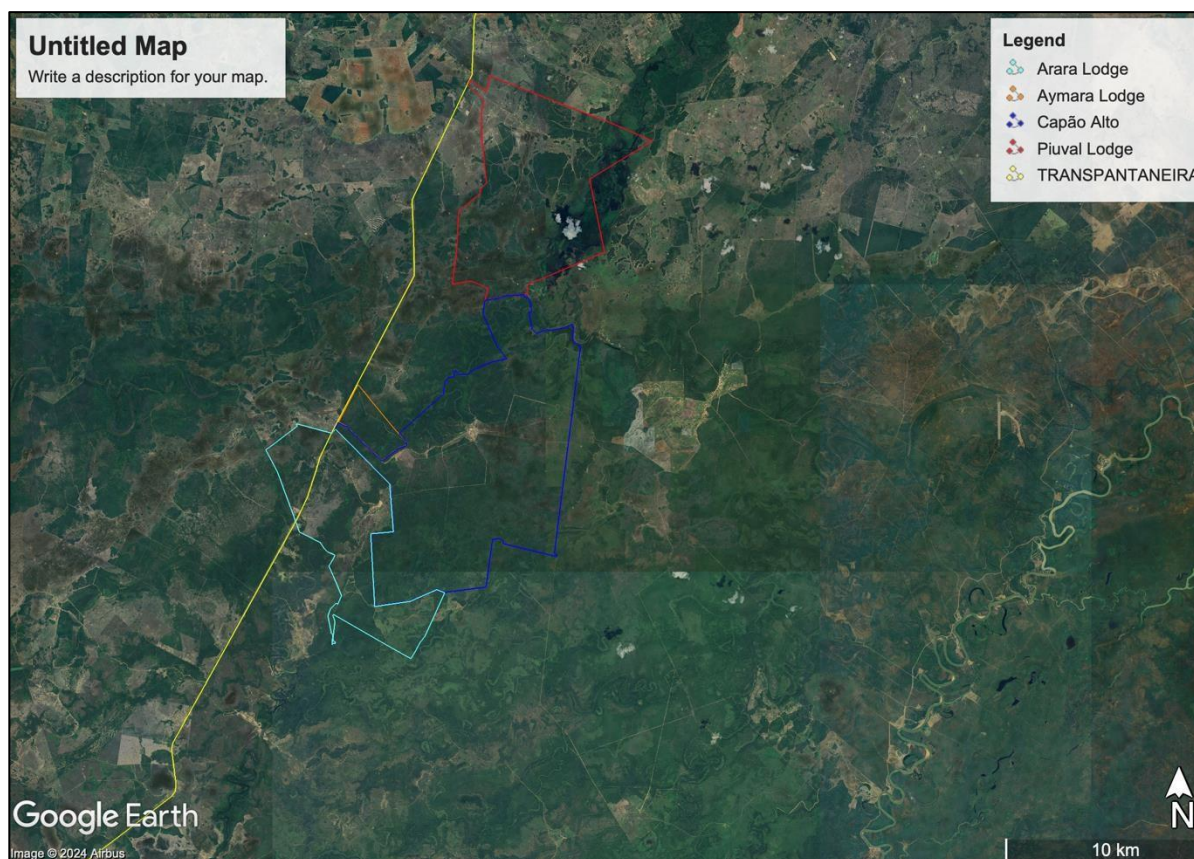


FIGURA 1. Área de estudo de 237 km², Poconé, MT, Brasil.

4.2 Coleta de amostras

Foram coletadas 108 amostras de fezes diretamente do ambiente, de forma aleatória, entre junho de 2022 e setembro de 2024 (Figuras 2 e 3). A identificação das amostras compatíveis com onças-pintadas (*Panthera onca*) foi realizada com base em características morfológicas, incluindo pegadas,

tamanho das fezes, a presença de pelos, e ossos de presas, além de aspectos como aparência, odor e sinais indicativos da presença do predador nas proximidades (CHAME, 2003). Cada amostra foi documentada com fotografias e georreferenciada utilizando o aplicativo Gaia Maps (Figuras 4 e 5), registrando a data, horário, descrição da aparência, consistência e odor das fezes.



FIGURA 2. Coleta de amostras de fezes de onça-pintada (*Panthera onca*) diretamente do ambiente. Poconé, MT.

FIGURA 3. Amostra de fezes ao lado de pegadas de onça-pintada (*Panthera onca*). Poconé, MT.

As amostras coletadas foram classificadas subjetivamente com base em critérios morfológicos previamente estabelecidos pela experiência da equipe, utilizando parâmetros visuais, táteis e olfativos para determinar o grau de frescor e o tempo de exposição ao ambiente. As amostras foram categorizadas em cinco níveis distintos (Figura 6), e classificadas por um único avaliador. Essa classificação foi essencial para correta identificação das amostras e para definição das abordagens laboratoriais mais adequadas,

conforme estado de conservação das fezes. Esse método de categorização pode ser suscetível a variações subjetivas, devido às condições ambientais secas e quentes do Pantanal, o que dificultou a classificação precisa. Assim, para evitar a perda de informações, optou-se pela coleta de todas as amostras, independentemente de seu estado de conservação. Para minimizar a contaminação, as porções centrais das fezes, menos expostas ao solo, foram cuidadosamente coletadas com luvas descartáveis de látex. Após a coleta, alíquotas das amostras foram acondicionadas em sacos plásticos tipo ziplock, devidamente identificar a -4°C até o momento do envio ao Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho (UNESP), em Botucatu, São Paulo.

No laboratório, realizou-se uma triagem para selecionar as amostras fecais de melhor qualidade, resultando em um total de 41 amostras. Estas foram submetidas à extração de DNA para posterior diagnóstico molecular de *Spirometra* spp. e *A. caninum*. Durante esta etapa, uma das amostras apresentou grande quantidade de parasitas, sendo deles selecionado para análises microscópicas visando sua identificação taxonômica.

Adicionalmente, foram retiradas alíquotas de 10 das 108 amostras para a realização de exames coproparasitológicos. Estas alíquotas foram preservadas em formaldeído a 10% e encaminhadas para o Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), onde foram realizadas as análises.

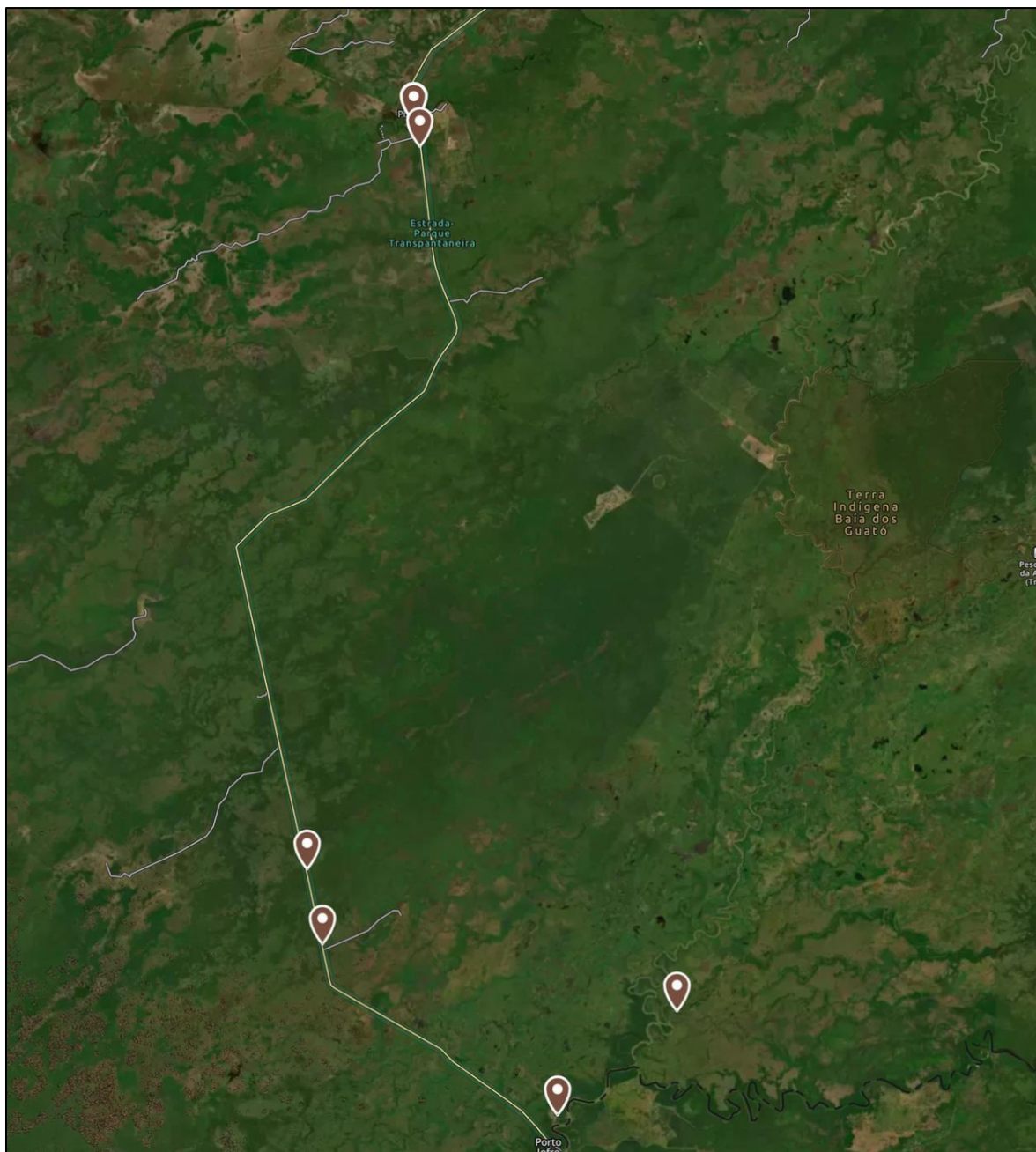


FIGURA 4. Pontos das diferentes regiões onde as amostras foram coletadas, incluindo a região da Pousada Piuval e propriedades adjacentes.



FIGURA 5. Pontos onde foram coletadas a maioria das amostras fecais na região da Pousada Piuval, Poconé, MT, Brasil.



FIGURA 6: Descrição das cinco categorias de fezes coletadas estabelecidas pela experiência da equipe técnica.

As amostras de fezes utilizadas neste estudo foram coletadas sob autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), número de licença 85444-1, e seguiram todos os procedimentos éticos aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), conforme o protocolo número 0466/2023.

