

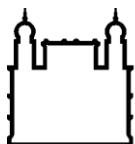
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Saúde

ANÁLISE MORFOLÓGICA E ECOLÓGICA DE HELMINTOS
PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CACHORRO-DO-MATO
(*CERDOCYON THOUS* LINNAEUS, 1766) DO PANTANAL DO MATO
GROSSO DO SUL

ANA PAULA NASCIMENTO GOMES

Rio de Janeiro
Julho de 2013



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

Ana Paula Nascimento Gomes

Análise morfológica e ecológica de helmintos parasitos gastrointestinais de cachorro-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766) do Pantanal do Mato Grosso do Sul.

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre

Orientador (es): Prof. Dr. Arnaldo Maldonado Júnior

RIO DE JANEIRO

Julho de 2013

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

G633 Gomes, Ana Paula Nascimento

Análise morfológica e ecológica de helmintos parasitos
gastrointestinais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766)
do Pantanal do Mato Grosso do Sul / Ana Paula Nascimento Gomes. –
Rio de Janeiro, 2013.

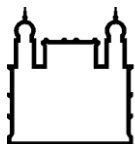
ix, 91 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação
em Biodiversidade e Saúde, 2013.

Bibliografias: f. 45-50; 68-73; 78-91

1. Helminto . 2. Cachorro-do-mato . 3. Pantanal . I. Título.

CDD 636.089696



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

AUTOR: ANA PAULA NASCIMENTO GOMES

Análise morfológica e ecológica de helmintos gastrointestinais de cachorro-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766) do Pantanal do Mato Grosso do Sul.

ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Arnaldo Maldonado Júnior

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Rosangela Rodrigues e Silva (Fiocruz/RJ)– Revisora/Presidente

Prof. Dr. José Luis Luque (UFRRJ)

Prof. Dr. Eduardo José Torres (UERJ)

Profa. Dra. Simone Chincz Cohen (Fiocruz/RJ) - Suplente

Profa. Dra. Claudia Portes (Fiocruz/RJ) - Suplente

Rio de Janeiro Julho de 2013.

***Dedico esse trabalho aos meus pais
Maria e Sérgio e minha irmã Cecília
que sempre me apoiaram com muito
carinho.***

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais, Maria Natividade e Sérgio e a minha irmã Cecília pelo carinho, ajuda e paciência durante o período do mestrado.

Agradeço ao meu orientador Arnaldo Maldonado pela confiança, orientação e por compartilhar conhecimentos.

A minha colaboradora Natalie Olifiers pela compreensão nos momentos de nervosismo e que mesmo durante o período morando na Inglaterra me ajudou com algumas dúvidas, análises e principalmente pela amizade.

Agradeço a Michele Maria e ao Jorginho pela companhia e auxílio durante o exaustivo trabalho de campo realizado no Pantanal. Tenho certeza que a amizade construída durante essa viagem vai ser para sempre.

Aos funcionários da Fiocruz Mato Grosso do sul, Centro de Controle de Zoonose de Miranda e Anastácio e aos funcionários e alunos da Embrapa Pantanal, principalmente a Suzy e Julianne pelo acolhimento em sua casa na cidade de Campo Grande e ao Zuco e Pamela também pelo acolhimento em sua casa em Corumbá.

A Magda e Tainá que me atenderam com profissionalismo no empréstimo dos materiais na Coleção Helminológica.

Agradeço aos meus amigos e colegas do laboratório pela amizade, momentos terapia e risadas principalmente as minhas amigas fofas Juliana, Tainá, Raquel e Joyce pela ajuda na metodologia e madrugadas no laboratório.

Ao Rodrigo Mexas por ter me ajudado na parte de imagens e montagem das pranchas finais.

Aos meus colegas da turma de pós-graduação de biodiversidade e saúde pela amizade que construímos durante esses 2 anos.

“Knowing is not enough; we must apply.
Willing is not enough; we must do”.
Goethe

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	7
2.1 OBJETIVOS GERAIS	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3 CAPÍTULO 1: Uma nova espécie de Acanthocephala (Oligacanthorhynchidae: Prosthenorchinae) em cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> Linnaeus 1766 no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil.....	8
Resumo.....	8
3.1 Introdução.....	9
3.2 Material e Métodos.....	11
3.3 Resultados.....	13
3.4 Discussão.....	15
3.5 Conclusão.....	18
3.6 Referências Bibliográficas.....	18
4 CAPÍTULO 2: Nematódeos gastrointestinais em <i>Cerdocyon thous</i> Linnaeus, 1766 no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil	26
Resumo	26
4.1 Introdução.....	27
4.2 Material e Métodos.....	33
4.3 Resultados.....	36
4.4 Discussão.....	42
4.5 Conclusão.....	44
4.6 Referências Bibliográficas.....	45
5 CAPÍTULO 3: Avaliação de fatores de infecção dos parasitos gastrointestinais de cachorro-do-mato, <i>Cerdocyon thous</i> (Carnivora: Canidae) do Pantanal do Mato Grosso do Sul.....	58
Resumo.....	58
5.1 Introdução	59
5.2 Material e Métodos.....	61
5.3 Resultados	64
5.4 Discussão	65
5.5 Conclusão.....	68
5.6 Referências Bibliográficas.....	68
6 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	76
7 CONCLUSÃO FINAL.....	77
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> Linnaeus 1766 em seu ambiente natural (Pantanal, Mato Grosso do Sul).....	2
--	---

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Tabela I. Helmintos relatados em cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> Linnaeus, 1766 em 7 regiões geográficas no Brasil.....	5
Gráfico 1. Registros de número de espécies de helmintos de cachorro-do-mato nos diferentes biomas brasileiro.....	6

1 INTRODUÇÃO GERAL

Mais da metade das espécies conhecidas compreende indivíduos parasitos (Begon et al., 2007). Conseqüentemente, o parasitismo é uma relação biológica frequente e nenhuma espécie está livre de parasitos (Price, 1980). Além disto, os parasitos podem influenciar indivíduos, a dinâmica de populações de seus hospedeiros e até mesmo ecossistemas inteiros (Hudson et al., 2002). No campo da parasitologia, tem sido uma preocupação a identificação e registro de espécies de parasitos em animais silvestres, devido à importância dos estudos de inventário da diversidade de espécies e também o risco que parasitos podem representar para a saúde pública (Martins et al., 2004).

Recentemente, a comunidade científica tem realizado estudos parasitológicos em diferentes áreas geográficas e hospedeiros. Estes estudos vêm reforçando a necessidade de mais informações sobre a fauna de parasitas, pois o conhecimento sobre os parasitos que infectam/infestam animais silvestres ainda é limitado. Por exemplo, segundo Pedersen et al. (2007), menos de 40 % dos primatas, carnívoros e artiodáctilos ameaçados de extinção possuem alguma informação publicada sobre parasitas.

Dentre os animais necropsiados em algumas das primeiras excursões dos pesquisadores brasileiros no início do século XX, encontra-se o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*); seus helmintos foram coletados e identificados, contribuindo inicialmente para conhecimento da fauna helmintológica deste hospedeiro (Duarte, 2007). O cachorro-do-mato (Linnaeus, 1766) (Figura 1) apresenta porte médio (4-10 kg), é geralmente abundante e apresenta ampla distribuição geográfica dentro do continente americano, sendo a sua presença registrada no Panamá, Colômbia, Venezuela, Guiana, Guiana Francesa, Suriname, Bolívia, Paraguai, Uruguai, região norte da Argentina e leste do Peru e na maior parte do Brasil (exceto Bacia Amazônica (Courtenay e Maffei, 2004). A espécie habita áreas de cerrado, pastagens e matas (Eisenberg e Redford, 1999), apresentando horários de atividade noturna e crepuscular (Nakano-Oliveira e Monteiro Filho, 2002), com estrutura social familiar composta de dois a cinco indivíduos que forrageiam a uma distância de 100 metros, (Brady, 1979; Macdonald e Courtenay, 1996).



Figura 1. Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus 1766 em seu ambiente natural (Pantanal, Mato Grosso do Sul)

O cachorro-do-mato possui uma dieta diversificada composta por artrópodes, frutas e vertebrados sendo considerado generalista; porém alguns itens são consumidos mais que os outros conforme a época do ano e da região habitada (Olmos, 1993; Motta-Júnior et al., 1994; Facure e Monteiro-Filho, 1996; Facure et al., 2003; Rocha, 2004; Bueno e Motta-Júnior, 2004; Jácomo et al., 2004; Gatti et al., 2006; Bianchi et al., 2009; Pedó et al., 2006; ;Bianchi et al., 2013 *no prelo*). Na região do Pantanal, este canídeo é abundante provavelmente devido a grande oferta de recursos e nichos reprodutivos (Alho et al., 1987; Alho et al., 2011) e grande parte de sua dieta é composta por artrópodes (87%), especialmente Coleoptera (57%), vertebrados (79%) e frutas (77%) (Bianchi, et al., 2013 *no prelo*).

Este carnívoro abriga vários parasitos e pode ter um papel importante na manutenção do ciclo biológico de helmintos parasitos nos ecossistemas que ocupa, por seus hábitos generalistas e oportunistas, tolerância a habitats naturais e antropizados e interação com outras espécies silvestres e domésticas (Silveira, 1999; Courtenay e Maffei, 2004; Curi, 2005). Desde a viagem de Travassos no início do século XX, espécies de helmintos foram relatadas em cachorro-do-mato nos diferentes biomas e regiões geográficas do Brasil (Tabela 1). Os biomas da Mata Atlântica e Caatinga, por exemplo, são os que apresentam maior quantidade de relatos de helminto no cachorro-do-mato sendo 27 e 18 registros, respectivamente, para gêneros e espécies (gráfico 1). No bioma do Pampa, por exemplo, foram registrados por Ruas (2008), dez helmintos que foram identificados em espécie ou

somente gênero; já os biomas do Pantanal e Cerrado são os que possuem menor número de registros (Gráfico 1). No cerrado, foram identificados seis espécies sendo 2 nematódeos, 2 cestódeos e 2 trematódeos e no Pantanal foram relatadas 6 espécies: 4 nematódeos, 1 trematódeo e 1 acontocéfalo (gráfico 1 e tabela 1). Entretanto, para duas espécies de helmintos, *Diphyllobothrium mansonoides* e *Mesocestoides michaelsoni* não foram informadas as localidades e biomas onde foram coletados no cachorro-do-mato.

Apesar da diversidade de helmintos já registrada para cachorro-do-mato no Brasil (Tabela 1), ainda há espécies novas sendo registradas e muitas identificações precisam ser refeitas.

Durante o desenvolvimento do projeto “Ecologia, Saúde e Parasitas de Carnívoros de Médio Porte no Pantanal: uma Abordagem Multidisciplinar”, de dezembro de 2005 e fevereiro de 2009 e que foi fruto de uma colaboração entre laboratórios da Embrapa-Pantanal, FIOCRUZ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e University of Missouri/USA. foram coletados ovos de helmintos das fezes de 79 cachorros-do-mato capturados na Fazenda Nhumirim (Pantanal – MS). Com este material, identificou-se 62 morfotipos de ovos de helmintos, sendo que 6 deles ocorreram entre 10% e 80% das amostras. Estes dados preliminares sugerem que a fauna helmintológica do cachorro-do-mato se mostra diversa e ainda não é inteiramente conhecida para o bioma do Pantanal, uma vez que existiam até o momento somente 5 espécies de helmintos descritos parasitando *C. thous* nesta região (Tabela 1). Neste contexto, este trabalho visa contribuir para o preenchimento desta lacuna e para o avanço no conhecimento da helmintofauna do cachorro-do-mato. A identificação dos helmintos coletados, a recuperação de ovos de fêmeas adultas e a identificação morfológica e/ou molecular desses helmintos e seus ovos permitirá que outros pesquisadores utilizem essas informações para estudos helmintológicos futuros nesta espécie e em outras espécies de hospedeiros nas quais tais parasitos podem ocorrer.

Esta dissertação resultou em três artigos e por isso foi dividida em três capítulos já apresentando formatação indicada pelas revistas escolhidas para publicação. No capítulo 1, apresenta uma nova espécie do filo Acanthocephala de cachorro-do-mato. No capítulo 2, apresento a re-descrição de quatro espécies de nematódeos, incluindo dados morfológicos, morfométricos e moleculares. No capítulo 3 fiz uma análise ecológica para a nova espécie de Acanthocephala descrita

no capítulo 1 a partir dos dados de ovos encontrados nas fezes de cachorros-domato capturados no Pantanal e investiguei o papel que fatores abióticos e bióticos têm na abundância e prevalência deste helminto. Neste último capítulo, apresento também um panorama geral das prevalências de outros helmintos que também foram encontrados nos exames coprológicos daqueles animais.

Tabela 1. Helminthos relatados em cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 em diferentes regiões geográficas no Brasil.

Helmintos	Região Geográfica	Bioma	Referência
Nematoda			
<i>Aelurostrongylus</i> sp. Cameron, 1927	Mato Grosso do Sul	Pan	Vieira et. al 2008
<i>Ancylostoma</i> sp. Dubine, 1843	Serra da Capivara, PI	Ca	Brandão et al. 2009
<i>Ancylostoma</i> sp. Dubine, 1843	Guaraqueçaba, PR	MA	Mangini et al. 2002
<i>Ancylostoma braziliense</i> Faria, 1910	Botucatu, SP	MA	Griese et al. 2007
<i>Ancylostoma buckleyi</i> Le Roux & Biocca, 1957	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
<i>Ancylostoma buckleyi</i> Le Roux & Biocca, 1957	Itatinga, SP	MA	Santos et al. 2003
<i>Ancylostoma caninum</i> (Ercolani, 1859) Hall, 1913	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Ancylostoma caninum</i> (Ercolani, 1859) Hall, 1913	Rodovia ES 060, ES	MA	Rodrigues et al. 2006
<i>Angiostrongylus</i> sp. Kamensky, 1905	Rio de Janeiro	MA	Vieira et al. 2008
<i>Angiostrongylus</i> sp. Kamensky, 1905	Mato Grosso do Sul	Pan	Travassos & Freitas 1943;
<i>Angiostrongylus vasorum</i> (Railliet, 1866) Kamensky, 1905	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
<i>Angiostrongylus raillietii</i> Travassos, 1927	Rio de Janeiro	MA	Vicente et al. 1997
<i>Angiostrongylus raillietii</i> Travassos, 1927	Goiás	Ce	Vicente et al. 1997
Ascaridae Travassos, 1919	Guaraqueçaba, PR	MA	Brandão et al. 2009
<i>Ascaridia gali</i> (Schrank, 1788) Freebom, 1923	Serra da Capivara, PI	Ca	Mangini et al. 2002
Capilarídeo	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
<i>Calodium hepaticum</i> Brancoft, 1893	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Capillaria</i> sp. Zeder, 1800	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Diocotylus renale</i> Goeze, 1782	Seropédica (CETAS/RJ)	MA	Ribeiro et al. 2009
<i>Dirofilaria repens</i> Railliet & Henry, 1911	Mato Grosso do Sul	Pan	Vieira et al. 2008
<i>Dirofilaria</i> sp. Railliet & Henry, 1911	Mato Grosso do Sul	Pan	Noronha et al. 2002
<i>Gnathostoma</i> sp. Owen, 1836	Rodovia ES 060, ES	MA	Rodrigues et al. 2006
Molineinae gen. sp. Skrjabin & Schulz, 1937	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Molineus elegans</i> (Travassos, 1921) Travassos & Darriba, 1929	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Molineus felineus</i> Cameron, 1923	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Molineus</i> sp. Cameron, 1923	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Oxyurus</i> sp. Rudolphi, 1803	Guaraqueçaba, PR	MA	Mangini et al. 2002
<i>Physaloptera digitata</i> Schneider, 1866	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Physaloptera praeputialis</i> Linstow, 1889	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Physaloptera</i> sp. Rudolphi, 1819	Mato Grosso do Sul	Pan	Vieira et al. 2008
<i>Physaloptera</i> sp. Rudolphi, 1819	Serra da Capivara, PI	Ca	Brandão et al. 2009
<i>Physaloptera terdentata</i> Molin, 1860	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
Physalopteridae Leiper, 1908	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Pearsonema feliscati</i> (Diesing, 1851)	Rio de Janeiro	MA	Vieira et al. 2008
<i>Pearsonema lins</i> (Freitas & Lent, 1935)	Rio de Janeiro	MA	Vieira et al. 2008
Rictularia sp. Froelich, 1802	Botucatu, SP	MA	Griese et al. 2007
<i>Pterigodermatites affinis</i> (Jägerskiöld, 1904) Quentin, 1969	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
<i>Pterigodermatites pluripectinata</i> Hoppe, 2010	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Pterigodermatites pluripectinata</i> Hoppe, 2010	Paraná	?	Vieira et al. 2008
<i>Strongyloides</i> sp. Grassi, 1879	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Strongyloides stercoralis</i> (Bavay, 1876) Stiles & Hassal, 1902	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Toxocara canis</i> (Werner, 1782)	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Toxocara canis</i> (Werner, 1782)	Rio de Janeiro	MA	Vieira et al. 2008
<i>Toxocara</i> sp. Stiles, 1905	Serra do Cipó, MG	Ce	Curi et al. 2005
<i>Trichuris</i> sp. Roederer, 1761	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Trichuris vulpis</i> (Froelich, 1789)	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Trichuris vulpis</i> (Froelich, 1789)	Mato Grosso do Sul	Pan	Vieira et al. 2008
<i>Uncinaria carinii</i> Travassos, 1915	São Paulo	MA	Travassos, 1915 e Vicente et al. 1997
Cestoda			
Cyclophyllidae	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Diphyllobothrium</i> sp. (Cobbold 1858)	Botucatu, SP	MA	Griese et al. 2007
<i>Diphyllobothrium mansonii</i> (Cobbold, 1883)	Itatinga, SP	MA	Santos et al. 2004
<i>Diphyllobothrium mansonoides</i> Muller, 1935	não informado		Schmidt 1986; Vieira et al. 2008
Dilepididae	Rodovia ES 060, ES	MA	Rodrigues et al. 2006
Família Hymenolepidae	Serra do Cipó, MG	Ce	Curi et al. 2005
<i>Mesocestoides michaelson</i> Loemberg, 1896	não informado	não informado	Yamaguti 1959; Travassos 1965; Vieira et al. 2008
<i>Spirometra mansonoides</i> Mueller, 1935	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Spirometra</i> sp. Mueller, 1935	Serra do Cipó, MG	Ce	Curi et al. 2005
Taeniidae	Zona da Mata, MG	MA	Horta-Duarte et al. 2004
Trematoda			
<i>Alaria alata</i> (Goeze, 1782)	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Athesmia</i> sp.	Zona da Mata, MG	MA	Horta-Duarte et al. 2004
<i>Athesmia heterolecithodes</i> (Braun, 1899)	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
Classe Trematoda	Serra do Cipó, MG	Ce	Curi et al. 2005
Echinostomatidae	Zona da Mata, MG	MA	Horta-Duarte et al. 2004
<i>Fibricola</i> sp.	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009
<i>Platynosomum illiciens</i> (Braun, 1911)	Juiz de Fora, MG	MA	Duarte et al. 2007
<i>Platynosomum</i> sp. (Braun, 1901)	Serra do Cipó, MG	Ce	Curi et al. 2005
<i>Pseudathesmia paradoxa</i> Travassos, 1942	Salobra, MS	Pan	Travassos, 1942
Classe Trematoda	Serra da Capivara, PI	Ca	Brandão et al. 2009
Acanthocephala			
Acanthocephala	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Centrorhynchus</i> sp. Luhe, 1911	Rio Grande do Sul	Pa	Ruas et al. 2008
<i>Oncicola</i> sp. Travassos, 1916	Espírito Santo	MA	Vieira et al. 2008
<i>Oncicola</i> sp. Travassos, 1916	Mato Grosso do Sul	Pan	Vieira et al. 2008
<i>Oncicola canis</i> (Kaupp, 1909) Hall & Wigdor, 1918	Botucatu, SP	MA	Griese et al. 2007
<i>Prosthenorchis</i> sp. Travassos, 1915	Município de Patos (Caatinga), Paraíba	Ca	Lima et al. 2009

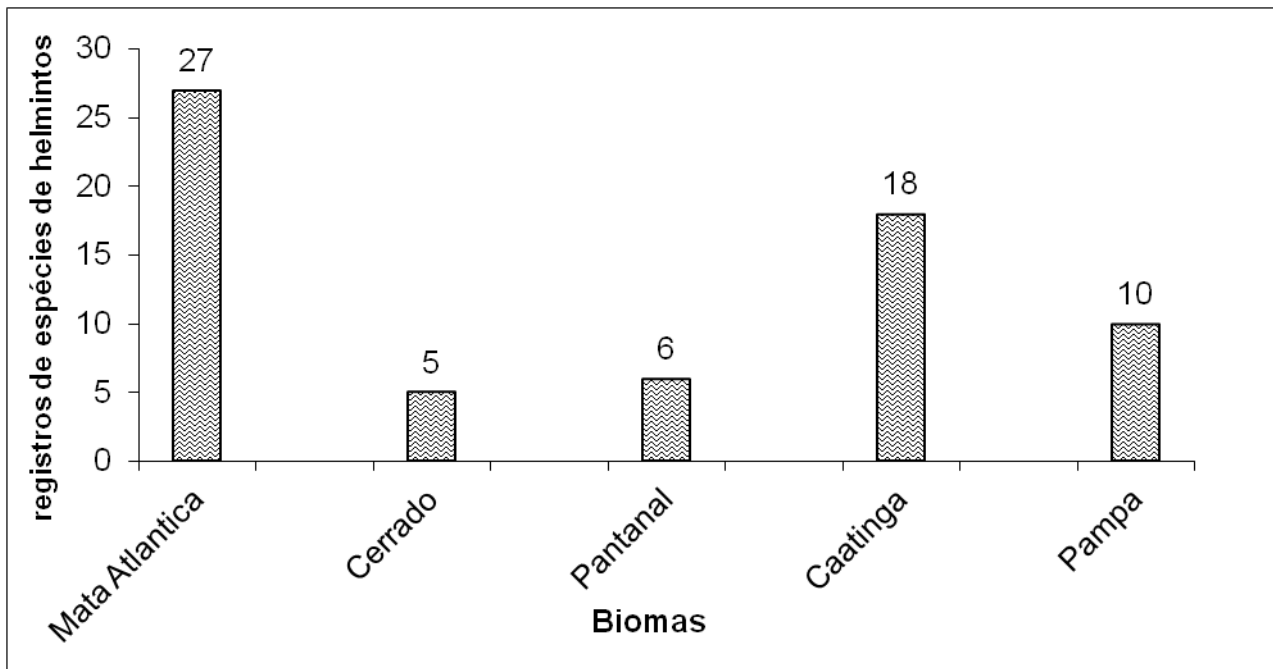


Gráfico 1. Registros de número de espécies de helmintos de cachorro-do-mato nos diferentes biomas brasileiros.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar a identificação taxonômica de helmintos gastrointestinais de cachorros-do-mato provenientes do Pantanal do Mato Grosso do Sul e avaliar o papel dos fatores bióticos e abióticos desempenham na prevalência e abundância de uma nova espécie de *Acanthocephala* descrita para o hospedeiro.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever a morfologia e morfometria de helmintos do sistema digestório do cachorro-do-mato e seus ovos por microscopia de luz;
- Realizar o diagnóstico dos helmintos parasitos do cachorro-do-mato não identificados por morfologia e morfometria por seqüências nucleotídicas do gene 18S Ribossomal;
- Caracterizar por microscopia eletrônica de varredura (MEV) os espécimes de *Acanthocephala* visando auxiliar a descrição e identificação da espécie;
- Determinar a prevalência dos helmintos gastrointestinais utilizando os ovos obtidos pela análise coproparasitológica de fezes de cachorro-do-mato, com ênfase em *Prosthernorchis* sp., avaliando os fatores bióticos e abióticos relacionados à infecção por este parasito.

3 CAPÍTULO 1

Journal of Parasitology

A NEW ACANTHOCEPHALAN SPECIES (ARCHIACANTHOCEPHALA: OLIGACANTHOCERHYCHIDAE) FROM *CERDOCYON THOUS*, A CRAB EATING-FOX IN THE BRAZILIAN PANTANAL WETLANDS

--Manuscript Draft--

Ana Paula N. Gomes, Natalie Olifiers*, Joyce G. R. Souza†, Helene S. Barbosa‡, Paulo S. D`Andrea§, Arnaldo Maldonado Jr || 1.

Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365 Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil. Correspondence should be sent to: maldonad@ioc.fiocruz.br

ABSTRACT: A new species of Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala) *Phosthenochis* sp. is described from specimens collected from the small intestine of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Canidae: Carnivora) in the Brazilian Pantanal wetland and the new species were analyzed by light and scanning electron microscopy. Characteristic features distinguishing the new species from others already described were obtained, such as size of the body, the lemnisci position, size of the eggs, host and geographical distribution. Therefore, details of the surface body such as the presence of two lateral papillae in the proximal region of the proboscis, the presence of barbs in hooks and robust and festooned collar obtained by scanning electron microscopy helped to identify the species. In addition, the DNA sequence of the new species by 18S ribosomal gene was deposited in GeneBank. The analyses based on light microscopy and scanner electron microscopy, as well as the molecular analyses helped to obtain important information for the taxonomic study of the group.

†Laboratório de Helmintologia Romero Lascas Porto, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Avenida Professor Manoel de Abreu, 444/ 5º andar, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

‡ Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil. §Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365 Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil.

|| To whom correspondence should be addressed e-mail: maldonad@ioc.fiocruz.br

CAPÍTULO 1

Uma nova espécie de Acanthocephala (Oligacanthorhynchidae: Prosthenoorchinae) em cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus 1766 no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil (Manuscrito submetido à *Journal of Parasitology*).

RESUMO

Uma nova espécie da família Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala) *Prosthenoorchis* sp. foi coletada do intestino delgado do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Canidae: Carnivora) no bioma Pantanal e descrita através da microscopia de luz e eletrônica de varredura. Características diferenciam esta espécie das demais descritas para este gênero, tais como tamanho do corpo, posição do leminisco, tamanho do ovo, hospedeiro e distribuição geográfica. Características morfológicas obtidas por microscopia eletrônica de varredura, como presença de duas papilas laterais no pescoço, a presença de farpas nos ganchos e de colar festonado auxiliaram a identificação da espécie. Adicionalmente, foi depositado no GeneBank a seqüência obtida através do gene ribossomal 18S. As análises por microscopia de luz e eletrônica de varredura e moleculares adicionam informações importantes para estudo da taxonomia deste grupo.

Palavra chave: Helminto, Acanthocephala, *Prosthenoorchis*, cachorro-do-mato, Pantanal.

3.1 Introdução

3.1.1 Filo Acanthocephala

Os acantocéfalos possuem ampla distribuição geográfica e infectam uma variedade de artrópodes (insetos e crustáceos) que atuam como hospedeiros intermediários e vertebrados (peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos) como hospedeiros definitivos, mostrando uma baixa especificidade (Nicholas, 1967; Read, 1974). Em alguns casos, peixes, anfíbios e répteis são utilizados como hospedeiros paratênicos. Por este filo apresentar uma baixa especificidade para o hospedeiro definitivo, ele representa um grupo de helmintos parasitos de todas as classes de vertebrados (Nicholas, 1967; Bush et. al 2001; Kennedy, 2006).

O Filo Acanthocephala é dividido em quatro classes - Archiacanthocephala, Palaeacanthocephala, Eoacanthocephala e Polyacanthocephala (Amin, 1987). Esta classificação é baseada em características morfológicas como, localização do sistema lacunar, número e formato das glândulas de cimento nos machos, o número e tamanho dos ganchos da probóscide e taxonomia e ecologia do hospedeiro (Bullock, 1969; Amin, 1985). O filo é caracterizado por não possuir trato digestivo, fazendo a absorção dos nutrientes através da parede do corpo que consiste em um tegumento espesso contendo um sistema de canais lacunares para absorção (Smyth, 1994). Outra característica morfológica importante é a presença na região anterior de uma probóscide que geralmente retrai-se para dentro de um receptáculo (Travassos, 1917; Crompton & Nickol, 1985). Na probóscide, podem-se encontrar ganchos e espinhos que são utilizados para fixação e penetração da probóscide na parede do intestino do hospedeiro definitivo, o que pode causar danos ao hospedeiro tais como enterite crônica com lesões ulcerativas (Dunn, 1963, Muller et. al., 2010). A probóscide é sustentada por um pescoço livre de espinhos e na base deste são encontrados os leminiscos. Segundo Amin (1985), a identificação dos acantocéfalos é basicamente feita pelo tamanho e formato do corpo, probóscide, ganchos e espinhos, tamanho do leminisco, tamanho e posição dos testículos, bem como pelo formato das glândulas de cimento e dos ovos.

Os adultos são dióicos e tem reprodução sexual seguida de copulação e fertilização. Após a fertilização, as fêmeas lançam os ovos no intestino do hospedeiro, que são eliminados para o ambiente juntamente com as fezes do hospedeiro. No ambiente, o hospedeiro intermediário (artrópode) ingere os ovos, as larvas (acanthela) eclodem do ovo e se desenvolvem até o estágio de cistacanto. O

cistacanto infecta o hospedeiro definitivo (vertebrado) e se desenvolve em adulto quando o artrópode é ingerido por este hospedeiro. O período pré-patente no hospedeiro definitivo é de 28 a 70 dias, concluindo assim o ciclo deste parasito (Nicholas, 1967; Amin, 1985).

Os acantocéfalos são raros parasitas do homem e a maioria das infecções ocorre por aquisição através do consumo de peixes (hospedeiro paratênico) ou insetos. Muitas espécies de baratas (Blattaria) e besouros (Coleoptera) que contaminam a comida dos seres humanos podem agir como hospedeiro intermediário e ser ingeridas pelo homem ocasionando a sua infecção (Nicholas, 1967; Haustein et al., 2009).

3.1.2 Família Oligacanthorhynchidae e gênero *Prosthenorchis*

A família Oligacanthorhynchidae Southwell & MacFie, 1925 pertencente à classe Archiacanthocephala é representada por três subfamílias: Oligacanthorhynchinae, Macracanthorhynchinae e Prosthenorchiinae (Schmidt, 1972). Prosthenorchiinae Yamaguti (1963) inclui seis gêneros: *Prosthenorchis* Travassos, 1915, *Oncicola* Travassos, 1916, *Travassosia* Meyer, 1932, *Hamanniella* Travassos, 1915, *Echinopardalis* Travassos, 1918, *Paraprosthenorchis* Amin, Ngyuen and Heckmann 2008. Espécies do gênero *Prosthenorchis* têm sido relatadas em diversas regiões geográficas (Schmidt, 1972; Amin, Ngyuen e Heckmann, 2008) tais como *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851) Travassos 1915 que infecta primatas na América do Sul; *Prosthenorchis lemuri* Machado, 1950 provenientes de lêmures de Madagascar e *Prosthenorchis fraterna* (Baer, 1959) Schmidt, 1972 de Felidae na África (Schmidt, 1972; Golvan, 1994, Amin et al., 2008).

Acantocéfalos já foram relatados parasitando *C. thous* no Brasil, tais como *Oncicola* sp., *Oncicola canis* e *Prosthenorchis* sp. (Griese et al., 2007; Ruas et al., 2008; Vieira et al., 2008; Lima et al., 2009), sendo que espécies do gênero *Prosthenorchis* ainda não foram identificadas. O cachorro-do-mato foi um dos objetos de estudo no projeto intitulado “Ecologia, Saúde e Parasitas de Carnívoros de Médio Porte no Pantanal: uma Abordagem Multidisciplinar” conduzido de 2006 a 2009. Nesse projeto, incluiu-se o estudo de helmintos parasitos e espécimes foram disponibilizados para realização deste estudo, incluindo acantocéfalos. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo descrever uma nova espécie do gênero *Prosthenorchis* incluído na família Oligacanthorhynchidae e coletados em *C. thous*.

3.2 Materiais e Métodos

Duas fêmeas adultas de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) foram encontradas mortas em 2007 durante trabalhos de captura e recaptura de animais realizados entre 2005 e 2009 na Fazenda Nhumirim (18°59'S, 56°39'W), localizada na Nhecolândia sub-região do Pantanal, Brasil. Esses animais foram necropsiados e foram coletados espécimes de acantocéfalos do intestino delgado.

A área de estudo é caracterizada por solo arenoso, com vegetação em mosaico de floresta semi-decídua com áreas abertas apresentando diferentes fitofisionomias e apresentando regime de inundações sazonais alternadas pela estação seca (abril a setembro) e chuvosa (outubro a março) (Rodela, 2006). Todo o procedimento de captura dos hospedeiros e coleta das amostras foi aprovado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA primeira licença#183/2005-CGFA/LIC; última licença#11772-2) e pela University of Missouri (Animal Care and Use Committee protocol #4459).

O intestino delgado dos hospedeiros foi aberto e os espécimes de acantocéfalos foram coletados, lavados em solução fisiológica (0,95% NaCl) e armazenados em álcool 70%. No laboratório todos os espécimes do gênero *Prosthenorchis* foram diafanizados em fenol 90% para estudo e observação dos ganchos da probóscide. Para descrição das estruturas internas, os espécimes foram corados em Carmim clorídrico, descorados em álcool clorídrico, desidratados em série gradual de álcool, desafanizados em metil salicilato e montados em lâmina com balsamo de Canadá (Amato, 1985). A caracterização do gênero foi feita através da chave taxonômica de Schmidt (1972).

A descrição do *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp. foi baseada em 17 espécimes (7 machos e 10 fêmeas) e os dados morfométricos são dados em milímetros com valores de mínimo, máximo e a média entre parênteses. Espécimes de *Prosthenorchis* sp. (CHIOC 17840 a-f, 10123, Lima, 2009) e *Prosthenorchis elegans* (CHIOC 417, 418, 419, 421, 441, 442, 998, 7661, 8864, 10122, 16147, Machado Filho, 1950) depositadas na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz foram utilizadas para comparação das características morfológicas.

Para a descrição da morfologia da superfície, espécimes machos e fêmeas foram submetidos à técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os espécimes foram fixados em 2,5% em glutaraldeído em tampão 0,1M Na-cacodilato

por 1 hora em temperatura ambiente. Após a lavagem no mesmo tampão, os espécimes foram pós-fixados por 3 horas em 1% de tetróxido de ósmio em tampão 0,1M Na-cacodilato em temperatura ambiente. Em seguida, o material foi desidratado em séries crescentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%) antes do ponto crítico por CO₂. Os espécimes foram montados em suporte de alumínio (“stub”) revestido com fita dupla-face e metalizados com 20nm de camada de ouro. As amostras foram observadas no microscópio de varredura Jeol JSM-6390 LV em voltagem de 15 kV da plataforma de Microscopia Eletrônica do Instituto Oswaldo Cruz. As espécies-tipos de *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp. foram depositadas na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil recebendo as seguintes numerações 35804a, 35804b and 35804c.

