

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

CAMILA MICHELE DE SOUZA HOSSOTANI

**Prevalência de endoparasitos e caracterização molecular
de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras
(*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas**

Araçatuba

2022

CAMILA MICHELE DE SOUZA HOSSOTANI

**Prevalência de endoparasitos e caracterização molecular
de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras
(*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meireles

Araçatuba

2022

H829p

Hossotani, Camila Michele de Souza

Prevalência de endoparasitos e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas / Camila Michele de Souza Hossotani. --, 2022

106 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba,
Orientador: Marcelo Vasconcelos Meireles

1. Criptosporiose. 2. Parasitologia. 3. Roedores. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

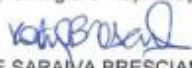
Título: Prevalência de endoparasitos e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas

AUTORA: CAMILA MICHELE DE SOUZA HOSSOTANI

ORIENTADOR: MARCELO VASCONCELOS MEIRELES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO VASCONCELOS MEIRELES (Participação Presencial)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP


Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI (Participação Presencial)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP


Prof. Dr. SÉRGIO DINIZ GARCIA (Participação Presencial)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP


Prof. Dr. WESLEN FABRÍCIO PIRES TEIXEIRA (Participação Virtual)
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal / Escola de Veterinária e Zootecnia - UFG


Prof. Dr. LUIZ GUSTAVO FERRAZ LIMA (Participação Presencial)
Curso de Ciências Biológicas / Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - UniSALESIANO

Araçatuba, 06 de dezembro de 2022.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, que proporcionaram toda a oportunidade de estudo para que eu pudesse chegar a este momento.

Ao meu marido, por todo o apoio ao longo desta longa jornada.

Aos meus irmãos e sobrinhas amadas.

Ao meu professor orientador, Marcelo Vasconcelos Meireles, pela orientação do trabalho, suporte e aprendizado.

À minha amiga, Prof^a Ma. Flavia Maria Almeida Moreira, por me ajudar nas coletas; sem ela eu não teria conseguido.

À Angelica Acialdi e Rafaela Acialdi, pelo apoio em minhas coletas e carinho.

A todos os meus queridos amigos de longa data, que sempre me incentivaram a fazer o doutorado.

A todos os novos amigos que adquiri ao longo de meu doutorado.

A todos professores e professoras que fizeram parte da construção de meu conhecimento acadêmico e possibilitaram a minha chegada a este momento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

***“Que maravilha é ninguém precisar esperar um
único momento para melhorar o mundo”***

Anne Frank

HOSSOTANI, C.M.S. **Prevalência de endoparasitos e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas.** 2022. 106 f. Tese (Doutorado) Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) pertencem à família Caviidae e subfamília Hydrochoerinae. Seu habitat são ambientes próximos de leitos antigos de rios, lagoas e em margens de rios. As parasitoses de capivaras despertam interesse devido à sua crescente presença em áreas alagadas e antrópicas, como praças, parques e represas. Por isso, há uma crescente preocupação quanto à relação desses animais atuarem como reservatórios e representar fontes de infecção de parasitos para o homem. Algumas áreas antrópicas, como parques e praças que possuem lagos naturais ou artificiais, abrigam uma considerável densidade e biomassa de capivaras. Já foram encontradas em fezes de capivaras algumas espécies de protozoários, como *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp. e *Eimeria* sp., além de ovos de helmintos, como *Fasciola hepatica*, *Trichostrongyloidea* e *Capillaria* spp.. Tendo em vista o potencial das capivaras atuarem como reservatório para diversas parasitoses e a falta de estudos sobre a ocorrência e a caracterização molecular de espécies e genótipos de *Cryptosporidium* que infectam capivaras, o objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de endoparasitos e realizar a caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em populações de capivaras presentes em áreas urbanas. Um total de 401 e 392 amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) foi analisado por microscopia para a detecção de *Cryptosporidium* spp. e de outros endoparasitos, respectivamente. A detecção e análise moleculares de *Cryptosporidium* spp. foram realizadas pela reação em cadeia pela polimerase para amplificação de fragmento parcial dos genes da subunidade 18S do rRNA (18S rRNA), actina, proteína do choque térmico (HSP70) e glicoproteína (GP60). Os resultados dos exames microscópicos e moleculares revelaram prevalência de 0,25% (1/401) e 0,5% (2/401) para *Cryptosporidium* spp., respectivamente, e a presença de um novo genótipo de *Cryptosporidium*, denominado como *Cryptosporidium* genótipo capivara. As sequências genéticas amplificadas por PCR para amplificação de fragmentos

parciais dos genes 18S rRNA, HSP70, actina e GP-60 de *Cryptosporidium* genótipo capivara apresentaram similaridade genética com *Cryptosporidium wrairi* de 99%, 99,7%, 99,5% e 91,5%, respectivamente. Dentre as 392 amostras pesquisadas para a presença de endoparasitos, 84% (329/392) foram positivas e 14% (63/392) foram negativas para parasitoses gastrointestinais. Dentre as amostras positivas, foram encontradas as seguintes taxas de ocorrências: oocistos de *Eimeria* spp. (62%; 245/392), ovos de *Trichostrongylidae* (39%; 155/392), *Capillaria* sp. (1%; 6/392), *Anoplocephalidae* (2/392; 0,5%), *Strongyloides* spp. (0,5%; 2/392), *Paramphitosmatidae* (0,7%; 3/392) e ovos e adultos de *Protozoophaga obesa* (24%, 93/392). Foi observada uma baixa prevalência de *Cryptosporidium* spp., com identificação de um novo genótipo de *Cryptosporidium* em capivaras de áreas urbanas. Além disso, nossos resultados indicaram uma alta ocorrência de amostras positivas para diversos gêneros/famílias de parasitos, demonstrando o alto potencial desses animais abrigarem espécies variadas de parasitos e atuarem como reservatórios e possíveis dispersores de diversas parasitoses.

Palavras-chave: Criptosporidiose. Parasitologia. Roedores.

HOSSOTANI, C.M.S. **Prevalence of endoparasites and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in fecal samples of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in urban areas.** 2022. 106 f. Tese (Doutorado) Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) belongs to the family Caviidae and subfamily Hydrochoerinae. Its habitat is environments close to old riverbeds, lakes and on riverbanks. Capybara parasites arouse interest due to their increasing presence in flooded and anthropic areas, such as squares, parks, and dams. Therefore, there is a growing concern about the relationship of these animals as reservoirs and represent sources of infection of parasites for humans. Some anthropic areas, such as parks and squares that have natural or artificial lakes, harbor a considerable density and biomass of capybaras. Some species of protozoa have already been found in capybara feces, such as *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp. and *Eimeria* spp., in addition to helminths, such as *Fasciola hepatica*, Trichostrongyloidea and *Capillaria* spp.. Considering the potential of capybaras to act as a reservoir for various parasites and the lack of studies on the occurrence and molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* that infect capybaras, the aim of the present study was to determine the prevalence of endoparasites and carry out the molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in populations of capybaras present in urban areas. A total of 401 and 392 fecal samples from capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) were analyzed by microscopy for the detection of *Cryptosporidium* spp. and other endoparasites, respectively. Molecular detection and analysis of *Cryptosporidium* spp. were performed by polymerase chain reaction for amplification of a partial fragment of the 18S rRNA subunit (18S rRNA), actin, heat shock protein (HSP70) and glycoprotein (GP60) genes. The results of microscopic and molecular screening revealed prevalence of 0.25% (1/401) and 0.5% (2/401) for *Cryptosporidium* spp., respectively, and the presence of a new genotype of *Cryptosporidium*, named as *Cryptosporidium* genotype capybara. Genetic sequences amplified by PCR for amplification of partial fragments of the 18S rRNA, HSP70, actin and GP60 genes of *Cryptosporidium* genotype capybara showed genetic similarity with *C. wrairi* of 99%, 99.7%, 99.5% and 91. 5%, respectively. Among the 392 samples surveyed for the presence of

endoparasites, 84% (329/392) were positive and 14% (63/392) were negative for gastrointestinal parasites. Among the positive samples, the following occurrence rates were found oocysts of *Eimeria* sp. (62%; 245/392), eggs of Trichostrongylidae (39%; 155/392), *Capillaria* sp. (1%; 6/392), Anoplocephalidae (2/392; 0.5%), *Strongyloides* sp. (0.5%; 2/392), Paramphitosmatidae (0.7%; 3/392) and eggs and adults of *Protozoophaga obesa* (24%, 93/392). A low prevalence of *Cryptosporidium* spp. was observed, with identification of a new genotype of *Cryptosporidium* spp. in capybaras from urban areas. In addition, our results indicated a high occurrence of positive samples for several genera/families of parasites, demonstrating the high potential of these animals to harbor different species of parasites and to act as reservoirs and possible dispersers of several parasites.

Keywords: Cryptosporidiosis. Parasitology. Rodentia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Capivaras	13
1.1.1 Parasitos gastrointestinais em capivaras	14
1.2 Objetivo	16
2 CAPÍTULO 1 - IDENTIFICAÇÃO DE UM NOVO GENÓTIPO DE CRYPTOSPORIDIUM EM CAPIVARAS (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>) DE ÁREAS URBANAS NO BRASIL	17
2.1 Resumo	17
2.2 Abstract	18
2.3 Introdução	19
2.4 Material e Métodos	21
2.4.1 Áreas de estudo	21
2.4.2 Amostras fecais	22
2.4.3 Análise microscópica e quantificação de oocistos.....	23
2.4.4 Análise estatística	24
2.4.5 Análise molecular	25
2.5 Resultados	27
2.5.1 Microscopia	27
2.5.2 Análises Moleculares	28
2.5.3 Análise Filogenética	29
2.6 Discussão.....	35
2.6.1 Prevalência de <i>Cryptosporidium</i> genótipo capivara	35
2.6.2 Análises moleculares de <i>Cryptosporidium</i> genótipo capivara	38
2.7 Conclusão	40
2.8 Agradecimentos	40
2.9 Referências Bibliográficas	41
3 CAPÍTULO 2 - PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CAPIVARAS (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>) DE ÁREAS URBANAS DO MATO GROSSO DO SUL, BRASIL	53
3.1 Resumo	53
3.2 Abstract	54
3.3 Introdução	55
3.4 Material e métodos.....	57

3.4.1 Áreas de estudo	57
3.4.2 Amostras fecais	57
3.4.3 Técnicas parasitológicas	58
3.4.4 Análise estatística	58
3.5 Resultados	59
3.5.1 <i>Eimeria</i> spp.	60
3.5.2 <i>Protozoophaga obesa</i>	61
3.5.3 Trichostrongylidae	62
3.5.4 <i>Capillaria</i> sp., Anoplocephalidae, <i>Strongyloides</i> sp. e Paraphistmatidae	63
3.6 Discussão.....	67
3.7 Conclusão	71
3.8 Agradecimentos	71
3.9 Referências Bibliográficas	72
APÊNDICE – REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....	76
ANEXO A – Autorização do Instituto de Meio ambiente de Mato Grosso do Sul (IMASUL).....	82
ANEXO B - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio)	86
ANEXO C – Certificado Ética no Uso de Animais FMVA (UNESP) – Araçatuba – SP	90
ANEXO D – Normas de Publicação da Revista	91

1 INTRODUÇÃO GERAL

Muitas espécies de organismos são conhecidas por serem patogênicas para humanos, incluindo diversas espécies de parasitos como os protozoários e helmintos, dentre outros. Ademais, de todas as espécies descritas como patogênicas para os humanos, 61% (868/1415) são zoonóticas e 175 espécies são conhecidas por estarem associadas a doenças emergentes (Taylor et al., 2001).

As doenças emergentes são um grande desafio para a segurança biológica do século XXI. Por isso, são defendidas medidas de vigilância sanitárias abrangentes, relacionadas aos animais domésticos e selvagens. Além disso, novos recursos e inovações para uma melhor prevenção e controle dessas doenças são necessários (Kuiken et al., 2005).

Os estudos de parasitismo podem contribuir para Saúde Única, ou seja, integração da saúde humana, animal e meio ambiente, pois são capazes de proporcionar uma melhor compreensão de mudanças climáticas, urbanização crescente, mudanças no uso da terra, do bem-estar e saúde das pessoas e dos animais domésticos e selvagens, bem como do ambiente físico e biosfera (Thompson e Polley, 2014).

1.1 Capivaras

A ordem Rodentia é a maior dentre os mamíferos e abriga muitas espécies distribuídas por vários continentes (NOWAK; PARADISO, 1983). No Brasil, ocorrem 71 gêneros e 235 espécies (OLIVEIRA; BONVICINO, 2005). Dentre essas espécies estão as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766), pertencentes à família Caviidae e subfamília Hydrochoerinae. A capivara é o maior roedor vivo e ocorre em vários países da América do Sul como Brasil, Colômbia, Bolívia, Paraguai, Uruguai, Equador e Argentina. Seu habitat são ambientes próximos de leitos antigos de rios, lagoas e em margens de rios. A água é necessária para seu consumo, chafurdação, proteção contra predadores e reprodução (AZCÁRATE et al., 1980; HERRERA, 2012; OJASTI, 1986). São animais sociais e podem viver em grupos de cinco a 14 indivíduos adultos, normalmente incluindo um macho dominante (HERRERA; MACDONALD, 1987).

Algumas áreas antrópicas, como parques e praças que possuem lagos naturais ou artificiais, abrigam uma considerável densidade e biomassa de capivaras. Acredita-se que esse fato esteja relacionado à característica dos ambientes antrópicos de fornecerem água, recurso alimentar abundante, à ausência de predadores naturais e à alta capacidade reprodutiva da espécie (ALMEIDA et al., 2013; ALMEIDA; BIONDI, 2014; VERDADE; FERRAZ, 2006;).

As parasitoses de capivaras despertam interesse devido ao avanço da criação desses animais em cativeiro, com finalidade comercial ou conservação (ALHO, 1986), além da crescente presença de capivaras em áreas alagadas e antrópicas como praças, parques e represas (ALMEIDA et al., 2013; ALMEIDA; BIONDI, 2014; FERRAZ et al., 2009; KRAUER, 2009; VERDADE; FERRAZ, 2006).

1.1.1 Parasitos gastrointestinais em capivaras

As capivaras são roedores que são hospedeiros de diversas espécies de endoparasitos gastrointestinais, como protozoários dos gêneros *Eimeria*, *Cryptosporidium* (SOUZA et al., 2021) e *Giardia* (REGINATTO et al., 2008), e de diversos helmintos, como os nematoides *Capillaria hydrochoeri*, *Vianella hydrochoeri*, *Protozoophaga obesa*, *Strongyloides* sp. *Habronema* sp.; os cestoides *Monoecocystus hydrochoeri*, *M. hagmani* e os trematódeos *Taxorchis schistocotyle*, *Hydrochoeristrema cabrali* (SINKOC et al, 2004) e *Hippocrepis hippocrepis* (SALAS et al., 2004). Além disso, em fezes de capivaras já foram encontrados ovos de *Fasciola hepatica* (MARTINS et al, 2021), *Ascaridae* e *Trichostrongylidae* (EL-KOUBA., 2008).

A diversidade de endoparasitos de capivaras pode estar relacionada à sua densidade populacional, que influencia na abundância do parasito. Populações mais densas possuem maior prevalência, intensidade e abundância de parasitos (ARNEBERG et al., 1998). As capivaras são animais sociais e podem viver em grupos de cinco a 14 indivíduos adultos, normalmente incluindo um macho dominante (HERRERA; MACDONALD, 1987). Algumas áreas antrópicas, como parques e praças, que possuem lagos naturais ou artificiais, abrigam uma considerável densidade e biomassa de capivaras (VERDADE; FERRAZ, 2006; ALMEIDA ET AL., 2013; ALMEIDA; BIONDI, 2014).

Além disso, as parasitoses de capivaras podem ser zoonóticas, como a infecção por *F. hepatica* (LABRUNA et al., 2018) e *Cryptosporidium parvum*

(MEIRELES et al., 2007). *Cryptosporidium* é o agente etiológico da criptosporidiose, que é uma doença diarreica aguda na qual a transmissão ocorre via fecal-oral, por fontes contaminadas como alimentos, água ou por contato com pessoas ou animais infectados (DUMAINE, et al., 2020). As principais espécies que infectam o homem (mais de 90% dos casos) são *C. parvum* e *Cryptosporidium hominis* (FENG, et al., 2018). Entretanto, há registros de outras espécies menos comuns: *Cryptosporidium erinacei*, *Cryptosporidium tyzzeri*, *Cryptosporidium bovis*, *Cryptosporidium suis*, *Cryptosporidium scrofarum*, *Cryptosporidium occultus*, *Cryptosporidium xiaoi*, *Cryptosporidium fayeri*, *Cryptosporidium ditrichi* (RYAN et al., 2021).

Em humanos, a criptosporidiose infecta mais pessoas de países de baixa renda e residentes de áreas não urbanas (DONG et al., 2020). Além disso, a criptosporidiose ainda é uma ameaça para pacientes com HIV/AIDS (DANKWA et al., 2021; YULFI et al., 2021) e crianças (MOHAMMAD et al., 2021; MADADI et al., 2020) de alguns países em desenvolvimento. A infecção crônica pode causar atrofia das vilosidades intestinais e má absorção de nutrientes (DUMAINE, et al., 2020).

Animais domésticos e selvagens são suscetíveis à infecção causada por diversas espécies de *Cryptosporidium* (OATES et al., 2012; PARSONS et al., 2015; YOUFANG et al., 2016). A infecção ocorre geralmente em indivíduos jovens. O sinal clínico mais observado é diarreia líquida e profusa, que possui coloração amarelada e odor fétido. Pode ocorrer desidratação, febre e anorexia. Porém, é comum a infecção se manter em estado subclínico e, em condições de estresse ou de imunodepressão, ocorrer reativação da eliminação de oocistos (FAYER, 1997).

Roedores silvestres que habitam sistemas de produção agrícolas são hospedeiros de *Cryptosporidium*, eliminam oocistos em fezes e são potenciais fontes de infecção devido à contaminação de alimentos (KILONZO et al., 2013). O esquilo terrestre da Califórnia (*Spermophilus beechey*) libera grandes quantidades de oocistos de *Cryptosporidium* no ambiente (ATWILL et al., 2001, 2004).

Os roedores de forma geral podem abrigar diversas espécies de *Cryptosporidium*. Na Finlândia, há relatos de infecção por *C. ditrichi*, *Cryptosporidium* *genótipos* vole II, V, VII e IX; *Cryptosporidium andersoni* e *Cryptosporidium baileyi* infectando ratos e ratazanas (KIVISTÖ et al., 2021). No Brasil, um estudo com roedores sinantrópicos demonstrou que esses animais estavam parasitados por

Cryptosporidium sp. rat genotype III (10/16; 71,4%); *Cryptosporidium* sp. rat genotype II (1/16; 7,1%) e *C. muris* (3/16; 21,4%) (SILVA et al., 2013).

Em um trabalho com roedores capturados em áreas suburbanas, rurais e urbanas, foram encontradas as seguintes espécies: *Cryptosporidium scrofarum*; *C. hominis*; *C. parvum*; *Cryptosporidium muskrat* genotype I e *C. suis*. Os autores discutem que seus resultados indicam que os roedores, assim como animais domésticos, podem atuar como reservatório para *Cryptosporidium* em áreas rurais (DANIŠOVÁ et al., 2017).

A bibliografia acerca da presença de *Cryptosporidium* em capivaras ainda é escassa e a maioria dos trabalhos com essa espécie são relacionados às parasitoses por helmintos (BONUTI et al., 2002; PINHEIRO et al., 2006; SILVA et al., 2015). Em amostras fecais de capivaras em cativeiro, foram encontrados alguns gêneros de protozoários, como *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Eimeria*, sendo que, dentre eles, o grau de infecção por *Cryptosporidium* sp. foi o mais elevado (300 oocistos/lâmina) (REGINATTO et al., 2008). Em capivaras de uma área antrópica, foi encontrada uma amostra positiva para *Cryptosporidium* spp., entretanto os autores não classificaram a espécie (SOUZA et al., 2021)

No único trabalho em que foi determinada a espécie de *Cryptosporidium* presente em capivaras de vida livre, MEIRELES et al. (2007) relataram a presença de um subtipo zoonótico (IIaA15G2R1) de *C. parvum*, comumente encontrado em bovinos. Dessa forma, fica evidente que há escassez de informações relacionadas ao potencial das capivaras como fonte de infecção *Cryptosporidium* spp. para o homem; além disso, há poucas informações relacionadas à prevalência de endoparasitos em capivaras de vida livre em áreas urbanas.

1.2 Objetivo

Tendo em vista o potencial das capivaras atuarem como reservatório para diversas parasitoses e a falta de estudos sobre a prevalência e a caracterização molecular de espécies e genótipos de *Cryptosporidium* que infectam capivaras, o objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de endoparasitos e realizar a caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em populações de capivaras presentes em áreas urbanas.

2 CAPÍTULO 1 - IDENTIFICAÇÃO DE UM NOVO GENÓTIPO DE *CRYPTOSPORIDIUM* EM CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) DE ÁREAS URBANAS NO BRASIL

Camila Michele de Souza Hossotani¹, Fabio Eiji Fukumori¹ Flávia Maria de Almeida Moreira ², Bárbara Braga Ferreira Marta¹, Débora Regina Romualdo da Silva¹, Bruna Nicoletti Santana¹, Marcelo Vasconcelos Meireles^{1*}

1 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Araçatuba, São Paulo, Brasil

2 Universidade de Mato Grosso do Sul – UFMS, Três Lagoas, MS, Brasil

*Autor correspondente - Endereço postal completo: Rua Clóvis Pestana, 793 - Dona Amélia – Araçatuba, São Paulo - CEP 16050-680. Telefone: +55 (18) 3636-1425.

E-mail: m.meireles@unesp.br

2.1 Resumo

Animais domésticos e selvagens são suscetíveis à infecção causada por diversas espécies de *Cryptosporidium*. As capivaras, assim como outros roedores, possuem alto potencial reprodutivo e são sinantrópicas. Além disso, elas são hospedeiros de diversos parasitos, incluindo *Cryptosporidium* spp. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência e realizar a caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras de vida livre que habitam áreas urbanas. Foram analisadas 401 amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) oriundas de áreas urbanas de duas cidades do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. As amostras foram submetidas ao exame microscópico, extração de DNA e a quatro protocolos da reação em cadeia pela polimerase para amplificação de fragmento parcial dos genes da subunidade 18S do rRNA (18S rRNA), actina, proteína do choque térmico (hsp70) e glicoproteína (GP60), seguidos de sequenciamento genético. Uma amostra (0,3%) foi positiva pelo exame microscópico. As análises moleculares revelaram 2/401 (0,5%) amostras positivas para um novo genótipo de *Cryptosporidium*, que foi denominado como *Cryptosporidium* genótipo capivara. As sequências genéticas amplificadas por PCR, para amplificação de fragmentos parciais dos genes 18S rRNA, hsp70, actina e gp60, apresentaram similaridade genética com *C. wairi* de 99%, 99,7%, 99,5% e 91,5%, respectivamente. Neste estudo foi

observada baixa prevalência de *Cryptosporidium* spp., com identificação de um novo genótipo de *Cryptosporidium* spp. em capivaras de áreas urbanas.

Palavras-chave: *Cryptosporidium*. Capivaras. Sinantropia. Caracterização molecular.

