



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

DOENÇAS DE *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* NO CERRADO BRASILEIRO

JAIR ALVES FERREIRA JUNIOR

TESE DE DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA-DF
AGOSTO/2022**



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

DOENÇAS DE *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* NO CERRADO BRASILEIRO

JAIR ALVES FERREIRA JUNIOR

ORIENTADOR: PEDRO MIGUEL OCAMPOS PEDROSO

TESE DE DOUTORADO EM SAÚDE ANIMAL

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MEDICINA PREVENTIVA E PATOLOGIA
VETERINÁRIA**

LINHA DE PESQUISA: PATOLOGIA VETERINÁRIA

**BRASÍLIA-DF
AGOSTO/2022**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

DOENÇAS DE *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* NO CERRADO BRASILEIRO

JAIR ALVES FERREIRA JUNIOR

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO DOUTOR EM SAÚDE ANIMAL.

APROVADA POR:

PEDRO MIGUEL OCAMPOS PEDROSO, doutor (Universidade de Brasília)
(ORIENTADOR)

FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA, doutor (Universidade de Brasília)
(CO-ORIENTADOR E/OU EXAMINADOR INTERNO)

ADELINA MARIA GASPAR GAMA QUARESMA, doutora (Universidade de Tras-os-Montes e Alto Douro, Portugal)
(EXAMINADOR EXTERNO)

ADRIANA DA SILVA SANTOS, doutora (Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí)
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 29 de agosto de 2022

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FERREIRA JUNIOR, J. A. Doenças de *Didelphis albiventris* no Cerrado brasileiro. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 103p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

AF383d Alves Ferreira Junior, Jair
 DOENÇAS DE DIDELPHIS ALBIVENTRIS NO CERRADO BRASILEIRO /
 Jair Alves Ferreira Junior; orientador Pedro Miguel Ocampos
 Pedroso. -- Brasília, 2022.
 103 p.

 Tese (Doutorado - Doutorado em Saúde Animal) --
 Universidade de Brasília, 2022.

 1. Doenças de Didelphis. 2. Patologia Veterinária. 3.
 Cerrado. I. Miguel Ocampos Pedroso, Pedro, orient. II.
 Título.

AGRADECIMENTOS

À Deus, minha família em nome de minha esposa Karla Nascimento, meus pais e minhas irmãs.

Ao hospital veterinário de animais selvagens da UnB pela parceria na obtenção dos animais e informações clínicas.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos para desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus amigos Juliano Terra, João Paulo Bayman, Leandro Santos, Maira Lacerda, Sóstenes Apolo e todos outros amigos e colegas residentes que contribuíram direta e indiretamente na elaboração dessa tese.

Aos orientadores, professores e mentores Pedro Pedroso, Juliana Targino e Fabiano Sant'Ana pelos ensinamentos e iniciação científica em Patologia Veterinária.

RESUMO

Gambás são marsupiais sinantrópicos importantes dispersores de sementes nos biomas da Mata Atlântica, Amazônia, Caatinga e Cerrado brasileiro e mantenedores de agentes zoonóticos em zonas periurbanas. O gênero *Didelphis* é o gênero de marsupial com maior dispersão no mundo. Poucos estudos tratam dos aspectos anatomopatológicos e as causas de mortes na espécie *Didelphis albiventris*. Além disso, o conhecimento de particularidades anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* em animais domésticos e silvestres são úteis para a correta interpretação diagnóstica e investigações forenses nesses animais. Esta tese foi dividida em revisão de literatura (capítulo 1) e cinco artigos científicos. No artigo 1 analisou-se 204 protocolos de necropsia de gambás-de-orelha-branca provenientes da rotina do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB) e do Hospital Veterinário de Animais Selvagens da UnB, no período de janeiro de 2010 a junho de 2020. As principais causas de morte foram traumáticas, infecciosas e parasitárias, e metabólicas. Utilizou-se a técnica de imuno-histoquímica para diagnóstico de um caso de toxoplasmose encefálica e um sarcoma pleomórfico. No artigo 2, caracterizou-se os aspectos anatômicos da espécie, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* registradas na rotina de necropsia de agosto de 2018 a junho de 2020. Como aspectos anatômicos, têm-se: o marsúpio, papilas mamárias, osso epipúbico, trato reprodutivo bífido, bolsa escrotal na localização inguinal e cranial ao pênis, cauda semi-preênsil, ausência de garras no primeiro dígito do membro pélvico, ausência do lobo quadrado hepático, papilas filiformes da língua, ausência de pelos e estrutura labial em filhotes. Como lesões de pouco significado clínico destacam-se as infestações por helmintos e protozoários como *Physaloptera* sp., *Sarcocystis* sp. e *Cruzia tentaculata*, hiperplasia de musculatura lisa em arteríolas pulmonares, evidenciação do padrão lobular hepático, abrasões cutâneas corporais e laceração da extremidade da cauda. Como alterações *post mortem* autolíticas e putrefativas mais comuns comentou-se sobre enfisema pulmonar, timpanismo intestinal e pseudomelanose, palidez de órgãos e desprendimento da epiderme (maceração). Os artigos 3, 4 e 5 compreendem relatos de casos de condições específicas. Conclui-se que traumatismos, septicemias e tríade neonatal são importantes causas de morte em gambás-de-orelha-branca do Distrito Federal, no Cerrado brasileiro. Eles são susceptíveis a *Toxoplasma gondii* e mantenedores do agente na natureza.

ABSTRACT

Opossums are synanthropic marsupials that are important seed dispersers in the Atlantic Forest, Amazon, Caatinga and Brazilian Cerrado biomes and maintainers of zoonotic agents in peri-urban areas. The *Didelphis* genus is the most widely dispersed marsupial genus in the world. Few studies address the anatomopathological aspects and causes of death in the species *Didelphis albiventris*. In addition, knowledge of anatomical particularities, lesions of little clinical significance and *post mortem* changes in domestic and wild animals are useful for the correct diagnostic interpretation and forensic investigations in these animals. This thesis was divided into a literature review (chapter 1) and five scientific articles. In article 1, 204 white-eared opossums necropsy protocols were analyzed from the routine of the Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB) and of the Hospital Veterinário de Animais Silvestres (UnB), in the period of January of 2010 to June 2020. The main causes of death were traumatic, infectious and parasitic, and metabolic. The immunohistochemical technique was used to diagnose a case of brain toxoplasmosis and a pleomorphic sarcoma. In article 2, the anatomical aspects of the species, lesions of little clinical significance and *post mortem* changes recorded in the necropsy routine from August 2018 to June 2020 were characterized. As anatomical aspects, there are: the pouch, mammary papillae, epipubic bone, bifid reproductive tract, scrotal pouch in the inguinal and cranial location of the penis, semi-prehensile tail, absence of claws on the first digit of the pelvic limb, absence of the square lobe liver, filiform tongue papillae, absence of hair and lip structure in puppies. As lesions of little clinical significance, stand out infestations by helminths and protozoa such as *Physaloptera* sp., *Sarcocystis* sp. and *Cruzia tentaculata*, smooth muscle hyperplasia in pulmonary arterioles, evidence of the hepatic lobular pattern, body skin abrasions and tail end laceration. As the most common *post mortem* autolytic and putrefactive alterations, pulmonary emphysema, intestinal tympanism and pseudomelanosis, pallor of organs and detachment of the epidermis (maceration) were commented. Articles 3, 4 and 5 comprise case reports of specific conditions. It is concluded that trauma, septicemia and neonatal triad are important causes of death in white-eared opossums from the Federal District, in the Brazilian Cerrado. They are susceptible to *Toxoplasma gondii* and maintainers of the agent in nature.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS ARTIGO CIENTÍFICO 1	ix
LISTA DE FIGURAS ARTIGO CIENTÍFICO 2	x
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
1.1 INTRODUÇÃO	12
1.2 DISTÚRBIOS INFECCIOSOS E NÃO INFECCIOSOS	16
1.2.1 Lesões traumáticas	16
1.2.2 Distúrbios infecciosos e parasitários	17
1.2.3 Alterações proliferativas.....	22
1.2.4 Distúrbios metabólicos e metabolismo.....	23
1.2.4.1 Doença óssea metabólica.....	23
1.2.4.2 Aspectos reprodutivos e tríade neonatal.....	24
1.3 REFERÊNCIAS	26
2 OBJETIVO GERAL	31
3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4 INFORMAÇÕES ADICIONAIS	33
5 ARTIGO CIENTÍFICO 1	34
CAUSAS DE MORTE EM <i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i> NO CERRADO BRASILEIRO	34
6 ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	55
PARTICULARIDADES ANATÔMICAS, LESÕES DE POUCO SIGNIFICADO CLÍNICO E ALTERAÇÕES <i>POST MORTEM</i> NA NECROPSIA EM <i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i>	55
7 ARTIGO CIENTÍFICO 3.....	76
UNDIFFERENTIATED PLEOMORPHIC SARCOMA IN AN OPOSSUM (<i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i>).....	76
(Artigo submetido ao periódico Journal of Comparative Pathology).....	76
8 ARTIGO CIENTÍFICO 4.....	87
RICKETS IN WHITE-EARED OPOSSUMS (<i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i>)	87
(Artigo publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)	87
9 ARTIGO CIENTÍFICO 5.....	92
TOXOPLASMOSE ENCEFÁLICA EM UM GAMBÁ-DE-ORELHA-BRANCA (<i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i>).....	92
(Artigo publicado no periódico Acta Scientiae Veterinariae)	92
10 CONCLUSÕES.....	103

LISTA DE FIGURAS ARTIGO CIENTÍFICO 1

Figura 1.1 – Distribuição do número de registros de necropsia de <i>Didelphis albiventris</i> por mês de recebimento no LPV-UnB no período de 2010 a 2020.....	38
Figura 1.2 – Distriuição das categorias de causas de mortes em <i>Didelphis albiventris</i> analisados pelo LPV-UnB (2010-2020)	39
Figura 1.3 – Politraumatismo em <i>D. albiventris</i> , cabeça e pescoço: Notam-se lesões perfurocontusas na lateral direita do pescoço e mandíbula (setas).....	40
Figura 1.4 – Politraumatismo em <i>D. albiventris</i> , membro torácico: Lesão contusa com fratura oblíqua de úmero esquerdo (seta).....	40
Figura 1.5 – Traumatismo torácico em <i>D. albiventris</i> , hemotórax (seta).....	41
Figura 1.6 – Crânio, traumatismo, <i>D. albiventris</i> : Nota-se fratura cominutiva do processo palatino da maxila e mandíbula (setas).....	41
Figura 1.7 – Frequência de regiões corporais afetadas por lesões traumáticas em necropsias de <i>D. albiventris</i> (2010-2020).....	42
Figura 1.8 – Gambá, <i>D. albiventris</i> , septicemia, costelas: Nota-se abscesso subcutâneo com exsudato pastoso amarelo (seta), isolado <i>Corynebacterium</i> e <i>Staphylococcus</i> sp.....	44
Figura 1.9 - Nota-se abscesso abdominal com exsudato fluido amarelo ao corte (seta verde). Foi isolado <i>Salmonella</i> sp.....	44
Figura 1.10 - Septicemia por <i>Streptococcus</i> spp. e <i>Staphylococcus</i> spp, articulação tíbio-társica: Há um abscesso subcutâneo com conteúdo caseoso e amarelo (seta).....	45
Figura 1.11 –Septicemia por <i>Streptococcus</i> spp. e <i>Staphylococcus</i> spp, <i>D. albiventris</i> , rim, nefrite supirativa: Mesmo animal observado em na figura anterior com múltiplos abscessos milimétricos na cortical renal (seta verde)	45
Figura 1.12 – <i>D. albiventris</i> , rim, Glomerulonefrite embólica séptica em <i>D.albiventris</i> . Nota-se agregado bacteriano basofílico no espaço de Bowman (seta) associado a intenso infiltrado de neutrófilos degenerados e necrose do parênquima renal. HE, obj. 40x – Bar: 20µm.....	46
Figura 1.13 – <i>D. albiventris</i> , pulmão, pneumonita intersticial neutrofílica e histiocítica aguda em <i>D. albiventris</i> . Notar os septos interalveolares espeçados por infiltrado de macrófagos e neutrófilos (seta). HE, obj. 40x – Bar: 20µm.....	46
Figura 1.14 - <i>D. albiventris</i> , pulmão, Pneumonia parasitária por metastrongilídeo sugestivo de <i>Didelphostrongylus</i> spp. em <i>D. albiventris</i> . Nota-se colapso alveolar com infiltrado misto de eosinófilos (seta) e leucócitos mononucleares. HE, obj. 40x – Bar: 20µm.....	47
Figura 1.15 - <i>D. albiventris</i> , pulmão, artéria pulmonar, embolia séptica, <i>D. albiventris</i> . Nota-se macrófago com citoplasma basofílico preenchido por bactérias <i>D. albiventris</i> com septicemia. HE, obj. 40x – Bar: 20µm.....	47
Figura 1.16 – Tríade neonatal em <i>D. albiventris</i> , filhote. A – nota-se fígado amarelado à direita de um rim sem revestimento gorduroso na cápsula (seta). B – Fotomicrografia, fígado, lipidose hepática, <i>D. albiventris</i> : nota-se os hepatócitos com um a dois grandes vacúolos redondos que expandem o citoplasma (cabeça de seta). HE, obj 40x, Bar: 20µm.....	48

LISTA DE FIGURAS ARTIGO CIENTÍFICO 2

Figura 2.1 – Necropsia de <i>D. albiventris</i> , vista ventral, topografia da cavidade torácica e abdominal. Da esquerda para a direita nota-se T – traqueia, C – coração, P – pulmão, F – Fígado, VB – vesícula biliar, E – estômago, Du – duodeno, B – baço, Je – jejuno, Cod- cólon descendente, Ce- Ceco.....	58
Figura 2.2 – Marsúpio de fêmea <i>Didelphis albiventris</i> , adulta. Evidenciam-se sete papilas mamárias.....	59
Figura 2.3 – Vista ventral da cavidade abdominal de um <i>Didelphis albiventris</i> durante a necropsia. O osso epipúbico está apoiado sobre a pinça. Há uma estrutura em forma de “V” cranial ao púbis (triângulo vermelho)	59
Figura 2.4 - Trato reprodutivo de fêmea de <i>Didelphis albiventris</i> . Note estrutura bífida com ovários (O), tubas uterinas (TU), útero (U), vaginas laterais (VL), seio urogenital (SU), canal urogenital (CU).....	60
Figura 2.5 – Pênis e prepúcio de um <i>Didelphis albiventris</i> , macho. Notar a glândula bífida.....	61
Figura 2.6 – Região abdominal de um <i>D. albiventris</i> , macho, adulto. Nota-se posicionamento da bolsa escrotal (seta preta)	61
Figura 2.7 – Cauda, <i>Didelphis albiventris</i> : observa-se uma curvatura em forma de gancho na extremidade e ausência de pelos.....	62
Figura 2.8 – Membros pélvicos de um <i>D. albiventris</i> , adulto. Nota-se o primeiro dígito do membro pélvico desprovido de garra. Essa é uma característica da espécie.....	62
Figura 2.9 – Fígado e diafragma. <i>Didelphis albiventris</i> . Nota-se ausência do lobo quadrado (seta).....	63
Figura 2.10 – Língua, <i>Didelphis albiventris</i> : note as papilas filiformes no ápice da língua conferindo-lhe um aspecto aveludado.....	64
Figura 2.11 – Filhote, <i>Didelphis albiventris</i> , período fetal: nota-se pele delgada, pelos finos e lábios largos.....	64
Figura 2.12 – Mucosa de estômago de <i>Didelphis albiventris</i> , parasitado por <i>Physaloptera</i> spp. associadas a áreas irregulares de hemorragia e erosão da mucosa gástricas (áreas pretas)	66
Figura 2.13 – Fotomicrografia, estômago, <i>Didelphis albiventris</i> : nota-se grande quantidade de larvas de parasitos pseudocelomados sugestivos de espirurídeos (seta), além de leve infiltrado linfoplasmocítico da lâmina própria.....	66
Figura 2.14 – Ceco, <i>Didelphis albiventris</i> , parasitismo acentuado por <i>Cruzia tentaculata</i> . Notam-se vermes enovelados em meio ao conteúdo intestinal após abertura do segmento.....	67
Figura 2.15 – Fotomicrografia, Músculo esquelético, <i>Didelphis albiventris</i> . Nota-se, no centro, cisto de <i>Sarcocystis</i> spp. preenchidas por inúmeros bradizoítos azuis (basofílicos). HE, Obj 40 x.....	68
Figura 2.16 – Fotomicrografia, pulmão, arteríola, <i>D. albiventris</i> . Nota-se hiperplasia da musculatura lisa. A lesão é relacionada ao parasitismo por <i>Didelphostrongylus hayesi</i>	69
Figura 2.17 – Fígado, face diafragmática, <i>Didelphis albiventris</i> , evidenciação do padrão lobular.....	69

Figura 2.18 – Membro pélvico, <i>Didelphis albiventris</i> : nota-se erosão cutânea leve (seta). B – Cauda, <i>Didelphis albiventris</i> : nota-se ausência da extremidade distal, a qual é substituída por uma cicatriz.....	70
Figura 2.19 - <i>Didelphis albiventris</i> , pulmão, enfisema <i>post mortem</i> . Nota-se no lobo cranial esquerdo áreas multifocais brancas de distensão gasosa e pequenos pontos brancos nos demais lobos (setas).....	71
Figura 2.20 – <i>D. albiventris</i> , Cavidade abdominal, intestinos delgado e grosso. Nota-se o duodeno distendido por grande quantidade de gás e com áreas de pseudomelanose (seta).....	72
Figura 2.21 – <i>D albiventris</i> , coração e pulmão: há moderada palidez do miocárdio ventricular esquerdo (seta). Acima, nota-se pulmão difusamente vermelho por embebição hemoglobínica.....	72
Figura 2.22 - <i>Didelphis albiventris</i> , membro torácico, desprendimento da epiderme (maceração). Nota-se área sem pelos com descolamento da epiderme. Notar também a ausência de alterações circulatórias.....	73

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUÇÃO

As espécies de *Didelphis* Linnaeus, 1758 representam importante papel no ecossistema sulamericano devido à alta versatilidade na ocupação de fragmentos florestais urbanos, utilizando-se de diversos estratos ambientais e uma dieta generalista. Por esse motivo, espécies desse gênero tem alta capacidade de adaptação a ambientes próximos ou dentro de áreas urbanas (ALMEIDA et al., 2008).

No ambiente atuam como dispersores de sementes e são usados como hospedeiros para uma variedade de parasitas internos e externos, incluindo pulgas, carrapatos, larvas e ácaros, bem como cestóides, nematóides e vermes acantocéfalos (JIMENEZ et al., 2011), vírus (LAVORENTE et al., 2021) e protozoários (HUMBERG et al., 2012; NANTES et al., 2021). Assim, eles apresentam grande importância na epidemiologia de doenças no geral, sendo considerados potenciais disseminadores de agentes etiológicos de zoonoses (MULLER et al., 2005; SANTIAGO et al., 2007; HUMBERG et al., 2012; NANTES et al., 2021).