Adicionalmente à identificação morfológica e morfométrica foi realizada a análise molecular através da extração do ADN genômico dos espécimes coletados. Para extração do ADN foi utilizado o Kit QIAamp DNA mini Kit (QIAGEN Biotecnologia) em que os espécimes foram macerados com auxílio de grau e pistilo e em seguida digeridos com proteinase K (600mAU/ml) em tampão ATL e incubado por 3 horas a 56°C. Em seguida foi incubado novamente com tampão AL a 70°C por 10 minutos e seguido pela precipitação por etanol (96-100%). A amostra de ADN foi obtida através da eluição a uma coluna QIamp Mini spin. O ADN foi quantificado pelo nanodrop em 230 nm (NanoDrop Spectrophotometer ND-1000 Uniscience) obtendo os valores da quantificação em nano gramas por microlitros (ng/μl). O gene 18S ribossomal foi amplificado através da técnica de PCR utilizando os seguintes primers, que anelam a região conservada em ambas partes finais do gene: F 5'AGATTAAGCCATGCATGCGT3' e R 5' GCAGGTTACCTACGGAAA3' (Garey et al. 1996). Para reação de PCR, foi usado um período inicial de desnaturação por 3 minutos a 94 °C, anelamento 50 °C por 3 minutos e extensão 72 °C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 1 minuto com a mesma temperatura de desnaturação, anelamento e extensão. O produto de PCR foi avaliado pelo método de eletroforese em gel de agarose a 1%. O gel de agarose foi corado em brometo de etídeo a 2% e visualizado no trasiluminador sob luz ultravioleta. A purificação do PCR foi realizada pelo Kit QIAquick (QIAGEN Biotecnologia) e, subseqüentemente, as amostras do produto de PCR foram encaminhadas para Plataforma de Seqüenciamento do Instituto Oswaldo Cruz (PDTIS-FIOCRUZ) para seqüenciamento.

3.3 Resultados

O táxon descrito neste trabalho inclui uma nova espécie de Acanthocephala, coletada de um canídeo *Cerdocyon thous* no ano de 2007 no bioma Pantanal. A seguir esta espécie é descrita em detalhe.

Descrição

Oligacanthorhynchidae Southwell & MacFie, 1925.

***Prosthenorchis* Travassos, 1915.**

***Prosthenorchis* sp.**

(Figuras. 1-21)

Descrição Geral: Os espécimes foram coletados do intestino delgado de dois cachorros-do-mato (Fig. 1 e 2). Machos e fêmeas possuem uma probóscide globular armada de 36 ganchos (12 séries de 3 ganchos); uma papila em cada lado da base da probóscide; pescoço envolto por uma colar robusto e festonado (Figs. 3, 4 e 7); corpo cilíndrico e ventralmente curvado, espesso, sulcado, opaco e mostrando rugas transversais; leminisco longo que por vez dobra-se sobre si mesmo e geralmente alcançando a região posterior do corpo (Figs. 12 e 13). Machos apresentam testículos elipsóides na região anterior ou na região média do corpo e oito glândulas de cimento agregadas após o testículo (Fig. 11), enquanto as fêmeas possuem ovojetor alongado com bordas sulcadas, apresentando um grande esfíncter próximo à vagina e com gonoporo subterminal na região posterior (Figs. 5 e 9). Os ovos possuem uma membrana espessa e pólos salientes (Figs. 6 e 10).

A probóscide consiste de 12 séries espirais com três morfologias diferentes de ganchos, variando de um gancho robusto no topo da probóscide a ganchos simples na base da mesma (Fig. 8). Os ganchos possuem tamanhos similares em ambos os sexos. O primeiro tipo de gancho (Tipo I) é posteriormente curvado, apresentando uma manubria complexa e raiz imersa na matriz da probóscide. A raiz se expande lateralmente em forma de "T" e na ponta dos ganchos observa-se farpas ("barbs") (Figs. 8, 16 e 17). Entretanto, os ganchos tipo II e III na região proximal da probóscide possuem raiz pequena, simples e discóide (Fig. 8). O comprimento dos ganchos anteriores, Tipo I e II, medidos entre o topo e a região final do gancho, medem 0,41-0,22 (0,32), 0,27-0,08 (0,15) e o comprimento da raiz destes medem 0,28-0,11 (0,18), 0,06-0,03 (0,05), enquanto os ganchos posteriores (Tipo III) apresentam raiz simples e medem 0,11-0,05 (0,08) de comprimento.

Machos holótipos e seis parátipos: tamanho do corpo 9,60-6,8 (8,53) de comprimento e 1,97-1,26 (1,58) de largura. Probóscide globular medindo 1,10-0,56 (0,9) de comprimento e 0,98-0,72 (0,86) de largura, armada com 36 ganchos (Figuras 7,8). O colar é robusto e mede 1,26-0,68 (0,84) de comprimento e 0,98-0,82 (0,88) de largura, apresentando aproximadamente 24 festões (Figuras 3 e 7). O pescoço é pequeno com placas longitudinais (Figura 15). Os dois testículos são elipsóides e localizados na região anterior do corpo. O testículo anterior mede 1,0-0,87 (0,94) de comprimento e 0,49-0,29 (0,39) de largura, e o testículo posterior mede 0,90-0,65 (0,78) de comprimento e 0,45-0,41 (0,44) de largura (n=2). Atrás dos dois testículos encontram-se oito glândulas de cemento agregadas (Fig. 11); o grupo de glândulas de cemento mede 1,23-0,96 (1,09) de comprimento (n=2). O canal ejaculatório tem 1,21-0,88 (1,05) de comprimento (n=2). A bolsa, localizada no final da região posterior, mede 0,955 de comprimento (n=1) e não possui raios (Figura 21). Há um longo leminisco que se estende até o testículo posterior e alcança a parte posterior do corpo (Figuras 12 e 13).

Fêmea alótipo e nove parátipos: Corpo com tamanho de 12,18-5,34 (7,67) de comprimento e 2,08-1,4 (1,71) de largura. A probóscide é globular medindo 1,0-0,68 (0,868) de comprimento e 1,04-0,78 (0,95) de largura e circundada por 12 séries de 3 tipos de ganchos (Figuras 7 e 8). O colar possui morfologia similar a dos machos e apresenta tamanho 1,16-0,34 (0,74) de comprimento e 1,18-0,72 (0,97) de largura. O leminisco também é similar a dos machos, sendo longo e estendendo-se até a região posterior do corpo. Na maioria dos espécimes, o leminisco cobre os ovos presentes no corpo da fêmea. Ao final do corpo encontra-se o ovojetor que mede 1,11-0,75 (0,90) (n=3; Fig 9). Os ovos (n=22) são elipsóides, medindo 0,1-0,07 (0,09) de comprimento e 0,07-0,03 (0,05) de largura e apresentam três membranas. A membrana mais externa é espessa, granular e possui dois pólos hialinos, a membrana interna é fina e a membrana que recobre o embrião também é fina e transparente (Figuras 6 e 10).

Adicionalmente, observou-se em detalhe por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em ambos os sexos a presença de duas papilas laterais na região proximal da probóscide, apresentando bordas elevadas com superfície lisa e poros mediais (Figuras 15 e 18); também foi observado um colar robusto apresentando superfície irregular e festonada (Figuras 14 e 15). Além disto, foi observada presença de farpas (“barbs”) nos ganchos distais na probóscide que emergem de

um tegumento acolchoado (Figuras 16 e 17). Na extremidade posterior das fêmeas há um vestíbulo vulvar liso com bordas proeminentes (Figura 19), enquanto os machos possuem vestíbulo reprodutivo fechado pela retração da bolsa copuladora (Figuras 20 e 21).

Esperava-se utilizar espécimes de *Prosthenorchis* sp. (Lima et al., 2009) e *Prosthenorchis elegans* (Machado Filho, 1950) pertencentes a a coleção do Instituto Oswaldo Cruz para comparação com *Prosthenorchis* sp. do presente estudo, mas infelizmente aqueles espécimes não estavam em boas condições.

Adicionalmente, a análise molecular foi realizada com espécimes coletados, uma vez que não há registros do gênero e nem de espécies pertencente a este gênero no GeneBank. Neste contexto, o ADN do espécime obtido foi submetido ao sequenciamento molecular e depositado no GeneBank obtendo o número de registro grp4114978.

Sumário Taxonômico

Hospedeiro: Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766.

Localidade: Fazenda Nhumirim (18°59'S, 56°39'W), Mato Grosso do Sul, Brasil.

Material: Holótipo: 1 macho (CHIOC: 35804a); Alótipo: 1 fêmea (CHIOC: 35804b); Parátipo 5 fêmeas e 6 machos (CHIOC 35804c).

3.3 Discussão

O gênero *Prosthenorchis* foi criado por Travassos (1915) com a espécie tipo *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851) Schmidt, 1972 (sin. *Echinorhynchus elegans*) proveniente de *Callithrix chrysoleuca* Wagner, 1842 (Machado Filho, 1950). Segundo Stunkard (1965), o gênero *Prosthenorchis* foi incluído na nova subfamília, Prosthenorchinae Travassos, 1917 com mais duas outras espécies: *P. luhei* Travassos, 1916, parasito do carnívoro procionídeo *Nasua nasua*, e *P. avicola* Travassos, 1917, parasito da ave *Nettion brasiliense*. Desde então, foram sugeridas novas espécies bem como diversas alterações envolvendo o gênero *Prosternorchis*.

Em 1950, Machado Filho revisou as espécies descritas por Travassos e descreveu treze novas espécies que parasitavam primatas, carnívoros, aves e lagartos de diferentes regiões geográficas do mundo. Yamaguti (1963) revisou a classificação da família Oligacanthorhynchidae, estabelecendo as características principais para o gênero *Prosthenorchis* e enfatizando também a distribuição geográfica das espécies como importante fator para a definição das espécies.

Posteriormente, Schmidt (1972) revisou a classe Archiacanthocephala, focando na família Oligacanthorhynchidae e enfatizando a importância da revisão desta família devido às vagas descrições e incorretas interpretações sobre a morfologia das espécies deste grupo. Recentemente, Golvan (1994) revisou a nomenclatura do Filo Acanthocephala e considerou a distribuição geográfica como critério taxonômico para o grupo, tal como foi enfatizado por Yamaguti (1963). Desde então, vinte e nove espécies já foram incluídas e descritas no gênero *Prosthenorchis* no mundo, das quais vinte e uma espécies ocorrem na América do Sul, sendo que cinco espécies de *Prosthenorchis* foram descritas em hospedeiros da ordem Carnivora: *P. luehei*, *P. pintoii*, *P. procyonis*, *P. potosi* e *P. gethi* (Machado Filho, 1950; Golvan 1994).

Recentemente, Amin e colaboradores (2008) relatam o novo gênero *Paraprosthenorchis* pertencente a família dos Oligacanthorhynchidae. Os gêneros *Prosthenorchis* e *Paraprosthenorchis* são considerados relacionados porque ambos são os únicos da família nos quais as espécies possuem um colar robusto e festonado. Entretanto, atualmente somente três espécies são consideradas de fato pertencentes ao gênero *Prosthenorchis* por possuírem o colar: *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851) Travassos, 1915, *Prosthenorchis lemuri* Machado, 1950 e *Prosthenorchis fraterna* (Baer, 1959) Schmidt, 1972. Já as outras espécies até então descritas e que tinham sido consideradas como pertencentes ao gênero, na verdade não possuem colar e por isso têm sido realocadas para outros gêneros da família Oligacanthorhynchidae (Schmidt, 1972; Golvan, 1994; Amin et al., 2008).

Os dois gêneros que possuem o colar, *Prosthenorchis* e *Paraprosthenorchis* possuem características que os diferenciam. Por exemplo, as espécies do gênero *Paraprosthenorchis* não apresentam probóscide ornamentada, 12 séries de 3 ganchos cada, ganchos com farpas, ganchos com raiz complexa e longa, colar com até 23 festões ou gonoporo subterminal (Amin et al., 2008). Características adicionais encontradas na espécie aqui descrita, tais como número de série e tipos de ganchos, número de festões no colar e tamanho do corpo não são observados no gênero *Paraprosthenorchis*, o que justifica a inclusão da espécie descrita neste trabalho no gênero *Prosthenorchis*.

As principais características que distinguem *Prosthenorchis* sp. do presente estudo de *P. elegans*, *P. fraterna* e *P. lemuri* são o tamanho do corpo, posição do leminisco, números de festões no colar, tamanho dos ovos, o hospedeiro e

distribuição geográfica (Tabela 2). Entretanto, os leminiscos da espécie aqui descrita e *P. fraterna* possuem mesma localização no corpo, pois podem alcançar a extremidade posterior. Particularmente, *Prosthenorchis* sp. do presente estudo distingue de *P. elegans* e *P. lemuri* por obter tamanho do corpo pequeno e longo leminisco que alcança a extremidade posterior do corpo. Já o tamanho do ovo se apresenta maior do que os das outras espécies já descritas para o gênero *Prosthenorchis*. Em relação a região geográfica, *Prosthenorchis* sp. do estudo pode ser relacionado ao *P. elegans* por ambos ocorrerem na mesma região no Brasil - diferentes das demais espécies comparadas que ocorrem na África.

Outras espécies do gênero *Prosthenorchis* já foram relatadas em outros carnívoros no Brasil como *P. luehei* Machado Filho, 1950 em *Nasua* sp., *P. pintoii* Machado Filho, 1950 em *Conepatus suffocans*, *P. procyonis* Machado Filho, 1950 em *Procyon cancrivorous*, *P. potosi* Machado Filho, 1950 em *Potos flavus*, *P. gethi* Machado Filho, 1950 em *Tayra barbara*; porém estas espécies não possuem colar festonado (Golvan, 1994; Amin, 2008). Em cachorro-do-mato só havia até então o relato de um espécime do gênero *Prosthenorchis*, mas sem identificação ao nível de espécie (Lima et al., 2009 no Estado da Paraíba). Espécies de outro gênero da família Oligacanthorhynchidae, tais como *Oncicola canis* (Griese et. al, 2007 em Botucatu, São Paulo) e *Oncicola* sp. (Vieira et al., 2008 em Espírito Santo e Mato Grosso do Sul) já foram descritas para este hospedeiro (Tabela 1), mas as espécies descritas do gênero *Oncicola* não possuem colar, não apresentam farpas nos ganchos, os leminiscos são curtos e os testículos não são elipsóides, o que descarta a possibilidade da espécie nova aqui descrita pertencer ao gênero *Oncicola*.

Concluindo, a espécie *Prosthenorchis* sp. descrita no presente estudo possui características morfológicas que se enquadram no gênero *Prosthenorchis* e excluem a possibilidade desta espécie pertencer a qualquer outro gênero dentro da família Oligacanthorhynchidae. Ao mesmo tempo, algumas características descritas (Tabela 2) são únicas, caracterizando assim uma espécie nova. É importante ressaltar ainda que detalhes morfológicos desta espécie tais como, as farpas nos ganchos, papilas e colar foram observadas através da microscopia eletrônica de varredura e essas características até o momento não tinham sido descritas em detalhe para nenhuma espécie do gênero *Prosthenorchis*. Com isso, é notável a importância e necessidade de descrever adequadamente as espécies com auxílio da microscopia e biologia molecular, pois a descrição de diversos helmintos são falhas

ou incompletas, evidenciando a ausência de características importantes para identificação correta das espécies. Ainda, não há dados no GeneBank para muitas espécies, dados esses que são fundamentais para auxiliar futuramente os pesquisadores nas identificação destes helmintos.

3.5 Conclusão

- Identificou-se uma espécie de Acanthocephala, *Prosthenorchis* sp. que pode ser considerada uma nova espécie devido as suas características únicas.

3.5 Referências Bibliográficas

- Amato, J. F. R. 1985. Platelmintos (Temnocefálicos, Trematódeos, Cestóides e Acanthocéfalos) In: Manual de Técnicas para a preparação de Coleções Zoológicas. Sociedade Brasileira de Zoologia, São Paulo, Brazil, p.1-11.
- Amin, O. M. 1985. Classification. In Biology of the Acanthocephala, D.W.T. Crompton and B.B. Nickol (eds.). Cambridge University Press, London, U.K., p. 27-72.
- Amin, O. M. 1987. Key to the families and subfamilies of Acanthocephala with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). Journal of Parasitology 73:1216–1219.
- Amin, O. M., Van Ha, N., Heckmann, R. A. 2008. New and already known acanthocephalans mostly from mammals in Vietnam, with descriptions of two new genera and species in Archiacanthocephala. Journal of Parasitology 94: 194-201.
- Bullock, W. L. 1969. Morphological features as tools and pitfalls in acanthocephalan systematics. In: Schmidt G.D., editor. Problems in systematic of parasites. Maryland, Baltimore: University Park Press p. 9-43.
- Bush, A. O., Fernández, J. C., Esch, G. W., Seed, J. R. 2001. Parasitism: The diversity and ecology of animals parasites. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., p. 106-210.
- Chandler, A. C. 1953. An outbreak of *Prosthenorchis* (Acanthocephala) infection in primates in the Houston Zoological Garden, and a report on this parasite in *Nasua narica* in Mexico. Journal of Parasitology 39: 226.
- Crompton, D. W. T., Nickol, B. B. 1985. Biology of the Acanthocephala. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. p. xx.

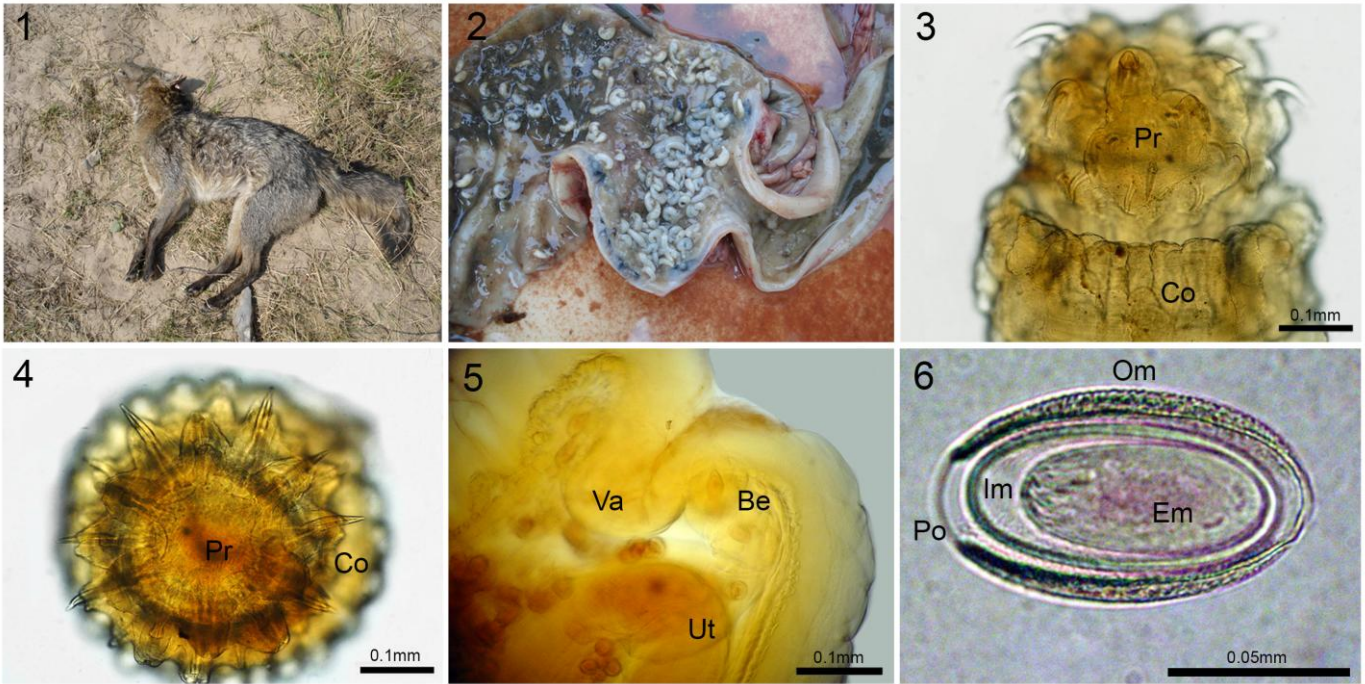
- Dunn, F. L. 1963. Acanthocephalans and Cestodes of South America Monkeys and Marmosets. *Journal of Parasitology* 49: 717-722.
- Eiras, J. C., Takemoto, R. M., Pavanelli, G. C. 2000. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. (1st.ed.), EDUEM, Maringá, Paraná, Brazil, p. xx.
- Garey, R. J., Near T. J., Nonnemacher M. R., Nadler S. A. 1996. Molecular evidence for Acanthocephala as a subtaxon of Rotifera. *Journal of Molecular Evolution* 43: 287–292;
- Griese, J. 2007. Helminthofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de Botucatu, São Paulo. M.S. Thesis. Programa Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo-UNESP, São Paulo.
- Golvan, Y. J. 1994. Nomenclature of the Acanthocephala. *Research and Reviews in Parasitology* 54: 134-205.
- Haustein, T., Lawes, M., Harris, E., Chiodini, P. L. 2010. An Eye-catching acanthocephalan. *Research notes of Clinical Microbiology and Infection* 16: 787-788;
- Kennedy, C. R. 2006. *Ecology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press New York, p. 1–240.
- Lima, A. C. R. 2009. Helminthos Gastrointestinais de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) Smith, 1839 provenientes da área de caatinga do estado da Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo–UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo.
- Machado Filho, D. A. 1950. Revisão do gênero *Prosthenorchis* Travassos, 1915 (Acanthocephala). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 48: 495-544.
- Machado Filho, D. A. 1964. Sobre o gênero “*Oligacanthorhynchus*” Travassos, 1915 (Archiancanthocephala, Oligacanthorhynchidae). *Revista Brasileira de Biologia* 24: 151-162.
- Müller, B., Mätz-Rensing, K., Pérez Yamacita, J. G., Heymann, E. W. 2010. Pathological and parasitological findings in a wild red titi monkey, *Callicebus cupreus* (Pitheciidae, Platyrrhini). *European Journal of Wildlife Research* 56: 601–604.
- Nicholas, W. L., 1967. The Biology of Acanthocephala. *Advances in Parasitology* 5: 204-246.
- Nickol, B. B. and Dunagan, T. T. 1989. Reconsideration of the Acanthocephalan genus *Echinopardalis*, with a description of adult *E. atrata* and key to genera of the

Oligacanthorhynchidae. Proceeding of the Helminthological Society of Washington 56: 8-13.

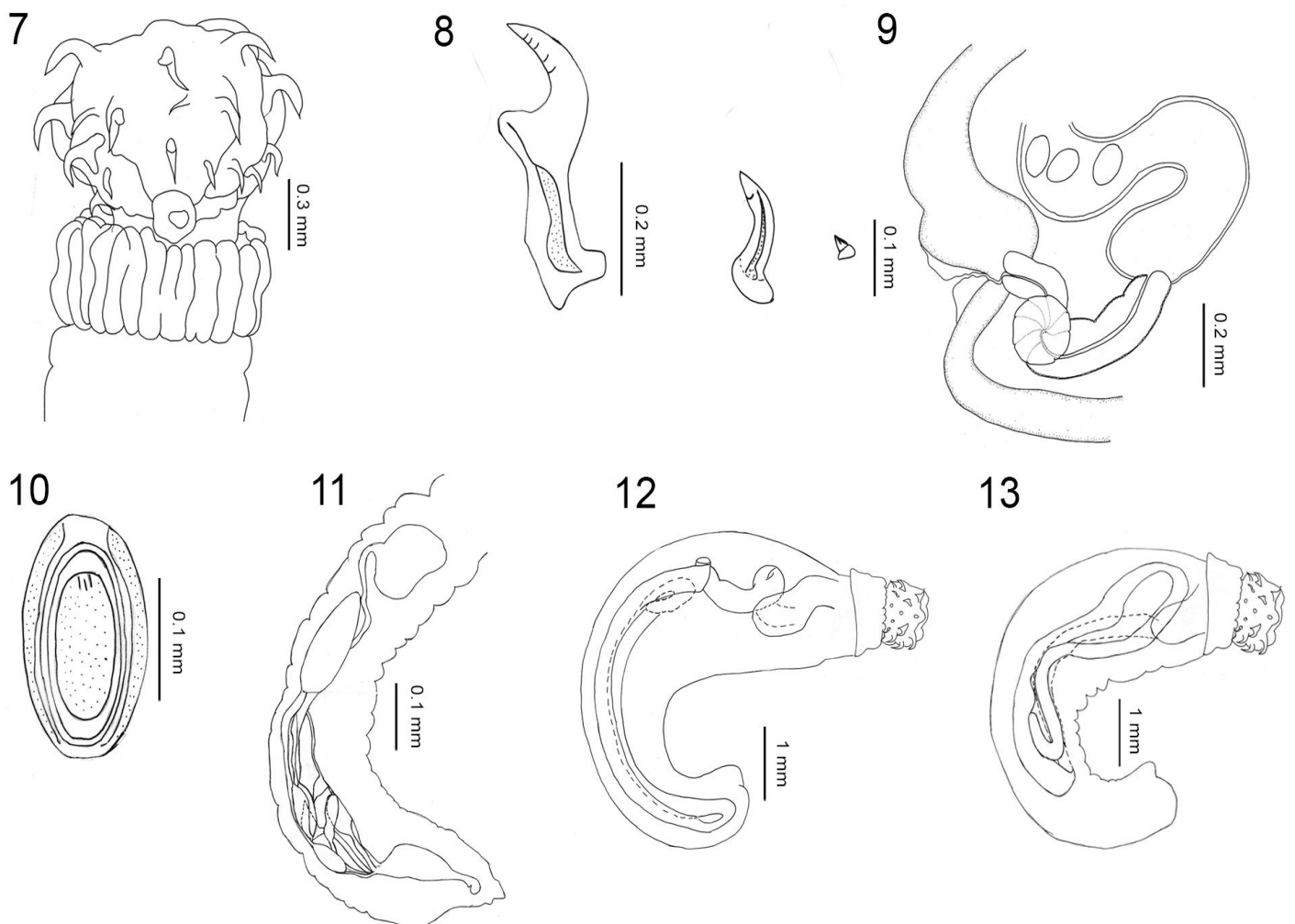
- Pentrochenko, V. I. 1958. Acanthocephala of domestic and wild animals. Russian Text. Vol 2, p. 458.
- Pissinatti, L., Pissinatti, A., Burity, C. H. F., Mattos Jr., D. G., Tortelly, R. 2007. Ocorrência de Acanthocephala em *Leontopithecus cativos* (Lesson, 1840): aspectos clínico-patológicos. Callitrichidae-Primates. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 59: 1473-1477.
- Read, C. P. 1974. Parasitismo Animal. São Paulo: Polígono, p. 223.
- Rodela, L. G. 2006. Unidades de Vegetação e Pastagens Nativas do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Ruas, J. L., Muller, G., Farias, N. A. R., Gallina, T., Lucas, A. S., Pappen, F. G., Sinkoc, A. L., Brum, J. G. W. 2008. Helmintos do cachorro do campo, *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) e do cachorro do mato, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária 17: 87-92.
- Schmidt, G. D. 1972. Revision of the class Archiacanthocephala Meyer, 1931 (Phylum Acanthocephala), with emphasis on Oliganthorhynchidae Southwell et Macfie, 1925. Journal of Parasitology 58: 290-297.
- Smales, L. R. 2007. Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala) from mammals from Paraguay with description of new species of *Neonicola*. Comparative Parasitology 74: 237-243.
- Smyth, J. D. 1994. Introduction to Animal Parasitology. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 3rd Edition.
- Southwell, T., Macfie, J. W. S. 1925. On a collection of Acanthocephala in the Liverpool School of Tropical Medicine. Annals of Tropical Medicine and Parasitology 19: 141-284.
- Stunkard, H. W. 1965. New intermediate host in the life cycle of *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851), an acanthocephalan parasite of primates. The Journal of Parasitology 51: 645-649.
- Travassos, L. 1917. Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira, XVII. Revisão dos acantocéfalos brasileiros. Parte I. Fam.

Gigantorhynchidae Hamann, 1982. Suplemento-Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 17: 5-62.

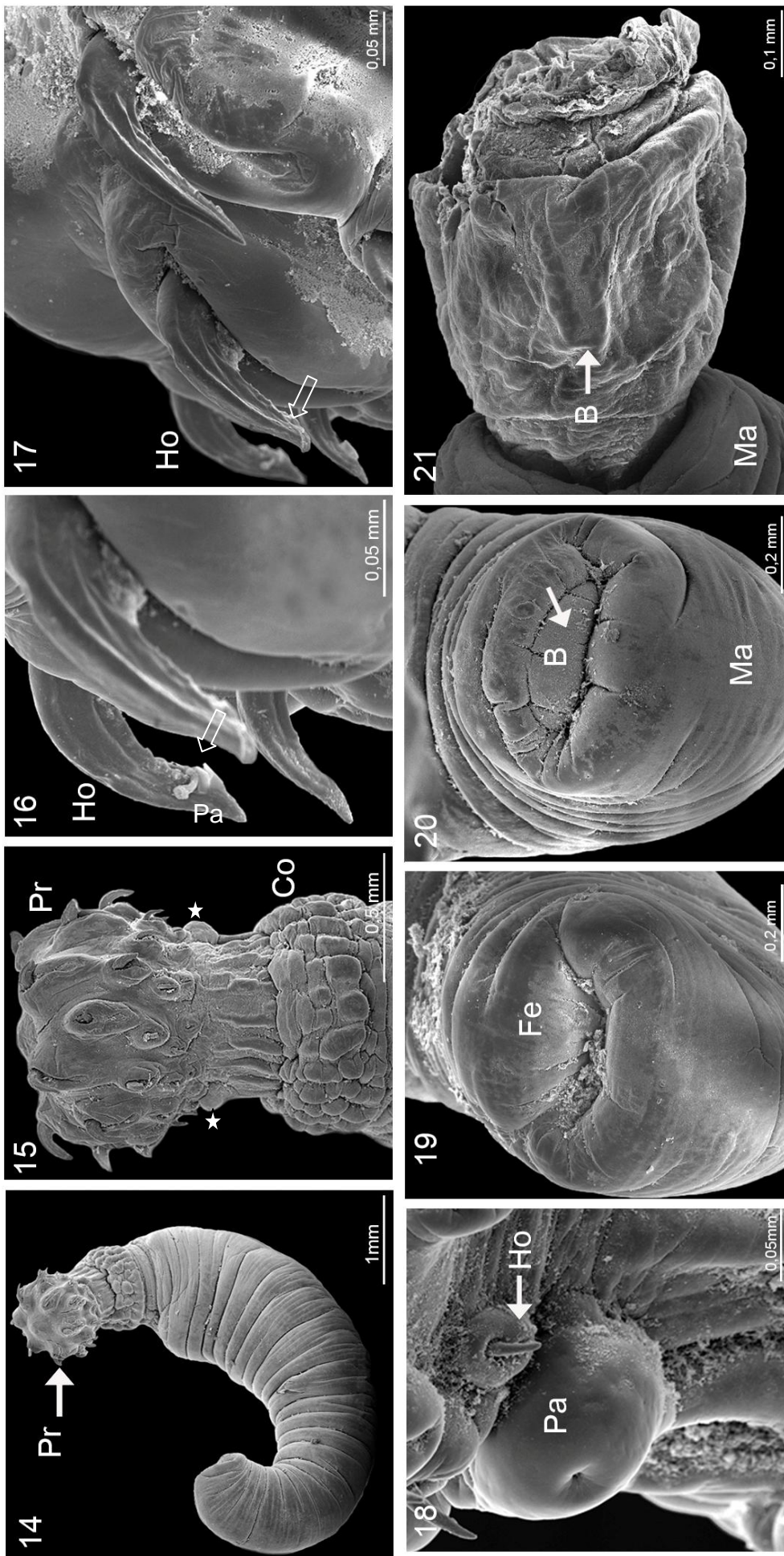
- Vieira, F. M., Luque, J. L., Muniz--Pereira, L. C. 2008. Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. Zootaxa 1721: 1–23.
- Yamaguti, S. 1963. Acanthocephala. In: Systema Helminthum, Vol. 5. Interscience Publications, John Wiley and Sons edit., New York – London, p. 423.



Figuras 1-2. (1) espécime fêmea de cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* encontrado morto na Fazenda Nhumirim, Pantanal do Mato Grosso do Sul; (2) intestino do cachorro-do-mato após necrópsia parasitado por espécimes de *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp.; **Figura 3-6.** Microscopia Óptica do *Prosthenorchis* sp. (3 e 4) Visão Lateral e apical da região anterior do macho apresentando proboscide globular com ganchos e colar, Pr- proboscide, Co- colar; (5) região posterior da fêmea . Abreviaturas: Va.- Vulva, Be- campainha e Ut- ovojetor; (6) ovo apresentando 3 membranas, Om- membrna externa, Im- membrana interna , Em-embrião.



Figuras 7-13. *Prosthenorchis* sp. (7) região anterior apresenta proboscide globular armada com ganchos e papila em cada lado na base da proboscide, pescoço com colar robusto; (8) três tipos de ganchos, 1° gancho com raiz dupla e com formato de “T” e 2° e 3° com raiz reduzida com formato de disco; (9) região posterior do corpo da fêmea apresentando campainha, ovojetor e vagina sub-terminal; (10) ovo com 3 membranas e embrião; (11) corpo do macho com testículo elipsóides anterior e posterior, seguido por um conjunto de 8 glândulas de cimento; (12 e 13) leminisco longo e dobrado alcançando a parte posterior do corpo.



Figuras 14-21. Morfologia externa do *Prosthenorchis* sp. por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). (14) visão lateral do corpo da fêmea com sulcos longitudinais; (15) proboscide armada de ganchos (Pr), apresentando pescoço com duas papilas (Pa) em cada lado (*estrela*) e colar festonado (Co); (16 e 17) ganchos (Ho) apresentando pontas com farpas (seta vazia); (18) papila (Pa) na base da probóscide, próxima ao gancho basal (Ho, seta branca) e mostrando borda elevada, superfície lisa e um poro mediano; (19) visão ventral da região posterior do corpo da fêmea (Fe); (20) região posterior do corpo do macho (Ma) com vestibulo retraído; (21) região posterior do macho apresentando bolsa evaginada (B, seta branca). Abreviaturas: Pr-Proboscide, Pa-Papila, Co-Colar, Ho- Ganchos, Fe-Fêmea, Ma-Macho, B-Bolsa copuladora.

Tabela II – Dados Morfométricos para comparação de 5 espécies do gênero *Prosthenorchis* (medidas em milímetros).

Características	<i>P. elegans</i> (Diesing, 1851) Travassos, 1915	<i>P. elegans</i> Machado, 1950	<i>P. lemuri</i> Machado, 1950	<i>P. fraterna</i> Baer & Gerber, 1958	<i>Prosthenorchis</i> sp. (presente estudo) n= 11
Corpo					
comprimento	15-20 *	25-50 *	45 *	12-15 *	7.67-8.53
largura	2.0-4.0 *	1.5-4.0 *	3.0 *	1.6 *	1.59-1.61
Probóscide					
comprimento	0.5 *	0.89 *	-	-	0.87-0.90
Largura	0.6 *	0.91 *	-	0.58 *	0.86-0.95
Festões					
	-	40 *	20-25*	-	24
Ganchos					
Tipo I	0.224 *	0.640 *	-	0.238 *	0.33
Tipo II	0.167 *	0.560 *	-	0.102 *	0.15
Tipo III	0.120 *	0.460 *	-	0.060 *	0.81
Raiz dos ganchos					
Tipo I	0.150*	0.131*	-	-	0.18
Tipo II	0.116*	-	-	-	0.49
Tipo III	-	-	-	-	-
Leminisco					
Posição do leminisco em relação ao corpo	Região anterior	Região anterior	Região mediana	Próximo à extremidade posterior	Próximo à extremidade posterior
Testículo anterior					
comprimento	3.0-5.0 *	0.23 *	-	1.2-1.3 *	0.94
Largura	1.5-1.8 *	0.10 *	-	0.49 *	0.39
Testículo Posterior					
comprimento		0.16 *	-		0.78*
Largura		0.87 *	-		0.44*
Glândula de Cemento					
comprimento	3.0-4.0 *	0.39 *	-	-	1.09
largura	1.8-2.0 *	0.34 *	-	-	-
Ovojetor					
	-	2.49 *	-	1.65-1.77*	8.95
Ovos					
comprimento	0.78*	0.63-0.77*	0.60*	0.45-0.47 *	0.87
Largura	0.42-0.46*	0.42*	0.42*	0.26-0.28 *	0.49
Hospedeiro definitivo (vertebrado)					
	<i>Saimiri sciurea</i>	<i>Mystax ursulus</i> , <i>Challithrix chrysoleu</i>	<i>Lemur fulvus</i>	<i>Panthera pardus</i>	<i>Cerdocyon thous</i>
Distribuição Geográfica					
	Brasil/Panamá (América do Sul/América Central)	Brasil/Panamá (América do Sul/América Central)	Madagascar (África)	Epulu, Congo (África)	Brasil (América do Sul)

– Medidas não informadas pelo autor

* Medidas obtidas através da descrição das espécies em manuscritos publicados pelos autores citados.