2.2 Abstract

Domestic and wild animals are susceptible to infections caused by several species of *Cryptosporidium*. Capybaras, like other rodents, have high reproductive potential and are synanthropic. In addition, they are hosts of several parasites, including *Cryptosporidium* spp. Therefore, the aim of this study was to verify the prevalence and perform the molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in fecal samples of free-ranging capybaras that inhabit urban areas. We analyzed 401 fecal samples of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from urban areas of two cities in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. The samples were submitted to microscopic examination, DNA extraction and four protocols of the polymerase chain reaction for amplification of a partial fragment of the 18S rRNA subunit (18S rRNA), actin, heat shock protein (hsp70) and gp60 glycoprotein (gp60) genes followed by genetic sequencing. One sample (0.25%) was positive by microscopic screening. Molecular analyzes revealed 2/401 (0.5%) positive samples for a novel *Cryptosporidium* genotype, which was named as *Cryptosporidium* capybara genotype. The genetic sequences amplified by PCR for amplification of partial fragments of the 18S rRNA, hsp70, actin, and gp60 genes showed genetic similarity with *C. wrairi* sequences of 99%, 99.7%, 99.5% and 91.5%, respectively. This study revealed low prevalence of *Cryptosporidium* spp. and identified a new genotype of *Cryptosporidium* in capybaras in urban areas.

Keywords: *Cryptosporidium*. Capybaras. Synanthropy. Molecular Characterization.

2.3 Introdução¹

Cryptosporidium spp. é um protozoário causador da criptosporidiose e apresenta tropismo principalmente por células epiteliais do sistema gastrointestinal dos vertebrados (Thompson et al., 2005). A infecção por *Cryptosporidium* spp. em animais selvagens geralmente é assintomática (Lv et al., 2009, Couso-Pérez et al., 2020, Feng et al. 2020a, Horčíčková et al., 2019). Além disso, animais selvagens podem ser infectados por uma grande diversidade de espécies e genótipos de *Cryptosporidium* (Oates et al., 2012; Parsons et al., 2015; Gu et al., 2016; Borges et al., 2017; Chen et al., 2019; Barrera et al., 2020; Feng et al., 2020b; Jian et al., 2021).

Há uma crescente preocupação quanto à possibilidade de animais selvagens atuarem como reservatórios e representarem fontes de infecção de *Cryptosporidium* spp. para o homem, pela contaminação de fontes de água (Grott et al., 2016; Lopes et al., 2017) e de alimentos (Li et al., 2019) ou por contato direto, a exemplo de casos relatados em animais domésticos (Olson et al., 2004, Drinkard et al., 2015). Essa preocupação é pertinente, pois em humanos a criptosporidiose é considerada a principal causa de diarreia aguda em pessoas imunocomprometidas e em crianças de até dois anos de idade (O'Connor et al., 2011; Kotloff et al., 2013; Dumaine et al., 2020).

No Brasil, estudos revelaram registros de criptosporidiose em adultos imunocomprometidos (Araújo et al., 2008; Peralta et al., 2016) e em adultos (Rezende et al., 2016) e crianças (Mangini et al., 1992; Oshiro et al., 2000; Araújo et al., 2008) imunocompetentes. Além disso, acredita-se que os casos de criptosporidiose em humanos no Brasil são subnotificados devido à não obrigatoriedade de notificação da doença (Cunha et al., 2019).

Dentre os hospedeiros selvagens de *Cryptosporidium* sp., estão muitas espécies de roedores (Lv et al., 2009; Silva et al., 2012; Kivistö et al., 2021). A ordem Rodentia contém aproximadamente 42% da diversidade de mamíferos (Carleton e Musser, 2005) e nela estão incluídas espécies de diversos portes e habitats e muitas espécies sinantrópicas. Os roedores são considerados um grupo de animais com potencial de serem reservatórios de diversas espécies de parasitos, incluindo

¹ O artigo está formatado de acordo com as normas da Revista *Veterinary Parasitology*. Vide Anexo D.

espécies zoonóticas como *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium ditrichi*, *Cryptosporidium apodemi*, *Cryptosporidium muris* (Čondlová et al., 2018), *Cryptosporidium andersoni* (Kivistö et al., 2021) *Cryptosporidium scrofarum* e *Cryptosporidium suis*, dentre outras espécies e genótipos de *Cryptosporidium* (Danišová et al., 2017).

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) são roedores pertencentes à família Caviidae e são consideradas o maior roedor vivo; se reproduzem ao longo de todo o ano e formam grandes grupos de indivíduos. São encontradas em países da América do Sul e habitam áreas próximas a corpos d'água, além de áreas urbanas como praças, parques e represas (Ojasti, 1986; Verdade e Ferraz, 2006; Almeida et al., 2013; Almeida e Biondi, 2014).

Assim como outros roedores, as capivaras são hospedeiras de diversas espécies de parasitos, incluindo a espécie zoonótica *C. parvum* (Meireles et al., 2007; Souza et al., 2021). Outro roedor da família Caviidae, o porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), é hospedeiro de outra espécie de *Cryptosporidium*: *Cryptosporidium wrairi* (Vetterling et al., 1971). Além disso, em um estudo realizado com porquinhos-da-índia, foi identificado um novo genótipo de *Cryptosporidium* (Souza et al., 2015), que foi classificado posteriormente como *Cryptosporidium homai* (Zahedi et al., 2017).

Nos últimos anos, há uma crescente colonização por capivaras em áreas alagadas e antrópicas, como praças, parques e represas (Verdade e Ferraz, 2006; Ferraz et al., 2009; Almeida et al., 2013; Almeida e Biondi, 2014). Elas estão incluídas entre os animais caçados para consumo de carne em comunidades ribeirinhas, indígenas e em assentamentos rurais (Cerqueira et al., 1997; Calouro, 1999; Pereira e Schiavetti, 2010; Cajaiba et al., 2015; Silva e Garavello, 2015), destacando, dessa forma, a possibilidade de contato com o homem, não somente em áreas urbanas compartilhadas, mas também em áreas rurais, o que demonstra o potencial desses roedores dispersarem oocistos no meio ambiente e transmitir para o homem espécies zoonóticas de *Cryptosporidium*.

No Brasil, a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp. já foi constatada em hortaliças, solo, água de irrigação (Ferreira et al., 2018), água de rios (Franco et al., 2001), água subterrânea (Rezende et al., 2016) e em esgotos tratados e não tratados (Martins et al., 2019).

É evidente que há necessidade de investigar a prevalência de *Cryptosporidium* sp. em animais domésticos e selvagens no Brasil, por eles serem potenciais fontes de contaminação ambiental. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras de vida livre que habitam áreas urbanas.

2.4 Material e Métodos

2.4.1 Áreas de estudo

As amostras fecais foram coletadas em áreas urbanas de duas cidades do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil (Figura 1). As áreas de coleta foram a Lagoa Maior, no município de Três Lagoas, e duas áreas localizadas na cidade de Campo Grande: nas proximidades do Lago do Amor, que está localizado no campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), e no Parque das Nações Indígenas.

O Lago do Amor é um reservatório que está situado no campus da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), faz parte da reserva particular do patrimônio natural dessa instituição e está localizado na confluência dos córregos Bandeiras e Cabaça. O Parque das Nações Indígenas é considerado o maior parque urbano do município de Campo Grande, possui uma área de 4.810,6773 m², com áreas para atividades de lazer, recreação e esportes e está próximo do centro da cidade. Esse parque está incluído na zona urbana do Parque Estadual do Prosa (Mato Grosso do Sul, 2011).

Na cidade de Três Lagoas, as coletas ocorreram no entorno da Lagoa Maior, situada no centro da cidade. Essa lagoa faz parte da bacia hidrográfica do córrego da onça. Em seu entorno há quiosques, quadras esportivas, academia ao ar livre, residências e restaurantes (Souza, 2012).

Figura 1 - Áreas de amostragem de fezes de capivaras para análises de *Cryptosporidium* spp.



Fonte: Elaborado pelos autores

2.4.2 Amostras fecais

Todas as amostras foram coletadas com autorização do Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul (IMASUL - nº 71/405296/2019; Anexo A), do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio - nº 70987-1; Anexo B) e da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP, campus de Araçatuba (nº 917-2019; Anexo C).

O cálculo do número de amostras para determinação da prevalência de *Cryptosporidium* spp. nas populações deste estudo foi realizado utilizando o programa OpenEpi versão 3.0.1 (Dean et al., 2013), com índice de confiança de 95%, erro absoluto de 5% e prevalência esperada de 50%, variando entre as amostras apenas o número da população (Tabela 1). O número de indivíduos usado para o cálculo do número de amostras foi baseado em informações fornecidas pelos profissionais

responsáveis pelos locais de coleta (Secretarias Municipais do Meio Ambiente) e observações e contagem dos indivíduos no local.

Foram coletadas 401 amostras de fezes de capivaras (Tabela 2) entre os anos de 2019 e 2020. As coletas foram divididas entre os períodos de chuva e de seca, assim que os animais defecavam. Os animais foram classificados em três faixas etárias, como filhotes, jovens e adultos, conforme suas características biométricas e comportamentais (Figura 2). Foram considerados como filhotes animais muito pequenos e ainda em fase de aleitamento, geralmente acompanhados pelas fêmeas e formando “creches” (Rodrigues et al., 2013). Os jovens eram animais em fase intermediária entre filhotes e adultos, ou seja, não estavam em fase de aleitamento, não atingiram a maturidade sexual e possuíam tamanho corporal reduzido (Verdade e Ferraz, 2006); foram considerados como adultos todos os animais de grande porte e as fêmeas lactantes (Ferraz et al., 2005; Rodrigues et al., 2006).

As amostras de fezes eram compostas por aproximadamente 30g de fezes colhidas com auxílio de espátulas de madeira descartáveis, para evitar a contaminação cruzada, e foram armazenadas em dicromato de potássio 2,5%. Para a purificação e concentração dos oocistos, uma alíquota de cinco gramas da amostra foi submetida à técnica de centrífugo-sedimentação com acetato de etila (Young, et al., 1979). Após a purificação, uma alíquota de 100 µl de amostra foi armazenada em formol tamponado 5%, para análise por microscopia, e a outra alíquota foi preservada a -20°C para extração de DNA.

2.4.3 Análise microscópica e quantificação de oocistos

A análise por microscopia foi realizada no microscópio Olympus modelo BX-60, pela técnica de coloração negativa com verde malaquita (Elliot et al., 1999). A quantificação de oocistos por grama de fezes foi calculada seguindo o modelo proposto por Coklin et al. (2010), como descrito no quadro 1.

Tabela 1 – Estimativa do número de amostras fecais de capivaras a serem colhidas por local, calculada com o uso do OpenEpi versão 3.0.1, considerando o índice confiança de 95%, erro absoluto de 5% e prevalência esperada de 50%.

Local de coleta*	Estimativa do número de amostras a serem colhidas	
	nº aproximado de animais da população	nº mínimo de amostras
A	80	67
B	80	67
C	200	132
Total	360	266

*A= Lagoa Maior /Três Lagoas – MS; B= Lago do Amor (UFMS)/Campo Grande – MS; C= Parque das Nações Indígenas/Campo grande – MS; Fonte: Elaborada pelos autores

Tabela 2 - Número de amostras fecais de capivaras coletadas por local, faixa etária e sazonalidade.

Local de coleta*	Sazonalidade		Faixa etária			
	Chuva	Seca	Adultos	Jovens	Filhotes	Total
A	39	67	68	16	21	105
B	29	29	26	19	13	58
C	117	122	134	62	42	238
Total	185	216	228	97	76	401

*A= Lagoa Maior/Três Lagoas – MS; B= Lago do Amor/Campo Grande – MS; C= Parque das Nações Indígenas/Campo grande – MS; Fonte: Elaborada pelos autores

2.4.4 Análise estatística

As análises estatísticas e determinação da prevalência de *Cryptosporidium* spp. foram realizadas por meio do programa estatístico Prism Graphpad v.8.0 (www.graphpad.com). Foi considerado um nível de confiança de 95% e o intervalo de confiança foi calculado de acordo com o método de Wilson/Brown. Para verificar as diferenças entre as taxas de prevalência de diferentes faixas etárias e sazonalidade foi realizado o teste exato de Fisher. Foram consideradas como significativas as diferenças com valores de $p \leq 0,05$.

Figura 2 - Faixa etária utilizada para coleta de fezes de capivaras.



A = dois adultos; B = Fêmea adulta amamentando um filhote; C = um adulto e um jovem (seta); D = dois jovens (setas); E = filhotes, formação de “creche” (seta) e uma fêmea adulta; F = dois adultos e um filhote (seta); Fonte: Elaborada pelos Autores

2.4.5 Análise molecular

A extração de DNA genômico foi realizada nas 401 amostras com utilização do kit ZR Fecal DNA MiniPrep® (Zymo Research), seguindo o protocolo do fabricante. Inicialmente, foi realizada a *nested* PCR para amplificação de um fragmento parcial do gene da subunidade 18S do RNA ribossômico (18SrRNA) (Xiao et al., 2000), em todas as amostras, para detecção de *Cryptosporidium* spp. As amostras positivas foram submetidas a três protocolos de *nested* PCR para amplificação de fragmentos parciais dos genes da proteína de choque térmico (HSP70) (Morgan et al., 2001), da actina (Sulaiman et al., 2002) e da glicoproteína GP60 (Alves et al., 2003). As amostras positivas pela *nested* PCR para o gene 18S rRNA e que apresentaram resultados inconclusivos no sequenciamento genético foram submetidas à *nested*

PCR usando os *primers* de Johnson et al. (1995) (Tabela 3), usando como molde a reação primária (Xiao et al., 2000) da PCR para o gene 18S rRNA.

Quadro 1 - Fórmula para cálculo do número de oocistos liberados por gramas de fezes

Fórmula	Descrição	Bibliografia
<i>Equação:</i> $N = (s \times pv) / (vol \times wt)$	N = número de oocistos por grama de fezes; s = número de oocistos na lâmina; pv = volume do pellet (ml); vol = volume que foi analisado da amostra (ml); wt = peso da amostra fecal (g).	Coklin et al. (2010)

Fonte: elaborado pelos autores

Os protocolos de PCR foram realizados usando o JumpStart® TaqReady Mix (Sigma Aldrich) e as condições das reações descritas pelos autores. Os fragmentos amplificados nos protocolos de PCR foram purificados utilizando o ExoSAP-IT® (Thermo Fisher Scientific) e submetidos ao sequenciamento bidirecional utilizando o ABI Prism® Dye Terminator 3.1 (Thermo Fisher Scientific). As sequências de DNA obtidas foram analisadas pelo Codoncode Aligner versão 9.0.1 (Codon Code Corporation), para determinação da sequência consenso, e alinhadas com auxílio do BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999), usando como base sequências homólogas disponíveis no *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).

As análises filogenéticas foram realizadas pelo programa MEGA-X (Kumar et al., 2004) utilizando o método de máxima verossimilhança e os modelos evolutivos propostos pelo programa. As sequências amplificadas por PCR foram alinhadas com sequências homólogas disponíveis no *BLAST* (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Para construção das árvores filogenéticas, as sequências genéticas de *Monocystis agilis*, *Plasmodium falciparum*, *Cryptosporidium molnari* e *Cryptosporidium viatorum* foram utilizadas como grupos externos, para os genes 18SrRNA, HSP70, actina e GP60, respectivamente.

Tabela 3 - Protocolos da Nested PCR usados para detecção de *Cryptosporidium* spp. em fezes de capivaras.

Amostra	Gene	Protocolo	Primers (5'-3')	Produto	Referência
Todas as amostras	18S rRNA	PCR	TTCTAGAGCTAATACATG CG CCCATTTCCTTCGAAACA GGA	~1325	Xiao et al., 2000
		Nested PCR	GGAAGGGTTGTATTTATT AGATAAAG AAGGAGTAAGGAACAAC CTCCA	~825	
Positivas para <i>Cryptosporidium</i> pela PCR para o gene 18S rRNA	18SrRNA	PCR	GGAAGGGTTGTATTTATT AGATAAAG AAGGAGTAAGGAACAAC CTCCA	~825	Xiao et al., 2000
		Nested PCR em tempo real	AAGCTCGTAGTTGGATTT CTG TAAGGTGCTGAAGGAGT AAGG	~428	Johnson et al., 1995
	Actina	PCR	ATGRGWGAAGAAGWARY WCAAGC AGAARCAAYTTTCTGTGKA CAAT	~1095	Sulaiman et al., 2002
		Nested PCR	CAAGCWTTTRGTTGTTGA YAA TTTCTGTGKACAATWSWT GG	~1066	
	HSP-70	PCR	GGTGGTGGTACTTTTGAT GTATC GCCTGAACCTTTGGAATA CG	~448	Morgan et al., 2001
		Nested PCR	GCTGSTGATACTCACTTG GGTGG CTCTTGTCACATACCAGCA TCC	~325	
	GP60	PCR	ATAGTCTCCGCTGTATTC GGAAGGAACGATGTATC T	~850	Alves et al., 2003
		Nested PCR	TCCGCTGTATTCTCAGCC GCAGAGGAACCAGCATC		

Fonte: Elaborada pelos autores

2.5 Resultados

2.5.1 Microscopia

Uma amostra foi positiva (0,3%; IC:0,0004–0,014) para *Cryptosporidium* spp., dentre as 401 amostras examinadas por microscopia. Os seis oocistos encontrados em 10 µl de amostra apresentaram média de diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) de 4,43 µm e 4,58 µm, com o DP variando de 4,49 a 4,58µm e o DE de 4,43 a 4,44 µm, respectivamente (Figura 3). A amostra positiva na microscopia pertence a um filhote (amostra de nº 333) e foi coletada no Parque das Nações Indígenas na cidade de Campo Grande - MS. A quantificação de oocistos eliminados demonstrou que aproximadamente 12 oocistos eram liberados por grama de fezes pelo filhote positivo para *Cryptosporidium* spp.

2.5.2 Análises Moleculares

Duas das 401 amostras analisadas por *nested* PCR visando o gene 18S rRNA foram positivas para *Cryptosporidium* spp., com prevalência de 0,5% (2/401; IC: 0,1-1,8%). Das duas amostras positivas na PCR, uma era oriunda do mesmo filhote (nº 333) positivo anteriormente na microscopia e a outra (nº 317), era procedente de uma capivara adulta e foi coletada nas margens do Lago do Amor, localizado no campus da UFMS na cidade de Campo Grande - MS. As amostras positivas pela *nested* PCR para o gene 18S rRNA também foram positivas pela *nested* PCR para os genes da actina, HSP70 e GP60, totalizando duas amostras positivas para *Cryptosporidium* spp., ambas coletadas no período de seca e na cidade de Campo Grande -MS.

O sequenciamento dos amplicons do gene 18S rRNA apresentou boa qualidade somente quando foi utilizada a *nested* PCR com os *primers* de Johnson et al., (1995). As sequências genéticas referentes às duas amostras positivas pelas PCRs apresentaram 100% de homologia entre elas, com referência aos genes 18S rRNA, HSP70 e GP60. Entretanto, em somente uma das amostras, a pertencente a um filhote (nº 333), houve amplificação e sequenciamento genético de um fragmento do gene da actina.

As taxas de similaridade genética entre as sequências de *Cryptosporidium* isoladas no presente trabalho e as sequências de outras espécies de *Cryptosporidium* publicadas no *GenBank* variaram de 98,6 a 99%; 99,4 a 99,7% a 98,2 a 99,5% e referentes aos genes 18SrRNA, HSP70 e actina. Em relação ao gene GP60, a similaridade genética foi de 95,5% para as três sequências comparadas de *C. wrairi* (Tabela 3). Com base nas sequências genéticas encontradas no presente estudo, o isolado oriundo de capivaras foi denominado como *Cryptosporidium* genótipo capivara.

Figura 3 – Oocisto(seta) encontrado no presente trabalho.



Fonte: Elaborada pelos autores

2.5.3 Análise Filogenética

A análise filogenética da sequência do gene 18S rRNA demonstrou o agrupamento das sequências homólogas com a sequência de *Cryptosporidium* genótipo capivara em um grupo monofilético (Figura 4). As duas sequências de *C. wrairi* formaram um grupo com o genótipo capivara, compartilhando um ancestral em comum exclusivo das três espécies e, por isso, formando um clado monofilético. A sequência do gene 18SrRNA do genótipo capivara apresentou substituições de dois nucleotídeos, quando comparada às sequências de *C. wrairi* (GenBank MW521243), e quatro substituições quando comparada com a sequência de *C. parvum* (GenBank KU679364).

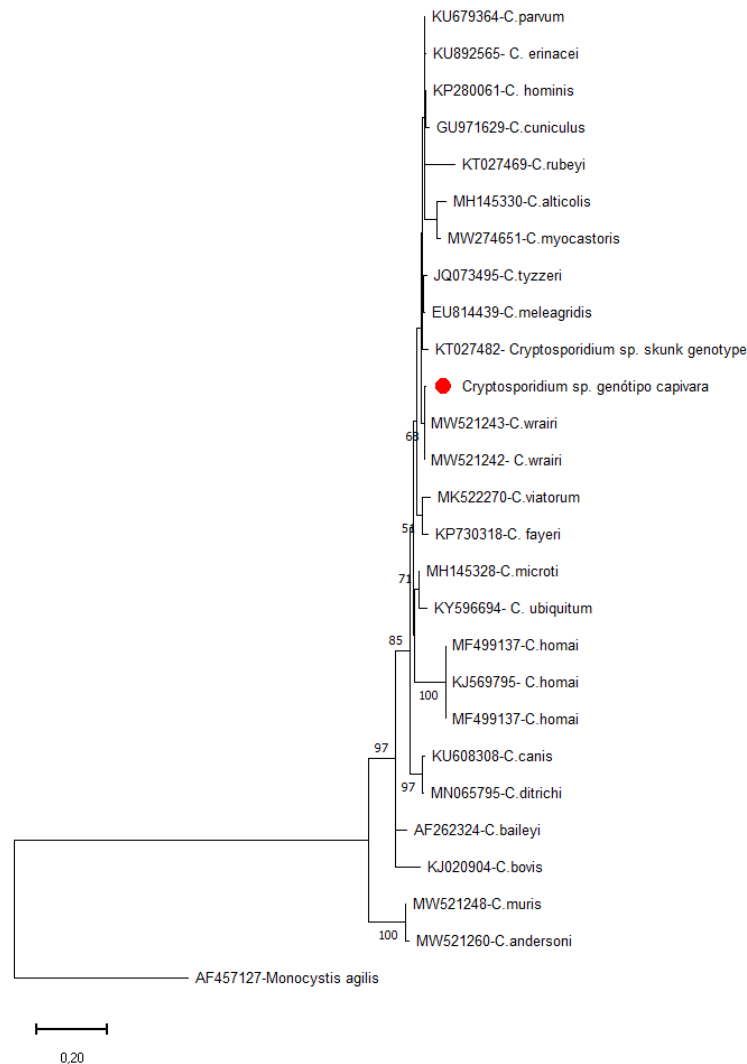
Na árvore filogenética do gene HSP70, também houve a formação de um grupo monofilético com as sequências similares publicadas no *GenBank* (AF221536; GQ983370; GU967462; MW280976). Entretanto, diferentemente dos genes 18S rRNA e actina, o genótipo capivara formou um grupo com *Cryptosporidium myocastoris*, compartilhando um ancestral em comum com um clado irmão contendo *Cryptosporidium cuniculus* e *Cryptosporidium hominis* (Figura 5). A sequência do gene HSP70 do genótipo capivara também apresentou variações nucleotídicas quando comparada às espécies com maior homologia; essa variação consistiu em apenas uma substituição, em comparação com a sequência de *C. wrairi* (AF221536), e de dois nucleotídeos em comparação com as sequências de *Cryptosporidium tyzzeri* (FJ429636 – anteriormente *Cryptosporidium mouse genotype*) e *C. parvum* (AF221530).

A análise filogenética do gene da actina resultou em um grupo monofilético com todas as sequências similares analisadas (Figura 6). Além disso, o genótipo capivara formou um grupo com *C. wrairi*, compartilhando um ancestral exclusivo (Figura 6). A sequência de nucleotídeos do gene da actina do genótipo capivara contém substituições de quatro nucleotídeos quando comparada com as sequências de *C. wrairi* (AF382348) e de 15 nucleotídeos quando comparada com sequências de *C. parvum* (AF382343) e *C. tyzzeri* (MT822822).