4.3 Diagnóstico parasitológico por microscopia óptica comum

A microscopia foi realizada no Laboratório de Enfermidades

Parasitárias, FMVZ, Unesp Botucatu, onde uma das amostras apresentou parasitas no momento da coleta, cujas características morfológicas eram compatíveis com cestódeos adultos (Figuras 7 e 8). Esta amostra foi selecionada para uma análise parasitológica auxiliar que permitisse a sua identificação taxonômica. Inicialmente as partes do parasita foram individualizados e aquele que apresentou melhor integridade foi selecionado e submetido a um processo de fixação e coloração. Foi realizada a hidratação do parasita por imersão em solução fisiológica (0,9%) por 24h, uma vez que o mesmo se encontrava muito ressecado. Em seguida, o parasita foi prensado entre duas lâminas e imerso em uma solução de formol a 10% e posteriormente submetido à coloração com carmim clorídrico de Mayer por 5 minutos. Foi realizada a lavagem com etanol 80% por 15 min e em seguida os parasitas foram desidratados em diferentes concentrações de etanol: 96% por 15 min e 100% duas vezes por 15 min. Foi realizado o processo de clarificação em uma série graduada de eugenol e o parasita foi visualizado em microscopia óptica comum.

4.4 Sequenciamento genético

O sequenciamento genético foi realizado no Instituto de Biotecnologia, Unesp Botucatu, onde dois parasitas da amostra descrita anteriormente foram macerados (na forma de pool) e submetidos à extração de DNA com o kit Tissue and cells genomicPrep Mini Spin Kit (Cytiva). Em seguida, a amostra foi submetida à PCR para *Spirometra* spp., utilizando a metodologia descrita anteriormente. Diante do sucesso na amplificação do DNA desta amostra (ver no tópico “Resultados”), a mesma foi posteriormente utilizada como controle positivo nas análises de PCR descritas no tópico 4.3.2. Os produtos obtidos foram purificados com o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) e submetidos ao sequenciamento genético Sanger no Instituto de Biotecnologia, Unesp-Botucatu. O DNA obtido foi sequenciado nos dois sentidos, utilizando os mesmos primers descritos no tópico 4.3.2 e o kit Big Dye® Terminator Cycle Sequencing. As reações foram realizadas em

termociclador e os produtos obtidos foram analisados no equipamento 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). A qualidade dos eletroferogramas foi avaliada no programa MEGA 11.0.10 e a sequência de nucleotídeos foi submetida ao banco de dados da National Center for Biotechnology Information (NCBI) para comparar com outras sequências descritas na literatura.

4.5 Diagnóstico Molecular

4.5.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Genética Animal do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Instituto de Biociências, Unesp Botucatu, onde duas amostras de fezes (uma classificada na categoria 1 e a outra na 2) foram inicialmente selecionadas para comparar quatro protocolos de extração de DNA: Quick-DNATM Fecal/Soil Microbe MiniPrep Kit (ZYMO RESEARCH), DNeasy® Blood and Tissue Kit (QIAGEN), UltraCleanTM Fecal DNA Kit (MO BIO), MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (ThermoFisher) e extração por fenol/clorofórmio. A qualidade da extração foi avaliada por espectrofotometria, utilizando o equipamento Nanodrop 1000 (versão 3.8.1). O kit MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit foi selecionado para a extração de DNA das 41 amostras restantes, uma vez que apresentou melhores resultados na absorbância 260/280 e maiores concentrações de DNA. Os protocolos de extração seguiram as recomendações do fabricante.

4.5.2 Diagnóstico molecular de *Spirometra* spp.

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) foi utilizada para o diagnóstico molecular de *Spirometra* spp., sendo realizado no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses, FMVZ, Unesp Botucatu, onde 31 das 41 amostras submetidas à extração de DNA incluídas no processo. Foram empregados os primers descritos por Almeida et al. (2016): pr-a 5'-

TGGTTTTTTGTGCATCCTGAGGTTTA-3' e pr-b 5' AGAAAGAACGTAATGAAAATGAGCAAC-3', os quais amplificam um fragmento de 372 pares de bases (pb). As reações ocorreram em microtubos de 0,2 mL livres de DNase/RNase, nos quais foram adicionados 1 µL da amostra, 12,5 µL do reagente GoTaq® Green Master Mix (Promega), 7,5 µL de água ultrapura e 1 µL de cada primer (10 pM), totalizando 25 µL por reação. Os microtubos foram inseridos em um termociclador (Mastercycler® Eppendorf) para a amplificação das moléculas de DNA sob as seguintes condições: 94°C por 5 min; 40 ciclos de 94°C por 45 s, 45°C por 2 min e 72°C por 3 min; e 72°C por 7 min. Os produtos da PCR foram visualizados por eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,5%, contendo o intercalante de DNA Nancy-520. As imagens foram documentadas em um transiluminador de LED (KASVI). Como controle positivo foi utilizado um parasita obtido de uma das amostras estudadas e cujas características morfológicas eram compatíveis com *Spirometra* spp. (maiores detalhes das análises desse parasita, incluído sua confirmação taxonômica, são descritos no tópico 4.4). Água ultrapura foi utilizada como controle negativo.

4.5.3 Diagnóstico molecular de *Ancylostoma caninum*

O diagnóstico molecular de *A. caninum* também foi realizado pela PCR, no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses, FMVZ, Unesp Botucatu, utilizando os mesmos métodos e equipamentos do diagnóstico de *Spirometra* spp., exceto o par de primers, as condições de amplificação e o controle positivo. Foram empregados os primers descritos por Traub et al. (2004) e aprimorados por Palmer et al. (2007): RTGHFI 5'-CGTGCTAGTCTTCAGGACTTTG-3' e RTABCR1 5'-CGGGAATTGCTATAAGCAAGTGC-3', os quais amplificam um fragmento de 545 pb. A amplificação do DNA ocorreu sob as seguintes condições: 94°C por 2 min; 64°C por 1 min; 72°C por 2 min; 50 ciclos de 94°C por 30 s, 64°C por 30 s e 72°C por 30 s; e 72°C por 7 min. Como controle positivo foi utilizada uma alíquota de 200 µl do exame coproparasitológico de um exemplar de onça da

região de Botucatu (SP), cujo resultado indicou ovos de *Ancylostoma*. Antes da PCR, este controle foi previamente submetido à extração de DNA utilizando o kit Blood genomicPrep Mini Spin Kit (Cytiva).



FIGURA 7. Fezes de onça-pintada (*Panthera onca*) apresentando cestódeos. Poconé, MT.

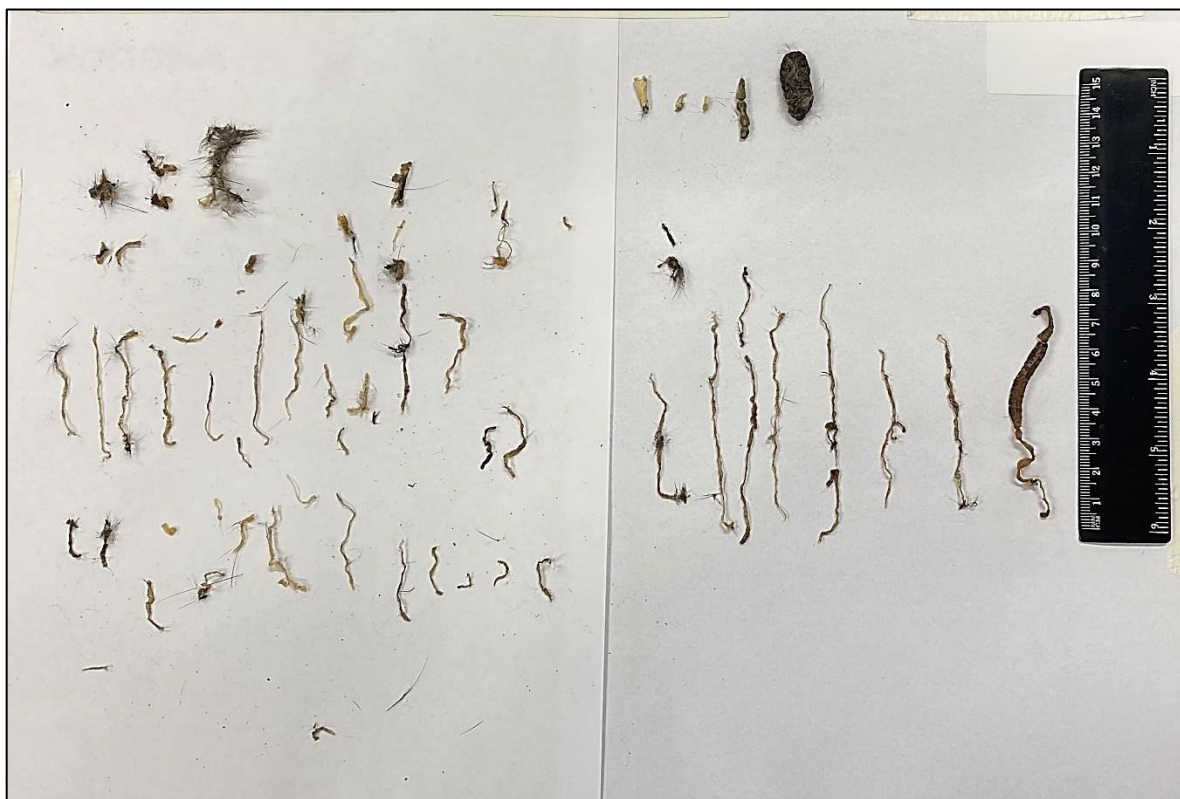


FIGURA 8. Partes de cestódeos obtidas de uma amostra de fezes de onça-pintada (*Panthera onca*). Botucatu, SP

4.6 Diagnóstico coproparasitológico.

Foram selecionadas 10 amostras de fezes, coletadas entre junho e setembro de 2024, pertencentes ao total de 108 amostras selecionadas. Essas amostras, que pertencem às categorias 1 e 2, foram escolhidas devido à sua frescura e à maior probabilidade de conter ovos de parasitas. Essas amostras foram enviadas ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) para a realização do diagnóstico coproparasitológico. Foram armazenadas em tubos Falcon, nas quais foram diluídas em formalina a 10%, utilizando a proporção de 1 parte de fezes para 9 partes de formalina (1:10), com o objetivo de preservar as amostras até o momento da análise. Posteriormente, foram submetidas a diferentes testes coproparasitológicos.

A Técnica de Centrífugo-flutuação (Faust) foi realizada diluindo 1ml de material fecal em 10ml de água destilada, a suspensão foi homogeneizada e filtrada, e após é centrifugada a 1700 rpm por 1 minutos. O sobrenadante foi descartado após processo de lavagem com água destilada, até o sobrenadante ficar claro. Em seguida adicionou-se a solução de sulfato de zinco ao sedimento e centrifugou-se novamente a 1700 rpm por 1 minuto, após repouso de 5 minutos, o material foi coletado com alça de platina, adicionado lugol e examinado por microscopia com objetiva de para identificação dos ovos. A Técnica de Flutuação (Willis) foi conduzida diluindo 2 gramas de fezes em 20 mL de solução saturada de sal (NaCL), a suspensão foi homogeneizada e filtrada, sendo o filtro transferido para um tubo de ensaio até formar menisco, e o processo de flutuação foi aguardado por 10-15 minutos. Em seguida, a lâmina foi retirada cuidadosamente, adicionada uma gota de lugol e coberta com a lamínula. A amostra foi examinada ao microscópio com objetiva de 40x para identificar ovos de nematoides e cistos e oocistos de protozoários. Já, a Técnica de Sedimentação (Hoffman), foi realizada diluindo de 2-4 gramas de fezes e adicionando água em um recipiente de vidro, a suspensão foi homogeneizada com bastão de vidro e filtrada para um cálice de sedimentação cônico. O volume do cálice foi completado com água e homogeneizado novamente. Após um período de 2-3 horas o conteúdo sedimentado foi coletado com pipeta de Pasteur. Em seguida, duas gotas do líquido foram transferidas para uma lâmina de microscópio, a avaliado para identificação de ovos e outros elementos parasitários (Figura 9).