Journal of Parasitology

A NEW ACANTHOCEPHALAN SPECIES (ARCHIACANTHOCEPHALA: OLIGACANTHORHYNCHIDAE) FROM CERDOCYON THOUS, A CRAB-EATING FOX IN THE BRAZILIAN PANTANAL WETLANDS

—Manuscript Draft—

Manuscript Number	
Full Title	A NEW ACANTHOCEPHALAN SPECIES (ARCHIACANTHOCEPHALA: OLIGACANTHORHYNCHIDAE) FROM CERDOCYON THOUS, A CRAB-EATING FOX IN THE BRAZILIAN PANTANAL WETLANDS
Brief Title	A NEW ACANTHOCEPHALAN SPECIES FROM CERDOCYON THOUS IN BRAZIL
Article Type	Regular Article
Corresponding Author	Arnaldo Maldonado Jr Instituto Oswaldo Cruz Rio de Janeiro, Rio de Janeiro BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information	
Corresponding Author's Institution	Instituto Oswaldo Cruz
Corresponding Author's Secondary Institution	
First Author	Ara Paula Nascimento Gomes, Master
First Author Secondary Information	
Order of Authors	Ara Paula Nascimento Gomes, Master Natália Olfers, PhD Joyce Gonçalves Souza, Master Helene Souza Barbosa, PhD Paulo Sérgio D'Andrea, PhD Arnaldo Maldonado Jr
Order of Authors Secondary Information	
Abstract	<p>A new species of Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala) <i>Proathenoclis cerdocyonis</i> sp. n. is described from 17 specimens collected from the small intestine of the crab-eating fox <i>Cerdocyon thous</i> Linnaeus, 1760 (Canidae: Caniformes) found in the Brazilian Pantanal Wetlands. The new species were analyzed by light and scanning electron microscopy. Taxonomic characteristics that distinguishing the new species from others already described were presented, such as size of the body, the position of haptor, size of the eggs, host and geographical distribution. Therefore, details of the body surface obtained by scanning electron microscopy, such as the presence of two lateral papillae in the proximal region of the proboscis, the presence of barbs in hooks and a robust and festooned setae, helped to identify the species. Until now, specimens of the genus <i>Proathenoclis</i> were reported to parasitize <i>Cerdocyon thous</i> but had not been identified. Furthermore, the new species is the first to be recorded in <i>C. thous</i> found in the Pantanal Wetlands.</p>

1 *Swelling head*: GOMES ET AL. - NEW ACANTHOCEPHALAN FROM BRAZIL.
2 A NEW ACANTHOCEPHALAN SPECIES (ARCHIACANTHOCEPHALA:
3 OLIGACANTHORHYNCHIDAE) FROM CERDOCTON THOUS, A CRAB-
4 EATING FOX IN THE BRAZILIAN PANTANAL WETLANDS

5 Ana Paula N. Gomes, Natalie Oefflers[§], Joyce G. R. Souza[†], Helene S. Barbosa[‡],
6 Paulo S. D'Andreu[‡], Arnaldo Maldonado Jr.^{§1}.

7

8 Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto
9 Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365 Mangueiras, Rio de
10 Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil. e-mail: maldonad@ioc.fiocruz.br

11

12 ABSTRACT: A new species of Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala)
13 *Phoxthamochis cardioxyops* sp. n. is described from 17 specimens collected from the
14 small intestine of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnidae:
15 Carnivora) found in the Brazilian Pantanal Wetlands. The new species were analyzed by
16 light and scanning electron microscopy. Characteristic features distinguishing the new

[†]Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto
Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365 Mangueiras, Rio de
Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil

[‡]Laboratório de Helminologia Romero Lucas Porto, Departamento de Microbiologia,
Imunologia e Parasitologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Avenida
Professor Manoel de Abreu, 444/ 5º andar, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ, CEP 20511-
070, Brazil.

[§]Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz,
Avenida Brasil, 4365, Mangueiras, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil.

^{§1}Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto
Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365 Mangueiras, Rio de
Janeiro, RJ, CEP 21045-900, Brazil

|| To whom correspondence should be addressed

Arnaldo Maldonado Júnior has a fellowship from the National Council for Scientific
and Technological Development (CNPq)

17 species from others already described were presented, such as size of the body, the
18 position of lemnisci, size of the eggs, host and geographical distribution. Therefore,
19 details of the body surface obtained by scanning electron microscopy, such as the
20 presence of two lateral papillae in the proximal region of the proboscis, the presence of
21 barbs in hooks and a robust and festooned collar, helped to identify the species. Until
22 now, specimens of the genus *Prosthosorchis* were reported to parasitize *Caracacus*
23 *shoua* but had not been identified. Furthermore, the new species is the first to be
24 recorded in *C. shoua* found in the Pantanal Wetlands.

25

26 Introduction

27 The subfamily Prosthosorchinae Yamaguti (1963), (Oligacanthorhynchidae)
28 includes 6 genera: *Prosthosorchis* Travassos, 1915, *Gastocola* Travassos, 1916,
29 *Travassosia* Meyer, 1932, *Hansmannella* Travassos, 1915, *Echtoparadella* Travassos,
30 1918 and *Paraprosthosorchis* Amin, Nguyen and Heckmann, 2008. Species of the
31 genus *Prosthosorchis* have been reported around the world (Schmidt, 1972; Amin,
32 Nguyen and Heckmann, 2008): *Prosthosorchis atagau* (Diesing, 1851) Travassos 1915
33 infecting primates in South America; *Prosthosorchis leuasi* Machado, 1950 from
34 lemmings in Madagascar, and *Prosthosorchis pharosa* (Baer, 1959) Schmidt, 1972 from
35 Felidae *Panthera pardus* in Africa.

36 The crab-eating fox, *Caracacus shoua*, is a wild canid that inhabits savannas and
37 woodlands in South America (Silveira, 1999; Courtonay and Maffei, 2004). *C. shoua*
38 has been the subject of a research program conducted by Embrapa/Pantanal Institute and
39 Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ-RJ) studying the ecology and health of wild
40 Carnivora in the Brazilian Pantanal Wetlands. This research program also includes the
41 study of helminthes parasites and specimens of helminthes were made available to
42 parasitology researchers at Fiocruz by Embrapa/Pantanal researchers. Although
43 specimens of acanthocephalans have been reported parasitizing *C. shoua* in Brazil

44 (Oriense et al., 2007; Russ et al., 2008; Vieira et al., 2008; Lima et al., 2009), the species
45 of genus *Prosthomonochis* had not been previously identified.

46 In this report, we describe a new species of the genus *Prosthomonochis* included
47 in the family Oligacanthorhynchidae that was collected from the wall of the small
48 intestine of crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) from the Pantanal Wetlands, Mato
49 Grosso do Sul State, Brazil.

50

51 MATERIALS AND METHODS

52 Two adult crab-eating female foxes (*Cerdocyon thous*) were found dead in 2007 on
53 Nharmirim Ranch (18°59'S, 56°39'W), located in the Nhecolândia sub-region of the
54 Pantanal in Brazil. The animals were necropsied, and specimens of acanthocephalan
55 were collected from their small intestines. The study area is characterized by sandy soil
56 with mosaic vegetation of semi-deciduous forest with open grassy areas (Rodola, 2006).
57 Animal procedures were approved by the Brazilian Federal Environmental Agency
58 (IBAMA, first license #183/2005 – CCFAU/LJC; last license #11772-2).

59 The small intestine was opened, and specimens of Acanthocephala were
60 collected, washed in physiologic solution (0.99% NaCl) and stored in 70% alcohol. At
61 the laboratory, the specimens were cleared in 90% phenol to study the hooks of the
62 proboscides. To describe the internal structures, the specimens were stained with
63 chloridric carmine, destained in chloridric alcohol, dehydrated in a graded alcohol series,
64 cleared in methylsalicylate and whole-mounted in Canada balsam (modified from
65 Amato, 1985). Identification of the genus followed the key of Schmidt (1972). The
66 description of *Prosthomonochis cerdocyoni* n. sp. is based on 17 specimens (7 males and
67 10 females). Measurements are in millimeters unless otherwise stated. The range is
68 followed by the mean (in parentheses). Specimens of *Prosthomonochis* sp. (CHOC 17840

69 *n-l*, 10123, Lima, 2009) and *Prosthemonorchis elegans* (CHIOC 417, 418, 419, 421, 441,
70 442, 998, 7661, 8864, 10122, 16147, Machado Filho, 1950) deposited in the Helminth
71 Collection of the Oswaldo Cruz Institute were used for comparison.

72 Ultrastructural surface morphology was described for adult female and male
73 specimens using scanning electron microscopy (SEM). Specimens were fixed for 1 h at
74 room temperature with 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M Na-cacodylate buffer. After being
75 washed in the same buffer, specimens were post-fixed for 3 h at room temperature in
76 1% osmium tetroxide in 0.1 M Na cacodylate buffer. Then, the material was dehydrated
77 in an ascending acetone series, dried by the critical point method with CO₂, mounted
78 with silver collotape on aluminum stubs and sputter-coated with a 20 nm-thick layer of
79 gold. Samples were examined using a Jeol JSM-6390 LV microscope at an accelerating
80 voltage of 15 kV at the Electron Microscopy Platform of Oswaldo Cruz Institute.

81 Type-species of *Prosthemonorchis cardocyonis* n. sp. were deposited in the
82 Helminth Collection of the Oswaldo Cruz Institute (Coleção Helminológica do
83 Instituto Oswaldo Cruz-CHIOC), Rio de Janeiro, Brazil, under numbers 35804a,
84 35804b and 35804c.

85

86 DESCRIPTION

87 *Oligacanthorhynchidae* Southwell & MacFie, 1925.

88 *Prosthemonorchis* Travassos, 1915.

89 *Prosthemonorchis cardocyonis* n. sp.

90 (Figs. 1-21)

91 *General*: Seventeen specimens of Acanthocephala (7 males and 10 females)
92 were collected from the intestinal wall of two crab-eating foxes (Figs. 1, 2). Male and
93 female specimens have a globular proboscis armed with 36 hooks (12 rows of 3 hooks);

94 one papillae on each side at the base of proboscis, a neck surrounded by a festooned and
95 robust collar (Figs. 3, 4, 7); a cylindrical body that is curved ventrally, thick and
96 furrowed, not transparent and showing marked wrinkles transversely, and long
97 lemnisci, sometimes bent on themselves and usually reaching the posterior region of
98 the body (Figs. 12, 13). Males have ellipsoidal testicles in the anterior and midregion of
99 the trunk, with eight cement glands aggregated after the testicles (Fig. 11), while
100 females have an elongated uterine bell with furrowed edges, a large sphincter next to the
101 vagina and a subterminal gonopore at the posterior end (Figs. 5, 9). The eggs have a
102 thick membrane and salient poles (Figs. 6, 10).

103 The proboscis armature consists of 12 spiral rows showing 3 different morphologies
104 varying from robust hooks at the top to short hooks at the bottom (Fig. 8). The hooks
105 are similar in size in both sexes. The first type of hook is posteriorly curved, presenting
106 a complex manubria and root immersed in the matrix of the proboscis and expanded
107 laterally in a T-shape. The top of the hook has chisel-shaped barbs (Figs. 8, 16, 17).
108 However, the second and third types of hooks in proximal rows have small, discoid
109 roots (Fig. 8). The lengths of the anterior hooks, measured from tip to posterior end,
110 were 0.41-0.22 (0.32), 0.27-0.08 (0.15), the lengths of the hook roots measured 0.28-
111 0.11 (0.18), 0.06-0.03 (0.05), and the posterior hooks measured 0.11-0.05 (0.08) with
112 simple roots.

113 *Male holotype and six paratypes:* Total body size is 9.60-6.8(8.53) long and
114 1.97-1.26 (1.58) wide. Globular proboscides are 1.1-0.56 (0.9) long and 0.98-0.72
115 (0.86) wide, circumvented with 36 hooks (Figs. 7, 8). The robust collar is 1.26-0.68
116 (0.84) long and 0.98-0.82 (0.88) wide, showing approximately 24 festoons (Figs. 3, 7).
117 The neck is short with longitudinal plicata (Fig. 15). The two testicles are ellipsoid and
118 located in the anterior region. The anterior testis measures 1.0-0.87 (0.94) long and

119 0.49-0.29 (0.39) wide, and the posterior testis is 0.9-0.65 (0.78) long and 0.45-0.41
120 (0.44) wide ($n=2$). Behind the two testicles, there are eight ellipsoid and aggregated
121 cement glands (Fig. 11). The group of cement glands is 1.23-0.96 (1.09) ($n=2$) long.
122 The ejaculatory channel is 1.21-0.88 (1.05) ($n=2$). The bursa, which is located at the end
123 of the body, is 0.96 long ($n=1$) (Fig. 21). Long lemnisci extend to the posterior testis
124 and reach the end of the body (Figs. 12, 13).

125 *Female allotype and nine paratypes:* Body size is 12.18-5.34 (7.67) long and
126 2.08-1.4 (1.71) wide. The proboscis is globular and rounded with 12 spiral rows of 3
127 hooks and measures 1.0-0.68 (0.87) long and 1.04-0.78 (0.95) wide (Figs. 7, 8). The
128 collar morphology is similar to that of males, and the size is 1.16-0.34 (0.74) long and
129 1.18-0.72 (0.97) wide. The female lemnisci are also similar to those of males long and
130 extending to the posterior region of the body (Figs. 12, 13). In most of the specimens,
131 the lemnisci were covered by eggs. The uterine bell measures 1.11-0.75 (0.90) ($n=3$;
132 Fig. 9). The eggs ($n=22$) are ellipsoid, measure 0.1-0.054 (0.059) long and 0.07-0.03
133 (0.05) wide, and have three membranes. The outer membrane is thick and granular with
134 hyaline poles, the inner membrane is thin, and the membrane that covers the embryo is
135 thin and transparent (Figs. 6, 10).

136 In addition, we also observed in detail by SEM the presence of two lateral
137 papillae in the proximal region of the proboscis, which present an elevated border with a
138 smooth surface and a medial pore (Figs. 15, 18). The robust collar has an irregular and
139 festooned surface (Fig. 14, 15). There are barbs on the anterior hooks, and the hooks
140 emerge from the tegument padded-pocket (Figs. 16, 17). The posterior ends of the
141 females have a valvar vestibule that is smooth with prominent edges (Fig. 19), while the
142 male specimens have the reproductive vestibule closed by a retracted copulatory bursa
143 (Figs. 20, 21).

144 *Taxonomic summary*

145 *Type host:* *Cardobyan olivae* Linnaeus, 1766 (Crab-eating fox).

146 *Type - locality:* Nhamirim Ranch (18°59'S, 56°39'W), Mato Grosso do Sul state, Brazil.

147 *Type material:* Holotype: 1 male (CIBOC: 35804a); Allotype: 1 female (CIBOC:
148 35804b); Paratype 5 female and 6 male (CIBOC: 35804c).

149 *Etymology:* – The new species is named according to the host genus in which the
150 *Acanthocephala* was collected.

151

152 **REMARKS**

153 The genus *Prosthenorchis* was created by Travassos (1915) as type-species
154 *Prosthenorchis elegans* (Dünning, 1851) (syn. *Echinoschysochus elegans*) from *Callithrix*
155 *chrysolaena* Wagner, 1842 (Schmidt, 1972). According to Stunkard (1965), the genus
156 *Prosthenorchis* was included in a new subfamily, *Prosthenorchinae* Travassos, 1917,
157 together with two other species: *P. lakei* Travassos, 1916, a parasite from the carnivore
158 *Nasua nasua*, and *P. arvicola* Travassos, 1917, a parasite from the bird *Newton*
159 *brasiliensis*.

160 In 1980, Machado Filho revised the species described by Travassos and
161 includes 13 new species parasitizing primates, carnivores, birds and lizards from
162 different geographic regions of the world. Yamaguti (1963) revised the classification of
163 the *Oligacanthorhynchidae*, establishing the main characteristic of the genus
164 *Prosthenorchis* and considering their geographical distribution.

165 Schmidt (1972) revised the class *Archiacanthocephala*, focusing on the
166 *Oligacanthorhynchidae* family and emphasizing the importance of reviewing the family
167 due to the vague description and incorrect interpretation of the morphology of the

168 species. Recently, Golvan (1994) revised the nomenclature of the phylum
169 Acanthocephala and considered the geographical distribution as a taxonomic criterion.
170 Recently, Amin (2008), following Schmidt (1972), considered that the genus
171 *Prosthenorhynchus* has 3 species based on morphological characteristics such as a festooned
172 collar, ornamented proboscides, 3 different types of hooks and tips of hooks with barbs.
173 The three representative species are *Prosthenorhynchus elegans* (Dixson, 1851) Travassos,
174 1915, *Prosthenorhynchus lessert* Machado, 1950 and *Prosthenorhynchus fraternus* (Baer, 1959)
175 Schmidt, 1972; other species previously belonging to the genus *Prosthenorhynchus*, which
176 had no collar, have been relocated to other genera from Oligacanthorhynchidae family
177 (Schmidt, 1972; Golvan, 1994; Amin et al., 2008).

178 In addition, Amin (2008) described a new genus, *Paraprosthenorhynchus*, in the
179 Oligacanthorhynchidae family. The genus *Paraprosthenorhynchus* and *Prosthenorhynchus* are
180 closely related because these genera are the only ones that have festooned collars in the
181 family. Otherwise, the genus *Paraprosthenorhynchus* has ornate proboscides, does not have
182 12 rows of 3 hooks, has hooks without barbs, does not have complex and large hook
183 roots, has collars with about 35 festoons and does not have subterminal gonopores
184 (Amin et al., 2008).

185 Characteristics found in the new species described in the present report,
186 including the number of hooks, number of festoons and size of the body, were not
187 observed in the genus *Paraprosthenorhynchus*, which justifies the inclusion of the new
188 species described here in the genus *Prosthenorhynchus*.

189 The main characteristics to distinguish *Prosthenorhynchus cardocystus* n. sp. from
190 *P. elegans*, *P. fraternus* and *P. lessert* are size of the body, position of the lemnisci,
191 number of festoons, size of the egg, host and geographical distribution (Table 1).

192 However, the lemnisci of *P. cardocystis* n. sp. and *P. fraterna* have the same position
193 on the body, which can reach the posterior end of the body.

194 Nevertheless, *Prosthonorchis cardocystis* n. sp. is distinguished from *P.*
195 *elegans* and *P. leuarti* by its small trunk and long lemnisci reaching the posterior end
196 and from *P. fraterna* and *P. leuarti* by the size of the egg which the egg of *P.*
197 *cardocystis* n. sp. is larger than that of other species (Table 1) and geographic
198 distribution since these species that occur in Africa.

199 Specimens of *Prosthonorchis* sp. (Lima, 2009) and *P. elegans* (Machado Filho, 1950)
200 used for comparison to *Prosthonorchis cardocystis* n. sp. from the Helminth Collection
201 of the Oswaldo Cruz Institute were not in good condition and we could only measure
202 the size of the body in *P. elegans*.

203 In addition, the features of *Prosthonorchis cardocystis* n. sp. were observed in greater
204 detail via scanning electron microscopy, and the morphologic characteristics such as
205 barbs on hooks, papillae and collar were described. However, these characteristics have
206 not previously been described by SEM in great detail for any other species of the
207 *Prosthonorchis* genus.

208 In the Pantanal biome, where the samples were collected from the crab-eating
209 fox in the present study, a significant portion of the crab-eating fox diet is composed of
210 arthropods (87%), especially Coleoptera (57%) (Hianchi, et al., 2013). This aspects
211 suggests that these arthropods may be the most likely intermediary host of
212 *Prosthonorchis cardocystis* n. sp. infection.

213 **ACKNOWLEDGMENTS**

214 We thank Rodrigo Mexas from the Image Production and Treatment Service of
215 Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ) for helping with image processing and final
216 production; the curator of the Helminthology Collection of FIOCRUZ, Dr. Marcelo

217 Knoff, for making available the specimens from the collection; and the staff of Embrapa
218 Pantanal for helping in the field and making the specimens of acanthocephalus
219 available. This study received financial support from CNPq, FUNDECIT, EMBRAPA-
220 MACRO, PAPIES IVIIOC-FIOCRUZ and CAPES.

221 LITERATURE CITED

- 222 Arnato, J. F. R. 1985. Platyelminthes (Trematocéfídeos, Trematódeos, Cestídeos e
223 Acanthocéfídeos) In: Manual de Técnicas para a preparação de Coleções Zoológicas.
224 Sociedade Brasileira de Zoologia, São Paulo, Brazil, p.1-11.
- 225 Aris, O. M. 1985. Classification. In Biology of the Acanthocephala, D.W.T. Crompton
226 and B.B. Nickol (eds.). Cambridge University Press, London, U.K., p.27-72.
- 227 Aris, O. M., Van Ha, N., Heckmann, R. A. 2008. New and already known
228 acanthocephalans mostly from mammals in Vietnam, with descriptions of two new
229 genera and species in Archiacanthocephala. *Journal of Parasitology* 94(1) 194-201.
- 230 Andrade de Silva, B. J., Freire, I. M. A., Da Silva, W. B., Do Amaral, E. E. V. G.
231 2010. Evaluation of haematological changes in parasitic helminthes and protozoa
232 infection in dogs (*Canis lupus familiaris*, Linnaeus, 1758). *Neotropical Helminthology*
233 4: 37-48.
- 234 Bianchi, R. C. 2009. Ecologia de mesocarnívoros em uma área do Pantanal Central,
235 Mato Grosso do Sul. PhD Thesis. Pós-Graduação em Ecologia e Conservação,
236 Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- UFMS, Mato Grosso do Sul.
- 237 Bianchi, R. C. 2013. Intraspecific, interspecific, and seasonal differences in the diet of
238 three mid-sized carnivores in a large neotropical wetland. *Acta Theriologica* (in press.);
- 239 Bolette, D. P. 2007. A new Oligacanthorhynchidae acanthocephalan described from the
240 great horned owl, *Bubo virginianus* (Strigidae), and red-tailed hawk, *Buteo*

- 241 *javatoensis* (Accipitridae), from central Arizona, USA. *Journal of Parasitology*. 93:
242 120-128.
- 243 Hissler, H. 1956. On a new Acanthocephala, *Echthocapalata lerosaei* n. sp., from jackal
244 (*Canis adustus*) in Central Africa. *Journal of Helminthology* 30: 41-50.
- 245 Hueno, A. A. and Motta-Júnior, J. C. 2004. Food habits of two syntopic canids, the
246 maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Canisycyon thous*), in
247 southeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 5-14.
- 248 Cerbo, A. R., Manfredi, M. T., Bregoli, M., Ferro Milone, N., Cova, M. 2008. Wild
249 carnivores as source of zoonotic helminths in north-eastern Italy. *Helminthologia* 45:
250 13-19.
- 251 Chandler, A. C. 1953. An outbreak of *Prosthomonchis* (Acanthocephala) infection in
252 primates in the Houston Zoological Garden, and a report on this parasite in *Nanus
253 surica* in Mexico. *Journal of Parasitology*. 39: 226.
- 254 Courtenay, O., Muffei, L. 2004. Crab-eating fox *Canisycyon thous*, (Linnaeus, 1766). In:
255 Sillero-Zubiri, C., Hoffmann, M.; Macdonald, D.W. (Eds.). *Canids: Foxes, Wolves,
256 Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan*. Cambridge, U.K.,
257 IUCN/SSC, p. 32-38.
- 258 Crompton, D. W. T., Nickol, B. B. 1985. *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge
259 University Press, Cambridge, U.K. xx p.
- 260 Dunn, F. L. 1963. Acanthocephalans and Cestodes of South America Monkeys and
261 Marmosets. *Journal of Parasitology* 49: 713-722.
- 262 Eiras, J. C., Takemoto, R. M., Proenzelli, O. C. 2000. *Métodos de estudo e técnicas
263 laboratoriais em parasitologia de peixes*. (1st.ed.), EDUEM, Maringá, Paraná, Brazil, x
264 p.

- 263 Facure, K. G. and Monteiro-Filho, E. L. A. 1996. Feeding habits of the crab-eating
264 foxes, *Caracacus showi* in a suburban area of southeastern Brazil. *Mammalia*. 60: 147-
265 149.
- 268 Facure, K. G.; Giaretta, A. A.; Monteiro-Filho, E. L. A. 2003. Food habits of the
269 crab-eating fox, *Caracacus showi*, in an altitudinal forest of the Mantiqueira Range,
270 southeastern Brazil. *Mammalia*. 67: 503-511.
- 271 Fuller, C. A. and Nickol, B. B. 2011. A description of mature *Oxycocoides venezuelensis*
272 (Acanthocephala: Oligacanthocephalidae) from a feral house cat in the U.S. Virgin
273 Islands. *Journal of Parasitology* 97: 1099-1100.
- 274 Gutti, A.; Bianchi, R. C.; Rosa, C. R. X.; Mendes, S. L., 2006. Diet of the crab-eating
275 fox, *Caracacus showi* (Carnivora, Canidae) in Paulo Cesar Vinha State Park, Espírito
276 Santo State, Brazil. *Mammalia* 70: 153-155.
- 277 Gutti, A.; Bianchi, R. C.; Rosa, C. R. X.; Mendes, S. L. 2006. Diet of two sympatric
278 carnivores, *Caracacus showi* and *Procyon cancrivorus*, at Paulo Cesar Vinha State Park,
279 Espírito Santo, Brazil. *Journal of Tropical Ecology*. 22: 327-330.
- 280 Oriase, J. 2007. Helmintofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de
281 Botucatu, São Paulo. M.S. Thesis. Programa Pós Graduação em Biologia Geral e
282 Aplicada do Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual de
283 São Paulo-UNESP, São Paulo.
- 284 Golvan, Y. J. 1994. Nomenclature of the Acanthocephala. *Research and Reviews in*
285 *Parasitology* 54: 134-205.
- 286 Jicomo, A. T. A., Silveira, L.; Diriz-Filho, J. A. F. 2004. Niche separation between the
287 maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab-eating fox (*Dusicyon showi*) and the
288 hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brazil. *Journal of Zoology* 262: 99-106.
- 289 Lima, A. C. R. 2009. Helmintos Gastrointestinais de *Caracacus showi* (Linnaeus, 1766);

- 290 Smith, 1839 provenientes da área de caatinga do estado da Paraíba, Brasil. M.S. Thesis.
291 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo–
292 UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo.
- 293 Machado Filho, D. A. 1950. Revisão do gênero *Proskoczkoia* Travassos, 1915
294 (Acanthocephala). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 48: 493-544.
- 295 Machado Filho, D. A. 1964. Sobre o gênero "Oligacanthorhynchus" Travassos, 1915
296 (Archiacanthocephala, Oligacanthorhynchidae). Revista Brasileira de Biologia 24:
297 151-162.
- 298 Motta-Junior, J. C., Lombardi, J. A., Talamoni, S.A. 1994. Notes on crab-eating fox
299 (*Cercopithecus thous*) seed dispersal and food habits in southeastern Brazil. Mammalia 58:
300 156–159.
- 301 Müller, B., Mitz-Rensing, K., Pérez Yarnacita, J. G., Heymann, E. W. 2010.
302 Pathological and parasitological findings in a wild red titi monkey, *Callitrichus cupreus*
303 (Pitheciidae, Platyrrhini). European Journal of Wildlife Research 56: 601–604.
- 304 Nicholas, W. L., 1967. The Biology of Acanthocephala. *Advances in Parasitology* 5:
305 204-246.
- 306 Nickol, B. B. and Danagan, T. T. 1989. Reconsideration of the Acanthocephalan genus
307 *Echinoopandula*, with a description of adult *E. atrata* and key to genera of the
308 Oligacanthorhynchidae. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington* 56:
309 8-13.
- 310 Olmos, F. 1993. Notes on the food habits of Brazilian Caatinga carnivores. *Mammalia*
311 57: 126-130.
- 312 Pedó, E., Tomazzoni, A. C., Hartz, S. M.; Christoff, A. U. 2006. Diet of crab-eating fox,
313 *Cercopithecus thous* (Linnaeus 1766) (Carnivora: Canidae), in a suburban area of southern
314 Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 637-641.

- 315 Petrochenko, V. I. 1958. Acanthocephala of domestic and wild animals. Russian Text.
316 Vol 2, 458 p.
- 317 Piazinatti, L., Piazinatti, A., Barby, C. H. F., Mattos Jr., D. G., Tortelly, R. 2007.
318 Ocorrência de Acanthocephala em *Leontopithecus cathartae* (Lesson, 1840): aspectos
319 clínico-patológicos. Calitrichidae - Primates. Arquivo Brasileiro de Medicina
320 Veterinária e Zootecia 59:1473-1477.
- 321 Read, C. P. 1974. Parasitismo Animal. São Paulo: Polígono, 223 p.
- 322 Rocha, V. J., Reis, N. R.; Sokiama, M. L. 2004. Dieta e dispersão de sementes por
323 *Cardocephalus albosus* (Carnívora: Canidae), em um fragmento florestal no Paraná, Brasil.
324 Revista Brasileira de Zoologia 21: 871-876.
- 325 Rodola, L. G. 2006. Unidades de Vegetação e Pastagens Nativas do Pantanal da
326 Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. PhD Thesis. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 327 Raus, J. L., Müller, G., Farias, N. A. R.; Gallina, T., Lucas, A. S., Pappen, F. G.,
328 Siqueira, A. L., Drum, J. G. W. 2008. Helminths do cachorro do campo, *Pseudoloxoz
329 gysocercus* (Fischer, 1814) e do cachorro do mata, *Cardocephalus albosus* (Linnaeus, 1766)
330 no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária 17: 87-
331 92;
- 332 Schmidt, G. D. 1972. Revision of the class Archiacanthocephala Meyer, 1931 (Phylum
333 Acanthocephala), with emphasis on Oliganthorhynchidae Southwell et Macfie, 1925.
334 Journal of Parasitology 58: 290-297.
- 335 Schmidt, G. D. 1977. *Chacticola asertoi* sp. n. and other Archiacanthocephala of the
336 Chaco Boreal, Paraguay. The Journal of Parasitology 63: 508-510.
- 337 Silva, B. J. De A., Freire, I. M. A., Da Silva, W. B., De Amarante, E. E. V. G. 2010.
338 Avaliação das alterações hematológicas nas infecções por helmintos e protozoários em
339 cães (*Canis lupus familiaris*, Linnaeus, 1758). Neotropical Helminthology 4: 37-48.

- 340 Silveira, L. 1999. Ecologia e conservação dos mamíferos carnívoros do Parque Nacional
341 das Emas. M. S. Thesis, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 117p.
- 342 Smalzer, L. R. 2007. Oligacanthorhynchidae (Acanthocephala) from mammals from
343 Paraguay with description of new species of *Neocricocola*. *Comparative Parasitology* 74:
344 237-243.
- 345 Southwell, T. and Macfie, J. W. S. 1925. On a collection of Acanthocephala in the
346 Liverpool School of Tropical Medicine. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*
347 19: 141-284.
- 348 Stankard, H. W. 1965. New intermediate host in the life cycle of *Prosthosorchis*
349 *elegans* (Diesing, 1851), an acanthocephalan parasite of primates. *The Journal of*
350 *Parasitology* 51: 645-649.
- 351 Takao, M. J. 1958. The pathology and pathogenesis of fetal infection due to an
352 acanthocephalid parasite of marmoset monkeys. *American Journal of Tropical Medicine*
353 7: 90-94.
- 354 Travassos, L. 1917. Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica
355 brasileira, XVII. Revisão dos acantocéfalos brasileiros. Parte I. Fam. Oligacanthorhynchidae
356 Hansen, 1982. *Suplemento-Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 17: 5-62.
- 357 Vieira, F. M., Luque, J. L., Muniz-Pereira, L. C. 2008. Checklist of helminth parasites
358 in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa* 1721: 1-23
- 359 Yamaguti, S. 1963. Acanthocephala. In: *Systema Helminthum*, Vol. 5. Interscience
360 Publications, John Wiley and Sons edit., New York - London, 423 p.
- 361
- 362
- 363
- 364

365 **FIGURE LEGENDS**

366 Figures 1-2. (1) *Carabocyon abour* found dead at Nhamirim Ranch. (2) *Proathesorchis*
 367 *cardocystis* n. sp parasitizing the intestinal wall of crab-eating foxes.

368

369 Figures 3-6. Morphological characteristic of *Proathesorchis cardocystis* n. sp. via light
 370 microscopy. (3) Anterior part of *Proathesorchis cardocystis*, lateral view. (4) Anterior
 371 part of *Proathesorchis cardocystis*, top view, Pr- proboscis armed with strong hooks,
 372 Co-collar, robust and festooned. (5) Posterior end of female body, Va- vagina, Ho-
 373 salient bell, Ua- uterine bell.(6) Egg ellipsoid shape and with 3 membranes, Om- outer
 374 membrane is thick and granular, Im- inner membrane is thin and transparent, Em-
 375 Embryo surrounded by a thin membrane, Po- two poles in each side. Scale bars: Figures
 376 3, 4, 5 - 0.1 mm; 6 - 0.05 mm.

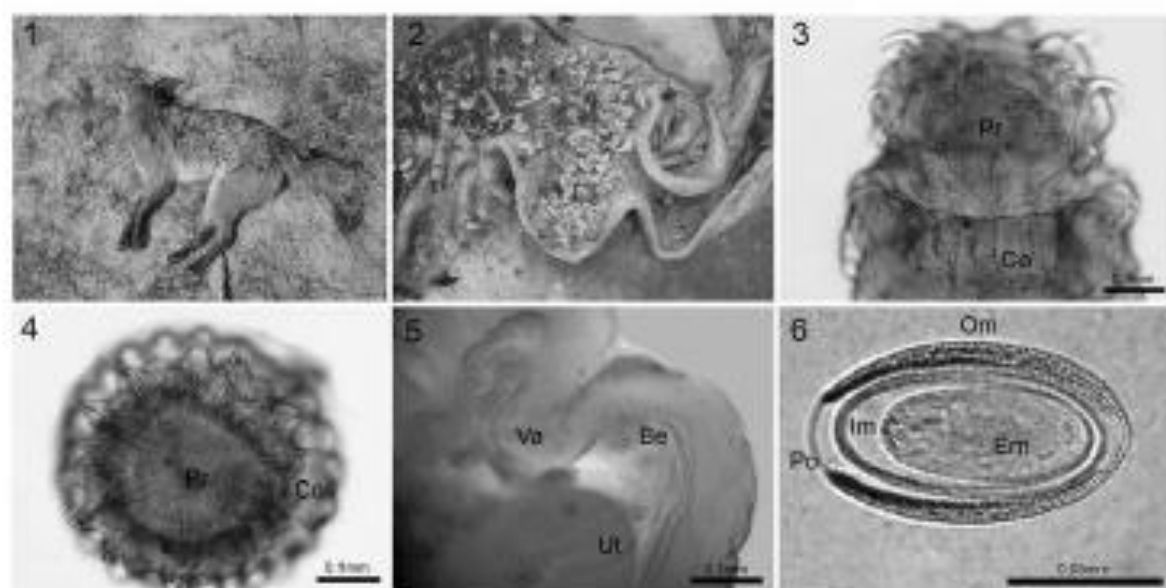
377

378 Figures 7-13 (7) Anterior part of *Proathesorchis cardocystis* n. sp. presents a globular
 379 proboscis armed with hooks, one papillae in each side at the base of proboscis and neck
 380 surrounded by a festooned collar. (8) Six different hooks, first, second and third have
 381 strong roots with T-shape. (9) Posterior end of the female body with uterine bell, bell
 382 and vagina sub-terminal. (10) Egg with 3 membranes and embryo. (11) Male body with
 383 anterior and posterior testis, with 8 aggregated cement glands. (12 and 13) Laminisci
 384 long, bent and reaching the posterior body.

