

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RENATA PRESTES ANTONANGELO

'CANDIDATUS MYCOPLASMA HAEMATOALBIVENTRIS' E PATÓGENOS
TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS EM *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* DE CURITIBA E
FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL

CURITIBA

2021

RENATA PRESTES ANTONANGELO

‘*CANDIDATUS MYCOPLASMA HAEMATOALBIVENTRIS*’ E PATÓGENOS
TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS EM *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* DE CURITIBA E
FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira
Co-orientadora: Dra. Thállitha Samih Wischral Jayme Vieira

CURITIBA
2021

Antonangelo, Renata Prestes

'*Candidatus Mycoplasma haematoalbiventris*' e patógenos transmitidos por carrapatos em *Didelphis albiventris* de Curitiba e Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. - Curitiba, 2021.

85f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira

Co-orientadora: Dra. Thállitha Samih Wischral Jayme Vieira

1. Marsupiais. 2. Micoplasmas hemotrópicos. 3. Hemoplasmas. I. Vieira, Rafael Felipe da Costa. II. Vieira, Thállitha Samih Wischral Jayme. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RENATA PRESTES ANTONANGELO** intitulada: "**CANDIDATUS MYCOPLASMA HAEMATOALBIVENTRIS**" E **PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS EM DIDELPHIS ALBIVENTRIS DE CURITIBA E FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL**, sob orientação do Prof. Dr. RAFAEL FELIPE DA COSTA VIEIRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 06 de Agosto de 2021.

Assinatura Eletrônica

11/08/2021 13:09:28.0

RAFAEL FELIPE DA COSTA VIEIRA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

13/08/2021 17:51:00.0

IVAN ROQUE DE BARROS FILHO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/08/2021 15:53:17.0

JONATAS CAMPOS DE ALMEIDA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS)

Assinatura Eletrônica

11/08/2021 12:18:00.0

JULIA ARANTES GALVÃO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/08/2021 11:42:42.0

LUIZ DANIEL DE BARROS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

RUA DOS FUNCIONÁRIOS, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80035050 - Tel: (41) 3350-5621 - E-mail: cpgcv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 105918

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 105918

Dedico este trabalho aos meus mestres, a meus pais, Nelson e Margarida, ao meu marido José Henrique de Oliveira, minha irmã Hellen e aos meus filhos, Raul, Carolina e Renato (que está quase chegando!). Vocês me deram estrutura e forças para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus e minha família, base de tudo.

Ao Dr. Rafael Felipe da Costa Vieira, grande profissional, professor; Agradeço a oportunidade de tê-lo como orientador de doutorado. Tenho imenso orgulho de citá-lo como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, pela amizade, conselhos e paciência. O senhor é um exemplo de ser humano!! Sempre compreensivo e extremamente competente em tudo que faz. Todos que trabalham com o senhor admiram sua dedicação e amor ao trabalho, a pesquisa com os alunos e orientados. Enfim, vai além do que o dever impõe. Preocupado não só com a realização do trabalho, mas principalmente com nosso bem-estar. Sorte minha ter no senhor, um amigo onde encontro apoio e palavras de sabedoria. Ter sua amizade é um privilégio. MUITÍSSIMO OBRIGADO!!!

Não posso deixar de citar aqui, meu imenso agradecimento a Dra. Thállitha Samih Wirchral Jayme Vieira que junto ao Laboratório de Doenças Transmitidas por Vetores da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e equipe, trabalharam intensamente para a realização das análises moleculares desta pesquisa.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, por todos os ensinamentos transmitidos e pela contribuição no meu processo de aprendizado, em especial aos Professores Dr. Ivan Roque de Barros, Dra. Julia Arantes Galvão, que para minha alegria e honra aceitaram ser meus co-orientadores e banca desta tese. Tenho muito respeito e admiração por vocês.

A equipe do Centro de Controle de Zoonoses de Foz do Iguaçu por todo apoio e auxílio na captura dos animais. Sem vocês, jamais conseguiria realizar minhas coletas. André Souza Leandro, Wagner Fabiano de Oliveira, Carlos de Santi: todo meu respeito e gratidão a vocês também, pelo suporte, orientações e profissionalismo.

Ao Professor e Mestre Zalmir Silvino Cubas, por me treinar com relação ao manejo dos animais, pela sua amizade. És um profissional incrível com quem tive a honra de trabalhar, aprender, o qual devo todo meu respeito.

Aos professores que me auxiliaram com suas correções na qualificação, Prof. Dr. Jonatas Campos de Almeida e Luis Daniel de Barros. MUITÍSSIMO OBRIGADO pelas considerações e conselhos.

Aos meus amigos de trabalho do Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, em especial, a Dra. Francine Martins Pereira e ao Mestre Robson Michael Delai, do Centro de Medicina Tropical de Foz do Iguaçu. Obrigada pela amizade e pelo apoio, desde que começamos a trabalhar juntos.

Também não posso deixar de agradecer a um grande amigo, que mesmo distante, sempre me auxilia nos momentos que mais preciso: Rodrigo Garcia Motta, você é uma pessoa fenomenal, de grande coração, sempre disposto a ajudar a todos.

Guilherme Marietto, mesmo de longe sempre me ajudando, esclarecendo minhas dúvidas e Stacy Wu, ex aluna a qual tenho um carinho imenso, a qual me enche de orgulho sempre, meu muito obrigado pelo apoio.

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

A todos aqueles que participaram da realização deste trabalho e a eles, alicerces desta tese, os gambás!

Meu muito obrigada.

Quando alguém reclamar que você cometeu um erro, diga-lhe que pode ser algo bom.
Porque sem a imperfeição nem eu e você existiríamos (Stephen Hawking)

RESUMO

Gambás são reconhecidos como possíveis reservatórios para patógenos de importância na Saúde Única. Sendo assim, o monitoramento destes marsupiais é crucial para estabelecer o controle de doenças emergentes e re-emergentes. Assim como outras espécies, os gambás são infestados por ectoparasitas, carrapatos e pulgas, vetores de patógenos como *Ehrlichia* sp., *Anaplasma* sp., *Babesia* sp., *Rickettsia* sp., entre outros. Estes animais podem ser peça chave para a permanência de ciclos das bactérias e protozoários e, por este motivo o presente estudo visa investigar a ocorrência e a diversidade genética de patógenos transmitidos por carrapatos e micoplasmas hemotrópicos que infectam gambás e ectoparasitas associados nas cidades de Curitiba e Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. No total, 30 gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) foram avaliados entre junho de 2018 e dezembro de 2020, sendo 13 deles capturados em Foz do Iguaçu e 17 em Curitiba. Para a avaliação, os animais foram contidos quimicamente, identificados e inspecionados para a presença de ectoparasitos. Foi coletado sangue por punção venosa da cauda ou jugular dos animais para posterior análise molecular. O DNA foi extraído utilizando-se kit comercialmente disponível. Em todas as amostras foi realizada uma PCR para o gene endógeno de mamífero gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*gapdh*) e, posteriormente, as amostras foram triadas para *Mycoplasma* sp. hemotrópicos, usando PCR convencional para um fragmento do gene 16S rRNA de hemoplasmas. Amostras de DNA de gambás de orelha branca que testaram positivas para hemoplasmas foram submetidas a uma PCR gênero-específica para um fragmento (~800 pb) do gene 23S rRNA de hemoplasmas. Além disso, as amostras de DNA também foram testadas por PCR para um fragmento (551 pb) do gene 18S rRNA de *Theileria/Babesia* spp. e um fragmento (349 pb) do gene 16S rRNA de *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Todos os gambás de orelha branca de ambas as localidades não estavam infestados por ectoparasitas no momento da coleta e todas as amostras amplificaram consistentemente o gene *gapdh*. Dois dos 13 (15,38%; IC 95%: 4,33-42,23%) gambás de orelha branca do município de Foz do Iguaçu foram positivos para hemoplasmas, enquanto os animais de Curitiba testaram-se negativos. *Amplicons* (~900 bp) dos genes 16S rRNA e 23S rRNA obtidos das amostras positivas para hemoplasmas foram sequenciadas em ambas as direções pelo método de Sanger. As sequências de nucleotídeos dos genes 16S rRNA e 23S rRNA dos hemoplasmas amplificados neste estudo foram submetidos ao banco de dados genéticos GenBank® (números de acesso: MW703800, MW703801, e MW694786, MW694787, respectivamente). O sequenciamento do fragmento do gene 16S rRNA mostrou 100% de identidade com '*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*' e, do fragmento do gene 23S rRNA mostrou identidade variando de 99,74-100% com '*Ca. M. haemoalbiventris*' detectado em gambás-de-orelha-branca de duas regiões do Brasil. Todos os gambás, de ambas as localidades, foram negativos para *Theileria/Babesia* spp. e *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Pela PCR. A presença de '*Ca. M. haemoalbiventris*' em gambás-de-orelha-branca na cidade de Foz do Iguaçu-PR, indica que estes animais podem albergar uma ampla diversidade de hemoplasmas sendo necessário o desenvolvimento de estratégias de controle e dispersão de patógenos associado ao gênero *Didelphis* sp.

Palavras-chave: Marsupiais; micoplasmas hemotrópicos; hemoplasmas; *Mycoplasma* sp.

ABSTRACT

Opossums are recognized as possible reservoirs for diseases of importance in One Health. Therefore, monitoring these animals is crucial to establish control of emerging diseases. Like other species, opossums are infected by ectoparasites, which are vectors of agents such as *Ehrlichia sp.*, *Anaplasma sp.*, *Babesia sp.*, and hemoplasmas. These animals may be a key element for the permanence of bacterial cycles, and, for this reason, the present study aims to investigate the occurrence and genetic diversity of pathogens transmitted by ticks that infect opossums and, associated ectoparasites in the cities of Curitiba and Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. Thirty white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) were evaluated in the period between June 2018 to December 2020. Thirteen of them were captured in Foz do Iguaçu and, 17 in Curitiba. After chemical restraint, animals were individually identified and visually inspected for ticks and fleas. Blood samples were collected for posterior molecular analysis. The DNA was extracted using a commercially available kit. To monitor DNA extraction, a PCR for the mammal endogenous gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gapdh*) was performed in all samples and, after, the samples were selected for hemotropic *Mycoplasma sp.*, using conventional PCR with genus-specific primers targeting a fragment of the *16S rRNA* gene of *Mycoplasma* spp. Opossum DNA samples that tested positive in the PCR assay based on the *16S rRNA* gene were subjected to a genus-specific PCR assay targeting a fragment (800 pb) of the *23S rRNA* gene of hemoplasmas.). Additionally, DNA samples were also tested by PCR assays targeting a fragment (551 bp) of the 18S rRNA gene of *Theileria/Babesia* spp. (Almeida et al., 2012) and a fragment (349 bp) of 16S rRNA gene of *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Amplicons (900 bp) of two *16S rRNA* and three *23S rRNA* *Mycoplasma* spp.-positive samples from Foz do Iguaçu City were sequenced in both directions by Sanger method. Nucleotide sequences of the *16S rRNA* and *23S rRNA* genes of hemotropic *Mycoplasma* sp. amplified herein were submitted to the GenBank® database (accession numbers: MW703800, MW703801, MW703802, and MW694786, MW694787, respectively). Opossums from both cities were not infested by ectoparasites (ticks and fleas) at the time of sampling and, all samples consistently amplified the mammal endogenous *gapdh* gene. All opossums tested negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp. by PCR. Two animals from Foz do Iguaçu were positive for hemotropic *Mycoplasma* spp. by PCR. Sequencing of the 16S rRNA fragment showed 100% identity with ‘Ca. M. haemoalbiventris’ and, sequencing of the 23S rRNA fragment showed 99.74-100% identity with ‘Ca. M. haemoalbiventris’ detected in white-eared opossums from Brazil. All opossums were negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp. by PCR. The presence of ‘Candidatus *Mycoplasma haemoalbiventris*’ in white-eared opossums in Foz do Iguaçu city indicates these animals may carry a wide range of hemoplasmas, requiring the development of strategies for the control and dispersion of pathogens associated with the genus *Didelphis sp.*

Keywords: Marsupials, hemotropic mycoplasmas, hemoplasmas, *Mycoplasma* sp.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>Didelphis albiventris</i> EM INVASÃO DE DOMICÍLIO.....	18
FIGURA 2 - MAPA INDICANDO A DISTRIBUIÇÃO DE GAMBÁS DE ORELHA BRANCA (<i>Didelphis imperfecta</i> e <i>Didelphis albiventris</i>) no BRASIL.....	19
FIGURA 3 - GAMBÁ DE ORELHA BRANCA (<i>Didelphis albiventris</i>).....	19
FIGURA 4 - ARMADILHAS TIPO LIVE TRAP TOMAHAWK® COM GAMBÁ DE ORELHA BRANCA (<i>Didelphis albiventris</i>) CAPTURADOS NA CIDADE DE FOZ DO IGUAÇU.....	36
FIGURA 5 - PUNÇÃO VENOSA EM JUGULAR DE GAMBÁ DE ORELHA BRANCA (<i>Didelphis albiventris</i>).....	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - GRUPOS DE ECTOPARASITAS QUE INFESTAM MARSUPIAIS DO GÊNERO <i>Didelphis</i> NO BRASIL	20
TABELA 2 - CARRAPATOS INFESTANTES DE MARSUPIAIS DO GÊNERO <i>Didelphis</i> NO BRASIL.....	22
TABELA 2 - CARRAPATOS INFESTANTES DE MARSUPIAIS DO GÊNERO <i>Didelphis</i> NO BRASIL (CONTINUAÇÃO).....	23

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AMPs	- Peptídeos antimicrobianos
BLAST	- Basic Local Alignment Search Tool
CA	- Comprimento da Cauda
CC	- Comprimento da Cabeça e Corpo
CT	- Comprimento
DTV _s	- Doenças Transmitidas por Vetores
DTC	- Doenças Transmitidas por Carrapatos
EDTA	- Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EUA	- Estados Unidos da América
FMB	- Febre Maculosa Brasileira
PCR	- Reação em Cadeia de Polimerase
RNA	- Ácido Ribonucleico
rRNA	- Ácido Ribonucleico Ribossômico
SE	- Sudeste
FLONA	- Floresta Nacional

LISTA DE SÍMBOLOS

© - Copyright

® - Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Gênero <i>Didelphis</i>	16
2.1.1 <i>Didelphis albiventris</i>	18
2.2 A importância do gênero <i>Didelphis</i> na transmissão de doenças	20
2.3 Patógenos transmitidos por carrapatos e pulgas em <i>Didelphis</i>	24
2.3.1 Erliquiose e anaplasmoses	27
2.3.2 Piroplasmas	29
2.4 <i>Hepatozoon spp.</i>	30
2.5 MICOPLASMAS HEMOTRÓPICOS (HEMOPLASMAS)	31
3 JUSTIFICATIVA	34
4 OBJETIVOS	34
4.1 OBJETIVO GERAL	34
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
5 MATERIAL E MÉTODOS	35
5.1 Local, animais e coleta	35
5.2 Extração do DNA e análise de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)	37
5.3 Sequenciamento	38
6 RESULTADOS	38
7 DISCUSSÃO	39
8 CONCLUSÃO	42
9 REFERÊNCIAS	43
APÊNDICE 1	68
ANEXO 1	82
ANEXO 2	83
ANEXO 3	84
ANEXO 4	85

1 INTRODUÇÃO

Distúrbios ecológicos e doenças infecciosas emergentes, aliadas a expansão geográfica de áreas e hospedeiros, criam interfaces de modificação para muitos patógenos (HOLBERG & BROOKS, 2013). As interações entre hospedeiros vertebrados, vetores e patógenos moldam a ocorrência de doenças infecciosas (COHEN et al., 2018). Como consequência, esses fatores podem afetar a dinâmica de transmissão de patógenos, a emergência e reemergência de doenças infecciosas e a disseminação destas entre seres humanos e animais domésticos e silvestres (CHOMEL et al., 2007; DAR & RESHI, 2014; PRICE et al., 2019).

Gambás de orelha branca (*Didelphis albiventris*) são reconhecidos como animais sinantrópicos devido a sua capacidade de adaptação a áreas urbanas e devastadas (MALTA & LUPPI, 2007). Distribuem-se vastamente na América do Sul e são amplamente utilizados em estudos científicos, que vão desde a restauração de áreas verdes degradadas, até aspectos médicos como a Doença de Chagas, Leishmaniose e resistência à acidentes ofídicos (SANTOS et al., 2019).

As doenças transmitidas por vetores (DTV) são fatores importantes na saúde global. Embora os processos de introdução e emergência de patógenos sejam frequentemente vistos como segmentos distintos, a crescente ocorrência de patógenos em novas localidades e um aumento na incidência de doenças endêmicas durante as últimas décadas apontam para uma dispersão de escala local concomitante à mudança de habitat (KILPATRICK & RANDOLPH, 2012). Carrapatos e pulgas são vetores essenciais de patógenos que podem acometer animais e seres humanos e, entre seus hospedeiros, animais sinantrópicos como o gambá-de-orelha-preta (*Didelphis aurita*), desempenham um papel na saúde pública devido à sua capacidade de se deslocar entre centros urbanos e áreas florestais no Brasil (BEZERRA-SANTOS, et al., 2020).

Neste sentido, uma nova espécie de *Ehrlichia* sp. cepa Natal foi detectada em *D. albiventris* da região nordeste (LOPES et al., 2018), enquanto um novo genótipo de *Ehrlichia* sp. em *D. aurita* foi encontrado na região sudeste do Brasil (GUIMARÃES et al., 2019). Ainda, uma nova espécie de piroplasma foi detectada em *D. marsupialis* da região amazônica (SOARES et al., 2017). *Hepatozoon canis* foi detectado em *D. albiventris* sinantrópicos pertencentes à região sudeste do Brasil (SILVA et al., 2017), além da detecção de *Rickettsia rickettsii* em *D. albiventris* e *D. aurita* no estado de São Paulo (MELO et al., 2016).

O primeiro relato de infecção por micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) em marsupiais foi realizado no gambá norte-americano (*Didelphis virginiana*), com base em

características de microscopia de luz e análise da sequência do gene 16S rRNA, sendo então esta espécie de hemoplasma denominada ‘*Candidatus Mycoplasma haemodidelphis*’ (MESSICK et al., 2000). No Brasil, uma nova espécie de hemoplasma, ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ foi detectada infectando *D. albiventris* das regiões sul (MASSINI et al., 2019; PONTAROLLO et al., 2020) e Centro-Oeste (GONÇALVES et al., 2020) do país. Desta forma, a utilização dos gambás como sentinelas para ocorrência destes patógenos em Curitiba e Foz do Iguaçu poderá fornecer dados para os gestores locais no auxílio à população na promoção, proteção e prevenção da saúde.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Didelphis*

A ordem Didelphimorphia que contempla o gênero *Didelphis* é dividida em quatro diferentes famílias, Marmosidae, Caluromyidae, Glironiidae e Didelphidae (HERSHKOVITZ, 1992). Na família Didelphidae existem 19 gêneros e 95 espécies e, destes, 16 gêneros e 55 espécies são descritos no Brasil (GARDNER, 2007).

De forma geral, as espécies pertencentes a família Didelphidae são consideradas morfologicamente semelhantes, porém, diferenças podem ser encontradas no formato do crânio e mandíbula, musculatura e proporções do trato digestivo, as quais são relacionadas à carnivoría (GARDNER, 1993).

Os marsupiais do gênero *Didelphis* (Linnaeus, 1758) são mamíferos pequenos, considerados componentes essenciais das comunidades naturais e bons indicadores de mudanças ambientais e do grau de conservação local (CASTRO, 2012; QUINTELA et al., 2013).

Ambientes antropizados pela agricultura ou urbanização, invariavelmente resultam em um mosaico de diferentes padrões de uso do solo; isso leva à fragmentação da vegetação original sendo esta, a principal causa da perda de habitat para a fauna nativa (RIBEIRO et al., 2009; BROCARDO & CÂNDIDO JÚNIOR, 2012), o que leva a dispersão de espécies de marsupiais por tolerarem o impacto antrópico (RIBEIRO & MELO, 2013; DIAS & BOCCHIGLIERI, 2016). Há registros de marsupiais na região Neotropical da América do Sul pelo menos desde a transição Cretáceo-Cenozóico, entre 70 e 60 milhões de anos atrás (FLYNN & WYSS, 1998), sendo considerados os mamíferos terrestres mais antigos do mundo, sofrendo ao longo dos anos, poucas alterações evolutivas (ANTUNES, 2005).

Estes animais são de grande importância ecológica, pois atuam no controle de populações de insetos e pequenos roedores (SANTA CRUZ, et al., 2002) e na dispersão de sementes das plantas as quais ingerem os frutos (CÁCERES, 2002). Estes apresentam hábito crepuscular e noturno (ANTUNES, 2005), são onívoros com uma dieta natural baseada principalmente em pequenos vertebrados, artrópodes, frutas e néctar. As proporções relativas e a importância de cada um desses itens variam de espécie para espécie. Além disso, algumas espécies são oportunistas, podendo mudar sua dieta de acordo com a disponibilidade local de alimentos (MORAES; VIEIRA, 2003; BARBOSA, 2012).

Animais do gênero *Didelphis* apresentam uma sobrevivência baixa. Menos de 20% dos animais sobrevivem entre a primeira e a segunda estação reprodutiva; apenas 1-2% sobrevivem até a terceira temporada, e esses animais mostram sinais fisiológicos de envelhecimento avançado, sugerindo que a baixa sobrevivência pode ser um custo adicional de reprodução nestas espécies (HARDER, 1992).

Esses marsupiais vivem em estreita relação com humanos (Figura 1) e animais domésticos. Em muitos países da América do Sul, algumas pessoas consideram os gambás como pragas, frequentemente os confundindo com ratos ou considerando-os animais sujos (KRAUSE & KRAUSE 2006; BARROS & AZEVEDO 2014). Fatores estes que levam a sua morte por captura e envenenamento (STONE et al. 2000; BARROS & AZEVEDO 2014).

Animais domésticos (predominantemente cães) também costumam atacar gambás, principalmente durante o período de reprodução, em que as fêmeas são mais lentas devido ao grande número de filhotes de gambás que carregam nas costas ou dentro do marsúpio (RANGEL & NEIVA 2013). Em ambientes rurais, principalmente em granjas avícolas, os gambás também são vistos como um problema, uma vez que têm sido considerados importantes predadores de aves domésticas, levando a conflitos humanos e animais selvagens (AMADOR-ALCALÁ et al. 2013).

O contato direto e/ou indireto com esses animais pode trazer riscos para pessoas e animais domésticos. Por exemplo, gambás têm sido consumidos por comunidades locais como alimento e sua gordura é utilizada como medicamento em algumas regiões das Américas, o que em muitas situações leva ao comércio ilegal local desses animais (JÚNIOR et al. 2010; BARROS & AZEVEDO 2014; DE OLIVEIRA et al. 2019). Tais hábitos impõem riscos substanciais à saúde das pessoas que consomem ou manipulam carne/carcaças de gambás, devido à falta de monitoramento do estado de saúde desses animais, más condições de higiene na manipulação de sua carne (a exemplo, contaminação cruzada devido ao contato dos animais. fezes, sangue, saliva, urina com outros itens alimentares, como vegetais crus) e cozimento

inadequado. Logo, desempenham um importante papel na disseminação de parasitas zoonóticos, vetores e patógenos transmitidos por vetores, de alto impacto à saúde pública (BEZERRA SANTOS et al, 2021).



FIGURA 1 – *Didelphis albiventris* EM INVASÃO DE DOMICÍLIO
Fonte: o autor, 2019

2.1.1 *Didelphis albiventris*

O Gambá de orelha Branca (*Didelphis albiventris*) é encontrado no Brasil (Figura 2) tanto em formações abertas quanto florestais e, sua área de distribuição abrange toda a Caatinga, Cerrado e Pampa, ocorrendo também na Mata Atlântica (GARDNER, 2007) em simpatria com o Gambá de Orelha Preta (*Didelphis aurita*) em algumas localidades (CÁCERES et al., 2007; ASFORA & PONTES, 2009).

Assim como o *D. aurita*, esta espécie se adapta a diferentes condições ambientais, incluindo a sobrevivência em ambientes alterados e periferia de centros urbanos (ROSSI; BIANCONI, 2011) e, isso favorece a sua capacidade de dispersão (NASCIMENTO et al., 2019). Os machos de *D. albiventris* tendem a migrar mais, devido a sua característica poligâmica (LORETTO; VIEIRA, 2005) e, por este motivo, observa-se diferente uso do espaço entre machos e fêmeas, sendo as fêmeas consideradas mais estáveis (LORETTO; VIEIRA, 2005; LORETTO; VIEIRA, 2008).

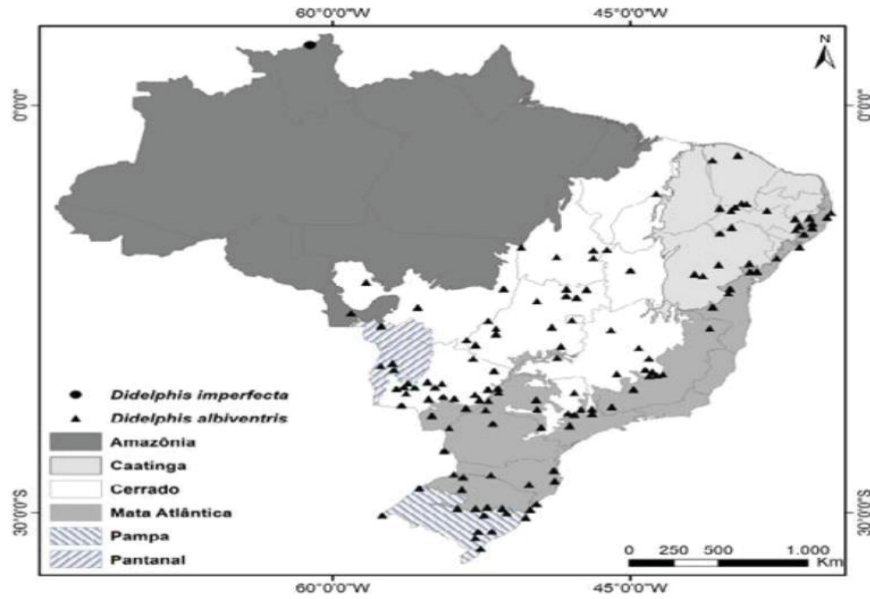


FIGURA 2. DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Didelphis* NO BRASIL, CONSIDERANDO O BIOMA

Adaptado de: Marsupiais do Brasil. In: Cáceres, (2012).