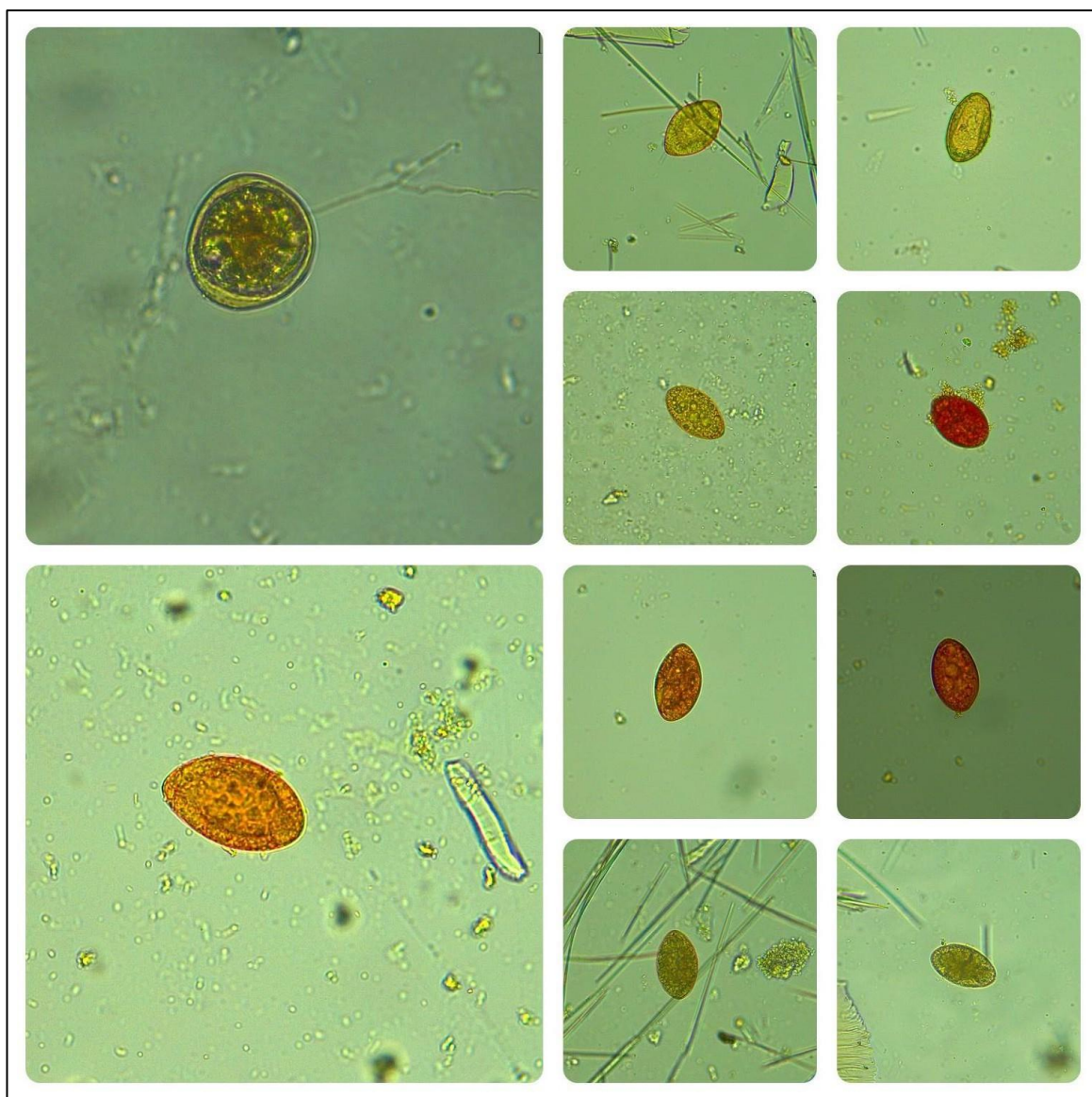


FIGURA 9. Ovos de formato elíptico e casca afiladas, característicos do gênero *Spirometra*, provenientes de fezes de onça-pintada (*Panthera onca*), submetidos a testes coproparasitológicos em 10 amostras de fezes. (UFMT), Mato Grosso.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

A extração obteve sucesso em 41 amostras, utilizando o kit MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit, o qual apresentou melhores resultados na absorbância 260/280 nm e maiores concentrações de DNA, das quais somente 31 foram submetidas à PCR. Destas, todas apresentaram resultado negativo para *A. caninum*, enquanto que 24 amostras foram positivas para *Spirometra spp.*. Destaca-se que, dentre as 31 amostras, pelo menos três amostras fecais correspondiam a indivíduos diferentes: três fêmeas de regiões distintas, todas positivas para *Spirometra spp.*. A sequenciamento genético dos parasitas indicou elevada similaridade (96,32%) com duas sequências de *Sparganum proliferum* (NC_071928.1 e AB015753.1), o qual é descrito como o estágio larval de muitas espécies de *Spirometra*.

O exame parasitológico, realizado por microscopia óptica, revelou a presença de ovos no interior de proglotes, com morfologia ovóide e bordas afiadas, características do gênero *Spirometra*, observadas em uma das fezes compatíveis com a morfologia de grandes felídeos (CHAME, 2003).

Por fim, foram selecionadas 10 amostras frescas, ainda não submetidas à análise molecular, nas categorias 1 e 2, coletadas entre junho e setembro de 2024. Essas amostras foram obtidas em locais próximos a carcaças de presas onde as onças foram observadas se alimentando e diretamente após a defecação de um espécime. Dentre estas 10 amostras submetidas a testes coproparasitológicos, uma correspondia a uma fêmea e, outras duas, a um macho, filho dessa mesma fêmea. As amostras foram submetidas a diversos testes coproparasitológicos, incluindo centrifugação-flutuação (método de Faust), flutuação (método de Willis) e sedimentação (método de Hoffman). Todos os testes apresentaram resultados positivos para *Spirometra spp.*, revelando uma contaminação de 100% entre os diferentes indivíduos analisados (Tabela 1). Além disso, todos os testes coproparasitológicos apresentaram resultados negativos para *Ancylostoma caninum*.

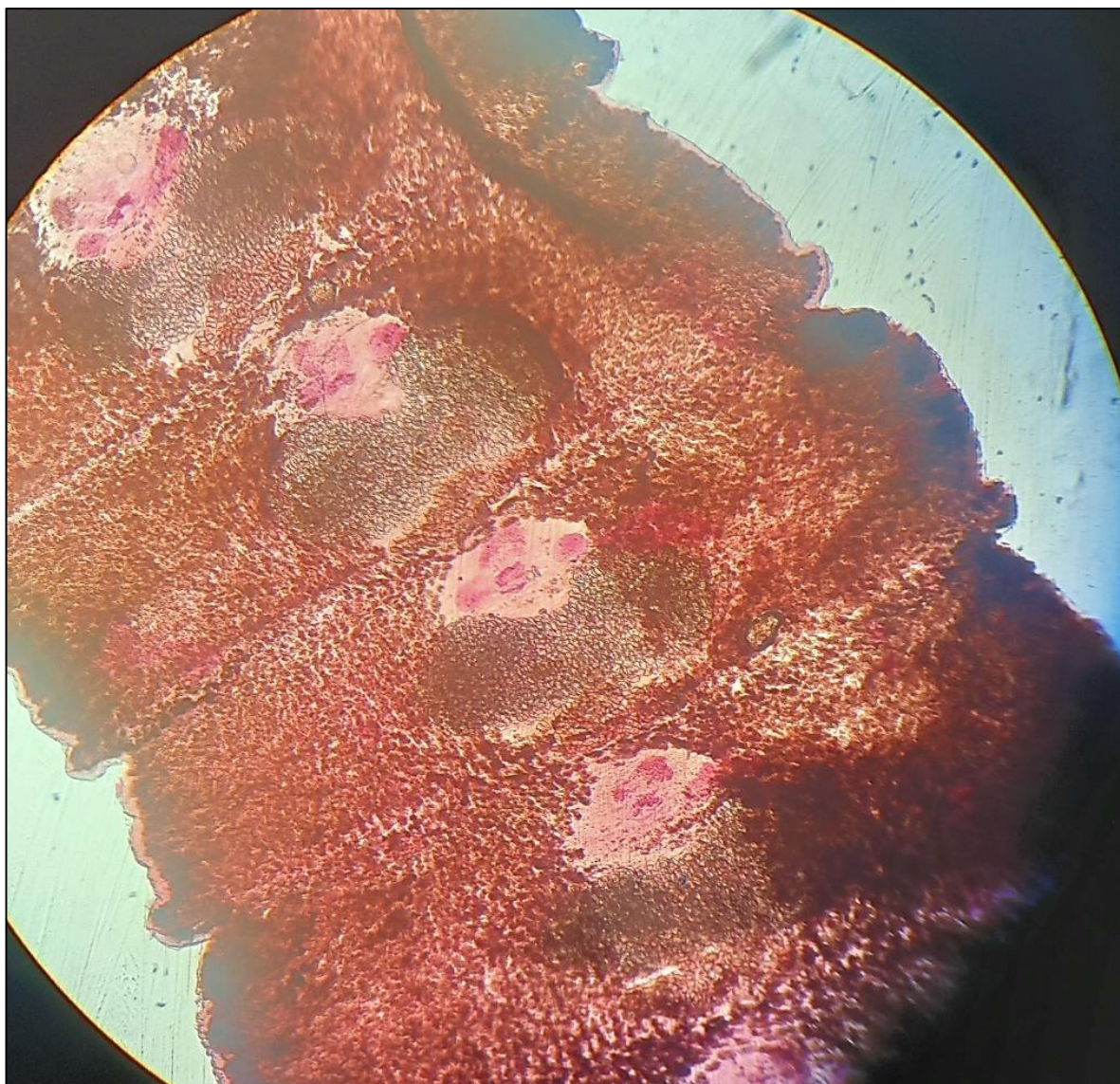


FIGURA 10. Cestódeos obtidos de amostra de fezes morfologicamente compatíveis com onça-pintada (*Panthera onca*), submetidos ao processo de clarificação, e apresentando ovos no interior de proglotes. Botucatu, SP.