385

386 Figures 14-21- External morphology of *Proathesorchis cardocystis* n. sp. via scanning
 387 electron microscopy (SEM). (14) Lateral view of female body, Pr-Proboscis, Co- collar;
 388 (15,16, 17) Proboscis armed with hooks and hooks with barbs on the tip, neck with two
 389 papillae in each side, Ho-hooks , Pa-papilla. (18) Detail of papilla with elevated border

Figures 1-6
[Click here to download high resolution image](#)



Figures 7-13
[Click here to download high resolution image](#)

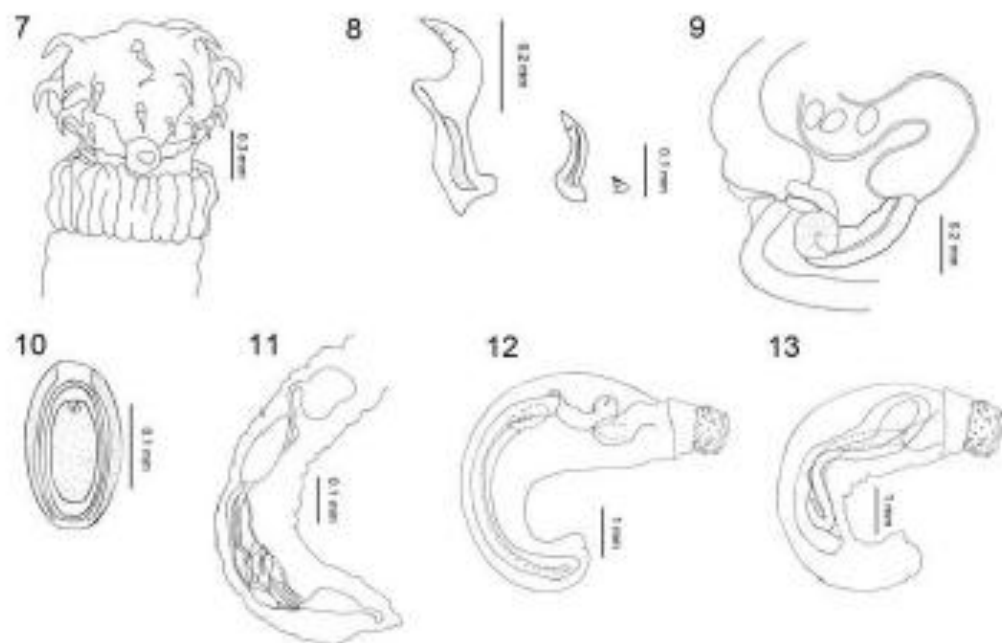


Figure 14-17
[Click here to download high resolution image](#)

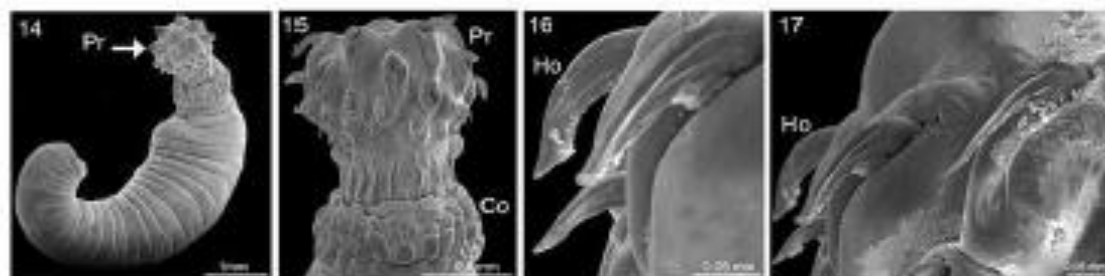
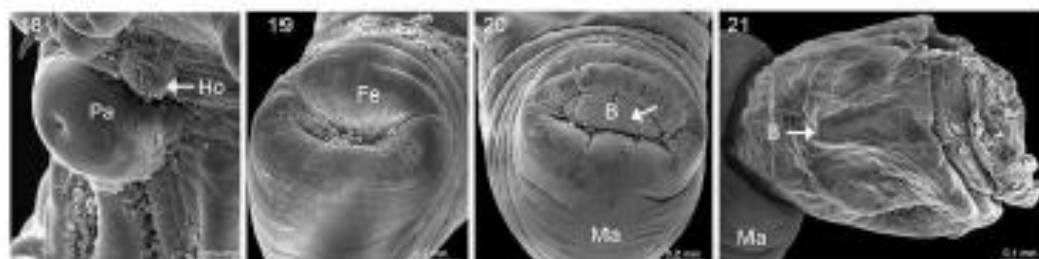


Figure 18-21
[Click here to download high resolution image](#)



Table

[Click here to download Table: Table 1 manuscript.doc](#)

Table 1 – Morphometric comparison of 5 species of *Proctoscorchia* (measurements in millimeters).

Characteristics	<i>P. elegans</i> (Dising, 1851) Tennessee, 1915	<i>P. elegans</i> Machado, 1950	<i>P. lewisi</i> Machado, 1950	<i>P. flavescens</i> (Blair, 1939) Schmidt, 1972	<i>P. caribbicensis</i> (present study)
Thrust					
Length	15.0-20.0*	25.0-50.0*	45.0*	12-15*	7.67-8.53
Wide	2.0-4.0*	1.50-4.0*	3.0*	1.60*	1.58-1.71
Proboscis					
Length	0.50*	0.89*	-	-	0.87-0.90
Wide	0.60*	0.91*	-	0.58*	0.86-0.95
Parasoma					
Hook length	-	40 *	20-25	-	24
Hook root					
Type I	0.224*	0.64 *	-	0.24*	0.32
Type II	0.167*	0.56 *	-	0.10*	0.15
Type III	0.120*	0.46 *	-	0.60*	0.08
Hook root					
Type I	0.150*	0.13*	-	-	0.18
Type II	0.116*	-	-	-	0.05
Type III	-	-	-	-	-
Laminated and over body end					
	Anterior region	Anterior region	Middle region		Rearch posterior region
Anterior testis					
Length	3.0-5.0*	0.23*	-	1.2-1.3*	0.94
Wide	1.50-1.80*	0.10*	-	0.49*	0.39
Posterior testis					
	(media A +P)			(media A +P)	
Length		0.17*	-		0.78
Wide		0.87*	-		0.44
Concent glands					
Length	3.0-4.0*	391*	-	-	1.09
Wide	1.80-2.0*	339*	-	-	-
Uterus bell					
	-	2.490*	-	1.65-1.77*	0.90
Eggs					
Length	0.78*	0.63-0.77*	0.60*	0.45-0.47*	0.87
Wide	0.42-0.46*	0.42*	0.42*	0.26-0.28*	0.49
Natural definitive vertebrate host					
	<i>Salmixi acturus</i>	<i>Afystax vesicula</i> <i>Chelidactylus chrysoleus</i>	<i>Larus fulvus</i>	<i>Puffinus pacificus</i>	<i>Caridocyon thomasi</i>
Geographic distribution					
	Tinoco/Paraná (South America/Central America)	Tinoco/Paraná (South America/ Central America)	Madagascar (Africa)	Itari, Congo (Africa)	Tinoco (South America)

np – Not provided by the author

* Measured by the authors of the present paper based on manuscript description.

Media A+P= media of measurements of anterior and posterior testis together

4 CAPÍTULO 2

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

GASTROINTESTINAL NEMATODES FROM *CERDOCYON THOUS* LINNAEUS, 1766 IN THE BRAZILIAN PANTANAL WETLANDS

Nematódeos gastrointestinais em *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil.

--Research Note--

Ana Paula N. Gomes¹, Natalie Olifiers¹, Arnaldo Maldonado Jr^{1*}.

¹ Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Abstract

This study reports the occurrence of four helminth nematodes collected from the gut of roadkilled *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 found in BR 262 highway, Mato Grosso do Sul State, Brazil in 2011. These species were described and identified by light microscopy and morphometric information. In addition, for those species that could not be identified by morphology and morphometric methods, I performed molecular analyses with DNA extraction, followed by PCR and DNA sequence of the 18S ribosomal gene, which were then compared by the maximum similarity method. Four species were described and identified: *Ancylostoma buckleyi*, *Spirocerca lupi*, *Pterigodermatites (Multipectines) pluripectinata* and *Ascaridia galli*. This study reports for the first time these nematodes parasitizing *C. thous* from the Brazilian Pantanal Wetlands, expanding the geographical distribution of these helminths in *C. thous*.

Keywords: Helminths, nematodes, crab-eating fox, Pantanal Wetlands

4 CAPÍTULO 2

Nematódeos gastrointestinais em *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil (nota científica a ser submetido à *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*).

RESUMO

O presente estudo relata a ocorrência de quatro espécies de nematódeos coletadas no sistema digestório do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 encontrado atropelado na rodovia BR 262, no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil no ano de 2011. As espécies de helmintos foram descritas e identificadas com auxílio da microscopia de luz e dados morfométricos. Além disto, foi realizada análise molecular por extração de ADN seguidas de PCR, sequenciamento do gene ribossomal 18S e realizada análise de similaridade por máxima identidade para espécies que não puderam ser identificadas apenas por morfologia e morfometria. Com isso, foram identificadas e descritas quatro espécies: *Ancylostoma buckleyi*, *Spirocerca lupi*, *Pterigodermatites (Multipectines) pluripectinata* e *Ascaridia galli*. O estudo registra pela primeira vez a ocorrência destes nematódeos em *C. thous* no bioma Pantanal, ampliando a distribuição geográfica destes helmintos parasitos em *C. thous*.

Palavra chave: Nematódeos, cachorro-do-mato, Pantanal.

4.1 Introdução

4.1.1 Filo Nematoda: Morfologia e Biologia

O Filo Nematoda compreende aproximadamente 20 mil espécies descritas, sendo considerado o filo mais rico no Reino Animalia (Bush et al., 2001). A maioria destes helmintos é de vida livre, ocorrendo em ambientes aquáticos, marinhos e terrestres, com papel de decompositores ou detritívoros reciclando nutrientes químicos e orgânicos (Bush et al., 2001; Smyth, 1994). Alguns têm sucesso como parasito e são encontrados na maioria dos eucariotos, parasitando plantas e infectando diversos animais.

Os nematódeos possuem corpo alongado, geralmente apresentam forma corporal cilíndrica e extremidades afiladas, apresentando variação na morfologia externa da região anterior e/ou posterior, com simetria bilateral, além de possuírem uma complexa cutícula que pode ser mudada quatro vezes antes de atingir a maturidade sexual. Estes helmintos apresentam uma abertura oral com ou sem lábios que abrem internamente a cápsula bucal, alguns podem apresentar cápsula bucal modificada contendo estruturas como dentes que são importantes por ajudar na fixação ao hospedeiro (Bush et al., 2001). Alguns nematódeos têm projeção lateral chamada asa cefálica que está associada à região anterior. Na região anterior são encontradas também estruturas sensoriais tais como papilas e anfídeos. Alguns grupos apresentam papilas cervicais chamadas derídios, receptores táteis em que o número e localização representam características taxonômicas importantes. Na região posterior encontram-se os fasmídeos, papilas caudais, e em alguns machos observa-se asa caudal ou bolsa copuladora que pode apresentar raios. O tubo digestivo se inicia pela abertura oral (estomodeu), seguido pelo esôfago, intestino e termina na região posterior (proctodeu), sendo o ânus nas fêmeas e cloaca nos machos (Chitwood, 1974; Bush et al., 2001). A morfologia da capsula bucal, tubo digestivo, fasmídeos e papilas são estruturas que contribuem para taxonomia do filo Nematoda.

O ciclo dos nematódeos varia entre simples (monoxênico, onde há apenas um hospedeiro envolvido) ao mais complexo (heteroxênico, com um ou mais hospedeiros intermediários). Nas espécies de vida livre assim como nos parasitos, a eclosão dos ovos e o sucesso do seu desenvolvimento dependem das condições ambientais, particularmente da concentração de oxigênio, bem como da temperatura e umidade. As larvas eclodidas tanto no ambiente aquático quanto terrestre ou no

interior de um hospedeiro animal devem passar por quatro ecdises antes de atingir a fase adulta (Smyth, 1994; Bush et al., 2001; Rey, 1991; Rey, 2008). A penetração no hospedeiro vertebrado pode ser passiva, quando ovos ou larvas são ingeridos, e/ou ativa, quando penetram na pele (Rey, 2008). Entretanto, muitos ciclos envolvem larvas de estágio de vida livre que também mostram adaptações para sobrevivência contra fatores desfavoráveis, tais como redução na sua atividade metabólica para garantir transmissão e chegada ao hospedeiro apropriado (Bush et al., 2001).

Os nematódeos parasitos são dióicos, produzindo ovos com revestimento resistente, e frequentemente exibem dimorfismo sexual em que fêmeas geralmente são maiores, enquanto os machos apresentam a cauda curvada ventralmente, diferente das fêmeas onde se mostra esticada (Smyth, 1994; Bush et. al, 2001). Os machos possuem um ou dois testículos, vasos deferentes que se unem com o reto formando a cloaca, além de estruturas acessórias que incluem os espículos (únicos ou pares) que são estruturas quitinizadas que irão variar em número, tamanho e formato, sendo utilizados para manter a vulva da fêmea aberta durante a cópula; gubernáculo que atua como guia ao espículo para passar pela cloaca; e a bolsa copuladora com a função de prender a fêmea durante a cópula. O sistema reprodutor feminino consiste em ovário que se liga ao oviduto seguido do útero. O útero é muscular e na parte distal forma uma estrutura especializada conhecida como ovojetor. O ovojetor ligado ao útero forma uma vagina que se abre ventralmente para o exterior, formando a vulva (Chitwood, 1974; Bush et. al, 2001).

Os nematódeos parasitos de vertebrados são encontrados em quase todos os tecidos ou cavidades e algumas espécies são responsáveis por causar doenças tanto no homem quanto nos animais. Portanto, esses parasitos podem representa problemas à saúde pública e veterinária (Smyth, 1994; Rey, 1991; Rey, 2008). Neste contexto, serão dadas informações das famílias e espécies dos nematódeos encontrados parasitando *Cerdocyon thous* no bioma Pantanal.

4.1.2 Família Ancylostomatidae Looss, 1905

Gênero *Ancylostoma* Dubine, 1843

Os nematódeos da família Ancylostomatidae são pequenos e parasitam vertebrados. Apresentam a extremidade anterior curvada dorsalmente dotada de cápsula bucal desenvolvida apresentando dentes, placas, lancetas ou lâminas cortantes, que são estruturas cuticulares cortantes que ajudam a fixação e depleção

do tecido do hospedeiro, além de serem estruturas importantes como características taxonômicas para distinção entre os gêneros. O gênero *Ancylostoma*, por exemplo, apresenta cápsula bucal munida de estruturas que lembram dentes, enquanto no gênero *Necator* as estruturas da cápsula lembram lâminas. Além da cápsula bucal, a bolsa copuladora é outra estrutura importante para identificação das espécies (Rey, 1991; Rey, 2008). O ciclo de vida dos ancilostomídeos é direto com produção de ovos que são passados através das fezes do seu hospedeiro. Quando em condições ambientais favoráveis, os ovos eclodem em larvas de vida livre (larva rabiditóide) até a larva do terceiro estágio (larva filarióide) que infecta o hospedeiro; no homem a larva infectante, chamada de larva migrans, penetra na pele infectando-o. No hospedeiro, se forma o verme adulto que se instala no intestino delgado fixado por sua cápsula bucal (Bush, 2001).

Os ancilostomídeos podem causar anemia por deficiência de ferro, uma vez que se alimentam de sangue e tecidos dos hospedeiros (Hotez, 1985, Rey, 1991; Rey, 2008). Os parasitos que infectam frequentemente o homem são *Ancylostoma duodenale* (Dubine, 1843) Creplin, 1845, encontrado predominantemente em países do velho mundo e *Necator americanus* Stiles, 1903, encontrado na África, Américas e Ilhas do Pacífico (Rey, 2008). Espécies do gênero *Ancylostoma* tais como, *Ancylostoma caninum* (Ercolani, 1859) Hall, 1913, *A. braziliense* Faria, 1910, *A. tubaeformae* Zerder, 1800, *A. pluridentatum* Alessandrini, 1905, *A. buckleyi* Le Roux e Biocca, 1957 podem ocorrer em animais domésticos e silvestres, como em canídeos, felinos e outros mamíferos; algumas espécies podem infectar o homem através da larva migrans que penetra na pele (Thatcher, 1971; Bush, 2001; Traub et. al, 2004).

Estudos da helmintofauna em mamíferos silvestres no Brasil têm relatado parasitismo por espécies de alguns gêneros da família Ancylostomatidae, tais como *Ancylostoma* Dubine, 1843, *Necator* Stiles, 1903, *Bunostomum* Railliet, 1902, *Uncinaria* Froelich, 1789, *Monodontus* Molin, 1861, *Gaigeria* Railliet e Henry, 1910, *Globocephalus* Molin, 1861 (Santos et. al, 2003). Algumas espécies do gênero *Ancylostoma* já foram registradas em mamíferos no Brasil, tais como *A. bidens* (Molin, 1861) Freitas, 1951, *A. braziliense* Faria, 1910, *A. caninum* (Ercolani, 1859) Hall, 1913, *A. duodenale* (Dubine, 1843) Creplin, 1845, *A. pluridentatum* Alessandrini, 1905, *A. buckleyi* Le Roux e Biocca, 1957 (Vicente et. al, 1997; Santos, 2003; Pinto et. al, 2011). Adicionalmente, espécies do gênero *Ancylostoma* já foram relatadas

parasitando *C. thous* no Brasil, entre elas *A. braziliense*, *A. caninum* e *A. buckleyi* (Santos et al. 2003; Rodrigues et al. 2006; Duarte et al. 2007; Griese et al. 2007; Ruas et al. 2008).

4.1.3 Família Rictulariidae Froelich, 1802

Gênero *Pterygodermatites* Wedl, 1861.

Os nematódeos da família Rictulariidae são parasitos principalmente do trato digestório de roedores e carnívoros, mas também infectam marsupiais e primatas (Tkaach e Swiderski, 1996; Torres et al., 2007; Jiménez e Patterson, 2012). A família foi revisada por Quentin (1969) que estabeleceu dois gêneros: *Rictularia* Froelich, 1802 e o novo gênero *Pterygodermatites* Wedl, 1861. Além disto, sugeriu a separação do gênero recém criado em cinco subgêneros: *Pterygodermatites* (*Paucipectines*), *Pterygodermatites* (*Neopaucipectines*), *Pterygodermatites* (*Pterygodermatites*), *Pterygodermatites* (*Mesopectines*) e *Pterygodermatites* (*Multipectines*). O gênero *Pterygodermatites* inclui espécies que apresentam cápsula bucal proeminente e espinhos em formas de placas na superfície do corpo. A cápsula bucal, bem como o número e morfologia dos espinhos são características taxonômicas importantes para identificação dos subgêneros (Quentin, 1969; Torres et al., 2007, Hoppe et al., 2010, Jiménez e Patterson, 2012).

Na América do Sul, onze espécies do gênero *Pterygodermatites* foram descritas, sendo que nove espécies do subgênero *Pterygodermatites* (*Paucipectines*) foram relatadas parasitando roedor, tatu, morcego e marsupiais (Beldomenico et. al, 2005; Torres et. al, 2007; Vicente et. al, 1997; Hoppe et. al, 2010, Jiménez e Patterson, 2012) e duas do subgênero *Pterygodermatites* (*Multipectines*) parasitando canídeos, felinos (Quentin, 1969) registrados na região Neotropical (Beldomenico et al., 2005; Wang e Tedford, 2007; Lima, 2009; Hoppe et al., 2010; Pinto et al., 2011). Espécies da família Rictulariidae já foram registradas em *C. thous* no Brasil, tais como *Rictularia* sp., *Pterygodermatites* (*Multipectines*) *affinis* (Jägerskiöld, 1904) Quentin, 1969 e *terygodermatites* (*Multipectines*) *pluripectinata* Hoppe, 2010 (Duarte et al., 2007; Griese et al., 2007; Hoppe et al., 2010; Pinto et al., 2011).

4.1.4 Família Spirocercidae Chabaud, 1975.

***Spirocerca lupi* Raillet e Henry, 1911.**

Os representantes da superfamília Spiruroidea representam um grupo diverso dos nematódeos que apresentam grande disparidade de tamanho, diversidade de ornamentação e diversidade de microhabitats para os helmintos adultos. Esta superfamília contém três famílias: Gongylonematidae Sobolev, 1949; Spiruridae Oerley, 1855 e Spirocercidae Chabaud, 1975 (Vicente et al., 1997). Nematódeos pertencentes à espécie *Spirocerca lupi* Raillet e Henry, 1911 (Nematoda: Spirocercidae) são endoparasitos que ocorrem em nódulos fibrosos na parede do esôfago, estômago, aorta e em outros órgãos causando a espirocercose (Bailey et al. 1963; Lobetti, 2000; Mazaki-Tovi et. al, 2002) que cães domésticos, raposas, lobos, chacais, coiotes e felinos silvestres (Levine, 1968; Bowmann, 1999). Estes nematódeos ocorrem globalmente em áreas tropicais e subtropicais sendo prevalentes em áreas de clima quente (van der Merwe et al., 2008). O ciclo de vida necessita de um hospedeiro intermediário, muito frequentemente representado por besouros (Coleoptera), onde as larvas L1 são ingeridas por este e se desenvolvem até estágio de L3. Se o besouro, ou qualquer hospedeiro paratênico tais como aves, lagartos e roedores for consumido pelo hospedeiro definitivo, a infecção no hospedeiro definitivo é dada através da penetração da larva na parede do estômago, seguida de migração para a aorta torácica, onde o helminto irá sofrer muda e chegar à fase adulta (Anderson, 2000; van der Merwe et al., 2008; Waal et al., 2012). A espirocercose tem alta prevalência em áreas urbanas e acomete principalmente cães e gatos domésticos, porém raramente o homem (Pence e Stone, 1978; Fortes, 1997; Dvir et al., 2001), sendo de importância para saúde pública e veterinária.

A maioria dos registros desse nematódeo ocorre em Israel (Mazaki-Tovi et al., 2002), Grécia (Mylonakis et al., 2001), Turquia, Índia (Ramachandran et al., 1984), Paquistão (Anataraman e Krishna, 1966), Estados Unidos (Dixon e McCue, 1967), Brasil (Oliviera-Sequeira et al., 2002), Quênia (Brodey et al., 1977) e África do Sul (Lobetti, 2000). Recentemente tem sido relatado aumento de espirocercose na África do Sul e Israel (van der Merwe et.al, 2008). No Brasil, *S. lupi* já foi relatado em diferentes regiões tanto em cães domésticos quanto em canídeos silvestres, incluindo *C. thous* (Labruna et al., 2006; Curi et al., 2010; Santos et al., 2012).

4.1.5 Família Ascaridiidae Travassos, 1919.

***Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923.**

Os ascarídeos em sua maioria são nematódeos de corpo longo, robusto e geralmente apresentam três lábios proeminentes na região anterior. Membros da família Ascariidae são em sua maioria parasitos que habitam o intestino delgado de vertebrados silvestres (Bush et al., 2001). *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923 é um parasito que infecta aves domésticas e silvestres em todo o mundo (Soulsby, 1982; Katakam et al., 2010; Ferdushy et al., 2012), porém já foi descrito parasitando um gato doméstico no Rio de Janeiro (Langenegger e Lanzeieri, 1963-1965; Duarte, 1981). O parasito adulto habita o lúmen do intestino (Ackert et al., 1940; Soulsby, 1982) onde as fêmeas fazem a postura de ovos de casca lisa e espessa que são eliminados nas fezes do hospedeiro (Fortes, 1997; Machado et al., 2007). Os ovos abrigam larvas do terceiro estágio, larvas no estágio de infecção, sem desenvolvimento no ambiente. Após ingestão pelo hospedeiro, os ovos alcançam o duodeno onde se dá a eclosão e o parasito se desenvolve no lúmen do intestino delgado (Tugwell e Ackert, 1952; Herd e McNaught, 1975; Katakam et al., 2010). Entretanto, já foram descritas infecções de parasitos na forma adulta ocorrendo na cavidade abdominal (Akinyemi et al., 1980; Leitão, 1983; Freitas, 1984; Fortes, 1997). Tem sido assinalado que a infecção por grande número de parasitos pode ser patogênico ao causar obstrução intestinal; sendo assim, o parasito tem importância comercial porque pode causar prejuízo para a produção de aves (Machado, 2007; Katakam et al., 2010). O controle desta parasitose é prática adotada na União Européia como forma de minimizar as perdas na produção (Katakam et al., 2010).

No Brasil há relatos de *A. galli* e *Ascaridia sp.* com alta prevalência infectando aves domésticas silvestres em diferentes regiões (Permin, 1997; Giovannoni e Kubiak, 2001; Freitas et al., 2002; Marietto Gonçalves et al., 2006). Recentemente tem sido relatada a presença de ovos de *Ascaridia spp.* nas fezes de cães domésticos (Fok et al., 2001), e também há registro de ovos de *A. galli* nas fezes de *C. thous* (Mangini et. al, 2002).

Alguns nematódeos, como por exemplo, *A. buckleyi*, *A. caninum*, *A. braziliense*, *Ascaridia spp.*, *Ascaridia galli*, *Rictularia sp.* *Pterigodermatites affinis*, *Pterigodermatites pluripectinata n. sp.* pertencentes às famílias mencionadas anteriormente já foram relatadas em *C. thous* em diferentes biomas e regiões

geográficas (Mangini et al., 2002; Santos et al., 2003; Rodrigues et al., 2006; Duarte et al., 2007; Griese et al., 2007; Ruas et al., 2008; Brandão et al., 2009; Lima et al., 2009); porém, não há estudos de identificação e descrição destes nematódeos parasitando *C. thous* no bioma Pantanal.

Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo identificar e descrever os nematódeos coletados no trato digestório do *C.thous* do Pantanal.

4.2 Materiais e Métodos

O estudo foi realizado na BR-262 no Estado do Mato Grosso do Sul no período de outubro e novembro de 2011. A rodovia BR 262 interliga os estados do Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul sendo uma pista única e de mão dupla.

Para as coletas dos animais atropelados foram realizadas quinze viagens de carro de Campo Grande a Corumbá e quinze no trecho inverso. As saídas eram feitas no início da manhã para que fosse coletado o maior número possível de carcaças, antes que estas fossem destruídas pelo tráfego de veículos ou removidas por animais necrófagos, como carcarás (*Caracara plancus*). Os dados detalhados do local, espécie, data, quilômetro da rodovia e coordenadas das carcaças localizadas eram coletados; e a carcaça era colocada em uma bolsa plástica de biossegurança e armazenada em um recipiente de isopor com gelo com intuito de minimizar a decomposição até que chegasse nos pontos de apoio para a realização das necrópsias.

Foram coletados três espécimes de *C.thous* encontrados atropelados, sendo dois machos adultos e uma fêmea jovem. Coletaram-se também amostras de outras espécies de mamíferos silvestres encontradas atropelados neste trecho para dados do banco genético do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios.

As necrópsias foram feitas nos pontos de apoio, tais como o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) nos municípios de Anastácio e Miranda e nas instalações da Embrapa-Pantanal em Corumbá (Figuras 1, 2, 3). Os vermes adultos foram coletados do sistema digestório e todo o procedimento de coleta das amostras foi aprovado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (SISBIO licença # 30248-1).

4.2.1 Coleta e identificação dos helmintos

O estômago, intestino delgado e intestino grosso foram abertos e os espécimes de nematódeos foram coletados, lavados em solução fisiológica (0,95% NaCl), armazenados em álcool 70% e acondicionados em frascos identificados de acordo com o número do hospedeiro e o órgão em que foram encontrados. Os helmintos recuperados foram diafanizados com lactofenol, montados entre lâmina e lamínula e analisados com auxílio de microscópio de luz (Zeiss Standard 20) acoplado à câmara clara, onde foram desenhados e medidos. Os espécimes foram identificados no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatório, FIOCRUZ/Rio de Janeiro. Os dados morfométricos são apresentados em milímetros com valores de mínimo, máximo e média entre parênteses.

Os aspectos morfológicos específicos observados foram usados na identificação dos espécimes de acordo com artigos específicos da descrição de cada espécie e chave taxonômica segundo Vicente et. al (1997). Por fim, os espécimes representativos das espécies de helmintos estudados foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil.



Figura 1- Rodovia interestadual BR-262, trecho entre Campo Grande a Corumbá, Mato Grosso do Sul onde foram recolhidos os espécimes de *Cerdocyon thous* atropelados; **2-** Espécime de *Cerdocyon thous* atropelado; **3-** Laboratório do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) em Miranda onde foram realizadas as necrópsias.

4.2.2 Análise Molecular

Adicionalmente à identificação morfológica, foi realizada a identificação por técnica molecular obtendo sequências do ADN 18S ribossomal para auxiliar na identificação da espécie. Para isto, foi feita a extração de ADN utilizando o Kit QIAamp DNA mini Kit (QIAGEN Biotecnologia). Para a extração, primeiramente foi feita a maceração do corpo do helminto com auxílio de grau e pistilo em 180µl de Tampão ATL e 20µl de proteinase K (600mAU/ml) seguido de incubação a 56°C por 3 horas até dissolução do material. Após a incubação, foi adicionado 200µl do Buffer AL à amostra e incubado a 70°C por 10 minutos. Em seguida, foi acrescentado

etanol (96-100%) para precipitação do ADN. A amostra foi aplicada a uma coluna Qiamp Mini spin e centrifugada a 8000 rpm por 1 minuto para eluição do sobrenadante. Foi adicionado 500µl de tampão AW1 e centrifugado a 8000 rpm por 1 minuto e descartado o filtrado. Foi adicionado tampão AW2 e centrifugado 14000 rpm por 3 minutos e o filtrado foi descartado novamente e a amostra foi centrifugada novamente a 14000 rpm por 1 minuto. Em seguida, foram adicionados 100 µl de tampão AE e centrifugado por 1 minuto. Por último, o ADN foi quantificado pelo nanodrop em 230 nm (NanoDrop Spectrophotometer ND-1000 Uniscience) obtendo os valores da quantificação em nanogramas por microlitros (ng/µl).

O ensaio de PCR foi realizado para amplificação do gene citocromo C 18S ribossomal utilizando os seguintes primers desenhados no programa CLC mainworkbench de acordo com Simões et al. (2012 in press): physaF 5'GCGAACGGCTCATTATAACA3' e physaR 5'AATTTACCTCTCACGCA3'. A reação foi realizada de acordo com as seguintes etapas: 95°C por 2 minutos, 95°C por 30 segundos (desnaturação), 54°C por 30 segundos (anelamento), 72°C por 1 minuto (extensão) e 72° por 7 minutos (extensão) por 39 ciclos. A detecção do produto amplificado foi obtida pelo método de eletroforese em gel de agarose 1%. Foram utilizados 5µl de peso molecular de 100 pb para estimar o tamanho do fragmento da amostra e 5 µl de produto de PCR misturado a 3 µl de tampão de amostra. O gel de agarose foi corado em brometo de etídeo a 2% e visualizado no trasiluminador sob luz ultravioleta.

Após confirmação, foi feita purificação do PCR pelo Kit QIAquick (QIAGEN Biotecnologia) e, subsequentemente, as amostras foram encaminhadas para Plataforma de Seqüenciamento do Instituto Oswaldo Cruz (PDTIS-FIOCRUZ). As seqüências obtidas em formato de eletrofenograma foram alinhadas e editadas utilizando o programa Clustal W no programa MEGA5 (www.megasoftware.net). Para análise de similaridade foi feito BLAST e alinhamento das seqüências obtidas pelo GenBank, e a comparação foi realizada informando a porcentagem de máxima identidade entre as seqüências através do programa MEGA5.

4.3 Resultados

Foram descritas quatro espécies de nematódeos coletados do sistema digestório de cachorros-do-mato atropelados: *Ancylostoma buckleyi* (Figuras.4-13), *Pterigodermatites (Multipectines) pluripectinata* (Figuras.14-20), *Spirocerca lupi* (Figuras.21-28), e *Ascaridia galli* (Figuras.29-35). A seguir, cada espécie é descrita em detalhe.

Descrição Taxonômica

Ancylostomatidae Nicoll, 1927

Ancylostoma Dubine, 1843

Ancylostoma buckleyi Le Roux e Biocca, 1957.

(Figuras. 4-13)

Descrição Geral: Seis espécimes de ancilostomídeos, quatro machos e duas fêmeas foram coletados do intestino dos cachorros-do-mato. Ambos os sexos possuem cápsula bucal bem desenvolvida em forma de expansão globular, presença de três pares de dentes ventro-laterais bem desenvolvidos e dois pares de dentes dorso-laterais discretos (Figura. 10). Esta característica não foi vista em outras espécies e constitui uma das principais características morfológicas de identificação da espécie. O esôfago é curto, apresentando crenações na região proximal e em sua base apresenta uma válvula bem desenvolvida na junção esôfago-intestino (Figura 4). Os machos são menores que as fêmeas e medem 3,12-4,12 (3,60) de comprimento e 0,25-0,38 (0,31) de largura do no meio do corpo, sua cápsula bucal mede 0,15-0,16 (0,15) de comprimento por 0,09-0,13 (0,11) de largura (n=2) e o esôfago mede 0,66-0,90 (0,81) de comprimento (n=3). Na região posterior, apresenta uma bolsa copuladora que se sustenta por raios cuticulares (Figura 2 e 8). Esta bolsa é composta por dois lóbulos simétricos, cada um possuindo um tronco ventral dividindo-se distalmente em dois raios ventro-ventrais e ventro-laterais. O tronco ventral origina os três raios do mesmo tamanho que se dividem próximo à base originando os raios latero-ventral médio lateral e latero dorsal. Na base do tronco dorsal nascem os raios posterodorsais que atingem a margem da bolsa caudal. O raio dorsal se bifurca em dois pequenos ramos com duas digetações na sua extremidade. Logo, a bolsa é constituída de um raio ventral bifurcado, um externo-lateral, um raio mediano, um raio lateral-dorsal e um raio externo dorsal (Figura 6, 7,11) e no centro da bolsa há dois raios externo-dorsais e um raio dorsal

com duas pontas bifurcadas (Figura 9); adicionalmente, apresenta dois espículos longos e filiformes medindo o conjunto 0,96-1,00 (0,98) de comprimento (n=2) que correm sobre um gubernáculo medindo 0,11-0,12 (0,11) (n=2) de comprimento (Figura 8, 11). Já as fêmeas têm o corpo cilíndrico que afila na região posterior. As fêmeas são maiores e medem 5,37-6,65 (6,01) de comprimento e 0,22-0,38 (0,31) de largura, com cápsula bucal medindo 0,16-0,17 (0,17) de comprimento por 0,13-0,14 (0,14) de largura, e esôfago também curto medindo 0,96-0,97 (0,97) de comprimento. A extremidade posterior termina em uma cauda afilada e um ânus subterminal (Figura 12). Das duas fêmeas analisadas, uma possuía ovo uterino imaturo (Figura 13).