O gênero *D. albiventris* englobam três espécies: *D. albiventris* (Figura 3), *D. pernigra* e *D. imperfecta*. O *D. albiventris* tem porte médio, com coloração acinzentada, cabeça com três listras pretas e orelhas branco-rosadas (SILVA, 1994). O comportamento alimentar desta espécie se assemelha ao *D. aurita*, sendo um onívoro e oportunista, com dieta de acordo com a disponibilidade do local em que vive (ANTUNES, 2005).



FIGURA 3: *Didelphis albiventris*

Fonte: O autor (2019).

2.2 A importância do gênero *Didelphis* na transmissão de doenças

Por serem altamente adaptáveis ao meio em que vivem e terem ampla distribuição e dispersão, estes animais apresentam alta relevância na disseminação de patógenos emergentes e reemergentes, incluindo agentes com potencial zoonótico (DASZAK, CUNNINGHAM, HYATT, 2001). A possibilidade da infecção de seres humanos se dá devido à proximidade e convivência com os *Didelphis* em meio urbano.

Mesmo parasitas altamente especializados em relação aos seus hospedeiros podem acometer marsupiais (ARAUJO et al., 2015). Por exemplo, independentemente das categorias de hospedeiros, os marsupiais têm sido infestados por diferentes táxons de ectoparasitos (Tabela 1), sendo que muitos destes atuam como reservatório e vetor para diferentes patógenos de importância na Saúde Única.

TABELA 1 – Grupos de ectoparasitas que infestam marsupiais do gênero *Didelphis* no Brasil.

CLASSE	SUBCLASSE	ORDEM	SUBORDEM	INFRAORDEM	FAMÍLIA
Insecta	Pterygota	Phthiraptera	Amblycera		Boopiidae Trimenoponidae Ctenophthalmidae Pulicidae Rhopalopsyllidae Stephanocircidae
		Siphonaptera			
		Diptera	Brachycera	Muscomorpha	Oestridae
		Metastigmata (= Ixodida)			Argasidae Ixodidae
Arachnida	Acari	Mesostigmata (= Gamasida)			Laelapidae Macronyssidae
		Prostigmata (= Trombidiformes, Actinedida)			Cheyletidae Myobiidae Trombiculidae
		Astigmata (= Sarcoptiformes)			Acaridae Atopomelidae Glycyphagidae (= Labidophoridae) Listrophoridae

Fonte: ADAPTADO DE CÁCERES, 2012

Na América do Sul, relatou-se a presença de 49 espécies de pulgas, incluindo 16 gêneros e seis famílias, em 23 espécies de marsupiais (JOHNSON, 1957), enquanto, no Brasil, 31 de 62 espécies e/ou subespécies de pulgas foram encontradas em marsupiais (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

A família com maior número de espécies é *Rhopalopsyllidae*, perfazendo 20 registros de marsupiais, seguida de *Ctenophthalmidae* (CÁCERES, 2012). Os mesmos autores haviam registrado 29 espécies de marsupiais como hospedeiras, independentemente da validade de nomenclatura de algumas delas, em razão de sinonímias.

Diversos estudos relatam a infestação de marsupiais por carrapatos (Tabela 2). De acordo com Cáceres (2012), cerca de 25,4% dos carrapatos que ocorrem no Brasil infestam estas espécies. Assim como outros animais silvestres, os marsupiais atuam então como reservatórios de patógenos que são transmitidos por estes carrapatos. Com relação a prevalência de infestação por carrapatos em *D. albiventris*, Antunes (2005) verificou na região de Pelotas, Rio Grande do Sul, 3,3% de *Amblyomma aureolatum* adultos, 6,7% de ninfas de *Amblyomma* sp. e 36,7% de *Ixodes loricatus*. Em ilhas do litoral e continente de Santa Catarina, Salvador et al. (2007) verificaram prevalência de 28,3% de carrapatos (*A. aureolatum* + *A. cajennense* + *I. loricatus*) em *D. aurita*.

TABELA 2 – Carrapatos infestantes de marsupiais do gênero *Didelphis* no Brasil.

Espécie do hospedeiro	Espécie do carrapato	Localização região Sul/SE/NE	Referência
		FLONA de Araripe-Apodi	Oliveira et al., 2020
	<i>Amblyomma</i> sp.	Pelotas (RS)	Muller et al., 2005
		Botucatu (SP)	Silva et al., 2017
	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Pelotas (RS)	Muller et al., 2005
	<i>Amblyomma auricularium</i>	Natal (RN)	Lopes et al., 2018
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Piracicaba (SP)	Horta et al., 2007
	<i>Amblyomma dubitatum</i>	Piracicaba e Pirassununga (SP)	Horta et al., 2007
		Botucatu (SP)	Silva et al., 2017
<i>Didelphis albiventris</i>	<i>Amblyomma ovale</i>	Botucatu (SP)	Silva et al., 2017
	<i>Amblyomma parvum</i>	FLONA de Araripe-Apodi	Oliveira et al., 2020
	<i>Amblyomma sculptum</i>	Botucatu (SP)	Silva et al., 2017
		FLONA de Araripe-Apodi	Oliveira et al., 2020
		Pirassununga (SP)	Horta et al., 2007
	<i>Ixodes loricatus</i>	Campo Grande (MS)	Miziara et al., 2008
		Pelotas (RS)	Muller et al., 2005
		Natal (RN)	Lopes et al., 2018
		Botucatu (SP)	Silva et al., 2017

TABELA 2 – Carrapatos infestantes de marsupiais do gênero *Didelphis* no Brasil.

Espécie do hospedeiro	Espécie do carrapato	Localização região Sul/SE/NE	Referência
<i>Didelphis aurita</i>	<i>Ornithodoros</i> sp.	FLONA de Araripe-Apodi Natal (RN)	Oliveira et al., 2020 Lopes et al., 2018
	<i>Ornithodoros mimon</i>	Rio Grande do Norte Botucatu (SP)	Labruna et al., 2014 Silva et al., 2017
	<i>Polygenis bohlsi jordani</i>	FLONA de Araripe-Apodi	Oliveira et al., 2020
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Pedreira (SP)	Horta et al., 2007
	<i>Amblyomma dubitatum</i>	Moji das Cruzes (SP)	Horta et al., 2007
	<i>Amblyomma fuscum</i>	Parque Estadual da Serra do Tabuleiro (SC)	Regolin et al., 2010
	<i>Ixodes loricatus</i>	Moji das Cruzes e São Paulo (SP)	Horta et al., 2007

O parasitismo causado por carrapatos *Ixodes loricatus* é comumente relatado em didelfídeos, nos quais podem ser encontrados na forma de larvas, ninfas e adultos. Geralmente, a infestação ocorre por um pequeno número de espécimes. Com menor frequência, há relatos de *Ixodes amarali* e *Ixodes luciae* parasitando gambá-de-orelha-branca (MIZIARA, 2008). Dentre os argasídeos, existe relato de *Ornithodoros talaje* na mesma espécie (RAMIREZ, 2012). Embora não seja considerado um hospedeiro natural de carrapatos adultos do gênero *Amblyomma* no Brasil, existem relatos de gambás parasitados por: *A. aureolatum*, *A. auriculatum*, *A. cajennense*, *A. coelebs*, *A. dubitatum*, *A. fuscum*, *A. humerale* e *A. ovale* (PERES, 2008). O parasitismo por estádios imaturos dessas espécies (larvas e ninfas) é mais frequentemente relatado (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007).

2.3 Patógenos transmitidos por pulgas e carrapatos em *Didelphis* sp.

Gambás abrigam uma grande diversidade de espécies de pulgas (HORTA et al. 2007; PINTO et al. 2009; URDAPILLETA et al. 2019; BEZERRA-SANTOS et al. 2020; CANTO-OSORIO et al. 2020), com algumas delas sendo consideradas vetores importantes de patógenos zoonóticos por exemplo, *Ctenocephalides felis felis*, *Xenopsylla cheopis*, *Pulex irritans* e *Pulex simulans* (BEZERRA-SANTOS et al, 2021). Dentre os patógenos transmitidos por pulgas relatados em *Didelphis* spp., a *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis* e *Yersinia pestis* são de grande preocupação para a saúde pública (AZAD et al. 1997; DEMEURE et al. 2019; OLIVEIRA et al. 2020).

Rickettsia felis tem sido relatado em diferentes países ao redor do mundo por infectar seu vetor biológico, a pulga *C. felis*, quatro hospedeiros domésticos ou sinantrópicos (gatos, cães, ratos e gambás) e humanos, sendo um patógeno emergente responsável por causar uma riquetsiose semelhante ao tifo nas Américas (OTEO et al., 2006; GIUDICE et al., 2014; LABRUNA et al., 2011; ANGELAKIS et al., 2016; MAINA et al., 2018). Descrita pela primeira vez no México, a infecção de duas espécies de gambás (*D. virginiana* e *D. marsupialis*) por *R. felis*, teve seu diagnóstico realizado por métodos moleculares através dos genes *gltA* e 17 kDa e determinação de sequências, achados estes, que permitem o reconhecimento das implicações epidemiológicas potenciais para a saúde pública da presença de *Didelphis* infectado em domicílios (LARA et al., 2016), bem como, em gambás *D. virginiana* têm sido implicados na transmissão zoonótica de *R. typhi* e *R. felis* nos Estados Unidos (WILLIAMS et al, 1992).

Em pesquisa molecular para detecção de *Rickettsia* em pulgas coletadas de gambás em ambientes peridomésticos e rurais, e de cães e gatos de estimação na Geórgia, Estados Unidos, a pulga *C. felis* foi a espécie predominante coletada de gatos e entre os espécimes de gambás encontrados em ambientes peridomésticos. Já *Polygenis gwyni* era mais prevalente em gambás de ambiente silvestre. Esses achados contribuem para a compreensão da diversidade de *Rickettsia* associada a pulgas na Geórgia e enfatizam a necessidade de desenvolvimento de ferramentas moleculares mais específicas para detecção e pesquisa de campo em patógenos riquetsiais (EREMEEVA et al, 2020). Cabe ressaltar também, a existência de *Spiroplasma* spp. em carrapatos (*D. marginatus*) e pulgas (*C. felis* e *Pulex irritans*), detectados pela primeira vez por meio de estudos moleculares (HORNOK et al., 2010).

Ainda, Bezerra-Santos et al. (2020), relatam a ocorrência de carrapatos e pulgas em *D. aurita*, bem como a infecção por *Wolbachia pipientis* em pulgas das espécies *C. felis felis* e *X. cheopis* coletados nesses animais no sudeste do Brasil. Esses achados sugerem que esses artrópodes circulam entre a vida silvestre e ambientes urbanos, o que pode implicar que eles tenham papel importante no ciclo de patógenos zoonóticos entre gambás, humanos e animais de companhia.

As doenças transmitidas por carrapatos (DTC) são causadas por uma grande variedade de patógenos incluindo *Ehrlichia* sp., *Anaplasma* sp., *Babesia* sp., micoplasmas hemotrópicos, entre outros. A transmissão de patógenos do carrapato para o hospedeiro vertebrado se dá basicamente através da saliva, que tem importância fundamental no sítio de inoculação, ao minimizar as reações imunológicas do hospedeiro contra o patógeno inoculado (LABRUNA, 2004). As DTC são historicamente endêmicas em regiões tropicais e subtropicais e têm sido cada vez mais reconhecidas, não apenas nestas regiões, mas também em regiões temperadas (IRWIN, 2002). Isto pode ser atribuído a diversos fatores incluindo a disponibilidade de melhores ferramentas de diagnóstico, maior conscientização da população sobre DTC, aumento da população de suscetíveis, além de mudanças ambientais e climáticas que influenciam diretamente a distribuição de carrapatos e das doenças por eles transmitidas (HUNTER, 2003).

O número e a diversidade de casos de DTC vêm aumentando devido à antropização, ao crescimento tanto da população de carrapatos quanto do número de hospedeiros potenciais, além de mudanças importantes no ambiente e aprimoramento das metodologias diagnósticas (YABSLEY & SHOCK, 2013). As DTCs estão relacionadas a perdas de produtividade na pecuária e danos à saúde de populações humanas próximas a fragmentos de floresta peri-urbana (HARRUS & BANETH, 2005). Como as atividades humanas, direta e indiretamente, afetam os habitats e nichos da vida selvagem, algumas doenças que antes eram restritas à vida selvagem

estão se espalhando e se tornando doenças emergentes em animais domésticos e humanos (DUSCHER et al, 2014).

As DTCs têm relevada importância na saúde única. Diferentes espécies de carrapatos atuam como vetores de zoonoses, como febre maculosa brasileira (FMB), erliquiose e borreliose (MELO et al, 2016). No Brasil, os gambás estão infestados por diferentes espécies de carrapatos e podem atuar como amplificadores de alguns agentes patogênicos, como *R. rickettsii* (PACHECO et al., 2016). Esses marsupiais são abundantes em todas as áreas endêmicas para FMB, apresentam altos títulos de anticorpos para *R. rickettsii* e geralmente são infestadas por larvas e ninfas de *A. sculptum*, o vetor mais importante da doença na América do Sul (HORTA et al, 2016; LABRUNA et al, 2009).

A maioria dos estudos sobre ectoparasitas de *Didelphis* spp. descreveram que o estágio adulto de *I. loricatus* é a espécie de carrapato mais predominante nesses marsupiais (LUZ et al. 2018; GONZALEZ et al. 2017; OLIVEIRA et al. 2014; SARAIVA et al. 2012; DANTAS-TORRES et al. 2012; MULLER et al. 2005; BARROS-BATTESTI et al. 2000). Em contraste com esses estudos, quando comparado com *I. loricatus*, *A. auricularium* foi relatado com maior frequência em *D. albiventris* em um estudo realizado no Nordeste do Brasil (LOPES et al. 2018). Além disso, Acosta et al. (2016) relataram apenas estágios imaturos de *Amblyomma* spp. em *D. aurita* do Estado do Espírito Santo, Brasil, havendo relato ainda, de larvas de *Ixodes* sp. em *D. albiventris* no Nordeste do Brasil (FONSECA et al., 2020).

Relata-se no gênero *Didelphis*, a ocorrência de diferentes doenças transmitidas por vetores (DTV) (MESSICK et al., 2002; CASTELLAW et al., 2011; SILVA et al., 2017; FERREIRA et al., 2017; LONDOÑO et al., 2017; SOARES et al., 2017). No Brasil, *Didelphis* sp. podem ser expostos a diferentes PTV como *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp. e *Borrelia* spp. (MELO et al., 2016), como mostrado por Pontarolo et al., (2020), que identificaram uma nova espécie de hemoplasma, ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’, altamente prevalente em gambás-de-orelha-branca do município de Canoinhas, Estado de Santa Catarina, sul do Brasil.

Gambás da espécie *D. albiventris* também são tidos como susceptíveis a infecção por *H. canis* (SILVA et al, 2017). Outras espécies de *Hepatozoon* já foram detectadas em *D. marsupialis* na Colômbia (AYALA et al,1973), *D. albiventris* e *D. marsupialis* na Guiana Francesa (THOISY et al.,2000), *D. romiciops gliroides* no Chile (MERINO et al,2009) e *D. virginiana* nos Estados Unidos (ALLEN et al,2011).

2.3.1 Erliquiose e anaplasnose

A presença de animais domésticos em ambientes silvestres aumentou a translocação de patógenos transmitidos por artrópodes de reservatórios de vida livre para humanos e animais domésticos (SHAW et al., 2001). Assim, a caracterização dos reservatórios de doenças é um dos objetivos da pesquisa em saúde pública global (CASTELLAW et al., 2011).

Os animais silvestres, em especial o Gênero *Didelphis* sp., são reconhecidos como reservatórios e fonte de infecção para muitos patógenos, em especial para os hemoparasitos, causadores da erliquiose e anaplasnose, que são doenças infecciosas, não contagiosas, que tem como agentes causais as bactérias gram-negativas, contempladas na Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmataceae, gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma* (SANTOS et al., 2019).

O gênero *Ehrlichia* pertence à família Anaplasmataceae da ordem Rickettsiales (DUMLER et al., 2001). *Ehrlichia* são bactérias Gram-negativas, pleomórficas, intracelulares obrigatórias que infectam uma ampla gama de mamíferos. O gênero inicialmente incluiu 10 espécies classificadas com base na célula hospedeira infectada: monócitos (*E. canis*, *E. risticii*, *E. sennetsu*), granulócitos (*E. ewingii*, *E. equi*, *E. phagocytophila*, agente de erliquiose granulocítica humana [HGE]) e trombócitos (*E. platys*). Com base em sequências de RNA ribossômico 16S rRNA e outros genes (por exemplo, operon groESL e genes de proteínas de superfície), o gênero *Ehrlichia* foi reorganizado e atualmente consiste em seis espécies: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *E. ruminantium* (anteriormente *Cowdria ruminantium*) e *E. minasensis* (VIEIRA et al, 2011; CABEZAS-CRUZ et al., 2019).

A transmissão de patógenos erliquiais por carrapatos requer hospedeiros reservatórios riquetsêmicos para manter uma população de vetores infectados. A persistência em seus respectivos hospedeiros mamíferos parece ser uma característica comum de *Ehrlichia* spp. transmitidas por carrapatos (PALMER et al., 2000).

A sensibilidade e especificidade do diagnóstico da doença têm sido reforçada pelo uso de técnicas moleculares. A detecção molecular de *Ehrlichia* spp. pela PCR, nested-PCR e PCR em tempo real é capaz de identificar animais experimentalmente e naturalmente infectados durante a fase aguda e crônica com alta sensibilidade e especificidade quando comparadas a outros métodos (IQBAL et al., 1994; LABRUNA et al., 2007).

No Brasil, vários genótipos de *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. platys*, *E. canis*, *E. chaffeensis* e potenciais novas espécies, ainda não nomeadas, foram detectados em diferentes espécies de animais silvestres, incluindo cervídeos (MACHADO et al, 2006; PICOLATO et al, 2010; SACHI et al, 2012; SILVEIRA et al, 2012; SILVEIRA et al 2014;

MONGRUEL et al, 2016), canídeos silvestres (ANDRÉ et al, 2012; ALMEIDA et al, 2013; SOUZA et al, 2017), felinos silvestres (WIDMER et al, 2011), quatis (SOUZA et al, 2017), roedores (BRAGA et al, 2017), catetos e queixadas (SOARES et al, 2017), gambás (LOPES et al, 2017; GUIMARÃES et al, 2019) e pássaros (WERTHER et al, 2017).

Calchi et al. (2020), analisou 330 amostras de sangue de *Xenarthras* coletadas nas regiões Sudeste e Norte do Brasil, e destas, 91 (27,57%) foram positivas para *Anaplasma* spp. com base no gene *rrs*. Das 91 amostras positivas nos ensaios de triagem para *Anaplasma* spp., 51 (56,04%) amostras foram positivas para a região intergênica 23S – 5S de *Anaplasma* spp., e 7/91 (7,7%) amostras foram positivas no ensaio qPCR para *A. phagocytophilum* baseado no gene *msp2*.

Até o momento, são reconhecidas duas doenças causadas por espécies de *Ehrlichia*: erliquiose monocítica humana (HME) causada por *E. chaffeensis*; e erliquiose granulocítica humana (HGE) por *E. ewingii*. Outros agentes rickettsiais, *Anaplasma phagocytophilum* e *Neorickettsia sennetsu* também causam doenças em humanos (OLANO; WALKER, 2002).

Embora sejam globalmente importantes, as DTVs em humanos permanecem pouco estudadas no Brasil (DE SÁ DEL FIOLE et al., 2010). No estado de Minas Gerais, anticorpos anti-*Ehrlichia* spp. foram identificados em humanos saudáveis e em pacientes com sinais clínicos compatíveis com DTCs (CALIC et al., 2004; COSTA et al., 2005, 2006).

São escassos os estudos que caracterizam os principais patógenos envolvidos nas hemoparasitoses em gambás, bem como, ainda são incipientes os trabalhos que permitiram descrever a epidemiologia da possível transmissão destas bactérias (RIBAK et al.; SANTOS et al., 2019). A exemplo, Cicuttin et al. (2020), avaliaram 218 adultos de *Amblyomma triste* para infecção por *Ehrlichia* e *Anaplasma*, encontrando um carrapato positivo ao PCR para a família Anaplasmataceae. O carrapato positivo foi uma fêmea coletada no Delta del Paraná, por sequência obtida a partir de um fragmento do gene 16S rRNA (acesso GenBank número: MT672744) combinado com uma grande semelhança com diferentes sequências 16S pertencentes a espécies e cepas do gênero *Ehrlichia*. Relatos de *Erlichia* sp. em *Didelphis* na Região Sudeste e Norte do Brasil são descritos (MELO et al., 2016; DE SOUZA et al., 2017; GUIMARÃES et al., 2019).

Lockhart et al. (1997) encontraram 3 de 38 (8%) gambás da Virgínia (*Didelphis virginianus*) soropositivos para *E. chaffeensis* no estado da Geórgia, EUA. Da mesma forma, anticorpos para *E. chaffeensis* foram detectados em amostras de soro de 3 de 19 (15,8%) gambás da Virgínia no Estado do Mississippi, EUA (CASTELLAW et al., 2011).

2.3.2 Piropasmas

Piropasmídeos são protozoários parasitas transmitidos por carrapatos que infectam eritrócitos, leucócitos ou células endoteliais de numerosos vertebrados selvagens e domésticos em todo o mundo, causando doenças graves nestes e ocasionalmente, em humanos. As infecções por piropasmídeos são prevalentes em carnívoros selvagens em todo o mundo, embora haja informações limitadas sobre sua importância clínica e epidemiológica. Esses hemoparasitas pertencem ao Filo Apicomplexa e existem atualmente nove espécies reconhecidas de *Babesia*, este, com alto potencial zoonótico, duas de *Theileria*, duas de *Cytauxzoon* e uma de *Rangelia* (BARTA et al., 2012; YABSLEY & SHOCK, 2013). quando falo de artrópode uso vetor

O ciclo de vida dos piropasmas é heteroxeno com a presença de um vetor invertebrado, que são carrapatos ixodídeos, e um hospedeiro vertebrado. Os carrapatos transmitem os piropasmas para os mamíferos durante o repasto sanguíneo. Quando o hospedeiro vertebrado é infectado, esporozoítos de *Babesia* spp. vão diretamente para corrente sanguínea e infectam eritrócitos. Enquanto nas espécies de *Theileria* os esporozoítos penetram, primeiramente, nos linfócitos ou outros leucócitos e depois, migram para os eritrócitos (ALVARADO-RYBAK et al., 2016).

Dentre os demais piropasmas, a *Babesia* spp. são organismos intraeritrocíticos espalhados pelo mundo, com um complexo ciclo de vida. A presença de transmissão transovariana em quase todas as espécies de *Babesia* é a principal diferença entre seu ciclo de vida e o de outros piropasmídeos. Com mais de 100 espécies descritas até agora, a *Babesia* sp. é o segundo parasita sanguíneo mais comumente encontrado em mamíferos após os tripanossomas. A prevalência de infecção por *Babesia* spp. está aumentando em todo o mundo e atualmente é classificada como uma zoonose emergente (ANTUNES et al., 2017), tendo como principais vetores, os carrapatos do gênero Ixodidae, sendo eles, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* e *Hyalomma* (SONENSHINE & MICHAEL ROE, 2014), ocasionando uma doença de caráter zoonótico: a babesiose (HOMER et al., 2000).

Trata-se de um hemoparasito transmitido por carrapatos que desenvolveu estratégias únicas para completar seu ciclo de vida e transmissão. Os objetivos reprodutivos essenciais são: perpetuar sua existência parasitária por propagação e garantir de hospedeiro para hospedeiro transmissão através de estágios infecciosos especializados. Ambos os objetivos são mediados pela combinação de dois ciclos de reprodução assexuada e um ciclo de reprodução sexuada, que se alternam entre o hospedeiro vertebrado e o carrapato vetor (JALOVECKA et al., 2019).

Em relação aos marsupiais do gênero *Didelphis*, na Colômbia foram encontrados *D. marsupialis* infectados por *Babesia brasiliensis* (AYALA et al., 1973). Thoisy et al. (2000) identificaram *Babesia* sp. em 4% de *D. albiventris* estudados, na Guiana Francesa. A presença de *Babesia* sp. também foi observada em *D. albiventris* e *D. marsupialis* procedentes do Pará, Rio de Janeiro e São Paulo (SERRA-FREIRE, 1979), e detectada em *D. marsupialis* no Pará (SOARES et al., 2017).

Silva et al., (2014) coletaram amostras de sangue de 19 gambás, capturados na região urbana de Botucatu para diagnóstico parasitológico e molecular. O diagnóstico parasitológico se deu por meio da confecção de esfregaços sanguíneos e o diagnóstico molecular foi realizado recorrendo a técnica da PCR para amplificação de fragmentos do gene 18S rRNA e posterior sequenciamento das amostras. Os exames dos esfregaços sanguíneos revelaram que cinco animais (26,3%) apresentavam inclusões eritrocitárias de piroplasmas. Na PCR, seis animais (31,6%) foram positivos e o sequenciamento das amostras demonstrou 100% de similaridade entre as seis sequências obtidas. Na pesquisa de similaridade feita no BLAST observou-se que as sequências obtidas demonstraram 90% de identidade com *Theileria* spp. isoladas de marsupiais na Austrália, e 90% de identidade com *Babesia conradae* de cães.