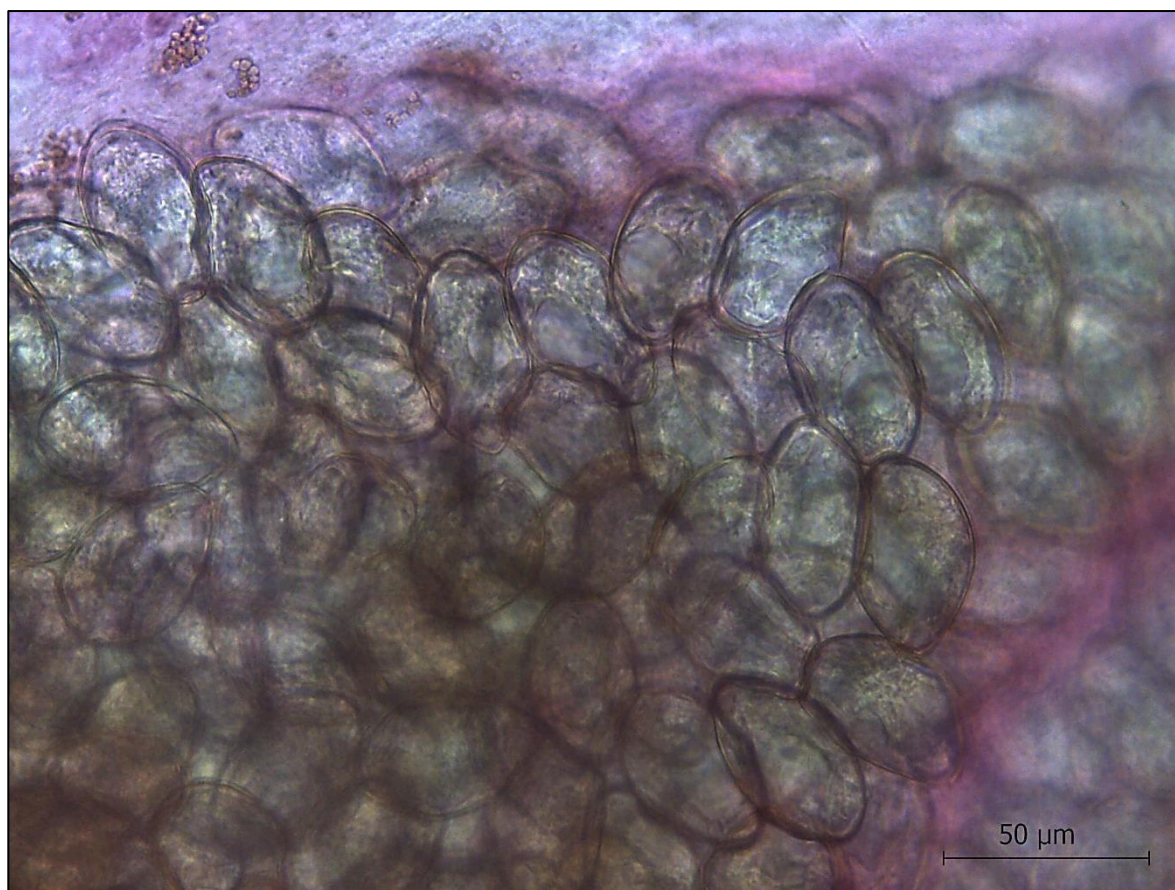


FIGURA 11. Ovos de formato elíptico e casca afilada, característicos do gênero *Spirometra*, no interior de cestódeos obtidos de amostras de fezes morfologicamente compatíveis com onça-pintada (*Panthera onca*). Botucatu, SP.

TABELA 1. Resultados das 10 amostras submetidas a diferentes testes coproparasitológicos.

Amostra	Centrifugo-flutuação (Faust)	Flutuação (Willis)	Sedimentação (Hoffman)
114	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.
117	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.
122	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.
123	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.	Ovos de <i>Spirometra</i> spp.

126	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Amostra insuficiente	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>
129	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>
130	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Amostra insuficiente	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>
131	Negativo	Amostra insuficiente	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>
133	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Negativo
135	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>	Ovos de <i>Spirometra spp.</i>

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A situação atual do Pantanal revela um ecossistema caracterizado por intensa interação entre a fauna nativa da região e as pessoas (LUKE HUNTER, 2015). Essa dinâmica se relaciona diretamente com nossa pesquisa, que explora a interação entre a fauna e os seres humanos, incluindo seus animais domésticos, em função da proximidade com a cidade de Poconé e das atividades antropogênicas, como a pecuária e o turismo.

Nesse contexto, os parasitas selecionados para análise, *Spirometra spp.* e *Ancylostoma spp.*, foram estudados utilizando 108 amostras de fezes coletadas de forma não invasiva. Essa abordagem representa uma contribuição significativa para a saúde da fauna local, especialmente porque esses parasitas não haviam sido previamente registrados no Pantanal. A identificação das características zoonóticas desses organismos ressalta a importância de investigar suas dinâmicas na região (COELHO et al., 2011).

A ocorrência de parasitas zoonóticos em áreas de interface homem-animal reforça a necessidade de vigilância contínua, especialmente em biomas ricos em biodiversidade como o Pantanal. Estudos similares realizados na Amazônia demonstraram que áreas impactadas por atividades humanas apresentam maior prevalência de zoonoses, devido à sobreposição de habitats e à presença de animais domésticos como vetores secundários (DESPOMMIER et al., 2020).

Ademais, a descoberta de *Spirometra spp.* é crucial, pois a onça-pintada se torna um indicador biológico de uma doença zoonótica que pode ser letal para humanos em certos casos. Os humanos podem se infectar ao beber água contaminada, especialmente em uma região onde a pesca é comum e onde copepódios podem apresentar procercoídeos, a forma infectante para os humanos (WAESCHENBACH et al., 2017).

Além disso, a ingestão de procercoídeos por meio da carne de caça de hospedeiros paratênicos, como porcos ferais (*Sus scrofa*), representa um risco adicional (BENGTON; ROGERS, 2001). Nesse sentido, no Pantanal, existe uma cultura que remonta a mais de 120 anos, onde o porco monteiro, um

animal exótico introduzido pelos colonizadores, gera grandes prejuízos ecológicos e sanitários, tornando-se reservatório de doenças de importância econômica e humana. Assim, é considerado um dos principais alvos de caça pela população e cultura pantaneira (PEDROSA et al., 2021). Além disso, esse animal também faz parte das presas escolhidas pelas onças (CAVALCANTI; GESE, 2010).

Estudos realizados em outros biomas apontam para a relevância ecológica de predadores de topo, como as onças, na regulação de espécies exóticas invasoras. Por exemplo, Ripple et al. (2014) destacam que a ausência de predadores em ecossistemas leva ao crescimento descontrolado de populações de espécies como *Sus scrofa*, amplificando os impactos negativos sobre a fauna nativa. No Pantanal, o papel das onças como predadores também pode reduzir indiretamente o risco de transmissão de doenças zoonóticas associadas a espécies invasoras, como os porcos monteiros.

Portanto, a presença de animais domésticos e a interação humana em uma interface humano-animal complexa favorecem a transmissão horizontal de diversos patógenos zoonóticos presentes na fauna ou nos seres humanos e seus animais (REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012). Assim, a função dos predadores, como a onça, é crucial para controlar as populações de espécies exóticas e mitigar as perturbações nos ecossistemas causadas por fatores antrópicos (ESTES et al., 2011).

Apesar dos desafios enfrentados na extração de DNA de qualidade das amostras, obtivemos resultados significativos, conseguindo extrair material genético de 41 amostras, mesmo com as dificuldades associadas ao trabalho com amostras contaminadas e com baixa quantidade de DNA. Foi possível amplificar o DNA de *Spirometra* de 24 amostras submetidas a PCR, das quais 3 foram coletadas diretamente de onças observadas em defecação. Em contrapartida, a amplificação para *Ancylostoma* não foi bem-sucedida.

Os desafios na amplificação de DNA em estudos com amostras não invasivas têm sido amplamente documentados. De acordo com Goldberg et al. (2015), fatores como degradação do DNA no ambiente, contaminação e baixa

concentração do material genético podem comprometer a obtenção de resultados confiáveis. No entanto, avanços recentes na otimização de protocolos de extração e amplificação têm mostrado maior eficiência na recuperação de DNA, mesmo em condições adversas.

O exame parasitológico, realizado por microscopia óptica, revelou a presença de ovos no interior de proglotes, com morfologia ovóide e bordas

afiadas, características do gênero *Spirometra*, observadas em uma das fezes compatíveis com a morfologia de grandes felídeos (CHAME, 2003). Essa descoberta nos permitiu ter o parasita em sua forma adulta para realizar um sequenciamento genético.

Além disso, foram selecionadas 10 amostras frescas que ainda não foram submetidas à análise molecular, dentro das categorias 1 e 2, coletadas entre junho e setembro de 2024. Essas amostras foram obtidas em locais próximos a carcaças de presas onde as onças foram observadas se alimentando e diretamente após a defecação de uma onça. As amostras foram submetidas a diversos testes coproparasitológicos, incluindo centrifugação-flutuação (método de Faust), flutuação (método de Willis) e sedimentação (método de Hoffman). Todos os testes apresentaram resultados positivos para *Spirometra*, revelando uma contaminação de 100% entre os diferentes indivíduos analisados.

Esses resultados são de suma importância, pois tratam-se do primeiro caso de *Spirometra* em onças no Pantanal, um bioma onde a atividade de pesca e a caça de porcos são parte da cultura local. Embora ainda não tenhamos conseguido amplificar o DNA de onça pintada nas fezes, confirmamos a presença do parasita nas análises moleculares e coproparasitológicas com total certeza, dado que observamos os felídeos defecando diante de nós, o que não descarta a possibilidade de um futuro sucesso na amplificação.

Por outro lado, *Spirometra spp.* foi registrado anteriormente em outros biomas; Moraes et al. (2024) registraram o parasita em carcaças de

onças no cerrado mato-grossense, enquanto Arrabal et al (2020). identificaram a espécie em animais atropelados na Mata Atlântica de Misiones, Argentina. A presença de *Spirometra* em diferentes biomas da América Latina destaca a ampla distribuição e a adaptabilidade do parasita. Isso reforça a hipótese de que fatores antrópicos, como desmatamento e caça, facilitam a disseminação do ciclo parasitário (CASTRO et al., 2018).

Uribe et al. (2021) confirmaram a presença do parasita em onças por meio de análises coprológicas realizadas em material fecal. Além disso, a infecção por *Spirometra* ocorre em três fases principais, e apenas os hospedeiros definitivos, eliminam os ovos do parasita nas fezes, garantindo a continuação do ciclo de vida. Isso indica que o ciclo foi completado no hospedeiro definitivo, excluindo a possibilidade de que os ovos provenham de hospedeiros intermediários, como presas, onde o parasita não chega ao estágio de produção de ovos (CDC, 2019).