Assim como nos genes 18S rRNA e actina, a árvore filogenética do gene GP60 agrupou o genótipo capivara com os subtipos de *C. wrairi* (Figura 7). O gene GP-60 do nosso isolado foi o gene que apresentou maior divergência quando comparado com as sequências similares publicadas. Pela comparação com sequências disponíveis no *GenBank*, o genótipo capivara apresentou 79 nucleotídeos divergentes em comparação com *C. wrairi*.

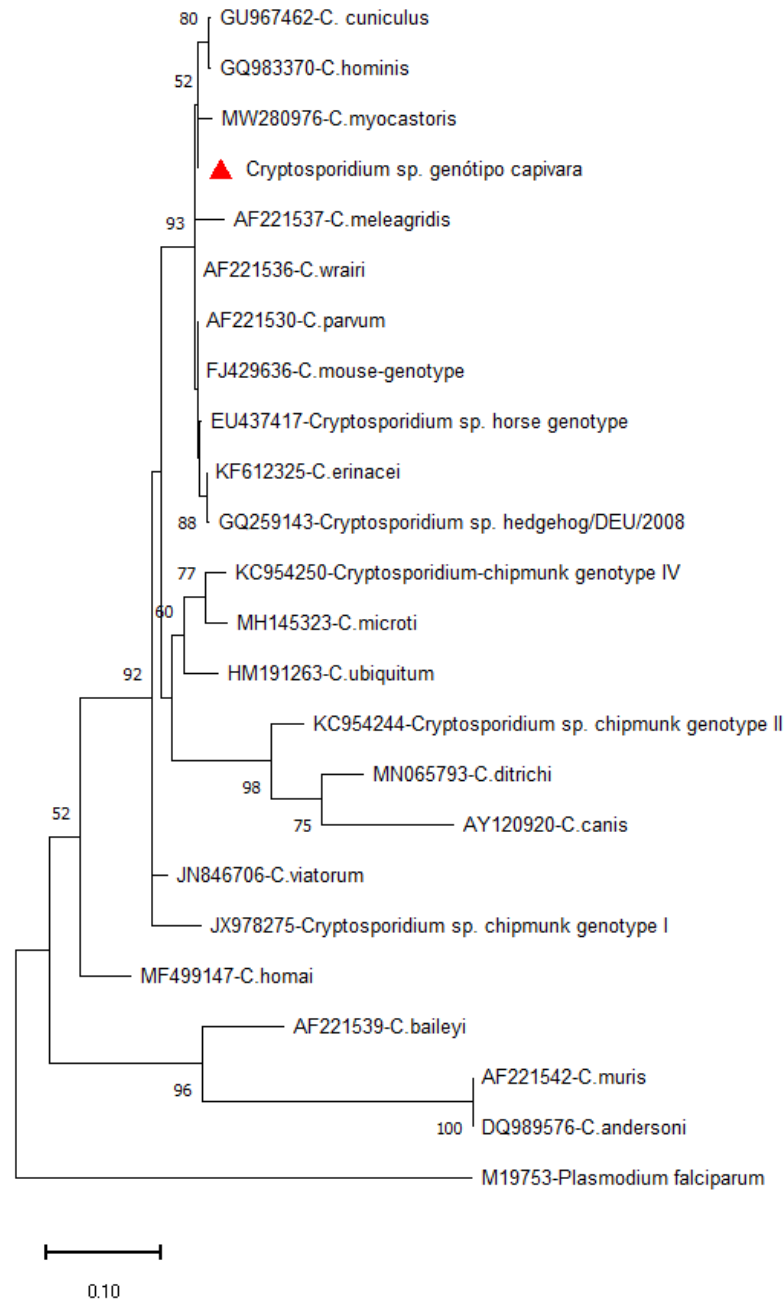
Além disso, a sequência de nucleotídeos da região de repetição de serina do gene GP60, utilizada para classificação dos subtipos, revelou 13 repetições de TCA na região de repetições de tandem de codificação de serina.

Figura 4 - Árvore da relação filogenética do gene 18SrRNA (círculo vermelho) de *Cryptosporidium* genótipo capivara e sequências publicadas no GenBank.



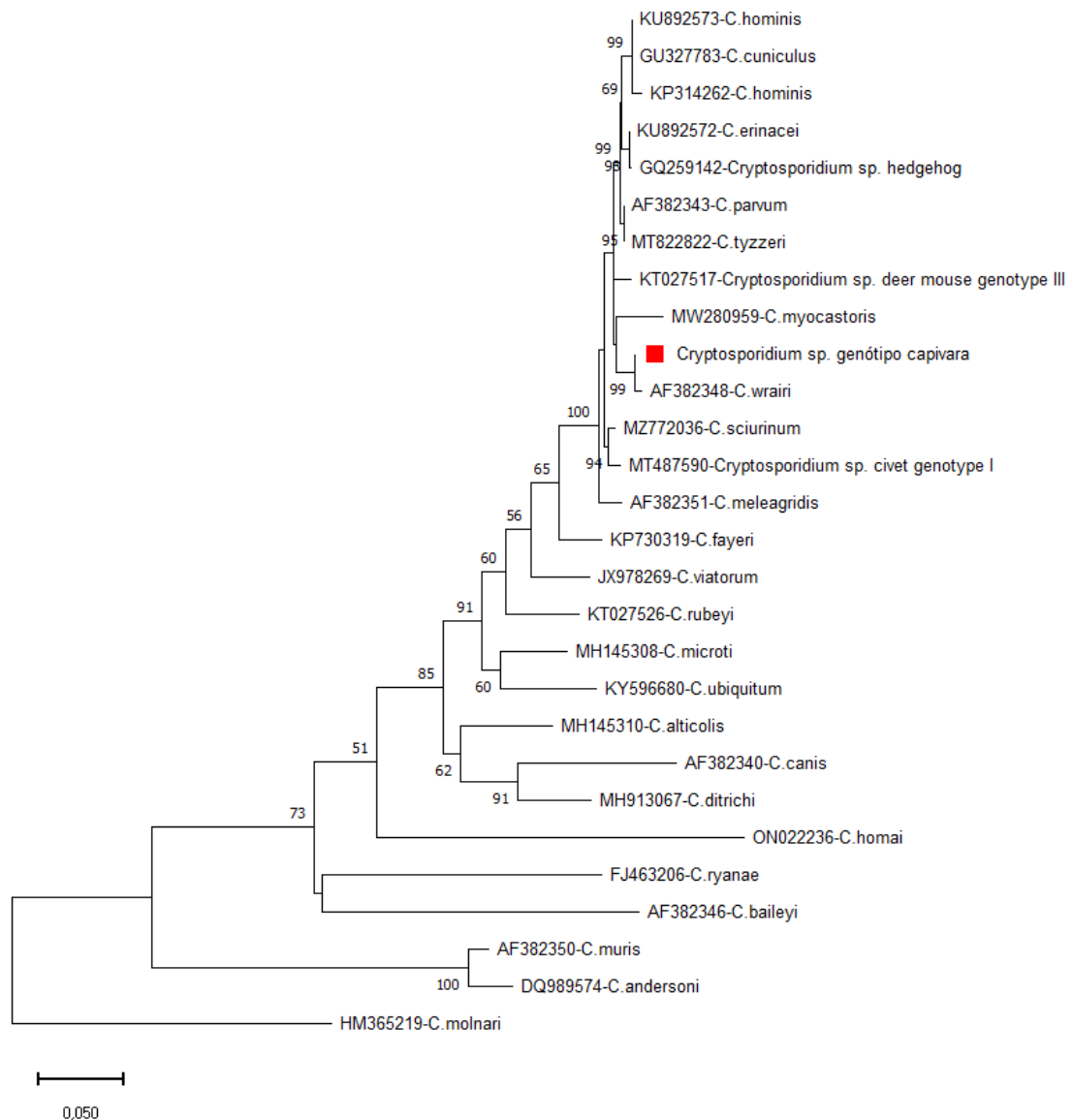
A árvore filogenética foi construída com o método de máxima verossimilhança e baseada no modelo de distância genética T92 +G +I (*Tamura 3 - parameter + Gamma distribution (+G) evolutionarily invariable (+I)*) disponível no MEGA X. Estão indicados nos nós os valores maiores de 50% do Bootstrap de 1000 replicações. No canto esquerdo inferior está representada uma barra de comprimento do ramo, correspondendo ao número de substituições genéticas; Fonte: Elaborada pelos autores.

Figura 5 - Árvore da relação filogenética do gene HSP-70 de *Cryptosporidium* genótipo capivara (triângulo vermelho) e sequências publicadas no GenBank.



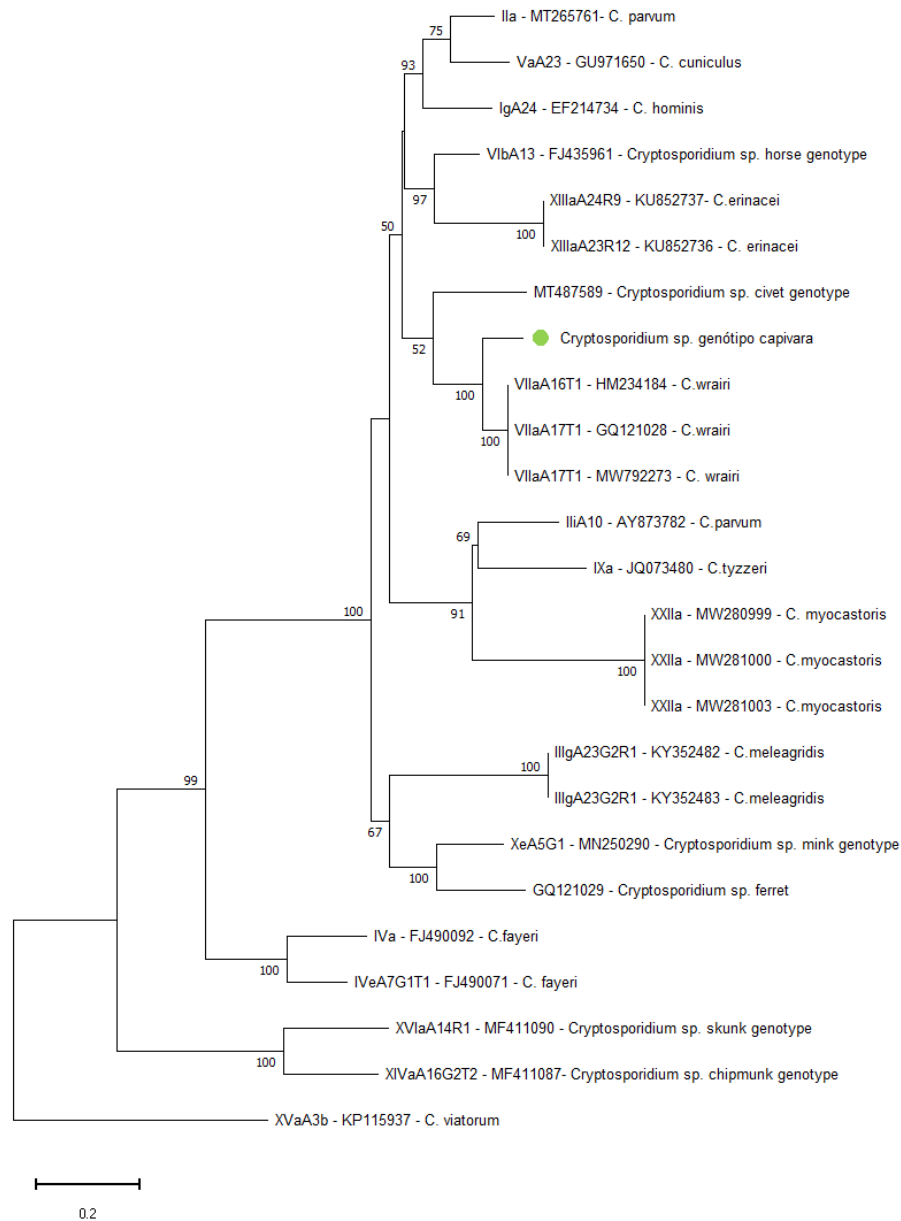
Árvore filogenética foi construída com o método de máxima verossimilhança e baseada no modelo de distância genética GTR + G (*General Time Reversible + discrete Gamma distribution* (+G)) disponível no MEGA X. Nos nós estão indicados os valores maiores que 50% do Bootstrap com 1000 replicações. No canto esquerdo inferior está representada uma barra de comprimento do ramo, correspondendo ao número de substituições genéticas.

Figura 6 - Árvore da relação filogenética do gene da actina de *Cryptosporidium* genótipo capivara (quadrado vermelho) e sequências publicadas no *GenBank*.



Árvore filogenética foi construída com o método de máxima verossimilhança e baseada no modelo de distância genética GTR +G +I (*General Time Reversible + Discrete Gamma distribution (+G) evolutionarily invariable (+I)*) disponível no MEGA X. Estão indicados nos nódulos os valores maiores de 50% do Bootstrap de 1000 replicações. No canto esquerdo inferior está representada uma barra de comprimento do ramo, correspondendo ao número de substituições genéticas.

Figura 7 - Árvore da relação filogenética do gene da glicoproteína 60kDa de *Cryptosporidium* genótipo capivara (círculo verde) e sequências publicadas no GenBank.



A árvore filogenética foi construída com o método de máxima verossimilhança e baseada no modelo de distância genética GTR +G +I (*General Time Reversible + Discrete Gamma distribution (+G) evolutionarily invariable (+I)*) disponível no MEGA X. Estão indicados nos nódulos os valores maiores de 50% do Bootstrap de 1000 replicações. No canto esquerdo inferior está representada uma barra de comprimento do ramo, correspondendo ao número de substituições genéticas; Fonte: Elaborada pelos autores.

Tabela 3 - Sequências de genes de *Cryptosporidium* genótipo capivara comparadas com sequências depositadas no GenBank. pb = pares de base.

Gene	Tamanho do fragmento amplificado (pb)	Espécie	ID GenBank	Similaridade genética (%)
18S rRNA	433	<i>C. wrairi</i>	MW521243	99,1
		<i>C. wrairi</i>	MW521242	99,1
		<i>C. parvum</i>	KU679364	98,6
HSP-70	320	<i>C. wrairi</i>	AF221536	99,7
		<i>C. tyzzeri</i>	FJ429636	99,4
		<i>C. parvum</i>	AF221530	99,4
Actina	840	<i>C. wrairi</i>	AF382348	99,5
		<i>C. tyzzeri</i>	MT822822	98,2
		<i>C. parvum</i>	AF382343	98,2
GP-60	786	<i>C. wrairi</i>	HM234184	91,6
		<i>C. wrairi</i>	GQ121028	91,5
		<i>C. wrairi</i>	MW792273	91,5

Fonte: Elaborada pelos autores;

2.6 Discussão

2.6.1 Prevalência de *Cryptosporidium* genótipo capivara

No presente estudo foram analisadas 401 amostras de fezes de capivaras de vida livre para detecção e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. As amostras foram coletadas no período de chuva e de seca e os animais foram divididos entre três faixas etárias: adultos, jovens e filhotes. As análises microscópicas revelaram uma amostra positiva no período de seca, oriunda de um animal classificado como filhote e coletada no Parque das Nações Indígenas, localizado na cidade de Campo Grande - MS.

A análise por microscopia em uma amostra revelou seis oocistos, que apresentavam média de diâmetros polar e equatorial de 4,43 µm e 4,58 µm, respectivamente (Figura 3). Os oocistos possuem forma e dimensões aproximadas de outras espécies de *Cryptosporidium* (Tabela 4), sendo indistinguíveis de oocistos de outras espécies pela análise microscopia (Fall et al. (2003).

Aproximadamente 12 oocistos de *Cryptosporidium* genótipo capivara eram liberados por grama de fezes pelo filhote positivo. Esse número nos indica apenas a quantidade de oocistos liberados no momento da coleta. Futuros estudos são necessários para uma melhor estimativa da quantidade de oocistos de

Cryptosporidium genótipo capivara liberados por gramas de fezes. Em análises de microscopia em fezes de capivaras de cativeiro, foram encontrados mais de 300 oocistos de *Cryptosporidium* sp. por lâmina (Reginatto et al., 2008).

Em outros estudos com roedores, a eliminação de oocistos por grama de fezes ao longo da infecção variou de 2000 a 670.000 oocistos de *C. erinacei* em ouriços (Kvác et al., 2014), de 10.000 a 25.000 oocistos de *C. myocastoris* em rato-do-banhado (Ježková et al., 2021a) e de 4000 a 25.000 oocistos de *Cryptosporidium ditrichi* em ratos (Čondlová et al., 2018).

A prevalência de *Cryptosporidium* genótipo capivara observada neste estudo foi de 0,5% (IC: 0,1% - 1,8%). Em capivaras de vida livre no estado de São Paulo, foi encontrado um subtipo (IIaA15G2R1) da espécie zoonótica *C. parvum* infectando capivaras. Nesse mesmo trabalho, a prevalência encontrada foi 5,5% (8/145) (Meireles et al., 2007). De forma semelhante, capivaras de vida livre de áreas urbanas do estado de São Paulo apresentaram prevalência de infecção por *Cryptosporidium* spp. de 1,1% (1/92), constatada por exame microscópico (Souza et al., 2021). Por outro lado, capivaras de vida livre oriundas da região da bacia do Orinoco, na Colômbia, apresentaram prevalência de *Cryptosporidium* spp. de 34,8% (16/46), após análise pela técnica de ELISA (Uribe et al., 2021).

A prevalência de *Cryptosporidium* genótipo capivara em filhotes e adultos, no período de seca, foi de 2,9% (1/34) (IC: 0,5 – 14,9%) e 0,8% (1/124) (IC: 0,1 - 4,4%), respectivamente. As taxas de prevalência entre adultos e filhotes, quando comparadas no período de seca, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$; $p = 0,87$). Em um estudo com diversas espécies de roedores, não foi observada diferença significativa em relação à prevalência de *Cryptosporidium* spp. entre jovens e adultos (Danišová et al., 2017). Por outro lado, porquinhos-da-índia e chinchilas jovens apresentaram maior prevalência de *Cryptosporidium* spp. quando comparados com adultos (Chen et al., 2021; Qi et al., 2015).

Tabela 4 - Dimensões de oocistos de *Cryptosporidium* spp. comparadas aos oocistos de *Cryptosporidium* genótipo capivara.

Espécie	Dimensões (média μm)	Bibliografia
<i>Cryptosporidium</i> genótipo capivara	4,4 X 4,6	Presente estudo
<i>Cryptosporidium hominis</i>	4,8 X 5,2	Morgan-ryan et al., 2002
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	5,9 X 5,3	Robinson et al., 2010
<i>Cryptosporidium erinacei</i>	4,9 X 4,4	Kvác et al., 2014
<i>Cryptosporidium myocastoris</i>	5,0 X 4,8	Ježková et al., 2021a
<i>Cryptosporidium ratti</i>	4,9 X 4,6	Ježková et al., 2021b

Fonte: elaborada pelos autores

As capivaras positivas no presente trabalho não apresentavam diarreia, sinal clínico característico da criptosporidiose em mamíferos (Thompson et al., 2005). Entretanto, no momento da coleta, nenhum parâmetro fisiológico ou físico foi mensurado, além da consistência das fezes. Além disso, pouco se sabe sobre os sintomas apresentados por capivaras quando infectadas por *Cryptosporidium* spp. Em um trabalho realizado com capivaras de cativeiro naturalmente infectadas por *Cryptosporidium* sp., de forma semelhante ao nosso trabalho, as capivaras não apresentavam diarreia (Reginatto et al., 2008). Alguns estudos com animais silvestres demonstraram que algumas espécies, apesar de estarem infectadas por *Cryptosporidium* spp., são assintomáticas (Lv et al., 2009, Kváč et al., 2014, Liu et al., 2019; Couso-Pérez et al., 2020, Feng et al. 2020a, Horčíčková et al., 2019), o que reforça a teoria de coevolução parasito-hospedeiro em *Cryptosporidium* spp., que versa sobre a infecção de animais silvestres por espécies de *Cryptosporidium* adaptadas aos seus hospedeiros (XIAO et al., 2002).

Ambas as amostras positivas no presente estudo foram coletadas no inverno, que é o período de seca da região de coleta. No período de seca ocorre a redução de vegetação verde, o que resulta em menor disponibilidade de alimentos. É nesse período que as capivaras apresentam o comportamento de cecofagia, que é o consumo de suas fezes direto do ânus (Herrera, 1985; Mendes et al., 2000). Sabe-se que a restrição alimentar e o estresse em capivaras podem ocasionar maior taxa de

infecção por coccídios (Eberhardt et al., 2013). Dessa forma, o comportamento de cecofagia das capivaras, somado à escassez de alimentos, pode estar relacionado à eliminação de *Cryptosporidium* spp. nas populações de capivaras nos períodos de seca. Entretanto, o teste estatístico não indicou diferença significativa entre as taxas de prevalência encontradas nos dois períodos sazonais e faixas etárias ($p > 0,05$).

2.6.2 Análises moleculares de *Cryptosporidium* genótipo capivara

A análise das sequências dos quatro genes analisados demonstrou que *C. wrairi* foi a espécie que apresentou maior similaridade genética com o genótipo capivara: 99%, 99,7%, 99,5% e 91,6% para os genes 18S rRNA, HSP70, actina e GP60, respectivamente. As taxas de similaridade genética relacionadas ao gene 18S rRNA entre as sequências do genótipo capivara e *C. wrairi* são semelhantes às encontradas entre outras espécies e genótipos de *Cryptosporidium* geneticamente similares, como *C. hominis* e *C. parvum* (99,7% - gene 18S rRNA), que apresentam similaridade semelhante à observada entre o genótipo capivara e *C. wrairi* (Morgan-Ryan et al., 2002), assim como entre *C. muris* e *C. andersoni* (99,14%) (Lindsay et al., 2000).

Quando comparamos a sequência do gene HSP70 do genótipo capivara com a sequência de *C. wrairi*, que é a espécie geneticamente mais próxima do genótipo capivara, a similaridade encontrada foi de 99,7%, enquanto as espécies conhecidas por serem geneticamente similares, como *C. hominis* e *C. parvum*, possuem valores de similaridade genética menores (98,5%) (Morgan-Ryan et al., 2002). Todavia, a similaridade encontrada no gene HSP70 é compatível com a encontrada entre *C. proliferans* e *C. muris* (99,5%), que também são espécies geneticamente similares (Kváč et al., 2016). Para o gene da actina compara-se a similaridade genética entre *C. erinacei* e *C. parvum* (99,5%) (Kváč et al., 2014) e entre o genótipo panda e genótipo de urso (99,5%) (Liu et al., 2013).

A árvore filogenética dos fragmentos dos genes 18SrRNA (Figura 4) e actina (Figura 6) revelaram o agrupamento e possivelmente uma ancestralidade em comum com *C. wrairi*. *Cryptosporidium wrairi* é encontrado em porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*), um roedor também pertencente à família das capivaras, Caviidae, o que sustenta a ideia de que hospedeiros semelhantes abrigam espécies de *Cryptosporidium* spp. semelhantes, situação verificada anteriormente em outros

trabalhos com análise filogenética de *Cryptosporidium* spp. (Liu et al., 2013; Wang et al., 2008; Xiao et al., 2002).

Por outro lado, pela análise das sequências do gene HSP70, o genótipo capivara agrupou-se em um clado que compartilha um ancestral em comum com os clados contendo *C. myocastoris* e um outro clado contendo *C. cuniculus* e *C. hominis*. *C. myocastoris* infecta um roedor, o ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*) (Ježková et al., 2021a) que, apesar de possuir comportamento semelhante ao das capivaras, não pertence à mesma família das capivaras, como o porquinho-da-índia (Woods et al., 1992).

O outro clado irmão do genótipo capivara presente na árvore do gene HSP70 contém *C. hominis* e *C. cuniculus*. Essas duas espécies não compartilham similaridade de hospedeiro com o genótipo capivara, já que *C. hominis* possui como hospedeiro principal o homem e *C. cuniculus*, os coelhos. Entretanto, devemos destacar que, mesmo possuindo distâncias genéticas evidentes entre os hospedeiros dessas três espécies agrupadas no clado do genótipo capivara, todas pertencem à superordem Euarchontoglires, que inclui as ordens Primata (*C. hominis*), Lagomorpha (*C. cuniculus*) e Rodentia (genótipo capivara e *C. myocastoris*) (Murphy et al., 2001).