Na Austrália, sete espécies de *Theileria* foram encontradas infectando *Didelphis* sp. (PAPARINI et al., 2012). No Brasil, há uma ampla diversidade de marsupiais, com 55 espécies descritas (PAGLIA et al., 2012) porém, nenhuma espécie de *Theileria* foi relatada infectando esses animais até o momento.

2.4 Hepatozoon

O gênero *Hepatozoon* é um grupo diverso de parasitos apicomplexos da família Hepatozoidae com 312 espécies descritas. Os vetores desses patógenos incluem carrapatos, acaríneos, flebotomíneos, moscas tsé-tsé, culicídeos, pulgas, piolhos, reduvídeos e sanguessugas sendo que a propagação de protozoários deste gênero ocorre, tipicamente, pela ingestão do vetor artrópode, infectado por oocistos maduros contendo esporozoítos infectantes (BANETH et al, 2007). A infecção tem sido reportada em inúmeros vertebrados (anfíbios répteis, aves) e 39 espécies de *Hepatozoon*, infestando mamíferos domésticos e silvestres (SMITH, 1996) e desde então, mais espécies estão sendo adicionadas ou reclassificadas (KUBO et al, 2008; TELFORD et al, 2010).

A transmissão de *Hepatozoon* sp., envolve etapas comuns aos protozoários do filo Apicomplexa. É importante ressaltar que, em hospedeiros vertebrados, após a ingestão de

oocistos presentes na hemocele de carrapatos, estes penetram a parede do intestino, caem na circulação e invadem monócitos e/ou neutrófilos de inúmeros órgãos (medula óssea, baço, fígado, rins, pulmões, intestino, linfonodos e tecidos musculares esqueléticos) e o vetor responsável pela transmissão é o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (BANETH et al, 2007). No Brasil, estudos têm sugerido outras espécies de carrapatos como potenciais vetores de *H. canis*, tais como *Amblyomma ovale*, *A. sculptum* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (O'DWYER et al, 2001; FORLANO et al, 2005; MIRANDA et al, 2011).

Há também, o papel de outros hospedeiros invertebrados nos ciclos de transmissão de *Hepatozoon sp.* Por exemplo, Watkins et al. (2006) observaram oocistos em pulgas *Megabothris abantis* coletadas de roedores, sugerindo a participação desse ectoparasita no ciclo biológico de *Hepatozoon sp.*

Espécies de *Hepatozoon* foram identificadas em mamíferos silvestres no Brasil como em carnívoros *Nasua nasua* (quati) e *Procyon cancrivorus* (mão pelada), pequenos roedores e marsupiais de espécies *Thylamus macrucus* (cuíca), *Monodelphis domestica* (cuíca-de-rabo-curto) e *Didelphis albiventris* (gambá de orelha branca) (RODRIGUES et al, 2007; CRIADO-FORNÉLIO et al, 2006; CRIADO-FORNÉLIO et al, 2009; DEMONER et al, 2016; WOLF et al, 2016; SOUZA et al, 2017; SILVA et al, 2017).

2.5 MICOPLASMAS HEMOTRÓPICOS (HEMOPLASMAS)

Os micoplasmas hemotrópicos ou hemoplasmas, são bactérias sem parede celular não cultivadas *in vitro*, que se aderem a superfície dos glóbulos vermelhos de uma grande variedade de animais, sendo transmitidos principalmente por contato direto com sangue - por exemplo, agressividade entre animais - e podem produzir uma infecção aguda primária que é seguida por uma infecção latente persistente (NEIMARK et al., 2005; COHEN et al., 2018).

Inicialmente classificados como membros da ordem Rickettsiales e família Anaplasmataceae, os gêneros *Haemobartonella* e *Eperythrozoon* foram reclassificados como pertencentes a família Mycoplasmataceae, baseados em análises filogenéticas com base em sequências do gene 16S ribossomal (16S rRNA), aliado a grande semelhança das suas características moleculares (genoma) e fenotípicas (pequeno tamanho do parasita, ausência de parede celular e flagelos, resistência à penicilina e seus análogos, e susceptibilidade à tetraciclina) (NEIMARK et al., 2001; NEIMARK et al., 2002).

A patogenicidade e virulência são determinadas pela espécie de hemoplasma envolvida em associação ao estado imunológico do hospedeiro (MESSICK, 2004). Os vetores artrópodes são provavelmente os principais transmissores desta enfermidade. as possíveis rotas de transmissão podem incluir por vetores como pulgas, carrapatos e mosquitos, ou por contato direto com sangue contaminado (HORNOK et al., 2010).

Historicamente, o diagnóstico dessa enfermidade era realizado pela visualização de *Mycoplasma* sp. aderidos à membrana dos eritrócitos no exame do esfregaço sanguíneo de rotina. Entretanto, este método de diagnóstico possui baixa sensibilidade, pois depende do grau de parasitemia, agravado pela ação do anticoagulante EDTA (etileno-diamino-tetracético de sódio ou potássio), o qual causa desprendimento do agente dos eritrócitos, gerando resultados falsos negativos (TASKER, 2006).

A utilização da PCR convencional ou PCR em tempo real (qPCR) é considerada o método diagnóstico definitivo para detecção e identificação do agente envolvido. Vários protocolos de reações já foram descritos para detecção de diferentes espécies de hemoplasmas (MESSICK et al., 1998). Apesar da boa sensibilidade dos métodos moleculares, animais cronicamente infectados podem apresentar resultados falso negativos devido à baixa quantidade de microrganismos circulantes. O resultado positivo na PCR não significa doença clínica e deve ser interpretado juntamente com a espécie de *Mycoplasma* detectada, achados hematológicos e os sinais clínicos do animal (LAPPIN et al., 2008).

No Brasil, hemoplasmas já foram detectados em animais domésticos, como gatos (MICELI et al., 2013; ANDRÉ et al., 2014; MARCONDES et al., 2018), cães (RAMOS et al., 2010; VALLE et al., 2014; VIEIRA et al., 2015), caprinos (MACHADO et al., 2017), bovinos (GIROTTO et al., 2012; DE MELLO et al., 2019), bubalinos (SANTOS et al., 2018) e ovinos (SOUZA et al., 2019; MONGRUEL et al., 2020).

Em animais silvestres, *Mycoplasma* sp. foram descritos em felídeos (WILLI et al., 2007; ANDRÉ et al., 2011; DE SOUZA et al., 2017; FURTADO et al., 2019), canídeos (ANDRÉ et al., 2011; DE SOUZA et al., 2017), morcegos (IKEDA et al., 2017; SANTOS et al., 2020), primatas não-humanos (BONATO et al., 2015; RAMALHO et al., 2017; DE MELO et al., 2019), roedores (VIEIRA et al., 2009; GONÇALVES et al., 2015; VALENTE et al., 2020), procionídeos (DE SOUZA et al., 2017; CUBILLA et al., 2017), cervídeos (GRAZZIOTIN et al., 2011) e javalis (DIAS et al., 2019), em grandes felídeos (*Panthera leo*) (GUIMARAES et al., 2007), onças selvagens e / ou cativas (*Panthera onca*) (ANDRÉ et al., 2011; FURTADO et al., 2018), pumas (*Puma concolor*), jaguarundis (*Puma yagouaroundi*), gato do mato (*Leopardus tigrinus*) (ANDRÉ et al., 2011), jaguatiricas (*Leopardus pardalis*)

(ANDRÉ et al., 2011; SOUSA et al., 2017), capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (VIEIRA et al., 2009), sendo descritos também, em múltiplas espécies de animais selvagens e que se encontravam distribuídos em diferentes países (MESSICK, 2004; VOLOKHOV et al., 2017, DIAS et al., 2019).

Em gambás, uma nova espécie de hemoplasma denominada ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ foi descrita infectando gambás-de-orelha-branca dos Estados do Mato Grosso, Paraná e Santa Catarina (MASSINI et al., 2019; GONÇALVES et al., 2019; PONTAROLO et al., 2020). Entretanto, os sinais clínicos da infecção e o potencial vetor permanecem desconhecidos.

Em recente estudo conduzido por Massini et al. (2019), foi descrita a presença de *Mycoplasma* sp. hemotrópicos em gambás de parques públicos localizados em área urbana do Estado do Paraná, sul do Brasil, observando-se que 87,5% dos gambás estudados na Cidade de Maringá, Estado do Paraná, região sul do Brasil, foram testados positivos para hemoplasma por *Mycoplasma* sp., ainda, reiterou que 37% dos gambás tinham infestação por carrapatos do gênero *Amblyomma* sp.

Outros autores também sugeriram a presença de hemoplasmas em gambás, em estudos conduzidos em regiões tropicais, que favorecem a manutenção dos vetores invertebrados (artrópodes). Embora, os relatos progressos ressaltem o envolvimento dos carrapatos na transmissão dos hemoplasmas, em especial o *R. sanguineus* sensu lato como um vetor de *Mycoplasma haemocanis* em cães (SENEVIRATNA et al., 1973).

O uso do PCR na identificação de hemoplasma em gambás (*Didelphis* sp.) foram descritos nos Estados Unidos (MESSICK et al., 2000; MESSICK et al., 2002; MESSICK, 2004). Na região do Pantanal, na região centro oeste do Brasil, foi conduzido outro experimento, com 30 marsupiais com o objetivo de diagnosticar a infecção por hemoplasma, porém todos os animais amostrados no presente estudo testaram negativos para *Mycoplasma* sp. pela PCR convencional (SOUSA et al., 2017).

Ressalta-se que *Didelphis* spp. são animais que compartilham o ambiente sinantrópico (MALTA & LUPPI, 2007), portanto diversas enfermidades veiculadas por vetores estão sendo descritas como emergentes nesses animais e pouco se sabe sobre o impacto zoonótico dessas doenças e qual a real participação das espécies silvestres na sua transmissão para os humanos (MESSICK et al., 2002; CASTELLAW et al., 2011; MELO et al., 2016; SILVA et al., 2017; FERREIRA et al., 2017; LONDOÑO et al., 2017; SOARES et al., 2017; MELO et al., 2019). Ao passo que ‘*Candidatus Mycoplasma haemodidelphis*’ foi detectado apenas no gambá norte-americano (*D. virginiana*) (MESSICK et al., 2000; MESSICK et al., 2002).

É oportuno destacar que no Brasil, várias espécies de hemoparasitos já foram identificadas em *Didelphis* sp., como: *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp. e *Borrelia* spp. (MELO et al., 2016), porém até o presente momento, ainda são incipientes no Brasil, estudos que demonstrem através de ensaios epidemiológicos o envolvimento de *Mycoplasma* spp. hemotrópicos como agente causal na micoplasmose hemotrópica em *Didelphis* spp. (SOUSA et al., 2017).

3 JUSTIFICATIVA

Embora diversos estudos tenham sido realizadas no Brasil, vários os aspectos biológicos da epidemiologia dos hemoplasmas e patógenos transmitidos por carrapatos em *Didelphis albiventris* permanecem pouco avaliados. Assim, a elucidação da diversidade genética, potenciais vetores e a distribuição das espécies em um determinado bioma, mostra-se de grande importância.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a ocorrência e a diversidade genética de patógenos transmitidos por carrapatos (*Ehrlichia* sp., *Anaplasma* sp. e *Babesia* sp.) e hemoplasmas que infectam *Didelphis* sp. e ectoparasitas (carrapatos e pulgas) associados nas cidades de Curitiba e Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar e identificar os ectoparasitos infestando *Didelphis* sp.;
- Detectar patógenos transmitidos por carrapatos (*Ehrlichia* sp., *Anaplasma* sp. e *Babesia* sp.) e hemoplasmas em amostras de sangue de *Didelphis* sp. e carrapatos utilizando a PCR;
- Caracterizar molecularmente as espécies de *Ehrlichia* e *Anaplasma* (16S rRNA, *dsb*, *sodB* e *groEL*), *Babesia* (18S rRNA) e *Mycoplasma* hemotrópico (16S e 23S rRNA) detectadas em *Didelphis* e comparar com os isolados depositados no GenBank;
- Correlacionar os possíveis fatores associados ao risco de infecção pelos patógenos estudados;

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local, animais e coleta

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Bem-Estar da Universidade Federal do Paraná, Brasil (protocolo número 053/2018), (Anexo 1). Os animais e os procedimentos laboratoriais foram aprovados e realizados de acordo com as normas do Instituto de Conservação da Biodiversidade Chico Mendes (ICMBio, protocolo número 63433-3), (Anexo 2). O estudo foi realizado nas cidades de Curitiba (25° 26' 27'' S 49° 16' 36'' W) e Foz do Iguaçu (25° 32' 45'' S 54° 35' 07'' W). A cidade de Curitiba, capital do Estado do Paraná, fica localizada na região centro-sul e apresenta um clima subtropical úmido de altitude (Köppen: Cfb), com uma média temperatura de 17,4 °C. O município de Foz do Iguaçu está localizado no extremo oeste do Estado do Paraná, formando fronteira com a Argentina e o Paraguai, no bioma da Mata Atlântica. Foz do Iguaçu é reconhecida internacionalmente por possuir áreas protegidas, contendo uma fauna diversa (Valente et al., 2019) e, apresenta um clima subtropical úmido (Köppen: Cfa), com chuvas ao longo do ano e uma média temperatura de 22,1 °C (INMET, 2018). Nossos animais foram selecionados por conveniência, sem predileção por sexo, raça e idade ou mesmo estado de saúde, em diferentes locais das duas cidades (área urbana e periurbana).

Entre junho de 2018 a dezembro de 2020, amostras de sangue foram coletadas de gambás-de-orelha-branca (*D. albiventris*) (diferenciados de *D. aurita* pela presença de três listras pretas na face), capturados nas cidades de Foz do Iguaçu e Curitiba. Ainda, procedia-se para com eles, uma inspeção visual do estado geral de saúde e verificação de ectoparasitos. Para a captura dos animais de Foz do Iguaçu foram utilizadas armadilhas tipo Live Trap Tomahawk® nas dimensões (70 x 40 x 40 cm) (Figura 4) (HUMBERG et al., 2012; PEREIRA et al., 2018), contendo iscas de frutas, toucinho e Emulsão de Scott® para atrair os animais. A amostragem foi realizada por demanda espontânea do Centro de Controle de Zoonoses da Cidade de Foz do Iguaçu (CCZ-Foz), com base em laudo de ocorrência de *Didelphis* sp. em habitações humanas (Anexo 3 e 4). Os animais avaliados em Curitiba foram encaminhados ao Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, Estado do Paraná, sul do Brasil, entre junho de 2018 e dezembro de 2020, por demanda espontânea com base na ocorrência de *Didelphis* sp. em habitações humanas.

Anterior a sedação, os animais de Foz do Iguaçu eram pesados com a gaiola, cujo peso padrão era de 2,5 kg sendo este descontado para determinação do peso real do animal. Ainda, os gambás foram identificados individualmente por meio de tatuagem, com o uso de uma

tatuadeira FC[®], modelo cabo curto – 10 mm, na base da orelha e inspecionados visualmente para presença de ectoparasitas (carrapatos e pulgas). Todos os animais foram manejados por meio de contenção química por meio da administração de associação de xilazina 5,0 mg/kg (Anasedan[®]) e quetamina 20 mg/kg, (Dopalen[®]) (NASCIMENTO & HORTA, 2014), aplicadas pela via intramuscular com os mesmos dentro das armadilhas, sendo guiados até a extremidade da mesma com o auxílio de cobertas para possibilitar a aplicação dos fármacos entre os músculos semitendinoso e semimembranoso. Amostras contendo de 2 a 3 mL de sangue foram coletadas por punção venosa da cauda e/ou jugular (Figura 5), realizados com o auxílio de agulhas hipodérmicas 25 x7 (Descarpack[®]) e seringas Lock de 3 mL(Descarpack[®]), armazenados em frascos com EDTA e, posteriormente, centrifugados, postos em microtubos Eppendorf[®] com alíquotas de 500 µL para armazenamento a -20 °C até a realização da análise molecular. Os gambás eram levados para serem soltos na região do Parque Nacional do Iguaçu mediante a recuperação da sedação.



FIGURA 4 – ARMADILHAS TIPO LIVE TRAP TOMAHAWK[®] COM *D. albiventris* CAPTURADOS EM DOMICÍLIOS DA CIDADE DE FOZ DO IGUAÇU

Fonte: O autor (2019)



FIGURA 5 – PUNÇÃO VENOSA EM JUGULAR DE *D. albiventris*
Fonte: O autor (2019)

5.2 Extração do DNA e análise de reação em cadeia de polimerase (PCR)

O DNA foi extraído de 200 μ L de sangue, utilizando kit comercialmente disponível (Illustra™ Blood Genomic Prep Mini Spin Kit, GE Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, Reino Unido), de acordo com as instruções do fabricante. Para monitorar a contaminação cruzada, utilizou-se água purificada como controle negativo. Em todas as amostras foi realizada uma PCR de monitoria para o gene endógeno de mamífero gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*gapdh*) (BIRKENHEUER et al., 2003). Posteriormente, as amostras foram selecionadas para o *Mycoplasma* sp. hemotrópico, usando PCR convencional com iniciadores específicos do gênero direcionados a uma porção do gene *16S rRNA* de *Mycoplasma* spp. (HOELZLE et al., 2011; MACHADO et al., 2017).

Amostras de DNA de *Didelphis* sp. que foram positivas na PCR para o gene 16S rRNA de hemoplasma foram submetidas a uma PCR gênero-específica para detecção de um fragmento (~800 pb) do gene 23S rRNA de hemoplasmas (MONGRUEL et al., 2020). Além disso, as amostras de DNA também foram testadas por PCR, visando um fragmento (551 pb) do gene 18S rRNA de *Theileria/Babesia* spp. (ALMEIDA et al., 2012) e um fragmento (349 bp) do gene 16S rRNA de *Ehrlichia/Anaplasma* spp. (PAROLA et al., 2000). DNA de *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis* obtidos de cães naturalmente infectados foram utilizados como controles positivos e, água livre de nucleasse foi usada como controle negativo. Os amplicons amplificados foram submetidos à eletroforese em gel em agarose 1,8%, por 1,5 h a 100 V, seguido por coloração SYBR® (6 μ g/mL; SYBR® Safe DNA Gel Stain, Invitrogen, CA, EUA), e foram analisados sob um transiluminador de luz UV de 312 nm.

5.3 Sequenciamento

Amplicons (~900 bp) dos genes 16S rRNA e 23S rRNA obtidos de amostras positivas para *Mycoplasma* spp. hemotrópico da cidade de Foz do Iguaçu, foram sequenciadas em ambas as direções pelo método de Sanger. As sequências de nucleotídeos dos genes 16S rRNA e 23S rRNA do *Mycoplasma* sp. hemotrópico amplificados neste documento foram submetidos ao banco de dados GenBank® (números de acesso: MW703800, MW703801, MW703802 e MW694786, MW694787, respectivamente).

6 RESULTADOS

Gambás de ambas as cidades não estavam infestados por ectoparasitas (carrapatos e pulgas) no momento da amostragem. Todas as amostras amplificaram consistentemente o gene endógeno de mamífero *gapdh*. Todos os gambás apresentaram resultados negativos para *Theileria/Babesia* spp. e *Ehrlichia/Anaplasma* spp. por PCR. Enquanto todos os gambás de orelha branca da cidade de Curitiba testaram-se negativos para hemoplasmas, três/13 (23,08%; IC 95%: 8,18-50,26%) animais da cidade de Foz do Iguaçu foram positivos para *Mycoplasma* spp. hemotrópico por PCR.

O sequenciamento do fragmento do gene 16S rRNA mostrou 100% de identidade com ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (MH158514, MH158515, MN423256, MN423258 – MN423260, MT170012 – MT170016) e, o sequenciamento do fragmento de 23S rRNA mostrou 99,74-100% de identidade ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (MN442081- MN442085) detectados em gambás-de-orelha-branca do Brasil.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, 23,08% dos gambás de orelha branca da cidade de Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, sul do Brasil, foram positivos para ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’, enquanto todos os animais da cidade de Curitiba tiveram resultado negativo para os agentes testados. Estudos anteriores encontraram taxas de prevalência de hemoplasma mais elevadas variando de 32,5% a 87,5% em gambás-de-orelha-branca de diferentes biomas do Brasil (MASSINI et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; PONTAROLO et al., 2020). Os critérios utilizados para a seleção dos animais em diferentes estudos têm grande influência na prevalência observada de hemoplasmas, portanto, é necessário cautela na comparação dos resultados.

Os animais avaliados não estavam infestados por carrapatos e pulgas no momento da coleta, diferindo dos gambás-de-orelha-branca positivos para hemoplasma dos municípios de Maringá, Estado do Paraná (MASSINI et al., 2019) e de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul (GONÇALVES et al., 2020), que estavam infestados por carrapatos *A. dubitatum* e, gambás do município de Canoinhas, Estado de Santa Catarina, infestados por pulgas *C. felis* (PONTAROLO et al., 2020). Estudos anteriores não detectaram *Mycoplasma* sp. hemotrópico em carrapatos *A. dubitatum* que parasitavam gambás positivos para ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (GONÇALVES et al., 2020).

As vias de transmissão dos hemoplasmas ainda não estão claras; entretanto, as transmissões experimentais orais e parenterais foram demonstradas via administração de sangue infectado (BARKER & TASKER, 2013). Foi sugerido que vetores artrópodes desempenham um papel na transmissão: carrapatos, pulgas, piolhos e mosquitos, como *Ixodes* sp., *Rhipicephalus sanguineus* (SENEVIRATNA et al., 1973, WILLI et al., 2007 a) e *Ctenocephalides felis* (SHAW et al., 2004; WOODS et al., 2005). Estudos anteriores sobre hemoplasmas relataram que a transmissão de bactérias por meio de interações agressivas pode ocorrer entre gatos (MUSEUX et al., 2009) e roedores selvagens (*Gerbillus andersoni*) (COHEN et al., 2018). Não há evidências robustas para apoiar as hipóteses de que os micoplasmas hemotrópicos sejam realmente patógenos transmitidos por vetores, embora seja importante ressaltar que gambás-de-orelha-branca são frequentemente parasitados por pulgas *C. felis* (NASCIMENTO; HORTA, 2014) e carrapatos *Amblyomma dubitatum* (MASSINI et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020), enquanto os gambás norte-americanos são infestados principalmente por pulgas *C. felis* e pelo carrapato americano *Demacentor variabilis* (DURDEN & WILSON, 1990), por compartilhar habitats com animais domésticos e outros animais selvagens

Embora os hemoplasmas sejam conhecidos por infectar espécies de mamíferos domésticos em todo o mundo, os impactos clínicos e de conservação sobre a vida selvagem ainda precisam ser estabelecidos. Além disso, as abordagens moleculares para hemoplasmas em mamíferos selvagens podem fornecer uma visão comparativa quanto à diversidade, infecção, fatores de risco, controle, tratamento e prevenção (SANTOS, 2016).

A abundância de vetores é um fator determinante do risco de exposição aos patógenos por eles transmitidos (ANTONOVICS et al. 1995; MATHER et al. 1996) e pode ser influenciada pelo desempenho da população determinada pelo clima (FISH 1993; RANDOLPH 1993; MARTENS et al. 1995; LINDGREN et al. 2000; ROGERS & RANDOLPH 2000; YANG et al. 2008), o qual pode regular a abundância de vetores de artrópodes diretamente, por exemplo, por dessecação, congelamento ou superaquecimento, ou indiretamente, alterando o tipo e a estrutura da vegetação.

Condições climáticas extremas podem alterar as relações históricas entre hospedeiro e patógeno e sincronizar a convergência temporal e espacial de múltiplos agentes infecciosos, desencadeando epidemias com mortalidade muito maior do que aquelas devidas a patógenos únicos (MUNSON et al., 2008). Apesar do fato de os parasitas serem altamente especializados em relação aos seus hospedeiros, evidências empíricas demonstram que a troca de hospedeiro, em vez da co-especiação, é o fator dominante que influencia a diversificação das associações parasita-hospedeiro (SANTOS, 2016).

Associado a isto, algumas espécies de hospedeiros (por exemplo, gambás e esquilos) abundantemente parasitados na natureza matam de 83 a 96% dos carrapatos que tentam se prender e se alimentar, sendo alguns, capazes de matar milhares de carrapatos por hectare, indicando que a abundância de vetores de carrapatos pode ser regulada pela identidade dos hospedeiros dos quais esses vetores se alimentam (KEESING et al., 2009).

Ainda, as espécies hospedeiras podem diferir dramaticamente em sua qualidade como reservatório, isto é, em sua probabilidade de infectar um vetor de alimentação com um patógeno específico (OSTFELD & KEESING 2000; KOMAR et al. 2002, 2003; LOGIUDICE et al. 2003), e sobreviva com sucesso. Estudos anteriores documentaram que a qualidade do hospedeiro varia. Por exemplo, Ogden et al. (2004) descobriram que carrapatos fêmeas adultas de *I. scapularis* que se alimentaram de guaxinins tiveram períodos de pré-oviposição significativamente mais curtos do que os carrapatos que se alimentaram de cães.

Um outro fator que pode estar associado a ausência de carrapatos nos gambás capturados neste estudo, são seus hábitos noturnos ou crepusculares (STREILEN, 1982), ou seja, apresentam uma biologia completamente diferente, ao passo em que carrapatos, procuram

seus hospedeiros em horários diurnos, um comportamento divergente (DANTAS-TORRES et al., 2013).