Sumário Taxonômico

Hospedeiro: Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766.

Localidade: BR 262, Mato Grosso do Sul, Brasil (S20 28.049` W055 12.126`).

Local de infecção: intestino delgado

Material: Parátipo (CHIOC 35869).

Considerações taxonômicas: O ancilostomídeo *Ancylostoma buckleyi* Le Roux & Biocca, 1957 foi descrito pela primeira vez por Le Roux e Biocca (1957) parasitando o intestino delgado do puma (*Felis concolor*) na Argentina (Santos et al., 2003). Posteriormente foi registrada sua ocorrência em canídeos domésticos na Austrália e em canídeos silvestres na Colômbia e Panamá (Thatcher, 1971; Setasuban, 1976). O primeiro relato de *A. buckleyi* parasitando canídeo silvestre no Brasil foi feito em Pernambuco por Padilha et. al (1980) em uma raposa. Os primeiros registros em cachorro-do-mato relatam sua ocorrência na localidade de Itatinga, São Paulo (Santos et al., 2003) seguido por mais relato em Juiz de Fora, Minas Gerais (Duarte et al., 2007). Esse nematódeo se distingue das demais espécies descritas em canídeos da América do Sul *A. braziliense*, *A. caninum*, *A. tubaeformae*, *A. pluridentatum*, por possuir dois pares de dentes dorso laterais Os dados morfométricos e morfológicos obtidos na espécie encontrada no intestino delgado do cachorro-do-mato do Pantanal do Mato Grosso do Sul nos permite concluir que se trata da espécie *A. buckleyi*. A ocorrência deste nematódeo parasitando *C. thous* amplia a distribuição geográfica deste nematódeo para a região do Pantanal do Mato Grosso do Sul.

Descrição Taxonômica

Riticularidae Railliet, 1916

Pterygodermatites Wedl, 1861

Pterygodermatites (Multipectines) pluripectinata Hoppe et al., 2010

Figuras (14-20)

Descrição Geral: três espécimes (um macho e duas fêmeas) de nematódeos foram coletados do intestino do cachorro-do-mato e identificados como *Pterygodermatites (Multipectines) pluripectinata*. Ambos os sexos apresentam duas fileiras sub-ventrais de projeções cutilares espiniformes de tamanho e formato variáveis ao longo do corpo (Figura 14 e 19). A cápsula bucal quitinizada tem formato triangular e é inclinada dorsalmente apresentando três dentes esofagianos: dois laterais e 1 dorsal bem desenvolvido (Figura 15). O esôfago é longo (1,76 de comprimento) e válvula esôfago-intestinal bem evidente (Figuras 14, 16 e 19). O macho é menor que a fêmea, com corpo medindo 4,66 de comprimento por 0,24 de largura e cápsula bucal medindo 0,07 de comprimento por 0,05 de largura. A extremidade posterior é dotada de asas caudais laterais observando-se ventralmente três pares de papilas pré-cloacais, seis pares pós-cloacais (quatro pares laterais pedunculadas e um par mediano) e um par de papilas na extremidade da cauda; a abertura cloacal apresenta borda elevada (Figura 17). Os espículos são iguais, finos e curtos, com 0,12 de comprimento e gubernáculo ausente (Figura 17). As fêmeas possuem comprimento corporal de 5,62-6,48 (6,05) e largura de 0,25-0,26 (0,26) (n=2) e o corpo apresenta duas fileiras de projeções espiniformes com número variando de 130 a 150. A cápsula bucal tem dimensões de 0,08-0,09 (0,08) x 0,03-0,05 (0,04) seguida pelo esôfago que mede 2,01-2,2 (2,1) de comprimento. A vulva é bem evidente e situada a 2,14-2,27 (2,20) da extremidade anterior (Figura 34). A cauda é afilada, com ânus subterminal situado a 0,14-0,20 (0,17) da extremidade posterior ao espinho terminal (Figura 20). Não foram encontrados ovos nos espécimes de fêmeas analisadas.

Sumário Taxonômico

Hospedeiro: Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766.

Localidade: BR 262, Mato Grosso do Sul, Brasil (S20 28.049` W055 12.126`).

Local de infecção: trato digestório

Material: Parátipo (CHIOC 35871).

Considerações taxonômicas: O gênero *Pterygodermatites* foi criado por Weld para alojar uma nova espécie *P. plagiotoma* Weld, 1861. Posteriormente, essa espécie foi realocada no gênero *Rictularia* Froelich, 1802 (Quentin, 1969). Quentin (1969) revisa a família Rictulariidae e estabelece dois gêneros para esta família, *Rictularia* e *Pterygodermatites* baseando na orientação da cápsula bucal, número de dentes esofágicos (1 ou 3), disposição das papilas caudais no macho e número de espinhos pré-vulvares (Anderson et al., 2009). Na América do Sul, apenas duas espécies do subgênero *Multipectines* tinham sido descritas, *Pterygodermatites (Multipectines) affinis* (Jägerskiöld, 1904) Quentin, 1969 em *C. thous* (Duarte, 2007; Araujo de Lima, 2009) no Brasil e *Pterygodermatites (Multipectines) cahirensis* (Jägerskiöld, 1909) Quentin, 1969 em *Oncifelis geoffroyi* (gato-do-mato) na Argentina (Beldomenico et al., 2005). Entretanto, Hoppe e colaboradores (2010) descrevem um novo nematódeo, *Pterygodermatites (Multipectines) pluripectinata* parasitando *C. thous* no bioma da Caatinga (Paraíba), sendo este o terceiro registro do subgênero na América do Sul. Essa nova espécie difere das outras registradas por possuir maior número de espinhos ao longo do corpo, variando de 130 a 150 espinhos cuticulares, enquanto as outras espécies do subgênero chegam ao máximo a 140 espinhos; há diferenças também na morfologia da cauda do macho, com *P. (M) pluripectinata* apresentando papilas pré e pós-cloacais que caracterizam a espécie. Finalmente, este representa o primeiro registro da espécie no bioma Pantanal com o mesmo hospedeiro na descrição original, aumentando assim a distribuição geográfica conhecida para o helminto.

Descrição Taxonômica

Spirocercidae Chabaud, 1975

Spirocerca Railliet and Henry, 1911

Spirocerca lupi Railliet and Henry, 1911

Figuras (21-28)

Descrição Geral: As análises morfológicas e morfométricas foram baseadas em treze espécimes, sete machos e seis fêmeas coletados do intestino do cachorro-do-mato. Os espécimes apresentam região cefálica igual para ambos os sexos com cápsula bucal curta e em forma de ampulheta (Figura 21 e 26). O corpo apresenta asas laterais que se iniciam na região cefálica alcançando a região posterior e formando duas asas caudais laterais nos machos (Figura 22 e 25). As fêmeas

apresentam cauda afilada sem expansões laterais, e a vulva na região mediana do corpo (Figura 23). Os machos apresentam tamanho corporal de 3,24-4,4 (3,61) de comprimento e 0,14-0,17 (0,15) de largura e o esôfago mede 1,53-1,72 (1,67) de comprimento. Na região posterior ventral observa-se ornamentação caracterizada pela presença de cristas longitudinais (Figura 22, 25 e 27) e na cauda encontram-se quatro pares de papilas pedunculadas pré-cloacais e dois pares de papilas pós-cloacais pedunculadas, bem como cinco pequenas papilas na ponta da cauda (Figuras 22, 25 e 27). Os espículos apresentam tamanhos diferentes, com o espículo maior medindo 0,60-0,81 (0,75) de comprimento e apresentando a ponta em formato de anzol; o espículo menor mede 0,16-0,26 (0,23) de comprimento com ponta sutilmente afilada (Figura 22 e 25).

As fêmeas são maiores que os machos e tem dimensões do corpo de 5,36-6,19 (5,84) de comprimento e 0,19-0,21 (0,20) de largura, com esôfago medindo 0,72-1,59 (0,94) de comprimento. A cauda é afilada, com ânus subterminal e extremidade posterior apresentando uma expansão de forma arredondada. Os ovos são pequenos, alongados, elipsóides, com casca espessa e translúcida, contendo larva em formato de “U”, o que lhes dá a aparência de “clip” de papel, medindo 0,33-0,38 (0,35) de comprimento por 0,14-0,19 (0,16) de largura (n=15) (Figura 24 e 28).

Sumário Taxonômico

Hospedeiro: Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766.

Localidade: BR 262, Mato Grosso do Sul, Brasil (S20 28.049` W055 12.126`).

Local de infecção: intestino delgado

Material: Parátipo (CHIOC 35872).

Considerações taxonômicas: A espécie *Spirocerca lupi* tem sido relatada em todo o mundo, parasitando canídeos e felinos domésticos e silvestres e causando nódulos esofágicos malignos que se transformam em sarcoma e subsequente metástase para outros órgãos (van der Merwe et al., 2008). No Brasil, este nematódeo tem sido relatado em alta prevalência principalmente em cães domésticos; entretanto, há registro no cachorro-do-mato por Santos et al., 2012 na Serra do Cipó, Estado de Minas Gerais. Essa espécie tem como características para sua identificação a presença de uma papila cervical, número de papilas caudais (quatro pares de papilas pré cloacais, dois pares de pós cloacais e cinco pequenas papilas na ponta da cauda) e dois espículos de tamanhos diferentes. O registro da morfologia do

maior espículo com ponta em formato de anzol está sendo feito pela primeira vez, pois até o momento os dados da literatura não informavam esta morfologia.

Descrição Taxonômica

Ascaridiidae Travassos, 1919

Ascaridia Dujardin, 1845

Ascaridia galli (Schrank, 1788) Freeborn, 1923.

Figuras (29-35)

Descrição Geral: a descrição é baseada em 2 espécimes fêmeas coletados do intestino grosso do cachorro-do-mato. As fêmeas apresentam corpo longo, espesso, com estriações transversais medindo 35,64-55,47(45,56) de comprimento e 0,86-0,91(0,88) de largura. Na região cefálica encontram-se 3 lábios sem dentículos (Figura 29 e 34); o esôfago mede 2,72 (n=1) de comprimento com válvula proeminente (Figura 30). Na extremidade posterior, a cauda é afilada e o ânus é subterminal (Figura 31 e 33). A distância do ânus até a extremidade posterior mede 1,45. As fêmeas apresentam o corpo preenchido por ovos arredondados, com membrana externa espessa, lisa e translúcida e membrana interna fina que recobre o embrião. Os ovos medem 0,77 de comprimento por 0,55 de largura (n=19) (Figura 31 e 35).

Sumário Taxonômico

Hospedeiro: Cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766.

Localidade: BR 262, Mato Grosso do Sul, Brasil (S20 28.049` W055 12.126`).

Local de infecção: intestino grosso

Material: Parátipo (CHIOC 35870).

Considerações Taxonômicas: A espécie *Ascaridia galli* foi identificada por (Schrank) Freeborn (1923) e batizada com o nome *Ascaris galli*. Estes autores se basearam em comparações deste espécime com outra espécie, *Ascaris teres* parasito de cães, gatos e aves (Ramadan e Znada, 1992). *A. galli* tem sido relatada no Brasil em diferentes regiões geográficas sendo frequente o parasitismo em ave doméstica *Gallus gallus* (Vicente et al. 1997). Em mamífero há um relato de infecção por *A. galli* em um gato doméstico (*Felis catus domesticus*) no Rio de Janeiro (Langenegger e Lanzeieri, 1963; 1965). Mangini et al. (2002) relataram a ocorrência de *Ascaridia gali* em *C. thous* no estado do Paraná; entretanto essas observações foram baseadas na morfologia de ovos através de exames coproparasitológicos. Os dados morfológicos e morfométricos das duas fêmeas estudadas neste trabalho não foram suficientes

para identificar a espécie, sendo possível chegarsomente à família Ascaridiidae. Entretanto, com auxílio da técnica molecular através do alinhamento da seqüência consenso obtida, pode-se diagnosticar que o helminto estudado é *Ascaridia galli* com 99% de máxima identidade com os dados comparados depositados no GeneBank. Com isso o presente trabalho apresenta um novo relato deste parasito em *C.thous* e sendo mais uma vez o primeiro relato para *C. thous* no bioma Pantanal.

Adicionalmente à descrição morfológica, foi feita análise molecular dos espécimes coletados, uma vez que somente espécimes fêmeas foram coletadas, impossibilitando a identificação da espécie. Com isso, parte do espécime foi submetida ao sequenciamento molecular. Após obtenção da seqüência de consenso, comparou-se com as seqüências registradas no GeneBank e obteve-se 99% de máxima identidade com a espécie *Ascaridia galli* registrada no GeneBank.

4.4 Discussão

Embora os helmintos encontrados neste estudo já tenham sido descritos anteriormente em *C.thous*, os dados obtidos dos helmintos encontrados e identificados parasitando este hospedeiro demonstram que o conhecimento sobre a helmintofauna desta espécie de canídeo ainda é deficiente a região do Pantanal, onde o relato dessas espécies está sendo realizada pela primeira vez, aumentando assim a distribuição geográfica destes nematódeos estudados.

A ocorrência das espécies do gênero *Ancylostoma* são freqüentemente relatadas e com alta prevalência em estudos com cães domésticos e silvestres (Labruna et al., 2006; Santos, 2012) principalmente a espécie *A. caninum*. Entretanto, relatos da espécie *A. buclkeyi* já foram realizada cachorro-do-mato recentemente por Santos (2003) e Duarte (2007) nas cidades de Itatinga, São Paulo e em Juiz de Fora, Minas Gerais, respectivamente. Neste estudo, é confirmada a ocorrência de *A. buckleyi* em *C. thous* por dados morfométricos e principalmente morfológicos da região anterior do aparato bucal.

Os dados de ocorrência desta espécie e também de outras espécies pertencentes ao gênero *Ancylostoma* sugere que o parasitismo por esses nematódeos ocorre frequentemente devido ao ciclo de vida e transmissão direta por infecção cutânea deste parasito através da larva migrans sendo fácil contato e infecção e não dependendo diretamente de um hospedeiro intermediário para

transmissão do parasito, além das larvas infectantes possuírem resistência ao ambiente de clima úmido.

Duas espécies do subgênero *Pterygodermatites* (*Multiplectines*) foram descritas parasitando *C. thous*, a espécie *Pterygodermatites* (*Multiplectines*) *pluripectinata* por Hoppe et al. (2010) e *Pterygodermatites* (*Multiplectines*) *affinis* por Lima (2009). Neste estudo, identificamos *P. (M) pluripectinata* por características morfológicas da cauda do macho, como os números de papilas e também número de placas laterais na fêmea com aproximadamente 150 placas, caracterizando a espécie e distinguindo da espécie *P(M) affins*. Alguns autores sugerem que esta subespécie possa ter sido introduzida pelo *C. thous* no continente, uma vez que registros fósseis indicam que este gênero já existia na América do Norte e Central e se dispersou para o sul através de canídeos ancestrais (Wang et al., 2004, Hoppe et al., 2010). Adicionalmente, a infecção deste parasito e de espécies do gênero pode ocorrer também com frequência neste hospedeiro devido a estes parasitos terem uma diversidade de hospedeiros intermediários, como insetos e por estes serem grande parte da dieta do *C. thous* no Pantanal (Bianchi et al 2013, no prelo).

Labruna et al. (2006) relata parasitismo de *Spirocerca lupi* em cães domésticos em diferentes regiões geográficas no Brasil e recentemente Santos et al. (2012) relataram este parasito tanto em cães domésticos quanto em cães silvestres, com relato em cachorro-do-mato na região da Serra do Cipó. Nesse estudo foi identificado este nematódeo pelas características morfológicas da cauda do macho, como o número e disposição das papilas pré e pós cloacais. Este nematódeo apresenta ampla distribuição no mundo e é prevalente em área de clima úmido; entretanto a sua prevalência pode ser afetada por fatores como a proximidade do hospedeiro intermediário como os besouros e paratênico como aves selvagens, lagartos, roedores, ouriços e coelhos; ou seja, exposição dos canídeos a estes animais pode aumentar transmissão deste parasito (Lobetti, 2000). Com isso, pode-se sugerir que a infecção por *S. lupi* em *C. thous* pode ser pela dieta generalista do *C. thous* principalmete ingestão de besouros, lagartos e roedores como citados acima, aumentando a exposição a esses hospedeiros e facilitando a infecção. O dado deste estudo é importante por adicionar dados deste parasitismo em cães silvestres, especialmente em *C. thous*, e por ampliar a distribuição geográfica deste parasito.

A identificação da espécie *Ascaridia galli* só foi possível através da análise molecular, pois somente tínhamos espécimes fêmeas que foram identificadas ao nível da família Ascaridiidae por apresentarem três lábios proeminentes sem dentículos. O relato de parasitismo por esta espécie é comum em aves domésticas e silvestres, porém Mangini et al. (2002) relatam a ocorrência de *A.galli* em *C. thous*; esse relato, no entanto, foi baseado apenas em achados de ovos em exames coproparasitológicos. Assim, até momento, não havia comprovação de ocorrência de *A. galli* adulto em *C. thous*. Este estudo confirma então a ocorrência deste parasito em mamíferos e em especial em *C.thous*; sugere-se ainda que esta infecção possa ocorrer devido ao contato do *C. thous* com os outros hospedeiros, tais como as aves e também ingestão como parte da dieta.

Além de contribuir para o melhor conhecimento da distribuição geográfica das espécies de helmintos aqui identificadas, a descrição detalhada de estruturas que ainda não haviam sido caracterizadas contribui para a identificação correta das espécies em estudos futuros. Finalmente, sugere-se que os estudos sobre a fauna helmintológica de *C. thous* sejam intensificados no bioma Pantanal, principalmente porque as densidades dessas espécies são altas neste bioma (Bianchi, 2009) e a taxa de atropelamentos também é alta (Casella, 2010). De fato, recomendo fortemente o uso de animais atropelados e/ou encontrados mortos para estudos helmintológicos, dado que muitas vezes é possível o aproveitamento de material e, a helmintofauna de muitas espécies frequentemente atropeladas ainda é pouco conhecida. Este capítulo, bem como o anterior, ilustra bem como o aproveitamento de tais animais pode contribuir significativamente para o desenvolvimento do campo da helmintologia no Brasil. Pode-se concluir o quanto é importante o estudos e relato de helmintos parasitando este hospedeiro para que possamos entender melhor a relação parasito-hospeiro e como ocorrem as infecções sendo informações importantes para futuras intervenções e controles.

4.5 Conclusão

- Foram identificadas quatro espécies de nematódeos no cachorro-do-mato do Pantanal do Mato Grosso do Sul.
- As espécies identificadas foram redescritas por morfologia e morfometria com auxílio da microscopia de luz.

- A espécie *Ascaris galli* foi identificada por sequências nucleotídicas 18S ribossomal e por comparação de máxima identidade pelo banco de dados GeneBank e confirma ocorrência deste parasito em mamíferos, especialmente em *C.thous*
- Os dados de ocorrências das quatro espécies identificadas no presente estudo amplia distribuição geográfica destas espécies em *C.thous*.

4.6 Referências Bibliográficas

- Ackert, J.E., Whitlock, J.H., Freeman, A.E. 1940. The food of the fowl nematode, *Ascaridia lineata* (Schneider). *The Journal of Parasitology* 1: 17-32.
- Akinyemi, J.O., Ogunji, F.O. 1980. A Case of adult *Ascaridia galli* in hen's egg. *International Journal of Zoonose* 7: 171-172
- Anatarman, M., Krishna, S. 1966. Experimental spirocercosis in dogs with larvae from a paratenic host, *Calotes versicolor*, the common garden lizard in Madras. *Journal of Parasitology*, 52: 911–912
- Anderson, R.C. 2000. Nematode parasites of vertebrates, their development and transmission. CABI, UK.
- Anderson, R.C, Chabaud, A.G., Willmott, S. 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Archival Volume. CAB International, Wallingford, UK; p. 463.
- Bailey, W.S, Cabrera, D.J, Diamond, D.L. 1963. Beetles of the family Scarabaeidae as intermediate hosts for *Spirocerca lupi*. *Journal of Parasitology* 49: 485-488.
- Beldomenico, P.M., Kinsella, J.M, Uhart, M. M., Gutierrez, G.L., Pereira, J., Ferreyra, H. D., Marull, C. A. 2005. Helminthes of Geoffroy's cat, *Oncifelis geoffroyi* (Carnivora, Felidae) from the Monte Desert, central Argentina. *Acta Parasitologica* 50: 263-266.
- Bianchi, R. C. 2013. Intraspecific, interspecific, and seasonal differences in the diet of three mid-sized carnivores in a large neotropical wetland. *Acta Theriologica* (in press.).
- Bianchi, R.C. 2009. Ecologia de mesocarnívoros em uma área do Pantanal Central, Mato Grosso do Sul. Tese de Doutorado - Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, UFMS.
- Bowmann, D. D. 1999. Georgis. Parasitology for veterinarians. 7th Edition. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- Brodey, R. S., Thompson, R. G., Sayer, P. D., Eugster, B. 1977. *Spirocerca lupi* infection in dogs in Kenya. *Veterinary Parasitology* 3: 49–59.

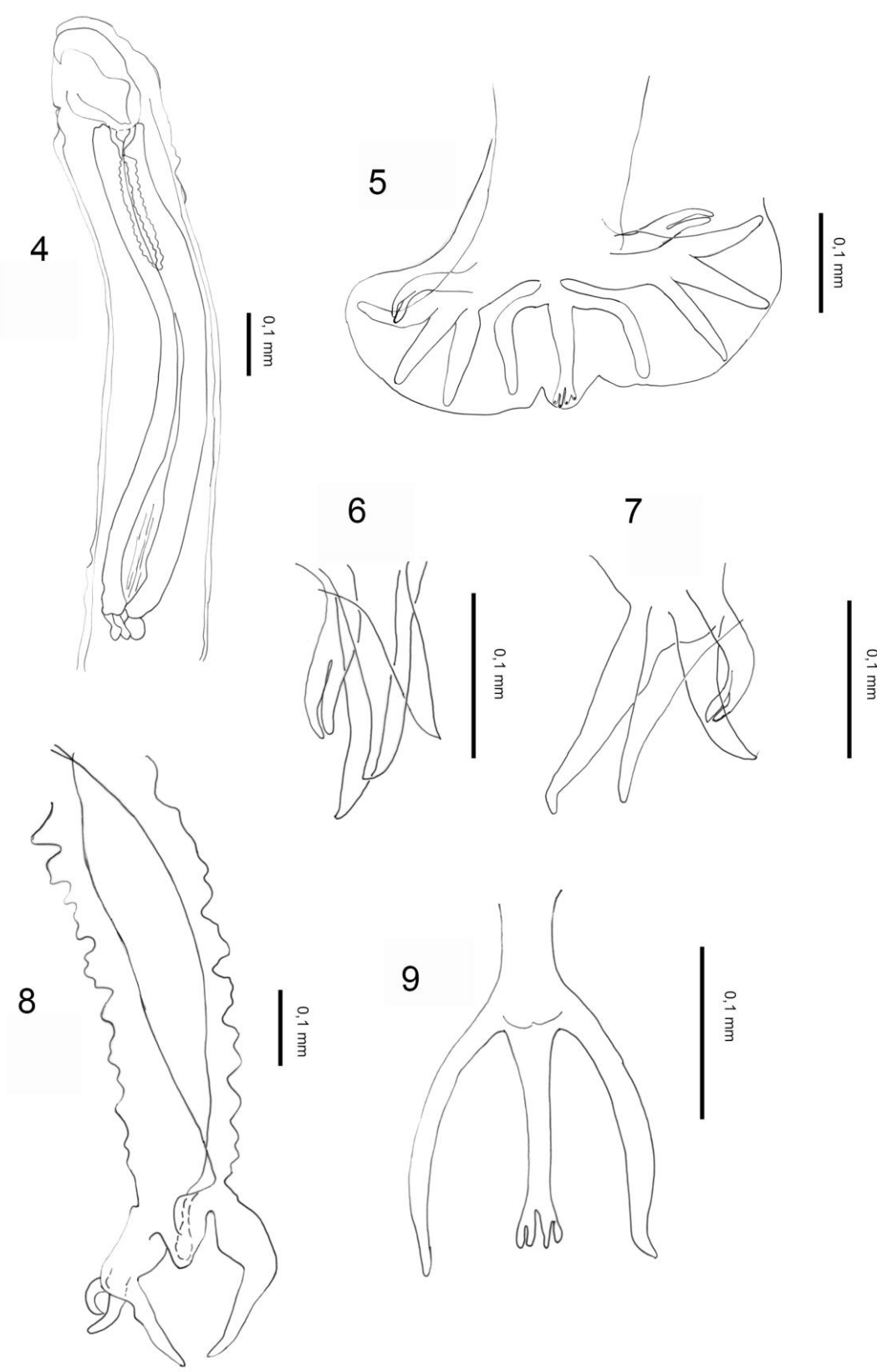
- Bush, A. O., Fernández, J. C., Esch, G. W., Seed, J. R. 2001. Parasitism. The diversity and ecology of animals parasites. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 106-210.
- Casella, J. 2010. Influência da BR-262 no desflorestamento e na perda da fauna silvestre por atropelamentos no Sudoeste do Brasil, MS. Tese de Doutorado- Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, UFMS.
- Chitwood, B. G. 1974. Introduction of Nematology. University Park Press.
- Curi, N.H.A., Araújo, A.S, Campos, F.S, Lobato, Z.I.P, Gennari, S.M., Marvulo, M.F.V.,Silva, J.C.R, Talamoni, S.A. 2010. Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: disease threats for canid conservation. Biodiversity and Conservation 19: 3513–3524.
- Dixon, K., McCue, J. F. 1967. Further observations on the epidemiology of *Spirocerca lupi* in the south eastern United States. Journal of Parasitology 53: 1074–1075.
- Duarte, H. F. 2007. Helminthofauna em *Cerdocyon thous* Linnaeus,1766 (CARNIVORA, CANIDAE) na região de Juiz de Fora, Minas Gerais. Dissertação: de Mestrado – Universidade Federal de Juiz de Fora;
- Duarte, M. J. F. 1981. Helintos parasitos dos animais domésticos no Estado do Rio de Janeiro. Arquivos da Escola Veterinária de Minas Gerais 33 (1): 67-98
- Dvir, E., Kirberger, R. M., Malleczek, D. 2001. Radiographic and computed tomographic changes and clinical presentation of spirocercosis in the dog. Veterinary Radiology and Ultrasound 42: 119–129.
- Ferdushy, T., Nejsun, P., Roepstorff, A., Thamsborg, S. M., Kyvsgaard, N. C. 2012. *Ascaridia galli* in chickens: intestinal localization and comparison of methods to isolate the larvae within the first week of infection. Parasitology Research 111:2273–2279.
- Fok, E., Szatmári, V., Busák, K., Rozgonyi, F. 2001. Epidemiology: Prevalence of intestinal parasites in dogs in some urban and rural areas of Hungary. Veterinary Quarterly 23: 96-98.
- Fortes, E. Helminthologia. In: Parasitologia Veterinária. 3. ed. São Paulo: Ícone, 1997 p.153-426
- Freitas, M. F. L., Oliveira, J. B., Volcanti, M. D. B., Leite, A. S., Magalhães, V. S., Oliveira, R. A., Sobrino, A. E. 2002. Parasitos gastrointestinales de aves silvestres en cautiverio en el estado de Pernambuco, Brasil. Parasitologia Latinoamericano 57 (1-2): 50-54.
- Freitas, M. G. 1984. Helminthologia veterinária. Belo horizonte: Rabelo, p. 396.

- Giovannoni, M., Kubiak, G. V. L. 2001. Fauna Parasitológica Paranaense: IV. Lista Prévia da Ocorrência de Helmintos em Animais Domésticos. *Brazilian Archives of Biology Technology* 289-292.
- Griese, J. 2007. Helmintofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de Botucatu, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Programa Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo-UNESP, São Paulo.
- Herd, R. P., McNaught, D. J. 1975. Arrested development and the histotropic phase of *Ascaridia galli* in the chicken. *International Journal for Parasitology* 5: 401-406.
- Hoppe, E. G., De Lima, C. A., Tebaldi, J. H., Nascimento, A. A. 2010. *Pterygodermatites (Multipectines) pluripectinata* n. sp. (Spirurida: Rictulariidae), a nematode parasite of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) from Caatinga shrubland, Brazil. *Journal of Helminthology* 84: 312-316.
- Hotez, P. J., Trang, N. L., McKerrow, J. H., Cerami, A. 1985. Isolation and characterization of a proteolytic enzyme from the adult hookworm *Ancylostoma caninum*. *The Journal of Biological Chemistry* 250: 7343-7348.
- Jiménez, F. A., Patterson, B. D. 2012. A new species of *Pterygodermatites* (Nematoda:Rictulariidae) from the incan shrew opossum, *Lestoros inca*. *Journal of Parasitology* 98(2): 604-607.
- Katakam, K. K., Nejsun, P., Kyvsgaard, N. C., Jorgensen, C. B., Thamsborg, S. M. 2010. Molecular and parasitological tools for the study of *Ascaridia galli* population dynamics in chickens. *Avian Pathology* 39(2): 81-85.
- Labruna, M. B., Pena, H. F. J., Souza, S. L. P., Pinter, A., Silva, J. C. R., Ragozo, A. M. A. 2006. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Arquivos Instituto Biológico São Paulo* 73(2): 183-193.
- Langenegger, J., Lanzieri, P. D. 1963-1965. Incidência e intensidade de infestação de helmintos em *Felis catus domesticus* do Rio de Janeiro. *Veterinária, Rio de Janeiro* 16-18: 77-89.
- Leitão, J. S. 1983. Parasitologia veterinária. V. 2., 3.Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. p. 878.
- Levine, N. D. 1968. Nematode parasites of domestic animals and man. Burgess, USA.
- Lima, A. C. R. 2009. Helmintos Gastrointestinais de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) Smith, 1839 provenientes da área de caatinga do estado da Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo–UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo.

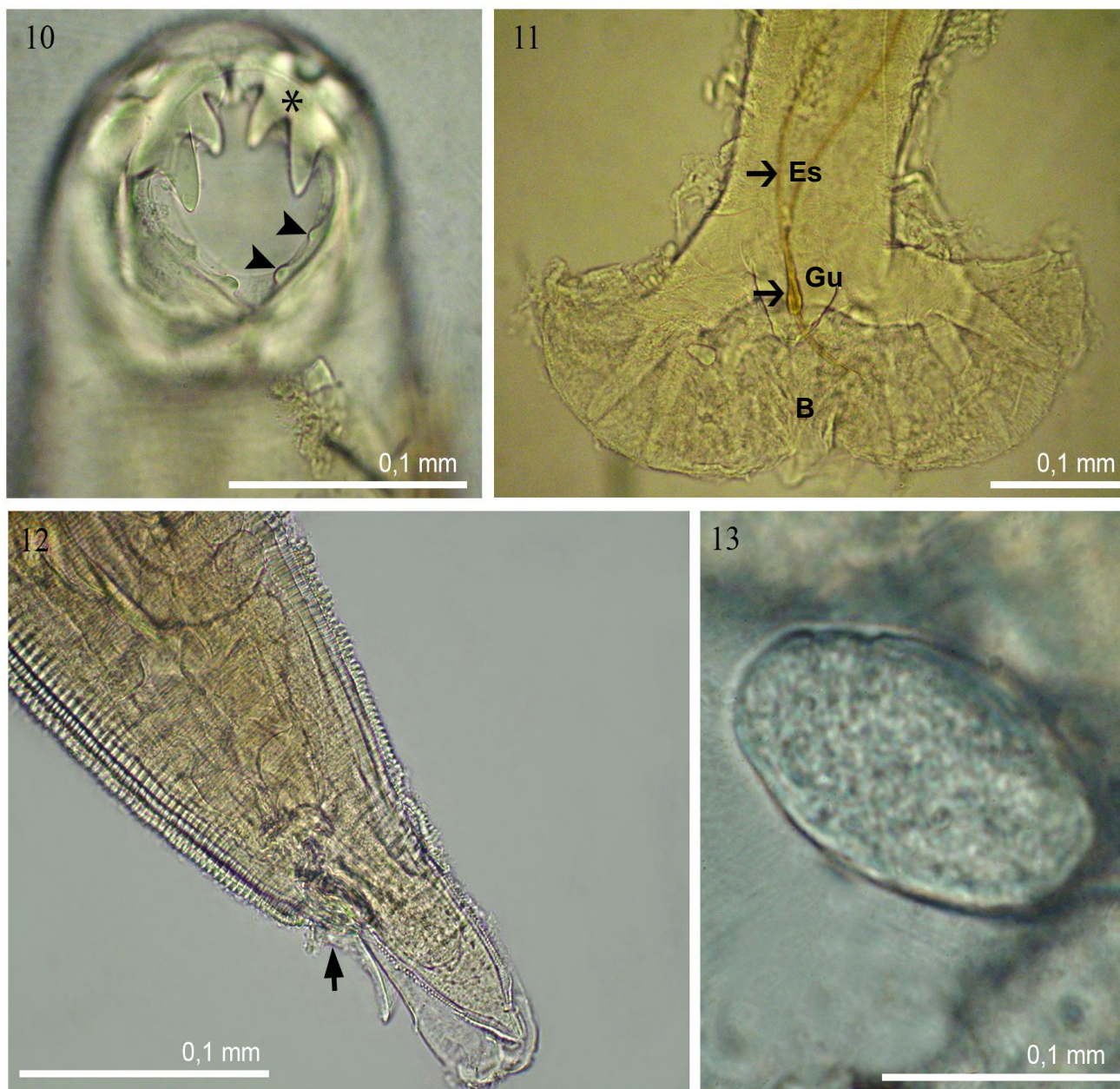
- Lobetti, R. G. 2000. Survey of the incidence, diagnosis, clinical manifestations and treatment of *Spirocerca lupi* in South Africa. *Journal of South African Veterinary Association* 71: 43-46.
- Machado, H. H. S., Lemos, L. S, De Almeida , L. G, de Mattos Júnior, D. G. 2007. Ciclo errático de *Ascaridia galli* (schrank, 1788) em ovo de galinha. *Ciência Animal Brasileira* 8(1).
- Mangini, P. R, Vidolin, P., Velastin, G. O, Uchoa, T., Fernandes, T. M., Thomaz-Socol, V. 2002. Evaluación sanitaria de los carnívoros salvajes de la Reserva Natural Salto Morato, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. *Jornada Argentinas de Mastozoología, Mar del Plata, Argentina, 18-20 de Novembro, p.64.*
- Marietto Goinçaves, G. A., Martins, T. F.; Lima, E. T.; Lopes, R. S., Andretti Filho, R. L. 2006. Prevalência de endoparasitas em amostras fecais de aves silvestres e exóticas examinadas no Laboratório de Ornitopatologia e no Laboratório de Enfermidades Parasitárias da FMVZ-UNESP/Botucatu-SP. In: XV Congresso Paulista de Zoológicos, 2006, São Pedro-SP. *Anais do XV Congresso Paulista de Zoológicos,*
- Mazaki-Tovi, M., Baneth, G., Aroch, I., Harrus, S., Kass, P. H., Ben-Ari, T., Zur, G., Aizenberg, I., Bark, H., Lavy, E. 2002. Canine spirocercosis: clinical, diagnostic, pathologic and epidemiologic characteristics. *Veterinary Parasitology* 107: 235-250.
- Mazaki-Tovi, M., Baneth, G., Aroch, I., Harrus, S., Kass, P. H., Ben-Ari, T., Zur, G., Aizenberg, I., Bark, H., Lavy, E. 2002. Canine spirocercosis: clinical, diagnostic, pathologic and epidemiologic characteristics. *Veterinary Parasitology* 107: 235-250.
- Mylonakis, M. E., Koutinas, A. F., Liapi, M. V., Saridomichelakis, M. N., Rallis, T. S. 2001. A comparison of the prevalence of *Spirocerca lupi* in three groups of dogs with different life and hunting styles. *Journal of Helminthology* 75: 359–361.
- Oliviera-Sequeira, T. G. C., Amarante, A. F. T., Ferrari, T. B., Nunes, L. C. 2002. Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 103: 19–27.
- Padilha, T.N., Duarte, M.J.F. 1980. *Ancylostoma buckleyi* Le Roux and Biocca, 1957 no Estado de Pernambuco, Brasil. *Atas da Sociedade de Biologia, Rio de Janeiro* 21: 3-4.
- Pence, D. B., Stone, J. E. 1978. Visceral lesion in wild carnivores naturally infected with *Spirocerca lupi*. *Veterinary Pathology* 15: 322-331.
- Permin, A., Pearman, M., Wansen, P., Bisgaard, M. F., Frandsen, F. 1997. On investigation in different media for embryonation of *Ascaridia galli* eggs. *Helminthologia* 34: 75-79.
- Pinto, R. M., Knoff, M., Gomes, D. C, Noronha, D. 2011. *Neotropical Helminthology* 5(2): 139-183.