Poucos estudos tratam dos aspectos anatomopatológicos, frequência de doenças e mortalidade em didelfídeos. Revisões sobre doenças nesses marsupiais foram feitas principalmente para o gambá-da-virgínia (*Didelphis virginiana*) (BARR et al., 1963); e o gambá comum (*Didelphis marsupialis*) (POTKAY, 1970; POPE; DONNELL, 2017). Os trabalhos com *Didelphis albiventris* brasileiros são geralmente voltados a estudos parasitológicos, sorológicos e moleculares exploratórios em tecidos de animais necropsiados, principalmente nos estados do Paraná, Mato Grosso do Sul e São Paulo (SANTIAGO et al., 2007; HUMBERG et al., 2012; NANTES et al., 2021; LAVORENTE et al., 2021).

Sabe-se que há alto índice de mortalidade dos animais devido ao estresse e as precárias condições que os animais são encontrados durante as ações de captura por órgãos fiscalizadores e comercialização por tráfico de animais. Os gambás do gênero *Didelphis* sp.



alcançam índices de 97,1% de mortalidade em registros do CETAS (BRASIL, 2016), muitos dos quais são destinados a laboratórios de diagnóstico necroscópico e instituições de pesquisa.

Há portanto, necessidade de melhor caracterização de lesões e levantamento de distúrbios zoonóticos ou não, de maior relevância e frequência, facilitando o monitoramento e o estabelecimento de medidas de controle e profilaxia, permitindo assim, auxiliar na conservação estratégica da espécie e no estudo epidemiológico de doenças comuns entre animais selvagens e humanos.



Espécies e distribuição do gênero *Didelphis* no Brasil

A família Didelphidae possui ampla distribuição nas regiões neoártica e neotropical e ocupam todas as Américas nos mais diversos nichos. Estão presentes na América do Sul desde as florestas austrais e habitats arbustivos da Patagônia, passando pelos Andes e toda a extensão das florestas das planícies subtropicais e tropicais, Cerrado e Chaco, até regiões áridas da Caatinga. No Brasil, estão distribuídos no interior do país, particularmente no Cerrado, Pantanal, nas florestas sazonais decíduas e em formações pioneiras, como várzeas (CÁRCERES; MONTEIRO-FILHO, 2006). Na região do Cerrado podem ser encontradas espécies como *Monodelphis* sp., *Gracilinanus agilis*, *Marmosa demerarae*, *Didelphis marsupialis* e *Didelphis albiventris* (OLIVEIRA, 2019). No total, apenas quatro espécies do gênero *Didelphis* Linnaeus, 1758 são encontradas no Brasil: *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (popularmente gambá, raposa, saruê, seriguê, micurê, cassaco); *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826; *Didelphis imperfecta* Mondolfi & Pérez-Henandez, 1984 e *Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758 (ROSSI et al., 2006). As particularidades de cada espécie são resumidas na tabela 1.

Tabela 1: Caracterização de espécies do gênero *Didelphis* Linnaeus, 1758 encontradas no Brasil (Adaptado de ROSSI et al., 2006)

Espécie	Nome popular	Características	Distribuição no Brasil	Ilustração
<i>Didelphis albiventris</i> Lund, 1840	Gambá, raposa, saruê, seriguê, micurê, cassaco, timbú	Médio porte Coloração grisalha, face com três listras pretas Orelhas branco-rosadas na metade distal Cauda preênsil e desprovida de pelos no terço distal Frugívora-onívora	Leste e centro-oeste, cerrado e caatinga	 <p>Fonte: BITENCOURT; BEZERRA, 2022)</p>
<i>Didelphis aurita</i> Wied- Newied, 1826	Gambá, raposa, saruê, seriguê	Porte médio; Face com listra escura na frente e outra sobre cada olho; Orelha preta e desprovida de pelos; Pelagem ventral creme-amarelada Cauda preênsil, sem pelos no terço distal. Onívoro	Porção leste, do estado de Alagoas a Santa Catarina, estendendo-se a oeste até o Mato Grosso do Sul. Bioma Mata Atlântica	 <p>Fonte: Bruno Chaves, 2022¹</p>

¹ Disponível em: <http://brunochavesanimais.blogspot.com.br/2011/11/gamb-a-de-orelha-preta.html> Acesso em: 22 set. 2022.

<p><i>Didelphis imperfecta</i> Mondolfi & Pérez-Hernández, 1984</p>	<p>Gambá, saruê, mucura</p>	<p>Porte médio Pelagem da cabeça branca com faixas negras sobre os olhos. Orelha negra na parte basal e branca na extremidade distal. Cauda preênsil e pele glabra Sem informações sobre hábitos alimentares</p>	<p>Extremo Norte do Brasil</p>	
<p><i>Didelphis marsupialis</i> Linnaeus, 1758</p>	<p>Gambá, saruê, mucura</p>	<p>Porte médio Listra escura na fronte e outra sobre cada olho. Orelha grande, desprovida de pelos, pavilhão completamente preto. Dorso preto ou grisalho. Cauda preênsil, preta na parte basal seguida por branco-amarelado e possui pelos apenas na região próxima do corpo Frugívora-onívora</p>	<p>Regiões centrais do Brasil</p>	

Fonte: GONZÁLEZ et al., 2020.²

Fonte: ICB-UFMG³

² Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Adult-female-of-Didelphis-imperfecta-Mondolfi-Perez-Hernandez-1984-captured-at-El_fig2_344165642 Acesso em: 22 set. 2022.

³ Disponível em: http://labs.icb.ufmg.br/lbem/ddb/mammalia/didelphis_marsupialis.html. Acesso em: 22 set. 2022.

Os marsupiais didelfídeos caracterizam-se por possuírem o marsúpio, uma pequena bolsa contendo as papilas mamárias na região inguinal e por um trato reprodutivo bífido. O primeiro dígito do membro pélvico é desprovido de garras. São ainda seres arborícolas ou terrestres de hábitos noturnos (CRUZ; MARGARIDO, 2003). Sua alimentação é composta por invertebrados, frutos, pequenos vertebrados e ocasionalmente carniça, flores, néctar e goma de árvores, sendo que a procura por esses alimentos é variável a depender dos recursos do ambiente, palatabilidade, retorno energético e custos de forrageamento (LESSA; GEISE, 2010). Sabe-se ainda que esses animais atuam no controle de serpentes e pequenos invertebrados como escorpiões (NASCIMENTO; HORTA, 2014). A estação reprodutiva tem início no inverno e termina no verão período em que também são capturadas maior número de fêmeas do que machos (CRUZ; MARGARIDO, 2003).

1.2 DISTÚRBIOS INFECCIOSOS E NÃO INFECCIOSOS

1.2.1 Lesões traumáticas

Em 2014, segundo o relatório do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), órgão ligado ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), a espécie *D. albiventris* foi a espécie de mamífero mais recebida e destinada nas atuações do CETAS, principalmente por entrega voluntária de espécime ao órgão. *Didelphis marsupialis* foi a segunda espécie de mamífero mais apreendida e *Didelphis aurita*, a espécie mais resgatada (BRASIL, 2016). Essas informações constataam a presença cada vez mais frequente desses animais nas áreas periurbanas e urbanas, locais onde estão mais próximos de vias públicas e residências.

Os traumatismos estão entre as causas mais frequentes de lesões nos didelfídeos, principalmente devido a brigas, ataques de cães e atropelamentos. Os gambás estão listados entre as espécies de animais selvagens com maior ocorrência de atropelamentos nas rodovias brasileiras (TURCI; BERNADE, 2009; BAUNI; ANFUSO; SCHIVO, 2017). De modo geral, *D. albiventris* estão bem adaptados com o ambiente urbano tornando-o mais susceptível a atropelamentos em vias públicas quando procuram por comida, principalmente fêmeas prenhes e lactantes (RIBAS et al., 2016). Geralmente os quadros mais graves revelam fraturas únicas ou múltiplas e traumatismo cranioencefálico. O prognóstico depende da extensão das lesões e do quadro neurológico (NASCIMENTO; HORTA, 2014). A documentação *post*

mortem das lesões originadas de atropelamentos tem despertado o interesse da patologia forense no intuito de esclarecer as circunstâncias e o mecanismo da morte do indivíduo, muitas vezes com o auxílio de técnicas auxiliares como a radiologia (RIBAS et al., 2016).

Uma série de bactérias Gram positivas e negativas foram isoladas da cavidade oral de gambás-da-virgínia (*Didelphis virginiana*) em um estudo (HOWELL; DALSEY, 1990), o que sugere que traumas oriundos de mordidas de didelfídeos são portas de entrada para infecções bacterianas que porventura venham a causar a morte de animais que se envolvem em brigas. Outra importante causa de lesões traumáticas em gambás é a predação por espécies naturais ou invasoras como cães. Tanto cães invasores podem afetar a fauna nativa através da predação, competição e perturbação, fator importante quando se trata de animais ameaçados de extinção (YOUNG et al., 2011). Um trabalho realizado na Mata Atlântica brasileira lista *Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris* dentre as principais espécies abatidas por cães que vivem livres em áreas periurbanas, onde há maior contato com mamíferos silvestres (PEREIRA et al., 2019). Os animais abatidos são encontrados abatidos devido a mordidas e desfigurações ao longo do corpo (PEREIRA et al., 2019).

Por terem hábito arborícola, em sua adaptação às cidades, ficam sujeitos a eletrocussões em redes elétricas de casas e ruas. É relatado como uma das *causas mortis* dos didelfídeos em CETAS (NASCIMENTO; HORTA, 2014). A morte desses animais pode estar associada à insuficiência cardíaca ou respiratória decorrente da ação da descarga elétrica sobre o coração e o sistema nervoso central. Esses animais podem apresentar lesões discretas, tais como áreas de pele com pelos queimados (chamuscados) associados à hiperemia e hemorragias subcutâneas, ou não apresentar quaisquer alterações (WATANABE et al., 2010; NASCIMENTO; HORTA, 2014).

1.2.2 Distúrbios infecciosos e parasitários

Das 66 espécies de Didelphidae que ocorrem no Brasil, 24 deles apresentaram resultados positivos para a infecção de agentes zoonóticos, com grande destaque para as espécies do gênero *Didelphis*, principalmente *D. albiventris* e *D. aurita*, conhecido por ser muito bem adaptado aos ambientes urbanos (BITENCOURT; BEZERRA, 2021). Algumas doenças virais podem ser citadas com ocorrência natural e/ou experimental em marsupiais, apresentando ou não sinais clínicos específicos, tais como pseudorraiva (*Herpesvirus*), encefalomiocardite (*Cardiovirus*), estomatite vesicular (*Rhabdoviridae*), encefalite de Saint

Louis (*Flaviridae*), encefalite equina do Oeste (*Togaviridae*), encefalite equina do Leste (*Alfavirus*) e encefalite venezuelana (*Alfavirus*) (NASCIMENTO; HORTA, 2014; WILLIAMS; BARKER, 2001). Há evidências sorológicas de circulação do vírus rábico em populações de saruês no Brasil, porém, sem relatos da doença nesses animais (BACCHIEGA, 2014). Resistência ao vírus rábico já foi demonstrada em estudos experimentais (NASCIMENTO; HORTA, 2014). Adicionalmente, foram encontrados os seguintes vírus *Orthobunyavirus*, *Morbillivirus*, *Sigmatorquevirus*, *Alphatorquevirus*, *Parvovirus*, *Hepatovirus*, *Rotavirus* e *Orthopoxvirus*, sendo este último também encontrado em *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758) (BITENCOURT; BEZERRA, 2021).

A cinomose canina é uma doença viral causada por um *Morbillivirus* da Família *Paramixoviridae* e afeta principalmente os sistemas respiratório, gastrintestinal e nervoso em cães. Infecções pelo vírus da cinomose canina já foi descrito em onça parda (LIMA et al. 2020), causando sinais de pneumonia. Estudos recentes abordam a identificação molecular de um *Morbillivirus* felino (FeMV) em gatos domésticos causando doença renal (WOO et al., 2012). Esse mesmo vírus foi encontrado em tecidos de rim e pulmão em *D. albiventris* sinantrópicos com lesões de pneumonia intersticial, nefrite linfocítica e necrose tubular nos renal. Desse modo concluiu-se que o FeMV é capaz de infectar outras espécies de mamíferos e reforçam a possibilidade do gambá ser um disseminador desse vírus entre animais domésticos e selvagens (LAVORENTE et al., 2021).

Os estudos com bactérias descritas no trato gastrintestinal feitos com gambá-da-Virgínia foram: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., e *Enterococcus* spp. entre outras (RODRIGUES et al., 1992). *Salmonella enterica* foi isolada de gambá-de-orelha-branca e gambá-de-orelha-preta (*D. albiventris* e *D. aurita*) sadios, no estado de São Paulo, e estes animais não apresentaram manifestações clínicas da doença ressaltando-se a importância da prevenção e higiene dos profissionais contactantes com esses animais (CASAGRANDE et al., 2011). Infecções bacterianas documentadas em *Didelphis virginiana* incluem endocardite por *Streptococcus* e broncopneumonia por *Pasteurella multocida* e *Bordetella bronchiseptica* (JOHNSON-DELANEY, 2014).

Proteus spp., *Salmonella bern*, *Streptococcus* spp., *E. coli*, e *Aerobacter* spp. são citados como agentes associados a endocardite vegetativa em um estudo com gambás-da- Virgínia cativos. No mesmo estudo há associação entre endocardite bacteriana, nefrite, glomerulonefrite e amiloidose esplênica e hepática em gambás, o que sugere que o cativo e/ou alimentação inadequada possam predispor esses animais a infecções devido ao estresse e

maior exposição aos agentes (SHERWOOD et al., 1968). Desde a década de 1960 discute-se sobre a importância de gambás na epidemiologia da tularemia e da leptospirose. Evidências indicam que gambás podem ser importantes, em algumas áreas, na transmissão da tularemia e como uma fonte de infecção humana (BARR, 1968). *Staphylococcus aureus*, também causa síndromes septicêmicas, infecções cutâneas e mastite em gambás no Brasil (NASCIMENTO; HORTA, 2014). Pouco se discute sobre a leptospirose como doença em gambás, mas desde 1953 há relatos sorológicos e de isolamento de leptospiras em gambás comuns (*Didelphis marsupialis*) (BARR, 1963). No Brasil há isolamento de *Leptospira* spp. em amostras de urina, sangue e sistema nervoso central de *D. albiventris* sinantrópicos, porém sem desenvolver a doença (JORGE et al., 2012; SILVA et al., 2013; FERNANDES et al., 2020). Infecções por *Rickettsias* parecem não ser de importância clínica para *Didelphis* spp. De acordo com os estudos experimentais, os gambás apresentaram resultados que os declararam hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii* para determinados vetores, no caso, carrapatos da espécie *Amblyoma cajennense* colaborando para a manutenção do agente da febre maculosa no ambiente (NASCIMENTO; HORTA, 2014). A mesma conclusão foi tomada com relação a *Rickettsia felis*, no México, onde foi detectada em 32,1% de gambás de duas espécies (*Didelphis virginiana* e *D. marsupialis*) (PENICHE-LARA et al., 2016).

Actinomyces odontolyticus foi descrito em gambá-da-virgínia como agente causador de pneumonia. Os animais infectados podem apresentar pneumonia granulomatosa, atelectasia, edema e enfisema pulmonar. O agente pode se instalar em outros órgãos, causando hepatite, nefrite, endometrite e pancreatite. Contudo, nem todos os animais infectados apresentam quadro clínico (ALMGREM; MCLURE, 2000). Dermatite e otite externa por *Malassezia pachydermatis* podem ocorrer a depender das condições de temperatura e umidade em gambás, de forma semelhante a animais domésticos (NASCIMENTO; HORTA, 2014).

No Brasil, há vários estudos sobre presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em gambás-de-orelhas-pretas (*D. marsupialis*), gambás (*Didelphis* spp.), e gambás-de-orelhas-brancas no estado de São Paulo. A participação dos gambás na epidemiologia da toxoplasmose no Brasil não está totalmente esclarecida. Sabe-se, no entanto, que os gambás podem indicar o grau de contaminação do local em que vivem graças à grande capacidade de adaptação no seu habitat natural e ao compartilhamento do ambiente com outras espécies animais. Desse modo, podem contribuir com a manutenção do agente na natureza e com a possível transmissão da doença ao humano (YAI et al., 2003). A toxoplasmose clínica é incomum em gambás americanos, que possuem certa resistência, mas as lesões foram descritas em gambás australianos causando macroscopicamente consolidação pulmonar com pneumonia

intersticial, hemorragias e estrias pálidas no músculo cardíaco com necrose além de ulceração, avermelhamento gastrointestinal e encefalomalacia (CANFIELD; HARTLEY; DUBEY, 1990). Microscopicamente, no encéfalo, registrou-se gliose focal, necrose focalmente extensa e infiltrado de neutrófilos, material necrótico calcificado e manguito perivascular de linfócitos e plasmócitos. O diagnóstico nesses casos foi confirmado por imuno-histoquímica através da qual também foi feito diagnóstico diferencial para *Neospora caninum* (CANFIELD, HARTLEY; DUBEY; 1990). *Neospora caninum* e *Sarcocystis neurona* também foram pesquisados e identificados molecularmente e *in vitro* em tecidos de gambás de orelha preta e branca no Nordeste do Brasil (GONDIM et al., 2017). Nesses casos, o animal atua como hospedeiro definitivo de *S. neurona* e como reservatório para *Neospora caninum*, contudo, esses agentes não demonstram importância clínica nas espécies.

Com relação à leishmaniose, os marsupiais destacam-se como reservatórios selvagens. Os gambás podem albergar tanto os agentes da leishmaniose tegumentar como os agentes da leishmaniose visceral, dependendo da localização geográfica em que vivem, e de acordo com a epidemiologia da doença no local (PEREIRA, 1990). Essas espécies podem contribuir para a manutenção do agente nas populações humanas e caninas em áreas de ocorrência da doença. A criação de animais domésticos e o acúmulo de lixo potencializam a participação dos reservatórios e vetores na epidemiologia da leishmaniose, uma vez que são atraídos para a proximidade do convívio humano (ALEXANDER et al. 2002). No Brasil já foram descritas infecções naturais por *Leishmania infantum* em *D. aurita* (CARREIRA et al., 2012). *L. i. chagasi* em *D. albiventris* no Mato Grosso do Sul (HUMBERG et al., 2012), detecção de anticorpos para *Leishmania* spp. em *Didelphis* spp em São Paulo (SANTIAGO et al., 2007). Nenhum desses trabalhos descreve sobre a forma clínica da doença nesses animais, mas reforçam o seu papel como reservatório do agente.