Em contrapartida, nossos achados em termos científicos foram muito importantes, pois envolvem três diferentes técnicas aplicadas que obtiveram resultados satisfatórios, tanto nas análises moleculares quanto nas coproparasitológicas e microscópicas.

Em relação ao outro parasita em questão, *Ancylostoma spp.*, ainda não temos dados para confirmar sua presença, porém sua análise é considerada de interesse devido à capacidade de causar a doença conhecida como *larva migrans* cutânea, uma zoonose (COELHO et al., 2011). Além disso, existe a possibilidade de haver contaminação cruzada com espécies domésticas, como o gato doméstico, o que evidencia o risco representado pelos animais domésticos para a fauna nativa, havendo registros de ambas as espécies na área de estudo (RENDÓN-FRANCO et al., 2013). Isso ressalta a importância da interface entre animais domésticos, humanos e vida selvagem, tanto para as doenças quanto para a relevância de utilizar uma espécie guarda-chuva (DANIEL THORNTON et al., 2016), como a onça-pintada, como indicadora de saúde e como espécie sentinela para doenças que podem representar um risco para a saúde pública da comunidade pantaneira.

Por fim, continuaremos com o trabalho de pesquisa, focando em estratégias para compreender melhor as dinâmicas entre a fauna silvestre, os parasitas e os seres humanos na região, com o objetivo de desenvolver intervenções que promovam a saúde pública e a conservação da biodiversidade no Pantanal.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo sobre os parasitas *Spirometra spp.* e *Ancylostoma spp.* no Pantanal evidencia a necessidade premente de adotar uma abordagem de saúde única, que integre as dimensões humana, animal e ambiental. A interface entre humanos e fauna é fundamental para compreender as dinâmicas ecológicas que influenciam a transmissão de doenças zoonóticas. A onça-pintada, como predador de topo em seu ecossistema, desempenha um papel essencial como bioindicador da saúde ambiental, atuando como um sentinela de zoonoses. Sua presença e bem-estar refletem diretamente o estado dos ecossistemas em que habita, sendo um sinal claro das condições do ambiente e da circulação de patógenos. Isso se encaixa no conceito de One Health, que reconhece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental. A saúde do habitat da onça pode indicar a presença de patógenos que não só afetam a fauna local, mas também podem ser transmitidos para os seres humanos, como acontece em doenças zoonóticas transmitidas por parasitas ou outros agentes patogênicos (Barton et al., 2020; Houghton et al., 2021). A proteção dessa espécie não apenas contribui para a conservação da biodiversidade, mas é também fundamental para a saúde pública. A vigilância do bem-estar da onça facilita a detecção precoce de doenças zoonóticas, permitindo intervenções mais eficazes. Este enfoque holístico é imprescindível para desenvolver estratégias que promovam um equilíbrio sustentável entre a vida selvagem e as atividades humanas, assegurando um futuro mais saudável e seguro para todos os habitantes do Pantanal.

Adicionalmente, é relevante notar que o Pantanal é uma região marcada por conflitos, onde a matança de onças ocorre frequentemente como retaliação, impulsionada pela criação de animais domésticos. Por outro lado, a prática da pesca, que é uma atividade central para a subsistência local, aumenta o contato das pessoas com fontes de água que podem estar contaminadas. A forte cultura de caça de porcos monteiros (*Sus scrofa*), que servem como hospedeiros de doenças, exacerba ainda mais esse cenário.

Nesse contexto, posicionar a onça-pintada como uma espécie sentinela e bioindicadora pode gerar um impacto positivo, promovendo um novo paradigma de convivência que valorize a saúde dos ecossistemas e das comunidades locais.

Finalmente, a integração de conhecimentos de forma transdisciplinar é essencial não apenas para aprimorar nossa compreensão das relações ecológicas, mas também para fortalecer políticas de conservação e saúde pública. Essas iniciativas beneficiam tanto a fauna nativa quanto as comunidades locais, destacando a importância de uma abordagem colaborativa na gestão da biodiversidade e na mitigação dos riscos associados a doenças zoonóticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHO, C. Biodiversity of the Pantanal: its magnitude, human occupation, environmental threats and challenges for conservation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1 suppl 1, p. 229–232, abr. 2011.

ALHO, C. J. R. et al. THREATS TO THE BIODIVERSITY OF THE BRAZILIAN PANTANAL DUE TO LAND USE AND OCCUPATION. **Ambiente & Sociedade**, v. 22, 2019.

ALHO, C. J. R.; LACHER, T. E.; GONÇALVES, H. C. Environmental Degradation in the Pantanal Ecosystem. **BioScience**, v. 38, n. 3, p. 164–171, mar. 1988.

ALHO, CJR. Biodiversity of the Pantanal: response to seasonal flooding regime and to environmental degradation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4 suppl, p. 957–966, nov. 2008.

ARAÚJO, F. R. DE et al. Contaminação de praças públicas de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, por ovos de *Toxocara* e *Ancylostoma* em fezes de cães. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 581–583, out. 1999.

ARRABAL, J. P. et al. First identification and molecular phylogeny of *Sparganum proliferum* from endangered felid (*Panthera onca*) and other wild definitive hosts in one of the regions with highest worldwide biodiversity. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 13, p. 142–149, dez. 2020.

ARRABAL, J. P.; PÉREZ, M. D.; SÁNCHEZ, R. F. **Spirometra spp. em onças atropeladas na Mata Atlântica de Misiones, Argentina**. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 56, n. 2, p. 325–331, 2020.

ASTETE, S.; SOLLMANN, R.; SILVEIRA, L. Comparative ecology of jaguars in Brazil. **CAT News Special** , v. 4, p. 9–14, 2008.

BARTON, M. et al. (2020). ***Ecosystem Health and One Health: The Role of Biodiversity and Conservation in Zoonotic Disease Management***. EcoHealth Journal.

BENGTSON, S. D.; ROGERS, F. Prevalence of sparganosis by county of origin in florida feral swine. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 3, p. 239–242, jun. 2001.

BENGTSON, S. D.; ROGERS, F. **Transmission dynamics of Spirometra through wild and domestic hosts**. Veterinary Parasitology, v. 107, n. 3, p. 199- 205, 2001.

BOGGIANI, P. C.; COIMBRA, A. M.; HACHIRO, J. **Evolução paleogeográfica do Grupo Corumbá (Neoproterozoico)**. 1996.

BOGONI, J. A. et al. Impending anthropogenic threats and protected area prioritization for jaguars in the Brazilian Amazon. **Communications Biology** **2023 6:1**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 15 fev. 2023.

CARVALHO, N. DE O. **Hidrologia da Bacia do Alto Paraguai**. SIMPOSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SOCIO-ECONOMICOS DO PANTANAL, 1. **Anais...**Brasília: EMBRAPA-DDT, 1986.

CASTRO, M. B.; DIAS, A. C.; LOPES, R. S. **Parasite-host dynamics in anthropogenically altered ecosystems in Latin America**. Tropical Conservation Science, v. 11, p. 1-15, 2018.

CAVALCANTI, S. M. C.; GESE, E. M. Kill rates and predation patterns of jaguars (*Panthera onca*) in the southern Pantanal, Brazil. **Journal of Mammalogy**, v. 91, n. 3, p. 722–736, 16 jun. 2010.

CHAME, M. Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. suppl 1, p. 71–94, jan. 2003.

CHAME, M. **Caracterização de fezes de mamíferos brasileiros para estudos ecológicos**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2003.

COELHO, W. M. D. et al. Occurrence of Ancylostoma in dogs, cats and public places from Andradina city, São Paulo state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 4, p. 181–184, ago. 2011.

COELHO, R. M. et al. **Parasitas de importância zoonótica em animais silvestres do Brasil**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, n. 3, p. 189-195, 2011.

CRAWSHAW, P. G. Depredation of Domestic Animals by Large Cats in Brazil. **Human Dimensions of Wildlife**, v. 9, n. 4, p. 329–330, dez. 2004.

CRAWSHAW, P. G.; QUIGLEY, H. B. Jaguar spacing, activity and habitat use in a seasonally flooded environment in Brazil. **Journal of Zoology**, v. 223, n. 3, p. 357–370, 1 mar. 1991.

CRAWSHAW, P. G.; QUIGLEY, H. B. HÁBITOS ALIMENTICIOS DEL JAGUAR Y EL PUMA EN EL PANTANAL, BRASIL, CON IMPLICACIONES PARA SU MANEJO Y CONSERVACIÓN. **El jaguar en el nuevo milenio**, p. 223–235, 2002.

DANIEL THORNTON et al. Assessing the umbrella value of a range-wide conservation network for jaguars (Panthera onca). **Ecological Applications**, v. 26, n. 4, p. 1112–1124, 2016.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging Infectious

Diseases of Wildlife-- Threats to Biodiversity and Human Health. **Science**, v. 287, n. 5452, p. 443–449, 21 jan. 2000.

DESPOMMIER, D. et al. **Zoonotic infections in tropical regions: A public health perspective**. Trends in Parasitology, v. 36, n. 4, p. 243-250, 2020.

DWIGHT D. BOWMAN. **Georgis' parasitologia veterinária**. 9. ed. Ithaca: Elsevier Editora Ltda., 2010.

ESTES, J. A. et al. Trophic Downgrading of Planet Earth. **Science**, v. 333, n. 6040, p. 301–306, 15 jul. 2011.

FERRAZ, K. M. P. M. DE B. et al. Damage caused by capybaras in a corn Field. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 191–194, fev. 2003.

FURTADO, M. M.; FILONI, C. Diseases and Their Role for Jaguar Conservation. **Cat News**, v. 4, p. 35–40, 2008.

GALETTI, M. et al. Liquid lunch – vampire bats feed on invasive feral pigs and other ungulates. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 14, n. 9, p. 505– 506, nov. 2016.

GIBBS, E. P. J. The evolution of One Health: a decade of progress and challenges for the future. **Veterinary Record**, v. 174, n. 4, p. 85–91, 25 jan. 2014.

GOLDBERG, C. S. et al. **Environmental DNA as a tool for non-invasive species detection and ecosystem monitoring**. Biological Conservation, v. 183, p. 4-18, 2015.

HARRIS, M. B. et al. Safeguarding the Pantanal Wetlands: Threats and

Conservation Initiatives. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 714–720, 7 jun. 2005.

HOOGESTEIJN, R.; HOOGESTEIJN, A.; MONDOLFI, E. Jaguar predation and conservation: cattle mortality caused by felines on three ranches in the Venezuelan Llanos. Em: **Mammals as Predators**. [s.l.] Oxford University PressOxford, 1993. p. 391–407.

HOUGHTON, R.A., et al. (2021). **Wildlife as Bioindicators of Ecosystem Health: Bridging Conservation and Public Health**. Journal of Environmental Health.