Assim, embora tenham sido encontrados hemoplasma em regiões tropicais, que favorecem o estabelecimento de vetores artrópodes, a falta de estudos experimentais sobre a transmissão do hemoplasma, devido ao seu status de ainda não cultivado *in vitro*, impede maiores evidências que incriminam os carrapatos no ciclo epidemiológico desse grupo de bactérias. Entretanto, *Mycoplasma* spp. hemotrópicos foram detectados em carrapatos *A. sculptum* infestando capivaras positivas para hemoplasmas do centro-oeste do Brasil (GONÇALVES et al., 2020), e em glândulas salivares de carrapatos *A. dubitatum* infestando capivaras da região metropolitana de Curitiba, PR (VIEIRA et al., 2021). Por fim, os carrapatos *A. dubitatum* estão amplamente disseminados e já foram encontrados infestando gambás das cidades de Curitiba e Foz do Iguaçu (VALENTE et al., 2020), e assim, nossa hipótese é que os animais avaliados no presente estudo possam ter sido infestados previamente por carrapatos.

A transmissão dos hemoplasmas pode ocorrer por meio do contato agressivo entre animais (WILLI et al., 2007c; LAPPIN et al., 2008; MUSEUX et al., 2009). Devido a proximidade e convivência desse marsupial no domicílio e peridomicílio, estreita-se a possibilidade de infecção humana (ANTUNES, 2005), inclusive, por acidentes domésticos que podem ocorrer durante uma captura não planejada.

No presente estudo, todos os gambás-de-orelha-branca foram negativos na PCR para *Theileria/Babesia* spp. e *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Embora nem sinais clínicos de infecção e nem vetores de carrapatos tenham sido estabelecidos para os novos patógenos descritos em gambás do Brasil, novos estudos devem se concentrar na avaliação deste grupo de marsupiais para um melhor compreensão de sua participação no ciclo biológico das doenças transmitidas por vetores.

Embora o DNA de *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. tenham sido encontrados em marsupiais do Pantanal na região centro-oeste do país por Sousa et al. (2017), existem poucos estudos sobre a detecção de *Ehrlichia* spp. em gambás, embora esses animais estejam infestados por diferentes espécies de carrapatos e muitas vezes possam atuar como hospedeiros amplificadores de alguns patógenos (HORTA et al., 2009). Anticorpos anti-*Ehrlichia chaffeensis* foram relatados nos Estados Unidos (CASTELLAW et al., 2011). No Brasil, os anticorpos anti-*Ehrlichia* spp. foram relatados em gambás de São Paulo e autores sugeriram a possibilidade de uma nova espécie de *Ehrlichia* estar circulando entre esses animais devido à existência de reatividade cruzada observada nos ensaios sorológicos (HARRUS & WANER, 2011).

Com relação a negatividade para a presença de *Babesia* spp. e *Theileria* spp. em nosso estudo, divergentes de Silva et al. (2014), que identificaram a presença de piroplasmas em gambás no Estado de São Paulo e Papparinni et al. (2012), cuja a presença de *Theileria* sp. em marsupiais do gênero *Didelphis* na Austrália foi positiva, uma plausível explicação para nosso resultado, pode se dar pelo não contato com vetores artrópodes infectados, ou ainda um possível repasto mas, devendo-se levar em consideração, os mecanismos de defesa apresentados pelos carrapatos por meio da produção de proteínas babesicidas. Durante a invasão do protozoário, a resposta imune inata do carrapato leva à síntese rápida de defensinas (longicina como exemplo), e peptídeos antimicrobianos (AMPs) do carrapato. Estes constituem um importante mecanismo de defesa humoral, que também é ativo contra bactérias e fungos intracelulares (ANTUNES et al., 2012; HAJDUSEK et al., 2013; TONK et al., 2015).

Por fim, este estudo, aponta para um potencial novo hemoplasma infectando gambás de orelha branca no Oeste do Paraná, onde os sequenciamentos do fragmento do gene 16S rRNA e do fragmento de 23S rRNA mostraram 100 e 99,74-100% de identidade 'Ca. M. haemoalbiventris detectados em gambás-de-orelha-branca do Brasil como já descrito por Massini et al., (2019), Pontarolo et al., (2020) e Gonçalves et al., (2020), no entanto, mais estudos avaliando outros genes de manutenção, são necessários para a caracterização desta nova espécie de *Mycoplasma* haemotrópico.

8 CONCLUSÃO

Estudos envolvendo patógenos zoonóticos em *Didelphis* spp., por meio de abordagens multidisciplinares, são necessários devido ao convívio próximo desses animais sinantrópicos e habitações humanas, o que pode acarretar riscos para saúde pública, uma vez que há o risco de exposição a agentes infecciosos. Aquém, nos fornecer percepções comparativas no que tange características fisiopatológicas, como em relação à sua transmissão e papel na vida selvagem, em animais de companhia e produção, bem como nos humanos para que possamos estabelecer assim, métodos confiáveis e acessíveis para o diagnóstico, tratamento, monitoramento e prevenção de infecções por espécies de hemoplasma.

9 REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals: Chlamydioses, Rickettsioses, and Viroses. **Scientific and Technical Publication - Pan American Health Organization**. N. 580, vol 2, 2003.

ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; MARCILI, A.; SOARES, H. S.; KRAWCZAK, F. S.; VIEIRA, F. T.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) from humans, domestic and wild animals in the state of Espírito Santo, Brazil, with notes on rickettsial infection. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 3, p. 66–69, 2016.

ADL, S.M.; SIMPSON, A.G.B.; FARMER, M.A.; ANDERSEN, R.A.; ANDERSON, O.R.; BARTA, J.R.; BOWSER, S.S.; BRUGEROLLE, G.; FENSOME, R.A.; FREDERICQ, S.; JAMES, T.Y.; KARPOV, S.; KUGRENS, P.; KRUG, J.; LANE, C.E.; LEWIS, L.A.; LODGE, J.; LYNN, D.H.; MANN, D.G.; MCCOURT, R.M.; MENDOZA, L; MOESTRUP, Ø; MOZLEY-STANDRIDGE, S.E.; NERAD, T.A.; SHEARER, C.A.; SMIRNOV, A.V.; SPIEGEL, F.W.; TAYLOR, M.F.J.R. The New higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 399-451, set. 2005.

AKTAS, M., ÖZÜBEK, S., ALTAY, K., BALKAYA, I., UTUK, A.E., KIRBASE, A., SIMSEK, S., DUMANLI, N. A molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* in domestic dogs in Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 209, p.264–267, 2015.

ALLEN, K.E., YABSLEY, M.J., JOHNSON, E.M., REICHARD, M.V., PANCIERA, R.J., EWING, S.A., LITTLE, S.E. Novel Hepatozoon in vertebrates from the southern United States. **Journal of Parasitology**, v.94, p.648–653, 2011.

ALLAN, S. A. Ticks (Class Arachnida: Ordem Acarina). IN: SAMUEL, W.M.; PYBS, M.J.; KOCAN, A.A. **Parasitic Diseases of Wild Mammals**. Iowa, Ed. University Press, p. 72-106, 2001.

ALMEIDA, A. M.; BRASIL, D. P.; CARVALHO, F. G.; ALMEIDA, C. R. Pesquisa de *Yersinia pestis* em roedores e outros pequenos mamíferos nos focos pestosos do nordeste do Brasil no período 1966 a 1982. *Revista de Saúde Pública*, v. 21, p. 265–267, 1987.

ALMEIDA, A. M.; CINTRA LEAL, N.; CARVALHO, F. G.; DANTAS SOBRINHO, J.; ALMEIDA, C. R. Plague surveillance in Brazil: 1983-1992. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, p. 511–516, 1995.

ALMEIDA, A. P.; SOUZA, T. D.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B. Novel Ehrlichia and Hepatozoon agents infecting the Crab-Eating Fox (*Cerdocyon thous*) in Southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**. v. 50, p.640–646, 2013.

ALVARADO-RYBAK, M.; SOLANO-GALLEGO, L.; MILLÁN, J. A review of piroplasmid infections in wild carnivores worldwide: importance for domestic animal health and wildlife conservation. **Parasites & Vectors**. Vv9. 10.1186/s13071-016-1808-7, 2016.

AMADOR-ALCALÁ, S.; NARANJO, E. J.; JIMÉNEZ-FERRER, G. Wildlife predation on livestock and poultry: Implications for predator conservation in the rainforest of south-east Mexico. **Oryx—The International Journal of Conservation**, v. 47, p. 243–250, 2013.

ANDRÉ, M. R.; ADANIA, C. H.; MACHADO, R. Z.; ALLEGRETTI, S. M.; FELIPPE, P. A.; SILVA, K. F.; NAKAGHI, A.C. Molecular and serologic detection of *Ehrlichia* spp. in endangered Brazilian wild captive felids. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 46, p. 1017-23, 2010.

ANDRÉ, M. R., ADANIA, C. H., ALLEGRETTI, S. M., MACHADO, R. Z. Hemoplasmas in wild canids and felids in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v.42, p. 342-347, 2011.

ANDRÉ, M. R.; DUMLER, J. S.; SCORPIO, D. G.; TEIXEIRA, R. H.; ALLEGRETTI, S. M.; MACHADO, R. Z. Molecular detection of tick-borne bacterial agents in Brazilian and exotic captive carnivores. **Ticks and Tick Borne Diseases**. v.3, p.247-53, 2012.

ANDRÉ; M.R.; DENARDI; N.C.B.; DE SOUSA; K.C.M.; GONÇALVES; L.R.; HENRIQUE; P.C.; ONTIVERO; C.R.G.R.; GONZÁLEZ; I.H.L.; NERY; C.V.C.; CHAGAS; C.R.F.; MONTICELLI; C.; DE SANTIS; A.C.A.; MACHADO; R.Z. Arthropod-borne pathogens circulating in free-roaming domestic cats in a zoo environment in Brazil. **Ticks Tick Borne Diseases**. v.5, p.545-551, 2014.

ANGELAKIS, E.; MEDIANNIKOV, O.; PAROLA, P.; RAOULT, D. *Rickettsia felis*: The Complex Journey of an Emergent Human Pathogen. **Trends in Parasitology**, v. 32, p. 554–564, 2016.

ANTONOVICS, J.; IWASA, Y.; HASSELL, M. A generalized model of parasitoid, venereal, and vector-based transmission processes. *The American Naturalist*. v. 145, p. 661–675, 1995.

ANTUNES, G. M. Diversidade e potencial zoonótico de parasitos de *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Marsupialia: Didelphidae). **Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2005.

ANTUNES, S.; GALINDO, R. C.; ALMAZAN, C.; RUDENKO, N.; GOLOVCHENKO, M.; GRUBHOFFER, L. Functional genomics studies of *Rhipicephalus* (Boophilus) *annulatus* ticks in response to infection with the cattle protozoan parasite, *Babesia bigemina*. **International Journal for Parasitology**, v. 42, p. 187–195, 2012.

ANTUNES, S.; ROSA, C.; COUTO, J.; FERROLHO, J.; DOMINGOS, A. Deciphering Babesia-Vector Interactions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. v. 29, p. 429, 2017.

ARAGÃO, H. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**. v.3, p.759-843, 1936.

ARAUJO, S.B.; BRAGA, M.P.; BROOKS, D.R.; AGOSTA, S.J; HOBERG, E.P.; VON HARTENTHAL, F.W.; BOEGER, W.A. Understanding Host-Switching by Ecological Fitting. **PLoS One**. v. 10, 2015.

ASFORA, P. H.; PONTES, A. R. M. The small mammals of the highly impacted North-eastern Atlantic Forest of Brazil, Pernambuco Endemism Center. **Biota Neotropica**, v. 9, p. 31-36, 2009.

ASSIS, A. P. A. Study of the pattern of distribution of genetics and morphological variation in *Didelphis aurita* (Didelphidae, Didelphimorphia): investigating the Atlantic forest biogeography. 2011. 194f. **Tese (Doutorado – Instituto de Biociências) Universidade de São Paulo, São Paulo.**

AZAD, A.F.; RADULOVIC, S.; HIGGINS, J.A.; NODEN, B.H.; TROYER, J.M. Flea-borne rickettsioses: ecologic considerations. **Emerging Infection Diseases**, v.3, n.3, p.319-327, 1997.

AYALA, S. C., A. D’ALESSANDRO, R. MACKENZIE, AND D. ANGEL. Hemoparasite infection in 830 wild mammals from the eastern llanos of Colombia. **Journal of Parasitology**, v. 59, n 1, p. 52–59, fev. 1973. <https://doi.org/10.2307/3278571>

BARKER, E., TASKER, S. Haemoplasmas: Lessons learnt from cats. **New Zealand Veterinary Journal**, v.61, n.4, p.184-192, 2013. doi:10.1080/00480169.2013.771760

BANETH, G.; BARTA, J. R.; SHKAP, V.; MARTIN, D.S.; MACINTIRE, D. K.; VINCENTJOHNSON, N. Genetic and antigenic evidence supports the separation of *Hepatozoon canis* and *Hepatozoon americanum* at the species level. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, p.1298-1301, 2000.

BANETH, G.; SAMISH, M.; SHKAP, V. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **Journal of Parasitology**, v. 93, p. 283–299, 2007,

BARROS, F. B.; AZEVEDO, P. A. Common opossum (*Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758): food and medicine for people in the Amazon. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v. 10, p. 65, 2014.

BARBOSA, J. M.; EISENLOHR, P. V.; RODRIGUES, M. A.; BARBOSA, K. C. Ecologia da dispersão de sementes em florestas tropicais. In: MARTINS, S. V. (Ed.). **Ecologia de florestas tropicais do Brasil**. 2. ed. , Pág. 85-101, Viçosa: UFV, 2012.

BARROS, D. M.; BAGGIO, D. Ectoparasites Ixodida Leach, 1817 on wild mammals in the State of Paraná, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 291-296, 1992.

BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M. Geographical distribution by biomes of some marsupial Siphonaptera from the State of Paraná, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p.485-486, 1997.

BARROS-BATTESTI, D.; YOSHINARI, N. H.; BONOLDI, V. L. N.; GOMES, A. C. Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari: Ixodidae) on small wild mammals from an Atlantic Forest in the State of Sao Paulo Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, p. 820–827, 2000.

BARTA, J. R.; OGEDENGBE, J. D.; MARTIN, D. S.; SMITH, T. G. Phylogenetic Position of the *Adeleorinid coccidia* (Myzozoa, Apicomplexa, Coccidia, Eucoccidiorida, Adeleorina) Inferred Using 18S rDNA Sequences. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 59, n. 2, p. 171–180, 2012.

BENEVENUTE, J. L.; DUMLER, J. S.; OGRZEWALSKA, M.; ROQUE, A. L. R.; MELLO, V. V. C.; DE SOUSA, K. C. M.; GONÇALVES, L. R.; D'ANDREA, P. S.; DE SAMPAIO, L. E. R.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M.R. Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using groEL gene for *Ehrlichia* and *Anaplasma* species in rodents in Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases**. v. 8, p. 646-656, 2017.

BEZERRA-SANTOS, M. A.; NOGUEIRA, B. C.F.; YAMATOJI, R. S.; RAMOS, R. A.N.; GALHARDO, J. A.; CAMPOS, A. K. Ticks, fleas and endosymbionts in the ectoparasite fauna of the black-eared opossum *Dipelphis aurita* in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.80, n.3, p.329-338, 2020.

BEZERRA-SANTOS, M. A.; RAMOS, R. A. N.; CAMPOS, A. K.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. *Didelphis* spp. opossums and their parasites in the Americas: A One Health perspective. **Parasitology Research**. v.120, 2021.

BERKENKAMP, S. D.; WESCOTT, R. B. Arthropod transmission of *Eperythrozoon coccoides* in mice. **Laboratory Animal Science**, v. 38, p. 398-401, 1988.

BOLAT, D.; BAHAR, S.; SELÇUK, M.L. et al. Morphometric investigations of fresh and fixed rabbit kidney. **Eurasian Journal of Veterinary Sciences**. v.27, n.3, p.149–154, 2011.

BONATO, L., FIGUEIREDO, M.A., GONÇALVES, L.R., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R. Occurrence and molecular characterization of *Bartonella* spp. And hemoplasmas in neotropical primates from Brazilian Amazon. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.42, p.15-20, 2015.

BOOSTROM, A.; BEIER, M. S.; MACALUSO, J. A.; MACALUSO, K. R.; SPRENGER, D.; HAYES, J.; RADULOVIC, S.; AZAD, A. F. Geographic Association of *Rickettsia felis*-Infected Opossums with Human Murine Typhus, Texas. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 549–554, 2002.

BRAGA, M. D. S.C. O.; PEREIRA, J. G.; FERNANDES, S. J.; MARQUES, I. C. L.; JESUS, R. P.; FERREIRA, G. S.; XAVIER, D. R.; BENEVENUTE, J. L.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Molecular detection of Anaplasmatataceae agents in *Dasyprocta azarae* in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 27, p. 99-105, 2018.

BROCARD, C. R.; CÂNDIDO-JÚNIOR, J. F. Persistência de mamíferos de médio e grande porte em fragmentos de Floresta Ombrófila Mista no estado do Paraná, Brasil. **Revista Árvore**, n 36. v.2, p.301-310, 2012.

BROOKS DR, HOBERG EP. 2013. The emerging infectious disease crisis and pathogen pollution: a question of ecology and evolution. In: ROHDE, K. **The balance of nature and human impact**, pp. 215–229. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

BROWN, B.E. Atlas of new world marsupials. **Fieldiana Zoology New Series**, Chicago 2004.

BROWN, L. D.; MACALUSO, K. R. *Rickettsia felis*, an Emerging FleaBorne *Rickettsiosis*. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 3, p. 27–39, 2016.

BURGDORFER W.; BARBOUR A. G.; HAYES, S. F.; BENACH, J. L.; GRUNWALDT, E.; DAVIS, J. P. Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? **Science**; v.216, n.4552, p.1317–1319, 1982.

CÁCERES, N. C. Food Habits and Seed Dispersal by the White-Eared Opossum, *Didelphis albiventris* in Southern Brazil. **Studies in Neotropical Fauna and Environment**, v. 37, n.2, p. 97-104, 2002.

CÁCERES, N. C. **Marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Conservação**. Ed. UFMS, Campo Grande – MS, 2ª edição., 2012

CÁCERES, N. C.; CHEREM, J.; GRAIPEL, M. E. Distribuição geográfica de mamíferos terrestres na Região Sul do Brasil. **Ciência & Ambiente**, v. 35, p. 167-180, 2007.

CÁCERES, N.C.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Reproductive biology of the common opossum, *Didelphis marsupialis* (Mammalia, Marsupialia), in southern Brazil. **Brenesia**. v.47, p.117–122, 1997.

CÁCERES; N.C.; PICHORIM. Use of an Abandoned Mottled *Piculet picumnus nebulosus* (Aves, Picidae) Nest by the Brazilian Gracile Mouse opossum *Gracilinanus microtarsus* (Mammalia, Didelphidae). **Biociências**, n.11, v. 1, p. 97-99, 2003.

CALCHI, A. C.; VULTÃO, J. G.; ALVES, M. H.; YOQUI, D. R.; DESBIEZ, A. L. J.; DE SANTI, M.; SANTANA, M. S.; SILVA, T. M. V.; WERTHER, K.; TEIXEIRA, M. M. G.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in Xenarthra mammals from Brazil, with evidence of novel 'Candidatus *Anaplasma* spp. **Scientific Reports**. v. 10, Article number 12615, 2020.

CALIC, S. B.; GALVÃO, M. A.; BACELLAR, F.; ROCHA, C. M.; MAFRA, C. L.; LEITE, R. C.; WALKER, D. H. Human ehrlichiosis in Brazil: first suspect cases. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, p. 259–262, 2004.

CANTO-OSORIO, J. M.; CUXIM-KOYOC, A.; RUIZ-PIÑA, H. A.; MORALES-MALACARA, J. B.; REYES-NOVELO, E. Ectoparasites of *Didelphis virginiana* from Yucatan, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, p. 1821- 1829, 2020.

CASTELLAW, A. H.; CHENNEY, E. F.; VARELA-STOKES, A. S. Tick-borne disease agents in various wildlife from Mississippi. **Vector Borne Zoonotic Diseases**. v. 11, n 4, p. 439-442, 2011.

CASTRO, K.C. **Assembleia de pequenos mamíferos não voadores da floresta nacional do Amapá, Amazônia oriental**. Macapá. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical). Universidade Federal do Amapá, Amapá, 2012.

CERQUEIRA, R.; FERNANDEZ & QUINTELA. Mamíferos da Restinga de Barra de Maricá. **Papeis Avulsos de Zoologia**, n.37, p.141-157, 1990.

CERQUEIRA R; LEMOS B. Morphometric differentiation between Neotropical black-eared opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (*Didelphimorphia, Didelphidae*). **Mammalia**. 2000; 64(3), doi: 10.1515/ mamm.2000.64.3.319

CHOMEL; B.B.; BELOTTO; A.; MESLIN; F-X. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. **Emerging Infectious Diseases**, v.13p.6-11, 2007.

COHEN, C., SHEMESH, M., GARRIDO, M., MESSIKA, I., EINAV, M., KHOKHOVA, I., TASKER, S., HAWLENA, H. Hemoplasmas in wild rodents: Routes of transmission and infection dynamics. *Molecular Ecology*, v.27, p.3714-3726, 2018.

CICUTTIN, G. L.; DE SALVO, M. N.; PÉREZ, P. D.; SILVA, D.; FÉLIX, M. L.; VENZAL, J. M.; NAVA, S. A novel *Ehrlichia* strain (Rickettsiales: Anaplasmataceae) detected in *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae), a tick species of public health importance in the Southern Cone of America, **Pathogens and Global Health**, n. 114, v. 6, p. 318-322, 2020.

CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. **Wild animals and public health. Biology, medicine and surgery of South American wild animals.** Editora M. E. Fowler. Iowa: Editora M. E. Fowler. 2001.

COSTA, P. S. G.; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 853–859, 2005

COSTA, P. S. G.; VALLE, L. M.; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. More about human monocytotropic ehrlichiosis in Brazil: serological evidence of new nine cases. **Brazilian Journal Infectiology Diseases**. V.. 10, p. 7–10, 2006.

COSTA, L.P., ASTUA DE MORAES, D., BRITO, D., SORIANO, P. & LEW, D. 2015. *Didelphis albiventris*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T40489A22176404. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20154.RLTS.T40489A22176404.en>.

CRIADO-FORNÉLIO, A. et al. New molecular data on mammalian Hepatozoon species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 93–99, 2006.

CUBILLA, M.P., SANTOS, L.C., DE MORAES, W., CUBAS, Z.S., LEUTENEGGER, C.M., ESTRADA, M., LINDSAY, L.L., TRINDADE, E.S., FRANCO, C.R.C., VIEIRA, R.F.C., BIONDO, A.W., SYKES, J.E. Microscopic and molecular identification of hemotropic mycoplasmas in South American coatis (*Nasua nasua*). **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.53, p.19–25, 2017.

CUNHA & VIEIRA. Support Diameter, Incline, and Vertical Movements of Four Didelphid Marsupials in the Atlantic Forest of Brazil. **Journal of Zoology**, v. 258, p. 419- 426, 2002.

CURITIBA. **Secretaria Municipal Meio Ambiente. Sobre áreas verdes** - Secretaria Municipal do Meio Ambiente - Prefeitura de Curitiba [Internet]. Portal da Prefeitura de Curitiba. 2018 [cited 2018 Feb 14]. Available from: <http://www.curitiba.pr.gov.br/conteudo/smma-sobre-areas-verdes/123>

DANTAS-TORRES, F.; ALÉSSIO, F. M.; SIQUEIRA, D. B.; MAUFREY, J. F.; MARVULO, M. F. V.; MARTINS, T. F.; MORAES-FILHO, J.; CAMARGO, M. C. G. O.; DAURIA, S. R. N.; LABRUNA, M. B.; SILVA, J. C. R. Exposure of small mammals to ticks and rickettsiae in

Atlantic Forest patches in the metropolitan area of Recife, North-Eastern Brazil. **Parasitology**, v. 139, p. 83–91, 2012.

DANTAS-TORRES F.; LIA R. P.; CAPELLI G. & OTRANTO, D. Efficiency of flagging and dragging for tick collection. **Experimental and Applied Acarology**, v. 61, p. 119–127, 2013.

DAR, P.A.; RESHI, Z.A. Components, processes and consequences of biotic homogenization: A review. **Contemporary Problems of Ecology**, v.7, p.123–136, 2014.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Anthropogenic Environmental Change and the Emergence of Infectious Diseases in Wildlife, **Acta Tropica**. v.78, p.103–116, 2001.

DEMEURE, C.; DUSSURGET, O.; FIOL, G. M.; LE GUERN, A. S.; SAVIN, C.; PIZARROCERDÁ, J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination and diagnostics. **Microbes and Infection**, v. 21, p. 202–212, 2019.

DEMONER, L. C.; et al. *Hepatozoon* spp. infections in wild rodents in an area of endemic canine hepatozoonosis in southeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 859–864, 2016.

DE OLIVEIRA, C. I.; DE JESUS, S. N.; SILVA, N. S.; LIMA, P. C.; MEYER, R.; NETTO, E. M.; FRANKE, C. R. Knowledge, practice and perception of human-marsupial interactions in health promotion. **The Journal of Infection in Developing Countries**. v. 3, p. 342–347, 2019.

DE SÁ DEL FIOL, F.; JUNQUEIRA, F. M.; DA ROCHA, M. C.; DE TOLEDO, M. I.; FILHO, S. B. A febre maculosa no Brasil. *Revista Panamericana de Salud Publica*. v. 27, p. 461–466, 2010.

DIAS, D. M.; BOCCHIGLIERI, A. Riqueza e uso do habitat por mamíferos de médio e grande porte na Caatinga, nordeste do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 11, n 1, p. 38–46, 2016.

DIAS, G.B., DO AMARAL, R.B., GATTO, I.R.H., LAPERA, I.M., DE OLIVEIRA, L.G., HOPPE, E.G.L., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R.. Molecular detection of *Mycoplasma suis* in captive white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) and wild boars (*Sus scrofa*) in Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.63, p.94–96, 2019.

DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘HGE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 2001.

DURDEN, L. A.; WILSON, N. (1990). Ectoparasitic and Phoretic Arthropods of Virginia Opossums (*Didelphis virginiana*) in Central Tennessee. *The Journal of Parasitology*, v. 76, n. 4, p. 581–3, aug. 1990

DUSCHER, G. G.; LESCHNIK, M.; FUEHRER, H. P.; JOACHIM, A. Wildlife reservoirs for vector-borne canine, feline and zoonotic infections in Austria. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, p. 88–96, 2014.

ESTRADA-PEÑA, A.; DE LA FUENTE, J. Species interactions in occurrence data for a community of tick-transmitted pathogens. **Scientific Data**, v.3, p.160056, 2016.

EWING, S.A.; BUCKNER, R. G. STRINGER, B. G. The coyote, a potential host for *Babesia canis* and *Ehrlichia* sp. **The Journal of Parasitology**, Local, v. 50, n. 5, p.704, 1964.

FERREIRA, J. I. G. S.; COSTA, A. P.; NUNES, P. H.; RAMIREZ, D.; FOURNIER, G. F. R.; SARAIVA, D. New Trypanosoma species, *Trypanosoma gennarii* sp. nov., from South American marsupial in Brazilian Cerrado. **Acta Tropical**. v.176, p.249-255, 2017.

FISH, D. Population ecology of *Ixodes damini*. In Ecology and environmental management of Lyme disease (ed. H. Ginsberg), p. 25–42, New Brunswick, NJ: Rutgers University Press, 1993.

FOLEY, J. E.; PEDERSEN, N. C. ‘Candidatus Mycoplasma haemominutum,’ a low-virulence epierythrocytic parasite of cats. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 815-817, 2001.

FONSECA, G.A.B.; J.G. ROBINSON. Forest Size and Structure: Competitive and Predatory Effects on Small Mammal Communities. **Biological Conservation** n. 53, p. 265-294, 1990.

FONSECA, G.A.B.; HERRMAN, G.; LEITE, Y.L.R.; MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B.; PATTON, J.L. **Lista anotada dos mamíferos do Brasil**. 4º Ed. Conservation International & Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte 1996.

FONSECA, M. S.; BAHIENSE, T. C.; SILVA, A. A. B.; ONOFRIO, V. C.; BARRAL, T. D.; SOUZA, B. M. P.; DA SILVA, R. M. L.; BIONDI, I.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Ticks and Associated Pathogens From Rescued Wild Animals in Rainforest Fragments of Northeastern Brazil. **Frontiers in Veterinary Sciences**, v. 7, p. 1-10, 2020.

FORLANO, M.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; FERNANDES, K. R.; EWING, S. A.; MASSARD, C. L. Diagnosis of *Hepatozoon* spp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 1-7, 2005.

FORNAZARI, F., TEIXEIRA, C. R., SILVA, R. C., LANGONI, H. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* among Brazilian white-eared opossums (*Didelephis albiventris*). **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 238-241, 2011.

FLYNN, J.J. & WYSS, A.R. Recent advances in South American mammalian paleontology’, **Trends in Ecology and Evolution**, v.13, p.449–54, 1998.

FURTADO, M.M., TANIWAKI, S.A., METZGER, B., O’DWYER, L.H., PADUAN, K.D.S., JÁCOMO, A.T.A., PORFÍRIO, G.E.O., SILVEIRA, L., SOLLMANN, R., TÔRRES, N.M., FERREIRA NETO, J.S. First detection of feline hemoplasmas in free-ranging jaguars (*Panthera onca*). **Veterinary Microbiology**, v.214, p.75-80, 2019.

GARDNER, A.L. Order Didelphimorphia. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. **Mammal Species of the World** (eds D.E. Wilson & D.M. Reeder), pp. 15-23, Smithsonian Institution Press, Washington, 1993.

GARDNER, A. L. Mammals of South America. IN: _____. **Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.

GENTILE, R.; FERNANDEZ, F.A.S. Influence of Habitat Structure on a Streamside Small Mammal Community in a Brazilian Rural Area. **Mammalia**, n.63, v. 1, p. 29-40, 1999.

GIROTTO, A., ZANGIRÓLAMO, A.F., BOGADO, A.L., SOUZA, A.S., DA SILVA, G.C., GARCIA, J.L., VILAS BOAS, L.A., BIONDO, A.W., VIDOTTO, O. Molecular detection and occurrence of 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in dairy cattle of Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, p.342-344, 2012.

GONÇALVES, L.R., ROQUE, A.L.R., MATOS, C.A., FERNANDES, S.J., OLMOS, I.D.F., MACHADO, R.Z.M., ANDRÉ, M.R. Diversity and molecular characterization of novel hemoplasmas infecting wild rodents from diferente Brazilian biomes. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.43, p.50–56, 2015.

GONÇALVES, L. R., HERRERA, H. M., NANTES, W. A. G., SANTOS, F. M., PORFÍRIO, G. E. DE O., BARRETO, W. T. G.; ANDRÉ, M. R. Genetic diversity and lack of molecular evidence for hemoplasma cross-species transmission between wild and synanthropic mammals from Central-Western Brazil. **Acta Tropica**, 2019.

GONZALEZ, I. H. L.; LABRUNA, M. B.; CHAGAS, C. R. F.; SALGADO, P. A. B.; MONTICELLI, C.; MORAIS, L. H.; MORAES, A. A.; ANTUNES, T. C.; RAMOS, P. L.; MARTINS, T. F. Ticks infesting captive and free-roaming wild animal species at the São Paulo Zoo, São Paulo Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 496–499, 2017.

GRAIPEL, M.E.; SANTOS-FILHOS, M. Reprodução e dinâmica populacional de *Didelphis aurita* Wied-Neuwied (Mammalia: Didelphimorphia) em ambiente periurbano na Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Biotemas**. v.19, n.1, p.65–73, 2006.

GRAZZIOTIN, A.L., DUARTE, J.M., SZABÓ, M.P., SANTOS, A.P., GUIMARÃES, A.M., MOHAMED, A., VIEIRA, R.F., DE BARROS FILHO, I.R., BIONDO, A.W., MESSICK, J.B. Prevalence and molecular characterization of *Mycoplasma ovis* in selected free-ranging Brazilian deer populations. **Journal of Wildlife Diseases**, v.47, p.1005-1011, 2011.

GUIMARAES, A.; Métodos de diagnóstico molecular e metagenômico de agentes anaplasmataceae em felinos domésticos (domiciliados e errantes) e gambás da região metropolitana do Rio de Janeiro. Tese apresentada ao Programa de Pós-Fraduação em Medicina Veterinária UFRRJ , 2017.

GUIMARAES, A.; RAIMUNDO, J.M.; SILVA, A.T.; CARPINTERO, F.M.; PIRES, J.R.; BENEVENUTE, J.L.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M .R.; BALDANI, C.D. Detection of a putative novel genotype of *Ehrlichia* sp. from opossums (*Didelphis aurita*) from Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.28, n.1, p.140-144, 2019.

HAJDUSEK, O.; SIMA, R.; AYLLON, N.; JALOVECKA, M.; PERNER, J.; DE LA FUENTE, J. Interaction of the tick immune system with transmitted pathogens. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v 3, p. 26, 2013.

HARDER, J. D. Reproductive biology of South American marsupials. In HAMLEET, W.C. **Reproductive Biology of South American Vertebrates**. New York, NY: Springer, pp. 211–228, 1992.

HARRUS, S.; BANETH, G. Drivers for the emergence and re-emergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases. **International Journal for Parasitology**. V. 35, p. 1309-1318, 2005.

HARRUS, S.; WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): **An overview The Veterinary Journal**, v.187, p.292–296, 2011.

HATTORI, N.; KURODA, M.; KATANO, H.; TAKUMA, T.; ITO, T.; ARAI, N.; YANAI, R.; SEKIZUKA, T. ISHII, S.; MIURA, Y.; TOKUNAGA, T.; WATANABE, H.; NOMURA, N.; EGUCHI, J.; HASEGAWA, H.; NAKAMAKI, T.; WAKITA, T.; NIKI, Y. Candidatus *Mycoplasma haemohominis* in Human, Japan. **Emerging Infectious Diseases**. v. 26, n. 1, p. 11-19, 2020.

HATTORI, N., KURODA, M., KATANO, H., TAKUMA, T., ITO, T., ARAI, N., NIKI, Y. Candidatus *Mycoplasma haemohominis* in Human, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, 26, 11–19, 2020.

HERSHKOVITS, P. **The evolution of mammals in southern continents. VI. The recent mammals of the neotropical region: a zoogeograph and ecological review**. Quarterly Review in biology. 44: 1-70, 1969

HERSHKOVITZ, P. **The South American gracile mouse opossums, genus *Gracilinanus* Gardner and Creighton, 1989 (Marmosidae, Marsupialia): a taxonomic review with notes on general morphology and relationships**. Field Museum of Natural History. 1992. Holding Institution: University Library, University of Illinois Urbana Champaign.

HOOGSTAL, H. Argasid and Nuttalliellid Ticks as Parasites and Vectors. **Advanced Parasitology**, v.24, p.135-238, 1985. doi: 10.1016/s0065-308x(08)60563-1.

HOLZ, P. Marsupialia (Marsupials). In: FOWLER, M. E.; MILLER R. E. **Zoo and Wild Animal Medicine**. 5. ed. Editora Elsevier, Missouri, 2003. p.288-303.

HOMER, M. J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD III, S. R.; KRAUSE, P. J.; PERSING, D. H. Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, p. 451-469, 2000.

HORNOK, S.; MELI, M. L.; PERRETEN, A.; FARKAS, R.; WILLI, B.; BEUGNET, F.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Molecular investigation of hard ticks (Acari: Ixodidae) and fleas (Siphonaptera: Pulicidae) as potential vectors of rickettsial and mycoplasmal agents. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 98-104, 2010.

HORNOK, S.; FÖLDVÁRI, G.; RIGÓ, K.; MELI, M. L.; GÖNCZI, E.; RÉPÁSI, A.; FARKAS, R.; PAPP, I.; KONTSCHÁN, J.; HOFMANN-LEHMANN, R. Synanthropic rodents and their ectoparasites as carriers of a novel haemoplasma and vector-borne, zoonotic pathogens indoors. **Parasites & Vectors**, v.8, p. 27, 2015.

HORTA, M.C., GUILLOUX, A.G.A., BENATTI, H.R., RAMIREZ, D.G., BARROS-BATTESTI, D.M. & LABRUNA, M.B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense*

(sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). **Parasites and Vectors**, v.9, p.1–14, 2016.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 793-801, 2007.

HUMBERG, R. M.; OSHIRO, E. T.; CRUZ, M., RIBOLLA, P. E.; ALONSO, D. P.; FERREIRA, A. M.; BONAMIGO, R. A.; TASSO, N.; JR DE OLIVEIRA, A. G. *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 87, n.3, p. 470–472, sep. 2012.

IKEDA, P. SEKI, M.C., CARRASCO, A.O.T., RUDIAK, L.V., MIRANDA, J.M.D., GONÇALVES, S.M.M., HOPPE, E.G.L., ALBUQUERQUE, A.C.A., TEIXEIRA, M.M.G., PASSOS, C.E., WERTHER, K., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R. Evidence and molecular characterization of *Bartonella* spp. and hemoplasmas in neotropical bats in Brazil. **Epidemiology & Infection**, v.45, p.2038-2052, 2017.

IPARDES. CADERNO ESTATÍSTICO MUNICÍPIO DE FOZ DO IGUAÇU **Foz do Iguaçu: Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social**; 2021[cited Mar 21]. 49 p. Available from: <http://www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=85850>

IQBAL, Z.; CHAICHANASIRIWITHAYA, W.; RIKIHISA, Y. Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 1658-1662, 1994.

IVANOV, A.; TSACHEV, I. *Hepatozoon canis* and hepatozoonosis in the dog. **Trakia Journal of Sciences**, v. 6, n. 2, p. 27-35, 2008.

JALOVECKA, M.; SOJKA, D.; ASCENCIO, M.; SCHINITTGER, L. Babesia Life Cycle – When Phylogeny Meets Biology. **Trends in Parasitology**, V. 35, P. 356-368, 2019.

JOHNSON, P. T. A classification of the Siphonaptera of South America with descriptions of new species. **Memoirs of The Entomological Society of Washington**, v. 5, p. 1-298, 1957.

JOHNSON, E. M.; ALLEN, K. E.; PANCIERA, R. J.; EWING, S. A.; LITTLE, S. E. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and infectivity of cystozoites for a dog. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p. 162-166, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.028>

JONES, C. G.; OSTFELD, R. S.; RICHARD, M. P.; SCHAUBER, E. M.; WOLFF, J. O. Chain reactions linking acorns to gypsy moth outbreaks and Lyme disease risk. *Science*; 279(5353): 1023–1026, 1998.

JULIEN-LAFERRIÈRE, D.; ATRAMENTOWICZ, M. Feeding and reproduction of three *Didelphid marsupials* in two Neotropical forests (French Guiana). **Biotropica**, p.404-415, 1990.

JÚNIOR, P. C. B.; GUIMARÃES, L. E.; PENDU, Y. Non-legalized commerce in game meat in the Brazilian Amazon: A case study. *Revista Biologia Tropical*, v. 58, p. 1079–1088, 2010.

JURGILAS, P.B.; NEVES-FERREIRA, A.G.C.; DOMONT, G.B.; MOUSSATCHE, H.; PERALES, J. Detection of an antithrombotic fraction in opossum (*Didelphis marsupialis*) milk that neutralizes Bothrops jararaca venom. **Toxicon**, v.37, p.167–172, 1999.

KAJIN, M. ; CERQUEIRA, R.; VIEIRA, M. V.; GENTILE, R. Nine-year demography of the black-eared opossum *Didelphis aurita* (Didelphimorphia: Didelphidae) using life tables. **Revista Brasileira de Zoologia**. v.25, p.206-213, 2008.

KEESING, F.; BRUNNER, J.; DUERR, S.; KILLILEA, M.; LOGIUDICE, K.; SCHMIDT, K.; VUONG, H.; OSTFELD, R. S. Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. **Proceedings of the Royal Society**, v. 276, p. 3911–3919, 2009.

KILPATRICK, A. M.; RANDOLPH, S. E. Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. **Lancet**. n. 380, p.1946–1955, 2012.

KJEMTRUP, A.; CONRAD, P. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. **International Journal for Parasitology**, v.30, n.12, p.1323–1337, 2000.

KOMAR, N.; PANELLA, N. A.; LANGEVIN, S. A.; BRAULT, A. C.; AMADOR, M.; EDWARDS, E.; OWENS, J. Avian hosts for West Nile virus in St. Tammany Parish, Louisiana. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.73, p.1031–1037, 2002.

KRAUSE, W. J.; KRAUSE, W. A. The opossum: its amazing story. Department of Pathology and Anatomical Sciences. University of Missouri, Columbia, School of Medicine, 2006.

KUBO, M. et al. *Hepatozoon ursi* n. sp. (Apicomplexa: Hepatozoidae) in Japanese black bear (*Ursus thibetanus japonicus*). **Parasitology International**, v. 57, n. 3, p. 287–294, set. 2008.

LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A. Prevalence of Rickettsia infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro Municipality, western Amazon, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.7, p.249-255, 2007.

LABRUNA, M.B. Ecology of Rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.166, n.1, p.156–66, 2009.

LAMATTINA, D.; VENZAL, J. M.; COSTA, S. A.; ARRABAL, J. P.; FLORES, S.; BERROZPE, P. E.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Ecological characterization of a tick community across a landscape gradient exhibiting differential anthropogenic disturbance in the Atlantic Forest ecoregion in Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**. v. 32, p. 271- 281, 2018.

LAPPIN, M. R. DINGMAN; P; LEVY; J.; HAWLEY; J.R.; RILEY, A. Detection of hemoplasma DNA on the gingiva and claw beds of naturally exposed cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 3, p. 779, 2008.

LARA, P. G.; PINA, H. R. ; NOVELO, E. R.; DZUL, K. R.; CASTRO, J. Z. . Infection by *Rickettsia felis* in opossums (*Didelphis* sp.) from Yucatan, Mexico. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, p. 32, 2016.

LEE, J.Y., RYAN, U.M., JEFFERIES, R., MCINNES, L.M., FORSHAW, D., FRIEND, J.A., IRWIN, P.J. *Theileria gilberti* n. sp (Apicomplexa: Theileriidae) in the Gilbert's Potoroo (*Potorous gilbertii*). **Journal Eukaryotic Microbiology**, v. 56, p. 290–295, 2009.

LEITE, Y. L. R.; COSTA & STALLINGS. Diet and Vertical Space Use of Sympatric Opossums in a Brazilian Atlantic Forest Reserve. **Journal of Tropical Ecology**, v.12, p. 453-440, 1996.

LEVINE, N. D., et al. A newly revised classification of the protozoa. **Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37-58, fev. 1980.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: Ed. do Museu de Zoologia da USP. 2.000.

LINDGREN, E.; TALLEKLINT, L.; POLFELDT, T. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, p. 119 –123, 2000.

LINDQUIST, L.; VAPALAHTI, O. Tick-borne encephalitis. **The Lancet**, v.371, p.1861–1871, 2008.

LOCKHART, J.; DAVIDSON, W.; STALLKNECHT, D.; DAWSON, J.; LITTLE, S. Natural History of *Ehrlichia chaffeensis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) in the Piedmont Physiographic Province of Georgia. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 887-894, 1997.

LOGIUDICE, K.; OSTFELD, R. S.; SCHMIDT, K. A.; KEESING, F. The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.100, p. 567–571, 2003.

LONDOÑO, A. F.; ACEVEDO-GUTIÉRREZ, L. Y.; MARÍN, D.; CONTRERAS, V.; DÍAZ, F. J.; VALBUENA, G. Wild and domestic animals likely involved in rickettsial endemic zones of Northwestern Colombia. **Ticks Tick Borne Diseases**. v. 8, n.6, p.887-894, 2017.

LOPES, G. M.; LEAL, S. M. L.; JULIA, T. R. L.; FOURNIER, G. F. S. R.; ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; RAMIREZ, D. G.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Ticks, rickettsial and erlichial infection in small mammals from Atlantic forest remnants in northeastern Brazil. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.7, p.380 – 385, 2018.

LUZ, H. R.; NETO, S. F. C.; WEKSLER, M.; GENTILE, R.; FACCINI, J. L. H. Ticks parasitizing wild mammals in Atlantic Forest areas in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 409–414, 2018.

MACHADO, R. Z.; DUARTE, J. M. B.; DAGNONE, A. S; SZABÓ, M. P. J. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Veterinary Parasitology**. v. 139, p.262–266, 2006

MACHADO, C.A.L., VIDOTTO, O., CONRADO, F.O., SANTOS, N.J.R., VALENTE, J.D.M., BARBOSA, I.C., TRINDADE, P.W.S., GARCIA, J.L., BIONDO, A.W., VIEIRA, T.S.W.J., VIERRA, R.F.C. *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.55, p.1-5, 2017.

MAGGI, R.G., COMPTON, S.M., TRULL, C.L., MASCARELLI, P.E., MOZAYENI, B.R., BREITSCHWERDT, E.B. Infection with hemotropic *Mycoplasma* species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. **Journal of Clinical Microbiology**, v.51, p.3237-3241, 2013.

MAIA, N.L. **Identification and characterization of bioagents in the order Rickettsiales transmitted by ticks and fleas on wild animals received by the Screening Center of Wild Animals (CETAS) Federal University of Viçosa, Minas Gerais**. 2012. 78 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia, diagnóstico e controle de doenças; Epidemiologia e controle de qualidade de prod. de) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

MAIA, J. P.; ÁLVARES, F.; BORATYNSKI, Z.; BRITO, J. C. Molecular assessment of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina) infections in wild canids and rodents from North Africa, with implications for transmission dynamics across taxonomic groups. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 50, n. 4, p. 837-848, 2014.

MALTA, M. C. C.; LUPPI, M. M. Marsupilia – Didelphimorphia (Gambá, Cuíca). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Rocca; 2007. p. 340-347.

MARTENS, W. J. M.; NIESSEN, L. W.; ROTMANS, J.; JETTEN, T. H.; MCMICHAEL, A. J. Potential impact of global climate-change on malaria risk. *Environmental Health Perspectives*, v. 103, p. 458–464, 1995.

MARTINS, T.F., BARBIERI, A.R.M., COSTA, F.B., TERASSINI, F.A., CAMARGO, L.M.A., PETERKA, C.R.L., PACHECO, R.C., DIAS, R.A., NUNES, P.H., MARCILI, A., SCOFIELD, A., CAMPOS, A.K., HORTA, M.C., GUILLOUX, A.G.A., BENATTI, H.R., RAMIREZ, D.G., BARROS-BATTESTI, D.M. & LABRUNA, M.B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). **Parasites and Vectors**, v.9, p.1–14, 2016.

MASSINI, P. F., DROZINO, R. N., OTOMURA, F. H., MONGRUEL, A. C. B., VALENTE, J. D. M., TOLEDO, M. J. O., MARTINS, T. F., VIDOTTO, O., VIEIRA, T. S. W. J. & VIEIRA, R. F. D. C. Detection of Hemotropic *Mycoplasma* sp. in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.28, n.4, p.797-801, 2019.

MATHER, T. N.; NICHOLSON, M. C.; DONNELLY, E. F.; MATYAS, B. T. Entomologic index for human risk of Lyme disease. **American Journal of Epidemiology**. v. 144, p. 1066–1069, 1996.

MELLO, V.V.C., DE SOUZA, RAMOS, I.A., HERRERA., H.M., MENDES, N.S., CALCHI, A.C., CAMPOS, J.B.V., MACEDO, G.C., ALVES, J.V.A., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R. Occurrence and genetic diversity of hemoplasmas in beef cattle from the Brazilian Pantanal, an endemic area for bovine trypanosomiasis in South America. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.66, p.101337, 2019.

MELO, A. L.T.; AGUIAR, D. M.; SPOLIDORIO, M. G.; YOSHINARI, N. H.; MATUSHIMA, E. R.; LABRUNA, M. B. Serological Evidence of Exposure to Tick-Borne

Agents in Opossums (*Didelphis spp.*) in the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.25, n 3, p.348-352, 2016.

MELO, C.M.F., DANEZE, E.R., MENDES, N.S., DE SOUZA, RAMOS, I.A., MORALES-DONOSO, J.A., FERNANDES, S.J., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R., DA ROSA SOBREIRA, M.F. Genetic diversity and hematological and biochemical alterations in Alouatta primates naturally infected with hemoplasmas in Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.63, p.104-111, 2019.

MERINO, S., VÁSQUEZ, R.A., MARTÍNEZ, J., CELIS-DIEZ, J.L., GUTIÉRREZ-JIMÉNEZ, L., IPPI, S., SÁNCHEZ-MONSALVEZ, I., DE LA PUENTE, J.M. Molecular characterization of an ancient *Hepatozoon* species parasitizing the 'living fossil' marsupial 'Monito del Monte' *Dromiciops gliroides* from Chile. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.98, p.568–576, 2009.

MESSICK, J.B.; BERENT, L.M.; COOPER, S.K. Development and Evaluation of a PCRBased Assay for Detection of *Haemobartonella felis* in Cats and Differentiation of *H. felis* from Related Bacteria by Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, p. 462–466, 1998.

MESSICK, J. B. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology**, v.33, p.2–13, 2004

MESSICK, J. B., BERENT, L. M., EHRHART, E. J., & WASMER, C. C. Light and electron microscopic features of eperythrozoon-like parasites in a North American opossum (*Didelphis virginiana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.31, n.2, p.240–243, 2000.

MESSICK, J. B.; HARVEY, J. W. Hemotropic Mycoplasmosis (Hemobartonellosis). In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p. 310-319.

MESSICK, J.B.; WALKER, P. G.; RAPHAEL, W.; BERENT, L.; SHI, X. 'Candidatus Mycoplasma haemodidelphidis' sp. nov., 'Candidatus mycoplasma haemolamae' sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotropic Parasites from a Naturally Infected Opossum (*Didelphis virginiana*), Alpaca (*Lama pacos*) and Dog (*Canis familiaris*): Phylogenetic and Secondary Structural Relatedness of their 16S rRNA Genes to Other Mycoplasmas. **International Journal of Systematic and Evolutionary**, v.52, p.693-698, 2002.

MICELI, N.G., GAVIOLI, F.A., GONÇALVES, L.R., ANDRÉ, M.R., SOUSA, K.C., MACHADO, R.Z. Molecular detection of feline arthropod-borne pathogens in cats in Cuiabá, state of Mato Grosso, central-western region of Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria**, v.22, p.385-390, 2013.

MIRANDA, R. L. et al. Oocysts of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* collected from a naturally infected dog. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 392–396, 2011.

MONGRUEL, A. C.; BENEVENUTE, J. L.; ANDRÉ, M. R.; CARRASCO, A. O.; MACHADO, R. Z.; SEKI, M. C. Molecular Characterization of *Anaplasma* sp. in Free-Living Gray Brocketts (*Mazama gouazoubira*). **Vector Borne Zoonotic Diseases**. v. 17, p. 165-171, 2017.