Os gambás são considerados os mais comuns e antigos reservatórios selvagens conhecidos para *Trypanosoma cruzi*. O agente pode desenvolver, além das formas amastigotas, formas epimastigotas e tripomastigotas metacíclicas nas glândulas anais ou acessórias de gambás (*Didelphis* spp.), podendo ser encontradas essas duas formas evolutivas nesses marsupiais (DEANE; LENZI; JANSEN; 1984). O ciclo que o parasita desenvolve nas glândulas parece ser similar ao desenvolvido no vetor triatomíneo, o que pode representar um importante passo na evolução do *T. cruzi*, dispensando o vetor na disseminação do agente (JANSEN et al, 1997). Além de *T. cruzi*, *T. lainsoni* também foi detectado em estudo sorológico e molecular em *D. albiventris* de fragmentos florestais urbanos no Mato Grosso do Sul. Neste trabalho concluiu-se que os gambás são bioacumuladores de

tripanossomatídeos especialmente em zonas urbanas coabitadas por pequenos mamíferos (NANTES et al., 2021)

Os marsupiais brasileiros são hospedeiros de numerosas espécies de helmintos. Foram relatadas parasitando *Didelphis* spp.: trematódeos (*Schistosoma mansoni*, *Eurytrema coelomaticum*, *Echinostoma revolutum*); cestódeos (*Echinococcus oligarthus*, *Diphyllobothrium mansonoides*); nematódeos (*Trichinella spiralis*, *Didelphostrongylus hayesi*, *Aspidodera taillieti*, *Cruzia tentaculata*, *Gongelonomoides marsupialis*, *Gnathostma turgida*, *Dipetalonema didelphis*, *Physaloptera turgida*, *Spirura guianensis*, *Trichuris didelphis*) e acantocéfalos (*Oligacanthorhynchus microcephala*) (DEANE; LENZI; JANSEN, 1984; NASCIMENTO; HORTA, 2014). *Physaloptera* spp. é um dos parasitos mais comuns do estômago e que requer atenção na vermifugação de animais de biotério (JANSEN, 2002). Larvas e adultos de *Didelphostrongylus hayesi* tem sido relatado como importante causador de pneumonia granulomatosa em gambás *D. virginiana* contribuindo com a morte desses indivíduos (LAMBERSKI et al., 2002). No exame *post mortem*, macroscopicamente, o pulmão encontra-se não colapsado e com enfisema leve. Microscopicamente, em cerca de metade dos casos notam-se estágios adultos e larvais de *D. hayesi* em brônquios, bronquíolos e alvéolos misturados com células descamadas e muitos eosinófilos e, em menor grau, neutrófilos, macrófagos alveolares e células gigantes. Os brônquios e bronquíolos podem apresentar hiperplasia e metaplasia de células caliciformes, respectivamente, e infiltração de células linfoplasmocitárias no interstício e na lâmina própria. Lipidose endógena alveolar focal também pode ser encontrada. Para associação das lesões ao parasito e a *causa mortis* deve-se descartar lesões bacterianas concomitantes (LÓPEZ-CRESPO et al., 2017).

Ectoparasitoses também são comuns em didelfídeos porém nunca associadas a causa da morte do animal. Dentre os principais ectoparasitos há *Ixodes loricatus*, com menor frequência *I. amarali* e *I. luciae* e *Ornithodoros talaje* já foi relatado em gambá-de-orelha-branca (NASCIMENTO; HORTA, 2014). *Amblyomma aureolatum*, *A. auricularium*, *A. cajennense*, *A. coelebs*, *A. dubitatum*, *A. fuscum*, *A. humerale* e *A. Ovale* também foram encontrados. Dentre as pulgas é encontrada infestação por *Ctenocephalides felis felis*, *Polygenis* spp., *Rhopalopsyllus* spp. e *Polyenis atopus* frequentemente em gambás (*Didelphis* spp.).

Um trabalho recente aborda os agentes zoonóticos encontrados em espécies da família Didelphidae no Brasil. Neste mesmo trabalho ressalta-se o papel de didelfídeos como reservatórios de agentes infecciosos em zonas urbanas, devido à sua alta capacidade de

adaptação sendo o gênero *Didelphis* o mais abordados e os estudos mais frequentes na região Sudeste do Brasil (BITENCOURT; BEZERRA, 2022). Nota-se aí a necessidade de estudos semelhantes em outras regiões do Brasil.

1.2.3 Alterações proliferativas

Estudos sobre neoplasmas em didelfídeos são esporádicos. A maior parte das descrições é feita nos Estados Unidos em gambás-da-virgínia (*Didelphis virginiana*). Um estudo retrospectivo nessa espécie revelou como principais neoplasmas os adenocarcinomas pulmonares além de leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas nasal, mastocitoma disseminado, tricoblastoma, adenoma de tireoide, osteoma e um caso de sarcoma de origem não especificada (POPE; DONELL, 2017). Na mesma espécie há um relato de carcinoma de células escamosas de língua e de múltiplos carcinomas bronquioalveolares, porém sem esclarecer a etiologia exata dos mesmos (KIM et al., 2002) além de linfoma cutâneo epiteliotrópico metastático diagnosticado no exame citológico e histopatológico (HIGBIE et al., 2015). Nesse caso a patogênese e os fatores predisponentes foram comparados com os já conhecidos para cães o que demonstra a susceptibilidade de gambás em desenvolver neoplasias cutâneas.

Na América do Sul também há relatos de neoplasias em marsupiais. Em cuícas-de-rabo-curto (*Monodelphis domestica*), os principais neoplasmas descritos foram adenoma de hipófise, leiomioma uterino e lipoma cutâneo (HUBBARD et al., 1997). Em um *Didelphis aurita* de vida livre foi descrito um adenocarcinoma de células basais com origem na glândula salivar parotídea. Nesse caso, o diagnóstico pôde ser definido com ajuda de imunohistoquímica e os anticorpos primários incluíram monoclonais de camundongo anti-citoqueratina AE1 / AE3, policlonal de coelho anti-S100, antivimentina monoclonal (Vim3B4) e monoclonal (1A4) a-actina de músculo liso (DÍAZ-DELGADO et al., 2018). Esses anticorpos são usados rotineiramente para diagnóstico de neoplasias em animais domésticos o que demonstra que também são úteis no diagnóstico de neoplasmas em animais selvagens. Alterações nodulares não-neoplásicas também podem ser encontradas em gambás onde há um diagnóstico de hiperplasia nodular focal no fígado de um *Didelphis marsupialis* na ilha do Marajó (SOUZA et al., 2018).

Por fim, um caso de osteossarcoma fibroblástico foi descrito em saruê (*D. albiventris*) no Rio Grande do Sul em que o diagnóstico foi feito pelas características histopatológicas e

localização do tumor. No relato também se ressaltou a carência de informações como incidência, prevalência, fatores predisponentes e comportamento do neoplasma em animais silvestres (FRANÇA et al., 2020).

1.2.4 Distúrbios metabólicos e metabolismo

A taxa metabólica basal destes animais é geralmente baixa e é regulada de acordo com as necessidades reprodutivas ou com a termorregulação. Esta adaptação torna possível ao animal reservar energia para sobreviver em condições adversas; deste modo, como têm um baixo requerimento alimentar, têm uma tolerância ambiental maior. Animais do gênero *Didelphis* podem entrar em estado de torpor para preservar energia; este estado pode perdurar por mais de 11 h (NASCIMENTO; HORTA, 2014). Esta informação é importante para a formulação de dietas e para o entendimento da patogênese de doenças metabólicas como a lipidose hepática.

1.2.4.1 Doença óssea metabólica

Saruês estão predispostos a desenvolver doenças metabólicas, principalmente ósseas, quando criados em cativeiro. Doença óssea metabólica (DOM) é um dos termos utilizados para tratar do grupo de doenças que causam alterações da morfologia e função dos ossos em gambás. As melhores descrições da doença são feitas em *D. virginiana*. DOM é considerada um dos principais distúrbios em filhotes órfãos de didelfídeos. Dentro dessa síndrome se encaixam alterações como o raquitismo e a osteomalacia (MCRUER; JONES, 2009) e os sinais clínicos incluem dificuldade de locomoção, inabilidade de escalar, fragilidade óssea, fraturas e deformidades ósseas e, nesses animais, essa síndrome é geralmente causada por dieta inadequada, deficiência de Ca ou desequilíbrio da relação Ca-P e menos provavelmente por deficiência da vitamina D, tendo em vista que mamíferos de hábitos noturnos como *Didelphis albiventris* e outros mamíferos crepusculares têm alta eficiência para produzir vitamina D3 (colecálciferol) na pele com menor exposição à luz solar (MCRUER; JONES, 2009).

O mecanismo da doença baseia-se no hiperparatireoidismo secundário nutricional em que há mobilização de cálcio do osso por ação do paratormônio para manter níveis séricos satisfatórios de cálcio. No Brasil, o hiperparatireoidismo foi citado em um gambá-de-orelha-

preta (*Didelphis aurita*) cativo que, quando alimentado com suplementação de carbonato de cálcio e dieta adequada, pôde se recuperar do déficit de mineralização óssea no qual a doença resulta (CARVALHO et al., 2014).

O diagnóstico anatomopatológico é baseado na constatação das deformidades ósseas na macroscopia como deformidade e/ou alargamento das cartilagens epifisárias, amolecimento ósseo e curvatura dos membros no raquitismo. Na microscopia há grande quantidade de condrócitos displásicos hipertróficos nas cartilagens epifisárias e acúmulo de osteoide (CRAIG; DITTMER; THOMPSON, 2016).

1.2.4.2 Aspectos reprodutivos e tríade neonatal

No ciclo reprodutivo de *Didelphis albiventris* cerca de 20 a 40 óvulos são liberados, fecundados e se desenvolvem. Os marsupiais são considerados amniotas, formando, durante a gestação, um tipo de ‘placenta’ córion-vitelínica coberta por uma membrana cornificada e avascular – envoltório significativamente diferente da placenta córion-alantoide (JANSEN, 2002). A gestação intra-uterina dura de 11 a 12 dias, nascendo de 18 a 21 filhotes que são colocados por sua mãe na glândula mamária, à qual se adere por meio de certos músculos especiais presentes nos lábios. A ingestão do leite é realizada de forma contínua e sem sucção com o auxílio de músculos da faringe. Os filhotes permanecem até os 55 dias de vida presos aos mamilos, a partir de quando a organogênese é completada e eles começam a explorar o meio externo (JANSEN, 2002; CRUZ; MARGARIDO, 2003). Completados os dias no marsúpio os filhotes saem, permanecendo sempre próximos à mãe e voltam ao marsúpio para se proteger e alimentar. Uma característica importante no período marsupial é que nos filhotes a região do cérebro que faz a termorregulação não é funcional e dependem, portanto, do calor da mãe para sobreviver (CRUZ; MARGARIDO, 2003). As características reprodutivas dos marsupiais permitem que eles tenham eficiência reprodutiva podendo gerar maior número de descendentes em menor tempo (NASCIMENTO; HORTA, 2014).

O recebimento de filhotes órfãos de didelfídeos, especialmente *Didelphis albiventris* é uma rotina frequente no CETAS (NASCIMENTO e HORTA, 2014). Normalmente esses animais são recebidos quando ainda estão no período de sobrevivência no marsúpio e, portanto, com organogênese incompleta e menor chance de sobrevivência. Animais nessa faixa etária estão sujeitos a síndromes de hipotermia de forma isolada ou associada a quadros de hipoglicemia seguida de hipotermia e desidratação, conhecida como tríade neonatal. A

hipoglicemia ocorre quando há perturbação da homeostase da glicose em que a utilização da glicose excede produção de glicose e/ou entrada em circulação. Os mecanismos pelos quais a hipoglicemia pode surgir são: 1) dieta pobre em ingestão de carboidratos e outros substratos utilizados na gliconeogênese hepática; 2) aumento da captação e utilização de glicose pelas células normais ou neoplásicas, devido a um aumento na demanda ou hiperinsulinismo; 3) glicogenólise hepática disfuncional ou vias gliconeogênicas; e 4) anormalidades endócrinas, resultando em uma deficiência de hormônios contra-reguladores, como cortisol. Na maioria dos processos patológicos que causam hipoglicemia, a origem da hipoglicemia é multifatorial, porém em filhotes está mais associada a reservas inadequadas de glicogênio, gordura e massa muscular limitadas (IDOWU; HEADING, 2018).

Os achados anatomopatológicos em quadros de tríade neonatal são sutis devido à característica metabólica da síndrome. Em cordeiros foi utilizado como parâmetro para avaliação da síndrome: desidratação, pouca reserva de gordura, sinais de metabolização da gordura visceral caracterizada por apresentar um aspecto gelatinoso de cor avermelhada, diferente da gordura normal, de cor branca e consistência firme além de fígado escuro de consistência aumentada, vesícula urinária cheia de urina e adrenais hiperplásicas e hemorrágicas (NÓBREGA JR et al., 2005). O aquecimento em incubadora e a manutenção da dieta adequada aos filhotes com fórmulas lácteas são os primeiros procedimentos para controle da síndrome e sobrevivência dos filhotes de didelfídeos (NASCIMENTO; HORTA, 2014).

1.3 REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, Bruce; CARVALHO, Renata Lopes; MCCALLUM, Hamish; PEREIRA, Marcos Horácio. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 80, p. 1480-1485, Dec. 2002.
- ALMEIDA, Alex de; TORQUETTI, Camila; TALAMONI, Sônia. Use of space by neotropical marsupial *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae) in an urban forest fragment. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, p. 214-219, 2008.
- ALMGREM, C. M.; MCLURE, D. E. Granulomatous pneumonia in the opossum (*Didelphis virginiana*) associated with an intracellular fungal agent. **Comparative Medicine**, v. 50, p. 323-328, Jun. 2000.
- BACCHIEGA, Thais Silva. **Circulação do vírus rábico em gambás (*Didelphis albiventris* e *Didelphis aurita*) nos municípios de Torre de Pedra, Bofete e Anhembi-São Paulo**. 2014. 46 f. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/110374>>.
- BARR, Thomas. R. B. Infectious diseases in the opossum: a review. **The Journal of Wildlife Management**, v.27, n.1, p. 53-71, Jan. 1963.
- BAUNI, Valeria; ANFUSO, J.; SCHIVO, F. Wildlife roadkill mortality in the Upper Paraná Atlantic forest, Argentina. **Ecosistemas**, v. 26, n. 3, p. 54-66, sept./dec. 2017.
- BITENCOURT, Matheus M.; BEZERRA, Alexandra. Infection agents of Didelphidae (Didelphimorphia) of Brazil: an underestimated matter in zoonoses research. **Mammalia**, v. 86, n. 2, p. 105-122, dec. 2021.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. **Relatório técnico Cetos (2002-2014)**, 2016. Disponível em:http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/1309089/RES_POSTA_PEDIDO_cet.pdf. Acesso em 19 de jul. 2022.
- CÁCERES, Nilton. C.; MONTEIRO-FILHO, Emygdio. L. A. **Os marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Evolução**. 1. ed. Campo Grande: UFMS, v. 1, 2006.
- CANFIELD, P. J.; HARTLEY, W. J.; DUBEY, J. P. Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. **Journal of Comparative Pathology**, v. 103, p.159–167, 1990.
- CARREIRA, J. C. A.; DA SILVA, A. V. M.; DE PITA PEREIRA, D.; BRAZIL, R. P. Natural infection of *Didelphis aurita* (Mammalia: Marsupialia) with *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 111, 2012.
- CARVALHO, L. C. R. *et al.* Hiperparatiroidismo nutricional secundário em gambá. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 35, p. 76, 2014.
- CASAGRANDE, Renata Assis; LOPES, Luiz Fernando L.; REIS, Eliane Moura dos; RODRIGUES, Dália dos Prazeres; MATUSHIMA, Eliana Reiko. Isolamento de *Salmonella enterica* em gambás (*Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris*) do estado de São Paulo, Brasil.

Ciência Rural, v. 41, n. 3, p. 492-496, Mar. 2011.

CRAIG, L. E.; DITTMER, K. E.; THOMPSON, K. G. Bones and joints. *In*: MAXIE, M. G.; JUBB, K.; PALMER, S. **Pathology of Domestic Animals**, v. 1. 6th ed. Elsevier, p. 16-163, 2016.

CRUZ, Andréa Carla Costa da; MARGARIDO, Tereza Cristina Castellano. Características reprodutivas de *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Mammalia-Marsupialia) na região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 6, n.2, p. 119-126, jul/dez. 2003.

DEANE, Maria; LENZI, Henrique; JANSEN, Ana. *Trypanosoma cruzi*: Vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 513-515, Dec. 1984.

DÍAZ-DELGADO, J.; COIMBRA, A. A. C.; SANTOS-CIRQUEIRA, C.; SANCHES, T. C.; GUERRA, J. M.; OLIVEIRA, A. S.; CATÃO-DIAS, J. L. Parotid salivary gland basal cell adenocarcinoma in a Big-eared Opossum (*Didelphis aurita*). **Journal of comparative pathology**, v. 159, p. 21-25, Feb. 2018.

FERNANDES, Juciê Jales *et al.* *Didelphis albiventris* as a carrier of *Leptospira* sp. in the central nervous tissue in the semiarid region of Northeast, Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 73, p. 101560, Dec. 2020.

FRANÇA, Raqueli T.; SCHULZ, Érica T.; OLIVEIRA, Eduardo C.; DAMAREM, Wanderley W.; GIORDANI, Cláudia; PLETSCHE, Juliana A.; SONNE, Luciana. Osteossarcoma fibroblástico em gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 559-563, jul. 2020.

GONDIM, Leane S. Q. *et al.* *Sarcocystis neurona* and *Neospora caninum* in Brazilian opossums (*Didelphis* spp.): Molecular investigation and in vitro isolation of *Sarcocystis* spp. **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 192-198, Aug. 2017.

HIGBIE, Christine T. *et al.* Cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma with metastases in a Virginia opossum (*Didelphis virginiana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 46, n. 2, p. 409-413, Jun. 2015.

HOWELL, J. M.; DALSEY, W. C. Aerobic bacteria cultured from the mouth of the American opossum (*Didelphis virginiana*) with reference to bacteria associated with bite infections. **Journal of clinical microbiology**, v. 28, n. 10, p. 2360-2361, Oct. 1990.

HUBBARD, G. B.; MAHANEY, M. C.; GLEISER, C. A.; TAYLOR, D. E.; VANDEBERG, J. L. Spontaneous pathology of the gray shorttailed opossum (*Monodelphis domestica*). **Laboratory Animal Science**, v. 47, p. 19-26, Feb. 1997.

HUMBERG, Roberta M. P. *et al.* *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 470-472, Sep. 2012.

IDOWU, Olutunbi; HEADING, Katryn. Hypoglycemia in dogs: Causes, management, and diagnosis. **Canadian Veterinary Journal**. v. 59, n.6, p. 642-649, Jun. 2018.