HU, D.F., JIN, W.X., DING, H.R., et al. ***Spirometra mansonii* sparganosis identified by metagenomic next-generation sequencing: a case report**. Int J Infect Dis, 2023. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.12.038.

JEAN DESBIEZ, A. L. et al. Invasive species and bushmeat hunting contributing to wildlife conservation: the case of feral pigs in a Neotropical wetland. **Oryx**, v. 45, n. 1, p. 78–83, jan. 2011.

JONES, K. E. et al. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, fev. 2008.

KOCK, R. A. What is this infamous “wildlife/livestock disease interface?” A review of current knowledge for the African continent. v. 30, p. 1–13, 2005.

KOŁODZIEJ-SOBOCIŃSKA, M. et al. Sparganosis in wild boar (*Sus scrofa*) – Implications for veterinarians, hunters, and consumers. **Veterinary Parasitology**, v. 227, p. 115–117, ago. 2016.

KUCHTA, R. et al. Sparganosis (*Spirometra*) in Europe in the Molecular Era. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 5, p. 882–890, 1 mar. 2021.

KUCHTA, R. S. T. B. J. Y W. B. **Biology of Foodborne Parasites**. [s.l.] CRC Press, 2015.

LEITE, M. R. P. Relações entre a onça-pintada, onça-parda e moradores locais em três unidades de conservação da floresta atlântica do estado do Paraná, Brasil [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2000.

LUKE HUNTER. **Wild Cats of the World**. London: Bloomsbury Publishing, 2015.

LUKE HUNTER. **Ecologia e conservação de predadores no Pantanal**. São Paulo: Panthera Press, 2015.

MARCHINI, S.; CRAWSHAW, P. G. Human–Wildlife Conflicts in Brazil: A Fast-Growing Issue. <https://doi.org/10.1080/10871209.2015.1004145>, v. 20, n. 4, p. 323–328, 4 jul. 2015.

MORAES, I. DE S. et al. Gastrointestinal Helminths in Wild Felids in the Cerrado and Pantanal: Zoonotic Bioindicators in Important Brazilian Biomes. **Animals**, v. 14, n. 11, p. 1622, 30 maio 2024.

MORAES, C. L. et al. **Spirometra em carcaças de onças no cerrado mato-grossense**. Biota Neotropica, v. 20, n. 1, e2024001, 2024.

MORATO, R. et al. Avaliação do risco de extinção da onça-pintada *Panthera onca* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 122–132, 30 jun. 2013.

MOREIRA, J. R.; FERRAZ, K. M. P. M. DE B.; HERRERA, E. A. **Capybara: biology, use and conservation of an exceptional neotropical species**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2012.

MUELLER, J. F. The Biology of *Spirometra*. **The Journal of Parasitology**, v. 60,

n. 1, p. 2–14, fev. 1974.

MUIGG, V. et al. Case Report: Human Subcutaneous Sparganosis in a Thai Migrant. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 5, p. 1170–1173, 6 nov. 2019.

MURRAY, D. L. et al. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. **Animal Conservation**, v. 2, n. 4, p. 241–254, 28 nov. 1999.

PAULA, R. C.; DESBIEZ, A.; CAVALCANTI, S. Plano de ação nacional para conservação da onça-pintada. **INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, ICMBIO**, v. 19, 2013.

PEDROSA, F. et al. O porco-monteiro do Pantanal. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, v. 16, n. 3, p. 335–349, 31 jan. 2021.

PEDROSA, F.; COSTA, A.; CASTRO, G. **Os impactos dos porcos monteiros na ecologia do Pantanal**. *Brazilian Journal of Ecology*, v. 27, n. 2, p. 112-123, 2021.

QUIGLEY, H. B.; CRAWSHAW, P. G. A conservation plan for the jaguar *Panthera onca* in the Pantanal region of Brazil. **Biological Conservation**, v. 61, n. 3, p. 149–157, 1992.

REAL, V. et al. PCR de *Salmonella* spp, *Streptococcus suis*, *Brucella abortus* e circovírus suíno tipo 2 em taiaçuídeos de vida livre e cativo. **Rev Bras Saúde Prod An**, v. 11, n. 3, p. 858–864, 2010.

RENDÓN-FRANCO, E. et al. Cross transmission of gastrointestinal nematodes between captive neotropical felids and feral cats. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 44, n. 4, p. 936–940, 31 dez. 2013.

REPERANT, L. A.; CORNAGLIA, G.; OSTERHAUS, A. D. M. E. The Importance of Understanding the Human–Animal Interface. Em: **One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases**. [s.l.] Springer, 2012. p. 49–81.

ROBERT, L. S.; JANOVY JR, J. **Gerald D. Schmidt e Larry S. Roberts' foundations of parasitology**. [s.l.] Mc Gray Hill, 2000.

RIPPLE, W. J. et al. **Status and ecological effects of the world's largest carnivores**. Science, v. 343, n. 6167, p. 1241484, 2014.

SANDERSON, E. W. et al. Conservation in Practice 58 Planning to Save a Species: the Jaguar as a Model. **Conservation Biology**, v. 16, n. 1, 2002.

SCHOLZ, T.; KUCHTA, R.; BRABEC, J. Broad tapeworms (Diphyllbothriidae), parasites of wildlife and humans: Recent progress and future challenges. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 9, p. 359–369, ago. 2019.

SEYMOUR, K. L. Panthera onca. **Mammalian Species**, n. 340, p. 9, 26 out. 1989.

SILVEIRA, L. et al. Density of the Near Threatened jaguar Panthera onca in the caatinga of north-eastern Brazil. **Oryx**, v. 44, n. 01, p. 104, 13 jan. 2010.

SOISALO, M. K.; CAVALCANTI, S. M. C. Estimating the density of a jaguar population in the Brazilian Pantanal using camera-traps and capture–recapture sampling in combination with GPS radio-telemetry. **Biological Conservation**, v. 129, n. 4, p. 487–496, 1 maio 2006.

SRBEK-ARAUJO, A. C. et al. First record of intestinal parasites in a wild population of jaguar in the Brazilian Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 393–398, set. 2014.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Veterinary Parasitology. Em: **Veterinary Parasitology**. 4. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2016. p. 423–477.

TIM CARO. **Conservation by proxy: indicator, umbrella, keystone, flagship, and other surrogate species**. Washington, DC: Island Press, 2010.

TOMAS, W. M. et al. Sustainability Agenda for the Pantanal Wetland: Perspectives on a Collaborative Interface for Science, Policy, and Decision-Making. **Tropical Conservation Science**, v. 12, 18 jan. 2019.

TORTATO, F. R. et al. The numbers of the beast: Valuation of jaguar (*Panthera onca*) tourism and cattle depredation in the Brazilian Pantanal. **Global Ecology and Conservation**, v. 11, p. 106–114, jul. 2017.

URIBE, M. et al. Intestinal Parasites of Neotropical Wild Jaguars, Pumas, Ocelots, and Jaguarundis in Colombia: Old Friends Brought Back from Oblivion and New Insights. **Pathogens**, v. 10, n. 7, p. 822, 30 jun. 2021.

URIBE, F.; CASTILLO, E.; MARTÍNEZ, P. **Presence of *Spirometra* spp. in jaguar fecal samples analyzed through coprological techniques**. *Wildlife Research*, v. 48, n. 3, p. 215-223, 2021.

VERNON E. THATCHER. Some Hookworms of the Genus *Ancylostoma* from Colombia and Panama¹. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 38, n. 1, p. 109–116, 1971.

WAESCHENBACH, A. et al. The catholic taste of broad tapeworms – multiple routes to human infection. **International Journal for Parasitology**, v. 47, n. 13, p. 831–843, nov. 2017.

WAESCHENBACH, A. et al. ***Spirometra* life cycle and its public health implications**. *Parasites & Vectors*, v. 10, n. 1, p. 362, 2017.

ZHANG, X., et al. ***Haplotypic variability and phylogeny of Spirometra tapeworms***. Journal of the Malaysian Society of Parasitology, 2023.

TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para a revista (*Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*)

Normas disponíveis em (<http://rbpv.org.br/guia-do-autor>).

Comunicação científica (*Short Communication*)

First Record of *Spirometra* spp. in Jaguar (*Panthera onca*) Feces from the Brazilian Pantanal

Primeiro registro de *Spirometra* spp. em fezes de onça-pintada (*Panthera onca*) no Pantanal Brasileiro.

Paul Raad Cisa¹, Bruna Mendonça dos Santos, Larissa Pereira Rodrigues, Larissa Megumi Nogueira Sato, Rafael Yoshinobu Ito, José Gabriel Gonçalves Lins, Anna Luisa Pizzaia Henrique, Flavio Paixão de Alencar Junior, Ligia Souza Lima Silveira Motta, Richard de Campos Pacheco, Felipe Fornazari¹.

¹ Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Botucatu, São Paulo, Brazil.

Abstract

The jaguar (*Panthera onca*) plays a crucial role as an apex predator and serves as an indicator species of ecosystem health. Several parasites found in jaguars and their prey are zoonotic agents, including the genus *Spirometra* spp. The aim of this study was to investigate the presence of this parasite in a fecal sample from a jaguar, which contained several parasites, collected from the Brazilian Pantanal region. Various diagnostic techniques were employed, including morphological analysis by optical microscopy of an adult parasite present in the feces, coproparasitological examination of the sample, and molecular methods applied to both the fecal samples and two macerated parasites. The sample revealed the presence of adult cestodes, identified as belonging to the genus *Spirometra* through optical microscopy,

which were subsequently subjected to genetic sequencing. Coproparasitological tests also returned positive results for the same genus using different methods. Molecular analysis confirmed the presence of *Spirometra* spp., and the genetic characterization of the parasites indicated a high similarity (96.32%) with sequences of *Sparganum proliferum*. The detection of this parasite, previously unrecorded in the Pantanal, highlights zoonotic risks and the complex interaction between local wildlife and parasites. The findings expand the understanding of the parasitic fauna in the region and its implications for conservation and public health.

Keywords: Sparganosis, Cestoda, zoonosis.

Resumo

A onça-pintada (*Panthera onca*) desempenha um papel fundamental como predador de topo, sendo uma espécie indicadora da saúde do ecossistema. Diversos parasitas encontrados na onça-pintada e em suas presas são agentes zoonóticos, incluindo o gênero *Spirometra* spp.. O objetivo deste estudo foi investigar a presença desse parasita em uma amostra de fezes de onça-pintada apresentando diversos parasitas, coletada na região do Pantanal Brasileiro. Foram utilizadas diversas técnicas diagnósticas, como análise morfológica por microscopia de um parasita adulto presente nas fezes, exames coproparasitológicos da amostra e métodos moleculares em amostras de fezes e dois parasitos macerados. A amostra revelou a presença de cestódeos adultos, identificado como pertencente ao gênero *Spirometra* por microscopia óptica, sendo posteriormente submetidos a sequenciamento genético. Os testes coproparasitológicos também foram positivos para o mesmo gênero em diferentes técnicas. Na análise molecular, a amostra apresentou positividade para *Spirometra* spp., e a caracterização genética dos parasitas indicou uma alta similaridade (96,32%) com sequências de *Sparganum proliferum*. A detecção desse parasita, não registrado anteriormente no Pantanal, destaca os riscos zoonóticos e a complexa interação entre a fauna local e os parasitas. Os resultados ampliam a compreensão da fauna parasitária da região e seus impactos na conservação e saúde pública.