- MORAES E VIEIRA. Carnivory and Insectivory in Neotropical Marsupials. IN: _____ **Predators with Pouches**. Csiro Publishing, p271-284, 2003.
- MULLER ,G.,; BRUM, J. G. W.; LANGONE, P. Q.; MICHELS, G. H.; SINKOE , A. L.; RUAS, J. L.; BERNE, M. E. A. *Didelphis albiventris* Lund, 1841, parasitado por *Ixodes loricatus* Neuman, 1899, e *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae) no Rio Grande do Sul. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 72, p. 319–324, 2005.
- MUNSON, L.; TERIO, K. A.; KOCK, R.; MLENGEYA, T.; ROELKE, M. E.; DUBOV, I. E.; SUMMERS, B.; SINCLAIR, A. R.; PACKER, C. Climate extremes promote fatal co-infections during canine distemper epidemics in African lions. **PLOS One**, v.3, p. 2545, 2008.
- MURATA, T., NOUE M, TAURA Y, NAKAMA S, ABE H, FUJISAKI K. Detection of Hepatozoon canis oocysts from ticks collected from the infected dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 57, n. 1, p. 111- 112, 1995.
- MURRAY, R. G. E.; STACKEBRANDT, E. Taxonomic note: implementation of the provisional status Candidatus for incompletely described procaryotes. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 1, p. 186-7, 1995.
- MUSEUX, K. et al. In vivo transmission studies of “*Candidatus Mycoplasma turicensis*” in the domestic cat. **Veterinary Research**, v. 40, n. 5, p. 45, 2009.
- NASCIMENTO, C. C., HORTA, M. C. Didelphimorphia (Gambá, Cuíca). In Z. S. CUBAS, J. C. R. SILVA; J. L. CATÃO-DIAS **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca. 2014.
- NASCIMENTO, D. C.; CAMPOS, B. A. T. P.; FRAGA, E. C.; BARROS, M. C. Genetic Variability of Populations of the White-Eared Opossum, *Didelphis albiventris* Lund 1840 (Didelphimorphia; Didelphidae) in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. v. 79, n. 4, p. 594-602, 2019.
- NASCIMENTO, E.M.M.; SCHUMAKER, T.T.S. Isolamento e identificação de *Rickettsias* no Brasil. IN: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, 13, 2004. Ouro Preto. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.13, supl.1, p.193-196, 2004.
- NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. An overview of systematics and evolution of ticks. **Frontiers in Bioscience**, v. 14, n.1, p. 2857-2877, 2009.
- NEIMARK, H., JOHANSSON, K.E., RIKIHISA, Y., TULLY, J.G. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of ‘*Candidatus Mycoplasma haemofelis*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemomuris*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemosuis*’ and ‘*Candidatus Mycoplasma wenyonii*’. **International Journal of Systematic and Evolutionary**. v.51, n.3, p.891– 899, 2001.
- NEIMARK, H. et al. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. n.2, p. 683, 2002
- NEIMARK, H., PETERS, W., ROBINSON, B.L., STEWART, L.B. Phylogenetic analysis and description of *Eperythrozoon coccoides*, proposal to transfer to the genus *Mycoplasma* as *Mycoplasma coccoides* comb. nov. and Request for an Opinion. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.55, p.1385-1391, 2005.

OGDEN, N. H.; LINDSAY, L. R.; BEAUCHAMP, G.; CHARRON, D.; MAAROUF, A.; O'CALLAGHAN, C. J.; WALTNER-TOEWS, D.; BARKER, I. K. Investigation of relationships between temperature and developmental rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 622–633, 2004.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L.; SOUZA, J. C. P. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 94, p. 143–150, 2001.

O'DWYER, L.H.; SAITO, M.E.; HASEGAWA, M.Y.; KOHAYAGAWA, A. Tissue stages of *Hepatozoon canis* in naturally infected dogs from São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v.94, p.240-242, 2004.

OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Human ehrlichioses. **The Medical Clinics of North America**, v. 86, n. 2, p. 375-392, 2002.

OLIVER JÚNIOR, J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). **Annual Review of Ecological Systematic**, v. 20, p. 397-430, 1989.

OLIVEIRA, H. H.; GOMES, V.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S.; SERRA-FREIRE, N. M.; QUINELATO, I. P. F.; MORELLI-AMARAL, V. F.; ALMEIDA, A. B.; CARVALHO, R. W.; CARVALHO, A. G. Diversidade de ixodida em roedores e marsupiais capturados no Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de Janeiro, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, p. 1097–1104, 2014.

OLIVEIRA, J. C. P.; RECKZIEGEL, G. H.; RAMOS, C. A. N.; GIANNELLI, A.; ALVES, L. C.; DE CARVALHO, G. A.; RAMOS, R. A. N. Detection of *Rickettsia felis* in ectoparasites collected from domestic animals. **Experimental and Applied Acarology**, v. 81, p. 255–264, 2020.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Publicações**. 2017. Disponível em:<<http://www.who.int/eportuguese/countries/bra/pt/>>. Acesso em: 18 jan. 2020.

OSTFELD, R. **Lyme disease: the ecology of a complex system**: OUP USA; 2010

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. **Canadian Journal of Zoology**, v. 78, p. 2061–2078, 2000.

PACHECO RC, HORTA MC, PINTER A, MORAES-FILHO J, MARTINS TF, NARDI MS. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 42, n.3, p.351-353, 2009.

PAGE, K.; BEASLEY, J. C.; OLSON, Z. H. Reducing *Baylisascaris Procyonis* Roundworm Larvae in *Raccoon Latrines*. **Emerging Infectious Diseases**. v.17, n.1, p.90-93, 2011.

PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B; HERRMANN, G.; AGUIAR, L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; LEITE, Y.L.R.; COSTA, L.P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M.C.M.; MENDES, S.L.; TAVARES, V.C.; MITTERMEIER, R.A.; PATTON, J.L. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil**. 2ª ed. Conservation International, Arlington 2012.

PALMER, G. H.; BROWN, W. C.; RURANGIRWA, F. R. Antigenic variation in the persistence and transmission of the ehrlichia *Anaplasma marginale*. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 167-76, 2000.

PANCIERA, R. J.; MATHEW, J. S.; EWING, S. A. Skeletal lesions of canine hepatozoonosis caused by *Hepatozoon americanum*. **Veterinary Pathology**, v.37, n. 3, p. 225–230, 2000.

PAPARINI, A.; RYAN, U. M.; WARREN, K.; McINNES, L. M.; TORES, P.; IRWIN, P. J. Identification of novel *Babesia* and *Theileria* genotypes in the endangered marsupials, the woylie (*Bettongia penicillata ogilbyi*) and boodie (*Bettongia lesueur*). **Experimental Parasitology**, v. 131, p. 25-30, 2012.

PATTON, J. L. ; COSTA, L. JONES, M. Molecular phylogeography and species limits in rainforest didelphidae marsupials of South America. **Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials**. 63-81, 2003.

PEREIRA, A.; PARREIRA, R., COTÃO, A. J.; NUNES, M.; VIEIRA, M. L.; AZEVEDO, F.; CAMPINO, L.; MAIA, C. Tick-borne bacteria and protozoa detected in ticks collected from domestic animals and wildlife in central and southern Portugal. *Ticks and tick-borne diseases*, v. 9, n. 2, p. 225-234. 2018.

PICOLOTO, G.; LIMA, R. F.; OLEGÁRIO, L. A.; CARVALHO, C. M.; LACERDA, A. C.; TOMÁS, W. M.; BORGES, P. A.; PELLEGRIN, A. O.; MADRUGA, C. R. Real time polymerase chain reaction to diagnose *Anaplasma marginale* in cattle and deer (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) of the Brazilian Pantanal. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. n. 19, v.3, p. 186-188, 2010.

PINTO, I. S.; BOTELHO, J. R.; COSTA, L. P.; LEITE, Y. L. R.; LINARDI, P. M. Siphonaptera associated with wild mammals from the Central Atlantic Forest biodiversity corridor in Southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, p. 1146–1151, 2009.

PITCHER, D.G.; NICHOLAS, R.A.J. Mycoplasma host specificity: fact or fiction? **Veterinary Journal**, v.170, p.300-306, 2004.

PONTAROLO, G. H.; KUHL, L. F.; PEDRASSANI, M. C.; FIGUEIREDO, F. B.; VALENTE, J. D. M.; GONÇALVES, R.; ANDRÉ, M. R.; VIEIRA, T. S. W.; VIEIRA, R. F. C.; FILHO, I. R. B. “Candidatus *Mycoplasma haemoalbiventris*”, a novel hemoplasma species in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**. v.67, n 6, 2020.

PRICE, S.J., LEUNG, W.T.M., OWEN, C.J., PUSCHENDORF, R., SERGEANT, C., CUNNINGHAM, A.A., BALLOUX, F., GARNER, T.W.J., NICHOLS, R.A. Effects of historic and projected climate change on the range and impacts of an emerging wildlife disease. **Global Change Biology**, v.25, p.2648-2660, 2019.

QUINTELA, F.M., GONÇALVES, B.I., TRINDADE, G.E., SANTOS, M.B. and TOZETTI, A.M. Non-volant small mammals (Didelphimorphia, Rodentia) in coastal grasslands of southernmost Brazil. **Biota Neotropica**, v.13, n. 4, p. 284-289, 2013.

RAMOS, R., RAMOS, C., ARAÚJO, F., OLIVEIRA, R., SOUZA, I., PIMENTEL, D., GALINDO, M., SANTANA, M., ROSAS, E., FAUSTINO, M., ALVES, L. Molecular survey

and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). **Parasitology Research**, v. 107, p.1115-1120, 2010.

RANDOLPH, S. E. Climate, satellite imagery and the seasonal abundance of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* in southern Africa: a new perspective. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 7, p. 243–258, 1993.

RANGEL, C. H.; NEIVA, C. H. M. B. Predação de vertebrados por cães *Canis lupus familiaris* (Mammalia: Carnivora) no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Revista Biodiversidade Brasileira**, v. 3, p. 261–269, 2013.

REAGAN, K. L.; CLARKE, L. L.; HAWLEY, J. R.; LIN, P.; LAPPIN, M. R. Assessment of the ability of *Aedes* species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*'. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 19, p. 7998-802, 2016.

REGOLIN, A. L.; CHEREM, J. J.; BOTELHO, J. R.; CARVALHO-PINTO, C. J.; LINARDI, P. M. Alguns ectoparasitos de mamíferos terrestres não voadores de Santa Catarina e Rio Grande do Sul: novos registros geográficos e de hospedeiros. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MASTOZOLOGIA**, São Pedro, SP, Resumos, 2010.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. 2. ed. Londrina, PR, p. 439, 2011.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C., PONZONI, F. J.; & HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed. **Implications for conservation. Biological Conservation**, n.6, p.1141-1153, 2009.

RIBEIRO, P.; MELO, F. R. Medium-large sized mammals of an agricultural area in Terezópolis (Goiás State) with sampling methods notes. **Neotropical Biology and Conservation**, v.8, n.2, p. 68-78, 2013.

RISTIC, M., KREIER, J.P. Genus III *Haemobartonella*; genus IV *Eperythrozoon*. In: KRIEG, N.R., HOLT, J.G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams & Wilkins (eds.). Baltimore:, 1984. Pp.724-729.

RIKIHISA, Y.; KAWAHARA, M.; WEN, B.; KOCIBA, G.; FUERST, P.; KAWAMORI, F.; SUTO, C.; SHIBATA, S.; FUTOHASHI, M. Western immunoblot analysis of *Haemobartonella muris* and comparison of 16S rRNA gene sequences of *H. muris*, *H. felis* and *Eperythrozoon suis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, n.4, p.823-829, 1997.

RODRIGUES, A. F. S. F.; DAEMON, E.; MASSARD, C. L. Morphological and morphometrical characterization of gametocytes of *Hepatozoon procyonis* Richards, 1961 (Protista, Apicomplexa) from a Brazilian wild procyonid *Nasua nasua* and *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae). **Parasitology Research**, v. 100, p. 347–350, 2007.

RODRIGUES, M.S., LIMA, L., XAVIER, S.C.D.C., HERRERA, H.M., ROCHA, F.L., ROQUE, A.L.R., TEIXEIRA, M.M.G., JANSEN, A.M. Uncovering Trypanosoma spp. diversity of wild mammals by the use of DNA from blood clots. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.8, p.171-181, 2019.

ROGERS, D. J. & RANDOLPH, S. E. 2000 The global spread of malaria in a future, warmer world. *Science* 289, 1763–1766.

ROQUE, A.L., JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.3, p.251-262, 2014.

ROSSI, R. V.; BIANCONI, G.V. Ordem Didelphimorphia. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds.). **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Imprensa da UEL, Londrina, p. 31-69, 2011.

RUBINI, A.S.; PADUAN, K.S.; LOPES, V.V.A.H.; O'DWYER, L.H. Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in dogs from rural area of São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v.102, p.895-899, 2008.

RUI CERQUEIRA, R. & TRIBE, J. C. Genus *Didelphis* Linnaeus, 1758. In: GARDNER Mammals of South America. vol. 1. **Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.

SACCHI, A. B. V.; DUARTE, J. M. B.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z. Prevalence and molecular characterization of Anaplasmataceae agents in free-ranging Brazilian marsh deer (*Blastocercus dichotomus*). **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v. 32, p. 325–334, 2012.

SALVADOR, C. H.; CARVALHO-PINTO, C.; CARVALHO, R.; GRAIPEL, M.E.; SIMÕES-LOPES, P. C. Interação para- sito-hospedeiro entre ectoparasitos (Ixodida & Siphonaptera) e gambás *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826 (Mammalia: Didelphimorphia), no continente e em ilhas do litoral de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biotemas**, v. 20, p. 81-90, 2007.

SANTA CRUZ, A. M. C.; BORDA, J. T.; MONTENEGRO, M. A.; GOMEZ, L. G.; PRIETO, L. H.; SCHEIBLER, N. **Studio de Ecto y Endo Parasitos em Didelphis Albiventris (Comadreja overa o picaza), Marsupialia, Didelphidae**, 2002. Disponível em: <https://www.une.edu.ar/cyt/veterinarias/v.25>.

SANTOS, A. P.; CONRADO, F. O.; MESSICK, J. B.; BIONDO, A. W.; OLIVEIRA, S. T.; GUIMARÃES, A. M. NASCIMENTO, N. C.; PEDRALLI, V.; LASTA, C. S.; GONZÁLES, F. H. D. Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different cat populations from Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 428-434, 2014.

SANTOS, I. G. D.; MENDES, T. A. O.; SILVA, G. A. B.; REIS, A. M. S.; VITORELLO, C. B. M.; SCHACKER, P. D. C.; HERAI, R. H.; FABOTTI, A. B. C.; COUTINHO, L. H.; JORGE, E. C. *Didelphis albiventris*: an overview of unprecedented transcriptome sequencing of the white-eared opossum. **BMC Genomics**, v.15, n.1, p.866, 2019.

SANTOS, L. C. Molecular identification of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in wild mammals. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, 2016.

SARAIVA, D.G., FOURNIER, G.F., MARTINS, T.F., LEAL, K.P., VIEIRA, F.N., CÂMARA, E.M., COSTA, C.G., ONOFRIO, V.C., BARROS-BATTESTI, D.M., GUGLIELMONE, A.A. & LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with small

terrestrial mammals in the state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.58, p.159–166, 2012.

SCARANO, F.R.; CEOTTO P. Brazilian Atlantic Forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. **Biodiversity and Conservation**. v. 24, p. 2319-2331, 2015.

SERRA-FREIRE, N. M. *Babesia ernestoi* n. sp., in *Didelphis marsupialis* L., 1758 and *D.albiventris* Lund, 1841, in Brazil. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, v.26, n. 8, p. 614-622, 1979.

SENEVIRATNA, P.; WEERASINGHE, N.; ARIYADASA, S. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Research in Veterinary Science**, v. 14, p. 112-114, 1973.

SHAW, S. E.; BIRTLES , R. J.; DAY, M. J.. Arthropod-Transmitted Infectious Diseases of Cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 3, n. 4, p.193-209, 2001.

SHAW, S. E.; KENNY, M. J.; TASKER, S.; BIRTLES, R. J. Pathogen carriage by the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouche) in the United Kingdom. **Veterinary Microbiology**, v. 102. p 183-188, 2004.

SILVA, M. R. L; FORNAZARI, F.; O'DWYER, L. H. Piroplasmas em *Didelphis albiventris*. IN: **XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 2014.Gramado, RS, 2014.

DA SILVA, V.G., RICHINI-PEREIRA, V.B., VON ZUBEN, A.P.B., CASTAGNA, C.L., MOTOIE, G., HIRAMOTO, R.M., TOLEZANO, J.E., PAIZ, L.M., DONALISIO, M.R., RICHINI-PEREIRA, V.B., MOTOIE, G., CASTAGNA, C.L., TOLEZANO, J.E. Infection by *Leishmania* spp. in freeranging opossums (*Didelphis albiventris*) in an environmentally protected area inhabited by humans in Southeastern Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.16, p.728–730, 2016.

SILVA, M. R. L.; FORNAZARIB, F.; DEMONERA, L.C.; TEIXEIRA, R. LANGONI, H.; O'DWYERA, L. H. *Didelphis albiventris* naturally infected with *Hepatozoon canis* in southeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. v. 6, p. 878-881, 2017.

SILVEIRA, J. A.,; RABELO, E. M.; RIBEIRO, M. F. Molecular detection of tickborne pathogens of the family Anaplasmataceae in Brazilian Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and Marsh Deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). **Transboundary and Emerging Diseases**. v. 59, p. 353–360, 2012.

SILVEIRA, J. A.,; RABELO, E. M.; LACERDA, A. C.; BORGES, P. A.; TOMÁS, W. M.; PELLEGRIN, A. O.; TOMICH, R. G.; RIBEIRO, M. F. Molecular detection and identification of hemoparasites in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758) from the Pantanal Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases**. v. 4, p. 341-5, 2013.

SILVEIRA, J. A. G., RABELO, E. M. L., LIMA, P. C. S., CHAVES, B. N. & RIBEIRO, M. F. B. Post-mortem hemoparasites detection in free-living Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 23, p. 206–215, 2014.

SLOBODA, M.; KAMLER, M.; BULANTOV, J.; VOTYPKA, J.; MODRY, D. Rodents as intermediate hosts of Hepatozoon ayorgbor (Apicomplexa: Adeleina: Hepatozoidae) from the African ball python, *Python regius*? **Folia Parasitologica**, v. 55, n. 1, p. 13-16, 2008.

SIMECKA, J. W.; DAVIS, J. K.; KAVIDSON, M. K. Mycoplasma diseases of animals. In: Maniloff J, McElhaney RN, Finch LR, Baseman JB, eds. *Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis*. Washington, DC: **American Society for Microbiology**, p. :391-415, 1992.

SMITH, T. G. The Genus Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleina). **The Journal of Parasitology**. v. 82, N. 4, p. 565-585, 1996.

SOARES, H. S.; BARBIERI, A. R. M.; MARTINS, T. F. et al. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**. v. 65, p. 125–140, 2015.

SOARES, H. S.; MARCILI, A.; BARBIERI, A. R. M.; MINERVINO, A. H. H.; MOREIRA, T. R.; GENNARI, S.M. Novel piroplasmid and Hepatozoon organisms infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.6, n 2, p.115-121, 2017.

SONENSHINE, D. E.; MICHAEL ROE, R. **Biology of Ticks**, 2nd Edn. New York, NY: Oxford University Press, 2014.

SOUSA, K., CALCHI, A., HERRERA, H., DUMLER, J., BARROS-BATTESTI, D., MACHADO, R., & ANDRÉ, M. Anaplasmatataceae agents among wild mammals and ectoparasites in Brazil. **Epidemiology and Infection**, v.145, n.16, p.3424-3437, 2017.

SOUZA, K.C.M., HERRERA, H.M., SECATO, C.T., OLIVEIRA, A.D.V., SANTOS, F.M., ROCHA, F.L., BARRETO, W.T.G., MACEDO, G.C., DE ANDRADE, PINTO, P.C.E., MACHADO, R.Z., COSTA, M.T., ANDRÉ, M.R. Occurrence and molecular characterization of hemoplasmas in domestic dogs and wild mammals in a Brazilian wetland. **Acta Tropica**, v.171, p.172-181, 2017.

SOUZA, K. C. M. de. et al. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in domestic dogs and wild mammals in southern Pantanal, Brazil with implications in the transmission route. **Veterinary Parasitology**, v. 15, p. 237-246, 2017.

SOUZA, U.A., OBERRATHER, K., FAGUNDES-MOREIRA, R., ALMEIDA, B.A., VALE, S.F., GIROTTO-SOARES, A., SOARES, J.F. First molecular detection of *Mycoplasma ovis* (Hemotropic mycoplasmas) from Sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.28, n.3, p.360-366, 2019.

SPONCHIADO, J., MELO, G.L., MARTINS, T.F., KRAWCZAK, F.S., LABRUNA, M.B. & CÁCERES, N.C. Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, Argasidae) of small mammals in Cerrado fragments, western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.65, p.389–401, 2015.

STONE, W. B.; OKONIEWSKI, J. C.; STEDELIN, J. R. Poisoning of wildlife with anticoagulant rodenticides in New York. **Journal of Wildlife Rehabilitation**, v. 23, p. 13–17, 2000.

STREILEIN, K. E. Behavior, ecology, and distribution of South American marsupials. In MARES, A.; GENOWAYS, H. H. (eds.) **Mammalian biology in South America**. Linesville, PA: Pymatuning Laboratory of Ecology, Special Publication; p. 231-249, 1982.

STUEN, S., GRANQUIST, E.G., SILAGHI, C. *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 22, 2013. Disponível em <doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>. Acesso em 18 abr 2021.

SYKES, J. Feline hemotropic mycoplasmas. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.20, n.1, p.62–69, 2010.

SYKES JE, LINDSAY LL, MAGGI RG, BREITSCHWERDT EB. Human coinfection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal Clinics Microbiology**. v.48, n.10, p.3782-3785, 2010.

SZABÓ, M. J.; PEREIRA, L. F.; CASTRO, M. B.; GARCIA, M. V.; SANCHES, G. S.; LABRUNA, M. B. Biology and life cycle of *Amblyomma incisum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**. v. 48, p. 263-271, 2009.

SZABÓ, M.P.J., NIERI-BASTOS, F.A., SPOLIDORIO, M.G., MARTINS, T.F., BARBIERI, A.M. & LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest Rickettsia, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v.140, p.719–728, 2013.

TASKER, S. Current concepts in feline haemobartonellosis. In Practice, v.28, p. 136-141, 2006.

TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. Risk Factors for Human Disease Emergence. *Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v.356, pág. 983–989, 2001.

TELFORD JR., S. R. Three new Hepatozoon species (Apicomplexa: Hepatozoidae) infecting the Florida kingsnake, *Lampropeltis getula floridana*. **The Journal of Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 162–169, 2010.

THOISY, B. de; MICHEL, J.; VOGEL, I.; VIÉ, J. A Survey of hemoparasite infections in free-ranging mammals and reptiles in french guiana. **The Journal of Parasitology**, v. 86, n. 5. p. 1035-1040, 2000.

TONK, M.; CABEZAS-CRUZ, A.; VALDÉS, J. J.; REGO, R. O.; GRUBHOFFER, L.; ESTRADA-PEÑA, A. *Ixodes ricinus* defensins attack distantly related pathogens. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 53, p. 358–365, 2015.

URDAPILLETA, M.; LINARDI, PM. , LARESCHI, M. Fleas associated with sigmodontine rodents and marsupials from the Paranaense Forest in Northeastern Argentina. **Acta Tropica journal**, v. 193, p. 71–77, 2019.

VALLE, S.D.E.F., MESSICK, J.B., DOS SANTOS, A.P., KREUTZ, L.C., DUDA, N.C., MACHADO, G., COBERLLINI, L.G., BIONDO, A.W., GONZÁLES, F.H. Identification, occurrence and clinical findings of canine hemoplasmas in southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.37, p.259-265, 2014.

VIEIRA, R.F., MOLENTO, M.B., DOS SANTOS, L.C., MORAES, W., CUBAS, Z.S., SANTOS, A.P., GUIMARAES, A.M., MOHAMED, A., BARROS FILHO, I.R., BIONDO, A.W., MESSICK, J.B. Detection of a novel hemoplasma based on 16S rRNA gene DNA in captive and free-ranging capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Veterinary Microbiology**, v.139, p.410-413, 2009.

VIEIRA, R. F. C.; BIONDO, A. W.; GUIMARÃES, A. M. S.; SANTOS, A. P.; SANTOS, R. P.; DUTRA, L. H.; DINIS, P. P. V P.; MORAIS, H. A.; MESSIK, J. B.; LABRUNA, M B.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 1, 2011.

VÍCHOVÁ, B.; HORSKÁ, M.; BLAŇAROVÁ, L.; ŠVIHRAN, M.; ANDERSSON, M.; PEŤKO, B. First molecular identification of *Babesia gibsoni* in dogs from Slovakia, central Europe. **Ticks and Tick-Borne Diseases**. v.7, n.1, p.54–59, 2016.

VÍCHOVÁ, B.; MAJLÁTHOVÁ, V.; NOVÁKOVÁ, M.; STANKO, M.; HVIŠČOVÁ, I.; PANGRÁCOVÁ, L.; CHRUDIMSKÝ, T.; ČURLÍK, J.; PEŤKO, B. *Anaplasma* infections in ticks and reservoir host from Slovakia. **Infection, Genetics and Evolution**, v.22, p. 265–272, 2014.

VIEIRA & MONTEIRO-FILHO. Vertical Stratification of Small Mammals in the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.19, p. 501-507, 2003.

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

WATKINS, R. A.; MOSHIER, S. E.; AELITA, J. P. The Flea, *Megabothris abantis*: An Invertebrate Host of Hepatozoon sp. and a Likely Definitive Host in Hepatozoon Infections of the Montane Vole, *Microtus montanus*. **Journal of Wildlife Diseases**, v.42, p.386-390, 2006.

WATTS, J. G.; PLAYFORD, M. C.; HICKEY, K. L. *Theileria orientalis*: a review. **New Zealand Veterinary Journal**. v. 64, p. 3-9, 2016.

WERTHER, K.; LUZZI, M. C.; GONÇALVES, L. R.; DE OLIVEIRA, J. P.; ALVES JUNIOR, J. R. F.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Arthropod-borne agents in wild Orinoco geese (*Neochen jubata*) in Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v.55, p. 30-41, 2017.