JANSEN, Ana Maria. Marsupiais Didelfídeos. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. (ed.) **Animais de laboratório: criação e experimentação**, Rio de Janeiro: Fiocruz. 2002. p. 167.

JANSEN, Ana Maria *et al.* *Trypanosoma cruzi* in the Opossum *Didelphis marsupialis*: a study of the correlations and kinetics of the systemic and scent gland infections in naturally and experimentally infected animals. **Experimental Parasitology**, v. 86, p. 37-44, May. 1997.

JIMENEZ, Augustín; CATZEFLIS François; GARDNER, Scott. Structure of parasite component communities of *Didelphis marsupialis*: insights from a comparative study. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 5, p. 779-787, 2011.

JOHNSON-DELANEY, Cathy. Pet Virginia opossums and skunks. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 23, p. 317-326, Oct.2014.

JORGE, S.; HARTLEBEN, C. P.; SEIXAS, F. K.; COIMBRA, M. A.; STARK, C. B.; JOHNSON-DELANEY, Cathy A. Practical marsupial medicine. In: **Proceeding of the American Exotic Mammals Veterinarian Conference. Bonita Springs (FL)**. 2006. p. 51-60.

KIM, D. Y.; MITCHELL, M. A.; DE LAS HERAS, M.; TAYLOR, H. W.; CHO, D. Y. Spontaneous squamous cell carcinoma of the tongue and multiple bronchioloalveolar carcinomas in a Virginia opossum (*Didelphis virginiana*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 126, n. 2-3, p. 226-230, Feb/Apr. 2002.

LAMBERSKI, Nadine *et al.* A retrospective study of 11 cases of lungworm (*Didelphostrongylus hayesi*) infection in opossums (*Didelphis virginiana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 2, p. 151-156, Jun. 2002.

LAVORENTE, Fernanda *et al.* First detection of Feline morbillivirus infection in White-eared opossums (*Didelphis albiventris*, Lund, 1840), a non-feline host. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 3, p. 1426-1437, May. 2021.

LESSA, Leonardo Guimarães, GEISE, Lena. Hábitos alimentares de marsupiais Didelfídeos brasileiros: análise do estado de conhecimento atual. **Oecologia Australis**, v. 14, n.4, p. 901-910, dez. 2010.

LIMA, Janine Cruvinel de *et al.* Infecção por *Morbillivirus* canino em onça parda (*Puma concolor*) no estado de Mato Grosso, Brasil – relato de caso. *Revista Biodiversidade*, v. 19, n.3, p. 211-2019, jul. 2020.

LÓPEZ-CRESPO, Rubén A. *et al.* Pulmonary lesions caused by the lungworm (*Didelphostrongylus hayesi*) in the opossum (*Didelphis virginiana*) in Colima, Mexico. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 48, n. 2, p. 404-412, Jun. 2017.

MCRUER, David. L.; JONES, Kenneth. D. Behavioral and nutritional aspects of the Virginian opossum (*Didelphis virginiana*). **Veterinary Clinical of North America Exotic Animal Practice**, v. 12, p. 217-236, May. 2009.

MULLER, G. *et al.* *Didelphis albiventris* Lund, 1841, parasitado por *Ixodes loricatus* Neumann, 1899, e *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: *Ixodidae*) no Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 319-324, jul./set. 2005.

- NANTES, Wesley *et al.* Trypanosomatid species in *Didelphis albiventris* from urban forest fragments. **Parasitology Research**, v. 120, n. 1, p. 223-231, Jan. 2021.
- NASCIMENTO, Claudia; HORTA, Mauricio. Didelphimorphia (Gambá e Cuíca). *In:* CUBAS, Z.S; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L (ed.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2014. p. 682-706.
- NÓBREGA JR, Janduí Escarião da *et al.* Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, p. 171-178, set. 2005.
- OLIVEIRA, Kerliane Pereira Galvão Antunes de. **Estudos citogenéticos de espécies de marsupiais (Didelphidae) ocorrentes no cerrado de Aparecida do Rio Negro, Tocantins**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade, Ecologia e Conservação) – Programa de pós-graduação em biodiversidade, ecologia e conservação, Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, 2019.
- PENICHE-LARA, Gaspar *et al.* Infection by *Rickettsia felis* in opossums (*Didelphis* sp.) from Yucatan, Mexico. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, n. 32, p. 1-4, 2016.
- PEREIRA, Alan Deivid; ANTONIAZZI, Matheus Henrique; VIDOTTO-MAGNONI, Ana Paula; ORSI, Mário Luis. Mamíferos silvestres predados por cães domésticos em fragmentos de Mata Atlântica no sul do Brasil. **Biotemas**, v. 32, n. 2, p. 107-113, jun. 2019.
- PEREIRA, Antônia Maria Ramos Franco. **Leishmaniose tegumentar em *Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758 (Marsupialia: Didelphidae): Estudo da infecção experimental por *Leishmania* sp.** Dissertação (Mestrado) – Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, 1990. 145p.
- POPE, Jenny P.; DONNELL, Robert L. Spontaneous neoplasms in captive Virginia opossums (*Didelphis virginiana*): a retrospective case series (1989-2014) and review of the literature. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 29, n. 3, p. 331-337, Apr. 2017.
- POTKAY, S. Diseases of the opossum (*Didelphis marsupialis*): A review. **Laboratory Animal Care**, v. 20, n.3, p. 502-511, jun. 1970.
- RIBAS, Laila Massad; MASSAD, Maria Rita R.; TREMORI, Talia Missen; REIS, Servio Túlio Jacinto; EISING, Talita; ROCHA, Noeme Sousa. Postmortem Analysis of Injuries by Roadkill of a White-eared Opossum (*Didelphis albiventris*) by Radiographs and Forensic Necropsy-A Virtopsy Case Report. **Journal of Veterinary Science Technology**, v.7, n.1, p. 1-4, nov/dec. 2016.
- RODRIGUEZ, Liliana; CALABUIG, Richard; LAROCCO, Mark; MOOD, Frank; MILLER, Thomas. Bacterial flora of the gastrointestinal tract of opossums. **Veterinary Microbiology**, v. 30, n. 2/3, p. 289-295, Feb. 1992.
- ROSSI, Rogério; BIANCONI, Gledson; PEDRO, Wagner. Ordem Didelphimorphia. *In:* REIS, Nelio R., PERACCHI, Adriano. L.; PEDRO, Wagner. A.; LIMA, Isaac. P (ed.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2006. p. 27-36.
- SANTIAGO, Maria Emília *et al.* An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from

urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 4, p. 283-290, nov/dec. 2007.

SHERWOOD, B. F.; ROWLANDS J. R.; D. T.; HACKEL, D. B.; LEMAY, J. C. Bacterial endocarditis, glomerulonephritis and amyloidosis in the opossum (*Didelphis virginiana*). **The American Journal of Pathology**, v. 53, n. 1, p. 115, Jul. 1968.

SILVA, Felipe Jorge *et al.* Isolation of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic *Didelphis albiventris* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 6, p. 457-461, dez. 2013.

SOUZA, Alex Junior Sousa; SILVA, Carlos Augusto Moreira; SOARES Manoel do Carmo Pereira; COGLIATI, Bruno; DE SÁ, Lilian Rose Marques. Focal nodular hyperplasia of the liver in a free-ranging opossum (*Didelphis marsupialis*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 307, Jun. 2018.

TURCI, Luiz Carlos Batista; BERNARDE, Paulo Sérgio. Vertebrados atropelados na rodovia estadual 383 em Rondônia, Brasil. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 121-127, mar. 2009.

WATANABE, Tatiane T. N.; FERREIRA, Hugo H.; GOMES, Danilo C.; PEDROSO, Pedro M. O.; OLIVEIRA, Luis G. S.; BANDARRA, Paulo M., ANTONIASSI, Nádia A. B.; DRIEMEIER, David. Fulguração como causa de morte em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 243-245, mar. 2010.

WILLIAMS, Elizabeth S.; BAKER, Ian K. **Infectious Diseases of Wild Mammals**. 3. ed. Ames: Iowa State University Press, 2001. 532p.

WOO, Patrick C.Y *et al.* Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. 5435-5440, Mar/Apr. 2012.

YAI, L. E. O.; CAÑON-FRANCO, W. A.; GERALDI, V. C.; SUMMA, M. E. L.; CAMARGO, M. C. G.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 89, n.4, p. 870-871, Aug. 2003.

YOUNG, Julie K.; OLSON, Kirk A.; READING, Richard P.; AMGALANBAATAR, Sukh; BERGER, Joel. Is wildlife going to the dogs? Impacts of feral and free-roaming dogs on wildlife populations. **BioScience**, v. 61, n. 2, p. 125-132, feb. 2011.

2 OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência das principais causas de morte em *D. albiventris* no Cerrado brasileiro baseado no diagnóstico *post mortem* por meio de estudo retrospectivo no Laboratório de Patologia Veterinária da UnB (LPV-UnB) no período de 2010 a 2020. Caracterizar os aspectos anatomopatológicos da espécie nesse período, como auxílio no diagnóstico laboratorial, partindo-se de caracterização de peculiaridades anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* na rotina de necropsia.

3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer um estudo retrospectivo de doenças que levam a morte de *D. albiventris* no Cerrado brasileiro;
- Realizar uma caracterização etiológica e anatomopatológica dessas doenças;
- Relatar e discutir as características anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* em *D. albiventris*.

4 INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Essa tese resultou em dois artigos científicos: um intitulado “Causas de morte em *Didelphis albiventris* no Cerrado Brasileiro (2010-2020)”, que será submetido a revista internacional; e o segundo intitulado “Particularidades anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* na necropsia de gambás-de-orelha branca (*Didelphis albiventris*)” a ser submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira. Além desses, obteve-se outros três artigos científicos: artigo 3, submetido recentemente no periódico Journal of Comparative Pathology e intitulado “Undifferentiated pleomorphic sarcoma in an opossum”; artigo 4, intitulado “Rickets in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*)”, publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira e artigo 5, intitulado “Toxoplasmose encefálica em um gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*)”, publicado no periódico Acta Scientiae Veterinariae.

5 ARTIGO CIENTÍFICO 1

CAUSAS DE MORTE EM *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* NO CERRADO BRASILEIRO

RESUMO

Gambás são marsupiais sinantrópicos importantes dispersores de sementes nos biomas da Mata Atlântica, Amazônia, Caatinga e Cerrado brasileiro e mantenedores de agentes zoonóticos em zonas periurbanas. O gênero *Didelphis* é o gênero de marsupial com maior dispersão no mundo. Poucos estudos tratam dos aspectos anatomopatológicos e as causas de mortes na espécie *Didelphis albiventris*. O objetivo do trabalho é descrever as principais doenças e causas de mortes em gambás-de-orelha-branca na rotina de necropsia do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília, por meio de estudo retrospectivo entre os anos de 2010 a 2020. Resultados de necropsia foram analisados e as causas de morte foram categorizadas em causas traumáticas, infecciosas e parasitárias, metabólicas e neoplásicas. De 2010 a 2020 foram registradas 204 necropsias em gambás *D. albiventris* com diagnóstico definitivo. Os politraumatismos e traumatismos cranianos foram os principais diagnósticos em causas traumáticas com lesões predominantemente contusas na região da cabeça e membros torácicos. Septicemias oriundas de lesões em pele e membros secundárias a traumatismos foram a de segunda maior ocorrência. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *Pseudomonas* spp. e *Corynebacterium* spp. foram as principais bactérias isoladas em lesões supurativas. Em filhotes, tríade neonatal (desidratação/hipoglicemia/hipotermia) estão entre as principais causas metabólicas, seguida de lipidose hepática em animais adultos. Um caso de toxoplasmose encefálica e um sarcoma pleomórfico foram registrados e diagnosticados por imunohistoquímica. Conclui-se que traumatismos, septicemias e tríade neonatal são importantes causas de morte em *D. albiventris* no cerrado brasileiro.

Palavras-chave: didelfídeos, doenças de gambás, mamíferos silvestres, patologia

ABSTRACT

Opossums are synanthropic marsupials, important seed dispersers in the Atlantic Forest, Amazon, Caatinga and Brazilian Cerrado biomes and maintainers of zoonotic agents in peri-urban areas. The *Didelphis* genus is the most widely dispersed marsupial genus in the world. Few studies deal with the anatomopathological aspects and causes of death in the species *Didelphis albiventris*. The objective of this work is to describe the main diseases and causes of death in white-eared opossums in the necropsy routine of the Laboratory of Veterinary Pathology of the University of Brasília, through a retrospective study between the years 2010 to 2020. Necropsy results were analyzed and causes of death were categorized into traumatic, infectious and parasitic, metabolic and neoplastic. From 2010 to 2020, 204 necropsies were recorded in *D. albiventris* opossums with a definitive diagnosis. Multiple traumas and head injuries were the main diagnoses in traumatic causes with predominantly blunt injuries in the head and forelimbs. Septicemia from skin and limb injuries secondary to trauma were the second highest occurrence. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *Pseudomonas* spp. and *Corynebacterium* spp. were the main bacteria isolated in suppurative lesions. In puppies, neonatal triad (dehydration/hypoglycemia/hypothermia) are among the main metabolic causes, followed by hepatic lipidosis in adult animals. A case of brain toxoplasmosis and a pleomorphic sarcoma were recorded and diagnosed by immunohistochemistry. It is concluded that trauma, septicemia and neonatal triad are important causes of death in *D. albiventris* in the Brazilian cerrado.

Keywords: didelphids, opossum diseases, wild mammals, pathology

INTRODUÇÃO

Gambás-de-orelha-branca são marsupiais pertencentes a ordem Didelphimorphia, família Didelphidae e subfamília Didelphinae. Nessas encontram-se quatro espécies do gênero *Didelphis* Linnaeus, 1758 encontradas no Brasil: *D. marsupialis* (Linnaeus 1758), *D. aurita* (Wied-Neuwied 1826), *D. albiventris* (Lund 1840) e *D. imperfecta*. (TARDIEU; ADOGWA; GARCIA, 2017). *D. albiventris* é conhecido como gambá-de-orelha-branca, sariguê, cassaco ou timbú e são animais sinantrópicos, frugívoros-onívoros, de hábito noturno (ROSSI, BIANCONI e PEDRO, 2006).

Revisões sobre doenças nesses marsupiais foram feitas principalmente para o gambá-da-virgínia (*D. virginiana*) (BARR et al., 1963); e o gambá comum (*D. marsupialis*) (POTKAY, 1970; POPE; DONNELL, 2017). Na maioria dos estudos brasileiros protozoários, helmintos e bactérias que infectam *D. albiventris* porém sem desenvolver doença clínica importante. A espécie, portanto, tem papel importante dentro do conceito de saúde única atuando como mantenedores de agentes infecciosos e parasitários para outros animais e também para os seres humanos (JANSEN, 2002; NASCIMENTO; HORTA, 2014; BITENCOURT; BEZERRA, 2021).

Doenças de ocorrência natural são pouco relatadas na espécie *D. albiventris* e a maioria dos relatos internacionais são para a espécie *D. virginiana*. Raquitismo, nefrite, pneumonia, hepatite e neoplasias são exemplos de doenças descritas (POTKAY, 1970, POPE; DONNELL, 2017; FRANÇA et al., 2020). Traumatismos são comuns em gambás sinantrópicos. Eles estão listados entre as espécies de animais selvagens com maior ocorrência de atropelamentos nas rodovias brasileiras e a espécie de mamífero mais atendida em centros de triagem de animais silvestres no Brasil (TURCI; BERNADE, 2009; BRASIL, 2016; BAUNI et al., 2017). Relatórios sobre as principais doenças de *D. albiventris* no Brasil são escassos e limitados a estudos parasitológicos, sorológicos e relatos de caso (SANTIAGO et al., 2007; HUMBERG et al., 2012; LAVORENTE et al., 2021; NANTES et al., 2021). O conhecimento do diagnóstico *post mortem* nesses animais pode contribuir tanto para a conservação da espécie como com dados de relevância para saúde pública. O objetivo deste artigo é caracterizar a ocorrência das principais causas de mortes em *D. albiventris* sinantrópicos submetidos ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília, Cerrado brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os livros de registro de necropsia do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB) no período de janeiro de 2010 a junho de 2020 e selecionados os casos da espécie *D albiventris*. Foram revisados os resultados de necropsia, principais achados macroscópicos e microscópicos, faixa etária (filhote ou adultos), mês de recebimento, histórico e resultados de cultura microbiológica e exames de qPCR (Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real) para determinação da etiologia, quando disponíveis. Histokit de colorações especiais de vermelho-congo e ácido periódico de Schiff (EasyPath Diagnósticos ®, São Paulo, Brazil) foram utilizadas, quando necessário. Dados sobre os locais de resgate dos animais entre agosto de 2019 e julho de 2020 foram concedidos pelo Centro de Triagem de animais Silvestres (CETAS), órgão governamental ligado ao ministério do meio ambiente. Os CETAS são unidades legalmente estabelecidas responsáveis por receber, identificar, avaliar, recuperar, reabilitar e destinar os animais silvestres sob sua guarda (BRASIL, 2008). O histórico clínico foi obtido junto a equipe do Hospital Veterinário de Animais Selvagens da UnB. Casos sem o estabelecimento da causa da morte e inconclusivos foram retirados da contagem. As causas de morte foram categorizadas em quatro grupos: traumáticas, infecciosas parasitárias, metabólicas e neoplásicas. Nas causas traumáticas foram incluídos diagnósticos que evoluíram politraumatismos com lesões contundentes ou cortocontundentes, independentemente de onde foram localizadas as lesões, causando debilitação do animal e morte. As infecciosas e parasitárias incluíram casos sugestivos de septicemia ou diagnósticos morfológicos sugestivos de infecções bacterianas, virais ou parasitárias. Foram considerados sugestivos de septicemia casos em que havia possível porta de entrada para bactérias ou animais com mais de uma lesão inflamatória supurativa em mais de um órgão vital. Nas causas metabólicas foram incluídos diagnósticos de lipidose hepática, tríade neonatal e doença óssea metabólica. As porcentagens de cada categoria foram calculadas. Nas lesões traumáticas, foram separados apenas os casos com maior número de informações sobre o histórico e determinado o número de repetições de lesões esqueléticas em regiões corporais: cauda, pelve, membro pélvico, abdômen, tórax, membro torácico, pescoço e crânio. Do mesmo modo, o número de repetições de sinais clínicos foi determinado quando descrito.