Palavras-chave: Asparganose, Cestoda, zoonose.

The jaguar (*Panthera onca*), considered the largest feline in the Americas and the third largest in the world, is remarkable for its impressive physical characteristics (Bogoni et al.,

2023; Hunter, 2015). Its coat, with a yellowish hue, displays rosette-shaped patterns that vary in size (Oliveira & Cassaro, 1997). The size of the jaguar varies depending on the region, with females in Mesoamerica being lighter, weighing between 36 and 51 kg, while males range from 48 to 66 kg. In the Brazilian Pantanal, however, females can weigh between 51 and 100 kg, and males can reach 68 to 158 kg (Hunter, 2015). Jaguars are present in about 47% of the Pantanal, covering nearly half of the total area, which highlights the significance of jaguars in this biome, as they are considered apex predators, essential for maintaining the balance of the ecosystem by preying on various species (Terborgh, 1990; Morato et al., 2013). They are regarded as an indicator species of environmental quality, being sensitive to any changes in their habitat (Leite, 2001).

Some parasites found in jaguars or their prey may infect humans, thus potentially posing a public health threat (Coelho et al., 2011). Among these parasites, we can mention the genus *Spirometra* spp. (Cestoda: Diphyllbothriidea), which has a complex life cycle associated with aquatic food chains and involving multiple intermediate hosts, such as copepods, amphibians, reptiles, birds, and mammals, including humans (Bowman, 2010). Definitive hosts, such as felids, canids, or raccoons, acquire the infection by ingesting the second intermediate host or a paratenic host containing plerocercoids (spargana) (Bowman, 2010). Furthermore, this parasite can cause a severe zoonosis known as sparganosis, which can manifest in ocular, cerebral, visceral, or cutaneous forms (Kuchta et al., 2021). Sparganosis caused by larvae (plerocercoids) of cestodes such as *Spirometra* spp. (Kuchta et al., 2024). The plerocercoids of *Spirometra* were grouped into a collective group called *Sparganum* Diesing, 1854, as proposed by Diesing (1854). The most severe form of sparganosis in humans is caused by a parasite called *Sparganum proliferum*, which often leads to a lethal infection with an unknown adult form (Kuchta et al., 2021). Despite efforts at classification and identification, this parasite remains a mystery, leading to divergences in the taxonomy of this cestode (Miyadera et al., 2001; Arrabal et al., 2020; Kuchta et al., 2024). The objective of this case report is to describe the identification and characterization of *Spirometra* spp. in fecal samples from a large felid, the jaguar (*Panthera onca*), collected in the Pantanal region. The study also investigates the genetic characteristics of the parasite, employing molecular techniques and discusses the unique health risks associated with the presence of these parasites in the Pantanal environment, highlighting potential zoonotic

threats to both wildlife and human populations.

The study area begins at Pousada Piuval, located in northern Mato Grosso's Pantanal, covering an area of 70,000 to 80,000 km², within the municipality of Poconé. Additionally, several adjacent and contiguous properties to Pousada Piuval were included, forming an area of 237 km², where samples were also collected. This area includes Pousada Piuval, Aymara Lodge, Capão Alto Farm, Arara Lodge, and Jofre Velho Farm. The Pousada Piuval is located at km 10 of the Transpantaneira Highway, 110 km from Cuiabá and 10 km from Poconé. This traditional Pantanal farm spans 7,200 hectares and is dedicated to cattle ranching and tourism activities. The Arara Lodge (km 29) and Capão Alto (km 23) properties also focus on livestock, with Arara Lodge additionally offering tourism services. Meanwhile, Aymara Lodge (km 25) is exclusively dedicated to tourism. All properties are interconnected by fences, except for the final study area located on the Jofre Velho Farm, situated in the Porto Jofre region at km 148 of the transpantaneira, covering 10,000 hectares along the Cuiabá River. Jofre Velho is used for both tourism and cattle ranching. Pousada Piuval is the main study area and stands out as one of the largest cattle ranches in the Poconé region, with a herd of 2,200 head of cattle.

A total of 108 fecal samples were randomly collected from the environment between June 2022 and September 2024. The identification of samples consistent with jaguars was carried out based on morphological characteristics, including tracks, fecal size, the presence of hairs, and prey bones, as well as other aspects such as appearance, odor, and signs indicating the predator's proximity (Chame, 2003). Each sample was documented with photographs and georeferenced using the Gaia Maps app, recording the date, time, appearance, consistency, and odor of the feces. To minimize contamination, the central portions of the feces, less exposed to the ground, were carefully collected using disposable latex gloves. After collection, aliquots of the samples were placed in ziplock plastic bags, properly labeled, and stored at -4°C until shipment to the Zoonoses Research Center (NUPEZO) at the School of Veterinary Medicine and Animal Science (UNESP) in Botucatu, São Paulo. The fecal samples used in this study were collected under the authorization by “Instituto Chico Mendes” (ICMBio – SISBio permit 85444-1) and followed all ethical procedures approved by the Animal Use Ethics Committee (CEUA), according to protocol

number 0466/2023.

One of the samples contained a large number of parasites was selected for the present report (Figure 1). A single parasite was chosen for microscopic analysis to determine its taxonomic identification. Initially, the parts of the parasite were separated, and the one with the best integrity was selected and subjected to a fixation and staining process. The parasite was hydrated by immersion in a 0.9% saline solution for 24 hours, as it was found to be very dried out. Then, the parasite was pressed between two slides and immersed in a 10% formalin solution, followed by staining with Mayer's hydrochloric carmine for 5 minutes. A 30-minute wash was performed with 80% ethanol, and the parasites were then dehydrated in different ethanol concentrations: 96% for 15 minutes and 100% twice for 15 minutes each. A clarification process was carried out using a graded series of eugenol, and the parasite was visualized under a standard optical microscope. Additionally, aliquots of the fecal sample were taken for coproparasitological examinations (Faust, Willis, and Hoffman methods). The aliquots were preserved in 10% formaldehyde and sent to the Department of Pathology at the Federal University of Mato Grosso (UFMT), where the analyses were conducted. The MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit was selected for DNA extraction from the sample. DNA extraction from the fecal sample was performed following the manufacturer's recommendations. Polymerase Chain Reaction (PCR) was used for the molecular diagnosis of *Spirometra* spp. The primers described by Almeida et al. (2016) were used for the PCR amplification: pr-a 5'-TGGTTTTTTGTGCATCCTGAGGTTTA-3' and pr-b 5'-AGAAAGAACGTAATGAAAATGAGCAAC-3', which amplify a 372 base pair (bp) fragment. The reactions were carried out in 0.2 ml DNase/RNase-free microtubes, with the following components added: 1 µl of the sample, 12.5 µl of GoTaq® Green Master Mix (Promega), 7.5 µl of ultrapure water, and 1 µl of each primer (10 µM), for a total reaction volume of 25 µl. The microtubes were placed in a thermocycler (Mastercycler® Eppendorf) for DNA amplification under the following conditions: 94°C for 5 min; 40 cycles of 94°C for 45 s, 45°C for 2 min, and 72°C for 3 min; followed by 72°C for 7 min. The PCR products were visualized by horizontal gel electrophoresis on a 1.5% agarose gel containing the DNA intercalator Nancy-520. Images were documented using a LED transilluminator (KASVI). As a positive control, a parasite from the previously reported sample, whose morphological characteristics were consistent with *Spirometra* spp., was used. Ultrapure water was used as a

negative control. Two parasites from the described sample were macerated (in a pool) and subjected to DNA extraction using the Tissue and Cells GenomicPrep Mini Spin Kit (Cytiva). Subsequently, the sample was subjected to PCR for *Spirometra* spp., using the methodology described earlier. Following successful DNA amplification from this sample, it was subsequently used as a positive control in the PCR analyses. The obtained products were purified using the Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) and subjected to Sanger sequencing at the Biotechnology Institute, Unesp-Botucatu. The DNA was sequenced in both directions using the same primers described in section 4.3.2 and the Big Dye® Terminator Cycle Sequencing Kit. The reactions were carried out in a thermocycler, and the resulting products were analyzed on the 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The quality of the electropherograms was evaluated using the MEGA 11.0.10 software, and the nucleotide sequences were submitted to the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database for comparison with other sequences described in the literature.

The parasitological examination of the adult parasite, performed using optical microscopy, revealed the presence of eggs inside proglottids (Figure 2), with an ovoid shape and sharp edges, characteristics of the genus *Spirometra* (Bowman, 2010). Coprological tests confirmed the presence of eggs typical of the genus. The DNA extracted from the feces and the two macerated parasites tested positive for *Spirometra* spp. Genetic characterization of the two parasites showed a high similarity (96.32%) with two sequences of *Sparganum proliferum* (NC_071928.1 and AB015753.1). The discovery and morphological characterization of the adult parasite present in the fecal sample are consistent with descriptions for the genus *Spirometra* spp. (Kuchta et al., 2024). This allowed its use as a positive control in the study and facilitated genetic sequencing.

Parasites such as *Spirometra* spp. identified in this report contribute significantly to the understanding of local wildlife health, particularly because this parasite had not been previously recorded in the Pantanal. The identification of the zoonotic characteristics of this organism underscores the importance of investigating its dynamics in the region (Coelho et al., 2011). Given the current situation in the Pantanal, which is an ecosystem characterized by intense interaction between the native wildlife and local human populations (Hunter, 2015), the discovery of *Spirometra* spp. becomes crucial. The jaguar (*Panthera onca*) serves

as a biological indicator of a zoonotic disease that can be fatal to humans in certain cases. Humans can become infected by drinking contaminated water, especially in a region where fishing is common, and where copepods may harbor plerocercoids, the infective form for humans, leading to sparganosis (Waeschenbach et al., 2017). Additionally, the consumption of plerocercoids through the meat of paratenic hosts, such as wild pigs (*Sus scrofa*), poses an additional risk (Bengtson & Rogers, 2001).

Parasites of the *Spirometra* spp. genus have been previously recorded in other biomes. Moraes et al. documented the parasite in jaguar carcasses in the Mato Grosso cerrado (Moraes et al., 2024), while Arrabal et al. identified the species in roadkill animals from the Atlantic Forest of Misiones, Argentina (Arrabal et al., 2020). Uribe et al. confirmed the presence of the parasite in jaguars through coprological analysis of fecal material (Uribe et al., 2021). Furthermore, *Spirometra* infection occurs in three main stages, and only definitive hosts excrete the parasite's eggs in their feces, ensuring the continuation of the life cycle. This indicates that the cycle was completed in the definitive host, ruling out the possibility that the eggs originated from intermediate hosts, such as prey, where the parasite does not reach the egg-producing stage (CDC, 2019).