- Quentin, J. C. 1969. Essai de classification des Nématodes Rictulaires. Mémoires Museum National Histoire Naturelle 54: 57-115.
- Ramachandran, P. V., Shakir, S. A., Ramakrishnan, R. 1984. Spirocercosis in canines – a necropsy survey. Cheiron Tamil Nadu Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry 13: 132–135.
- Ramadan, H.H., Znada, N.Y.A. 1992. Morphology and life history of *Ascaridia galli* in the domestic fowl that are raised in Jeddah. Journal of King Abdulaziz University 4: 87-99.
- Rey, L. Parasitologia. 2008. Ed: Guanabara Koogan.
- Rey, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 1991. Ed: Guanabara Koogan, p. 731.
- Rodrigues S.S., Borgo P.F., Tavares L.E.R., Souza T.D. 2006. Análise qualitativa e quantitativa de helmintos gastrintestinais de *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnívora: Canidae) encontrados atropelados na rodovia ES 060, Vila Velha–Guarapari, Espírito Santo, Brasil. Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Ribeirão Preto, Brasil, 3-6 setembro, p. 297.
- Ruas, J. L., Muller, G., Farias, N. A. R.; Gallina, T., Lucas, A. S., Pappen, F. G., Sinkoc, A. L., Brum, J. G. W. 2008. Helmintos do cachorro do campo, *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) e do cachorro do mato, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária 17: 87-92.
- Santos, J. L. C., Magalhães, N. B., Andrade dos Santos, H., Ribeiro, R. R., Guimarães, M. P. 2012. Parasites of domestic and wild canids in the region of Serra do Cipó National Park, Brazil. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária, Jaboticabal 21(3): 270-277.
- Santos, K.R. Dos., Catenacci, L.S., Pestelli, M.M., Takahira, R.K., Lopes, R.S.; Silva, R.J. Da. 2003. First Report of *Ancylostoma buckleyi* Le Roux and Biocca, 1957 (Nematoda: Ancylostomatidae) infecting *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Mammalia: Canidae) from Brazil. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária 12(4): 179-181.
- Setasuban, P. 1976. Morfology of *Ancylostoma buckleyi* Le Roux and Biocca, 1957 in dogs from Cainns, North Queensland, Australian. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 7(1): 45-49.
- Smyth, J. D. 1994. Introduction to Animal Parasitology. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 3rd Edition.
- Soulsby, E. J. L. 1982. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th edn. East Sussex: Ballie´re Tindall, London, UK.
- Thatcher, V. E. 1971. Some hookworms of the genus *Ancylostoma* from Colombia and Panama. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 38: 109-116.

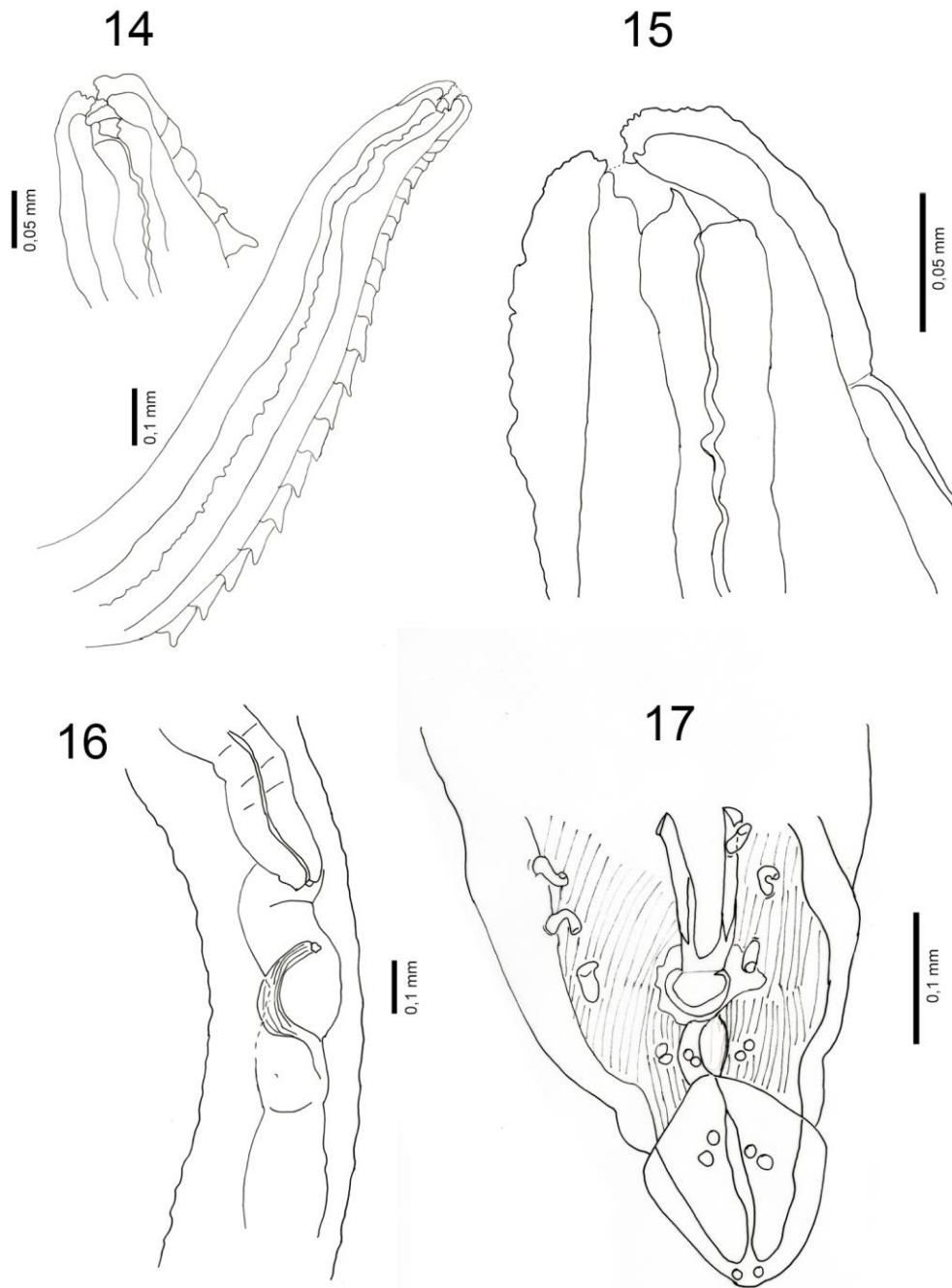
- Tkaach, V. V., Swiderski, Z. P. 1996. Scanning electron microscopy of the rare nematode species *Pterygodermatites bovieri* (Nematoda: Rictatuliriidae), a parasite of bats. *Folia Parasitologica* 43: 301-304.
- Torres, E. L., Maldonado, A., Lanfredi, M. 2007. *Pterigodermatites (Paucipectines) jagerskioldi* (Nematoda: Rictulariidae) from *Gracilinanus agilis* and *G. microtarsus* (Marsupialia: Didelphidae) in Brazilian Pantanal and Atlantic Forest by light and scanning electron microscopy. *Journal of Parasitology* 93: 274-279.
- Traub, R. J., Robertson, I. D., Irwin, P., Mencke, N., Andrew Thompsom, R. C. 2004. Application of species-specific PCR-RFLP to identify *Ancylostoma* eggs directly from canine eggs. *Veterinary Parasitology* 123: 245-255.
- Tugwell, R. L., Ackert, J. E. 1952. On the tissue phase of the life cycle of the fowl nematode *Ascaridia galli* (Schrank). *The Journal of Parasitology* 4: 277-288
- van der Merwe, L. L., Kirberger, R. M., Clifts, S., Williams, M., Keller, N., Naidoo, V. 2008. *Spirocerca lupi* infection in the dog: a review. *The Veterinary Journal* 176 294-309.
- Vicente, J.J., Rodrigues, H.O., Gomes, D.C., Pinto, R.M. 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: nematóides de mamíferos. *Revista Brasileira Zoologia* 14 suppl.1:1-452.
- Waal, P. J., Gous, A., Clift, S. J., Greeff, J. M. 2012. High within-host genetic variation of the nematode *Spirocerca lupi* in a high-density urban dog population. *Veterinary Parasitology* 187: 259-266.
- Wang, X., Tedford, R. H. 2004. The behavioral biology of dogs. In Jensen, P. (Ed.) *Evolutionary history of canids*. Trowbridge, Cromwell Press. p. 1-20.



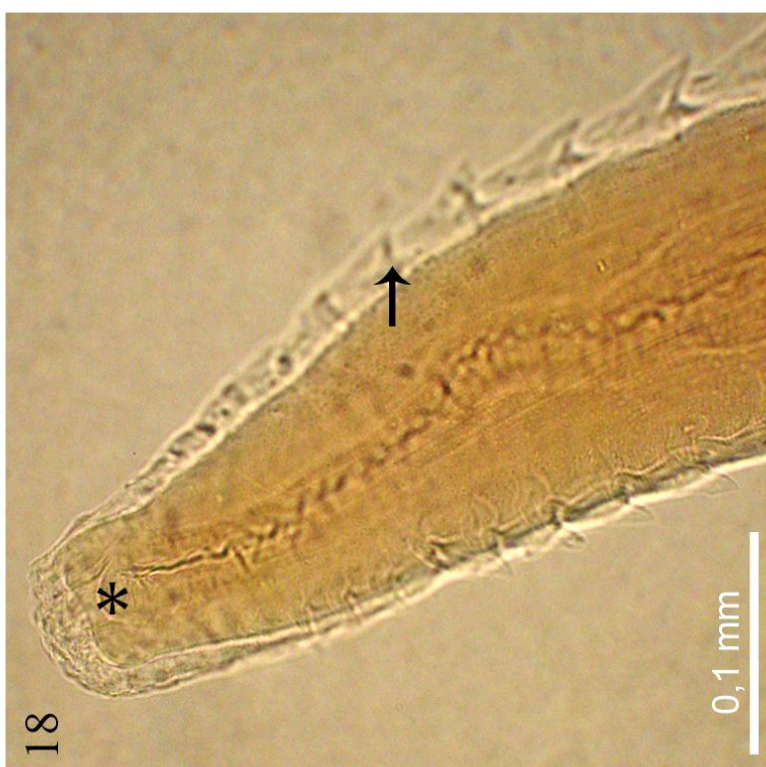
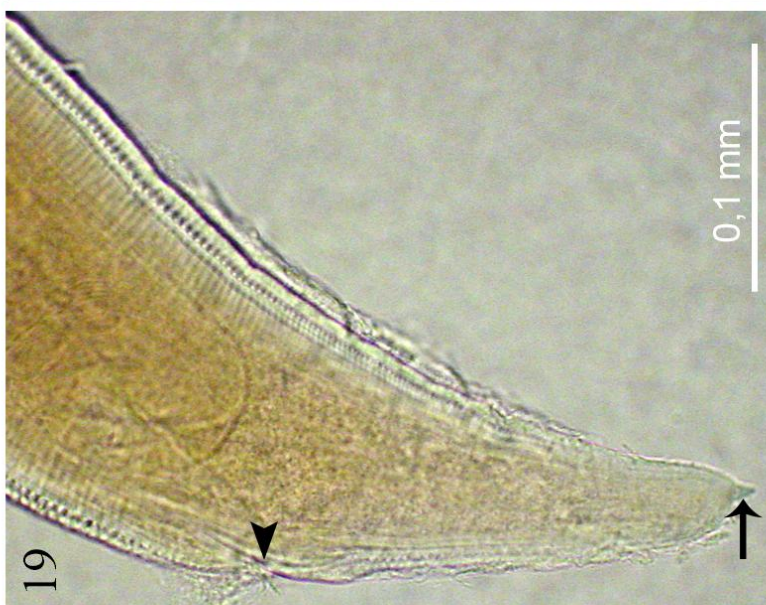
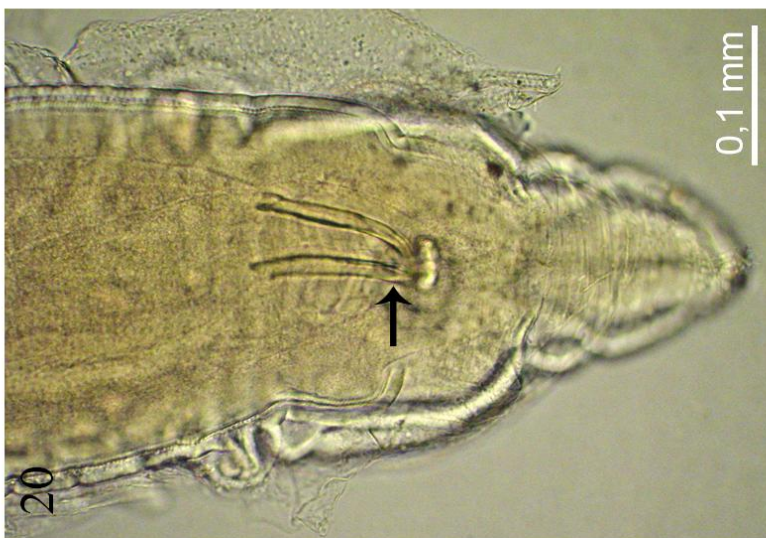
Figuras 4–9. *Ancylostoma buclkeyi*. (4) Visão lateral da extremidade anterior mostrando o aparato bucal e o esôfago; (5) extremidade posterior do macho mostrando a bolsa copuladora apresentando 2 lóbulos desenvolvidos; (6, 7) raios ventrais bifurcados no terço distal, raio externo-lateral, raio mediano, raio lateral-dorsal e raio externo dorsal nascendo de um tronco comum bifurcando na base e atingindo a margem da bolsa caudal; (8) região posterior do macho apresentando dois espículos e gubernáculo; (9) Raio externo dorsal.



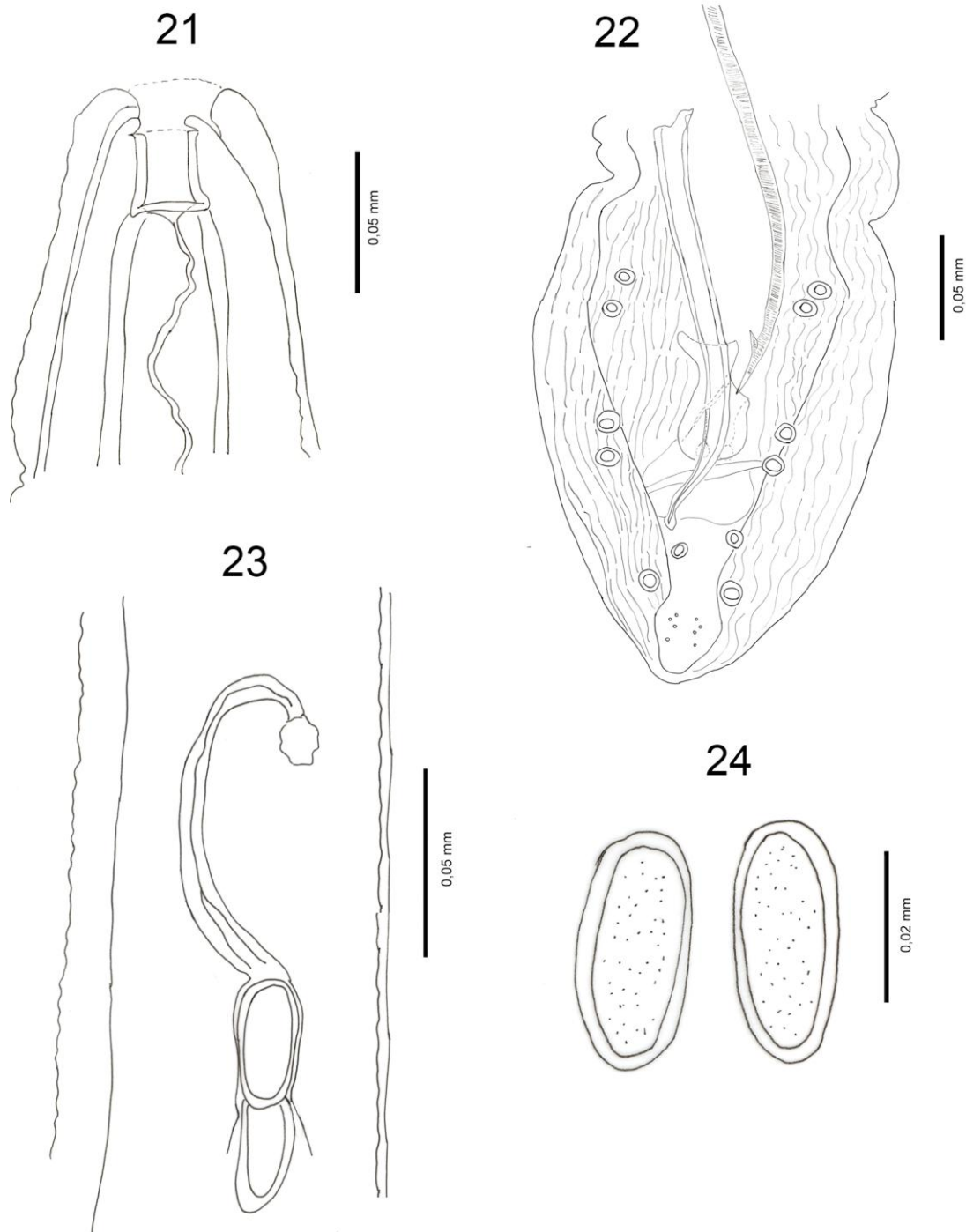
Figuras 10–13. Microscopia Óptica de *Ancylostoma buckleyi* Le Roux & Biocca, 1957. (10) Extremidade anterior de um exemplar fêmea apresentando cápsula bucal com 3 pares de dentes vetro-laterais (asterisco) e 2 pares de dentes dorso-laterais (seta); (11) região posterior do macho apresentando bolsa copuladora (B) com espículos filiformes (Es, seta) e gubernáculo (Gu, seta); (12) região posterior do corpo da fêmea com cauda afilada e ânus subterminal; (13) ovo uterino apresentando uma membrana delgada. Abreviações: Es- Espículo, Gu- Gubernáculo.



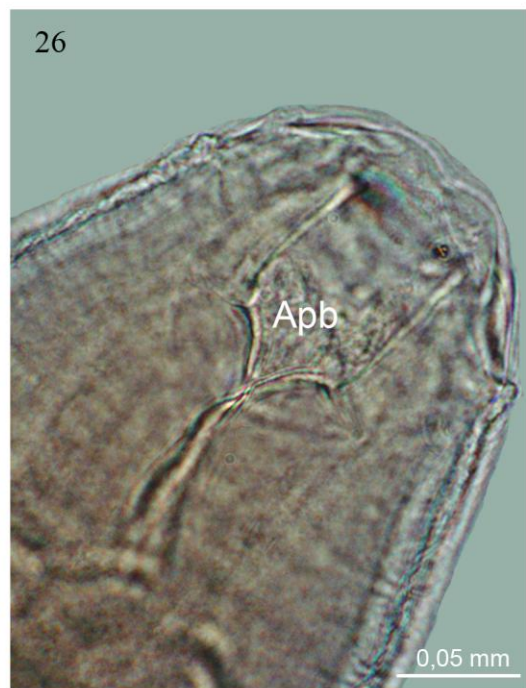
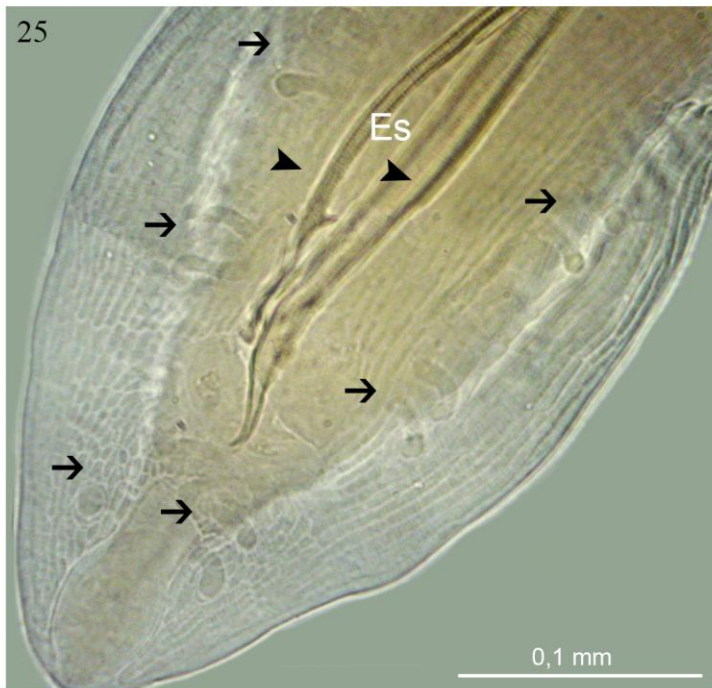
Figuras 14–17. *Pterygodermatites pluripectinata*. (14) Extremidade anterior mostrando aparato bucal e placas laterais ao longo do corpo; (15) cápsula bucal inclinada dorsalmente; (16) vulva situada na região anterior próximo a região distal do esôfago; (17) região posterior do macho apresentando dois espículos com mesmo tamanho, três pares de papilas pré cloacais, quatro pares de papilas pós cloacais e um par na ponta da cauda.



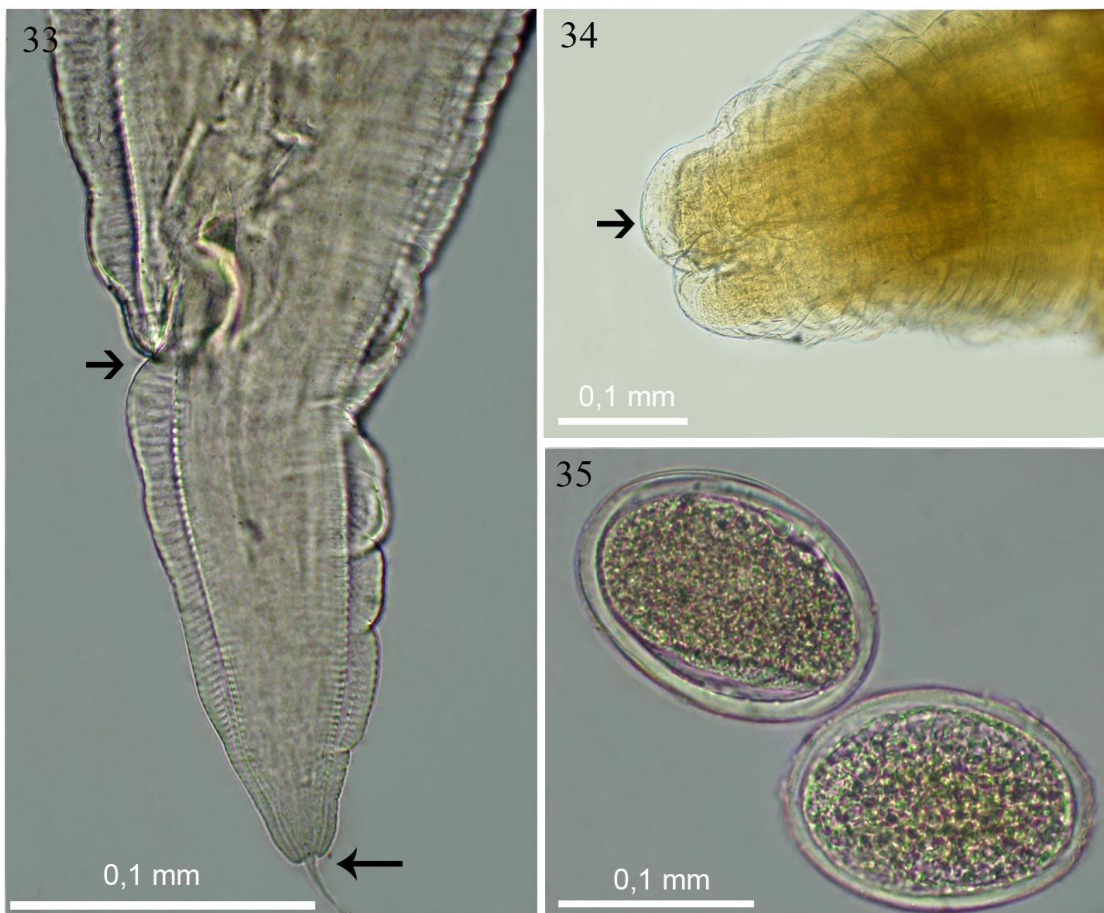
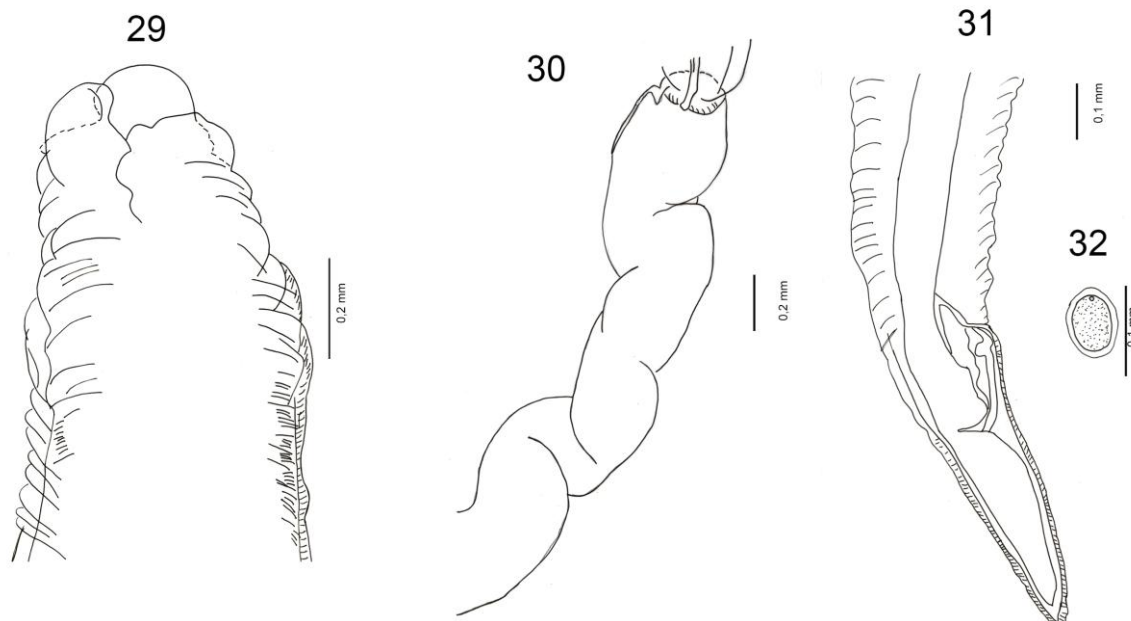
Figuras 18-20. Microscopia Óptica de *Pterygodermatites pluripectinata*. (18) Região anterior apresentando cápsula bucal com abertura inclinada dorsalmente (asterisco), presença de placas laterais do corpo (seta) e esôfago longo; (19) Região posterior da fêmea com cauda afilada, ânus subterminal (ponta de seta) e presença de espinho na ponta da cauda (seta); (20) Região posterior do macho apresentando 2 espículos iguais (seta).



Figuras 21–24. *Spirocerca lupi*. (21) Extremidade anterior de um exemplar macho apresentando cápsula bucal curta com parede espessa em formato de ampulheta; (22) região posterior do macho apresentando dois espículos de tamanho diferente, maior com a ponta em formato de anzol e o menor com ponta afilada, cauda com 4 pares de papilas pré cloacais, 2 pares de papilas pós cloacais e 5 papilas pequenas na ponta da cauda; (23) vulva situada na região anterior do corpo com ovos; (24) ovos elipsóides com membrana espessa e translúcida



Figuras 25-28. Microscopia Óptica de *Spirocerca lupi*. (25) Região posterior do macho apresentando 2 espículos (Es) desiguais em tamanho (ponta de seta), o esquerdo apresentando extremidade em forma de anzol e o direito mais robusto com ponta afilada, asa caudal apresentando seis pares de papilas pedunculadas sendo 4 pares de papilas pedunculadas pré cloacais (seta), 2 pares de papilas pós cloacais (seta); (27) região posterior com a ponta da cauda apresentando 5 pequenas papilas sésseis (seta); (26) Região anterior com cápsula bucal em forma de ampulheta; (28) ovo elipsóide com membrana espessa e embrionado. Abreviações: Es- Espículos, Apb- Aparato bucal.



Figuras 29–32. *Ascaridia galli*. (29) Extremidade anterior apresentando 3 lábios; (30) Esôfago com válvula proeminente; (31) Região posterior da fêmea com ânus subterminal; (32) Ovo com membrana espessa e translúcida. **Figuras 33–35.** Microscopia Óptica de *Ascaridia galli*. (33) Extremidade posterior da fêmea apresentando ânus subterminal (seta aberta) e ponta da cauda com espínho terminal (seta fechada); (34) região posterior apresentando 3 lábios proeminentes; (35) Ovos não alongados com membrana espessa e translúcida.

5 CAPÍTULO 3

Journal of Helminthology
-- Manuscript --

Infection patterns of gastrointestinal helminthes from crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae) in the Brazilian Pantanal Wetlands and relation with biotic and abiotic factors.

A. P. N. Gomes¹, N. Olifiers¹, R.C. Bianchi², M.E. Gompper³, P.S. D'Andrea¹, A. Maldonado Jr^{1*}.

¹ Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestre Reservatório, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. ² Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, Brazil. ³ Department of Fisheries and Wildlife Sciences, University of Missouri, Columbia, USA. *Corresponding author e-mail: maldonad.ioc.fiocruz.br

Abstract

The prevalence of gastrointestinal helminthes parasites in feces of crab-eating fox (*Canidae: Cerdocyon thous*) in the Brazilian Pantanal wetland, Mato Grosso do Sul, was investigated and these were identified by the morphology and quantify the number of their eggs and oocist. Additionally, we studied which factors biotic (sex, age, weight, reproductive period and body size) and abiotic (temperature, relative humidity and rainfall) could influence the infection of *Prosthenorchis* sp. in crab-eating fox, recently species identified in this host. The majority of samples from hosts (95%) were parasitized by helminthes and protozoa oocyst. The eggs of helminthes of the family Trichuridae and genera *Diphyllobothrium* sp. were the most prevalent with 78% and 67% followed by the class Strongylida (33%) and *Prosthenorchis* sp. (26%). The prevalence of *Prosthenorchis* sp. were not influenced by sex ($p=0,797$) or age of these hosts ($p=0,183$). However, the wet season (32,6%) the prevalence was higher than dry season (17,3%) and was significant difference between the seasons ($p=0,058$). In the analysis of abundance by the model, we verified that the factors age and maximum temperature were the factors associated with species abundance of *Prosthenorchis* sp.

5 CAPÍTULO 3

Avaliação de fatores de infecção dos parasitos gastrointestinais de cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae) do Pantanal do Mato Grosso do Sul. (artigo a ser submetido à *Revista Journal Helminthology*)

RESUMO

A prevalência dos parasitos gastrointestinais de cachorro-do-mato (Canidae: *Cerdocyon thous*) do Pantanal do Mato Grosso do Sul foi estimada através da identificação morfológica e quantificação de ovos/ocistos presentes nas fezes dos animais. Adicionalmente, foi estudado quais os fatores bióticos (sexo, idade, peso, período reprodutivo e tamanho do corpo) e abióticos (temperatura, umidade relativa e precipitação) que influenciam a abundância e prevalência de *Prosthenorchis* sp. no cachorro-do-mato. A maioria das amostras dos hospedeiros (95%) estava parasitada por helmintos e/ou protozoários. Os ovos dos helmintos da família Trichuridae e do gênero *Diphyllobothrium* sp. foram os mais prevalentes com prevalências de 78% e 67%, respectivamente, seguido da classe Strongylida (33%) e *Prosthenorchis* sp. (26%). A prevalência de infecção de *Prosthenorchis* sp. não foi influenciada pelo sexo ($p=0,797$) ou idade dos hospedeiros ($p=0,183$). Entretanto, na estação úmida (32,6%) a prevalência foi maior do que na estação seca (17,3%) e houve diferença estatisticamente significativa entre as estações ($p=0,058$). Na análise da abundância, foi verificado que a idade do hospedeiro e temperatura máxima foram os fatores associados a abundância da espécie *P. cerdocyonis* n. sp.

Palavras- chaves: Cachorro-do-mato, helmintos, nematódeos, acanthocéfalos, trematódeos, cestódeos, prevalência.

5.1 Introdução

As helmintíases são importantes devido ao seu impacto a saúde humana e animal, além de sua capacidade de regular/determinar a abundância da população dos animais silvestres (Scott e Lewis, 1987; Hudson et al., 1992; Albon et al., 2002) e influenciar as comunidades de hospedeiros (Michaela e Scott, 1991; Mowlavi et al., 2006), portanto, podendo afetar o funcionamento do ecossistema.

Os helmintos podem apresentar diferentes padrões de transmissão, requisitos ecológicos (Mas-Coma et al., 2008) e diversos são os fatores que influenciam a interação meio ambiente-hospedeiro e parasita-hospedeiro. Fatores abióticos podem afetar populações de helmintos e a dinâmica de transmissão e infecção. Diferenças na temperatura, e umidade podem modificar a distribuição espacial, modificar a biologia da população do parasita e o risco de infecção por parasitos para os hospedeiro intermediários e definitivos (Bush et al., 2001) afetando a viabilidade de ovos e larvas, bem como a prevalência, abundância e densidade destes (Bush et al., 2001). Para muitos parasitas intestinais, os estágios infecciosos no meio ambiente são vulneráveis à variação de temperatura, precipitação e umidade antes de encontrar novos hospedeiros (Gordon et al., 1934; Gillett, 1974). Por exemplo, o estudo de Waller et al. (2004) demonstra que o nematódeo *Haemonchus contortus*, parasito de ovelha, apresenta maior transmissão durante a primavera e verão, necessitando de temperaturas e umidade altas para o seu desenvolvimento no meio ambiente até o estágio infeccioso. Já no inverno, a infecção e o desenvolvimento da larva no hospedeiro aumentam devido à baixa disponibilidade de alimento no ambiente e conseqüente baixa condição fisiológica do hospedeiro, tornando-o suscetível à infecção. Com isso, pode-se verificar que as variáveis climáticas podem afetar a prevalência, intensidade e distribuição geográfica dos helmintos.