WIDMER, C. E.; AZEVEDO, F. C.; ALMEIDA, A. P.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Tick-borne bacteria in free-living jaguars (*Panthera onca*) in Pantanal, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**. v.11, p. 1001–1005, 2011.

WILLI, B.; BORETTI, F. S.; BAUMGARTNER, C.; TASKER, S.; WENGER, B.; CATTORI, V.; MELI, M. L.; REUSCH, C. E.; LUTZ, H.; LEHMANN-HOFMANN, R. Prevalence, risk factor analysis, and follow-up of infections caused by three feline hemoplasma species in cats in Switzerland. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, p. 961-969, 2006.

WILLI, B. et al. Real-time PCR investigation of potential vectors, reservoirs, and shedding patterns of feline hemotropic mycoplasmas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 12, p. 3798-3802, 2007 a.

WILLI B, FILONI C, CATÃO-DIAS JL, CATTORI V, MELI ML, VARGAS A, MARTÍNEZ F, ROELKE ME, RYSER-DEGIORGIS M-P, LEUTENEGGER CM, LUTZ H, HOFMANN-LEMANN R. 2007. Worldwide occurrence of feline hemoplasma infections in wild felid species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.1159-1166, 2007 b.

WILLI, B., NOVACCO, M., MELI, M.L., WOLF-JÄCKEL, G.A., BORETTI, F.S., WENGI, N., LUTZ, H., HOFMANN-LEHMANN, R. Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. **SAT Schweizer Archiv für Tierheilkunde**. v.152, p.237-244, 2010.

WILLI B, FILONI C, CATÃO-DIAS JL, CATTORI V, MELI ML, VARGAS A, MARTÍNEZ F, ROELKE ME, RYSER-DEGIORGIS M-P, LEUTENEGGER CM, LUTZ H, HOFMANN-LEMANN R. Worldwide occurrence of feline hemoplasma infections in wild felid species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.1159-1166, 2007a.

WILLI, B. et al. From Haemobartonella to hemoplasma: Molecular methods provide new insights. **Veterinary Microbiology**, v. 125, n. 3-4, p.197-209, 2007b.

WOODS, J. E.; BREWER, M. M.; HAWLEY, J. R.; WISNEWSKI, N.; LAPPIN, M. R. Evaluation of experimental transmission of 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.66, p. 1008-1012, 2005.

WOLF, R. W.; ARAGONA, M.; MUÑOZ-LEAL, S.; PINTO, L. B.; MELO, A. L.; BRAGA, I. A.; COSTA, J. S.; MARTINS, T. F.; MARCILI, A.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; AGUIAR, D. M. Novel Babesia and Hepatozoon agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases**. v.7, p. 449-56. 2016.

YANG, G. J.; BROOK, B. W.; WHELAN, P. I.; CLELAND, S.; BRADSHAW, C. J. A. Endogenous and exogenous factors controlling temporal abundance patterns of tropical mosquitoes. *Ecological Applications*, v. 18, p. 2028–2040, 2008.

APÊNDICE 1 – ‘*Candidatus Mycoplasma haematoalbiventris*’ and tick-borne pathogens screening in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from Curitiba and Foz do Iguaçu Cities, Paraná State, southern Brazil

‘*Candidatus Mycoplasma haematoalbiventris*’ e triagem para patógenos transmitidos por carrapatos em gambás de orelha branca (*Didelphis albiventris*) das cidades de Curitiba e Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, sul do Brasil

Renata P. Antonangelo¹, Flávia C. M. Collere¹, Larissa D. R. Ferrari¹, Vanessa S. Coradi¹, Nathália A. Soares¹, André S. Leandro², Wagner F. Oliveira², Sandro R. Galvão², Rosinei Kafka², Robson M. Delai³, Rafaela Martini², André Saldanha¹, Leonardo P. Santos¹, Zalmir S. Cubas⁴, Rogério R. Lange⁵, Thállitha S. W. J. Vieira¹, Rafael F. C. Vieira^{1,6,*}

¹Vector-Borne Diseases Laboratory, Department of Veterinary Medicine, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brazil

²Unidade de Vigilância em Zoonoses, Secretaria Municipal de Saúde, Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil

³One Health Laboratory at the Three-Border Tropical Medicine Center, Itaipu Foundation, Institute of Teaching and Research, Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil

⁴Médico Veterinário Autônomo

⁵Department of Veterinary Medicine, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brazil

⁶Global One Health initiative (GOHi), The Ohio State University, Columbus, OH, USA

***Corresponding author:** Departamento de Medicina Veterinária, Campus Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, 80035-050, Brasil. E-mail: rvieira@ufpr.br (R.F.C. Vieira)

Abstract

Hemoplasmas are epierthrocytic bacteria that infect mammals. Previously, ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ was detected in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from southern and central-western Brazil. The present study aimed at: i) screening opossums for tick-borne (TBP) pathogens (Piroplasmida and Anaplasmataceae) and ii) detecting and characterizing hemoplasma species infecting opossums from Curitiba and Foz do Iguaçu cities in the Paraná State of southern Brazil. A total of 30 blood samples from white-eared opossums were evaluated by PCR assays. Animals were not infested by ectoparasites at the time of sampling. The mammalian endogenous *gapdh* gene was consistently amplified in all samples. All opossums tested negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp. by PCR based on 18S rRNA and 16S rRNA genes, respectively. A genus-specific PCR assay based on the 16S rRNA gene of hemoplasmas showed that 3/13 (23.08%; CI 95%: 8.18–50.26%) opossums from Foz do Iguaçu were positive for hemotropic *Mycoplasma* sp. All opossums from Curitiba City tested negative for hemoplasmas. Hemoplasma-positive samples were also subjected to PCR targeting the 23S rRNA gene. Sequencing of both the 16S and 23S rRNA genes revealed that the animals were infected by ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’. Although ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ is prevalent in opossums in Brazil, the clinical signs associated with its infection and its putative vectors remain unknown.

Keywords: Marsupials; hemotropic mycoplasmas; hemoplasmas

Resumo

Hemoplasmas são bactérias epieritrocíticas que infectam mamíferos. ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ foi detectado previamente em gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) das regiões sul e centro-oeste do Brasil. O presente estudo teve como objetivos: i) triar os gambás para as doenças transmitidas por carrapatos (Piroplasmida e Anaplasmataceae) e ii) detectar e caracterizar as espécies de hemoplasma que infectam gambás nas cidades de Curitiba e Foz do Iguaçu no Estado do Paraná, sul do Brasil. Um total de 30 amostras de sangue de gambás-de-orelha-branca foram analisadas por ensaios de PCR. Os animais não estavam infestados por ectoparasitos no momento da coleta de amostras biológicas. O gene endógeno de mamífero *gapdh* foi amplificado consistentemente em todas as amostras. Todos os gambás testaram negativos para *Theileria/Babesia* spp. e *Ehrlichia/Anaplasma* spp. em ensaios de PCR baseados, respectivamente, nos genes 18S rRNA e 16S rRNA. Uma PCR gene-específica baseada no gene 16S rRNA de hemoplasmas mostrou que 3/13 (23.08%; CI 95%: 8.18–50.26%) gambás de Foz do Iguaçu foram positivos para *Mycoplasma* sp. hemotrópico. Todos

os gambás da cidade de Curitiba testaram negativos para hemoplasmas. As amostras positivas para hemoplasma foram submetidas à PCR visando o gene 23S rRNA. O sequenciamento de fragmentos dos genes 16S e 23S rRNA revelou que os animais estavam infectados pelo ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’. Embora ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ seja prevalente em gambás no Brasil, os sinais clínicos associados à infecção e os prováveis vetores permanecem desconhecidos.

Palavras-chave: Marsupiais; mycoplasma hemotrópico; hemoplasmas.

Opossums are synanthropic marsupials belonging to the genus *Didelphis*. In South America, four species have been reported: *D. albiventris*, *D. aurita*, *D. imperfecta*, and *D. marsupialis* (Nascimento et al., 2014; Malta et al., 2007). Due to their circulation in urban and rural environments, opossums are potential hosts, suggested reservoirs and/or potential amplifiers of infectious agents (e.g., *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania infantum*, *Rickettsia rickettsii*) (Horta et al., 2009; Carreira et al., 2012; Zecca et al., 2020).

In Brazil, tick-borne pathogens (TBP) have been reported in *Didelphis* spp. from different regions (Melo et al., 2016; Silva et al., 2017; Soares et al., 2017; Guimarães et al., 2019; de Oliveira et al., 2020). This includes a novel ehrlichial agent, *Ehrlichia* sp. strain Natal, detected in white-eared opossum (*D. albiventris*) from the northeastern region of the country (Lopes et al. 2018).

Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) are Gram-negative bacteria that attach to the surface of red blood cells from mammals and may cause hemolytic anemia (Messick et al., 2004). Two hemotropic *Mycoplasma* species have been described in *Didelphis*, namely ‘*Candidatus Mycoplasma haemodidelphis*’ (Messick et al., 2002) and ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ (Pontarolo et al., 2020). Due to the proximity of human dwellings and human-animal interactions, monitoring ticks and the health status of opossums is a public health concern. Therefore, this study aimed at investigating the occurrence of TBP and hemotropic mycoplasmas in free-ranging opossums from the Curitiba and Foz do Iguaçu cities of the Paraná State, southern Brazil.

This study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation and Animal Welfare at the Universidade Federal do Paraná, Brazil (protocol number 053/2018). Animal and laboratory procedures were approved and performed under the regulations of the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio, protocol number 63433-3).

The study was carried out in the Curitiba (25° 26' 27" S 49° 16' 36" W) and Foz do Iguaçu cities (25° 32' 45" S 54° 35' 07" W). Curitiba, the capital of Paraná State, is located in the south-central region and has a humid subtropical highland climate (Köppen: Cfb) with an

average temperature of 17.4 °C. Foz do Iguaçu lies in the extreme west of the Paraná State, on the border of Brazil, Argentina, and Paraguay, in the Atlantic rainforest biome. Foz do Iguaçu is internationally recognized as a protected area with diverse fauna (Valente et al., 2019) and has a humid subtropical climate (Köppen: Cfa) with rainfall throughout the year and an average temperature of 22.1 °C (INMET, 2018).

A total of 30 white-eared opossums (*D. albiventris*) were evaluated. In Foz do Iguaçu, 13 white-eared opossums were captured using Tomahawk wire mesh traps baited with fruit. Sampling was performed between April and December 2019 per the spontaneous demand of the Zoonoses Surveillance Center, based on the report of the occurrence of opossums in human dwellings. In Curitiba City, 17 white-eared opossums were referred to the Veterinary Teaching Hospital, Universidade Federal do Paraná, Parana State, southern Brazil, between June 2018 and December 2020. Samples from Curitiba were also collected per the spontaneous demand based on the report of the occurrence of opossums in human dwellings.

After using chemical restraints (xylazine (4.0 mg/kg) and ketamine (20 mg/kg), the animals were individually identified and visually inspected for ectoparasites (ticks and fleas). Subsequently, EDTA–blood samples were collected by caudal venipuncture and stored at –20 °C until molecular analysis. Post sample collection, the animals were monitored until complete recovery from the chemical restraints and later released (Massini et al., 2019).

DNA was extracted from 200 µL of blood using a commercially available kit (Illustra™ Blood Genomic Prep Mini Spin Kit, GE Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, UK), according to the manufacturer's instructions. Ultra-pure water was used as a negative control in parallel to monitor cross-contamination.

To monitor DNA extraction, PCR for the mammalian endogenous gene glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gapdh*) was performed in all samples (Birkenheuer et al., 2003). Conventional PCR was used to screen samples for hemotropic *Mycoplasma* spp. Genus-specific primers targeting a portion (900 bp) of the 16S rRNA gene of hemotropic *Mycoplasma* spp. (Hoelzle et al., 2011; Machado et al., 2017) were used. Opossum DNA samples that tested positive in the PCR assay based on the 16S rRNA gene were subjected to a genus-specific PCR assay targeting a fragment (800 bp) of the 23S rRNA gene of hemoplasmas (Mongruel et al., 2020). Nuclease-free water and *Mycoplasma ovis* DNA from a naturally infected goat blood sample were used as the negative and positive controls, respectively, in both PCR assays. Additionally, DNA samples were also tested by PCR assays targeting a fragment (551 bp) of the 18S rRNA gene of *Theileria/Babesia* spp. (Almeida et al., 2012) and a fragment (349 bp) of the 16S rRNA gene of *Ehrlichia/Anaplasma* spp. (Parola et al., 2000). *Babesia vogeli* and

Ehrlichia canis DNA obtained from naturally infected dogs were used as positive controls, and nuclease-free water was used as a negative control (Vieira et al., 2013). The amplified PCR products were subjected to gel electrophoresis in 1.5% agarose gels for 1 hour at 100 V, followed by SYBR safe staining (6 µg/mL; SYBR® Safe DNA Gel Stain, Invitrogen, CA, USA), and viewed under a UV light transilluminator at a wavelength of 312 nm.

The amplicons of the 16S rRNA (900 bp) and 23S rRNA (800 bp) obtained from three and two *Mycoplasma* spp.-positive samples were from Foz do Iguaçu. They were sequenced in both directions using the Sanger method. Three nucleotide sequences of the 16S rRNA gene and two sequences of 23S rRNA gene of hemotropic *Mycoplasma* sp. amplified herein were submitted to the GenBank® database (accession numbers: MW703800, MW703801, MW703802, and MW694786 and MW694787, respectively).

The consensus sequences were subjected to multiple alignment with the sequences selected from GenBank® using MAFFT available on the GUIDANCE2 server (Sela et al., 2015) for each gene. The best-fit model of nucleotide substitution was determined using jModeltest v.2.1.10 (Darriba et al., 2012) and was set as GTR+I+G for 16S rRNA and TrN+G for 23S rRNA genes, based on the Akaike Information Criterion (AIC), respectively. Each Bayesian reconstruction was performed in Beast 1.10.4 (Drummond et al., 2012) with three independent runs of 100 million MCMC steps sampled at every 10,000 trees, 10% of the burn-in. The phylogenetic tree was visualized with FigTree software version 1.4.4 (Rambaut, 2016) and the final layout was done with Inkscape version 0.92.2.

Opossums from both cities were not infested by ectoparasites (ticks and fleas) at the time of sampling. The mammalian endogenous *gapdh* gene was consistently amplified in all samples. All opossums tested negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp. by PCR. While all opossums from Curitiba tested negative for hemoplasmas, three out of 13 (23.08%; CI 95%: 8.18–50.26%) animals from Foz do Iguaçu were positive for hemotropic *Mycoplasma* spp., as observed via PCR.

Sequencing of the 16S rRNA fragment showed 100% similarity to ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (MH158514, MH158515, MN423256, MN423258–MN423260, and MT170012–MT170016) detected in white-eared opossums from Brazil; on the other hand, sequencing of the 23S rRNA fragment showed 99.74–100% identity ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (MN442081–MN442085) detected in white-eared opossums from Brazil. Phylogenetic analysis of the 16S and 23S rRNA gene fragments confirmed the white-eared opossum were infected by ‘*Ca. M. haemoalbiventris*’ (Figures 1 and 2).

In the present study, 23.08% opossums from Foz do Iguaçu (Paraná, southern Brazil) were positive for '*Ca. M. haemoalbiventris*, while all the animals from Curitiba City tested negative. Previous studies have found higher hemoplasma prevalence rates (ranging from 32.5%–87.5%) in white-eared opossums from different geographic regions and biomes (Atlantic Forest and Cerrado) of Brazil (Massini et al., 2019; Gonçalves et al., 2020; Pontarolo et al., 2020). Although Curitiba City is also located in the Atlantic rainforest biome, we hypothesize that its altitude (940 m a.s.l.) and annual average temperature (17.4 °C) may influence habits and behavior of the opossums, and thus, their exposure to hemoplasmas, which may explain the negative results found herein. Additionally, differences in the prevalence of hemoplasma between studies may have not be due to the diagnostic test used, since to date, all studies on the detection of hemoplasmas in Brazilian opossums have used conventional PCR assays as diagnostic method (Massini et al., 2019; Gonçalves et al., 2020; Pontarolo et al., 2020).

Herein, the animals were not infested with ticks and fleas at the time of sampling. However, hemoplasma-positive white-eared opossums from the Maringá municipality (state of Paraná) (Massini et al., 2019) and Campo Grande municipality (state of Mato Grosso do Sul) (Gonçalves et al., 2020) were infested by *Amblyomma dubitatum* ticks. On the other hand, opossums from the Canoinhas municipality (state of Santa Catarina) were infested with *Ctenocephalides felis* fleas (Pontarolo et al., 2020). Previous studies have failed to detect hemotropic *Mycoplasma* spp. in *A. dubitatum* ticks infesting '*Ca. M. haemoalbiventris*'-positive opossums from Brazil (Gonçalves et al., 2020), and canine hemoplasmas in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks in dogs from an animal shelter in Turkey (Aktas et al., 2017). High hemoplasma prevalence rates have been found in tropical regions, favoring the establishment of arthropod vectors for these bacteria. Additionally, hemotropic *Mycoplasma* spp. have been detected in *Amblyomma sculptum* ticks infesting hemoplasma-positive capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from central-western Brazil (Gonçalves et al., 2020). However, the lack of experimental studies on hemoplasma transmission, due to its uncultivable status *in vitro*, precludes robust evidence to implicate the involvement of ticks in the epidemiological cycle of this group of bacteria. Finally, *A. dubitatum* ticks are widespread and have already been found to infest opossums from Curitiba and Foz do Iguaçu cities (Valente et al., 2020). Based on the above evidence, we hypothesize that ticks from this group may have previously bitten animals evaluated in the present study, although we cannot associate the low hemoplasma infection rate found to the absence of ticks.

TBP are of great concern worldwide. In Brazil, *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., and *Babesia* spp. have been reported to infect domestic and wild animals (Vieira et al., 2009; Soares et al., 2017; André et al., 2018). A novel ehrlichial agent, *Ehrlichia* sp. strain Natal, has been detected in the northeastern region of the country (Lopes et al., 2018). A putative novel genotype of *Ehrlichia* sp. has been detected in big-eared opossums (*D. aurita*) from southeastern Brazil (Guimarães et al., 2019). Morphological identification of piroplasmids (previously named as *Nuttallia brasiliensis/Theileria brasiliensis/Babesia ernestoi*, and currently *Babesia brasiliensis*) in marsupials circulating in Brazil was performed virtually 100 years ago (Regendanz and Kikuth 1928). Additionally, a novel piroplasmid closely related to a *Babesia* sp. detected in *Monodelphis domestica* opossums from the Brazilian Pantanal has been found in *D. marsupialis* opossums from the Brazilian Amazon (Soares et al., 2017), and another Piroplasmida genotype was reported in 2/31 (6.45%) *D. marsupialis* trapped in Sinop municipality, State of Mato Grosso (Colle et al. 2019). In the present study, all white-eared opossums tested negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Although neither clinical signs of infection nor tick vectors have been established for the novel pathogens described in opossums from Brazil, further studies should focus on evaluating this group of marsupials to better understand and characterize the pathogens found.

In conclusion, ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ has been detected in white-eared opossums from the Foz do Iguaçu city (Paraná state, southern Brazil), while the animals from Curitiba city tested negative. However, the clinical signs associated with the infection caused by this organism and its putative vectors remain unknown. All animals from both cities tested negative for *Theileria/Babesia* spp. and *Ehrlichia/Anaplasma* spp.

Acknowledgments

This research was funded by Universidade Federal do Paraná (Grant no. 23075.058259/2020-23). This study is part of a PhD degree for Renata Antonangelo at the Universidade Federal do Paraná. Flávia Collere, Rafaella Martini and André Saldanha were sponsored by a fellowship from the the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) at the time of research. Vanessa Coradi and Nathália Soares were sponsored by a fellowship from the Brazilian National Council of Scientific and Technological Development (CNPq). CNPq also provided a fellowship of research productivity (PQ) to Dr. Rafael F.C. Vieira (CNPq - 313161/2020-8).

References

Almeida AP, Marcili, A, Leite RC. Nieri-Bastos FA, Domingues LN, Martins JR, et al. Coxiella symbiont in the tick *Ornithodoros rostratus* (Acari: Argasidae). *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3, 203–206. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.02.003>. PMID:30370217.

André MR. Diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia/Neoehrlichia* Agents in Terrestrial Wild Carnivores Worldwide: Implications for Human and Domestic Animal Health and Wildlife Conservation. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5, 293. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00293>. PMID: 30533417.

Aktas M, Ozubek S. Molecular survey of haemoplasmas in shelter dogs and associations with *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. *Med. Vet. Entomol.* 2017; 31, 457–461. <https://doi.org/10.1111/mve.12244>. PMID: 28685834.

Birkenheuer AJ, Levy MG, & Breitschwerdt EB. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(9): 4172–4177. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.9.4172-4177.2003>. PMID:12958243.

Carreira JCA, da Silva AVMH, de Pita PD, Brazil RP. Natural infection of *Didelphis aurita* (Mammalia: Marsupialia) with *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasit Vectors.* 2012; 5, 2–6. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-111>. PMID: 22676324.

Colle AC, Mendonça RFB, Maia MO, Freitas LDC, Witter R, Marcili A, Pacheco RDC. Molecular survey of tick-borne pathogens in small mammals from Brazilian Amazonia. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2019; 12, 592-604. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612019086>. PMID: 31800885.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods.* 2012; 9(8), 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>. PMID: 22847109.

de Oliveira GMB, da Silva IWG. da Cruz Ferreira Evaristo AM, de Azevedo Serpa MC, Silva Campos NA, Dutra, et al. Tick-borne pathogens in dogs, wild small mammals and their

ectoparasites in the semi-arid Caatinga biome, northeastern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(4), 101409. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101409>. PMID:32111546.

Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol.* 2012; 29, 1969–1973. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>. PMID: 22367748.

Gonçalves LR, Herrera HM, Nantes WAG, Santos FM, Porfírio GEDO, Barreto WTG, et al. Genetic diversity and lack of molecular evidence for hemoplasma cross-species transmission between wild and synanthropic mammals from Central-Western Brazil. *Acta Trop.* 2020; 203, 105303. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105303>. PMID:31857081.

Guimarães A, Raimundo JM, Silva ATD, Carpintero, FM, Pires JR, Benevenuto JL, et al. Detection of a putative novel genotype of *Ehrlichia* sp. from opossums (*Didelphis aurita*) from Brazil. *Rev. Bras. Parasitol.* 2017; Vet. 28(1), 140-144. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180068>. PMID:30427523.

Hoelzle K, Winkler M, Kramer MM, Wittenbrink MM, Dieckmann SM & Hoelzle LE. Detection of *Candidatus* Mycoplasma haemobos in cattle with anaemia. *Vet J.* 2011; 187(3): 408–410. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.01.016>. PMID:20188610.

Horta MC, Moraes-Filho J, Casagrande RA, Saito TB, Rosa SC, Ogrzewalska M, et al. Experimental infection of opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 2009; 9, 109–117. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0114>. PMID: 18945194.

Lopes MG, Muñoz-Leal S, de Lima JTR, Fournier GFDSR, Acosta IDCL, Martins TF, et al. Ticks, rickettsial and erlichial infection in small mammals from Atlantic forest remnants in northeastern Brazil. *Int. J. Parasitol. Parasites Wild.* 2018; 7(3), 380-385. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.10.001>. PMID:30370217.

Machado CAL, Vidotto O, Conrado FO, Santos NJR, Valente JDM, Barbosa IC, et al. *Mycoplasma ovis* infection in goat farms from northeastern Brazil. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2017; 55:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.08.004>. PMID:29127988.

Malta MCC, Luppi MM. Marsupilia – Didelphimorphia (Gambá, Cuíca). In: Z. S. Cubas, J.C.R. Silva, J.L. *Tratado de animais Selvagens*; Catão-Dias (Eds.) Roca. Brazil: São Paulo; 2007. p. 340–347.

Massini PF, Drozino RN, Otomura FH, Mongrue ACB, Valente JDM, Toledo MJO. et al. Detection of Hemotropic Mycoplasma sp. in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2019; 28(4), 797-801. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612019058>. PMID:31390439.

Messick JB, Walker PG, Raphael W, Berent L, Shi X. 'Candidatus mycoplasma haemodidelphidis' sp. nov., 'Candidatus mycoplasma haemolamae' sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotrophic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018; 52, 693–698. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-693>. PMID: 12054227.

Melo ALT, Aguiar DM, Spolidorio MG, Yoshinari NH, Matushima ER, Labruna, et al. Serological evidence of exposure to tick-borne agents in opossums (*Didelphis* spp.) in the state of São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2016; 25(3), 348-352. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016028>. PMID:27276663.

Mongrue ACB.; Spanhol, V.C.; Valente, J.D.M.; Porto, P.P.; Ogawa, L.; Otomura, F.H.; et al. Survey of vector-borne and nematode parasites involved in the etiology of anemic syndrome in sheep from Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2020; 29(3), e007320. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612020062>. PMID:32935770.

Nascimento CC, Horta MC. Didelphimorphia (Gambá, Cuíca). In: *Tratado de animais Selvagens*; Z. S. Cubas, J.C.R. Silva, J.L. Catão-Dias (Eds.) Roca Brazil: São Paulo. 2014.

Parola P, Roux V, Camicas JL, Baradji I, Brouqui P, Raoult D. Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2000; 94, 707–708. [https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(00\)90243-8](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(00)90243-8). PMID:11198664.

Pontarolo GH, Kühn LF, Pedrassani D, Campos M, Figueiredo FB, Valente JDM, et al. 'Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris', a novel hemoplasma species in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; <https://doi.org/10.1111/tbed.13716>. PMID: 32644252.

Rambaut A. 2014. FigTree v1.4.2, a graphical viewer of phylogenetic trees.