Além disso, o agrupamento do genótipo capivara observado na árvore filogenética do gene HSP70 pode estar relacionado com a característica evolutiva do gene HSP70, pois esse gene é conhecido por ser mais permissivo em relação a mudanças nucleotídicas, o que resulta em uma alta heterogeneidade (Sulaiman et al., 2000; Xiao et al., 2002). As diferenças nucleotídicas entre o genótipo capivara e *C. myocastoris*, por exemplo, são maiores em comparação com o genótipo capivara e *C. wrairi*, que são geneticamente mais próximas e estão em clados diferentes (Figura 5).

De acordo com a nomenclatura de subtipos do gene GP60 proposta por Sulaiman et al. (2005), esse novo genótipo seria classificado em uma nova família do gene GP60 contendo 13 repetições de TCA na região de codificação da serina. No entanto, como neste trabalho foram estudadas somente duas sequências do gene GP60, nós optamos pela análise da sequência do gene GP60 sem a denominação de uma nova família, até que estudos com um número maior de isolados seja realizado.

Nosso trabalho apresentou algumas limitações, entre elas a impossibilidade de coleta de amostras de acordo com o número mínimo, que fosse representativo da população de cada local. O número mínimo esperado por sazonalidade só foi atingido no período de seca na cidade de Três Lagoas (MS) (Tabela 1 e 2). Entretanto, o número total de amostras colhidas por local, somando os dois períodos sazonais, atingiu o número mínimo necessário para ser representativo da população, exceto no Lago do Amor (Campo Grande – MS) (Tabela 1 e 2).

A limitação na coleta de amostras ocorreu devido ao comportamento de deslocamento das capivaras nos locais de coleta, à flutuação no número de indivíduos presentes nos locais no momento da coleta e ao não conhecimento do número exato de indivíduos das populações. Além disso, alguns grupos não permitiram a aproximação do coletor e se abrigaram em locais inacessíveis durante todo o período de amostragem. No Lago do Amor, por exemplo, a maioria da população das capivaras permanecia no lado do lago, ao qual nós não tínhamos acesso. Em Três Lagoas, as capivaras se deslocavam e se dispersavam para outras lagoas menores da cidade, limitando a nossa estratégia de coleta. Dessa forma, podemos destacar que a coleta de amostras frescas de fezes de capivaras de vida livre depende muito da dinâmica de deslocamento dos animais e da tolerância dos animais com a aproximação do coletor.

2.7 Conclusão

Neste trabalho, um novo genótipo de *Cryptosporidium*, genótipo capivara, foi identificado em capivaras de vida livre. Foi verificada baixa prevalência de *Cryptosporidium* spp. em capivaras de áreas urbanas.

2.8 Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e à Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo – FAPESP, processo: 2021/01231-2.

2.9 Referências Bibliográficas

- Almeida, A.M.R., Arzua, M., Trindade, P.W.S., Silva Junior, A., 2013. Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) (Mammalia: Rodentia) em áreas verdes do município de Curitiba (PR). *Stud. Biol.* 35, 9–16. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i319663>
- Almeida, A.R., Biondi, D., 2014. Área de uso de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. em ambiente urbano. *Ciênc. Anim. Bras.* 15, 369–376. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i319663>.
- Alves, M., Xiao, L., Sulaiman, I., Lal, A.A., Matos, O., Antunes, F., 2003. Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2744–2747. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2744-2747.2003>.
- Araújo, A.J.U.S., Kanamura, H.Y., Almeida, M.E., Gomes, A.H.S., Pinto, T.H.L., Da Silva, A. J. 2008. Genotypic identification of *Cryptosporidium* spp. isolated from HIV-infected patients and immunocompetent children of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, 50, 139-143. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008005000003>.
- Barrera, J.P., Carmena, D., Rodríguez, E., Checa, R., López, A.M., Fidalgo, L.E., Gálvez, R., Marino, V., Fuentes, I., Miró, G., Montoya, A., 2020. The red fox (*Vulpes vulpes*) as a potential natural reservoir of human cryptosporidiosis by *Cryptosporidium hominis* in Northwest Spain. *Transbound. Emerg. Dis.* 67, 2172–2182. <https://doi.org/10.1111/tbed.13569>
- Borges, J.C.G., dos Santos Lima, D., da Silva, E.M., de Oliveira Moreira, A.L., Marmontel, M., Carvalho, V.L., de Souza Amaral, R., Lazzarini, S.M., Alves, L.C., 2017. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* sp. in aquatic mammals in northern and northeastern Brazil. *Dis. Aquat. Organ.* 126, 25–31. <https://doi.org/10.3354/dao03156>.
- Cajaiba, R.L., Silva, W.B., Piovesan, P.R.R., 2015. Animais silvestres utilizados como recurso alimentar em assentamentos rurais no município de Uruará, Pará, Brasil. *Desenvolv. Meio Ambiente*, 34, 157-168. <http://dx.doi.org/10.5380/dma.v34i0.38889>

- Calouro, A.M., 1999. Riqueza de mamíferos de grande e médio porte do Parque Nacional da Serra do Divisor (Acre, Brasil). *Rev. Bras. Zool.* 16, 195–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751999000600020>
- Carleton, M.D., Musser, G.D. 2005. Order Rodentia. In: Wilson, D.E.; Reeder, D.M. (Eds.), *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic* Johns Hopkins University Press: Baltimore, MA, USA, 745–742.
- Cerdeira, R.G.P., Ruffino, M.L., Isaac, V.J., 1997. Consumo De Pescado E Outros Alimentos Pela População Ribeirinha Do Lago Grande De Monte Alegre, Pa - Brasil. *Acta. Amaz.* 27, 230-227. <https://doi.org/10.1590/1809-43921997273228>
- Chen, Y.W., Zheng, W.B., Zhang, N.Z., Gui, B.Z., Lv, Q.Y., Yan, J.Q., Zhao, Q., Liu, G.H., 2019. Identification of *Cryptosporidium viatorum* XVa subtype family in two wild rat species in China. *Parasit. Vectors.* 12, 502. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3763-6>
- Chen, J., Wang, W., Lin, Y., Sun, L., Li, N., Guo, Y., Kvac, M., Ryan, U., Feng, Y., Xiao, L., 2021. Genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp. from pet rodents indicate high zoonotic potential of pathogens from chinchillas. *One Health.* 13, 100269. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100269>
- Coklin, T., Farber, J.M., Parrington, L. J., Coklin, Ž., Ross, W. H., Dixon, B.R., 2010. Temporal changes in the prevalence and shedding patterns of *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in a herd of dairy calves in Ontario. *Can. Vet. J.* 51, 841–846. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21037883>
- Čondlová, Š., Horčíčková, M., Sak, B., Květoňová, D., Hlášková, L., Konečný, R., Stanko, M., McEvoy, J., Kváč, M. 2018. *Cryptosporidium apodemi* sp. n. and *Cryptosporidium ditrichi* sp. n. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in *Apodemus* spp. *Eur. J. Protistol.* 63, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2017.12.006>
- Couso-Pérez, S., de Limia, F.B.V., Ares-Mazás, E., Gómez-Couso, H., 2020. First report of zoonotic *Cryptosporidium parvum* GP60 subtypes IIaA15G2R1 and IIaA16G3R1 in wild ponies from the northern Iberian Peninsula. *Parasitol. Res.* 119, 249–254. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06529-x>

Cunha, F.S., Peralta, R.H.S., Peralta, J M., 2019. New insights into the detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* with emphasis in Brazilian studies: a review. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 61. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201961028>

Danišová, O., Valenčáková, A., Stanko, M., Luptáková, L., Hatalová, E., Čanády, A., 2017. Rodents as a reservoir of infection caused by multiple zoonotic species/genotypes of *C. parvum*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. scrofarum*, and the first evidence of *C. muskrat* genotypes I and II of rodents in Europe. Acta. Tropica. 172, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.04.013>

Dean, A.G., Sullivan, K.M., Soe, M.M. 2013. OpenEpi: Open-Source Epidemiologic Statistics for Public Health. www.OpenEpi.com.

Dumaine, J.E., Tandel, J., Striepen, B., 2020. *Cryptosporidium parvum*. Trends Parasitol. 36, 485–486. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.11.003>

Drinkard, L.N., Halbritter, A., Nguyen, G.T., Sertich, P.L., King, M., Bowman, S., Huxta, R., Guagenti, M., 2015. Notes from the Field: Outbreak of Cryptosporidiosis Among Veterinary Medicine Students--Philadelphia, Pennsylvania, February 2015. MMWR. Morbidity and mortality weekly report, 64(28), 773. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6428a7>

Eberhardt, A.T., Costa, S.A., Marini, M.R., Racca, A., Baldi, C.J., Robles, M.R., Moreno, P.G., Beldomenico, P.M., 2013. Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. PLoS One. 24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070382>

Elliot, A., Morgan, U.M., Thompson, R.C.A., 1999. Improved staining method for detecting *Cryptosporidium* oocysts in stools using malachite green. J. Gen. Appl. Microbiol. 45, 139–142. <https://doi.org/10.2323/jgam.45.139>

Fall, A., Thompson, R.C., Hobbs, R.P., Morgan-Ryan, U., 2003. Morphology is not a reliable tool for delineating species within *Cryptosporidium*. J. Parasitol. 89, 399-402. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2003\)089\[0399:MINART\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2003)089[0399:MINART]2.0.CO;2)

Feng, S., Jia, T., Huang, J., Fan, Y., Chang, H., Han, S., Luo, J., He, H., 2020a. Identification of *Enterocytozoon bieneusi* and *Cryptosporidium* spp. in farmed wild

- boars (*Sus scrofa*) in Beijing, China. Infect. Genet. Evol. 80, 104-231. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104231. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104231>
- Feng, S., Chang, H., Wang, Y., Huang, C., Han, S., He, H., 2020b. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. in Brandt's Vole in China. Front. Vet. Sci. 7, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00300>
- Ferraz, K.M.P.M. de B., Bonach, K., Verdade, L.M., 2005. Relationship between body mass and body length in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Biota. Neotrop. 5, 197–200. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032005000100020>
- Ferraz, K.M.P.M.B., Peterson, A.T., Scachetti-Pereira, R., Vettorazzi, C.A., Verdade, L.M., 2009. Distribution of capybaras in an agroecosystem, Southeastern Brazil, based on ecological niche modeling. J. Mammal. 90, 189–194. <https://doi.org/10.1644/07-MAMM-A-338.1>
- Ferreira, F.P., Caldart, E.T., Freire, R.L., Mitsuka-Breganó, R., Freitas, F.M., Miura, A.C., Mareze, M., Martins, F.D.C., Urbano, M.R., Seifert, A.L., Navarro, I. T., 2018. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. Ver. Bras. Parasitol. Vet. 27, 327-337. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180050>
- Franco, R.M.B., Rocha-Eberhardt, R., Neto, R.C. 2001. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. 2001. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 43, 109-111. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652001000200011>
- Grott, S.C., Hartmann, B., Silva Filho, H.H., Franco, R.M.B., Greinert, J.A., 2016. Detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. na água bruta das estações de tratamento no município de Blumenau, SC, Brasil. Ver. Ambient. Água 11, 445–458. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1853>
- Gu, Y., Wang, X., Zhou, C., Li, P., Xu, Q., Zhao, C., Liu, W., Xu, W., 2016. Investigation on *Cryptosporidium* infections in wild animals in a zoo in Anhui province. J. Zoo Wild. Med. 47, 846–854. <https://doi.org/10.1638/2015-0301.1>
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic. Acids. Symp. Ser. 41, 95-98.

Herrera, E.A., 1985. Coprophagy in the Capybara, *Hydrochoerus hydrochoeris*. J. Zoo. 207, 616-619. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1985.tb04958.x>

Horčíčková, M., Čondlová, Š., Holubová, N., Sak, B., Květoňová, D., Hlásková, L., Konečný, R., Sedláček, F., Clark, M., Giddings, C., McEvoy, J., Kváč, M., 2019. Diversity of *Cryptosporidium* in common voles and description of *Cryptosporidium alticolis* sp. n. and *Cryptosporidium microti* sp. n. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). Parasitology. 146(2), 220-233. <https://doi.org/10.1017/S0031182018001142>

Ježková, J., Limpouchová, Z., Prediger, J., Holubová, N., Sak, B., Konečný, R., Květoňová, D., Hlásková, L., Rost, M., McEvoy, J., Rajský, D., Feng, Y., Kváč, M., 2021a. *Cryptosporidium myocastoris* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae), the Species Adapted to the Nutria (*Myocastor coypus*). Microorganisms. 9(4), 813. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040813>

Ježková, J., Prediger, J., Holubová, N., Sak, B., Konečný, R., Feng, Y., Xiao, L., Rost, M., McEvoy, J., & Kváč, M. 2021b. *Cryptosporidium ratti* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) and genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in brown rats (*Rattus norvegicus*) in the Czech Republic. Parasitology, 148(1), 84–97. <https://doi.org/10.1017/S0031182020001833>

Jian, Y., Zhang, X., Li, X., Schou, C., Charalambidou, I., Ma, L., Karanis, P., 2021. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild birds from Qinghai Lake on the Qinghai-Tibetan Plateau, China. Parasitol. Res. 120, 615–628. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06993-w>

Johnson, D.W., Pieniazek, N.J., Griffin, D.W., Misener, L., Rose, J.B. 1995. Development of a PCR protocol for sensitive detection of *Cryptosporidium* oocysts in water samples. Appl. Environ. Microbiol. 61, 3849-55. <https://doi.org/10.1128/aem.61.11.3849-3855.1995>

Kivistö, R., Kämäräinen, S., Huitu, O., Niemimaa, J., Henttonen, H. 2021. Zoonotic *Cryptosporidium* spp. in Wild Rodents and Shrews. Microorganisms. 9(11), 2242. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112242>

Kotloff, K.L., Nataro, J.P., Blackwelder, W.C., Nasrin, D., Farag, T.H., Panchalingam, S., Wu, Y., Sow, S.O., Sur, D., Breiman, R.F., Faruque, A.S.G., Zaidi, A.K.M., Saha, D., Alonso, P.L., Tamboura, B., Sanogo, D., Onwuchekwa, U., Manna, B.,

Ramamurthy, T., Kanungo, S., Ochieng, J.B., Omore, R., Oundo, J.O., Hossain, A., Das, S.K., Ahmed, S., Qureshi, S., Quadri, F., Adegbola, R.A., Antonio, M., Hossain, M.J., Akinsola, A., Mandomando, I., Nhampossa, T., Acácio, S., Biswas, K., O'Reilly, C.E., Mintz, E.D., Berkeley, L.Y., Muhsen, K., Sommerfelt, H., Robins-Browne, R.M., Levine, M.M., 2013. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. *Lancet*. 382, 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60844-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60844-2)

Kumar, S., Tamura, K., Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.* 5, 150–163. <https://doi.org/10.1093/bib/5.2.150>

Kváč, M., McEvoy, J., Loudová, M., Stenger, B., Sak, B., Květoňová, D., Ditrich, O., Rašková, V., Moriarty, E., Rost, M., Macholán, M., Piálek, J., 2013. Coevolution of *Cryptosporidium tyzzeri* and the house mouse (*Mus musculus*). *Int. J. Parasitol.* 43(10), 805-817. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.04.007>

Kváč, M., Hofmannová, L., Hlásková, L., Květoňová, D., Vítovec, J., McEvoy, J., Sak, B., 2014. *Cryptosporidium erinacei* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in hedgehogs. *Vet. Parasitol.* 17, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.014>

Kváč, M., Havrdová, N., Hlásková, L., Daňková, T., Kanděra, J., Ježková, J., Vítovec, J., Sak, B., Ortega, Y., Xiao, L., Modrý, D., Chelladurai, J.R.J.J., Prantlová, V., McEvoy, J., 2016. *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): Molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. *PLoS One*. 11, 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147090>

Li, J., Shi, K., Sun, F., Li, T., Wang, R., Zhang, S., Jian, F., Ning, C., Zhang, L., 2019. Identification of human pathogenic *Enterocytozoon bieneusi*, *Cyclospora cayetanensis*, and *Cryptosporidium parvum* on the surfaces of vegetables and fruits in Henan, China. *Int. J. Food. Microbiol.* 307, 108292. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108292>

Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R., Blagburn, B.L., 2000. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Cattle,

Bos taurus. J. Eukaryot. Microbiol. 47, 91–95. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2000.tb00016.x>

Liu, X., He, T., Zhong, Z., Zhang, H., Wang, R., Dong, H., Wang, C., Li, D., Deng, J., Peng, G., Zhang, L., 2013. A new genotype of *Cryptosporidium* from giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) in China. Parasitol. Int. 62, 454–458. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.06.004>

Liu, X., Zhu, H., Meng, W., Dong, H., Han, Q., An, Z., Qi, M., Ge, Y., Wang, R., 2019. Occurrence of a *Cryptosporidium xiaoi*-like genotype in peafowl (*Pavo cristatus*) in China. Parasitol. Res. 118, 3555–3559. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06517-1>

Lopes, A.M.M.B., Gomes, L.N.L., Martins, F. de C., Cerqueira, D.A., Mota Filho, C.R., von Sperling, E., de Pádua, V.L., 2017. Dinâmica de protozoários patogênicos e cianobactérias em um reservatório de abastecimento público de água no sudeste do Brasil. Eng. Sanit. Ambient. 22, 25–43. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522016143529>

Lv, C., Zhang, L., Wang, R., Jian, F., Zhang, S., Ning, C., Wang, H., Feng, C., Wang, X., Ren, X., Qi, M., Xiao, L., 2009. *Cryptosporidium* spp. in wild, laboratory, and pet rodents in china: prevalence and molecular characterization. Appl. Environ. Microbiol. 75(24), 7692-7699. <https://doi.org/10.1128/AEM.01386-09>

Mangini, A.C.S., Souza Dias, R.M.D., Grisi, S.J.F.E., Escobar, A.M.U., Torres, D.M.A.G.V., Zuba, I.P.R., Quadros, C.M.S., Chieffi, P. P., 1992. Parasitismo por *Cryptosporidium* sp. em crianças com diarreia aguda. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 34, 341-345. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651992000400012>

Martins, F.D.C., Ladeia, W.A., Toledo, R.S., Garcia, J.L., Navarro, I.T., Freire, R.L. 2019. Surveillance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in sewage from an urban area in Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 28, 291-297. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019037>

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Meio Ambiente, do Planejamento, da Ciência e Tecnologia (SEMAC). Instituto de meio ambiente de Mato Grosso do Sul. Campo Grande. 2011. Plano de Manejo do Parque Estadual do Prosa. Disponível em: <chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://www.servicos.ms.gov.br/imasuld
ownloads/PlanosdeManejo/planomanejoPEP.pdf>

Meireles, M.V., Soares, R.M., Bonello, F., Gennari, S.M., 2007. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. *Vet. Parasitol.* 147, 166–170. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.034>

Mendes, A., Nogueira, S. S. C., Lavoretti, A., Nogueira-Filho, S. L.G. 2000. A note on the cecotrophy behavior in capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66, 161-167. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(99\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(99)00080-5)

Morgan, U.M., Monis, P.T., Xiao, L., Limor, J., Sulaiman, I., Raidal, S., O'Donoghue, P., Gasser, R., Murray, A., Fayer, R., Blagburn, B.L., Lal, A.A., Thompson, R.C. 2001. Molecular and phylogenetic characterisation of *Cryptosporidium* from birds. *Int. J. Parasitol.* 31, 289-96. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(00\)00164-8](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00164-8)

Morgan-Ryan, U.M., Fall, A., Ward, L.A., Hijjawi, N., Sulaiman, I., Fayer, R., Thompson, R.C.A., Olson, M., Lal, A., Xiao, L., 2002. *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 49, 433–440. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2002.tb00224.x>

Murphy, W.J., Eizirik, E., O'Brien, S.J., Madsen, O., Scally, M., Douady, C.J., Teeling, E., Ryder, O.A., Stanhope, M.J., de Jong, W.W., Springer, M.S., 2001. Resolution of the early placental mammal radiation using bayesian phylogenetics. *Science.* 294, 2348–2351. <https://doi.org/10.1126/science.1067179>

O'Connor, R.M., Shaffie, R., Kang, G., Ward, H.D., 2011. Cryptosporidiosis in patients with HIV/AIDS. *AIDS.* 25, 549–560. <https://doi.org/10.1051%2Fparasite%2F2020025>

Oates, S.C., Miller, M.A., Hardin, D., Conrad, P.A., Melli, A., Jessup, D.A., Dominik, C., Roug, A., Tinker, M.T., Miller, W.A., 2012. Prevalence, environmental loading, and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from domestic and wild animals along the central California coast. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 8762–8772. <https://doi.org/10.1128/AEM.02422-12>

Ojasti, A.M.J., 1986. *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Mamm. Species.** 264, 1-7. <https://doi.org/10.2307/3503784>

- Olson, M.E., O'Handley, R.M., Ralston, B.J., McAllister, T.A., Thompson, R.C.A., 2004. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. Trends Parasitol. 20, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.015>
- Oshiro, E.T., Dorval, M.E., Nunes, V.L., Silva, M.A., Said, L.A. 2000. Prevalência do *Cryptosporidium parvum* em crianças abaixo de 5 anos, residentes na zona urbana de Campo Grande, MS, Brasil, 1996. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 33, 277-280. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822000000300007>
- Parsons, M.B., Travis, D., Lonsdorf, E.V., Lipende, I., Roellig, D.M.A., Kamenya, S., Zhang, H., Xiao, L., Gillespie, T.R., 2015. Epidemiology and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. in Humans, Wild Primates, and Domesticated Animals in the Greater Gombe Ecosystem, Tanzania. PLoS Negl. Trop. Dis. 9, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003529>
- Peralta, R.H., Velásquez, J.N., Cunha, F.S., Pantano, M.L., Sodré, F.C., Silva S., Astudillo, O.G., Peralta, J.M., Carnevale, S. 2016. Genetic diversity of *Cryptosporidium* identified in clinical samples from cities in Brazil and Argentina. Mem. Inst Oswaldo Cruz. 111, 30-36. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150303>
- Pereira, J.P.R. e Schiavetti, A., 2010. Conhecimentos e usos da fauna cinegética pelos caçadores indígenas "Tupinambá de Olivença" (Bahia). Biota Neotrop. 10, 175-183. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000100018>
- Qi, M., Luo, N., Wang, H., Yu, F., Wang, R., Huang, J., Zhang, L., 2015. Zoonotic *Cryptosporidium* spp. and *Enterocytozoon bienersi* in pet chinchillas (*Chinchilla lanigera*) in China. Parasitol. Int. 64, 339–341. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.05.007>
- Reginatto, A.R., Farret, M.H., Fanfa, V.R., Silva, A. S., Monteiro, S.G. 2008. Infecção por *Giardia* spp. e *Cystoisospora* spp. em capivara e cutia no sul do Brasil. Rev. Port. Ciênc. Vet. 103, 96-99.
- Rezende, N.C.C., Bezerra, C.L.P.A.M., Almeida, J.J.S., Fernandes, T.U.G., Luz, K.G. 2016. Secondary transmission of cryptosporidiosis associated with well water consumption: two case studies. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 49, 260-262.

Rodrigues, M.V., de Paula, T.A.R., Ferreira, L.B.C., Ávila, E.C., da Silva, L.C., Souza, V.B., 2013. Comportamento de um grupo de capivaras em uma área urbanizada. *Acta Vet. Bras.* 7, 212–217.

Rodrigues, S.S., Fonseca, C.C., Paula, T.A.R. de, Peixoto, J.V., 2006. Aspectos biométricos corporais e do intestino delgado da capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766 (Mammalia, Rodentia, Hydrochaeridae). *Biotemas*.19, 79–86.