Além dos fatores abióticos, fatores bióticos intrínsecos ao hospedeiro tais como tipo de alimentação, preferência de habitat, idade, sexo e sua condição fisiológica podem influenciar a relação parasito-hospedeiro, (Behnke et al., 2001; Krasnov et al., 2005). A variabilidade desses fatores provoca alterações no risco de parasitismo pelo hospedeiro individualmente. Os fatores idade, sexo, massa corporal do hospedeiro vertebrado são alguns dos fatores mais estudados ultimamente na tentativa de entender se estes estão fortemente relacionados com a prevalência e intensidade dos helmintos, por exemplo, os machos de diversas espécies de mamíferos e aves tendem a apresentar abundância, prevalência e/ou riqueza de

espécies mais altas do que fêmeas (Poulin, 1996; Schalk e Forbes, 1997; Soliman et al. 2001; Moore e Wilson, 2002; Rossin e Malizia, 2002; Morand et al. 2004; Krasnov et al., 2011). Este fato é geralmente explicado: a) pela maior mobilidade/área de vida do macho, facilitando o encontro com parasitas (e.g., Brown et al. 1994); b) por diferenças em níveis hormonais pois hormônios esteróides como a testosterona podem influenciar o sistema imune e causar imunossupressão nos machos (Zuk 1996; Zuk e McKean, 1996) contribuindo assim para que sejam mais “favoráveis” como recurso para o parasita (Khokhlova et al. 2009, 2010). Adicionalmente, diferenças adicionais no comportamento, dieta e tamanho corporal entre sexos também pode ser fatores importantes para diferenciar a intensidade do parasitismo em vertebrados (Ferrari, 2005); por exemplo, para muitas espécies os machos tendem a ter maior tamanho de corpo (portanto, maiores demandas energéticas absolutas) e superfície do que fêmeas, fazendo muitas vezes com que se exponham mais a diferentes estágios de infecção dos parasitos (Arneberg et al., 1998; Moore e Wilson, 2002). Além disto, um animal com grande área de vida, como alguns mamíferos, os carnívoros, por exemplo, aumenta a chance de contato com mais parasitas, levando ao aumento riqueza de espécies de parasitas (Mohr e Stumpf, 1964). Da mesma forma, consumo de animais, incluindo insetos, se torna mais susceptível a um maior risco de infecção por parasitas indiretamente transmissíveis, como por exemplo, *Toxoplasma gondii* e helmintos (Woodroffe et al., 2004; Lindenfors et al., 2007). Em adição ao fator alimentação, os hospedeiros com alta massa corporal consomem maior quantidade de alimento e pode então ingerir mais endoparasitas (Lindenfors et al., 2007).

Já o fator idade do hospedeiro, que se reflete na exposição cumulativa ao parasita, se torna um também um importante fator para entender as mudanças na intensidade do parasita (Anderson e Gordon, 1982; Anderson e May, 1991). Estudos mostram que mamíferos de vida mais longa tem mais parasitas (Nunn et al., 2003) e que a intensidade parasitária pode aumentar conforme a idade do hospedeiro, quando estágios infecciosos são freqüentemente adquiridos através do meio ambiente e há falta da resposta imune do hospedeiro (Ferrari, 2005). Por outro lado, alguns hospedeiros apresentam imunidade adquirida, uma resistência adquirida, o que contribuiria para que apresentassem menor prevalência e intensidade de parasitas conforme a idade que apresentam (Bush et al., 2001, Gibson et al., 1970; Barnes e Dobson, 1993).

Apesar dos padrões gerais conhecidos, as controvérsias são muitas e a resposta dos parasitas a fatores bióticos e abióticos variam muitas vezes de maneira inversa ao esperado. Por exemplo, alguns estudos descobriram que mamíferos de vida mais longa tinha menos parasitas (Ezenwa et al., 2006; Morand e Harvey, 2000), enquanto outros autores não encontraram evidência de desta relação (Iannaccone et al., 2001; Stanko et al., 2002; Torres et al., 2006; Lindenfors et al., 2007; Bordes et al., 2009; Cooper et al., 2012). Da mesma forma, para muitas espécies de helmintos, as fêmeas apresentam maior prevalência ou intensidade de parasitos (Bush et al., 2001, Simões et al. 2013, em preparação) ou não se observa nenhuma diferença (Iannaccone et al., 2001).

Neste contexto, verificam-se uma variedade de características e fatores ambientais que se correlacionam com a prevalência, intensidade e abundância de macroparasitas, como os helmintos.

Apesar de diversos estudos revelarem uma forte relação entre os fatores ecológicos e número de parasitos, riqueza e estruturação da comunidade helmíntica em diversos hospedeiros (Lindenfors et al., 2007, Simões et al., 2011) os estudos sobre helmintofauna e principalmente quais os fatores ecológicos que influenciam o parasitismo por helmintos em canídeos ainda são escassos, especialmente em cachorro-do-mato. Por esta razão, neste capítulo são apresentados os parasitos mais prevalentes presentes nas fezes de cachorro-do-mato (Canidae: *Cerdocyon thous*) do Pantanal do Mato Grosso do Sul. Particularmente, investigamos fatores bióticos e abióticos que influenciam a prevalência e abundância do acantocéfalo *P. cerdocyonis* identificado e descrito neste estudo, que é então utilizado como um modelo investigativo dos fatores determinantes da presença e abundância de helmintos em cachorros-do-mato.

5.2 Materiais e Métodos

A coleta de dados foi realizada na Fazenda Nhumirim (18°59S; 56°39W) localizada a 160 km ao leste da cidade de Corumbá, MS, Brasil no período de 2006 a 2009, durante trabalhos de captura e recaptura de carnívoros o projeto intitulado “Ecologia, Saúde e Parasitas de Carnívoros de Médio Porte no Pantanal: uma Abordagem Multidisciplinar”. O projeto foi fruto de uma colaboração entre os Laboratórios Embrapa-Pantanal, FIOCRUZ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e University of Missouri/USA.

O Pantanal é uma área inundável em que os rios movem-se lentamente ao encontrarem a planície, transbordando suas margens periodicamente. As áreas inundáveis secam na estação seca (maio a outubro) e voltam ao seu estado inundável na estação úmida (novembro a abril). Além dessas características sazonais, esse ecossistema se caracteriza por uma vegetação dominada por espécies do cerrado que variam em extensão e densidade formando um mosaico e um ecossistema dinâmico (Rodela, 2006). O Pantanal possui uma grande importância devido a sua biodiversidade, sendo uma área de estudo constante (Alho et al., 2011).

5.2.1 Coleta em Campo e Processamento das amostras

Os hospedeiros foram capturados geralmente a cada 3 ou 4 meses com o uso de armadilhas gradeadas. Os animais capturados foram anestesiados, marcados, medidos, pesados e sexados. Após o procedimento, os animais foram liberados em seus locais de captura e amostras de fezes foram diretamente retiradas da armadilha. No laboratório de campo, uma pequena quantidade de fezes foi misturada em soro fisiológico para exame a fresco e os ovos/ocistos foram identificados e fotografados. Além dos procedimentos de identificação em campo, de 1 a 3 gramas das fezes de cada animal foi conservada em 15 mL de formol 10% para análise posterior no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (FIOCRUZ) através de técnicas de flutuação utilizando solução de açúcar (densidade 1,27) seguida da técnica de sedimentação éter-formol (Bowman, 1999). Na sedimentação, o “pellet” foi ressuspenso em 1 mL de formol 10% e uma amostra de 80µl desta solução foi pipetada e montada a lâmina para análise no microscópio de luz - Zeiss Standard 20 (Monteiro *et al.*, 2007). Já com técnica de flutuação, a lamínula colocada sobre o tubo da amostra foi diretamente transferida à lâmina e também analisadas com auxílio de microscópio de luz. Para a identificação, os ovos foram medidos, observados seus aspectos morfológicos e comparados de acordo com artigos específicos e catálogo segundo Foreyt (2001).

Após a identificação, os diferentes tipos de ovos foram quantificados durante as técnicas de flutuação e sedimentação. Os número de ovos de *P. cerdocyonis* encontrados durante a técnica de sedimentação foram extrapolados de 80µl para 1mL e somado ao total encontrado durante a flutuação, resultando assim em uma estimativa de número total de ovos que foi dividido pelo total em gramas de fezes

analisados (OPG). Quando mais de uma amostra para um mesmo indivíduo hospedeiro foi obtida e analisada dentro da mesma excursão (animais recapturados), foi calculada a média do número de ovos obtidos para as amostras analisadas.

Todo o procedimento de captura dos hospedeiros e coleta das amostras foi aprovado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA primeira licença#183/2005-CGFA/LIC; última licença#11772-2).

5.2.2 Análise ecológica

Os dados ecológicos apresentados são das espécies de helmintos mais prevalentes em cachorros-do-mato e as análises da influência de fatores bióticos e abióticos foram realizadas em ovos de *P. cerdocyonis* encontrados nas fezes coletadas de cachorro-do-mato.

Foram calculados os seguintes descritores ecológicos do parasitismo: prevalência - estimada como o número de hospedeiros infectados dividido pelo número total de indivíduos capturados; abundância - número de ovos de *P. cerdocyonis* por grama de fezes encontrados em cada indivíduo hospedeiro analisados; intensidade média da infecção - número de ovos de *P. cerdocyonis* por grama de fezes encontrados por número de hospedeiros infectados pela espécie (Bush et al., 1997). Para as análises de *P. cerdocyonis*, a prevalência foi comparada entre sexos, categorias de idade dos hospedeiros e estações do ano (seca e chuva) utilizando o teste de Chi-quadrado ($\alpha=0.05$). Os índices e comparações foram realizados utilizando o programa Quantitative Parasitology 3.0 (Reiczigel & Rózsa, 2005).

Para analisar o efeito dos fatores bióticos e abióticos (variáveis independentes) na abundância de *P. cerdocyonis* (variável dependente), foi criado modelo linear generalizado considerando uma distribuição binomial negativa dos dados com “*log link*” no programa estatístico SPSS 20, uma vez que os dados apresentam uma distribuição predominantemente agregada. Antes da criação do modelo foi feita uma pré-seleção entre os fatores abióticos originais (temperatura mínima, máxima e média; umidade relativa e precipitação) para escolher fatores que não fossem correlacionados entre si (correlação de Pearson, $\alpha = 0.05$), uma vez que a análise posterior é afetada por alta correlação entre os fatores independentes utilizados.

Os fatores abióticos finais utilizados foram temperatura máxima e umidade relativa, uma vez que foram os únicos fatores abióticos que não eram correlacionados, mas representavam os demais fatores abióticos (ou seja, precipitação e umidade relativa eram correlacionados, assim como todas as medidas de temperatura) e os fatores ligados ao hospedeiro foram idade, sexo e peso.

A idade dos hospedeiros, categoria 1 (jovens) e 2 (adultos) foi estimada utilizando uma metodologia que considera as medidas corporais e a condição dos dentes dos animais (Olifiers et al., 2010). Os dados abióticos compreendem a média dos 30 dias anteriores à coleta de cada amostra de fezes e foram obtidas pelo INMET (Instituto Nacional de Meteorologia).

5.3 Resultados

Foram coletadas 234 amostras de fezes de 79 cachorros-do-mato em 10 excursões. Noventa e cinco por cento dos indivíduos apresentaram ovos e/ou cistos de protozoários em suas fezes. Desses indivíduos analisados, 94% das fêmeas (n=31) e 96% dos machos capturados (n=43) foram positivos para ovos de helmintos e/ou cistos de protozoários encontrados nas amostras de fezes. Foram identificados sete morfotipos de ovos/oocistos em classe, família, gênero ou espécie, sendo 2 nematódeos, 1 acantocéfaló, 1 trematódeo, 2 cestódeos e 1 protozoário (Tabela I). Os helmintos mais prevalentes foram os pertencentes à família Trichuridae (78%) e do gênero *Diphylobothrium* sp. (67%), seguidos por Strongilyda, Apicomplexa, *P. cerdocyonis* n. sp.; porém, esse 3 últimos parasitos apresentaram prevalências menores que 50%, enquanto o trematódeo *Pseudathesmia* sp. e Taeniidae foram os helmintos que apresentaram prevalências menores de 20% (Tabela I).

Na análise ecológica para *P. cerdocyonis* n. sp., a prevalência foi de 26% no total de amostras analisadas, com intensidade média de 6 ovos por grama de fezes e abundância média de 1,4. Ao analisar o fator das características do hospedeiro e relação com a prevalência de ovos de *P. cerdocyonis* n. sp. não foi observada diferença significativa entre as duas categorias de idades (Chi-quadrado= 1,771 ; p= 0,183 Fig. 1); o mesmo ocorreu entre na análise entre sexos do hospedeiro tanto para prevalência (Chi-quadrado= 0,066; p= 0.797; Fig. 2) quanto para abundância média (p=0,8350) e intensidade média (p=1,0). Porém na análise de abundância média e intensidade média para categoria de idade houve diferença estatisticamente significativa (p=0.0300; p = 0.0320, respectivamente)

Quando se comparou a prevalência entre as estações observou-se que esta tendeu a ser maior na estação úmida (33% vs. 17%; Chi-quadrado= 3,590; g.l. = 1; $p= 0.058$; Fig 3). Ao analisar a prevalência para cada excursão realizada, foi observado que as excursões de maio a junho e agosto de 2007 obtiveram baixa prevalência para *P. cerdocyonis* (12% e 9%) respectivamente, comparadas com as demais excursões.

A abundância de ovos de *P. cerdocyonis* foi significativamente relacionada à idade dos cachorros-do-mato e à temperatura máxima, o sexo e peso dos hospedeiros não tiveram uma relação significativa com a variável dependente (Tabela II).

5.4 Discussão

A maioria das amostras de fezes coletadas no estudo de helmintos parasitos gastrointestinais de cachorro-do-mato continha ovos/ocistos de parasitos e mostrou uma composição de sete espécies identificadas. Entretanto, há necessidade de estudos mais aprofundados da helmintofauna para este hospedeiro, pois morfotipos adicionais encontrados nas fezes não puderam ser identificados; além disto, já foi mostrado em um estudo que a curva de acumulação de pesquisa de helmintofauna deste hospedeiro não estabiliza e isso pode ocorrer devido a seu hábito generalista e grande área de vida, fatores que ajudam a aumentar e a riqueza de espécies de parasitos (Bush et al., 2001, Brandão, 2009). Neste estudo, a prevalência de Trichuridae foi a mais alta dentre as espécies de parasitos gastro-intestinais encontrado, seguida do cestódeo *Diphyllobothrium* sp. A infecção por Trichuridae pode ser elevada devido principalmente ao contato permanente com solos contaminados pelos ovos larvados deste parasito, uma vez que este é um geohelminto. Um estudo recente em canídeos na Europa mostrou que a prevalência de Trichuridae varia entre 20 a 50% nos cães domésticos e silvestres (Kirkova et al., 2006) e um outro estudo realizado na Serra do Cipó mostrou que os canídeos, principalmente o lobo-guará, são mais expostos à infecção helmíntica com alta prevalência de Trichuridae (60%) e Ancylostomatidae (80%) (Curi et al., 2010), porém ao analisar em *C. thous* a prevalência para estes grupo foi baixa para Ancylostomatidae (20%) ou nula no caso de Trichuridae. Já a alta prevalência de cestódeos no presente estudo pode estar relacionada à alimentação dos cachorros-do-mato, que inclui artrópodes e vertebrados (Bianchi et al., 2013 no prelo), já que

artrópodes e alguns vertebrados (anfíbios e serpentes) podem servir como hospedeiros intermediários do parasito (Foreyt, 2001). Neste contexto, os dados apresentados sugerem uma grande compatibilidade entre estes parasitos e o fator dieta, podendo ser um coadjuvante na infecção deste parasito no cachorro-do-mato estudado na região do Pantanal, uma vez que a dieta deste hospedeiro é composta por artrópodes (87%), especialmente Coleoptera (57%), vertebrados (79%) e frutas (77%) (Bianchi, et al., 2013 no prelo) podendo auxiliar para que suas prevalências tenham sido altas.

Embora a prevalência de *P. cerdocyonis* n. sp. não tenha variado com a idade do hospedeiro, a abundância deste parasito foi maior em animais adultos. Este dado é importante, pois indivíduos com mais de um ano de idade podem ter sido mais expostos à infecção ao longo da vida, corroborando com a hipótese relatada por Anderson e Gordon, 1982 e Anderson e May, 1991 em que indivíduos mais velhos têm maior tempo para se infectarem e reinfectarem. Já foi descrito para *Prosthenorchis elegas* que insetos das ordens Blattaria (baratas) e Coleoptera (besouros) servem de hospedeiros intermediários para esta espécie (Schmidt, 1985). O estudo da dieta do cachorro-do-mato no Pantanal mostrou que grande parte da dieta é composta de artrópodes (87%), especialmente coleópteros (57%) (Bianchi et al., 2013 no prelo). Por esta razão, sugere-se que os indivíduos adultos, por consumirem mais alimentos, terem uma dieta mais generalista e mais tempo de contato com estes possíveis hospedeiros intermediários dos acantocéfalos podem ter alta prevalência e abundância, pois segundo Kennedy (2006) a infecção dos acantocéfalos pode diferenciar individualmente pelo hospedeiro e principalmente por sua dieta, como os indivíduos adultos comem mais e ingerem diversidade de alimentos se expõe a infecção deste parasito em comparação aos indivíduos mais jovens

Não houve diferença significativa na prevalência de *P. cerdocyonis* entre os sexos dos hospedeiros. De fato a dieta de machos e fêmeas é igual e ambos possuem tamanhos de área de vida e comportamento similares (Bianchi et al., 2013; Bianchi, 2009) apresentando assim, a mesma chance de exposição ao parasito. Como o cachorro-do-mato também não apresenta dimorfismo sexual evidente em relação ao tamanho corporal (Olifiers, 2010), não era esperado encontrar uma diferença significativa na prevalência ou abundância de helmintos entre os sexos dos hospedeiros. Nessas circunstâncias, as diferenças entre sexos são muito

pequenas e muitas vezes indetectáveis em estudos de campo, uma vez que uma série de outras variáveis não podem ser controladas, como freqüentemente ocorrem em experimentos laboratoriais.

As análises dos fatores abióticos mostraram que a comparação da prevalência entre estações foi significativa, onde a prevalência de *P. cerdocyonis* foi maior na estação úmida - estação em que as temperaturas e umidade estão mais altas. A abundância de *P. cerdocyonis* também tende a aumentar com a temperatura, que é mais alta na estação úmida. No entanto, na estação seca é quando há maior consumo de coleópteros (Bianchi et al., 2013 no prelo) o que aumentaria a chance de infecção por *P. cerdocyonis* n. sp.. A explicação para que a prevalência e abundância do parasito sejam maiores na estação úmida pode estar relacionada ao período pré-patente de *P. cerdocyonis*, que leva de 30 a 70 dias (Nicholas, 1967; Amin, 1985); assim, o desenvolvimento do cistacantho para indivíduo adulto maduro que possa liberar os ovos pode levar alguns meses, e os ovos seriam detectados nas fezes somente alguns meses depois, já na estação úmida. De fato, abundância e prevalência são medidas relacionadas porque as análises de abundância incluem os animais não infectados (ou seja, aqueles que apresentaram abundância = 0). Este estudo mostra que a helmintofauna de cachorro-do-mato é diversificada e ainda pouco estudada. A identificação de indivíduos adultos é trabalhosa e ainda escassa na literatura. Ainda, o ciclo complexo de muitas espécies dificulta a determinação dos fatores que influenciam a infecção dos hospedeiros, pois fatores bióticos e abióticos diversos afetam a probabilidade de infecção e a abundância tanto dos hospedeiros intermediários como dos definitivos. Apesar disto, foi possível identificar neste trabalho que a sazonalidade, é um dos fatores principais determinantes da infecção de cachorros-do-mato por *P. cerdocyonis* no Pantanal. Os mecanismos que levam a tal achado, no entanto, não puderam ser completamente esclarecidos. De fato, há a necessidade de se identificar os hospedeiros intermediários e estudar a ecologia de tais espécies para que o ciclo do parasito possa ser compreendido melhor.

5.5 Conclusão

- A maioria das amostras de fezes coletadas e analisadas mostrou uma composição de sete espécies identificadas
- A prevalência mais alta encontrada foi da família Trichuridae (78%) e do gênero *Dyphyllobothrium* sp. (67%).
- Na análise de prevalência de infecção de *P. cerdocyonis* n. sp. não houve diferença significativa entre os sexos e idade dos hospedeiros, porém houve diferença estatística entre as estações seca e úmida.
- Na análise de abundância da infecção de *P. cerdocyonis* n. sp. a idade e temperatura máxima (fatores bióticos e abióticos, respectivamente) são fatores associados a abundância deste helminto em C.thous.

5.6 Referências Bibliográficas

- Albon S.D., Stien A., Irvine R.J., Langvatn R., Ropstad E. & Halvorsen O. 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceeding of the Royal Society London, B: Biological. Sciences* 269: 1625-1632.
- Alho, C.J.R., Camargo, G. & Fischer, E. 2011. Terrestrial and aquatic mammals of the Pantanal. *Brazilian Journal Biology* 71(1): 297-310.
- Amin, O. M. 1985. Classification. In *Biology of the Acanthocephala*, D.W.T. Crompton and B.B. Nickol (eds.). Cambridge University Press, London, U.K., p.27-72.
- Anderson, R. M., Gordon, D. M. 1982. Processes influencing the distribution of parasites number within host population with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* 85: 373-398;
- Anderson, R.M., May, R.M. 1991. *Infectious disease of humans: dynamics and control*. Oxford University Press, Oxford.
- Arneberg, P., Skorping, A., Grenfell, B. & Read, A. 1998. Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the Royal Society, London, B: Biological. Sciences* 265: 1283-1289.
- Barnes, E.H., Dobson, R.J. 1993. Persistence of acquired immunity to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep after termination of infection. *International Journal for Parasitology* 23 (8): 1019-1026.

- Behnke, J.M., Bajer, A., Sinski, E., Wakelin, D. 2001. Interactions involving intestinal nematodes of rodents: experimental and field studies. *Parasitology*. 122: S39-S49.
- Bianchi, R. C. 2013. Intraspecific, interspecific, and seasonal differences in the diet of three mid-sized carnivores in a large neotropical wetland. *Acta Theriologica* (in press.);
- Bianchi, R.C. 2009. Ecologia de mesocarnívoros em uma área do Pantanal Central, Mato Grosso do Sul. Tese de Doutorado - Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, UFMS.
- Bordes, F., Morand, S., Kelt, D.A., Vuren Dirk, H.V. 2009. Home range and parasite diversity in mammals. *The American Naturalist* 173: 467–474.
- Bowman, D. D. 1999. *Georgis. Parasitology for veterinarians*. 7th Edition. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- Brandão, M. L., Chame, M., Cordeiro, J. L. P, Chaves, S. A. M. 2009. Diversidade de helmintos intestinais em mamíferos silvestres e domésticos na Caatinga do Parque Nacional Serra da Capivara, Sudeste do Piauí, Brasil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal 18(1):19-28.
- Brown E.D, Macdonald D.W, Tew T.E, Todd I.A. 1994. *Apodemus sylvaticus* infected with *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in arable ecosystems: epidemiology and effects of infection on the movement of male mice. *Journal Zoology (London)* 234:623–640.
- Bush, A. O., Fernández, J. C., Esch, G. W., Seed, J. R., 2001. Parasitism. The diversity and ecology of animals parasites. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 106-210.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J..M., Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*. 83, 575-p. 583.
- Cooper, N., Kamilar, J.M., Nunn, C.L. 2012. Host Longevity and Parasite Species Richness in Mammals 7 (8).
- Curi, N. H. A., Araújo, A. S., Campos, F. S., Lobato, Z. I. P., Gennari, S. M., Marvulo, M. F. V., Silva, J. C. R., Talamoni, S. A. 2010. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Biodiversity Conservation* 19: 3513–3524.

- Ezenwa V.O, Price S.A, Altizer S., Vitone N.D., Cook K.C. 2006. Host traits and parasite species richness in even and odd-toed hoofed mammals, Artiodactyla and Perissodactyla. *Oikos* 115:526-536.
- Ferrari, N. 2005. Macroparasite transmission and dynamics in *Apodemus flavicollis*. Tese de Doutorado em Filosofia, University of Stirling, UK.
- Foreyt, W. J. 2001. *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 5th edition. Iowa State University Press, USA.
- Gibson, T.E., Parfitt, J.W., Everett, G. 1970. The effect of anthelmintic treatment on the development of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Research in Veterinary Science* 11: 138–145.
- Gillett, J. 1974. Direct and indirect influences of temperature on the transmission of parasites from insects to man. In: *The Effects of Meteorological Factors upon Parasites* (eds Taylor, A.E.R. & Muller, R.). Blackwell Scientific Publications, London, p. 79–95.
- Gordon, R.M., Davey, T.H. & Peaston, H. 1934. The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. haematobium*. *Annals Tropical Medicine and Parasitology* 28: 323–418.
- Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H., Dobson, A. 2002. *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press, Oxford.
- Kennedy, C. R. 2006. *Ecology of the Acanthocephala*. pp. Cambridge University Press New York, p. 1–240.
- Khokhlova, I.S., Serobyán, V., Degen, A.A., Krasnov, B.R. 2010. Host gender and offspring quality in a Xea parasitic on a rodent. *Journal Experimental Biology* 213: 3299–3304.
- Khokhlova, I.S., Serobyán, V., Krasnov, B.R., Degen, A.A. 2009. Is the feeding and reproductive performance of the Xea, *Xenopsylla ramesis*, affected by the gender of its rodent host, *Meriones crassus*? *Journal Experimental Biology* 212:1429–1435.
- Kirkova, Z., Georgieva, D., Raychev, E. 2006. Study on the prevalence of Trichurosis in different categories of dogs and wild carnivores. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 9 (2): 141-147.

- Krasnov BR, Morand S, Hawlena H, Khokhlova IS, Shenbrot GI (2005) Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia* 146:209–217.
- Krasnov, B. R., Stanko, M., Matthee, S., Laudisoit, A., Leirs, H., Khokhlova, I. S., Korralo-Vinarskaya, N. P., Vinarski, M. V., Morand, S. 2011. Male hosts drive infracommunity structure of ectoparasites. *Oecologia*.
- Iannaccone, J.O., Cordova, K.M., Wong, R.V. 2001. Estructura comunitaria de helmintos de perros vagabundos de San Juan de Lurigancho, Lima, Peru. *Revista Brasileira Zoologia* 18 (1): 277-288.
- Lindenfors, P., Nunn, C.L., Jones, K.E., Cunningham, A.A., Sechrest, W. 2007. Parasite species richness in carnivores: effects of host body mass, latitude, geographical range and population density. *Global Ecology and Biogeography* 16: 496–509.
- Mas-Coma, S.; Valero, M. A.; Bargues, M. D. 2008. Effects of climate change on animal and zoonotic helminthiasis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 27 (2): 443-452;
- Minchella D.J. & Scott M.E. (1991). – Parasitism: a cryptic determinant of animal community structure. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 250-254.
- Mohr, C.O., Stumpf, W.A. 1964. Relation of tick and chigger infestations to home areas of California meadow mice. *Journal of Medical Entomology* 1: 73–77.
- Monteiro R.V., Dietz, J.M., Raboy, B., Beck, B., De Vleeschouwer, K., Baker, A., Martins, A., Jansen, A.M. 2007. Parasite community interactions: *Trypanosoma cruzi* and intestinal helminths infecting wild golden lion tamarins *Leontopithecus rosalia* and golden-headed lion tamarins *L. chrysomelas* (Callitrichidae, L., 1766). *Parasitology Research* 101(6):1689-98.
- Moore, S., Wilson, K. 2002. Parasite as a viability cost of sexual selection in natural population of mammals. *Science* 297: 2015-2018.
- Morand, S., Harvey, P.H. 2000. Mammalian metabolism, longevity and parasite species richness. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 267: 1999–2003.
- Morand, S., Gouy De Bellocq, J., Stanko, M., Miklisova, D. 2004. Is sexbiased ectoparasitism related to sexual size dimorphism in small mammals of Central Europe? *Parasitology* 129:505–510.

- Mowlavi G.R., Massoud J., Mobedi I., Solaymani-Mohammadi S., Gharagozlou M.J.; Mas-Coma S. 2006. Very highly prevalent *Macracanthorhynchus hirudinaceus* infection of wild boar *Sus scrofa* in Khuzestan province, south-western Iran. *Helminthologia* 43 (2) 86-91.
- Nicholas, W. L., 1967. The Biology of Acanthocephala. *Advances in Parasitology* 5: 204-246;
- Nunn, C.L., Gittleman, J.L., Antonovics, J. 2003. A comparative study of white blood cell counts and disease risk in carnivores. *Proceedings of the Royal Society of London Series B.* 270: 347–356.
- Olifiers, N. 2010. Life-history and disease ecology of the brown-nosed coati (*Nasua nasua*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in the Brazilian Pantanal. Tese de Doutorado em Filosofia, University of Missouri, USA.
- Olifiers, N., Bianchi, R. C., D'Andrea, P. S., Mourão, G., Gompper, M. E. 2010. Estimating age of carnivores from the Pantanal region of Brazil. *Wildlife Biology* 16: 389-399.
- Poulin, R. 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *American Naturalist* 14:287–295.
- Reiczigel, J., Rózsa, L. 2005. *Quantitative Parasitology 3.0*. Budapest.
- Rodela, L. G. 2006. Unidades de Vegetação e Pastagens Nativas do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. PhD Thesis. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Rossin A., Malizia A.I. 2002. Relationship between helminth parasites and demographic attributes of a population of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Journal Parasitology* 88:1268–1270.
- Schalk, G., Forbes, M.R. 1997. Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age, and parasite taxon. *Oikos* 78: 67-74.
- Scott, M. E., Lewis, J.W. 1987. Population dynamics of the helminth parasites in wild and laboratory rodents. *Mammal Review* 17: 95-103.
- Simões, R.O., Souza, J.G.R, Maldonado Jr, A, Luque J.L. 2011. Variation in the helminth community structure of three sympatric sigmodontine rodents from the coastal Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Helminthology* 85: 171–178.

- Soliman S., Marzouk A.S., Main A.J., Montasser A.A. 2001. Effect of sex, size, and age of commensal rat hosts on the infestation parameters of their ectoparasites in a rural area of Egypt. *Journal Parasitology* 87:1307–1316.
- Stanko, M., Miklisova, D., Bellocq J.G., Morand, S. 2002. Mammal density and patterns of ectoparasite species richness and abundance. *Oecologia* 131: 289–295.
- Torres, J., Miquel, J., Casanova, J.C., Ribas, A., Feliu, C. 2006. Endoparasite species richness of Iberian carnivores: influences of host density and range distribution. *Biodiversity Conservation* 15: 4619–4632.
- Waller, P., Rudby-Martin, L., Ljungstrom, B., Rydzik, A. 2004. The epidemiology of abomasal nematodes of sheep in Sweden, with particular reference to over-winter survival strategies. *Veterinary Parasitology* 122: 207–220
- Woodroffe, R., Cleaveland, S., Courtenay, O., Laurenson, M.K., Artois, M. 2004. Infectious disease — infectious disease in the management and conservation of wild canids. *Biology and conservation of wild canids* (ed. by D.W. Macdonald and C. Sillero-Zubiri), Oxford University Press, Oxford p. 123–142.
- Zuk, M. 1996. Disease, endocrine-immune interactions, and sexual selection. *Ecology* 77:1037–1042.
- Zuk, M., McKean, K.A. 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *International Journal Parasitology* 26:1009–1024.

Tabela I . Prevalência dos ovos de helmintos gastrointestinais mais comuns encontrados nas fezes

Helmintos	Prevalência
Nematoda	
Trichuridae	78%
Strongylida	33%
Acanthocephala	
Prosthenorchis cerdocyonis n. sp.	26%
Trematoda	
Pseudathesia sp.	15%
Cestoda	
Diphyllobothrium sp.	67%
Taeniidae	9%
Protozoa	
Apicomplexa	32%

Tabela II . Análise da contribuição relativa de variáveis bióticas e abióticas para a abundância de Prosthenorchis cerdocyonis n. sp em cachorro-do-mato capturados na Fazenda Nhumirim no período de 2006 a 2009

Parâmetros para modelo	Parâmetros Estimados			95% Intervalo de Confiança de Wald		Teste de Hipótese	
	Beta (B)	Erro Padrão	Menos	Maiores	Quadrado de	df	p
(Intercept)	-7.683	3.3333	-14.216	-1.15	5.313	1	0.021
[sexo=fema]	0.294	0.266	-0.227	0.816	1.225	1	0.268
[sexo=males]	0a
[idade 1]	-0.996	0.3657	-1.693	-0.299	7.839	1	0.005
[idade 2]	0a
peso	-8.71E-05	0.0002	0	0	0.286	1	0.593
temperatura máxima	0.223	0.0665	0.093	0.353	11.26	1	0.001
umidade relativa	0.018	0.0232	-0.027	0.064	0.619	1	0.431

Variável dependente: ovo

a. zero porque o parâmetro é redundante.

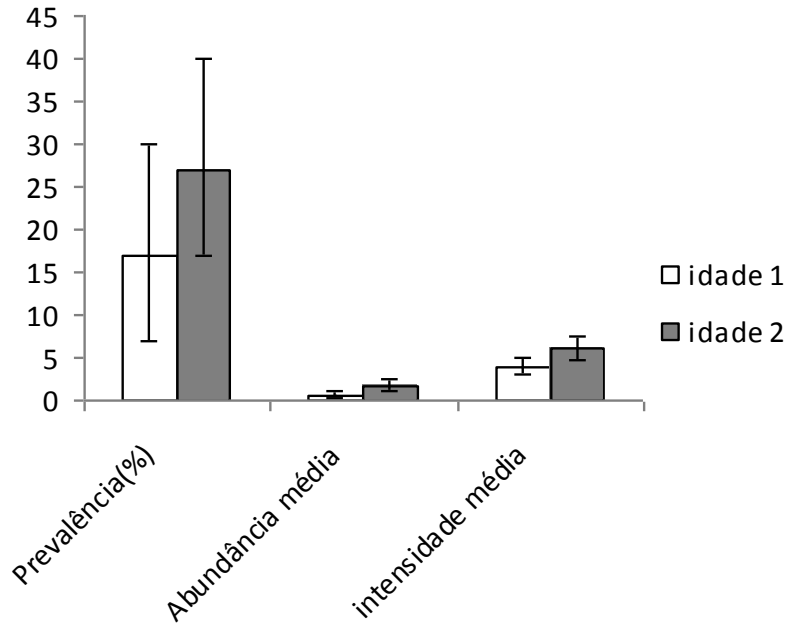


Figura 1. Prevalência (%), abundância média e intensidade média de ovos de *P. cerdocyonis* n. sp. encontrados parasitando cachorro-do-mato para categoria idade. As barras representam o intervalo de confiança de 95%.