RESULTADOS

Foram contabilizados 360 registros de necropsias em *D. albiventris* com 204 resultados de necropsia definidos. Todos os animais eram provenientes do Distrito Federal, Brasil no bioma Cerrado oriundos de resgates feitos pelo CETAS, Batalhão de Polícia Militar ambiental do Distrito Federal (BPMA-DF) e entregues por voluntários diretamente ao Hospital Veterinário de Animais Selvagens e Laboratório de patologia veterinária da UnB. Foram contabilizados 67 machos e 26 fêmeas, em 111 (n=204) não foi registrado o sexo. Os registros de filhotes com peso entre 5 e 70 gramas, recebidos principalmente de agosto a dezembro, somaram noventa e três animais. De agosto de 2019 a julho de 2020, 84 registros de resgate de *D. albiventris* foram fornecidos pelo CETAS sendo 41,6 % deles provenientes de residências, 34,5% resgatados em vias públicas, 2,4% em áreas silvestres e 21,4% em outras áreas não especificadas. Os meses de maior recebimento de cadáveres foram os meses de primavera em outubro (16%) e novembro (14,5%) (Figura 1.1).

Quanto à categoria de diagnóstico *post mortem*, os traumatismos foram os mais frequentes (n=92), seguida pelas doenças parasitárias e infecciosas (n=82); doenças metabólicas (n=29) e um sarcoma pleomórfico indiferenciado metastático (Figura 1.2).

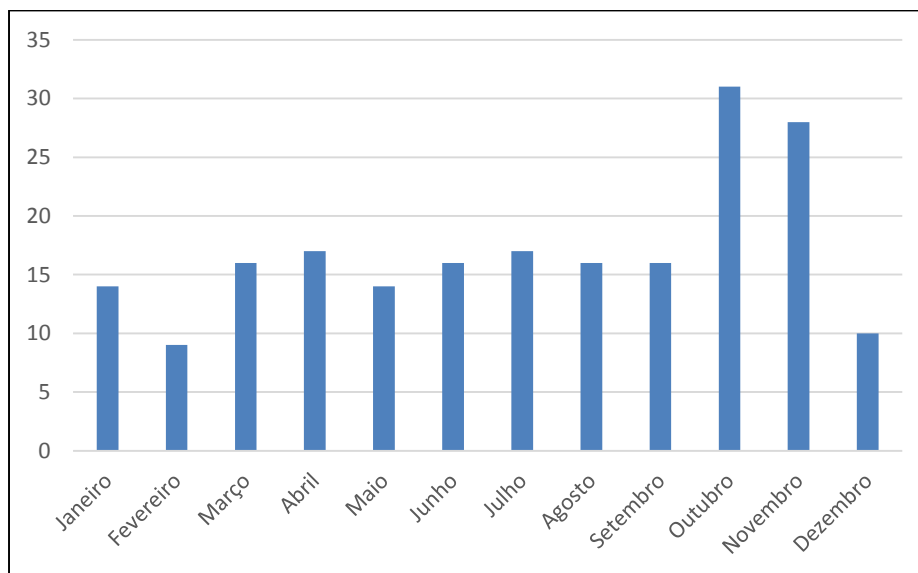


Figura 1.1 – Distribuição do número de registros de necropsia de *Didelphis albiventris* por mês de recebimento no LPV-UnB no período de 2010 a 2020.

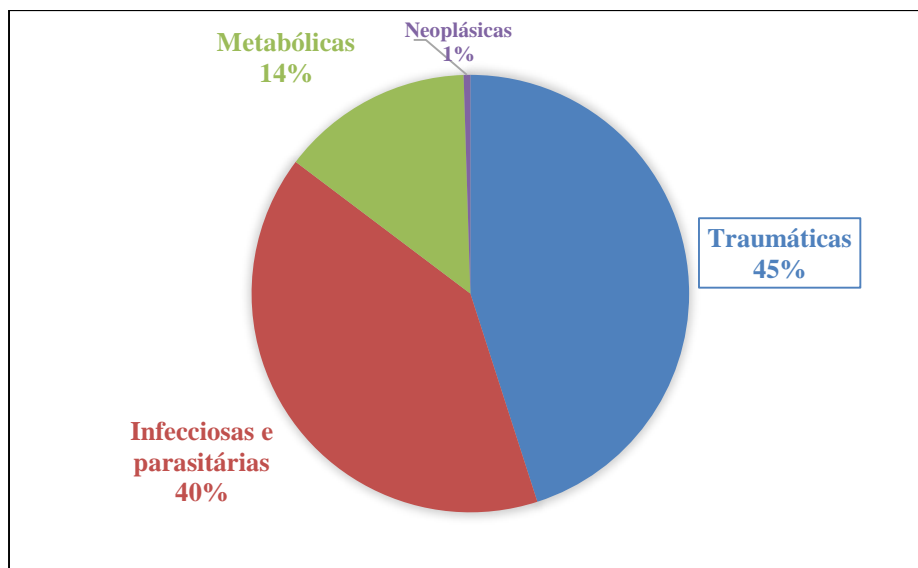


Figura 1.2 - Distribuição das categorias de causas de mortes em *Didelphis albiventris* analisados pelo LPV-UnB (2010-2020).

Traumatismos

Os diagnósticos necroscópicos foram de politraumatismos (Figura 1.3 – 1.6) (31/92 – 33,7%), traumatismo craniano (Figura 3D) (24/92 – 26%), sugestivo de predação e brigas (21/92 – 22,8%) fratura de esqueleto apendicular com eutanásia (7/92 – 7,6%), fratura vertebral com trauma medular (5/92 – 5,4%), choque hipovolêmico (3/92 – 3,3%) e pneumotórax (1/92 – 1%). A estação de inverno e primavera, entre os meses de maio e dezembro, somaram 83/92 (90,2%) dos casos de traumatismos. Dos 92 diagnósticos, apenas 47 fichas e laudos foram encontrados para análise do histórico clínico, tipo de trauma e distribuição das lesões. Desses (n=47), os machos somaram 45,5%, fêmeas, 40,4%, e 14 % não foi registrado sexo. Os animais adultos foram a maioria (51%). As lesões debilitantes ou letais mais repetidas foram hematomas subcutâneos (31,9%), fratura de crânio e mandíbula (29,8%), fratura de membro pélvico (17%), perfurações de tórax (10,6%), laceração de membro torácico (14,9%), laceração de membro pélvico (12,7%), fratura de coluna vertebral (6,38%), hemorragia encefálica (6,38%), evisceração abdominal (6,38%), laceração em cauda (6,38%), hemoperitônio e peritonite (4,25%), perfurações no pescoço (4,25%), mielomalacia (2,12%). Os principais sinais clínicos foram apatia, anemia, hipotermia, decúbito lateral, dispneia, paralisia de membro, baixo escore corporal, déficit proprioceptivo e vocalizações. Eutanásia devido à gravidade das lesões e prognóstico desfavorável foi registrada em 10/47 (21,2%). Os meses de maior recebimento de animais nessa categoria foram novembro (27,6%) e Julho (14,9%), respectivamente nas estações de primavera e inverno no Brasil central. As regiões corporais corporais mais afetadas são representadas na figura 1.7.



Figura 1.3 – Politraumatismo em *D. albiventris*, cabeça e pescoço: Notam-se lesões perfurocontusas na lateral direita do pescoço e mandíbula (setas).



Figura 1.4 – Politraumatismo em *D. albiventris*, membro torácico: Lesão contusa com fratura oblíqua de úmero esquerdo (seta).

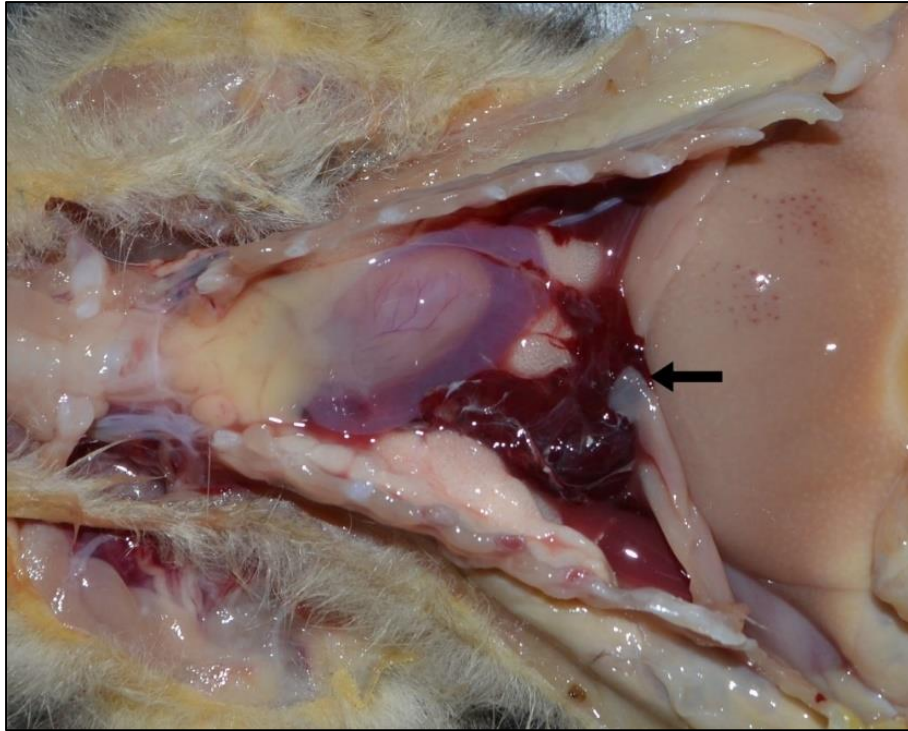


Figura 1.5 – Traumatismo torácico em *D. albiventris*, hemotórax (seta).

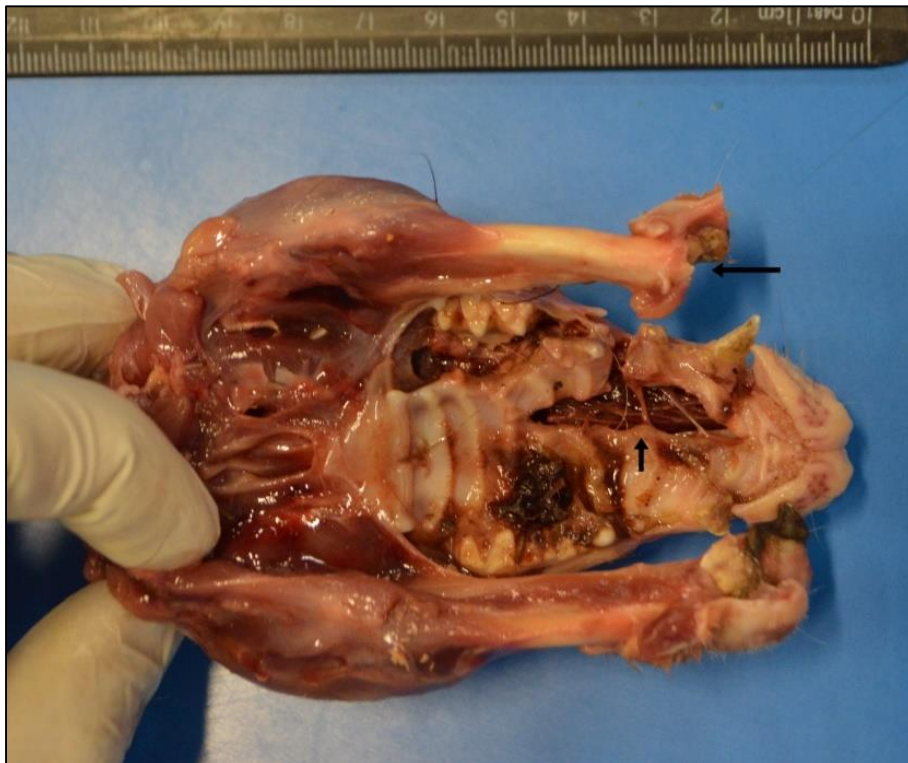


Figura 1.6 – Crânio, traumatismo, *D. albiventris*: Nota-se fratura cominutiva do processo palatino da maxila e mandíbula (setas).

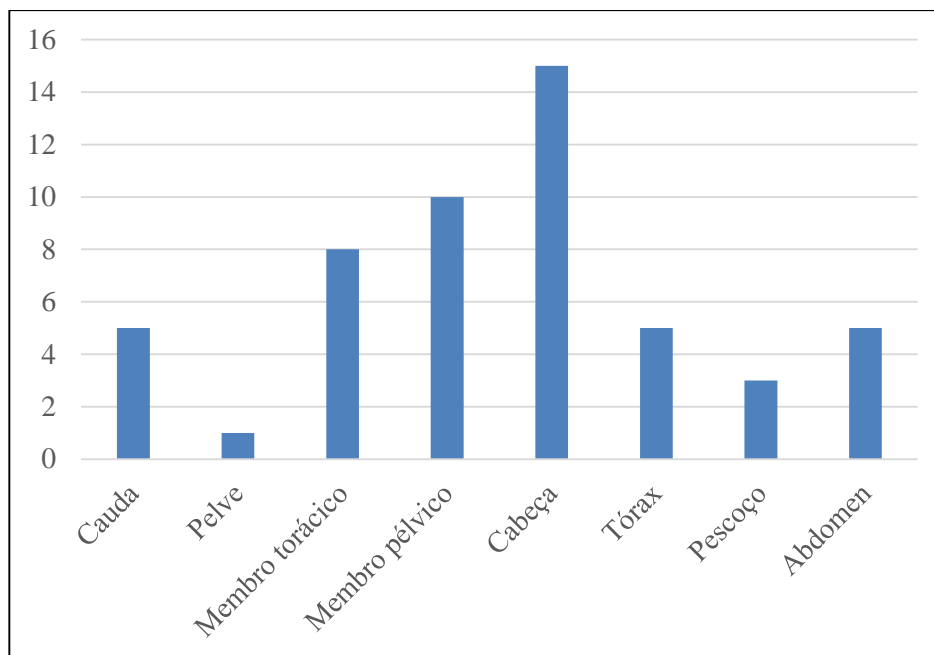


Figura 1.7 – Frequência de regiões corporais afetadas por lesões traumáticas em necropsias de *D. albiventris* (2010-2020).

As lesões cortocontusas consistiram em suspeitas de mordeduras em todos os casos. Predação por outros animais e brigas estiveram associados às lesões em 14/47 casos. O histórico clínico registrou lesões sugestivas de mordeduras em 7/47 casos. Hemotórax, perfurações, rompimento de vísceras e lacerações foram as principais alterações associadas a politraumatismos, predação e brigas. As demais não puderam ser associadas a nenhuma causa devido à ausência de informações sobre a origem dos animais.

Infecciosas e parasitárias

Foram contabilizados 81 registros de diagnósticos relacionados a mortes por causas infecciosas ou parasitárias. Em ordem decrescente ocorreram processos septicêmicos ou sugestivos de septicemia (64/81 – 79%), pneumonia intersticial ou broncointersticial (12/81 – 14,8%), pneumonia parasitária associadas a nematódeos sugestivos de *Didelphostrongylus* sp. (3/81 – 3,7%), toxoplasmose encefálica (1/81 – 1,2%) e um caso sugestivo de tétano (1,2%). Desses, 48 tiveram maiores informações sobre o histórico. Desses, 32 (n=48) tiveram como porta de entrada traumatismos como dermatites supurativas e/ou necróticas, perfurações cutâneas e fraturas com miosite e dermatite secundária. Os diagnósticos morfológicos mais registrados nos processos septicêmicos foram, em ordem crescente, pneumonia, meningoencefalite, nefrite, pericardite e miocardite, hepatite, lipidose hepática, congestão

edema pulmonar, estomatite, peritonite e miosite. Na microscopia, os achados consistiram de infiltrados de neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos, necrose e, por vezes, bactérias intralesionais (6/48 – 12,5%). Em dois casos, observou-se lesões sugestivas de amiloidose hepática e esplênica, respectivamente, porém com marcação negativa para vermelho congo e leve marcação com ácido periódico de Schiff no espaço de Disse. Quatro casos de meningoencefalite mononuclear sem bactérias intralesionais tiveram amostras de pulmão e encéfalo submetidas a qPCR para cinomose canina, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e, em dois deles, também foi realizada imuno-histoquímica para *Toxoplasma gondii*. Todas as amostras foram negativas para *Neospora caninum* e cinomose e uma imuno-histoquímica foi inconclusiva para *Toxoplasma gondii* devido a autólise tecidual. Os diagnósticos sugestivos de septicemia foram mantidos nesses casos. Todos os casos de pneumonia intersticial eram de filhotes com suspeita de sepsis ou tríade neonatal. Na macroscopia o pulmão apresentava-se não colapsado. Na microscopia, os alvéolos pulmonares apresentaram infiltrados de linfócitos, plasmócitos e macrófagos que expandiam os septos interalveolares além de hiperplasia de pneumócitos tipo II (Figura 1.13). Amostras de pulmão de dois filhotes recebidos em novembro de 2019 com lesões de pneumonia intersticial foram enviadas para realização de diagnóstico diferencial para cinomose e *Neospora caninum* por qPCR e foram negativas. Outros dois filhotes com pneumonia intersticial semelhantes foram testados para cinomose canina e também foram negativos no qPCR. Nos casos de pneumonia parasitária maior infiltrado de eosinófilos foram observados associados a colapso alveolar, broncopneumonia neutrofílica e hipertrofia da camada muscular de artérias pulmonares. Associados à lesão, cortes transversais de parasitos pseudocelomados, com cutícula fina, musculatura celomiariana, intestino largo e multinucleado e trato reprodutivo com ovos larvados de paredes finas, sugestivos de *Didelphostrongylus* spp. (Figura 1.14). Nos casos de septicemia, em um animal adulto com múltiplos abscessos foi isolado *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. em um abscesso subcutâneo e *Salmonella* spp. de um abscesso perirrenal na cavidade abdominal (Figuras 1.8 e 1.9). *Staphylococcus* e *Streptococcus* spp. também foram isolados de abscessos renais em outro caso de septicemia provocados por grave dermatite supurativa em membro pélvico secundária a trauma (1.10, 1.11 e 1.12). Um caso de osteoartrite e miosite supurativa cervical foi enquadrado nas causas septicêmicas em um gambá com dificuldade de ficar em estação e que teve piora progressiva. Foi isolado *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus* sp. do local da lesão. Nos demais, não foi possível isolamento bacteriano preciso devido ao maior intervalo entre a morte e a necropsia e os diagnósticos foram somente sugestivos. O diagnóstico sugestivo de tétano foi registrado para uma fêmea adulta com histórico de rigidez muscular, sem ficar em estação, sem alterações

anatomopatológicas. Um gambá foi diagnosticado com toxoplasmose encefálica⁴. Amostras de encéfalo testaram positivo na imuno-histoquímica e qPCR para *Toxoplasma gondii* e negativo na qPCR para *Neospora caninum*.