Sergeant, E.S.G., 2018. Epitools Epidemiological Calculators. Ausvet. Available at: <http://epitools.ausvet.com.au>.

Silva, R.J.N., Garavello, M.E.P.E. 2015. Alterações nas estratégias de subsistência: o caso dos índios brasileiros Xavantes. *Segur. Aliment. Nutr.* 16, 32–48.

Souza, D., Pinto, A. L. 2012. Qualidade e limitações de uso da água superficial da Lagoa Maior, Três Lagoas-Ms. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista* 7, 771–780. <https://doi.org/10.17271/19800827722011116>

Souza, M. S. de, Vieira, B. R., Riva, H. G., Homem, C. G., Silva, D. C., Nakamura, A. A., Meireles, M. V. 2015. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em animais exóticos de companhia no Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 67, 1321-1326. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-7468>

Souza, S.L.P., Benatti, H.R., Luz, H.R., Costa, F.B., Pacheco, R. de C., Labruna, M.B., 2021. Endoparasites of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from anthropized and natural areas of Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 30. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021049>

Sulaiman I.M., Hira P.R., Zhou, L., Al-Ali, F.M., Al-Shelahi, F.A., Shweiki, H.M., Iqbal, J., Khalid, N., Xiao, L., 2005. Unique endemicity of cryptosporidiosis in children in Kuwait. *J. Clin. Microbiol.* 43(6), 2805-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2805-2809.2005>

Sulaiman, I.M., Morgan, U.M., Thompson, R.C.A., Lal, A.A., Xiao, L., 2000. Phylogenetic relationships of *Cryptosporidium* parasites based on the 70- kilodalton heat shock protein (HSP70) gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2385–2391. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2385-2391.2000>

- Sulaiman, I.M., Lal, A.A., Xiao, L., 2002. Molecular phylogeny and evolutionary relationships of *Cryptosporidium* parasites at the actin locus. J. Parasitol. 88, 388–394. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2002\)088\[0388:MPAERO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0388:MPAERO]2.0.CO;2)
- Thompson, R.C., Olson, M.E., Zhu, G., Enomoto, S., Abrahamsen, M.S., Hijjawi, N.S., 2005. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. Adv. Parasitol. 59, 77-158. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)59002-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)59002-X)
- Uribe, M., Hermosilla, C., Rodríguez-Durán, A., Vélez, J., López-Osorio, S., Chaparro-Gutiérrez, J.J., Cortés-Vecino, J.A. 2021. Parasites Circulating in Wild Synanthropic Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*): A One Health Approach. Pathogens. 10(9), 1152. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091152>
- Verdade, L.M., Ferraz, K.M.P.M.B., 2006. Capybaras in an anthropogenic habitat in Southeastern Brazil. Braz. J. Biol. 66, 371–378. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842006000200019>
- Vetterling, J.M., Jervis, H.R., Merrill, T.G., Sprinz, H., 1971. *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus. J. Protozool. 18, 243-247. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1971.tb03315.x>
- Wang, R., Zhang, L., Feng, Y., Ning, C., Jian, F., Xiao, L., Zhao, J., Wang, Y., 2008. Molecular characterization of a new genotype of *Cryptosporidium* from American minks (*Mustela vison*) in China. Vet. Parasitol. 154, 162–166.
- Woods, C.A., Contreras, L., Willner-Chapman, G., Whidden, H.P., 1992. *Myocastor coypus*. Mammal. Species. 398, 1- 8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.038>
- Xiao, L., Alderisio, K., Limor, J., Royer, M., Lal, A.A., 2000. Identification of Species and Sources of *Cryptosporidium* Oocysts in Storm Waters with a Small-Subunit rRNA-Based Diagnostic and Genotyping Tool. Appl. Environ. Microbiol. 66, 5492–5498. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.038>
- Xiao, L., Sulaiman, I.M., Ryan, U.M., Zhou, L., Atwill, E.R., Tischler, M.L., Zhang, X., Fayer, R., Lal, A.A., 2002. Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: Implications for taxonomy and public health. Int. J. Parasitol. 32, 1773–1785. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00197-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00197-2)

Young, K.H., Bullock, S.L., Melvin, D.M., Spruill, C.L. 1979. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J. Clin. Microbiol. 10, 852-3. <https://doi.org/10.1128/jcm.10.6.852-853.1979>

Zahedi, A., Durmic, Z., Gofton, A.W., Kueh, S., Austen, J., Lawson, M., Callahan, L., Jardine, J., Ryan, U., 2017. *Cryptosporidium homai* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporididae) from the guinea pig (*Cavia porcellus*). Vet Parasitol. 15, 245:92-101. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.014>

3 CAPÍTULO 2 - PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) DE ÁREAS URBANAS DO MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

Camila Michele de Souza Hossotani¹, Débora Regina Romualdo da Silva¹ Fabio Eiji Fukumori¹ Rafaella da Cruz Lima¹, Flavia Maria de Almeida Moreira ², Katia Denise Saraiva Bresciani¹, Marcelo Vasconcelos Meireles^{1*}

1 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Araçatuba, São Paulo, Brasil

2 Universidade de Mato Grosso do Sul – UFMS, Três Lagoas, MS, Brasil

*Autor correspondente - Endereço postal completo: Rua Clóvis Pestana, 793 - Dona Amélia – Araçatuba, São Paulo - CEP 16050-680. Telefone: +55 (18) 3636-1425.

E-mail: m.meireles@unesp.br

3.1 Resumo

As capivaras são os maiores roedores vivos, ocorrem em diversos países e nos últimos anos tem ocupado áreas urbanas e rurais. Podem abrigar diversas espécies de parasitos e atuar como reservatório de diversas espécies de parasitos. O objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência de enteroparasitos de capivaras de três áreas urbanas no estado do Mato Grosso do Sul. Foram coletadas 392 amostras de fezes frescas de capivaras em dois períodos sazonais e três faixas etárias: adultos, jovens e filhotes. As amostras foram processadas pela técnica de Willis. Nossas análises revelaram que 86% (339/392) das amostras continham pelo menos uma espécie de parasito e 13% (53/392) estavam negativas. Foram identificadas sete espécies/famílias de endoparasitos intestinais: oocistos de *Eimeria* spp. (62%; 245/392), ovos de *Trichostrongylidae* (39%; 155/392), *Capillaria* sp. (1%; 6/392), *Anoplocephalidae* (2/392; 0,5%), *Strongyloides* sp. (0,5%; 2/392) e *Paramphitosmatidae* (0,7%; 3/392) e ovos e adultos de *Protozoophaga obesa* (24%; 93/392). As taxas de ocorrência por faixa etária e sazonalidade variaram conforme o parasito. O gênero *Eimeria* é mais prevalente em filhotes de capivaras ao longo do ano; os animais adultos são parasitados com mais frequência por *Eimeria* sp. e *P. obesa*, no período de chuva, e por *Trichostrongylidae* no período de seca. Dessa forma, concluímos que capivaras de áreas urbanas são parasitadas por diversas

espécies e famílias de parasitos e que as taxas de ocorrência dos parasitos ao longo do ano variam conforme a sazonalidade e a idade do hospedeiro.

Palavras-chave: Enteroparasitos. Trichostrongylidae. Coccídios. Anoplocephalidae.

3.2 Abstract

Capybaras are the largest living rodents, occur in several countries and in recent years have occupied urban and rural areas. These rodents can harbor several species of parasites and can act as a reservoir of several parasites. The aim of this study was to verify the prevalence of endoparasites of capybaras from three urban areas in the state of Mato Grosso do Sul. A total of 392 fresh fecal samples of capybaras were collected in two seasonal periods and three age groups: adults, juveniles, and infants. Our analyzes revealed that 86% (339/392) of the samples were positive by at least one endoparasite and 13% (53/392) were negative. Seven species/families of parasites were identified: oocysts of *Eimeria* spp. (62%; 245/392) and the following helminth eggs: Trichostrongylidae (39%; 155/392), *Capillaria* sp. (1%; 6/392), Anoplocephalidae (2/392; 0.5%), *Strongyloides* sp. (0.5%; 2/392), Paramphitosmatidae (0.7%; 3/392) and eggs and adults of *Protozoophaga obesa* (24%; 93/392). Prevalence by age group and seasonality varied according to the parasite. *Eimeria* sp. are more prevalent in young capybaras throughout the year and adults are parasitized with higher frequency by *Eimeria* sp. and *P. obesa* in the rainy season and by Trichostrongylidae in the dry season. We conclude that capybaras from urban areas are parasitized by several species and families of parasites and the prevalence of parasites throughout the year may vary according to seasonality and age of the host.

Keywords: enteroparasites; Trichostrongylidae; coccidia; Anoplocephalidae; capybaras

3.3 Introdução ²

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus 1766) são os maiores roedores vivos, estão distribuídos por quase todo o território brasileiro e são mamíferos semiaquáticos. Podem colonizar diversos ambientes próximos de corpos d'água. Estes animais vivem em grandes bandos de indivíduos geralmente com um macho dominante (Ojasti, 1986).

Devido a perda de habitat estes grandes roedores colonizam cada dia mais ambientes urbanos. Nas áreas urbanas, as capivaras colonizam áreas como praças, parques e represas, as quais estão próximas de corpos d'água como rios, lagos, lagoas e reservatórios (Ojasti, 1986; Almeida et al., 2013; Almeida e Biondi, 2014). Nos ambientes antrópicos as capivaras possuem densidade populacional e biomassa maiores do que as observadas em ambientes naturais possivelmente pela abundância da disponibilidade de alimento (Verdade e Ferraz, 2006) e a falta de predadores (Corriale et al., 2013).

Os ambientes artificiais somados com a alta densidade populacional de capivaras pode ter um impacto significativo na estrutura populacional e nas condições sanitárias destes animais. É conhecido que a alta taxa parasitária pode modular as populações de capivaras, principalmente em áreas artificiais protegidas que não possuem predadores ou caça (Corriale et al., 2013). As capivaras podem abrigar diversas espécies de helmintos e protozoários (Sinkoc et al., 2004, Souza et al., 2021, Uribe et al., 2021). Foram encontrados parasitos como *Vianella* sp., *Strongyloides* sp., Ancylostomatidae (Di Chiacchio et al., 2014), *Eimeria* spp., Trychostrongilidae, *Capillaria* sp., Ascaridae (El-Kouba et al., 2008), *Prozoophaga obesa* (Uribe et al., 2021) entre outros. A diversidade de parasitos que infectam as capivaras de áreas antropizadas é maior do que a encontrada em capivaras de áreas naturais não antropizadas (Souza et al., 2021).

As capivaras parasitadas por parasitos gastrointestinais podem aparentar estarem saudáveis sugerindo serem adaptadas às parasitoses. Entretanto, os parasitos gastrointestinais que infectam capivaras podem causar grande impacto em parâmetros hematológicos e bioquímicos destes animais (Souza et al., 2021). O trematódeo *Taxorchis schistocotyle*, ao parasitar o intestino grosso das capivaras, causam

² O artigo está formatado de acordo com as normas da Revista *Veterinary Parasitology*. Vide Anexo D.

colite necrótica (Avelar et al., 2015) e as infecções por *Strongyloides chapini*, *Viannella hydrochoeri* e *Trichostrongylus axei* são consideradas como um risco à manutenção da saúde de animais jovens nascidos em cativeiro (Bonuti et al., 2002). A eimeriose também pode ser uma ameaça a filhotes de capivaras de criatórios semi-intensivos podendo ocasionar a morte. Os surtos por eimeriose ocorreram em dois picos de nascimentos do ano (outono e primavera). Os principais sintomas apresentados por filhotes de capivaras acometidos por eimeriose foram: conjuntivite, diarreia e apatia, com prostração e isolamento do restante do grupo (Pinheiro et al., 2006).

A diversidade de parasitos gastrointestinais em capivaras é esperada devido ao seu comportamento de se estabelecer em áreas próximas a corpos d'água com uma área seca de pastagem, onde concomitantemente se reproduzem, forrageiam e defecam (Ojasti, 1986). Além disso, estes animais vivem em grandes bandos aglomerados possibilitando abundância e intensidade das infecções helmínticas (Bonuti et al., 2002) além de forragearem muito rente ao solo (Alho, 1986) podendo facilitar a estratégia de infecção de alguns parasitos, por exemplo *P. obesa* (Ribeiro e Amato, 2003).

Além da influência das parasitoses as capivaras podem enfrentar mudanças sazonais extremas. Na estação chuvosa geralmente há abundância de alimento e os animais se dispersam pela área de pastagem e acumulam gordura subcutânea. Na estação de seca ocorre a escassez de água e consequentemente os animais se aglomeram ao redor de corpos d'água remanescentes, perdem peso, sofrem com a fome e doenças (Ojasti, 1986). Semelhantemente, já foi observado a flutuação do número de indivíduos da população de capivaras de áreas antropizadas com picos de números de indivíduos na primavera (entre outubro e dezembro) (Verdade e Ferraz, 2006). Apesar das grandes populações de capivaras existirem em diversas áreas antrópicas do Brasil os estudos sobre as parasitoses de capivaras são escassos e desatualizados.

Por isso, com base na característica sinantrópica das capivaras, somada ao seu potencial de abrigar parasitos e as possíveis influências sazonais em sua ecologia, o presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência de endoparasitos gastrointestinais de capivaras ao longo de dois períodos sazonais em três áreas urbanas do Mato Grosso do Sul.

3.4 Material e métodos

3.4.1 Áreas de estudo

Foram coletadas amostras de fezes de capivaras oriundas de duas cidades do Mato Grosso do Sul (Figura 1). Na cidade de Campo Grande foram coletadas amostras em dois locais: no Parque das Nações Indígenas e no Lago do Amor, localizado no campus da Universidade federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Na cidade de Três Lagoas a colheita foi realizada no entorno da Lagoa Maior. Os três locais de coleta são áreas abertas à visitação do público e estão situados no centro das cidades.

3.4.2 Amostras fecais

Foi coletado um total de 392 amostras no período de 2019 a 2020, mediante autorização do Instituto de Meio ambiente de Mato Grosso do Sul (IMASUL - nº 71/405296/2019; Anexo A), do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio - nº 70987-1; Anexo B) e da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP, campus de Araçatuba (nº 917-2019; Anexo C).

As coletas foram realizadas ao longo de um ano e concentradas nos períodos de chuva e de seca. A sazonalidade da coleta foi programada de acordo com os dados coletados no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). De acordo com o INMET, as regiões correspondentes às cidades de Campo grande e Três Lagoas possuem períodos chuvosos entre os meses de novembro e janeiro e de seca entre junho e agosto.

O número mínimo de amostras para o cálculo da prevalência foi calculado com base no número de indivíduos observados e enumerados nos locais de coleta, com auxílio dos profissionais responsáveis (Secretarias municipais do meio Ambientes) dos locais visitados. Com base no número aproximado de indivíduos de cada local, foi calculado o número de amostras esperadas, para determinação da prevalência usando OpenEpi versão 3.0.1 (Dean et al., 2013), disponível em http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm.

Além da sazonalidade, as amostras foram coletadas por faixas etárias e classificadas entre adultos, jovens e filhotes (Figura 2). O critério para classificação da faixa etária foi baseado na biometria dos animais e seu comportamento.

Aproximadamente 30g de amostras foram coletadas da parte superior do montículo de fezes, com auxílio de espátulas de madeira, para evitar a contaminação cruzada. As amostras foram armazenadas em dicromato de potássio 2,5% e refrigeradas a 4º C.

3.4.3 Técnicas parasitológicas

Para análises de endoparasitos as amostras foram processadas pela técnica de Willis (1921). Aproximadamente 1g de amostra de fezes foi dissolvido em solução saturada de cloreto de sódio (1,2 g/ml) e posteriormente analisadas por exame microscópico. A classificação dos gêneros e famílias de parasitos encontrados no presente estudo foi realizada com base na morfologia, coloração e dimensões de acordo com Souza et al. (2021), Uribe et al. (2021), Ribeiro e Amato (2003).

Figura 1 – Mapa das regiões de coletas das duas cidades do Mato Grosso do Sul. E municípios das três áreas de coletas.



Fonte: Elaborada pelos autores

3.4.4 Análise estatística

As taxas de ocorrência e prevalência dos parasitos por faixa etária e por sazonalidade foi calculada usando o Prism Graphpad v.8.0 (www.graphpad.com). Para o cálculo da prevalência foi considerado um intervalo de confiança de 95%

baseado no método de Wilson/Brown. O teste exato de Fisher foi usado para verificar as diferenças entre as taxas de ocorrência das três categorias de idade e de sazonalidade, para cada parasito. Foram consideradas como significativas as diferenças com valores de $p \leq 0,05$.

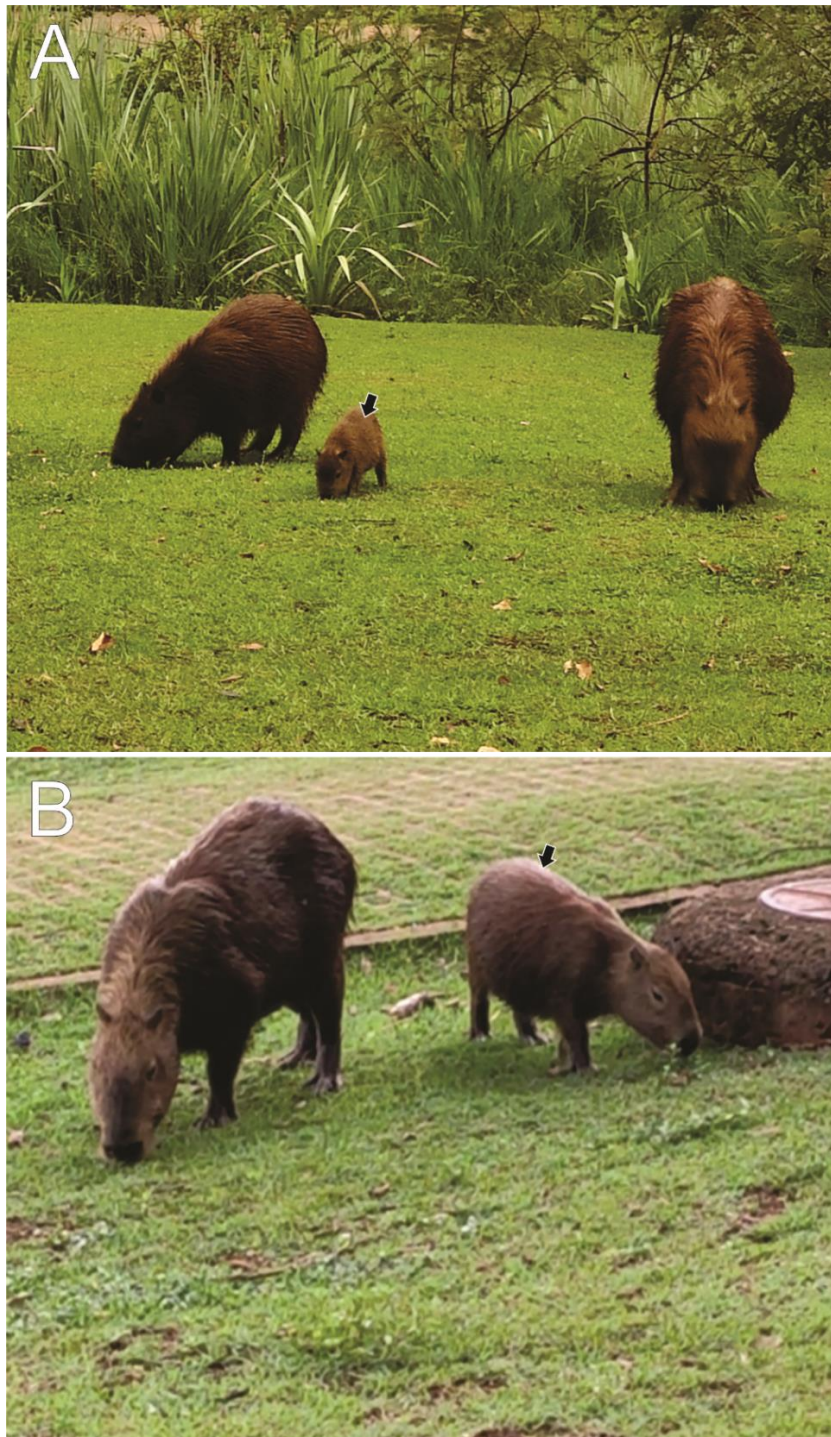
3.5 Resultados

Das 392 amostras analisadas, 86% (339/392; IC: 82-89) estavam parasitadas por pelo menos um parasito intestinal e 13% (53/392; 10-17) foram negativas. Foram identificadas sete espécies/famílias de endoparasitos intestinais: oocistos de *Eimeria* spp., ovos de *Trichostrongylidae*, *Capillaria* sp., *Anoplocephalidae*, *Strongyloides* sp. e *Paraphitosmatidae*, e ovos e adultos de *Protozoophaga obesa* (Figura 3). A prevalência só foi calculada para as amostras coletadas no Parque das Nações Indígenas (Campo Grande) e Lagoa Maior (Três Lagoas) (Tabela 1), pois somente nessas duas populações o número amostral mínimo para cálculo de prevalência foi atingido. As taxas de ocorrência de cada parasito variaram conforme a idade e sazonalidade (Tabela 2).

As taxas de ocorrência totais sazonais foram de 84% (154/182, 78 - 89) no período de chuva e 83% (175/210; 77- 87) no período de seca. As taxas de ocorrência anuais por faixa etária foram de 80% (177/222; IC: 74 - 84) nos adultos, 84% (81/96, IC: 76 - 90) nos jovens e 96% (71/74; IC: 89 - 99) nos filhotes.

Quando comparadas as taxas de ocorrência anuais totais entre os dois períodos sazonais, não ocorreu diferença significativa entre os períodos de chuva e seca. Entretanto, ao comparar as taxas de ocorrência totais por faixas etárias, a ocorrência de endoparasitos ao longo do ano foi maior nos filhotes em comparação com as duas outras categorias: adultos/filhotes ($p = 0,0005$) e jovens/filhotes ($p = 0,02$).

Figura 2 – Faixas etárias de capivaras analisadas no presente estudo. A: Duas capivaras adultas e um filhote (seta); B: uma capivara adulta e uma capivara jovem (seta).



Fonte: elaborada pelos autores

3.5.1 *Eimeria* spp.

A prevalência de *Eimeria* spp. na população do Parque das Nações Indígenas foi de 65% (154/235, IC: 59 – 71) e na Lagoa Maior foi de 59% (61/103,

IC:49-68) e a ocorrência no Lago do Amor foi de 54% (30/55, IC:41 – 67) (Tabela 1). A ocorrência de *Eimeria* spp. dentro do total de amostras analisada foi de 62% (245/392, IC: 57- 67). A ocorrência de *Eimeria* spp. no total amostras analisadas no período de chuva foi de 68% (124/182; IC: 61-74) e 57% (121/210; IC: 50-64) no período de seca (Tabela 3).

Ao longo do ano, as amostras dos adultos apresentaram ocorrência de 53% (119/222, IC: 47-60), os jovens de 61% (59/96, IC: 51-70) e os filhotes de 90% (67/74; IC: 81-95). Os resultados indicaram que, quando a população foi analisada como um todo, maior frequência de *Eimeria* sp. foi detectada no período de chuva ($p < 0,05$, $p = 0,03$). Quando comparadas as taxas de ocorrência anuais, considerando as faixas etárias, o teste exato de Fisher indicou que os filhotes possuem maior ocorrência do que os jovens ($p = 0,0001$) e os adultos ($p = 0,0001$) (Tabela 3). Ao analisar a ocorrência de *Eimeria* spp. em cada faixa etária, nos períodos de chuva e de seca, os adultos foram a única faixa etária que estava parasitada com maior frequência por *Eimeria* sp., no período de chuva, em comparação com o período de seca (Tabela 3).

Tabela1 – Prevalência de parasitos encontrados nas populações de capivaras das cidades de Três Lagoas (Lagoa Maior) e Campo Grande (Parque das Nações Indígenas).