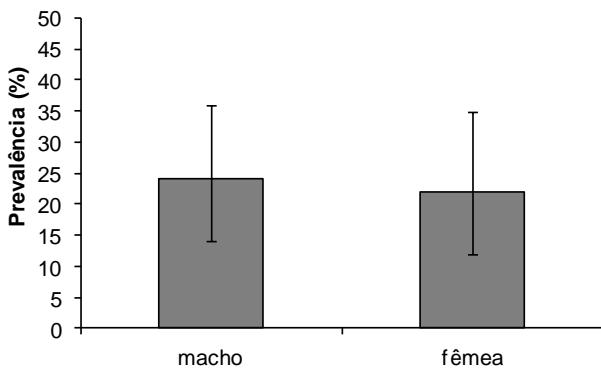


Figura 2. Prevalência (%) de ovos de *P. cerdocyonis* n. sp. encontrados nas fezes de cachorro-do-mato na Faz. Nhumirim, do Pantanal, MS, Brasil para categoria sexo. Intervalo de confiança 95%.

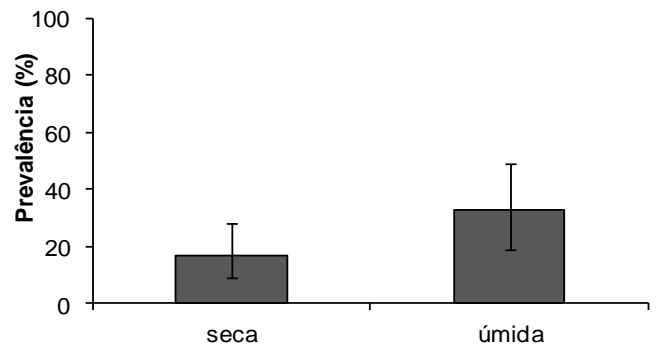


Figura 3. Prevalência (%) de ovos de *P. cerdocyonis* n. sp encontrados nas fezes de cachorro-do-mato, na estação seca e úmida, na Faz. Nhumirim, Pantanal, MS, Brasil. As barras representam o Intervalo de confiança de 95%.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Estudos de levantamento de helmintofauna em *Cerdocyon thous* têm sido feito e com registros de espécies de diferentes filos. Neste trabalho foram identificadas quatro espécies de nematódeos e uma espécie do Filo Acanthocephala. Entre os helmintos identificados foi registrada uma espécie nova do gênero *Prosthenorchis*, embora haja relato deste gênero em cachorro-do-mato por Lima (2009) no Município de Patos. A descrição de *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp. foi importante para adicionar registro de uma nova espécie para esse hospedeiro também ampliando a distribuição geográfica. Este trabalho constituiu-se ainda no registro de *Ancylostoma buckleyi*, *Spirocercia lupi*, *Pterygodermatites pluripectinata* e *Ascaridia galli* no bioma do Pantanal ampliando a distribuição geográfica destes parasitos. Adicionalmente, o presente estudo ressalta a importância e auxílio para identificação de helmintos, como *A. galli*, com auxílio da técnica de biologia molecular e seqüenciamento.

Adicionalmente o estudo mostrou que fatores como sazonalidade, temperatura e idade podem influenciar na prevalência e abundância do parasito *P. cerdocyonis* n. sp. em cachorro-do-mato.

Contudo, os dados deste trabalho visaram contribuir para o conhecimento da helmintofauna do cachorro-do-mato, adicionando registros e ampliando a distribuição geográfica destes parasitos e informando fatores ecológicos importantes para estudo na relação parasito e hospedeiro. Porém há necessidade de estudar mais a ocorrência e distribuição em cachorro-do-mato no bioma Pantanal para acrescentar conhecimento da diversidade parasitária brasileira.

7 CONCLUSÃO

- Foram identificadas quatro espécies de nematódeos e uma nova espécie de Acanthocephala, *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp. em cachorro-do-mato do Pantanal do Mato Grosso do Sul.
- Os dados gerados neste estudo contribuem para registro de nova distribuição geográfica de espécies de helmintos no cachorro-do-mato no bioma Pantanal do Mato Grosso do Sul .
- O estudo mostrou a importância da técnica da biologia molecular no auxílio na identificação de espécies.
- O estudo mostrou que fatores como temperatura, idade e sazonalidade podem influenciar na abundância e prevalência da infecção do parasito *Prosthenorchis cerdocyonis* n. sp. em cachorro-do-mato.
- Os dados do estudo contribuem para conhecimento da helmintofauna de cachorro-do-mato.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackert, J. E., Whitlock, J. H., Freeman, A. E., 1940. The food of the fowl nematode, *Ascaridia lineata* (Schneider). The Journal of Parasitology 1: 17-32;
- Akinyemi, J.O., Ogunji, F. O., Dipeolu. 1980. A Case of adult *Ascaridia galli* in hen's egg. International journal of zoonose 7: 171-172;
- Alho, C. J. R., Lacher, J. T. E., Campos, Z. M. S. & Gonçalves, H. C. 1987. Mamíferos da Fazenda Nhumirim, sub-região de Nhecolândia, Pantanal do Mato Grosso do Sul: I - levantamento preliminar de espécies. Revista Brasileira de Zoologia 4: 151-164;
- Alho, C.J.R., Camargo, G. & Fischer, E. 2011. Terrestrial and aquatic mammals of the Pantanal. Braz. J. Biol., 71(1): 297-310;
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M., Rohani, P. 2006. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. Ecology Letters 9: 467–484;
- Amato, J. F. R, 1985. Platelminhos (Ternnocefálicos, Trematódeos, Cestóides e Acanthocéfalos) In: Manual de Técnicas para a preparação de Coleções Zoológicas. Sociedade Brasileira de Zoologia, São Paulo, Brazil, p.1-11;
- Amin, O. M. 1985. Classification. In Biology of the Acanthocephala, D.W.T. Crompton and B.B. Nickol (eds.). Cambridge University Press, London, U.K., p.27-72.
- Amin, O. M. 1987. Key to the families and subfamilies of Acanthocephala with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). Journal of Parasitology 73:1216–1219
- Amin, O. M., Van Ha, N., Heckmann, R.A. 2008. New and already known acanthocephalans mostly from mammals in Vietnam, with descriptions of two new genera and species in Archiacanthocephala. Journal of Parasitology 94(1): 194–201;
- Anataraman, M., Krishna, S. 1966. Experimental spirocercosis in dogs with larvae from a paratenic host, *Calotes versicolor*, the common garden lizard in Madras. Journal of Parasitology 52: 911–912;
- Anderson, R. C. 2000. Nematode parasites of vertebrates, their development and transmission. CABI, UK;
- Anderson, R. M., Gordon, D. M. 1982. Processes influencing the distribution of parasites number within host population with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology*. 85: 373-398;

- Anderson, R.M., May, R.M. 1991. *Infectious disease of humans: dynamics and control*. Oxford University Press, Oxford;
- Anderson, R. C., Chabaud, A. G., Willmott, S. 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Archival Volume. CAB International, Wallingford, UK, 463p;
- Arneberg, P., Skorping, A., Grenfell, B. & Read, A. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the Royal Society, London. B.* 265: 1283-1289;
- Baer, J. G., Gerber, W. 1959. Exploration des Parcs Nationaux du Congo Belge. Mission J.G.Baer et W. Gerber (1958). Fascicule 1: Helminthes parasites. Institut des Parcs Nationaux du Congo Belge 163pp: 119-126;
- Bailey, W. S., Cabrera, D. J., Diamond, D. L. 1963. Beetles of the family Scarabaeidae as intermediate hosts for *Spirocerca lupi*. *Journal of Parasitology* 49: 485-488;
- Begon, M., Townsend, C. R., Harper, J. L. 2007. *Ecology: from individuals to ecosystems*. 4 ed. Oxford: Wiley Blackwell. 752 p.;
- Beldomenico, P. M., Kinsella, J. M., Uhart, M. M., Gutierrez, G.L., Pereira, J., Ferreyra, H. D., Marull, C. A. 2005. Helminthes of Geoffroy's cat, *Oncifelis geoffroyi* (Carnivora, Felidae) from the Monte Desert, central Argentina. *Acta Parasitologica* 50: 263-266;
- Behnke, J.M., Bajer, A., Sinski, E., Wakelin, D. 2001. Interactions involving intestinal nematodes of rodents: experimental and field studies. *Parasitology*. 122: S39-S49;
- Bianchi, R.C. 2009. Ecologia de mesocarnívoros em uma área do Pantanal Central, Mato Grosso do Sul. Tese de Doutorado - Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, UFMS;
- Bianchi, R. C. 2013. Intraspecific, interspecific, and seasonal differences in the diet of three mid-sized carnivores in a large neotropical wetland. *Acta Theriologica* (in press.);
- Bordes, F., Morand, S., Kelt Douglas, A., Vuren Dirk, H.V. 2009. Home range and parasite diversity in mammals. *Am Nat* 173: 467–474;
- Bowman, D. D. 1999. *Georgis. Parasitology for veterinarians*. 7th Edition. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA;

- Brady, C. A. 1979. Observations on the behavior and ecology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). In: Eisenberg, J. F. (Ed.). Vertebrate ecology in the northern neotropics. Washington: Smithsonian Institution Press. pp.161-171;
- Brandão, M. L., Chame, M., Cordeiro, J. L. P., Chaves, S. A. M. 2009. Diversidade de helmintos intestinais em mamíferos silvestres e domésticos na Caatinga do Parque Nacional Serra da Capivara, Sudeste do Piauí, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal 18(1):19-28;
- Brodey, R. S., Thompson, R. G., Sayer, P. D., Eugster, B. 1977. *Spirocercalupi* infection in dogs in Kenya. Veterinary Parasitology 3: 49–59;
- Brown ED, Macdonald DW, Tew TE, Todd IA (1994) *Apodemus sylvaticus* infected with *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in arable ecosystems: epidemiology and effects of infection on the movement of male mice. J Zool (Lond) 234:623–640;
- Bueno, A.A. & Motta-Júnior, J.C. 2004. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), in southeastern Brazil. Rev. Chil. Hist. Nat. 77: 5-14;
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology. 83, 575-583 p.;
- Bush, A. O., Fernández, J. C., Esch, G. W., Seed, J. R., 2001. Parasitism. The diversity and ecology of animals parasites. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 106-210;
- Chitwood, B. G. 1974. Introduction of Nematology. University Park Press;
- Comer, J.A., Nicholson, W.L., Paddock, C.D., Sumner, J.W., Childs, J.E. 2000. Detection of antibodies reactive with *Ehrlichia chaffeensis* in the raccoon. Journal of Wildlife Diseases 36(4): 705-712;
- Cooper, N., Kamilar, J.M., Nunn, C.L. 2012. Host Longevity and Parasite Species Richness in Mammals 7 (8) ;
- Courtenay, O., Maffei, L. 2004. Crab-eating fox *Cerdocyon thous*, (Linnaeus, 1766). In: Sillero-Zubiri, C.; Hoffmann, M.; Macdonald, D.W. (Eds.). Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan. Cambridge, IUCN/SSC, p. 32-38;
- Crompton, D. W. T., Nickol, B. B. 1985. Biology of the Acanthocephala. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. xx p;

- Curi, N. H. A. 2005. Avaliação do estado de saúde e do risco de transmissão de doenças entre canídeos (Mammalia, Carnivora) silvestres e domésticos na região da Serra do Cipó, Minas Gerais: implicações para a conservação Dissertação de Mestrado – Belo Horizonte- MG, PUC;
- Curi, N. H. A., Araújo, A. S., Campos, F. S., Lobato, Z. I. P., Gennari, S. M., Marvulo, M. F. V., Silva, J. C. R., Talamoni, S. A. 2010. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Biodivers Conserv* 19: 3513–3524;
- Curi, N.H.A., Amanda Soriano Araújo, A.S, Campos, F.S, Lobato, Z.I.P, Gennari, S.M., Marvulo, M.F.V.,Silva, J.C.R, Talamoni, S.A. 2010. Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: disease threats for canid conservation. *Biodivers Conserv* 19: 3513–3524;
- Dobson, R.J., Donald, A.D., Barnes, E.H., Waller, P.J., 1990. Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep: model to predict the worm population over time as a function of infection rate and host age. *International Journal for Parasitology* 20: 365–373;
- Dixon, K., McCue, J. F. 1967. Further observations on the epidemiology of *Spirocerca lupi* in the south eastern United States. *Journal of Parasitology* 53: 1074–1075;
- Duarte, H. F. 2007. Helminthofauna em *Cercopithecus thous* Linnaeus,1766 (CARNIVORA, CANIDAE) na região de Juiz de Fora, Minas Gerais. Dissertação: de Mestrado – Universidade Federal de Juiz de Fora;
- Duarte, M. J. F. 1981. Helminthos parasitos dos animais domésticos no Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Esc. Vet. UFMG, BH* 33(1): 67-98;
- Dunn, F. L. 1963. Acanthocephalans and Cestodes of South America Monkeys and Marmosets. *Journal of Parasitology* 49: 717-722;
- Dvir, E., Kirberger, R. M., Malleczek, D. 2001. Radiographic and computed tomographic changes and clinical presentation of spirocercosis in the dog. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 42: 119–129;
- Eisenberg, J. F., Redford, K. H. 1999. *Mammals of Neotropics: The central Neotropics-Volume 3: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil*. The University Chicago Press, Chicago;

- Facure, K. G. e Monteiro-Filho, E. L. A. (1996). Feeding habits of the crab-eating foxes, *Cerdocyon thous*, in a suburban area of southeastern Brazil. *Mammalia*. 60: 147–149;
- Facure, K.G.; Giaretta, A.A. & Monteiro-Filho, E.L.A.. 2003. Food habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, in an altitudinal forest of the Mantiqueira Range, southeastern Brazil. *Mammalia* 67: 503-511;
- Ferdushy, T., Nejsum, P., Roepstorff, A., Thamsborg, S. M., Kyvsgaard, N. C. 2012. *Ascaridia galli* in chickens: intestinal localization and comparison of methods to isolate the larvae within the first week of infection. *Parasitol Res* 111:2273–2279;
- Ferrari, N., Cattadori, I.M., Nespereira, J., Rizzoli, A., Hudson, P.J. 2004. The role of host sex in parasite dynamics: Wild experiments on the yellow-necked mouse *Apodemus Xavicollis*. *Ecol Lett* 7:88–94;
- Ferrari, N. 2005. Macroparasite transmission and dynamics in *Apodemus flavicollis*. Tese de Doutorado em Filosofia, University of Stirling, UK;
- Ferrari, N., Rosa, R., Pugliese, A., Hudson, P.J. 2007. The role of sex in parasite dynamics: model simulations on transmission of *Heligmosomoides polygyrus* in populations of yellow-necked mice, *Apodemus Xavicollis*. *Int J Parasitol* 37:341–349;
- Fortes, E. Helminologia. In: *Parasitologia Veterinária*. 3. ed. São Paulo: Ícone, 1997 p.153-426;
- Fok, E., Szatmári, V., Busák, K., Rozgonyi, F. 2001. Epidemiology: Prevalence of intestinal parasites in dogs in some urban and rural areas of Hungary. *Vet Quart.* 23: 96-98;
- Foreyt, W. J. 2001. *Veterinary Parasitology, Reference Manual*. 5th edition. Iowa State University Press, USA;
- Freitas, M. G. 1984. *Helminologia veterinária*. Belo horizonte: Rabelo, 396 p.;
- Freitas, M. F. L., Oliveira, J. B., Volcanti, M. D. B., Leite, A. S., Magalhães, V. S., Oliveira, R. A., Sobrino, A. E. 2002. Parasitos gastrointestinales de aves silvestres en cautiverio en el estado de Pernambuco, Brasil. *Parasitologia Latinoamericana* 57 (1-2): 50-54;
- Garey, R. J., Near T. J., Nonnemacher M. R., Nadler S. A. 1996. Molecular evidence for Acanthocephala as a subtaxon of Rotifera. *J Mol Evol* 43:287–292;
- Gardner, S. L., Campbell, M. L. 1992. Parasites as probes for biodiversity. *Journal of Parasitology* 78: 596–600;

- Gatti, A.; Bianchi, R.C.; Rosa, C.R.X. & Mendes, S.L. 2006. Diet of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae) in Paulo Cesar Vinha State Park, Espírito Santo State, Brazil. *Mammalia* **70**: 153-155;
- Gatti, A.; Bianchi, R.C.; Rosa, C.R.X. & Mendes, S.L. 2006. Diet of two sympatric carnivores, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*, at Paulo Cesar Vinha State Park, Espírito Santo, Brazil. *J. Trop. Ecol.* **22**: 337-330;
- Gillett, J. 1974. Direct and indirect influences of temperature on the transmission of parasites from insects to man. In: The Effects of Meteorological Factors upon Parasites (eds Taylor, A.E.R. & Muller, R.). Blackwell Scientific Publications, London, p. 79–95;
- Gibson, T.E., Parfitt, J.W., Everett, G. 1970. The effect of anthelmintic treatment on the development of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Research in Veterinary Science* 11: 138–145;
- Giovannoni, M., Kubiak, G. V. L. 2001. Fauna Parasitológica Paranaense: IV. Lista Prévia da Ocorrência de Helminhos em Animais Domésticos. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 289-292;
- Golvan, Y. J. 1994. Nomenclature of the Acanthocephala. *Research and Reviews in Parasitology* 54: 134-205;
- Gordon, R.M., Davey, T.H. & Peaston, H. 1934. The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. haematobium*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 28: 323–418;
- Griese, J. 2007. Helminthofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de Botucatu, São Paulo. M.S. Thesis. Programa Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo-UNESP, São Paulo;
- Haustein, T., Lawes, M., Harris, E., Chiodini, P. L. 2010. An Eye-catching acanthocephalan. *Research notes of Clin Microbiol Infect* 16: 787-788;
- Hazel, S. M., Bennet, M., Chantrey, J., Bown, K., Cavanagh, R., Jones, T.R. Baxby, D. and Begon, M. 2000. A longitudinal study of an endemic disease in its wildlife reservoir: cowpox and wild rodents. *Epidemiological Infectious* 124: 551-562;
- Herd, R. P., McNaught, D. J. 1975. Arrested development and the histotropic phase of *Ascaridia galli* in the chicken. *International Journal for Parasitology* 5: 401-406;

- Hoppe, E. G, De Lima, C. A., Tebaldi, J. H., Nascimento, A. A. 2010. *Pterygodermatites* (Multipectines) *pluripectinata* n. sp. (Spirurida: Rictulariidae), a nematode parasite of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) from Caatinga shrubland, Brazil. *Journal of Helminthology* 84: 312-316;
- Hotez, P. J., Trang, N. L., McKerrow, J. H, Cerami, A. 1985. Isolation and characterization of a proteolytic enzyme from the adult hookworm *Ancylostoma caninum*. *J. Biol. Chem* 250: 7343-7348;
- Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H., Dobson, A. 2002. *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press, Oxford;
- Iannaccone, J.O., Cordova, K.M., Wong,R.V. 2001. Estructura comunitaria de helmintos de perros vagabundos de San Juan de Lurigancho, Lima, Peru. *Revta Bras. Zool* 18 (1): 277-288;
- Jácomo, A. T. A., Silveira, L., Diniz-Filho, J. A. F. 2004. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab-eating fox (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brazil. *J. Zool.* 262: 99-106;
- Jiménez, F. A., Patterson, B. D. 2012. A new species of *Pterygodermatites* (Nematoda:Rictulariidae) from the incan shrew opossum, *Lestoros inca*. *Journal of Parasitology* 98(2): 604-607;
- Katakam, K. K., Nejsun, P., Kyvsgaard, N. C., Jorgensen, C. B., Thamsborg, S. M. 2010. Molecular and parasitological tools for the study of *Ascaridia galli* population dynamics in chickens. *Avian Pathology* 39(2): 81-85;
- Kennedy, C. R. 2006. *Ecology of the Acanthocephala*. pp. 1–240. Cambridge University Press New York.
- Khokhlova, I.S., Serobyán, V., Krasnov, B.R., Degen, A.A. 2009. Is the feeding and reproductive performance of the Xea, *Xenopsylla ramesis*, affected by the gender of its rodent host, *Meriones crassus*? *J Exp Biol* 212:1429–1435;
- Khokhlova, I.S., Serobyán, V., Degen, A.A., Krasnov, B.R. 2010. Host gender and offspring quality in a Xea parasitic on a rodent. *J Exp Biol.* 213:3299–3304;
- Kirkova, Z., Georgieva, D., Raychev, E. 2006. Study on the prevalence of Trichuriasis in different categories of dogs and wild carnivores. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 9 (2): 141-147;
- Krasnov BR, Morand S, Hawlena H, Khokhlova IS, Shenbrot GI (2005) Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia* 146:209–217;

- Krasnov, B. R., Stanko, M., Matthee, S., Laudisoit, A., Leirs, H., Khokhlova, I. S., Korallo-Vinarskaya, N. P., Vinarski, M. V., Morand, S. 2011. Male hosts drive infracommunity structure of ectoparasites. *Oecologia*;
- Labruna, M. B., Pena, H. F. J., Souza, S. L. P., Pinter, A., Silva, J. C. R., Ragozo, A. M. A. 2006. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Arq Inst Biol São Paulo* 73(2): 183-193;
- Langenegger, J., Lanzieri, P. D. 1963-1965. Incidência e intensidade de infestação de helmintos em *Felis catus domesticus* do Rio de Janeiro. *Veterinária, Rio de Janeiro* 16-18: 77-89;
- Leitão, J. S. 1983. *Parasitologia veterinária*. V. 2., 3.Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 878 p.;
- Levine, N. D. 1968. *Nematode parasites of domestic animals and man*. Burgess, USA;
- Lima, A. C. R. 2009. Helmintos Gastrointestinais de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) Smith, 1839 provenientes da área de caatinga do estado da Paraíba, Brasil. M.S. Thesis. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo–UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo;
- Lindenfors, P., Nunn, C.L., Jones, K.E., Cunningham, A.A., Sechrest, W. 2007. Parasite species richness in carnivores: effects of host body mass, latitude, geographical range and population density. *Glob Ecol Biog* 16: 496–509;
- Lobetti, R. G. 2000. Survey of the incidence, diagnosis, clinical manifestations and treatment of *Spirocerca lupi* in South Africa. *Journal of South African Veterinary Association* 71: 43-46;
- Macdonald D.W., Courtenay O. 1996. Enduring social relationships in a population of crab-eating zorro, *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil. *Journal of Zoology London* 239: 329-355;
- Machado Filho, D. A. 1950. Revisão do gênero *Prosthenorchis* Travassos, 1915 (Acanthocephala). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 48: 495-544;
- Machado, H. H. S., Lemos, L. S, De Almeida , L. G, de Mattos Júnior, D. G. 2007. Ciclo errático de *Ascaridia galli* (schrank, 1788) em ovo de galinha. *Ciência Animal Brasileira* 8(1);
- Mangini, P. R, Vidolin, P., Velastin, G. O, Uchoa, T., Fernandes, T. M., Thomaz-Socol, V. 2002. Evaluación sanitaria de los carnívoros salvajes de la

Reserva Natural Salto Morato, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. Jornada Argentinas de Mastozoología, Mar del Plata, Argentina, 18-20 de Novembro, p.64;

- Martins, J. R., Medri, I. M., Oliveira, C. M., Guglielmone, A. 2004. Ocorrência de carrapatos em Tamanduá Bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e Tamanduá Mirim (*Tamandua tetradactyla*) na Região do Pantanal Sul Mato-grossense, Brasil. *Ciência Rural* 34(1): 293-295;
- Mas-Coma, S.; Valero, M. A.; Bargues, M. D. 2008. Effects of climate change on animal and zoonotic helminthiases. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 27 (2): 443-452;
- Mazaki-Tovi, M., Baneth, G., Aroch, I., Harrus, S., Kass, P. H., Ben-Ari, T., Zur, G., Aizenberg, I., Bark, H., Lavy, E. 2002. Canine spirocercosis: clinical, diagnostic, pathologic and epidemiologic characteristics. *Veterinary Parasitology* 107: 235-250;
- Mohr, C.O., Stumpf, W.A. 1964. Relation of tick and chigger infestations to home areas of California meadow mice. *Journal of Medical Entomology*, 1: 73–77;
- Monteiro R.V., Dietz, J.M., Raboy, B., Beck, B., De Vleeschouwer, K., Baker, A., Martins, A., Jansen, A.M. 2007. Parasite community interactions: *Trypanosoma cruzi* and intestinal helminths infecting wild golden lion tamarins *Leontopithecus rosalia* and golden-headed lion tamarins *L. chrysomelas* (Callitrichidae, L., 1766). *Parasitol Res.* 101(6):1689-98;
- Moore, S., Wilson, K. 2002. Parasite as a viability cost of sexual selection in natural population of mammals. *Science.* 297: 2015-2018;
- Morand, S., Gouy De Bellocq, J., Stanko, M., Miklisova, D. 2004. Is sexbiased ectoparasitism related to sexual size dimorphism in small mammals of Central Europe? *Parasitology* 129:505–510;
- Motta-Júnior, J. C., Lombardi, J. A. & Talamoni, S. A. 1994. Notes on crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) seed dispersal and food habits in southeastern Brazil. *Mammalia.* 58: 156–159;
- Müller, B., Mätz-Rensing, K., Pérez Yamacita, J. G., Heymann, E. W. 2010. Pathological and parasitological findings in a wild red titi monkey, *Callicebus cupreus* (Pitheciidae, Platyrrhini). *European Journal of Wildlife Research* 56: 601–604;
- Mylonakis, M. E., Koutinas, A. F., Liapi, M. V., Saridomichelakis, M. N., Rallis, T. S. 2001. A comparison of the prevalence of *Spirocerca lupi* in three groups of dogs with different life and hunting styles. *Journal of Helminthology* 75: 359–361;

- Nakano-Oliveira, E., Monteiro Filho, E. L. A. 2002. Padrões de atividade de duas espécies de carnívoros simpátricos em área alterada no sudeste do Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia, Itajaí, SC. Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia;
- Nicholas, W. L., 1967. The Biology of Acanthocephala. *Advances in Parasitology* **5**: 204-246;
- Nunn, C.L., Gittleman, J.L., Antonovics, J. 2003. A comparative study of white blood cell counts and disease risk in carnivores. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, **270**: 347–356;
- Olifiers, N. 2010. Life-history and disease ecology of the brown-nosed coati (*Nasua nasua*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in the Brazilian Pantanal. Tese de Doutorado em Filosofia, University of Missouri, USA;
- Olifiers, N., Bianchi, R. C., D'Andrea, P. S., Mourão, G., Gompper, M. E. 2010. Estimating age of carnivores from the Pantanal region of Brazil. *Wildl. Biol.* **16**: 389-399;
- Oliviera-Sequeira, T. G. C., Amarante, A. F. T., Ferrari, T. B., Nunes, L. C. 2002. Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* **103**: 19–27;
- Olmos, F. 1993. Notes on the food habits of Brazilian Caatinga carnivores. *Mammalia* **57**: 126-130;
- Pedó, E., Tomazzoni, A.C., Hartz, S.M., Christoff, A.U. 2006. Diet of crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnivora, Canidae), in a suburban area of southern Brazil. *Rev. Bras. Zool.* **23**: 637-641;
- Pence, D. B., Stone, J. E. 1978. Visceral lesion in wild carnivores naturally infected with *Spirocerca lupi*. *Vet Pathol* **15**: 322-331;
- Pedersen, A. B., Jones, K. E., Nunn, C. L., Altizer, S. 2007. *Conservation Biology* **21**(5): 1269–1279;
- Permin, A., Pearman, M., Wansen, P., Bisgaard, M. F., Frandsen, F. 1997. On investigation in different media for embryonation of *Ascaridia galli* eggs. *Helminthologia* **34**: 75-79;
- Pinto, R. M., Knoff, M., Gomes, D. C, Noronha, D. 2011. *Neotrop. Helminthol.* **5**(2): 139-183;
- Price, P.W. 1980. *Evolutionary Biology of Parasites*. Princeton University Press, Princeton, NJ;

- Poulin, R. 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *Amer Nat* 14:287–295;
- Quentin, J. C. 1969. Essai de classificassion des Nématodes Rictulaires. *Mém. Mus. Nat. Hist. Nat.*, n s., 54: 57-115;
- Ramachandran, P. V., Shakir, S. A., Ramakrishnan, R. 1984. Spirocercosis in canines – a necropsy survey. *Cheiron Tamil Nadu Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry* 13: 132–135;
- Read, C. P. 1974. *Parasitismo Animal*. São Paulo: Polígono, 223 p.;
- Reiczigel, J., Rózsa, L. 2005. *Quantitative Parasitology 3.0*. Budapest;
- Rey, L. *Parasitologia*. 2008. Ed: Guanabara Koogan;
- Rocha, V.J., Reis, N.R. & Sekiama, M.L. 2004. Dieta e dispersão de sementes por *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae), em um fragmento florestal no Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 21: 871–876;
- Rodela, L. G. 2006. Unidades de Vegetação e Pastagens Nativas do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. PhD Thesis. Universidade de São Paulo, São Paulo;
- Rodrigues S.S., Borgo P.F., Tavares L.E.R., Souza T.D. 2006. Análise qualitativa e quantitativa de helmintos gastrintestinais de *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnívora: Canidae) encontrados atropelados na rodovia ES 060, Vila Velha–Guarapari, Espírito Santo, Brasil. Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Ribeirão Preto, Brasil, 3-6 setembro, p 297;
- Ruas, J. L., Muller, G., Farias, N. A. R.; Gallina, T., Lucas, A. S., Pappen, F. G., Sinkoc, A. L., Brum, J. G. W. 2008. Helmintos do cachorro do campo, *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) e do cachorro do mato, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária* 17: 87-92;
- Santos, K.R. Dos., Catenacci, L.S., Pestelli, M.M., Takahira, R.K., Lopes, R.S.; Silva, R.J. Da. 2003. First Report of *Ancylostoma buckleyi* Le Roux and Biocca, 1957 (Nematoda: Ancylostomatidae) infecting *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Mammalia: Canidae) from Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 12(4): 179-181;
- Santos, J. L. C., Magalhães, N. B., Andrade dos Santos, H., Ribeiro, R. R., Guimarães, M. P. 2012. Parasites of domestic and wild canids in the region of Serra do Cipó National Park, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal 21(3): 270-277;

- Schalk, G., Forbes, M.R. 1997. Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age, and parasite taxon. *Oikos* 78: 67-74;
- Schmidt, G. D. 1972. Revision of the class Archiacanthocephala Meyer, 1931 (Phylum Acanthocephala), with emphasis on Oliganthorhynchidae Southwell et Macfie, 1925. *Journal of Parasitology* 58: 290-297;
- Scott, M. E., Lewis, J.W. 1987. Population dynamics of the helminth parasites in wild and laboratory rodents. *Mammal Review*. 17: 95-103;
- Silveira, L. 1999. Ecologia e conservação dos mamíferos carnívoros do Parque Nacional das Emas. Dissertação de Mestrado em Biologia – Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 117 p.;
- Simões, R.O., Souza, J.G.R, Maldonado Jr, A, Luque J.L. 2011. Variation in the helminth community structure of three sympatric sigmodontine rodents from the coastal Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Helminthology* 85: 171–178;
- Smyth, J. D. 1994. *Introduction to Animal Parasitology*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 3rd Edition;
- Soliman S., Marzouk A.S., Main A.J., Montasser A.A. 2001. Effect of sex, size, and age of commensal rat hosts on the infestation parameters of their ectoparasites in a rural area of Egypt. *J Parasitol* 87:1307–1316;
- Soulsby, E. J. L. 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th edn. East Sussex: Ballie´re Tindall, London, UK;
- Stanko, M., Miklisova, D., Bellocq J.G., Morand, S. 2002. Mammal density and patterns of ectoparasite species richness and abundance. *Oecologia* 131: 289–295;
- Stunkard, H. W. 1965. New intermediate host in the life cycle of *Prosthenorchis elegans* (Diesing, 1851), an acanthocephalan parasite of primates. *The Journal of Parasitology* 51: 645-649.
- Thatcher, V. E. 1971. Some hookworms of the genus *Ancylostoma* from Colombia and Panama. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 38: 109-116;
- Tkaach, V. V., Swiderski, Z. P. 1996. Scanning electron microscopy of the rare nematode species *Pterygodermatites bovieri* (Nematoda: Rictatuliriidae), a parasite of bats. *Folia Parasitologica* 43: 301-304;
- Torres, E. L., Maldonado, A., Lanfredi, M. 2007. *Pterigodermatites (Paucipectines) jagerskioldi* (Nematoda: Rictulariidae) from *Gracilinanus agilis* and *G.*

microtarsus (Marsupialia: Didelphidae) in Brazilian Pantanal and Atlantic Forest by light and scanning electron microscopy. *Journal of Parasitology* 93: 274-279;

- Torres, J., Miquel, J., Casanova, J.C., Ribas, A., Feliu, C. 2006. Endoparasite species richness of Iberian carnivores: influences of host density and range distribution. *Biodiversity Conserv* 15: 4619–4632;
- Traub, R. J., Robertson, I. D., Irwin, P., Mencke, N., Andrew Thompson, R. C. 2004. Application of species-specific PCR-RFLP to identify *Ancylostoma* eggs directly from canine eggs. *Veterinary Parasitology* 123: 245-255;
- Travassos, L. 1915. *Uncinaria carinii* n. sp. (nota prévia). *Brazil Med.*,29(10):73;
- Travassos, L. 1917. Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira, XVII. Revisão dos acantocéfalos brasileiros. Parte I. Fam. Gigantorhynchidae Hamann, 1982. *Suplemento-Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 17: 5-62;
- Tugwell, R. L., Ackert, J. E. 1952. On the tissue phase of the life cycle of the fowl nematode *Ascaridia galli* (Schrank). *The Journal of Parasitology* 4: 277-288;
- van der Merwe, L. L., Kirberger, R. M., Clifts, S., Williams, M., Keller, N., Naidoo, V. 2008. *Spirocerca lupi* infection in the dog: a review. *The Veterinary Journal* 176 294-309;
- Varela, O., Burcher, E. H. 2006. Passage time, viability, and germination of seeds ingested by foxes. *Journal of Arid Environments* 67: 566–578;
- Vicente, J.J., Rodrigues, H.O., Gomes, D.C., Pinto, R.M. 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: nematóides de mamíferos. *Rev Brasil Zool* 14 suppl.1:1-452;
- Vieira, F. M., Luque, J. L., Muniz--Pereira, L. C. 2008. Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa* 1721: 1–23;
- Waal, P. J., Gous, A., Clift, S. J., Greeff, J. M. 2012. High within-host genetic variation of the nematode *Spirocerca lupi* in a high-density urban dog population. *Veterinary Parasitology* 187: 259-266;
- Waller, P., Rudby-Martin, L., Ljungstrom, B. & Rydzik, A. 2004. The epidemiology of abomasal nematodes of sheep in Sweden, with particular reference to over-winter survival strategies. *Vet. Parasitol.* 122: 207–220;
- Wang, X., Tedford, R. H. 2004. The behavioral biology of dogs. In Jensen, P. (Ed.) *Evolutionary history of canids*. Trowbridge, Cromwell Press. pp. 1-20;

- Woodroffe, R., Cleaveland, S., Courtenay, O., Laurenson, M.K., Artois, M. 2004. Infectious disease — infectious disease in the management and conservation of wild canids. *Biology and conservation of wild canids* (ed. by D.W. Macdonald and C. Sillero-Zubiri), pp. 123–142. Oxford University Press, Oxford;
- Yamaguti, S. 1963. Acanthocephala. In: *Systema Helminthum*, Vol. 5. Interscience Publications, John Wiley and Sons edit., New York – London, 423 p.;
- Zuk, M. 1996. Disease, endocrine-immune interactions, and sexual selection. *Ecology* 77:1037–1042;
- Zuk, M., McKean, K.A. 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *Int J Parasitol* 26:1009–1024.