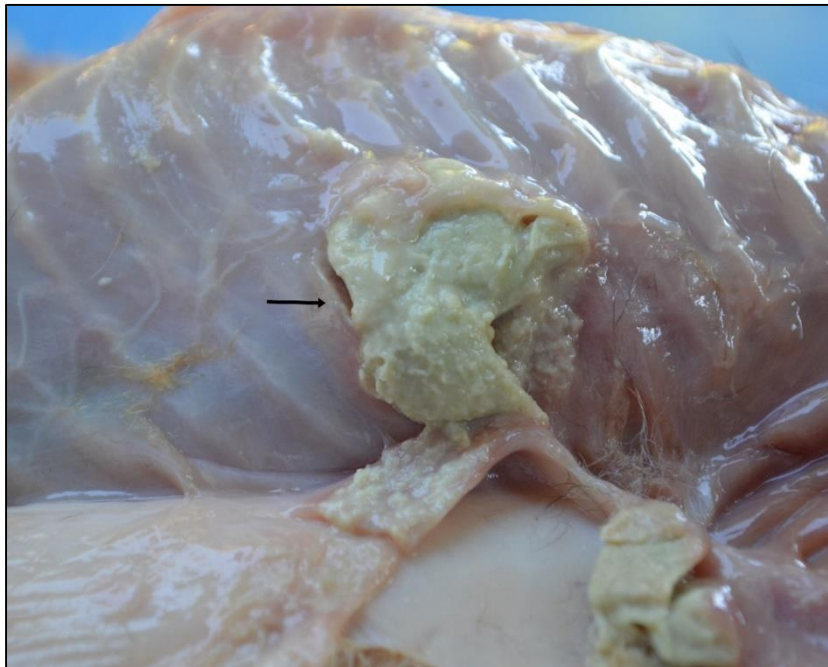


Figura 1.8 – Gambá, *D. albiventris*, septicemia, costelas: Nota-se abscesso subcutâneo com exsudato pastoso amarelo (seta), isolado *Corynebacterium* e *Staphylococcus* sp.



Figura 1.9 – Nota-se abscesso abdominal com exsudato fluido amarelo ao corte (seta verde). Foi isolado *Salmonella* sp.

⁴ Publicado no periódico Acta Scientiae Veterinariae - 2021. 49(Suppl 1): 727.



Figura 1.10 – Septicemia por *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., articulação tíbio-társica: Há um abscesso subcutâneo com conteúdo caseoso e amarelo (seta).

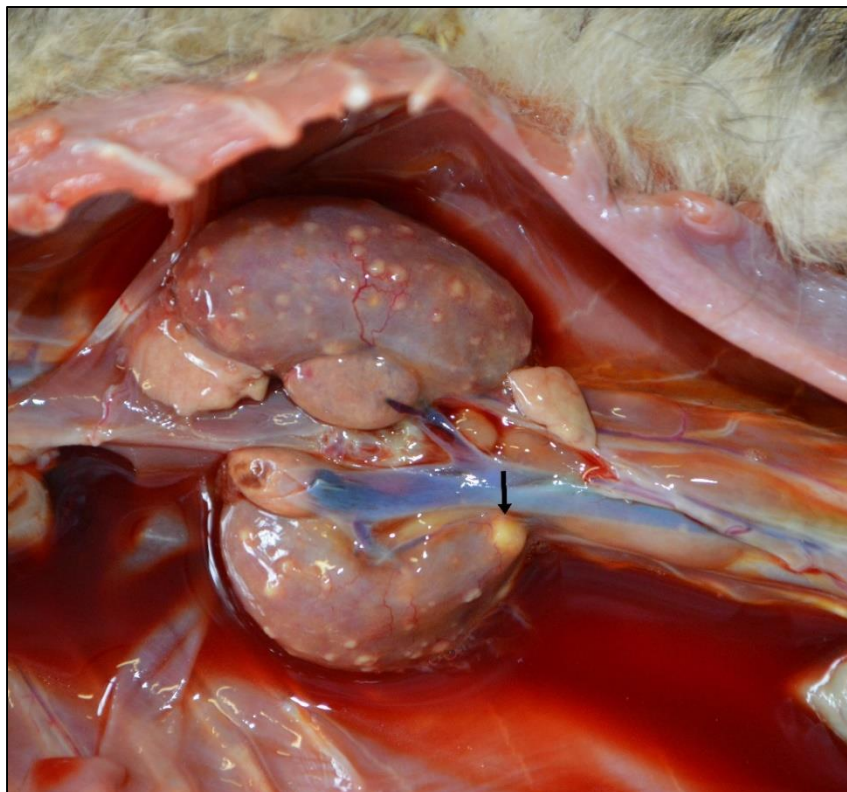


Figura 1.11 – Septicemia por *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., *D. albiventris*, rim, nefrite supurativa: Mesmo animal observado em na figura anterior com múltiplos abscessos milimétricos na cortical renal (seta).

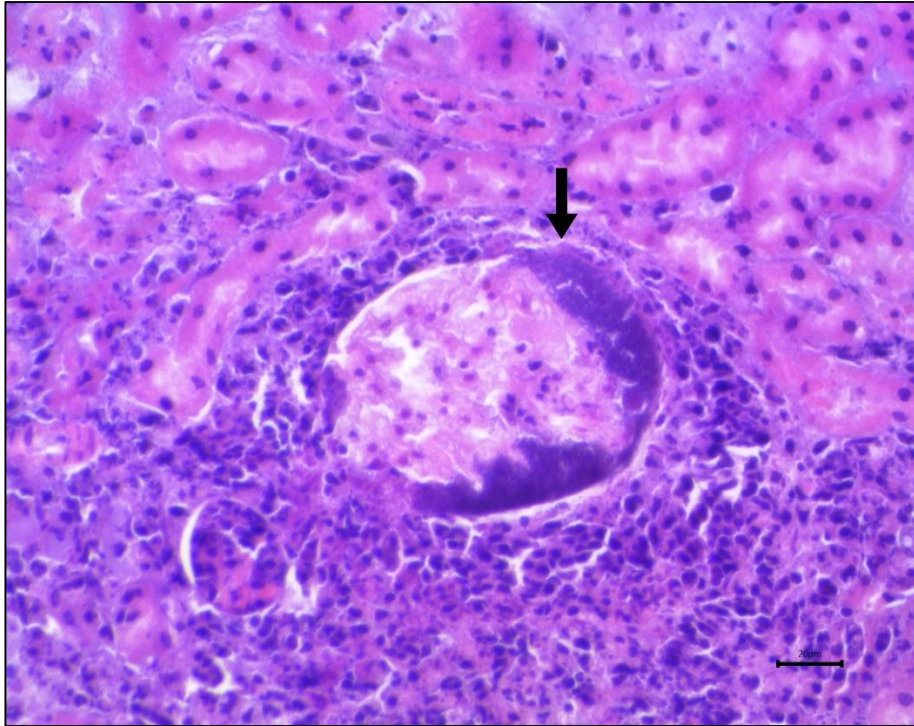


Figura 1.12 – *D. albiventris*, rim, Glomerulonefrite embólica séptica em *D. albiventris*. Nota-se agregado bacteriano basofílico no espaço de Bowman (seta) associado a intenso infiltrado de neutrófilos degenerados e necrose do parênquima renal. HE, obj. 40x – Bar: 20µm.

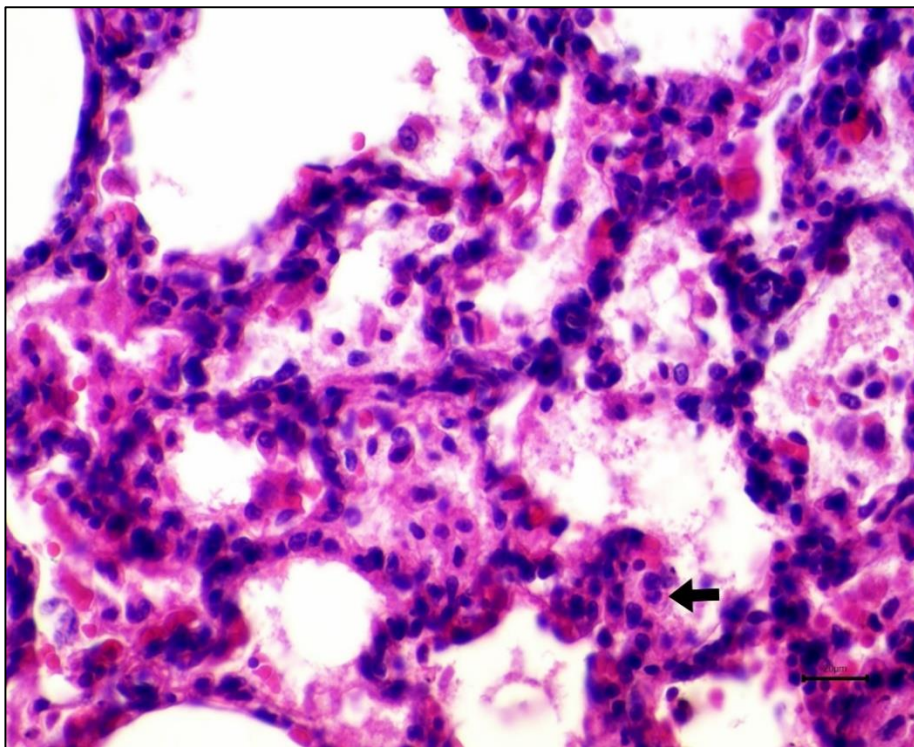


Figura 1.13 – *D. albiventris*, pulmão, pneumonita intersticial neutrofílica e histiocítica aguda. Notar os septos interalveolares espessados por infiltrado de macrófagos e neutrófilos (seta). HE, obj. 40x – Bar: 20µm.

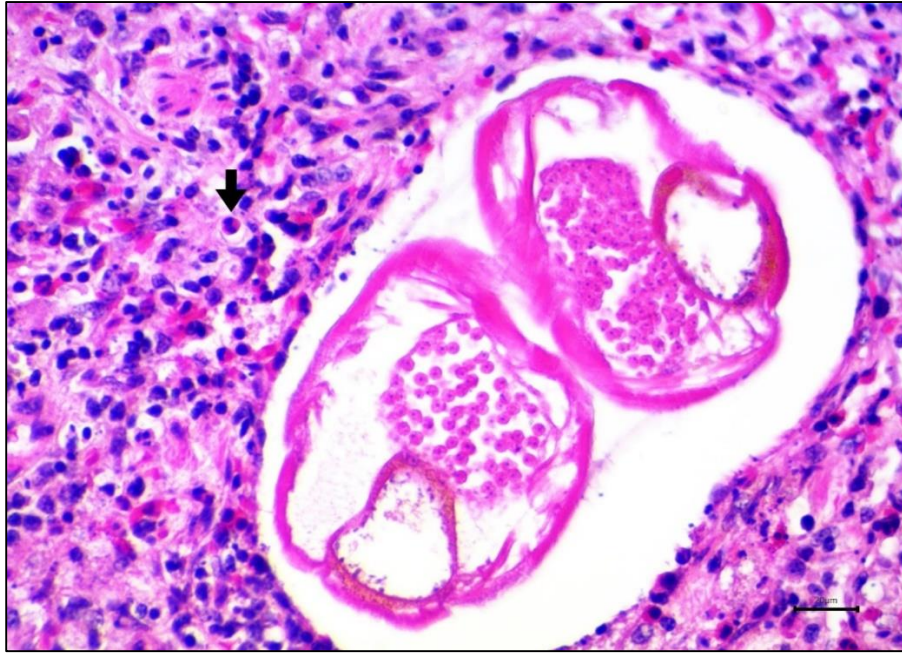


Figura 1.14 – *D. albiventris*, pulmão, Pneumonia parasitária por metastrongilídeo sugestivo de *Didelphostrongylus* spp. Nota-se colapso alveolar com infiltrado misto de eosinófilos (seta) e leucócitos mononucleares. HE, obj. 40x – Bar: 20 μ m

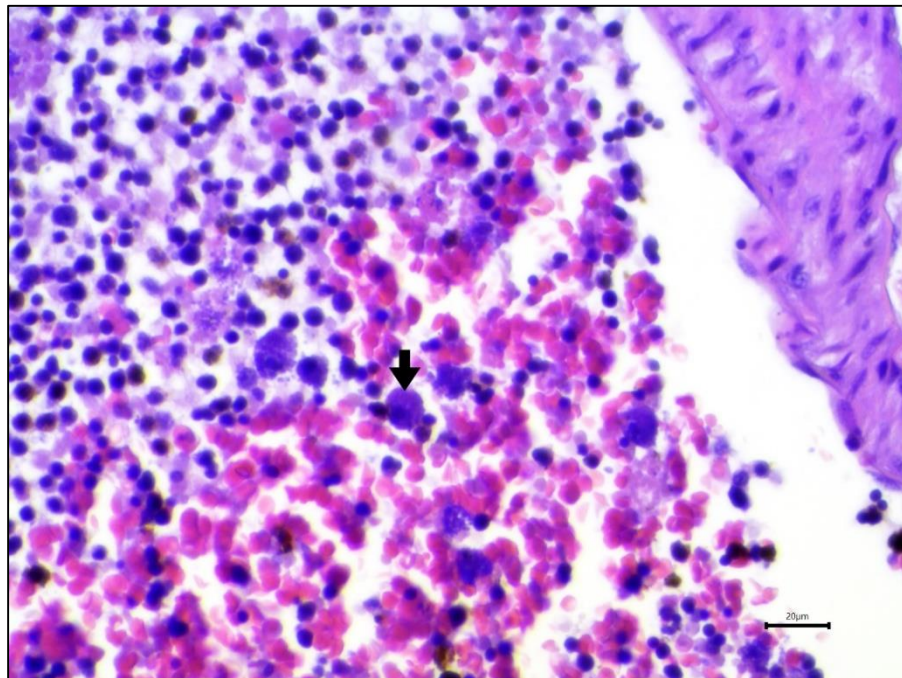


Figura 1.15 – *D. albiventris*, pulmão, artéria pulmonar, embolia séptica, *D. albiventris*. Nota-se macrófago com citoplasma basofílico preenchido por bactérias. HE, obj. 40x – Bar: 20 μ m.

Distúrbios metabólicos

Vinte e nove casos de enfermidades metabólicas foram contabilizados: 82,7 % deles foram de filhotes de 5 a 28 g com morte associada a tríade neonatal; dois casos de raquitismo (FERREIRA JÚNIOR et al., 2020) e três casos de lipidose hepática acentuada. A tríade neonatal foi observada em filhotes resgatados e órfãos que chegavam para cuidados parentais no hospital veterinário e eram encontrados mortos, sem sinais de sepse no exame anatomopatológico. Os principais achados de necropsia foram fígado pálido ou amarelado com degeneração vacuolar em hepatócitos (17/24 – 70,8%), reduzida gordura perirrenal marrom (9/24 – 37,5%) (Figura 1.16) e baixo escore corporal (5/24 – 20,8%) com mínima gordura subcutânea. Nos demais não foram registradas alterações específicas. Um caso de lipidose hepática foi de uma fêmea adulta com filhotes no marsúpio que chegou para atendimento, entrou em choque e morreu. Na necropsia, o fígado foi encontrado acentuadamente amarelo e friável com evidência do padrão lobular. Nos outros dois animais não se obteve histórico clínico e, na necropsia, foram encontradas alterações semelhantes. Na microscopia, todos os hepatócitos apresentavam no interior do citoplasma vacúolos grandes, não coráveis e bem delimitados que deslocavam o núcleo para a periferia (sugestivo de degeneração gordurosa).

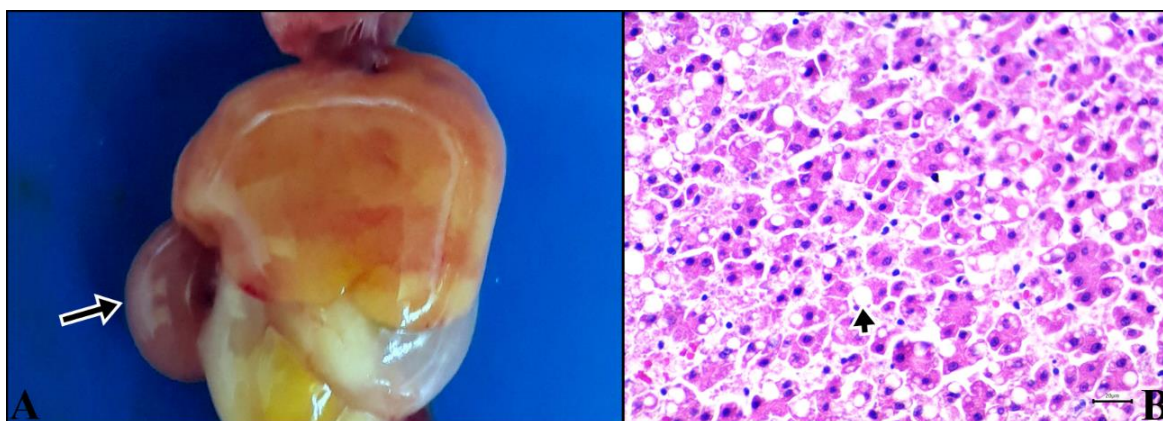


Figura 1.16 – Tríade neonatal em *D. albiventris*, filhote. **A** – Nota-se fígado amarelado à direita de um rim sem revestimento gorduroso na cápsula (seta). **B** – Fotomicrografia, fígado, lipidose hepática, *D. albiventris*: nota-se os hepatócitos com um a dois grandes vacúolos redondos que expandem o citoplasma (cabeça de seta). HE, obj. 40x, Bar: 20µm.

DISCUSSÃO

No período de 10 anos, os traumatismos tiveram grande importância como causa de mortalidade em gambás sinantrópicos, tanto como causa direta da morte, razão de eutanásia ou como porta de entrada para processos septicêmicos. Atribui-se essa informação à proximidade

que esses animais possuem com residências e vias públicas tornando-os vulneráveis a ataques por cães e gatos, agressões, quedas e atropelamentos. O gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*) está entre as espécies de mamíferos mais resgatadas pelos CETAS e entre as principais dentre as espécies mortas por veículos automotores (BRASIL, 2016; RIBAS et al., 2016). O final de inverno e a primavera coincidem com a estação reprodutiva e consequentemente com maior número de animais em busca de alimentos (RIBAS et al., 2016), fator que pôde ter influenciado no maior número de registros nesse período.

De certo modo, as lesões localizadas predominantemente nas partes mais craniais do corpo estejam associadas a posição de fuga e defesa do animal ao perigo. Quanto a relação entre o tipo de lesão corporal e a causa acredita-se que: lesões corporais isoladas como mordeduras e fraturas em membros são consistentes com lesões de brigas ou ataques por cães, porém, politraumatismos de maior extensão estariam mais associados a atropelamentos. Em um estudo com lesões esqueléticas em gambás-da-Virgínia (*Didelphis virginiana*) essa distribuição foi discutida. As fraturas em ossos isolados foram associadas principalmente a causas não-letais como ataques por cães ou predação por outros animais em vida livre. Já os atropelamentos foram relacionados com lesões de maior letalidade com múltiplas fraturas e que afetam mais de uma região corporal devido ao tamanho do veículo em comparação ao corpo e cabeça dos gambás (MEAD; PATTERSON, 2009). Evidentemente o dano tecidual causado por qualquer dessas causas culminará com maior número de lesões de natureza contusa como hemotórax, perfurações, rompimento de vísceras e lacerações, como aqui encontradas.