Regendanz P, Kikuth W. Sur un parasite du sang des "Quica" (*Metachirus quica*) Nuttallia brasiliensis n. sp., et influence de la rate sur les infections latentes du sang. *C. R. H. Seanc. Mem. Soc. de Biol.* 1928; 98, 1567-1567.

Sela I, Ashkenazy H, Katoh K, Pupko T. GUIDANCE2: Accurate detection of unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43(W1), W7–W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv318>. PMID: 25883146.

Silva MRL, Fornazari, F, Demoner LC, Teixeira CR, Langoni H, O'Dwyer LH. *Didelphis albiventris* naturally infected with *Hepatozoon canis* in southeastern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017; 8(6), 878-881. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.07.005>. PMID:28728938.

Soares HS, Marcili A, Barbieri ARM, Minervino AHH, Moreira TR, Gennari SM, et al. Novel piroplasmid and Hepatozoon organisms infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 2017; 6(2), 115-121. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.05.002>. PMID:28603688.

Valente JDM, Mongruel ACB, Machado CAL, Chiyo L, Leandro AS, Britto AS, et al. Tick-borne pathogens in carthorses from Foz do Iguaçu City, Paraná State, southern Brazil: A tri-border area of Brazil, Paraguay and Argentina. *Vet Parasitol.* 2019; 273, 71-79, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.008>. PMID:31446256.

Valente JDM, Silva,PW, Arzua M, Barros-Battesti DM, Martins TF, Silva AM, et al. Records of ticks (Acari: Ixodidae) on humans and distribution of spot-ted-fever cases and its tick vectors in Paraná State, southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11, 1877-959X, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101510>. PMID:32993930.

Vieira RFC; Molento MB, Santos LC, Moraes W, Cubas ZS, Santos AP, et al. Detection of a novel hemoplasma based on 16S rRNA gene DNA in captive and free-ranging capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Vet Microbiol.* 2009; 139, 410-413. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.018>. PMID:19592180.

Vieira TS, Vieira RF, Nascimento DA, Tamekuni K, Toledo Rdos S, Chandrashekar R, et al. Serosurvey of tick-borne pathogens in dogs from urban and rural areas from Parana State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2013; 22(1), 104-109. <http://doi.org/10.1590/s1984-29612013000100019>. PMID: 24252955.

Zecca IB, Hodo CL, Slack S, Auckland L, Hamer SA. *Trypanosoma cruzi* infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). *Int. J Parasitol Parasites Wildl.* 2020; 11, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.03.004>. PMID: 32215248

Figure 1. Phylogenetic tree based on partial sequences of the 16S rRNA gene, showing the relationship between the ‘*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*’ detected in the white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from this study and other hemoplasmas. *Mycoplasma pneumoniae* (CP039761) was used as outgroup. The GenBank accession number is in parentheses after the species name and origin of each agent. Bayesian inferences were carried out applying the GTR+I+G model and 1,000 bootstrap replicates for all analyses.

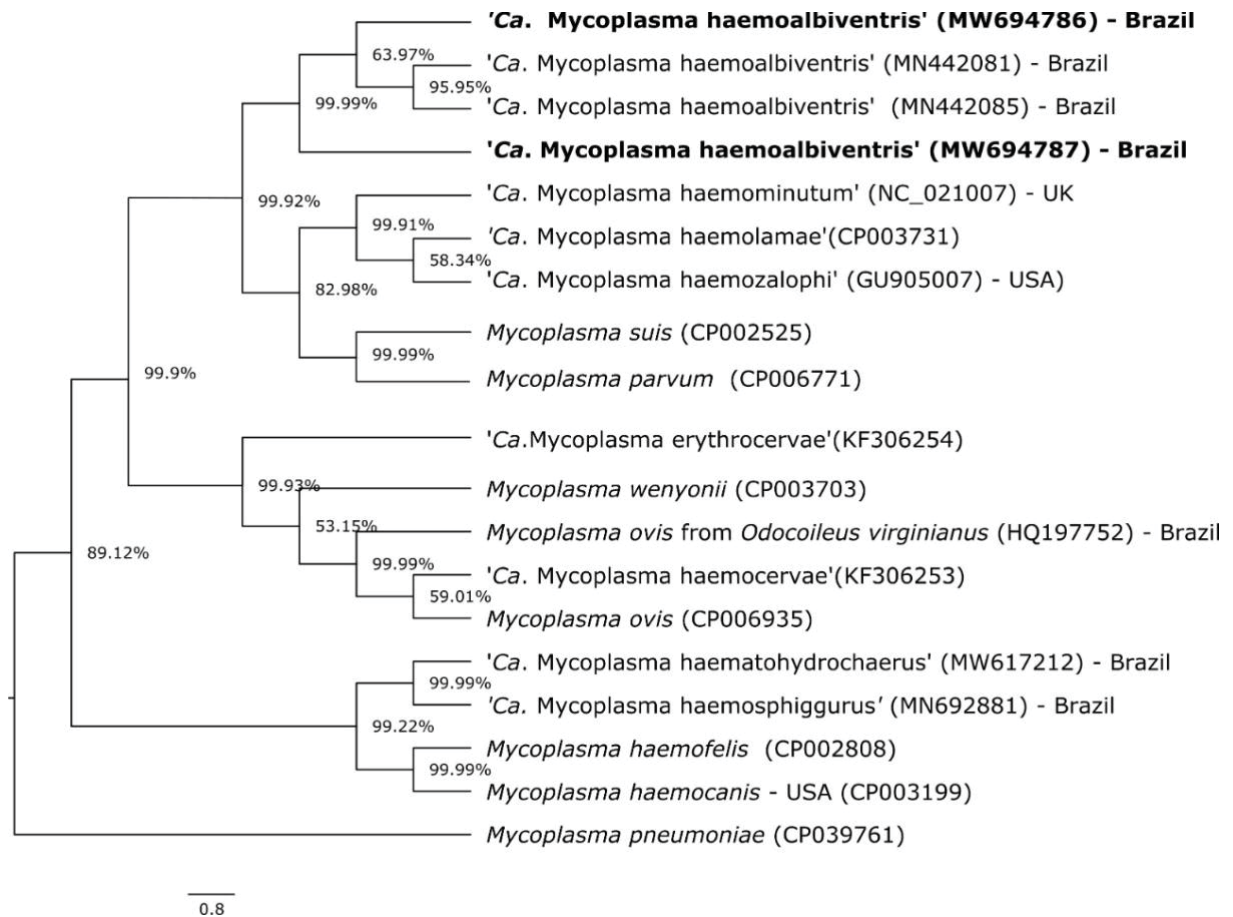
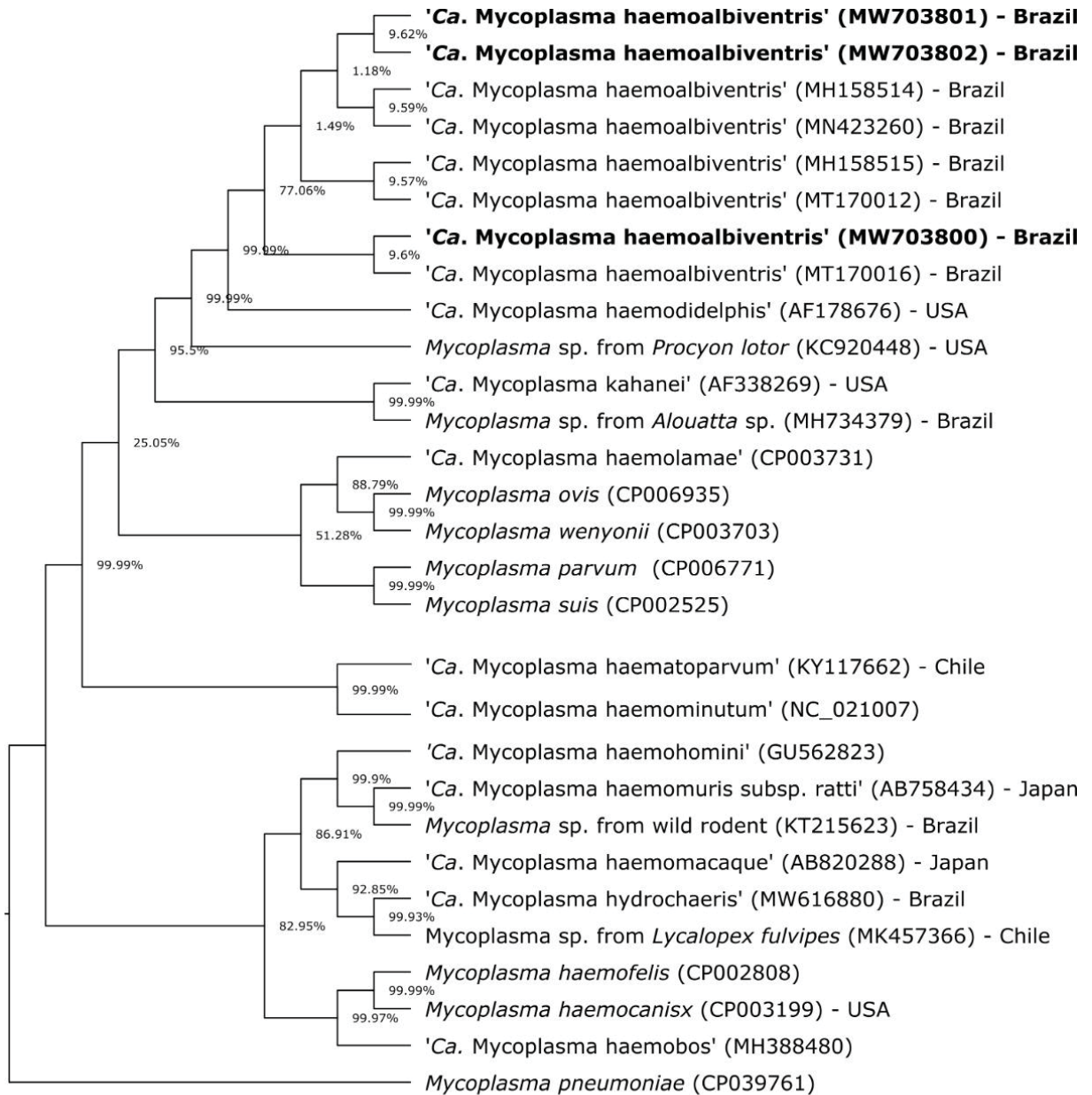


Figure 2. Phylogenetic tree based on partial sequences of the 23S rRNA gene, showing the relationship between the '*Candidatus Mycoplasma haemoalbiventris*' detected in the white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) from this study and other hemoplasmas. *Mycoplasma pneumoniae* (CP039761) was used as outgroup. The GenBank accession number is in parentheses after the species name and origin of each agent. Bayesian inferences were carried out applying the TrN+G model and 1,000 bootstrap replicates for all analyses.



3.0

ANEXO 1 – CERTIFICADO COMITE DE ÉTICA – PROTOCOLO 053-2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 053/2018, referente ao projeto “**Gambás (*Didelphis spp.*) como sentinelas para doenças transmitidas por vetores nos Municípios de Foz do Iguaçu e Curitiba, Paraná**”, sob a responsabilidade **Rafael Felipe da Costa Vieira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 26/09/2018.

Vigência do projeto	Outubro/2018 até Outubro/2022
Espécie/Linhagem	<i>Didelphis spp.</i> (gambás)
Número de animais*	Variável
Peso/Idade	800 g/Variável
Sexo	Variável
Origem	Animais de vida livre em Curitiba e Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil

*O número exato de indivíduos de cada espécie será computado ao final da pesquisa, após a captura em vida livre. Posteriormente será emitido errata deste certificado.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 053/2018, regarding the project “**Opossums (*Didelphis spp.*) as sentinels for vector-borne diseases in the counties of Foz do Iguaçu and Curitiba, Paraná**” under **Rafael Felipe da Costa Vieira** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 26/09/2018.

Duration of the project	October/2018 until October/2022
Specie/Line	<i>Didelphis spp.</i> (skunks)
Number of animals*	Variable
Wheight/Age	800 g/Variable
Sex	Variable
Origin	Free living animals in Curitiba and Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil

*The individuals exact number of each species will be computed at the end of the research, after capture in living freely. Subsequently, erratum of this certificate will be issued.

Curitiba, 26 de setembro de 2018

Chayane da Rocha
Chayane da Rocha

Coordenadora CEUA-SCA

ANEXO 2 – CERTIFICADO DE AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA



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: 63433-2	Data da Emissão: 15/10/2018 12:19:51	Data da Revalidação*: 15/10/2019
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: RAFAEL F C VIEIRA	CPF: 041.694.404-39
Nome da Instituição: Universidade Federal do Paraná	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de sangue dos gambás	06/2018	06/2019
2	Coleta de carrapatos no ambiente	06/2018	06/2019
3	Coleta de fragmentos de coração, baço, fígado e linfonodos	06/2018	06/2019
4	Necropsia dos gambas que vierem a óbito no período	07/2018	07/2019
5	Geoprocessamento	06/2019	04/2020
6	PCR para Rickettsia, hemoplasma, Bartonella, piroplasmas, Leishmanis	06/2019	03/2020

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Thiago Fernandes Martins	Pesquisador	220.508.838-62	Brasileira
2	Thallitha Samih Wischral Jayme Vieira	Pesquisador	042.856.639-10	Brasileira
3	MATIAS PABLO JUAN SZABO	Pesquisador	071.031.978-90	Brasileira
4	ANDRÉ DE SOUZA LEANDRO	Colaborador	030.182.047-35	Brasileira
5	Anna Claudia Baumel Mongruel	Colaborador	088.029.999-10	Brasileira
6	Fabiano Montiani Ferreira	Pesquisador	911.030.709-59	Brasileira
7	Pablo Henrique Nunes	Colaborador	280.992.458-90	Brasileira
8	Patricia Weckerlin e Silva Trindade	Colaborador	018.751.729-04	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	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.
3	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.
4	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.

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: 0634330220181015

Página 1/4

ANEXO 3 – PROGRAMA DE MANEJO DE ANIMAIS SINANTRÓPICOS E PEÇONHENTOS



PREFEITURA MUNICIPAL DE FOZ DO IGUAÇU
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
CENTRO DE CONTROLE DE ZOOSE



PROGRAMA DE MANEJO DE ANIMAIS SINANTRÓPICOS E PEÇONHENTOS

FICHA DE SOLICITAÇÃO DE SERVIÇO DENÚNCIA NOTIFICAÇÃO/AGRAVO

1 - ORIGEM DA SOLICITAÇÃO <input checked="" type="checkbox"/> TELEFONE <input type="checkbox"/> SERVIDORES DO CCZ <input type="checkbox"/> INTERNET, EMAIL <input type="checkbox"/> PESSOALMENTE [Contribuinte] <input type="checkbox"/> OUTROS: _____	2 - DESTINO <input type="checkbox"/> ATENDIMENTO ESPECÍFICO <input type="checkbox"/> VISTORIA AMBIENTAL <input type="checkbox"/> LABORATÓRIO (AMOSTRA) <input type="checkbox"/> COORDENAÇÃO	PROTOCOLO Nº: <u>5265</u> DATA: <u>18/8/19</u> HORA: <u>10:15</u> ATENDENTE: <u>Ferreira</u>
--	--	--

REPASSADO PARA FUNCIONÁRIO: Rafa Data: 18/8/19 Hora: 10:20 URGENTE VIA TELEFONE RECEBIDO EM MÃOS

DADOS DO SOLICITANTE:
 SOLICITANTE: Luciana TEL: _____
 RUA: Capão da Galda Nº _____
 BAIRRO: Lancaster COMPLEM.: _____
 PONTO DE REFERÊNCIA: Josépianton Sarno da Silva
 OBS: _____

HIMENÓPTEROS	ESPÉCIE ENVOLVIDA <input type="checkbox"/> ABELHAS AFRICANIZADAS <input type="checkbox"/> VESPAS <input type="checkbox"/> MARIMBONDOS <input type="checkbox"/> OUTRO* <small>*especificar na descrição</small>	SITUAÇÃO <input type="checkbox"/> ENXAME MIGRATÓRIO <input type="checkbox"/> ENXAME ESTABELECIDO <input type="checkbox"/> CRIAÇÃO ILEGAL (AFRICANIZADAS) <input type="checkbox"/> FORRAGEAMENTO <input type="checkbox"/> A SITUAÇÃO RELATADA REPRESENTA RISCO IMINENTE DE ACIDENTE GRAVE	GRAU DE PRIORIDADE ATÉ 24 HORAS ATÉ 48 HORAS ATÉ 72 HORAS ORIENTAÇÃO ATENDIMENTO IMEDIATO
---------------------	--	--	---

Local onde o enxame está alojado: _____ Há quanto tempo o enxame está no local?: _____

PEÇONHENTOS	ESPÉCIE ENVOLVIDA <input type="checkbox"/> ESCORPIÃO <input type="checkbox"/> ARANHA <input type="checkbox"/> SERPENTE <input type="checkbox"/> LAGARTA <input checked="" type="checkbox"/> OUTRO* <small>*especificar na descrição</small>	SITUAÇÃO <input type="checkbox"/> ESPÉCIME ENCONTRADO (VIVO - SERPENTE, LAGARTA) <input type="checkbox"/> ESPÉCIME ENCONTRADO (VIVO - ESCORPIÃO, ARANHA) <input type="checkbox"/> ESPÉCIME ENCONTRADO (MORTO) <input type="checkbox"/> RELATO DE APARECIMENTO <input type="checkbox"/> A SITUAÇÃO RELATADA REPRESENTA RISCO IMINENTE DE ACIDENTE GRAVE <input type="checkbox"/> ESPÉCIME ENTREGUE NO CCZ [] REALIZAR VISTORIA AMBIENTAL Nº DA AMOSTRA: _____ [] MUNICÍPE ORIENTADO NO CCZ	GRAU DE PRIORIDADE ATENDIMENTO IMEDIATO ATÉ 24 HORAS ATÉ 48 HORAS ATÉ 72 HORAS ATENDIMENTO IMEDIATO ATÉ 72 HORAS ATENDIMENTO IMEDIATO
--------------------	--	---	---

Local onde o animal foi encontrado e/ou está abrigado: _____

MORCEGOS	SITUAÇÃO <input type="checkbox"/> COLÔNIA ALOJADA EM EDIFICAÇÕES <input type="checkbox"/> COLÔNIA ALOJADA EM ABRIGOS NATURAIS	GRAU DE PRIORIDADE ATÉ 72 HORAS ORIENTAÇÃO	OUTROS	ESPÉCIE ENVOLVIDA <input type="checkbox"/> ROEDORES <input type="checkbox"/> CARAMUJOS <input type="checkbox"/> POMBOS <input type="checkbox"/> OUTROS* <small>*especificar na descrição</small>	SITUAÇÃO <input type="checkbox"/> INFESTAÇÃO <input type="checkbox"/> RELATO DE APARECIMENTO	GRAU DE PRIORIDADE ATÉ 72 HORAS ORIENTAÇÃO
-----------------	--	---	---------------	--	---	---

Local onde a colônia está alojada: _____

ESPECIFICAÇÃO DO PROBLEMA, SE NECESSÁRIO:
opmla lept

RESULTADO	ÁREA: _____ QUARTEIRÃO: <u>2697</u> IDGEO: _____ Insc. Imobiliária: _____ 1ª VISITA <input checked="" type="checkbox"/> RESOLVIDO <input type="checkbox"/> CANCELADO <input type="checkbox"/> AGENDADO <input type="checkbox"/> IMÓVEL FECHADO Nº Aviso de Visita: _____ Data: <u>19/08/19</u> Hora: <u>13:05</u> Resp. Execução: <u>Rafael</u>	RETORNO <input type="checkbox"/> RESOLVIDO <input type="checkbox"/> CANCELADO <input type="checkbox"/> AGENDADO <input type="checkbox"/> IMÓVEL FECHADO Nº Aviso de Visita: _____ Data: _____ Hora: _____ Resp. Execução: _____	RETORNO <input type="checkbox"/> RESOLVIDO <input type="checkbox"/> CANCELADO <input type="checkbox"/> AGENDADO <input type="checkbox"/> IMÓVEL FECHADO Nº Aviso de Visita: _____ Data: _____ Hora: _____ Resp. Execução: _____
------------------	---	--	--

DECLARAÇÃO

Declaro que o serviço foi realizado e que recebi as orientações cabíveis.

Ass.: Responsável do Imóvel

ENCAMINHAMENTO/AGENDAMENTO: Encaminhado ao local remoto

ANEXO 4 – PROGRAMA DE MANEJO DE ANIMAIS SINANTRÓPICOS E PEÇONHENTOS (CONTINUAÇÃO)

RESULTADO DA SOLICITAÇÃO DE SERVIÇOS - SINANTRÓPICOS							
Imóvel/Local: <input type="checkbox"/> Casa <input type="checkbox"/> Comércio <input type="checkbox"/> TB <input type="checkbox"/> Aptº <input checked="" type="checkbox"/> Órgão Público <input type="checkbox"/> Ocupação Espontânea <input type="checkbox"/> Sobrado <input type="checkbox"/> Via Pública <input type="checkbox"/> Outros: _____							
RESULTADO	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Local Encontrado:</th> <th>Morcegos:</th> <th>Peçonhentos:</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> Abelhas: () Telhado/Beiral () Assoalho () Interior de parede () Árvore () Outro, especificar: _____ </td> <td> () Telhado/Laje () Telhado/Forro () Condicionador de Ar () Árvore () Outro, especificar: _____ </td> <td> () Área de mata () Vegetação urbana () Peri-domicílio () Intra-domicílio Especificar local/cômodo: _____ </td> </tr> </tbody> </table>	Local Encontrado:	Morcegos:	Peçonhentos:	Abelhas: () Telhado/Beiral () Assoalho () Interior de parede () Árvore () Outro, especificar: _____	() Telhado/Laje () Telhado/Forro () Condicionador de Ar () Árvore () Outro, especificar: _____	() Área de mata () Vegetação urbana () Peri-domicílio () Intra-domicílio Especificar local/cômodo: _____
	Local Encontrado:	Morcegos:	Peçonhentos:				
Abelhas: () Telhado/Beiral () Assoalho () Interior de parede () Árvore () Outro, especificar: _____	() Telhado/Laje () Telhado/Forro () Condicionador de Ar () Árvore () Outro, especificar: _____	() Área de mata () Vegetação urbana () Peri-domicílio () Intra-domicílio Especificar local/cômodo: _____					
Resultado/Recomendações: <p style="font-size: 1.2em; font-family: cursive;">Gometa capturado no sótão da sala. Entregue na UDC em 19/08/19 às 14:00 hs.</p>							
Tempo gasto na execução do serviço: 1ª Visita: <input checked="" type="checkbox"/> Até 15 minutos <input type="checkbox"/> 15 a 30 minutos <input type="checkbox"/> 30 a 60 minutos <input type="checkbox"/> Outro, descrever: _____ Retorno: <input type="checkbox"/> Até 15 minutos <input type="checkbox"/> 15 a 30 minutos <input type="checkbox"/> 30 a 60 minutos <input type="checkbox"/> Outro, descrever: _____ Retorno: <input type="checkbox"/> Até 15 minutos <input type="checkbox"/> 15 a 30 minutos <input type="checkbox"/> 30 a 60 minutos <input type="checkbox"/> Outro, descrever: _____							
ABELHAS	<input type="checkbox"/> Abelhas africanizadas <input type="checkbox"/> Vespas <input type="checkbox"/> Marimbondos <input type="checkbox"/> Outros: _____ Enxame: <input type="checkbox"/> Migratório <input type="checkbox"/> Estabelecido <input type="checkbox"/> Forrageamento <input type="checkbox"/> Criação Ilegal Causou acidente: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Se sim, foi notificado? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Nº SINAN: _____ Resultado: <input type="checkbox"/> Eliminado <input type="checkbox"/> Manejado <input type="checkbox"/> Enxame evadiu-se <input type="checkbox"/> Orientação específica						
	<input type="checkbox"/> Colônia alojada em edificação <input type="checkbox"/> Colônia estabelecida em abrigo natural <input type="checkbox"/> Morcego adentramento Resultado: <input type="checkbox"/> Indicação de técnica de vedação noturna <input type="checkbox"/> Indicação de desalojamento programado <input type="checkbox"/> Desalojamento e manejo <input type="checkbox"/> Orientação específica Alguma pessoa teve contato com o morcego? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim Quem? _____ Algum animal teve contato com o morcego? <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim Qual? _____ No caso de desalojamento, especificar a quantidade de espécimes capturados: _____ Espécie envolvida na situação: _____						
PEÇONHENTOS	<input type="checkbox"/> Serpente <input type="checkbox"/> Aranha <input type="checkbox"/> Escorpião <input type="checkbox"/> Lagarta <input type="checkbox"/> Outro: _____ Resultado: <input type="checkbox"/> Orientação específica <input type="checkbox"/> Animal recolhido <input type="checkbox"/> Animal capturado <input type="checkbox"/> Animal manejado Quant. espécimes recolhidos/capturados: _____ Nº da(s) amostra(s): _____ Causou acidente: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Se sim, foi notificado? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Nº SINAN: _____						
	<p style="text-align: center;">PREENCHIMENTO PELO RESPONSÁVEL DO LOCAL VISTORIADO (Caso necessário)</p> Eu, _____, RG _____ estou ciente que os profissionais do Centro de Controle de Zoonoses realizarão o trabalho de _____ na minha residência. Fui informado de que podem ocorrer danos materiais no imóvel (telhado, forro, pintura, etc.) e que os custos necessários para manutenção corretiva (materiais e mão-de-obra) após a execução do serviço são de minha inteira responsabilidade. Assinatura: _____						
Profissionais de saúde que executaram o atendimento da situação: 1ª visita: <u>Magda</u> / <u>Antônio</u> / <u>Ricardo</u> / _____ Retorno: _____ / _____ / _____ / _____ Retorno: _____ / _____ / _____ / _____							

“A qualidade sanitária do ambiente da sua residência influencia diretamente na saúde da sua família”