Parasito	Prevalência	
	Local	
	% positivos (n° positivos/total; Intervalo de confiança)	
	Lagoa Maior	Parque das Nações Indígenas
<i>Eimeria</i> spp.	59(61/103; IC:49-68)	65 (154/235; 59–71)
<i>Protozoophaga obesa</i>	19(20/103; IC:13-28)	25 (60/235; 20–31)
Trichostrongylidae	17(18/103; IC:11-26)	54 (127/235; 47–60)
<i>Capillaria</i> sp.	-	2 (5/235; 1–5)
<i>Strongyloides</i> sp.	-	0,4 (1/235; 0,02–2)
Paramphistomatidae	1(1/103; IC:0,04-5)	-

Fonte: Elaborada pelos autores

3.5.2 *Protozoophaga obesa*

Os adultos de *P. obesa* estavam presentes nas fezes frescas (Figura 5). Alguns estavam com seus úteros visíveis e foi realizada a dissecação para

observação e fotografia dos ovos presentes (Figura 6). As taxas de prevalência de *P. obesa* no Parque das Nações Indígenas e na Lagoa Maior foi de 25% (60/235; IC:20 - 31) e 19% (20/103; IC:13 - 28), respectivamente (Tabela 1), enquanto a ocorrência no Lago do Amor foi de 24% (13/54; IC: 14 - 36) (Tabela 2).

A ocorrência de *P. obesa* ao longo de um ano no total de amostras analisadas foi de 24% (93/392; IC: 19 - 28). A ocorrência total por sazonalidade foi de 30% (55/182; IC: 24 - 37) no período de chuva e de 18% (38/210; IC: 13 - 23) no período de seca. A ocorrência de *P. obesa* na população total de capivaras analisadas foi maior no período de chuva ($p \leq 0,05$, $p = 0,006$), quando comparada ao período de seca (Tabela 2).

Por faixa etária ao longo dos dois períodos sazonais, as taxas de ocorrência foram de 23% (52/222; IC: 18-29) em adultos, 31% (30/96; IC: 22-41) em jovens e 15% (11/74; IC: 8-25) em filhotes. Os resultados de ocorrência ao longo de um ano nas faixas etárias destacaram que há diferença significativa ($p \leq 0,05$, $p = 0,01$) entre a ocorrência anual desse parasito em jovens e filhotes, destacando-se os jovens com maior ocorrência (31%), quando comparados com os filhotes (15%) (Tabela 3). A análise da ocorrência de *P. obesa* em cada faixa etária e por sazonalidade revelou que a única categoria que apresentou diferença significativa entre as taxas de ocorrência sazonais foram os adultos ($p < 0,01$) (Tabela 3).

3.5.3 Trichostrongylidae

A prevalência de Trichostrongylidae na população de capivaras do Parque das Nações Indígenas foi de 54% (127/235, IC: 47-60) e na Lagoa Maior foi de 17% (18/103, IC:11-26) (Tabela 1). A ocorrência deste parasito no Lago do Amor foi de 18% (10/ 54, IC: 10-30) (Tabela 2). A ocorrência de ovos de Trichostrongylidae no total de amostras analisadas foi de 39% (155/392; IC: 34-44); sazonalmente, a ocorrência foi de 34% (62/182; IC: 27-41) no período de chuva e de 44% (93/210; IC: 37-51) no período de seca. A ocorrência observada no período de seca foi estatisticamente maior que a observada no período de chuva ($p < 0,05$, $p = 0,04$).

A ocorrência dentro das faixas etárias variou conforme a sazonalidade. Os adultos estavam parasitados com maior frequência no período de seca ($p < 0,05$). Quando as taxas de ocorrência foram comparadas entre as faixas etárias, no período

de seca a ocorrência encontrada nos adultos foi maior que a encontrada nos filhotes (Tabela 3).

3.5.4 *Capillaria* sp., Anoplocephalidae, *Strongyloides* sp. e Paraphistmatidae

Alguns ovos de parasitos foram encontrados em baixas quantidades nas populações analisadas. *Capillaria* sp. foi encontrada no Parque das Nações Indígenas com prevalência de 2% (5/235, IC: 1-5) e no Lago do Amor com ocorrência de 1 % (1/103, IC: 0,05-5) este parasito não foi encontrado nas amostras oriundas da Lagoa Maior em Três Lagoas. A ocorrência considerando o total de amostras analisadas foi de 1% (6/392; IC: 0,6-3), e estavam presentes em duas faixas etárias: jovens (2/96) e adultos (4/222). Estatisticamente, essas taxas de ocorrência não foram significativamente diferentes ($p \geq 0,05$) (Tabela 3).

A prevalência de Anoplocephalidae foi constatada somente na população no Lago do Amor 2% (2/103; IC: 0,3-7). As outras localizações não apresentaram prevalência deste parasito. Considerando todas as amostras analisadas encontramos uma ocorrência de 2/392 (0,5%; IC: 0,7-3) para este parasito. Anoplocephalidae estavam presentes em duas faixas etária, um filhote e um adulto.

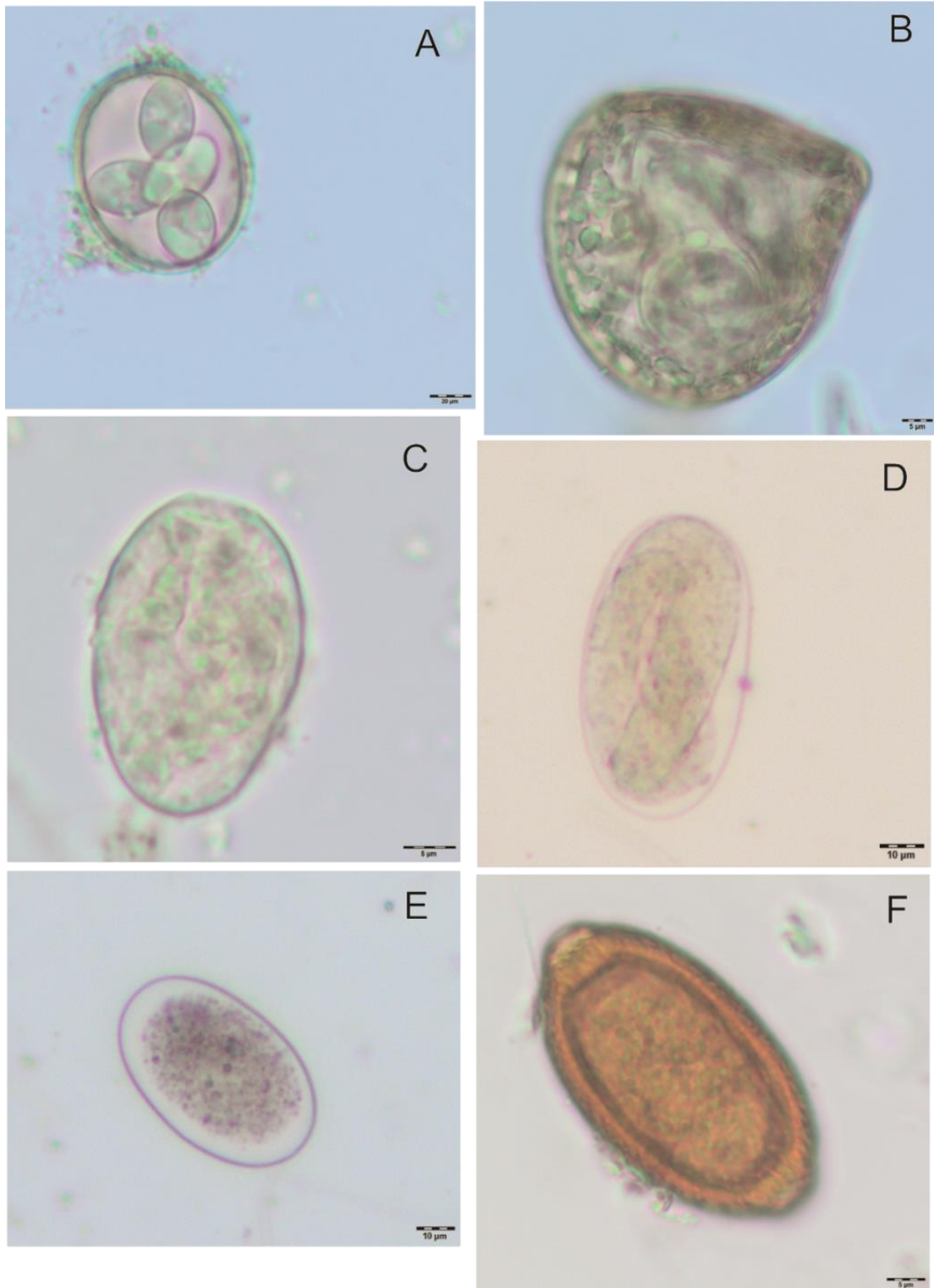
Ovos de *Strongyloides* sp. foram encontrados em apenas duas amostras e em duas faixas etárias: em um adulto e um jovem, ambos no período de seca. A prevalência deste parasito no Parque das Nações Indígenas foi de 0,4% (1/235; IC: 0,02-2) e a ocorrência no Lago do Amor foi de 2% (1/54; 0,1-10). Por fim, também foram encontrados ovos de Paramphistomatidae com prevalência de 1% (1/103, IC: 0,04-5) na Lagoa Maior e 4% (2/54; IC:0,6-12) no Lago do Amor, todas as amostras eram de indivíduos adultos e do período de chuva (Tabela 1 e 2).

Tabela 2 - Ocorrência por faixa etária de ovos e oocistos de parasitos encontrados no presente estudo comparados nos dois períodos sazonais. A = Adultos, J = Jovens, F = Filhotes; IC: Intervalo de confiança.

Parasito	Faixa etária	Ocorrência % positivos (n° positivos/total; Intervalo de confiança)		Valor de p
		Chuva	Seca	
<i>Eimeria</i> sp.	A	62 (62/100; IC: 52-70)	47 (57/122; IC: 38- 55)	0,03
	J	61 (25/41; IC: 45-74)	62 (34/55; IC: 48-73)	n/s
	F	90 (37/41; IC: 77-96)	91 (30/33; IC: 76-97)	n/s
<i>Protozoophaga obesa</i>	A	37 (37/100; IC: 28-46)	12 (15/122; IC: 7-19)	<0,0001
	J	31 (13/41; IC: 19-46)	30 (17/55; IC: 20-44)	n/s
	F	12 (5/41; IC: 5-25)	18 (6/33; IC: 8-34)	n/s
Trichostrongylidae	A	30 (30/100; IC: 21-39)	50 (62/122; IC: 59-42)	0,0025
	J	36 (15/41; IC: 23-51)	43 (24/55; IC: 31-56)	n/s
	F	41 (17/ 41; IC: 27-56)	21 (7/ 33; IC: 10-37)	n/s
<i>Capillaria</i> sp.	A	2 (2/100; IC: 0,3-7)	1,6 (2/122; IC: 0,2-5)	n/s
	J	2,4(1/41; IC: 0,1-12)	1,8 (1/54; IC: 0,09-9)	n/s
	A	1 (1/100; IC: 0,05-4)	-	n/s
Anoplocephalidae	F	-	3 (1/33; IC: 0,1-15)	n/s
	A	-	0,8 (1/122; 0,04-4)	n/s
<i>Strongyloides</i> sp.	J	-	1,8 (1/55; IC: 0,09-9)	n/s
Paramphistomatidae	A	1,6 (3/100; IC: 0,4- 4)	-	n/s

Fonte: elaborada pelos autores

Figura 3 - Endoparasitos intestinais encontrados em fezes de capivaras de áreas urbanas. A: *Eimeria* sp esporulada; B: Anoplocephalidae.; C: Paramphistomatidae.; D: *Strongyloides* sp.; E: Trichostrongylidae.; F: *Capillaria* sp.



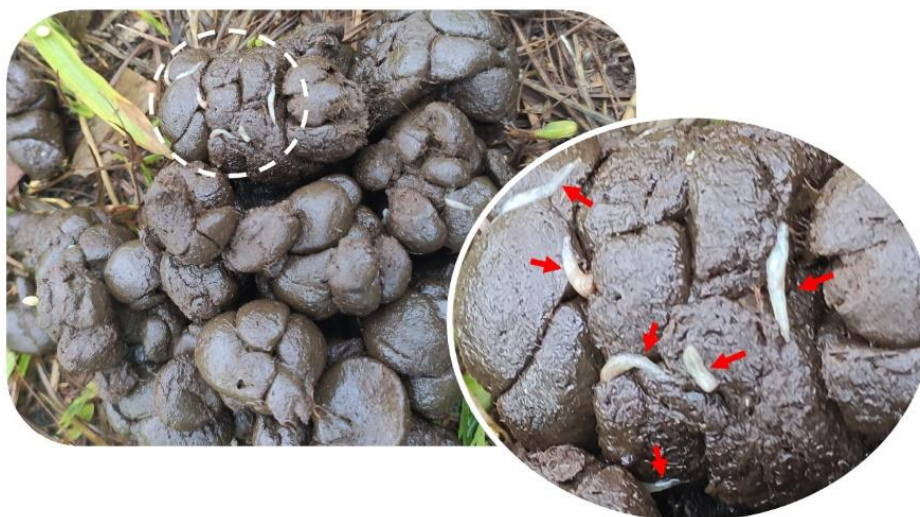
Fonte: Elaborada pelos autores.

Tabela 3 - Razão de ocorrência de ovos e oocistos dos parasitos encontrados no presente estudo comparados entre as faixas etárias. A = Adultos, J = Jovens, F = Filhotes.

Características		Valor de p		
Parasito	Faixas etárias comparadas	Sazonal		
		Chuva	Seca	Total
<i>Eimeria</i> sp.	A x J	n/s	n/s	n/s
	A x F	0,001	0,0001	<0,0001
	J x F	0,003	0,003	<0,0001
<i>Protozoophaga obesa</i>	A x J	n/s	0,005	n/s
	A x F	0,004	n/s	n/s
	J x F	n/s	n/s	0,01
Trichostrongylidae	A x J	n/s	n/s	n/s
	A x F	n/s	0,002	n/s
	J x F	n/s	0,03	n/s
<i>Capillaria</i> sp.	A x J	n/s	n/s	n/s
Anoplocephalidae	A x F	n/s	n/s	n/s
<i>Strongyloides</i> sp.	A x J	-	n/s	n/s

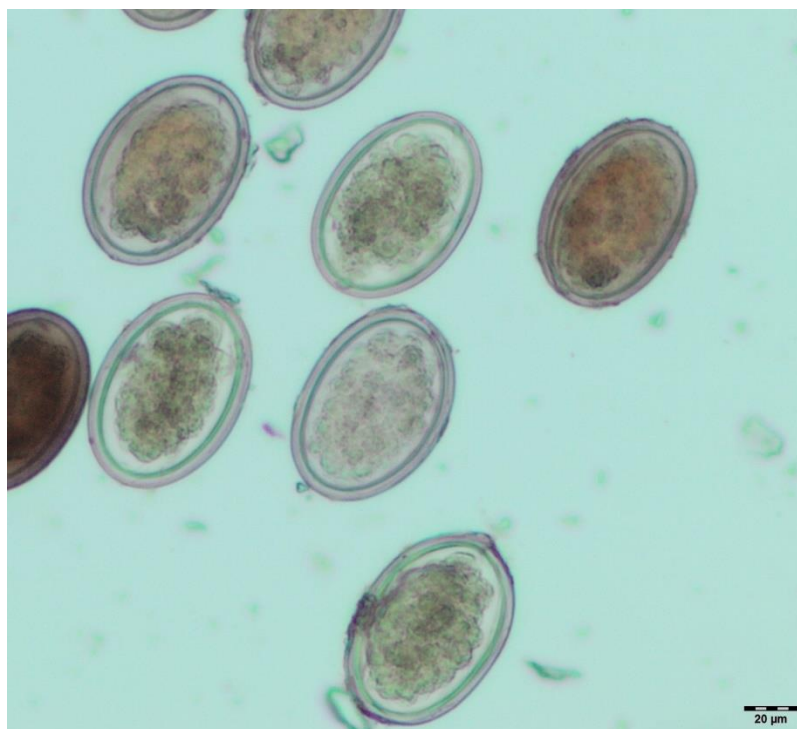
Fonte: Elaborada pelos autores

Figura 4 – Helmintos adultos de *Protozoophaga obesa* (seta) em fezes frescas de capivaras.



Fonte: elaborada pelos autores

Figura 5 – Ovos de *Protozoophaga obesa* retirados do ovário de fêmeas presentes em fezes de capivaras.



Fonte: Elaborada pelos autores

3.6 Discussão

O nosso método de coleta de amostras com metodologia não invasiva proporcionou a determinação da presença de endoparasitos sem a perturbação da população selvagem (Uribe et al., 2021). As capivaras de vida livre analisadas demonstraram uma alta ocorrência (86%; 339/392; IC:82-89) de endoparasitos intestinais ao longo dos dois períodos sazonais analisados e em todas as faixas etárias analisadas, de forma semelhante ao observado por Corriale et al. (2011), que relataram prevalência de 70%, para parasitos gastrintestinais, em fezes de capivaras de vida livre de uma região da Argentina.

No presente estudo, ao comparar a ocorrência anual no período de chuva e de seca, não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$). Por outro lado, os filhotes apresentaram maior ocorrência anual de endoparasitos em comparação com os adultos e os jovens. De forma semelhante, as capivaras classificadas como filhotes no trabalho de Corriale et al. (2011) também apresentaram maiores taxas de endoparasitos quando comparadas com os animais adultos. A alta ocorrência de enteroparasitos em filhotes de capivaras pode estar relacionada ao seu

comportamento, pois os filhotes iniciam de forma precoce o hábito de pastar, quando são expostos a patógenos no início de seu desenvolvimento e quando ainda não desenvolveram imunidade contra os parasitos (Mones e Ojasti 1986).

A ocorrência anual de *Eimeria* sp. foi de 62% (245/392, IC: 57-67), e as prevalências encontradas foram 65% (154/235, IC: 59 – 71) no Parque das Nações Indígenas e 59% (61/103, IC:49-68) na Lagoa Maior. Taxas semelhantes, de 57,6% (19/33), foi relatada por El-Kouba et al. (2008) no Brasil. Por outro lado, na Argentina, a prevalência encontrada foi de 39,7% (Corriale et al., 2011), e na região da bacia do rio Orinoco a ocorrência de *Eimeria trinidadensis* foi de 21,7% (10/46). No nordeste brasileiro, a prevalência foi de 17,6% (3/17) (Souza et al., 2021).

A ocorrência anual de *P. obesa* neste estudo foi de 24% (93/392, IC: 28-19). E a prevalência no Parque das Nações Indígenas foi de 25% (60/235, IC:20 – 31), e na Lagoa Maior foi de 19% (20/103, IC:13 – 28). As taxas de prevalência de *P. obesa* em capivaras em trabalhos anteriores são variadas. Em capivaras de um parque no estado de São Paulo a prevalência de *P. obesa* foi de 58% (18/31) (Chiacchio et al., 2014); em capivaras da região da bacia do Orinoco, na região da Colômbia, a ocorrência foi de 17,4% (8/46) (Uribe et al., 2021) e, em capivaras da Argentina, de 1,01% (Corriale et al., 2011). Por outro lado, Salas et al. (2004) encontraram 100% (40/40) de prevalência desse nematódeo na Venezuela. Entretanto, Salas et al. (2004) realizaram as análises por meio de necropsia e os helmintos foram observados diretamente no ceco.

A ocorrência de ovos de Trichostrongylidae no total de amostras analisadas no presente trabalho foi de 39% (155/392 34-44). A prevalência da população do Parque das Nações Indígenas foi de 54% (127/235, IC:47 – 60) e na Lagoa Maior foi de 17% (18/103, IC:11 – 26). Em outro trabalho com capivaras de vida livre, os parasitos com maior prevalência foram *Eimeria* sp. (39%) e a parasitos da família Trichostrongylidae (27%) (Corriale et al, 2011). A prevalência de Trichostrongylidae encontrada em capivaras de vida livre assim como *P. obesa* é variável. Em capivaras de vida livre em um parque no Brasil a prevalência de ovos de Trichostrongylidae foi de 30,3% (10/33) (El-Kouba et al., 2008); capivaras de vida livre abatidas em uma área natural apresentaram prevalência de 13,3% (4/30) (Bonuti et al., 2002). Sinkoc et al. (2009) encontraram 75% de prevalência para Trichostrongylidae, maior em comparação com o nosso trabalho e os trabalhos citados.

Outros parasitos foram encontrados em capivaras analisadas neste estudo. *Capillaria* sp. apresentou ocorrência geral de 1% (6/392; IC: 0,3–0,6) e prevalência de 2% (5/235, IC:1 – 5), taxas inferiores às já registradas em outros trabalhos com fezes de capivaras. Já foram registradas taxas de prevalência de 17,6% (3/17) (Souza et al., 2021) e 15% (5/33) (El-Kouba et al., 2008). Sinkoc et al. (2004) encontraram 100% (7/7) de prevalência de *Capillaria hydrocoeri*.

Assim como *Capillaria* sp., a ocorrência geral de Anoplocephalidae foi baixa: 2/392 (0,5%, IC: 3 – 0,7). Cestódeos da família Anoplocephalidae demonstram variações em suas taxas de prevalência e espécies. As espécies *Monoecocestus macrobursatum* e *M. hagmanni* já foram registradas em capivaras com taxas de prevalência de 98% e 73% respectivamente (Salas et al., 2004). Outro Anoplocephalidae registrado em capivaras é o *M. hydrocoeri*, com taxas de prevalência de 11% (Corriale et al., 2011), 28,6% (Sinkoc et al., 2004) e 23,3% (Bonuti et al., 2002); *M. macrobursatum* com prevalência de 56,7% (Bonuti et al., 2002) e *M. hagmanni* com taxas de prevalência de 23,3% (Bonuti et al., 2002) e 42,9% (Sinkoc et al., 2004).

Ovos de *Strongyloides* sp. foram encontrados em apenas duas amostras de fezes, uma em um adulto e outra em um jovem. A prevalência deste parasito no Parque das Nações Indígenas foi de 0,4% (1/235, IC:0,02 – 2). A ocorrência geral desse parasito em nosso trabalho foi de 2/392 (0,5%, IC: 0,7-3). Esses ovos são característicos por serem eliminados já larvados (Vieira et al., 2006). Em outros trabalhos com capivaras, as taxas de prevalência também foram baixas, entretanto maiores que a observada neste estudo. Chiacchio et al. (2014) encontraram prevalência de 10% (3/31) e Corriale et al. (2011) de 8%. Por outro lado, Bonuti et al. (2002) encontraram *Strongyloides chapini* com uma prevalência de 56,7% (17/30).

A prevalência de Paramphistomatidae foi de 1% (1/103, IC:0,04 – 5) na Lagoa Maior e a ocorrência no Lago do Amor foi de 2% (1/54, 0,1 – 10). Ao analisar todas as amostras a ocorrência geral em nossas amostras foi de 0,7% (3/392; IC: 0,2-2). Todos os ovos foram encontrados em adultos e no período de chuva. *Taxorchis schistocotyle* (Paramphistomatidae) já foi encontrado no ceco de capivaras necropsiadas, com prevalência de 83% (30/40) (Salas et al., 2004) e 100% (2/2) (Avelar et al., 2015). Outros trabalhos também registraram *T. schistocotyle*, com taxas de prevalência de 76,7% (23/30) (Bonuti et al., 2002) e 1,5% (Corriale et al., 2011).

Ao analisar as taxas de ocorrência por parasitos, encontramos que há variações conforme a idade do hospedeiro, sazonalidade e o tipo de parasito. Os indivíduos adultos, por exemplo, apresentaram taxas de ocorrências nos períodos de chuva e de seca diferentes para alguns parasitos. As capivaras adultas possuem taxas maiores de *Eimeria* sp. e *P. obesa* no período de chuva. Por outro lado, a ocorrência de Trichostrongylidae em adultos foi maior no período de seca. Para as outras faixas etárias, não ocorreu diferença significativa entre os períodos de chuva e de seca.