Conjuntamente, os traumatismos foram considerados como as principais portas de entrada para bactérias culminando nos casos de septicemia. *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. são bactérias oportunistas piogênicas que normalmente causam infecções de pele, trato respiratório, trato reprodutivo, cordão umbilical e glândula mamária e causam septicemia por disseminação hematogênica (MARKEY et al., 2013). Em gambás-da-Virgínia com histórico de hematomas no corpo e morte súbita foi realizada caracterização fenotípica de *Streptococcus didelphis*. As lesões por esse agente incluíram: hepatite e nefrite supurativa multifocal com bactérias, fibrose hepática aleatória ou periportal, dermatite supurativa, úlceras cutâneas, celulite, meningite, pneumonia intersticial e abscesso esplênico (RURANGIRWA et al., 2000). A maioria dessas alterações também foram observadas em nosso estudo sugerindo a distribuição sistêmica do agente e que *Streptococcus* spp e outros cocos Gram positivos estejam entre os principais agentes septicêmicos em *D. albiventris* lesionados fisicamente. Por serem animais de vida livre, o tratamento não é realizado rapidamente o que os deixam sujeitos a proliferação bacteriana incontrolada, debilitação, endotoxemia e morte. Até o conhecimento

dos autores não há relatos de *Corynebacterium* spp. e *Salmonella* spp. como causadoras de septicemia em *D. albiventris*. Contudo, sabe-se que bactérias desse gênero são importantes causadoras de linfadenite caseosa, dermatite, enterites e até septicemias em animais domésticos (MARKEY et al., 2013).

Quanto aos casos de pneumonia intersticial duas possibilidades foram levantadas: 1. são secundárias a processos septicêmicos. 2. podem estar ligados à infecção viral concomitante. Gambás são susceptíveis à se infectar por *Morbillivirus*, já conhecido por seu efeito sinérgico em infecções bacterianas pulmonares e causador de pneumonia broncointersticial em cães (LAVORENTE et al., 2021; LÓPEZ; MARTINSON, 2021). Porém, não foram identificadas presença de vírus da cinomose canina nas amostras de filhotes com pneumonia intersticial. Acredita-se que a etiologia desses diagnósticos morfológicos esteja relacionada a infecções bacterianas hematógenas com incitação da proliferação aguda de macrófagos alveolares como meio de contenção típica desse tipo de infecção, assim como em bovinos e felinos (LÓPEZ; MARTINSON, 2021). Outrossim, a faixa etária mais afetada nesses quadros foi de filhotes órfãos e debilitados, o que intensifica a capacidade do patógeno de evadir o sistema imune. A positividade para agentes zoonóticos como *Toxoplasma gondii* foi restrita a um caso e não ocorreu isolamento de bactérias zoonóticas como *Leptospira* spp. associadas a lesões. Essa informação apoia a hipótese de que os gambás são seres mantenedores de agentes na natureza e raramente desenvolvem a doença provavelmente devido à resistência a esses agentes, sendo necessário graves traumas e fatores estressores com ou sem interferência humana para adoecerem.

A patogenicidade do parasitismo por metastrongilídeos em pulmões de gambás é discutível tendo em vista que muitos animais parasitados não apresentam síndrome clínica relacionada ao agente (LAMBERSKI et al., 2002). Os diagnósticos dos casos aqui apresentados foram baseados na ausência de outras alterações anatomopatológicas que justificassem a morte, proporção do parênquima pulmonar afetado e presença de broncopneumonia secundária. Achados comuns aos descritos no parasitismo por *Didelphostrongylus hayesi* foram encontrados nos dois casos, dentre eles: broncopneumonia granulomatosa com números pequenos a moderados de nematóides adultos nas vias aéreas e parênquima, hiperplasia moderada a severa do músculo liso nas vias aéreas e hiperplasia do músculo liso medial proeminente em pequenas e médias arteríolas (LAMBERSKI et al., 2002). A caracterização histopatológica do parasito só permite determinar que o mesmo é pertencente à família Metastrongylidae (GARDINER; POYNTON, 2006). Contudo, acredita-se que trata-se de *Didelphostrongylus hayesi* já que o agente também é relatado no Brasil e parasita

preferencialmente os alvéolos (DUNCAN; RENEMEYER; FUNK, 1989; ANTUNES, 2005).

A tríade neonatal demonstrou ser a principal causa de morte em filhotes de gambás de vida livre órfãos, principalmente por morte da mãe por causas traumáticas. Normalmente esses animais são recebidos quando ainda estão no período de sobrevivência no marsúpio e com organogênese incompleta (NASCIMENTO; HORTA, 2014) o que os torna mais susceptíveis a perda de calor. A gliconeogênese a partir do tecido adiposo marrom foi considerada a provável via metabólica em resposta a síndrome, resultando nas lesões palidez do fígado e degeneração gordurosa e atrofia serosa da gordura visceral (NÓBREGA JR et al., 2005). A lipidose hepática em gambás adultos é por vezes observada em animais atropelados ou associada a outras causas mortis como septicemia e parasitismo (RURANGIRWA et al., 2000; RIBAS et al., 2016). Portanto, acredita-se que, assim como em gatos, a condição esteja relacionada a fatores estressantes e doenças que resultem em anorexia (BROWN; WETTERE; CULLEN, 2021). Nesses animais os fatores estressores podem ser captura, cativeiro, dieta artificial inadequada e traumatismos dolorosos que resultem em anorexia devido a incapacidade de ir a procura do alimento.

CONCLUSÕES

As principais causas de morte em *D. albiventris* foram relacionadas a traumatismos contusos com infecções bacterianas sistêmicas secundárias. Isto demonstra a importância da instalação de políticas públicas de preservação da espécie por meio de proteção de fragmentos florestais adjacentes à grandes cidades, para a menor movimentação de espécimes em vias públicas e residências. Pneumonia parasitária e toxoplasmose foram condições esporádicas, porém, salienta-se a importância do gambá como hospedeiro mantenedor de *Toxoplasma gondii*. Isto demonstra a relação pequenos mamíferos como um elo da cadeia epidemiológica de doenças infecciosas dentro de zonas perirurbanas. A tríade neonatal e a lipidose hepática podem ser consideradas causas metabólicas indiretamente relacionadas ao grande número de traumatismos em animais adultos. Neoplasias são condições esporádicas e não são importantes causas de morte, mas o diagnóstico de neoplasmas em gambás demonstra a similaridade da patogênese com os animais domésticos.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, Gertrud Müller. 2005. Tese (Doutor em Ciências Veterinárias) – Curso de Pósgraduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/5795/000520713.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 jul. 2022.
- BARR, Thomas. R. B. Infectious diseases in the opossum: a review. **The Journal of Wildlife Management**, v.27, n.1, p. 53-71, Jan. 1963.
- BAUNI, Valeria; ANFUSO, J.; SCHIVO, F. Wildlife roadkill mortality in the Upper Paraná Atlantic forest, Argentina. **Ecosistemas**, v. 26, n. 3, p. 54-66, sept./dec. 2017.
- BITENCOURT, Matheus; BEZERRA, Alexandra. Infection agents of Didelphidae (Didelphimorphia) of Brazil: an underestimated matter in zoonoses research. **Mammalia**, v. 86, n. 2, p. 105-122, dec. 2021.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. **Relatório técnico CETAS (2002-2014)**, 2016. Disponível em: http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/1309089/RESPOSTA_PEDIDO_cet.pdf. Acesso em 19 de jul. 2022.
- BRASIL, 2008. **Instrução Normativa Ibama Nº 169, de 20 de fevereiro de 2008**. Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro em território brasileiro. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 fev. 2008. <<https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=113878>>. Acesso em 12 mai. 2019
- BROWN, Danielle L.; WETTERE, Arnaud J.; CULLEN, John M. Sistema hepatobiliar e pâncreas exócrino. In: ZACHARY, James (ed.). **Bases da patologia em veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: GEN, 2021, p. 412-470.
- DUNCAN JR., R. B.; RENEMEYER, C. R.; FUNK, R. S. Fatal lungworm infection in an opossum. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 25, n. 2, p. 266-269, Apr. 1989.
- FERREIRA JÚNIOR, Jair A. *et al.* Raquitismo em gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 814-817, 2020.
- FERREIRA JUNIOR, Jair Alves *et al.* Toxoplasmose encefálica em um gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, n. 1, p. 727-727, 2021.
- FRANÇA, Raqueli T.; SCHULZ, Érica T.; OLIVEIRA, Eduardo C.; DAMAREM, Wanderley W.; GIORDANI, Claudia; PLETSCHE, Juliana A.; SONNE, Luciana. Osteossarcoma fibroblástico em gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 559-563, jul. 2020.
- GARDINER, Chis H., POYNTON, S.L. **An atlas of metazoan parasites in animals tissues**. Washington: Armed Forces Institute of pathology, 2006.

HUMBERG, Roberta M. P. *et al.* *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 470-472, Sep. 2012.

JANSEN, Ana Maria. Marsupiais Didelfídeos. *In:* ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. (ed.) **Animais de laboratório: criação e experimentação**, Rio de Janeiro: Fiocruz. 2002. p. 167.

LAMBERSKI, N.; READER, J. R.; COOK, L. F.; JOHNSON, E. M.; BAKER, D. G.; LOWENSTINE, L. J. A retrospective study of 11 cases of lungworm (*Didelphostrongylus hayesi*) infection in opossums (*Didelphis virginiana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 2, p. 151-156, Jun. 2002.

LAVORENTE, Fernanda *et al.* First detection of Feline morbillivirus infection in White-eared opossums (*Didelphis albiventris*, Lund, 1840), a non-feline host. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 3, p. 1426-1437, May. 2021.

LÓPEZ, A.; MARTINSON, S. A. Respiratory system, mediastinum and pleurae. *In:* **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 6th ed. ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. (ed.) St Louis: Elsevier, 2017. pp. 456-471.

MARKEY, Bryan; LEONARD, Finola; ARCHAMBAULT Marie; CULLINANE Ann; MAGUIRE, Dores. **Clinical Veterinary Microbiology**. 3th ed. London: Elsevier, 2013. *E-book*.

MEAD, Alfred J.; PATTERSON, David. B. Skeletal lesions in a population of Virginia opossums (*Didelphis virginiana*) from Baldwin county, Georgia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 325-332, Apr. 2009.

NANTES, Wesley *et al.* Trypanosomatid species in *Didelphis albiventris* from urban forest fragments. **Parasitology Research**, v. 120, n. 1, p. 223-231, Jan. 2021.

NASCIMENTO, Claudia; HORTA, Mauricio. Didelphimorphia (Gambá e Cuíca). *In:* CUBAS, Z.S; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L (ed.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2014. p. 682-706.

NÓBREGA JR, Janduí Escarião da *et al.* Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, p. 171-178, set. 2005.

POPE, Jenny P.; DONNELL, Robert L. Spontaneous neoplasms in captive Virginia opossums (*Didelphis virginiana*): a retrospective case series (1989-2014) and review of the literature. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 29, n. 3, p. 331-337, Apr. 2017.

POTKAY, S. Diseases of the opossum (*Didelphis marsupialis*): A review. **Laboratory Animal Care**, v. 20, n.3, p. 502-511, Jun. 1970.

RIBAS, Laila Massad; MASSAD, Maria Rita R.; TREMORI, Talia Missen; REIS, Servio Túlio Jacinto; EISING, Talita; ROCHA, Noeme Sousa. Postmortem Analysis of Injuries by

Roadkill of a White-eared Opossum (*Didelphis albiventis*) by Radiographs and Forensic Necropsy-A Virtopsy Case Report. **Journal of Veterinary Science Technology**, v.7, n.1, p. 1-4, nov/dec. 2016.

ROSSI, Rogério; BIANCONI, Gledson; PEDRO, Wagner. Ordem Didelphimorphia. *In*: REIS, Nelio R., PERACCHI, Adriano. L.; PEDRO, Wagner. A.; LIMA, Isaac. P (ed.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2006. p. 27-36.

RURANGIRWA, F. R.; TEITZEL, C. A.; CUI, J.; FRENCH, D. M.; MCDONOUGH, P. L.; BESSER, T. *Streptococcus didelphis* sp. nov., a *streptococcus* with marked catalase activity isolated from opossums (*Didelphis virginiana*) with suppurative dermatitis and liver fibrosis. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 50, n. 2, p. 759-765, Mar. 2000.

SANTIAGO, Maria Emília *et al.* An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 4, p. 283-290, nov/dec. 2007.

TARDIEU, L.; ADOGWA A. O.; GARCIA, G. W. *Didelphis* species, neo-tropical animals with the potential for intensive production: Part 1 Review of taxonomy, natural history, general biology, animal behaviour, and nutrition. **Tropical. Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 157-174, 2017.

TURCI, Luiz Carlos Batista; BERNARDE, Paulo Sérgio. Vertebrados atropelados na rodovia estadual 383 em Rondônia, Brasil. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 121-127, mar. 2009.

6 ARTIGO CIENTÍFICO 2

PARTICULARIDADES ANATÔMICAS, LESÕES DE POUCO SIGNIFICADO CLÍNICO E ALTERAÇÕES *POST MORTEM* NA NECROPSIA EM *DIDELPHIS ALBIVENTRIS*

(Artigo será submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)

RESUMO

O conhecimento de particularidades anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* em animais domésticos e silvestres são úteis para a correta interpretação diagnóstica e investigações forenses nesses animais. Este trabalho ilustra e comenta particularidades encontradas na rotina de 160 necropsias de gambás-de-orelha-branca do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB) no período de 2018 a 2020. Foram listadas como aspectos anatômicos o marsúpio, papilas mamárias, osso epipúbico, trato reprodutivo bífido, bolsa escrotal na localização inguinal e cranial ao pênis, cauda semi-preênsil, ausência de garras no primeiro dígito do membro pélvico, ausência do lobo quadrado hepático, papilas filiformes da língua, ausência de pelos e estrutura labial em filhotes. Como lesões de pouco significado clínico destacam-se as infestações por helmintos e protozoários como *Physaloptera* sp., *Sarcocystis* sp. e *Cruzia tentaculata*, hiperplasia de musculatura lisa em arteríolas pulmonares, evidenciação do padrão lobular hepático, abrasões cutâneas corporais e laceração da extremidade da cauda. Como alterações *post mortem* autolíticas e putrefativas mais comuns comentou-se sobre enfisema pulmonar, timpanismo intestinal e pseudomelanose, palidez de órgãos e desprendimento da epiderme (maceração).

ABSTRACT

The knowledge of anatomical particularities, lesions of little clinical significance and *post mortem* changes in domestic and wild animals are useful for the correct diagnostic interpretation and forensic investigations in these animals. This work illustrates and comments on particularities found in the routine of 160 necropsies of white-eared opossums at the Laboratory of Veterinary Pathology at the University of Brasília (LPV-UnB) from 2018 to 2020. The pouch, mammary papillae, epipubic bone, bifid reproductive tract, scrotal pouch in the inguinal and cranial location of the penis, semi-prehensile tail, absence of claws on the first digit of the pelvic limb, absence of the square lobe liver, filiform tongue papillae, absence of hair and lip structure in puppies, were listed as anatomical aspects. As lesions of little clinical significance, stand out infestations by helminths and protozoa such as *Physaloptera* spp., *Sarcocystis* spp. and *Cruzia tentaculata*, smooth muscle hyperplasia in pulmonary arterioles, evidence of the hepatic lobular pattern, body skin abrasions and tail end laceration. As the most common *post mortem* autolytic and putrefactive alterations, pulmonary emphysema, intestinal tympanism and pseudomelanosis, pallor of organs and detachment of the epidermis (maceration) were commented.

INTRODUÇÃO

D. albiventris está entre as espécies de mamíferos mais resgatadas e destinadas nas atuações do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), órgão ligado ao Ministério do Meio Ambiente no Brasil (BRASIL, 2016). Por esse motivo, é comum a prática de necropsia desses animais em laboratórios de diagnóstico patológico veterinário para constatar a causa da morte ou para pesquisas exploratórias de agentes infecciosos e parasitários em tecidos desses animais (BITENCOURT; BEZERRA, 2022). Na rotina de necropsia de animais selvagens é sempre desafiador para técnicos e patologistas iniciantes a identificação de lesões e a definição de qual alteração foi significativa para a morte do animal. A visualização, interpretação e a descrição das alterações anatomopatológicas requer primordialmente o conhecimento de aspectos anatômicos, não lesões, lesões de pouco significado clínico ou alterações *post mortem* que possam confundir o patologista. Existem trabalhos com o objetivo de esclarecer esses aspectos em animais de produção (RECH et al., 2013; MENDES, 2020). Contudo, são escassos os que abordam esse tema em animais silvestres, em especial didelfídeos.

Com o intuito de auxiliar no conhecimento sobre a espécie e no diagnóstico *post mortem* em gambás sinantrópicos brasileiros da espécie *Didelphis albiventris*, o objetivo desse trabalho é revisar a localização de estruturas anatômicas específicas da espécie e descrever as principais lesões sem significado clínico e alterações *post mortem* numa rotina de necropsia.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto de 2018 a agosto de 2020, foram realizadas 160 necropsias de gambás-de-orelha branca da espécie *Didelphis albiventris* na rotina do laboratório de patologia veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB). Durante as necropsias foram feitos registros fotográficos de particularidades anatômicas e possíveis alterações comparativas com animais domésticos. Após a conclusão dos diagnósticos realizou-se levantamento dessas alterações e classificadas em aspectos anatômicos e não lesões, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aspectos anatômicos

Na rotina de necropsia os aspectos relacionados ao dimorfismo sexual do gênero *Didelphis* apresentam peculiaridades. A topografia dos órgãos nas cavidades abdominal e torácica é semelhante a observada em carnívoros domésticos, quando realizada abertura região ventral de ambas (Figura 2.1) O marsúpio é uma característica dos indivíduos do Reino Animalia, Filo Chordata, Classe Mammalia, Ordem Didelphimorphia, família Didelphidia, Gênero *Didelphis* (Figura 2.2). Eles são sustentados em *Didelphis albiventris* pelo osso epibúbico (Figura 2.3), osso pelo qual se diferencia a família Didelphidia. Este osso projeta-se anteriormente à articulação do púbis e à musculatura ventral abdominal. Os músculos oblíquos interno e externo estão aderidos a eles. Acredita-se que uma de suas funções seja a proteção do marsúpio contra pressões externas (NASCIMENTO; HORTA, 2014; GUILHON; CERQUEIRA; BRAGA, 2017). O desconhecimento da existência do osso pode causar estranheza durante a necropsia.