The genetic sequences of two parasite in this report showed similarity to *Sparganum proliferum*, whose life cycle remains unknown. It has been described as a larval stage of *Spirometra*, but other studies classify it as a distinct species within the order Pseudophyllidea (Miyadera et al., 2001). Nonetheless, the adult stage of *Sparganum proliferum* is still described as unknown, and its precise taxonomic classification within other taeniid species remains uncertain due to the limited number of genes sequenced to date (Kikuchi et al., 2021). A recent article reported the first possible adult of *S. proliferum* isolated from a wild felid in Argentina; however, the classification was based only on mitochondrial gene sequences, highlighting the need for further investigations (Arrabal et al., 2020; Kikuchi et al., 2021). Previous studies have assessed the morphological similarity between *S. proliferum* and *Spirometra erinacei*, however, none have conclusively determined whether they are the same species (Kokaze et al., 1997). Despite the close relationship between *S. proliferum* and *S. erinacei*, genomic and transcriptomic analyses have revealed distinct genetic sequences (Kikuchi et al., 2020). The high similarity suggests that the parasites found in the

sample may either be *S. proliferum* or a closely related species. This study provides significant insights into the parasitological landscape of the Pantanal, particularly regarding the identification of *Spirometra* spp. in jaguar (*Panthera onca*) fecal samples. The high genetic similarity (96.32%) of the parasites found to *S. proliferum* underscores the need for further studies to clarify the phylogenetic and taxonomic relationships of *S. proliferum* and other species of the genus *Spirometra*. The discovery of this parasite species, previously unrecorded in the Pantanal, highlights the complex interplay between local wildlife, parasites, and zoonotic risks in this ecosystem. The findings enhance our understanding of the parasitic fauna in the Pantanal and contribute to the broader scientific discussion on *Spirometra* spp. and their potential effects on wildlife conservation and public health.

Ethics declaration

This study was previously approved by “Instituto Chico Mendes” (ICMBio – SISBio permit 85444-1) and by the Animal Use Ethics Committee (CEUA), according to protocol number 0466/2023.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

References

- ARRABAL JP, Pérez MG, Arce LF, Kamenetzky L. First identification and molecular phylogeny of *Sparganum proliferum* from endangered felid (*Panthera onca*) and other wild definitive hosts in one of the regions with highest worldwide biodiversity. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 2020; 13: 142–149. doi: 10.1016/j.ijppaw.2020.09.002.
- Bengtson SD, Rogers F. Prevalence of sparganosis by county of origin in florida feral swine. *Vet Parasitol* 2001; 97(3): 239–242. doi: 10.1016/s0304-4017(01)00409-5.
- Boggiani PC, Coimbra AM, Hachiro J. Evolução paleogeográfica do Grupo Corumbá (Neoproterozoico). XXXIX Congresso Brasileiro de Geologia [online]. 1996 [cited 2024 Nov 19] Available from: <https://repositorio.usp.br/directbitstream/86ae279d-9e4e-4be9-9cf8-30fad3e6219b/0921855.pdf>.

- Bowman DD. *Georgis' parasitologia veterinária*. 9. ed. Ithaca: Elsevier Editora Ltda; 2010.
- Coelho WMD, Amarante AFT, Apolinário JC, Coelho NMD, Bresciani KDS. Occurrence of *Ancylostoma* in dogs, cats and public places from Andradina city, São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2011; 53(4):181–184. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652011000400001>.
- Diesing KM. Über eine naturgemäße Vertheilung der Cephalocotylen. *Sitz.-Ber. K. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss Cl.* 1854;13: 556–616.
- Hunter L. *Wild Cats of the World*. London: Bloomsbury Publishing; 2015.
- Kokaze A, Miyadera H, Kita K, Machinami R, Noya O, Alarcón B, et al. Phylogenetic identification of *Sparganum proliferum* as a pseudophyllidean cestode. *Parasitol Int* 1997; 46: 271-279.
- Kuchta R, Phillips AJ, Scholz T. Diversity and biology of *Spirometra* tapeworms (Cestoda: Diphyllbothriidea), zoonotic parasites of wildlife: A review. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 2024; 24:1-18. [doi:10.1016/j.ijppaw.2024.100947](https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2024.100947).
- Kuchta R, Sobocinska MK, Brabec J, Mlocicki D, Salamatina R, Scholz T. Sparganosis (*Spirometra*) in Europe in the Molecular Era. *Clin Infect Dis* 2021; 72(5): 882–890. doi: 10.1093/cid/ciaa1036.
- LEITE MRP. *Relações entre a onça-pintada, onça-parda e moradores locais em três unidades de conservação da floresta atlântica do estado do Paraná, Brasil* [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2000.
- Miyadera H, Kokaze A, Kuramochi T, Kita K, Machinami R, Noya O, et al. Phylogenetic identification of *Sparganum proliferum* as a pseudophyllidean cestode by the sequence analyses on mitochondrial COI and nuclear *sdhB* genes. *Parasitol Int* 2001; 50(2): 93-104. doi: 10.1016/s1383-5769(01)00071-x.
- Moraes IS, Silva, VLB, Andrade-Silva BE, Gomes APN, Urzedo NF, Abolis VB, et al. Gastrointestinal Helminths in Wild Felids in the Cerrado and Pantanal: Zoonotic Bioindicators in Important Brazilian Biomes. *Animals* 2024; 14(11): 1622. doi: 10.3390/ani14111622.

Morato R, Beisiegel BM, Ramalho EE, Boulhosa RLP. Avaliação do risco de extinção da onça-pintada *Panthera onca* (Linnaeus, 1758) no Brasil. *Biod Bras* 2013; 3(1): 122–132.

Oliveira TG, Cassaro K. Guia de identificação dos felinos brasileiros. São Paulo: Fundação Parque Zoológico de São Paulo; 1997.

TERBORGH, J. The role of felid predators in neotropical forests. *Vida Silvestre Neotropical* 1990; 2(2): 3-5, 1990.

URIBE M, Payan E, Brabec J, Vélez J, Taubert A, Chaparro-Gutiérrez JJ, et al. Intestinal Parasites of Neotropical Wild Jaguars, Pumas, Ocelots, and Jaguarundis in Colombia: Old Friends Brought Back from Oblivion and New Insights. *Pathogens* 2021; 10(7): 822. doi: 10.3390/pathogens10070822.

Waeschenbach A, Brabec J, Scholz T, Littlewood DT, Kuchta R. The catholic taste of broad tapeworms – multiple routes to human infection. *Int J Parasitol* 2017; 47(13): 831–843. doi: 10.1016/j.ijpara.2017.06.004.



Figure 1. (A) Feces of jaguar (*Panthera onca*) containing cestodes. Poconé, MT. (B) Parts of cestodes obtained from a jaguar (*Panthera onca*) fecal sample. Botucatu, SP.

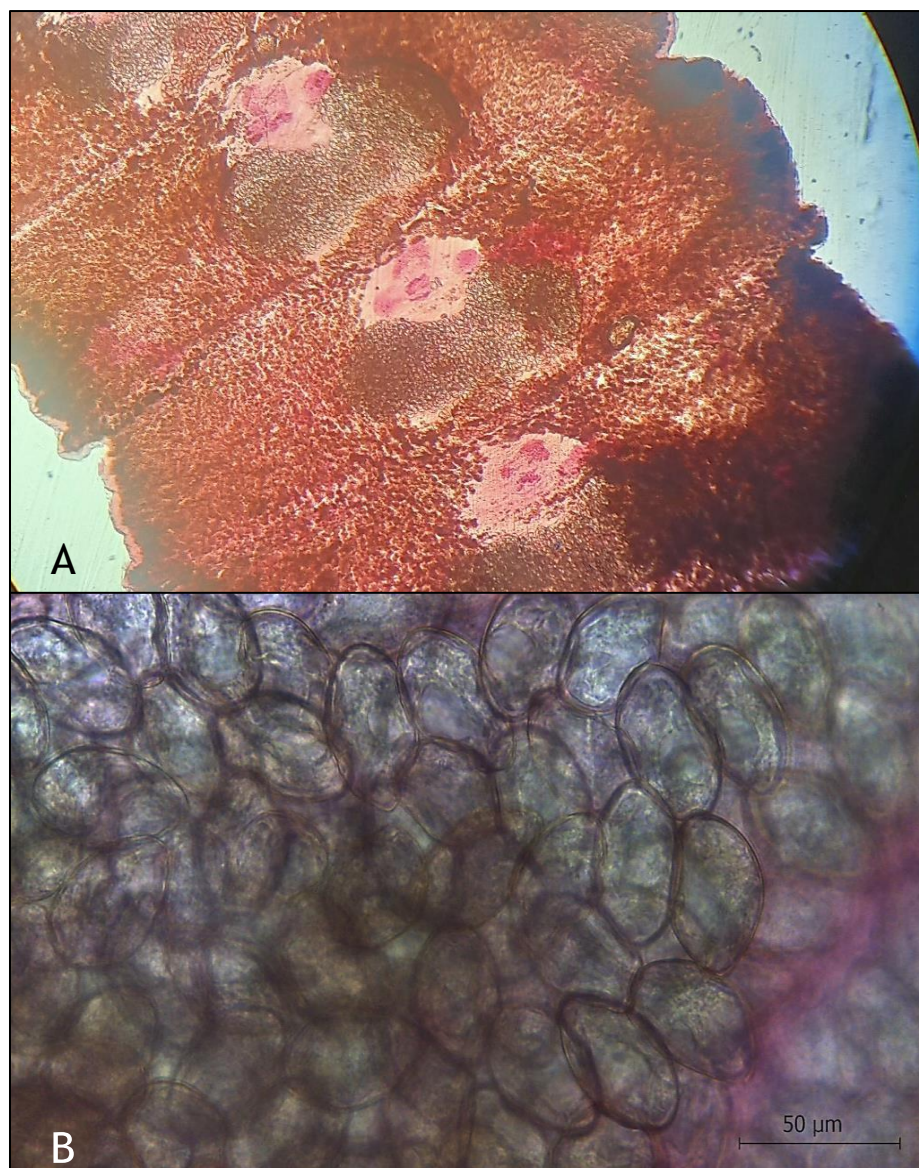


Figure 2. (A) Cestodes obtained from a fecal sample morphologically consistent with jaguar (*Panthera onca*), subjected to the clarification process, and displaying eggs inside the proglottids. (B) Elliptical-shaped eggs with sharp shells, characteristic of the genus *Spirometra*, inside cestodes obtained from fecal samples morphologically consistent with jaguar (*Panthera onca*). Botucatu, SP.