As capivaras são animais que vivem em bando com comportamentos diferentes entre as idades e os sexos. Desempenham comportamentos agressivos e estressantes em determinadas épocas sazonais, assim como comportamentos reprodutivos. Podem enfrentar enchentes e perda parcial de território nos períodos de chuva e escassez de alimentos no período de seca (Mones e Ojasti, 1986). Além disso, comportamentos diferenciados podem ser desempenhados por capivaras que vivem em áreas antrópicas, devido a pressões antrópicas (Rodrigues et al., 2013). Em capivaras de criatórios, por exemplo, o estresse prolongado parece favorecer a maior intensidade de infecção por protozoários, mas menores cargas de helmintos (Eberhardt, et al., 2013), entretanto não há estudos com estes mesmos parâmetros com capivaras de vida livre de áreas urbanas.

Por outro lado, ao comparar as taxas de ocorrência entre as faixas etárias, foi verificado que os filhotes, apesar de não terem apresentado diferenças sazonais em relação ao parasitismo, são parasitados com taxas de prevalência diferentes em adultos e jovens. Os filhotes possuem maior positividade para *Eimeria* sp., em ambos os períodos sazonais, em comparação com as duas outras faixas etárias. A alta prevalência de determinados parasitos em filhotes, em comparação com as outras duas faixas etárias, podem estar relacionadas ao fato desses animais estarem mais expostos a esses parasitos logo após o nascimento, uma vez que são precoces em seus hábitos de pastagem (Mones e Ojasti, 1986; Corriale et al., 2011). Além disso, é conhecido que a eimeriose pode causar danos significativos à saúde de filhotes de capivaras de criatórios semi-intensivos podendo ocasionar a morte (Pinheiro et al., 2006).

Por outro lado, ao comparar a ocorrência de *P. obesa* entre as faixas etárias, encontramos que os jovens, quando comparados com as outras duas faixas etárias, estavam parasitados com maior frequência por *P. obesa* do que os adultos no

período de seca e os filhotes no período de chuva. Os adultos apresentaram maior positividade para *P. obesa* no período de chuva quando comparados com os filhotes. Dessa forma, no presente trabalho a ocorrência de *P. obesa* foi maior em animais mais velhos. De forma semelhante, isso é observado para a ocorrência de Trichostrongylidae, que foi maior em adultos e jovens no período de seca, em comparação com os filhotes no mesmo período.

Corriale et al. (2011) não encontraram diferença entre as taxas de prevalência de parasitos por faixa etária ao analisar fezes de capivaras. Entretanto, observaram que as condições na primavera, período de altas temperaturas e precipitação da região, implicavam em maior probabilidade de infecção dos hospedeiros mais jovens; aumento da prevalência geral, do poliparasitismo e de infecções por protozoários. Salas et al. (2004) não encontrou diferenças nas taxas de prevalência dos parasitos entre as faixas etárias. Entretanto, em ambos os trabalhos citados, as capivaras não eram oriundas de áreas urbanas.

Portanto, as diferenças sazonais e de faixas etárias observadas nas taxas de ocorrências deste trabalho podem estar relacionadas aos comportamentos diferenciados que cada faixa etária desempenha nos dois períodos sazonais (Vargas et al., 2007) e aos comportamentos relacionados ao hábito sinantrópico e consequente pressão antrópica (Rodrigues et al., 2013).

3.7 Conclusão

Capivaras de vida livre de áreas urbanas são parasitadas por *P. obesa*, *Eimeria* sp., Trichostrongylidae, *Capillaria* sp., *Strongyloides* sp. Paramphistomatidae e Anoplocephalidae e podem atuar como fonte de contaminação desses parasitos para o ambiente. Os parasitos com maiores prevalência foram *Eimeria* sp., *P. obesa* e Trichostrongylidae. Taxas de ocorrência de enteroparasitos como *Eimeria* sp., *P. obesa* e Trichostrongylidae podem variar conforme a sazonalidade e faixa etária de capivaras de áreas urbanas.

3.8 Agradecimentos

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

3.9 Referências Bibliográficas

- Almeida, A.M.R., Arzua, M., Trindade, P.W.S., Silva Junior, A., 2013. Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) (Mammalia: Rodentia) em áreas verdes do município de Curitiba (PR). *Stud. Biol.* 35, 9–16. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i319663>
- Almeida, A.R., Biondi, D., 2014. Área de uso de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. em ambiente urbano. *Ciênc. Anim. Bras.* 15, 369–376. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i319663>.
- Avelar, I.O., Silva, A.P.C., Gardiner C., Santos, R. L., Lima, W. S., Ecco, R., 2015. Pathological and parasitological characterization of infection by trematodes (Paramphistomatidae) in the large intestine of capybaras. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 24 (3), 345-349. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015058>.
- Bonuti, M.R., Nascimento, A. A.; Mapelli, E. B., Arantes, I.G., 2002. Helmintos gastrintestinais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) na sub-região de Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Semin. Cienc. Agrar.*, 23 (1), 57 – 62. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2002v23n1p57>
- Brown, M. J. F., Schmid-Hempel, R., Schmid-Hempel, P. 2003. “Strong Context-Dependent Virulence in a Host-Parasite System: Reconciling Genetic Evidence with Theory.” *J. Anim. Ecol.*, 72(6),994–1002. <http://www.jstor.org/stable/3505405>.
- Chiacchio, R. G., Prioste, F. E., Vanstreels, R. E., Knöbl, T., Kolber, M., Miyashiro, S. I., Matushima, E. R., 2014. Health evaluation and survey of zoonotic pathogens in free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *J. Wildl. Dis.*, 50 (3), 496–504. <https://doi.org/10.7589/2013-05-109>
- Corriale, M.J., Milano, A.M., Gómez-Muñoz, M.A., Herrera, E.A., 2011. Prevalence of gastrointestinal parasites in a natural population of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, in Esteros del Iberá (Argentina), 70 (2), 189 – 196.
- Dracz, R.M., Ribeiro, V.M.A., Pereira, C.A.J., Lima, W.S, 2016. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) in Minas Gerais, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 25, 364-367.

Eberhardt, A.T., Costa, S.A., Marini, M.R., Racca, A., Baldi, C.J., Robles, M. R., Moreno, P.G., Beldomenico, P.M., 2013. Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. PLoS ONE, 8 (7), e70382. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070382>

Eberhardt, A.T., Ruiz, M. F., Beldomenico, P. M., Racca, A. L. 2016. "Dynamics of health of wild capybaras: biochemical and physiological parameters" Mammalia, 80(4), 413-423. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2015-0021>

El-Kouba, M.M., Marques, S.M., Pilati, C., Hamann, W., 2008. General aspects of Fascioliasis and Endoparasitic diseases in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766) from three parks in the State of Paraná, Brazil. Vet. Foco. 6, 4-15.

Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (BR). Dados climáticos. Disponível em < <http://www.inmet.gov.br/>> acesso em 30/08/2019

Kuiken, T., Leighton, F. A., Fouchier, R. A., LeDuc, J. W., Peiris, J. S., Schudel, A., Stöhr, K., & Osterhaus, A. D., 2005. Public health. Pathogen surveillance in animals. Science (New York, N.Y.), 309(5741), 1680–1681. <https://doi.org/10.1126/science.1113310>

Labruna, M., Costa, F., Port-Carvalho, M., Oliveira, A., Souza, S., Castro, M., 2017. Lethal Fascioliasis in Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in Brazil. J. Parasitol. 104 (2), 173-176. <https://doi.org/10.1645/17-114>

Martins I.V.F., Failla, G., Martins, M.S.S., Uzai, G.J.S., Viana, M.V.G., Gomes, M.C., Verocai, G.G., 2021. Molecular confirmation of *Fasciola hepatica* infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from the state of Espírito Santo, Brazil. Braz. J. Vet. Parasitol. 30. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021027>

Mones, A., Ojasti, J. 1986. *Hydrochoerus hydrochaeris*, Mamm. Species. 264, 1–7, <https://doi.org/10.2307/3503784>

Ojasti, A. M. J., 1986. *Hydrochoerus hydrochaeris*. Mamm. Species. 264, 1-7.

Pinheiro, M. S.; Wendt, W.; Garcia, C. A. N.; Sinkoc, A. L.; Ruas, J. 2006. Controle da mortalidade por parasitismo gastrointestinal em filhotes de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) criados em sistema semi-intensivo. Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 148.

Ribeiro, S.M.B., Amato, S.B. 2003. Estratégia de infecção de *Protozoophaga obesa* (Diesing, 1851) Travassos, 1923 (Oxyuroidea, Oxyuridae). Arq. Inst. Biol., São Paulo, 70(2), 131-133

Rodrigues, M.V., de Paula, T.A. R., Ferreira, L.B.C., Ávila, E. C., da Silva, L.C., Souza, V. B., 2013. Comportamento de um grupo de capivaras em uma área urbanizada. Acta Vet. Bras. 7(3), 212-217. <https://doi.org/10.21708/avb.2013.7.3.3142>

Salas, V., Herrera, E.A., 2004. Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99 (6), 563-566. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000600004>

Sinkoc, A.L., Brum, F.A., Muller, G., Brum, J.G.W., 2004. Helminthos parasitos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766) na região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. 71(3), 329-333.

Sinkoc, A.L., Brum, J. G. W., Muller, G., 2009. Gastrintestinal Helminths of Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) in Cattle Breeding Farm in the Area of the Ecological Reserve of Taim, Rio Grande. Braz. Arch. Biol. Technol. 52(2), 327-333.

Souza, D.S., Yang, S.G.N.S., Alves, A.C.A., Pontes, R.M., Carvalho, C.C.D., Soares, P.C, Oliveira J.B., 2021. Parasites and health status of free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in the Atlantic Forest and Caatinga biomes of Brazil. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports, 23, 100503. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100503>

Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E., 2001. Risk factors for human disease emergence. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 356(1411), 983–989.

Thompson, A.R.C., Polley, L., 2014. Parasitology and One Health. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl., 3(3), A1 – A2. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.09.002>

Uribe M., Hermosilla, C., Rodríguez-Durán A., Vélez J., López-Osorio, S., Chaparro-Gutiérrez J.J., Cortés-Vecino, J.A., 2021. Parasites Circulating in Wild Synanthropic Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*): A One Health Approach. Pathogens.10 (9),1152. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091152>

Valadas, S., Gennari, S.M., Yai, L.E., Rosypal, A.C., Lindsay, D.S., 2010. Prevalence of antibodies to *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania infantum*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Sarcocystis neurona*, and *Neospora caninum* in Capybara, *Hydrochaeris hydrochaeris*, from São Paulo State, Brazil. J. Parasitol. 96, 521-4. <https://doi.org/10.1645/GE-2368.1>

Vargas, F.C., Vargas, S.C., Moro, M.E.G., Silva, V., Carre, C.R.O., 2007. Monitoramento populacional de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766) em Pirassununga, SP, Brasil. Cienc. Rural., 37 (4), 1104-1108. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000400030>.

Verdade, L.M., Ferraz, K.M.P.M.B., 2006. Capybaras in an anthropogenic habitat in Southeastern Brazil. Braz. J. Biol. 66, 371–378.

Vieira, F.M., Lima, S., Bessa, E.C., 2006. Morfologia e biometria de ovos e larvas de *Strongyloides* sp. Grassi, 1879 (Rhabditoidea: Strongyloididae) parasito gastrointestinal de *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia: Hydrochaeridae), no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 15 (1), 7–12.

Willis, H.H. 1921. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. Med. J. Australi 2: 375-376. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1921.tb60654.x>

Alho, C.J.R. Criação e manejo de capivaras em pequenas propriedades rurais. Brasília: EMBRAPA - DDT, 1986. 48p.

APÊNDICE – REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ALMEIDA A. M. R.; ARZUA, M.; TRINDADE P. W. S; SILVA-JUNIOR, A. Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) (Mammalia: Rodentia) em áreas verdes do município de Curitiba-PR. **Estud. Biol.** (Curitiba), v. 35, p 9-16, 2013.

ALMEIDA, A. R.; BIONDI, D. Área de uso de *Hydrochoerus hydrochaeris* em ambiente urbano. **Cienc. Anim. Bras.**, v.15, p. 369-376, 2014.

ARNEBERG, P. et al. Host densities as determinants of abundance in parasite communities. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1403, p. 1283–1289, 1998.

ATWILL, E. R. et al. Quantitative Shedding of Two Genotypes of *Cryptosporidium parvum* in California Ground Squirrels (*Spermophilus beecheyi*). **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 67, p. 2840–2843, 2001.

ATWILL, E. R. et al. Seasonal shedding of multiple *Cryptosporidium* genotypes in California ground squirrels (*Spermophilus beecheyi*). **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 70, p. 6748–6752, 2004.

AZCÁRATE, T; ALVAREZ, F.; BRAZA, F. Tendencias gregarias del capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en los Llanos de Venezuela. **Reunión Iberoam. Zool. Vertebrat.**, v. 1, p. 285–292, 1980.

CAJAIBA, R. L.; SILVA, W. B.; PIOVESAN, P. R. R. Animais silvestres utilizados como recurso alimentar em assentamentos rurais no município de Uruará, Pará, Brasil. **Desenvolv. Meio Ambiente**, v.34, pp. 157-168, 2015.

CALOURO, A. M. Riqueza de mamíferos de grande e médio porte do Parque Nacional da Serra do Divisor (Acre, Brasil). **Rev. Bras. Zool.** 16 (Supl. 2): 195 - 213,1999.

CERDEIRA, R. G. P.; RUFFINO, M. L.; ISSAC, V. J. Consumo de pescado e outros alimentos pela população ribeirinha do Lago Grande de Monte Alegre, PA – Brasil. **Acta Amaz.** v.23, p. 213-228, 1997.

DANKWA, K.; NUVOR, S. V.; OBIRI-YEBOAH, D.; FEGLO, P. K.; MUTOCHELUH, M. Occurrence of *Cryptosporidium* Infection and Associated Risk Factors among HIV-Infected Patients Attending ART Clinics in the Central Region of Ghana. **Trop. Med. Infect. Dis.**, v. 6, n. 4, 2021. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6040210>

DANIŠOVÁ, O., et al. Rodents as a reservoir of infection caused by multiple zoonotic species/genotypes of *C. parvum*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. scrofarum*, and the first evidence of *C. muskrat* genotypes I and II of rodents in Europe. **Acta Tropica**, v. 172, p.29-35, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.04.013>

DONG, S. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* Infection in the Global Population: A Systematic Review and Meta-analysis. **Acta Parasitol.**, v. 65, n. 4, p. 882–889, 2020.

DUMAINE, J. E.; TANDEL, J.; STRIEPEN, B. *Cryptosporidium parvum*. **Trends parasitol.**, 36(5), p. 485–486, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.11.003>

EL-KOUBA, M. M.; MARQUES, S. M.; PILATI, C.; HAMANN, W. General aspects of Fascioliasis and Endoparasitic diseases in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766) from three parks in the State of Paraná, Brazil. **Vet. Foco.** 6, 4-15, 2008.

FAYER, R. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. Boca Raton: CRC Press, 251p. 1997.

FENG, Y.; RYAN, U. M.; XIAO, L. Genetic diversity, and population structure of *Cryptosporidium*. **Trends Parasitol.**, v. 34, p. 997-1011, 2018.

FERRAZ K. M. P. M. B; PETERSON, A. T.; SCACHETTI-PEREIRA, R.; VETTORAZZI, C. A.; VERDADE, L. M. Distribution of capybara in an agroecosystem Brazil, based on ecological niche modeling. **J. Mammal.**, v. 90, p. 189-194, 2009.

HERRERA, E. A. Capybara social behavior and use of space: patterns and processes. In: MOREIRA, J. R.; FERRAZ, K. M. P. M. B.; HERRERA, E.A, Macdonald, D. W. (eds)

Capybara: biology, use and conservation of an exceptional neotropical species. **Springer**, New York, pp 185–207, 2012.

HERRERA, E. A.; MACDONALD, D. W. Group stability and the structure of a capybara population. **Symp. Zoolog. Soc. Lond.** v. 58, p. 115–130, 1987.

KILONZO, C. et al. Fecal Shedding of Zoonotic Food-Borne Pathogens by Wild Rodents in a Major Agricultural Region of the Central California Coast. **J. Appl. Environ. Microbiol.**, 79(20), p. 6337-6344, 2013. <https://doi.org/10.1128/AEM.01503-13>

KIVISTÖ, R.; KÄMÄRÄINEN, S.; HUITU, O.; NIEMIMAA, J.; HENTTONEN, H. Zoonotic *Cryptosporidium* spp. in Wild Rodents and Shrews. **Microorganisms**, v.9 (11), p. 2242, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112242>

KOTLOFF, K. L. et al. The Burden and Etiology of Diarrheal Illness in Developing Countries. **Pediatr. Clin. North. Am.**, v. 64, n. 4, p. 799–814, 2017.

KOTLOFF, K. L. et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. **The Lancet.**, v. 382, n. 9888, p. 209–222, 2013.

KRAUER, J. M. C. **Landscape ecology of the capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in the Chaco region of Paraguay.** 2009. Dissertação – (Doutorado - Division of Biology College of Arts and Sciences) - Universidade do Kansas, Manhattan (KS), 2009.

LABRUNA, M.; COSTA, F.; PORT-CARVALHO, M.; OLIVEIRA, A., SOUZA, S.; CASTRO, M. Lethal Fascioliasis in Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in Brazil. **J. Parasitol.** 104 (2), p. 173-176, 2017. <https://doi.org/10.1645/17-114>

MADADI, S. et al. Comparative evaluation of *Cryptosporidium* infection in malnourished and well-nourished children: Parasitic infections are affected by the interaction of nutritional status and socio-demographic characteristics. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** v. 68, 101406, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101406>

MARTINS I.V.F. et al. Molecular confirmation of *Fasciola hepatica* infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from the state of Espírito Santo, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.** v.30(2), 2021. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021027>

MEIRELES, V. M.; SOARES, R. M.; BONELLO, F.; GENNARI, S. M. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 147, p. 166-170, 2007.

MOHAMMAD, S. M. et al. Genotyping of *Cryptosporidium* species in children suffering from diarrhea in Sharkya Governorate, Egypt. *Journal of infection in developing countries*, v. 15, n.10, p. 1539–1546, 2021. <https://doi.org/10.3855/jidc.14367>

NOWAK, R. M.; PARADISO, J. L. **Walker's mammals of the world volume I**. 6. ed. Baltimore and London: Johns Hopkins university press, 1983, 793 p.

O'CONNOR, R. M. et al. Cryptosporidiosis in patients with HIV/AIDS. *Aids*, v. 25, n. 5, p. 549–560, 2011.

OATES, S.C. et al. Prevalence, Environmental Loading, and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* Isolates from Domestic and Wild Animals along the Central California Coast. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78 (24), p. 8762–8772, 2012.

OJASTI, A. M. J. *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Mamm. Species.**, n. 264, p. 1-7, 1986.

OLIVEIRA, J. A.; BONVICINO, C. R. Ordem Rodentia. In: REIS, N. R. et al. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Biblioteca central da Universidade Estadual de Londrina, 2005.

PARSONS, M. B. et al. Epidemiology and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. in Humans, Wild Primates, and Domesticated Animals in the Greater Gombe Ecosystem, Tanzania. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.10 (2), 2015.

PEREIRA, J. P. R.; SCHIAVETTI, A. Conhecimentos e usos da fauna cinegética pelos caçadores indígenas "Tupinambá de Olivença" (Bahia). **Biota Neotrop.**, v. 10, n. 1, p. 175-183, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000100018>

PINHEIRO, M. S.; WENDT, L. W.; GARCIA, C. A. N.; SINKOC, A. L.; RUAS, J. **Controle da mortalidade por parasitismo gastrointestinal em filhotes de capivara (*Hydrocheris hydrochaeris*) criados em sistema semi-intensivo.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006.

REGINATTO, A. R. et al. Infecção por *Giardia* spp. e *Cystoisospora* spp. em capivara e cutia no sul do Brasil. **Rev. Port. Ciênc. Vet.** v.103, p.96-99, 2008.

RYAN, U. M.; FENG, Y.; FAYER, R.; XIAO, L. Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* - a 50-year perspective (1971-2021). *International journal for parasitology*, 51(13-14), 1099–1119, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.08.007>

SALAS, V.; HERRERA, E. A., Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 99 (6), 563-566, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000600004>

SILVA, L. F.; REIS, J. L.; BARBOSA, C. H. G.; GARDINER, C. H.; Sant'Ana F. J. F. Aspectos anatomopatológicos do parasitismo por nematódeos da superfamília Filarioidea em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre no Centro-Oeste brasileiro. **Pesq. Vet. Bras.**, v.35 n.2, p. 165-168, 2015.

SILVA, R. J. N.; GARAVELHO, M. E. P. E. Alterações nas estratégias de subsistência: o caso dos índios brasileiros Xavantes. **Segur. Aliment. Nutr.**, Campinas, v.16, n.1, pp. 32-48, 2009.

SILVA, S.O.S. et al. A new set of primers directed to 18S rRNA gene for molecular identification of *Cryptosporidium* spp. and their performance in the detection and differentiation of oocysts shed by synanthropic rodents. **Exp. Parasitol.**, v.135, n.3, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.09.003>.

SINKOC, A. L., BRUM, F. A., MULLER, G., BRUM, J. G. W. Helminths parasites of capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766) na região de Araçatuba, São Paulo, **Brasil. Arq. Inst. Biol.** v.71, n.3, 329-333, 2004.

SOUZA, D.S. et al. Parasites and health status of free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in the Atlantic Forest and Caatinga biomes of Brazil. *Vet.*

Parasitol. Reg. Stud. Reports., v. 23, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100503>

VERDADE, L. M, FERRAZ, K. M. P. B. Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) on an anthropogenic habitat in southeastern Brazil. **Braz. J. Biol.** v.10, p. 1-2, 2006.

YOUFANG G. et al., Investigation on cryptosporidium infections in wild animals in a zoo in Anhui province. **J. Zoo. Wildl. Med.**, v. 47, p.846-854 ,2016.

YULFI, H.; ROZI, M. F.; ANDRIYANI, Y.; DARLAN, D. M. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis hominis* in faecal samples among diarrheic HIV patients in Medan, Indonesia. **Med. Glas. (Zenica)**, v.18, n.1, 55–61, 2021.
<https://doi.org/10.17392/1271-21>

ANEXO A – Autorização do Instituto de Meio ambiente de Mato Grosso do Sul (IMASUL)

	GOVERNO DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE, DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, PRODUÇÃO E AGRICULTURA FAMILIAR – SEMAGRO INSTITUTO DE MEIO AMBIENTE DE MATO GROSSO DO SUL - IMASUL	
AUTORIZAÇÃO AMBIENTAL PARA PESQUISA CIENTÍFICA EM UC		
AA Nº: 006/2019	VALIDADE: 12/2022	PROCESSO Nº: 71/405296/2019
DADOS DO TITULAR DA PESQUISA E DO PROJETO		
Titular da Pesquisa: CAMILA MICHELE DE SOUZA HOSSOTANI CPF: 379.411.178-86 Nível acadêmico: Doutoranda Formação Acadêmica: Ciências Biológicas Instituição de pesquisa: Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – FMVA/UNESP		
EQUIPE DE APOIO		
Orientador: Marcelo Vasconcelos Meireles/UNESP/FMVA Colaboradores: Flávia Maria Almeida Moreira		
TÍTULO DO PROJETO		
Prevalência, variação sazonal da eliminação de oocistos e caracterização molecular de <i>Cryptosporidium</i> spp. em amostras fecais de capivaras (<i>Hydrochoerus hydrochoeruis</i>) em áreas urbanas.		
RESUMO DA PESQUISA		
Objetivos Geral (de acordo com o projeto apresentado): Determinar a prevalência, realizar a caracterização molecular e quantificar a eliminação sazonal de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. no ambiente, em populações de capivaras presentes em áreas urbanas.		
UNIDADE DE CONSERVAÇÃO: Parque das Nações Indígenas		
Atividades/metodologia a ser utilizada dentro da Unidade: Acompanhamento dos grupos de capivara; coleta de fezes frescas das capivaras; monitoramento noturno; monitoramento diurno. Os vários grupos de capivaras presentes nos diversos locais do parque		

os animais. As fezes serão coletadas com espátula de madeira e armazenadas em potes contendo dicromato de potássio.

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES A SEREM REALIZADAS NA UNIDADE:

Cronograma de trabalho	Início (mês/ano)	Término (mês/Ano)
Período previsto para execução do projeto	08/2019	12/2022
Trabalho de Campo na UC	12/2019	06/2022
Análise de Dados	08/2019	06/2022
Entrega do Relatório Final	-	12/2022
Entrega dos Produtos Finais (tese, Imagens, mapas)	-	12/2022

Campo Grande, _____ de dezembro de 2019.


ANDRÉ BORGES BARROS DE ARAÚJO
 Diretor Presidente do IMASUL

OBSERVAR AS SEGUINTE CONDICIONANTES:

1. Esta autorização aprova ambientalmente a execução das atividades relativas ao monitoramento de capivaras no Parque das Nações Indígenas com coleta de fezes, sem contato físico com os animais ou coleta de qualquer outro material biológico não descrito no projeto;
2. Informação dos trabalhos de pesquisa (datas e locais) à Companhia Independente de Polícia Militar Ambiental da região;
3. O gestor da Unidade de Conservação deverá estar ciente da referida pesquisa e se possível fazer o acompanhamento
4. Qualquer alteração no projeto, equipe, período e/ou metodologia deverão ser previamente autorizadas por este Instituto;
5. Os componentes da equipe deverão utilizar algum método de fácil identificação da atividade para fins de pesquisa;
6. Durante a execução das atividades a equipe deverá portar a Autorização para Pesquisa para efeito de fiscalização;
7. É de inteira responsabilidade do requerente o envio de **Relatório de Conclusão do Projeto**, conforme termo de referência de relatório final disponível no site do IMASUL, em formato digital e impresso, ao e-mail: guc@imasul.ms.gov.br e

- protocolar o documento à Gerencia de Unidades de Conservação - GUC/IMASUL, prazo de 60 (sessenta) dias após a conclusão dos trabalhos;
8. O IMASUL/SEMAGRO/MS reserva-se o direito de a qualquer momento e de acordo com as normas legais, exigir melhorias e/ou alterações na execução das atividades;
 9. A presente Autorização não dispensa e nem substitui outras Licenças, Autorizações, Alvarás ou Certidões de qualquer natureza exigidas pela legislação Federal, Estadual ou Municipal;
 10. Mediante decisão motivada a Autorização será suspensa e/ou cancelada, sem prejuízo da adoção das outras medidas punitivas administrativas e judiciais, quando ocorrer:
 - I - Violação ou inadequação de quaisquer das condicionantes acima descritas ou normas legais;
 - II- Omissão ou falsa descrição das informações relevantes que subsidiarem a expedição da Autorização;
 - III- Superveniência de graves riscos ambientais e à saúde;
 11. Admitindo-se a renovação, deverá esta, encontrar-se em conformidade com o disposto nos Artigos 32 e 35 da Resolução SEMADE nº 09/2015.
 12. Caso envolva espécie ameaçada de extinção, o requerente deverá tomar ciência da Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014, e solicitar o registro voluntário para coleta junto ao Sisbio.
- 

protocolar o documento à Gerencia de Unidades de Conservação - GUC/IMASUL, prazo de 60 (sessenta) dias após a conclusão dos trabalhos;

8. O IMASUL/SEMAGRO/MS reserva-se o direito de a qualquer momento e de acordo com as normas legais, exigir melhorias e/ou alterações na execução das atividades;
9. A presente Autorização não dispensa e nem substitui outras Licenças, Autorizações, Alvarás ou Certidões de qualquer natureza exigidas pela legislação Federal, Estadual ou Municipal;
10. Mediante decisão motivada a Autorização será suspensa e/ou cancelada, sem prejuízo da adoção das outras medidas punitivas administrativas e judiciais, quando ocorrer:
 - I - Violação ou inadequação de quaisquer das condicionantes acima descritas ou normas legais;
 - II- Omissão ou falsa descrição das informações relevantes que subsidiarem a expedição da Autorização;
 - III- Superveniência de graves riscos ambientais e à saúde;
11. Admitindo-se a renovação, deverá esta, encontrar-se em conformidade com o disposto nos Artigos 32 e 35 da Resolução SEMADE nº 09/2015.
12. Caso envolva espécie ameaçada de extinção, o requerente deverá tomar ciência da Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014, e solicitar o registro voluntário para coleta junto ao Sisbio.



ANEXO B - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio)



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70987-1	Data da Emissão: 26/11/2019 17:48:14	Data da Revalidação*: 26/11/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Camila Michele de Souza Hossotani	CPF: 379.411.178-86
Título do Projeto: coleta de fezes de capivaras em áreas urbanas dos municípios de Três Lagoas-MS; São José do Rio Preto-SP; Campo Grande-MS	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP	CNPJ: 48.031.918/0039-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta de fezes	01/2020	12/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Flávia Maria de Almeida Moreira	auxiliar na coleta de fezes	036.586.291-69	Brasileira
2	HELDER SILVA E LUNA	auxiliar na coleta de fezes	117.269.188-66	Brasileira

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0709870120191126

Página 1/4



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70987-1	Data da Emissão: 26/11/2019 17:48:14	Data da Revalidação*: 26/11/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Camila Michele de Souza Hossotani	CPF: 379.411.178-86
Título do Projeto: coleta de fezes de capivaras em áreas urbanas dos municípios de Três Lagoas-MS; São José do Rio Preto-SP; Campo Grande -MS	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP	CNPJ: 48.031.918/0039-05

Observações e ressalvas

8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .
---	---

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	parque das nações indígenas	Campo Grande-MS	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
2	lago do amor - dentro do campus da universidade federal de Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	Cerrado	Não	Fora de UC Federal
3	represa municipal de São José do Rio Preto	São José do Rio Preto-SP	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	lagoa maior de Três Lagoas	Três Lagoas-MS	Cerrado	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Hydrochoerus hydrochaeris	-

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Fezes

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0709870120191126

Página 2/4



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70987-1	Data da Emissão: 26/11/2019 17:48:14	Data da Revalidação*: 26/11/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Camila Michele de Souza Hossotani	CPF: 379.411.178-86
Título do Projeto: coleta de fezes de capivaras em áreas urbanas dos municípios de Três Lagoas-MS; São José do Rio Preto-SP; Campo Grande -MS	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP	CNPJ: 48.031.918/0039-05

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0709870120191126

Página 3/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70987-1	Data da Emissão: 26/11/2019 17:48:14	Data da Revalidação*: 26/11/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Camila Michele de Souza Hossotani	CPF: 379.411.178-86
Título do Projeto: coleta de fezes de capivaras em áreas urbanas dos municípios de Três Lagoas-MS; São José do Rio Preto-SP; Campo Grande -MS	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP	CNPJ: 48.031.918/0039-05

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CNCBIO).

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0709870120191126

Página 4/4

ANEXO C – Certificado Ética no Uso de Animais FMVA (UNESP) – Araçatuba – SP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Prevalência, variação sazonal da eliminação de oocistos e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em áreas urbanas"**, Processo FOA nº 00917-2019, sob responsabilidade de Marcelo Vasconcelos Meireles apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 20 de Fevereiro de 2020.

VALIDADE DESTES CERTIFICADO: 28 de Março de 2022.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 28 de Abril de 2022.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Prevalence, seasonal oocyst shedding and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from urban areas capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) feces"**, Protocol FOA nº 00917-2019, under the supervision of Marcelo Vasconcelos Meireles presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on February 20, 2020.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: March 28, 2022.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: April 28, 2022.

Profa. Associada Maria Cristina Rosifini Alves Rezende
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br

ANEXO D – Normas de Publicação da Revista



VETERINARY PARASITOLOGY

An international scientific journal and the Official Organ of the [American Association of Veterinary Parasitologists \(AAVP\)](#), the [European Veterinary Parasitology College \(EVPC\)](#) and the [World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology \(WAAVP\)](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.2
• Impact Factor	p.2
• Abstracting and Indexing	p.2
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.5



ISSN: 0304-4017

DESCRIPTION

Veterinary Parasitology is concerned with those aspects of **helminthology**, **protozoology** and **entomology** which are of interest to **animal health** investigators, veterinary practitioners and others with a special interest in **parasitology**. Papers of the highest quality dealing with all aspects of disease prevention, pathology, treatment, epidemiology, and control of parasites in all domesticated animals, fall within the scope of the journal. Papers of geographically limited (local) interest which are not of interest to an international audience will not be accepted. Authors who [submit](#) papers based on local data will need to indicate why their paper is relevant to a broader readership. Or they can submit to the journal's companion title, [Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports](#), which welcomes manuscripts with a regional focus.

Parasitological studies on **laboratory animals** fall within the scope of *Veterinary Parasitology* only if they provide a reasonably close model of a disease of **domestic animals**. Additionally the journal will consider papers relating to **wildlife** species where they may act as disease reservoirs to domestic animals, or as a zoonotic reservoir. Case studies considered to be unique or of specific interest to the journal, will also be considered on occasions at the [Editors'](#) discretion. Papers dealing exclusively with the taxonomy of parasites do not fall within the scope of the journal.

Studies on rickettsial disease organisms (*Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Eperythrozoon*) will be considered for publication in *Veterinary Parasitology*, but only if the paper deals with vector transmission of these organisms to domesticated animals, or if zoonotic. Studies on *Rickettsia* per se will not be accepted.

Studies dealing with **parasite control** by means of natural products, both *in vivo* and *in vitro*, fall within the scope of the journal, but only if well documented and with therapeutically relevant minimum inhibitory concentrations of the active compound(s) being clearly demonstrated.

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for International Organizations of Medical Sciences. (Obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o W.H.O., Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland.)

Manuscripts reporting meta-analyses and systematic reviews **that follow PRISMA or MOOSE reporting guidelines will receive consideration only** if they go beyond reporting parasite prevalence and provide a description and analysis of factors and mechanisms associated with the reported data.

AUDIENCE

Research Workers and Practitioners in veterinary medicine, Animal Health Investigators and others with a special interest in parasitology, veterinary pharmaceutical industry.

IMPACT FACTOR

2020: 2.738 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2021

ABSTRACTING AND INDEXING

BIOSIS Citation Index
Elsevier BIOBASE
Helminthological Abstracts
PubMed/Medline
Index Catalog of Medical and Veterinary Zoology
Index Veterinarius
Protozoological Abstracts
Veterinary Bulletin
Scopus
Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences
Referativnyi Zhurnal VINTI-RAN (Russian Academy of Sciences)

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief

Andy Greer, Lincoln University Faculty of Agriculture Horticulture Viticulture, Christchurch, New Zealand
Gastrointestinal nematodes, Livestock, Resistance management
Martin K. Nielsen, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, United States of America
Helminths in horses, Diagnosis, Control, Epidemiology, Anthelmintic efficacy, Anthelmintic resistance
Michael P. Reichel, Cornell University College of Veterinary Medicine, Ithaca, New York, United States of America
Protozoa, Neospora caninum, Veterinary Public Health, ,
Theo de Waal, University College Dublin, Dublin, Ireland
Veterinary parasitology, Epidemiology, Anthelmintic resistance

Book Review Editors

Gad Baneth, Hebrew University of Jerusalem Koret School of Veterinary Medicine, Rehovot, Israel
Areas of expertise - Vector-borne zoonotic diseases, Veterinary parasitology, Leishmaniasis, Tick-borne pathogens
Elias Papadopoulos, Aristotle University of Thessaloniki, School of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Thessaloniki, Greece
Areas of expertise - Anthelmintic resistance, Vector-borne diseases, Arthropods

Editorial Advisory Board

Rodney Brown Besier, Brown Besier Parasitology Pty Ltd, Albany, Australia
Internal And External Parasites Of Ruminants, Nematode Epidemiology And Control, Anthelmintic Resistance
Frederic Beugnet, Boehringer Ingelheim Animal Health, Lyon, France
Cats, Dogs, Horses, Entomology, Acarology, Helminthology, Epidemiology, Vector borne pathogens
Dwight Bowman, Cornell University, Ithaca, New York, United States of America
Luis Cardoso, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Vila Real, Portugal
Areas of expertise - Veterinary parasitology, Vectorborne pathogens of domestic and wild animals, Parasitic zoonoses
Edwin Claerebout, Ghent University Department of Virology Parasitology and Immunology, Merelbeke, Belgium
Veterinary Parasitology, Gastrointestinal Nematodes, Cattle Parasites, Integrated Parasite Control, Vaccine Development
Matthew James Denwood, University of Copenhagen Department of Veterinary and Animal Sciences, Frederiksberg, Denmark
Epidemiology, Biostatistics, Quantitative Parasitology
Philippe Dorcchies, National Veterinary School Toulouse, Toulouse, France

Parasitology and Parasitic diseases, Acarology, Entomology and helminthology, Epidemiology, Pathology, Control

Pierre Dorny, Institute of Tropical Medicine Antwerp, Department of Biomedical Sciences, Antwerp, Belgium
Expertise - Epidemiology of zoonotic parasites, parasite diagnosis, helminth control, tropical veterinary medicine

Geoffrey Fosgate, University of Pretoria, Pretoria, South Africa
Veterinary Epidemiology, Biostatistics and Diagnostic Test Validation

Caroline Frey, University of Bern Vetsuisse Faculty Department of Infectious Diseases and Pathobiology Institute of Parasitology, Bern, Switzerland

Expertise - Veterinary parasitology, zoonotic parasites, molecular detection, serology, foodborne parasites

Stanny Geerts, Institute of Tropical Medicine, Antwerpen, Belgium
Trypanosomosis, Helminth zoonoses, Anthelmintic resistance

Claudio Genchi, University of Milan, Milan, Italy
Helminthology, Dirofilaria infection, vector borne diseases

John Gilleard, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada
Anthelmintic Drug Resistance, Helminth Genetics And Genomics, Molecular Epidemiology And Diagnostics

Luís F. Pita Gondim, Federal University of Bahia, School of Veterinary Medicine / Department of Veterinary Anatomy, Pathology and Clinics, Salvador, Brazil
Coccidia, Sarcocystidae

Dan Howe, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, United States of America
Apicomplexan Parasites, Molecular Genetics, Microbial Pathogenesis

Ikuo Igarashi, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan
Survey of protozoan disease, Diagnostics of protozoan diseases, Development of chemotherapy

Anja Joachim, University of Veterinary Medicine, Department of Pathobiology, Institute of Parasitology, Vienna, Austria

Areas of expertise - Porcine parasites, Coccidia, Diagnostic parasitology, Zoonoses, Vector-borne pathogens of domestic animals

Pikka Jokelainen, State Serum Institute, Department of Bacteria, Parasites and Fungi, Infectious Disease Preparedness, Laboratory of Parasitology, Copenhagen, Denmark
Zoonotic parasites, Toxoplasma gondii, One health

Ray Kaplan, University of Georgia, Athens, Georgia, United States of America
Anthelmintic Resistance, Parasite Diagnosis, Epidemiology And Control Of Gastrointestinal Helminths

Andrew Kotze, CSIRO Queensland Bioscience Precinct, St Lucia, Australia
Anthelmintic resistance, Helminth control, Drug discovery

Laura Kramer, University of Parma, Parma, Italy
Parasitology Epidemiology Pathogenesis Immunology Control Dog Cat Horse Pig Ruminants

Marcelo Labruna, University of Sao Paulo, São Paulo, Brazil

Adrian Luis Lifschitz, Pharmacology Laboratory, Tandil Veterinary Research Center (CIVETAN) (UNCPBA-CICPBA-CONICET), Faculty of Veterinary Sciences, UNCPBA, Tandil, Argentina
pharmacology of antiparasitic drugs, pharmacokinetics

Alan A. Marchiondo, Zoetis Genetics, Santa Fe, NM, Michigan, United States of America
Parasiticide Efficacy, Ecto- And Endoparasites, Companion And Food-Production Animals

Marcelo Molento, Federal University of Parana, Curitiba, Brazil

Epidemiology of parasite infections, Forecast analysis, Drug resistance, ,

Jorge Morales-Montor, National Autonomous University of Mexico Department of Immunology, Ciudad de México, Mexico

Helminthes, Neuroimmunoendocrinology, Host-Parasite interactions

Vinny Naidoo, University of Pretoria, Pretoria, South Africa

Pharmacokinetics, Preclinical Safety Testing, Phytomedicines, Regulatory Pharmacology, ,

Pia Olafson, USDA-ARS Knippling-Bushland US Livestock Insects Research Laboratory, Kerrville, Texas, United States of America

livestock ectoparasites, Arthropod disease vectors, Host-vector interactions, Pesticide resistance

Domenico Otranto, University of Bari, Bari, Italy

Canine and feline vector-borne zoonotic diseases

Roberto Papini, University of Pisa, Pisa, Italy

Veterinary parasitology, Veterinary parasitic diseases, Zoonotic parasites, Zoonotic parasitic diseases
Kurt Pfister, Ludwig Maximilians University Munich, Munich, Germany

Ticks and Tick-borne diseases (all animal species), Ruminant helminths including epidemiology, prevention and control, Targeted anthelmintic treatment of horses

Dierk Rebeski, Lohmann Animal Health GmbH & Co KG, Cuxhaven, Germany

Gereon Schares, Friedrich-Loeffler-Institute Federal Research Institute for Animal Health, Greifswald, Germany

Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, Neosporosis, *Neospora* spp., Besnoitiosis, *Besnoitia* spp., *Hammondia* spp., Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium* spp., Echinococcosis
Theo Schettlers, University of Pretoria, Department of Veterinary Tropical Diseases, Pretoria, South Africa
 Tick Borne Diseases, Vaccine development, Pathology, Immunology
Johann Schröder, Meat and Livestock Australia, North Sydney, Australia
 Experimental Design, Epidemiology, Chemical Parasitocides, Integrated Parasite Management, Anti-Parasitic Vaccines, Parasite Diagnostics, Ticks, Flies, Lice, Nematodes, Cestodes, Trematodes
Jan Šlapeta, University of Sydney Faculty of Science Sydney School of Veterinary Science Laboratory of Veterinary Parasitology, Camperdown, New South Wales, Australia
 Biology, Apicomplexa, Parasites, Fleas and ticks, Vector borne diseases, Veterinary diagnostics, Veterinary parasitology education
Ian Sutherland, Hopkirk Research Institute, Palmerston North, New Zealand
 Parasitology, immunology, anthelmintic resistance, welfare
Mike Taylor, Vparst Limited, York, United Kingdom
 Sheep, cattle, worm control, fluke, coccidiosis, anthelmintic resistance, FECRT methods
Andrew Thompson, Murdoch University, Murdoch, Australia
 Expertise - Zoonoses, cestodes, enteric protozoa, trypanosomes, wildlife
Donato Traversa, University of Teramo Veterinary Hospital, Teramo, Italy
 Companion animals, Helminths, Vector-borne diseases
Gert Venter, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa
 Culicoides Biting Midges, Vector Competence And Capacity
Georg Von Samson-Himmelstjerna, Free University of Berlin, Berlin, Germany
 Helminthoses in horses, dogs, cats and ruminants, Ticks and tick transmitted diseases, Drug resistance, Mechanism of drug action
Lihua Xiao, South China Agricultural University College of Veterinary Medicine, Guangzhou, China
 Protozoa, *Cryptosporidium*, *Giardia*, Molecular epidemiology, Zoonosis
Dante Zarlenga, USDA-ARS Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland, United States of America
 Food-borne and Animal Parasitology, molecular biology, phylogeny
Xing-Quan Zhu, Shanxi Agricultural University, College of Veterinary Medicine, Taigu, China
 Parasite epidemiology, Diagnostics and control strategies, Parasite genetics, Genomics and functional omics, Molecular vaccines
Annetta Zintl, University College Dublin, Dublin, Ireland
 Molecular epidemiology, Immunology, Vaccine development, Parasitic protozoa and helminths, ,

GUIDE FOR AUTHORS

Types of contribution

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Letters to the Editor
4. Book reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to one of the Book Review Editors noted below:

Dr G. Baneth
School of Veterinary Medicine,
Hewbrew University,
Rehovot,
Israel
gad.baneth@mail.huji.ac.il

Dr E. Papadopoulos
Faculty of Veterinary Medicine,
Aristotle University of Thessaloniki,
Thessaloniki,
Greece
eliaspap@vet.auth.gr

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa

- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements
- We require that non-commercial product names are used throughout the text in submissions. You may include the commercial name(s) of products in the Material and Methods section, then use only the non-commercial name thereafter

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Animal Welfare

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from the following URL: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf. Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of Veterinary Parasitology. Please include an animal welfare statement under the heading "Animal welfare statement" at the end of the text.

Declaration of competing interest

Corresponding authors, on behalf of all the authors of a submission, must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. All authors, including those *without* competing interests to declare, should provide the relevant information to the corresponding author (which, where relevant, may specify they have nothing to declare). Corresponding authors should then use [this tool](#) to create a shared statement and upload to the submission system at the Attach Files step. **Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.**

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We

suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example.](#)

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information.](#)

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

A cover letter is required for each new submission. It should address the novelty and significance of the work and how it fits within the defined scope of Veterinary Parasitology. Essential information, issues of concern or potential problems, (such as other publications or submissions containing similar information) should be identified in the cover letter. Authors who submit papers based on local data/surveys will need to indicate why their paper is relevant to a broader readership.

Authors are invited to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

For queries concerning the submission process or journal procedures please visit the [Elsevier Support Center](#). Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System.

Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

Article Transfer Service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. More information about this can be found here: <https://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/VETPAR/default.aspx>.

PREPARATION

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written

by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review.](#)

If at all possible please refrain from sending chasers to the Editorial Office asking about the status of your paper under review, as the Editors aim to review your paper as efficiently as possible and the enquiry is unlikely to speed up the process.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Manuscripts should have **numbered lines** with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and not too long)
 Name(s) of author(s)
 Complete postal address(es) of affiliations
 Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author
 Present address(es) of author(s) if applicable
 Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent
 Abstract
 Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index (Vol. 100/3-4).
 Introduction
 Material studied, area descriptions, methods, techniques
 Results
 Discussion
 Conclusion
 Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.
 References
 Tables
 Figure captions
 Tables (separate file(s))
 Figures (separate file(s)).

Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.

SI units should be used.

Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

The abstract should be clear, descriptive and not more than 400 words.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.
2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.
3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.
4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.
5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺, not as Ca⁺⁺.

6. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ^{18}O .

7. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

5. For the denomination of parasitic diseases or infections, authors are advised to consult the Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD) published in 1988 in *Veterinary Parasitology* (Kassai, T. et al., 1988. *Vet. Parasitol.* 29, 299-326).

Submission of sequence data to databases

New nucleotide or amino acid sequence data must be deposited in publicly accessible databases, such as GenBank™, EMBL or DDJB, and an accession number obtained and submitted to the Publisher (at the latest) together with the final, revised manuscript. The accession number should appear in a separate paragraph in the Materials and Methods section (example: Nucleotide sequence data reported in this paper are available in the GenBank™, EMBL and DDBJ databases under the accession numbers: XXXX, XXXX). In order for automatic links to be made between papers and databases, authors should type the accession number in bold, underlined text. Letters in the accession number should always be capitalised. When published they will appear in normal type.

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to <https://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Illustration services

[Elsevier's Author Services](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Reference Style

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.

2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12–16)".

3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.

5. Use the following system for arranging your references:

a. For periodicals

Lanusse, C.E., Prichard, R.K., 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 49, 123–158.

b. For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical

Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruysse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.

c. For books

Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.

d. For multi-author books

Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.

6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is *Vet. Parasitol.*

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.

11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to

supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Authors can also keep track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage <https://www.elsevier.com/locate/vetpar>. For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>