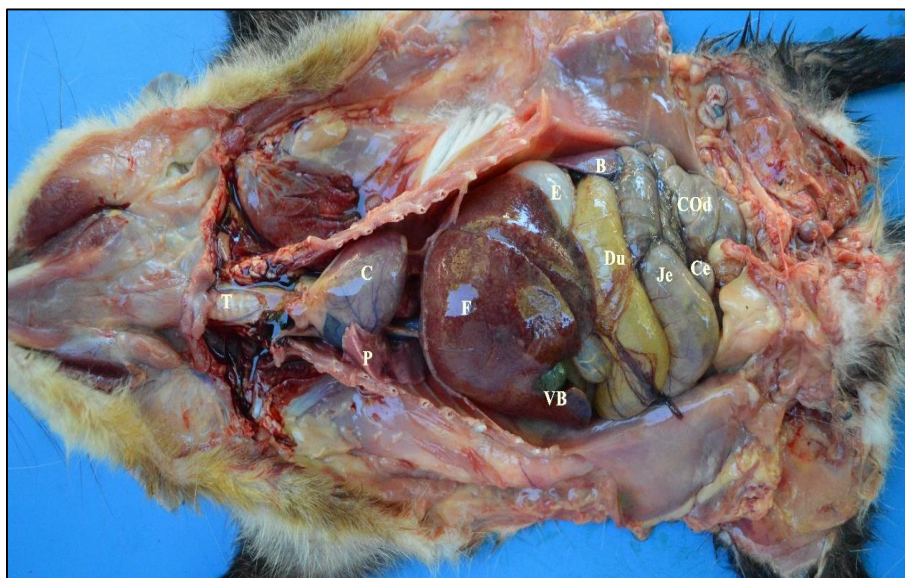


Figura 2.1 – Necropsia de *D. albiventris*, vista ventral, topografia da cavidade torácica e abdominal. Da esquerda para a direita nota-se T – traqueia, C – coração, P – pulmão, F – Fígado, VB – vesícula biliar, E – estômago, Du – duodeno, B – baço, Je – jejuno, Ce- Ceco, COd- cólon descendente.



Figura 2.2 – Marsúpio de *Didelphis albiventris*, fêmea, adulta. Evidenciam-se sete papilas mamárias.

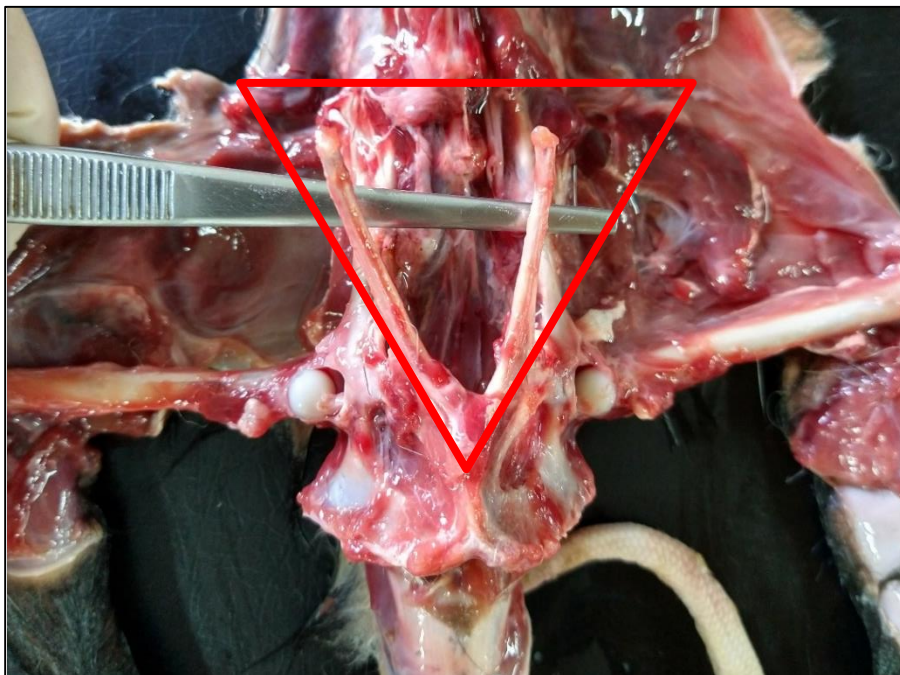


Figura 2.3 – Vista ventral da cavidade abdominal de um *Didelphis albiventris* durante a necropsia. O osso epipúbico está apoiado sobre a pinça. Há uma estrutura em forma de “V” cranial ao púbis (triângulo vermelho).

Diferentemente de mamíferos eutérios, as fêmeas de gambás-de-orelha-branca possuem um trato reprodutivo bífido (SCHIMMING et al., 2018) e possuem dois ovários, duas tubas uterinas, útero, duas vaginas laterais, dois cérvix, seio vaginal, seio urogenital e canal urogenital (SCHIMMING et al., 2018) (Figura 2.4).

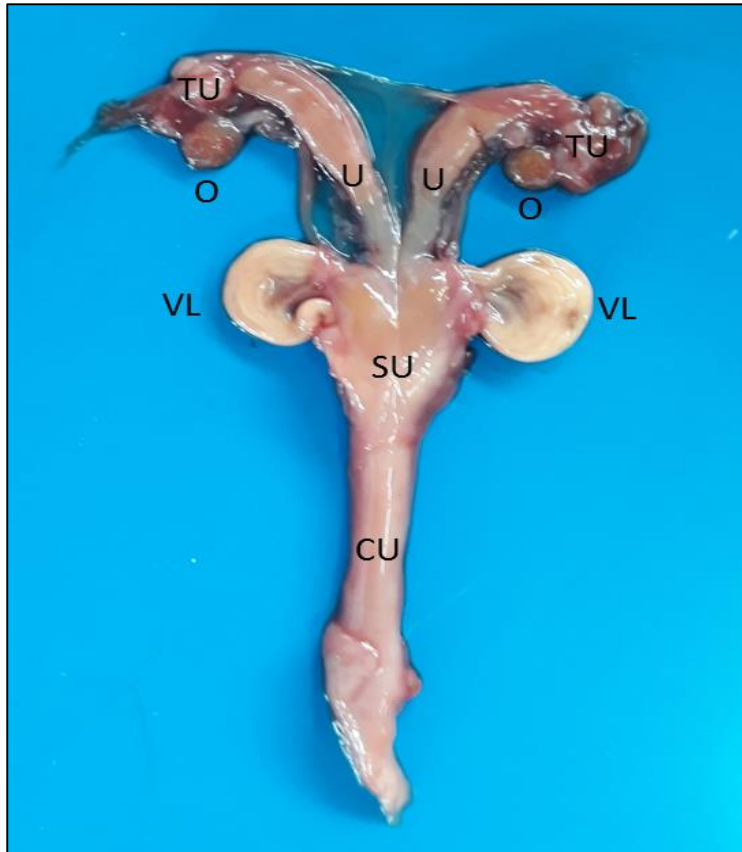


Figura 2.4 – Trato reprodutivo de fêmea de *Didelphis albiventris*. Note estrutura bífida com ovários (O), tubas uterinas (TU), útero (U), vaginas laterais (VL), seio urogenital (SU), canal urogenital (CU).

O trato reprodutivo masculino também é atípico com pênis fortemente ligado ao arco isquiático por meio de dois ligamentos suspensores, sendo caracterizado por uma raiz, um corpo e uma glândula bífida (Figuras 2.5 e 2.6). A bolsa escrotal está localizada cranial ao pênis (MATHEUS et al., 2011; NASCIMENTO; HORTA, 2014).



Figura 2.5 – Pênis e prepúcio de um *Didelphis albiventris*, macho. Notar a glânde bífida.



Figura 2.6 – Região abdominal de um *D. albiventris*, macho, adulto. Nota-se posicionamento da bolsa escrotal (seta preta).

Os gambás possuem uma cauda semi-preênsil, escamosa, com pelos apenas na região proximal, muitas vezes encontrada em forma de “gancho” (Figura 2.7). As patas possuem cinco dígitos em cada membro, com garras. O primeiro dedo das patas traseiras não possui garras (GARDNER, 2005) (Figura 2.8). Essas características podem induzir o avaliador a uma interpretação errônea de má formação.



Figura 2.7 – Cauda, *Didelphis albiventris*: observa-se uma curvatura em forma de gancho na extremidade e ausência de pelos.



Figura 2.8 – Membros pélvicos de um *D. albiventris*, adulto. Nota-se o primeiro dígito do membro pélvico desprovido de garra. Essa é uma característica da espécie.

Durante a abertura da cavidade abdominal, o tamanho e a disposição dos órgãos pode parecer estranhos a um técnico pouco experiente. Nesse momento, é importante advertir sobre o tamanho e a forma do fígado e intestinos. Diferentemente de cães, o fígado não possui o lobo quadrado (Figura 2.9), o ceco e os cólons são desenvolvidos devido ao hábito onívoro (ver alterações *post mortem*) (DAL MORO et al., 2021). O fígado em filhotes, de modo semelhante aos cães, possui tamanho proporcionalmente maior que um animal adulto (BARROS, 2016). Contudo não foram visualizadas células hematopoiéticas em fígados de filhotes na histopatologia.

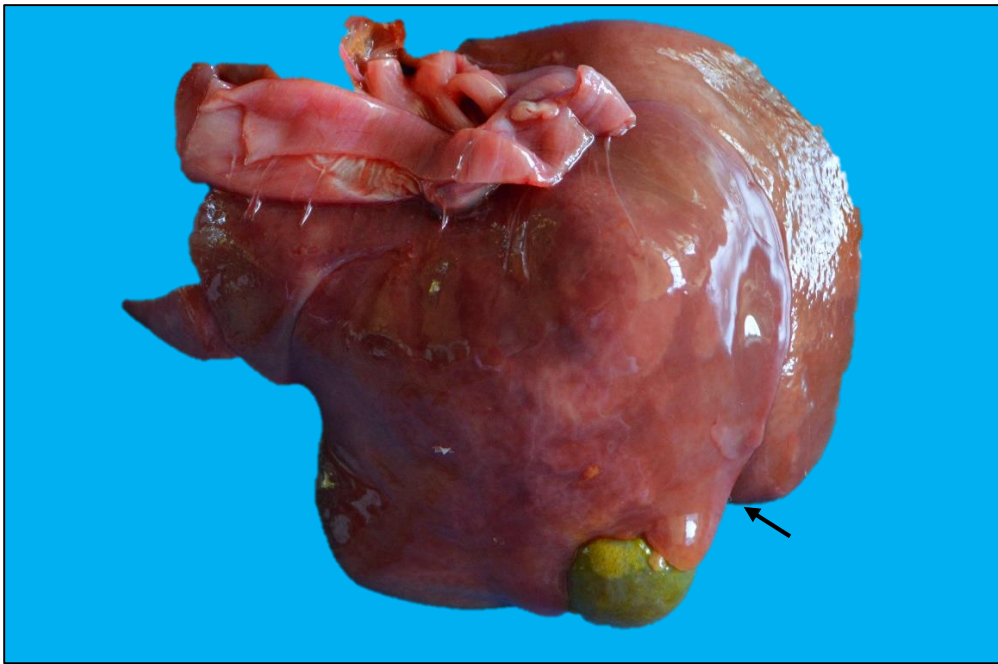


Figura 2.9 – Fígado e diafragma. *Didelphis albiventris*. Nota-se ausência do lobo quadrado (seta).

A língua tem características semelhantes a encontradas em gatos sendo achatadas dorso-ventralmente, alongadas e com papilas filiformes pontiagudas. As papilas filiformes também são encontradas no corpo e raiz da língua conferindo-lhe um aspecto aveludada (SCHAFER, 2018) (Figura 2.10).

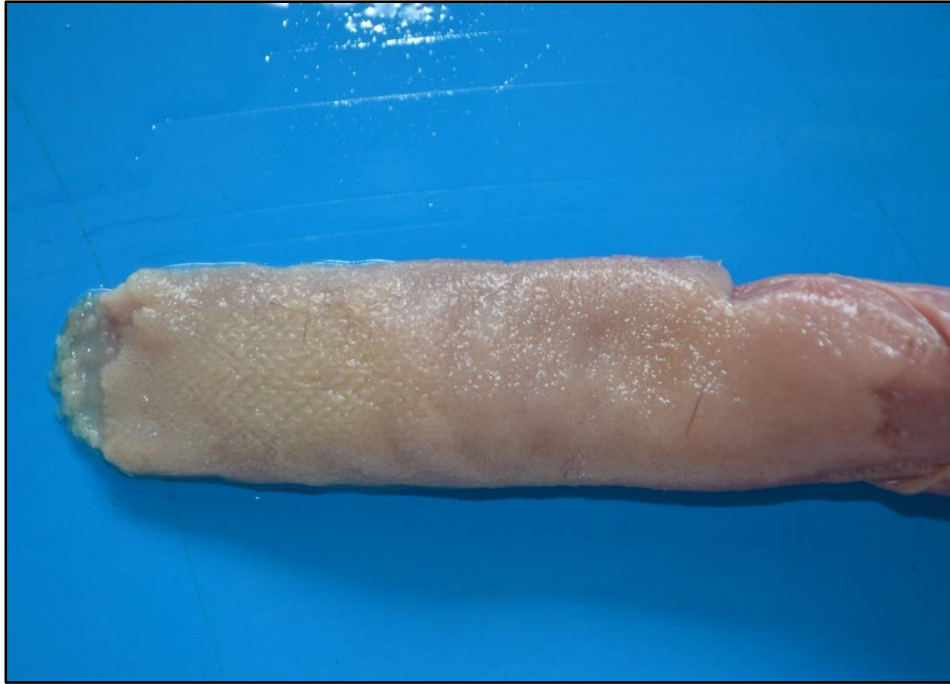


Figura 2.10 – Língua, *Didelphis albiventris*: note as papilas filiformes no ápice da língua conferindo-lhe um aspecto aveludado. A camada superficial do epitélio no ápice à esquerda foi perdida durante a retirada da língua e autólise tecidual (artefato).

Filhotes de *D. albiventris* em período fetal, antes dos 25 dias de idade não possuem pelos, a pele é delgada e possuem estrutura labial. As vibrissas faciais começam a surgir em torno de 25 dias de idade e pequenos pelos alourados entre 35 a 43 dias (CRUZ; MARGARIDO, 2003) (Figura 2.11).



Figura 2.11 – Filhote, *Didelphis albiventris*, período fetal: nota-se pele delgada, pelos finos e lábios largos.

Lesões de pouco significado clínico e outros achados anatomopatológicos

Parasitismo em gambás de vida livre foi um achado comum e raramente foi associado diretamente à causa da morte do animal. Em saruês adultos e filhotes é comum encontrar nematódeos aderidos a mucosa do estômago associados a erosões, úlceras e até pequenos graus de hemorragia (Figura 2.12). Os principais vermes encontrados em gambás em um estudo do Paraná foram *Turgida turgida* (89%) no estômago; *Cruzia tentaculata* (44%), *Aspidodera* spp. (22%) e *Trichuris* spp. (11%) no intestino grosso; *Hamanniella microcephala* (78%) e *Rhopalias coronatus* (11%) no intestino delgado, contudo os mesmos não foram os causadores da morte dos gambás (ZABOTT et al., 2017). *Turgida turgida* e *Physaloptera* sp. são parasitos da família Physalopteridae que tem como hospedeiros intermediárias insetos e podem, em grandes infestações, causar anemia, perda de peso e graves úlceras gástricas (ZABOTT et al., 2017). De modo semelhante, *Physaloptera praeputialis* parasita cães e gatos podendo causar vômitos ou sangue nas fezes em altas infestações (OLIVEIRA et al., 2009). Ocasionalmente podem ser encontrados no esôfago após a morte do animal. Na microscopia é comum observar cortes de parasitos pseudocelomados sugestivos de espirurídeos (Figura 2.13). No ceco e cólon de gambás adultos visualiza-se grande quantidade de nematódeos cilíndricos brancos de cerca de 1cm de comprimento e enovelados (Figura 2.14). Na identificação parasitológica as espécies mais comuns são *Thricuris* spp. e *Cruzia tentaculata*. Até o nosso conhecimento, pouco ainda se sabe sobre o ciclo de vida de *Cruzia tentaculata*, contudo em gambás podem causar tiflíte em casos de infestação grave (MOLLERICONA; NALLAR, 2014). A baixa letalidade das infecções parasitárias aqui citadas deve-se provavelmente à adaptação da espécie ao parasitismo no processo de seleção natural.



Figura 2.12 – Mucosa de estômago de *Didelphis albiventris*, parasitado por *Physaloptera* spp. associadas a áreas irregulares de hemorragia e erosão da mucosa gástricas (áreas pretas).

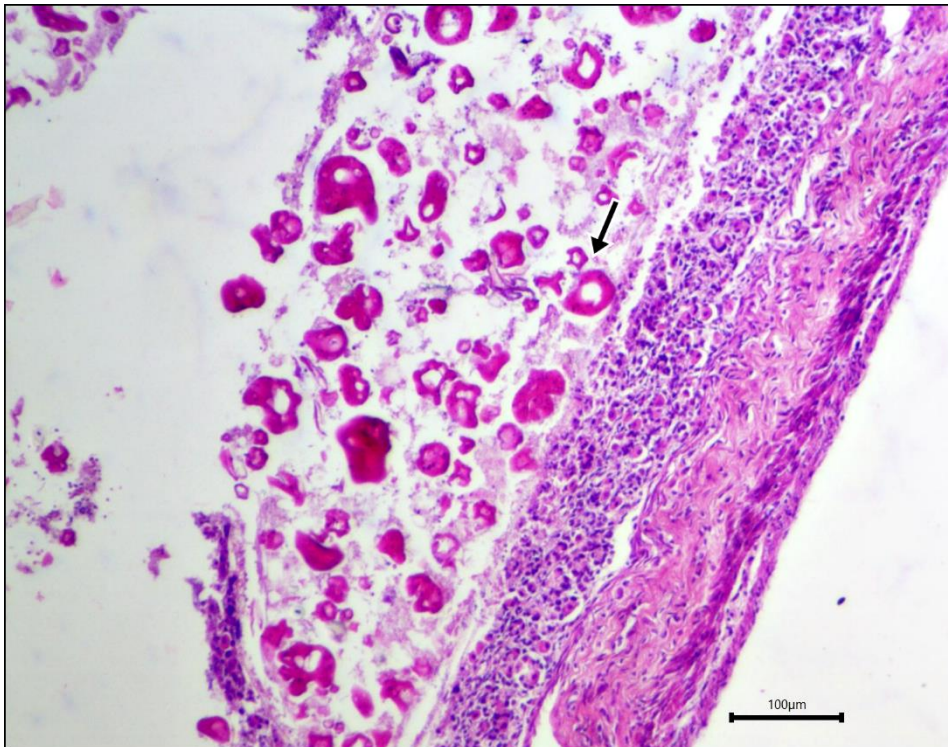


Figura 2.13 – Fotomicrografia, estômago, *Didelphis albiventris*: nota-se grande quantidade larvas de parasitos pseudocelomados sugestivos de espirurídeos (seta), além de leve infiltrado linfoplasmocítico da lâmina própria. HE, obj. 10X, Bar:100µm

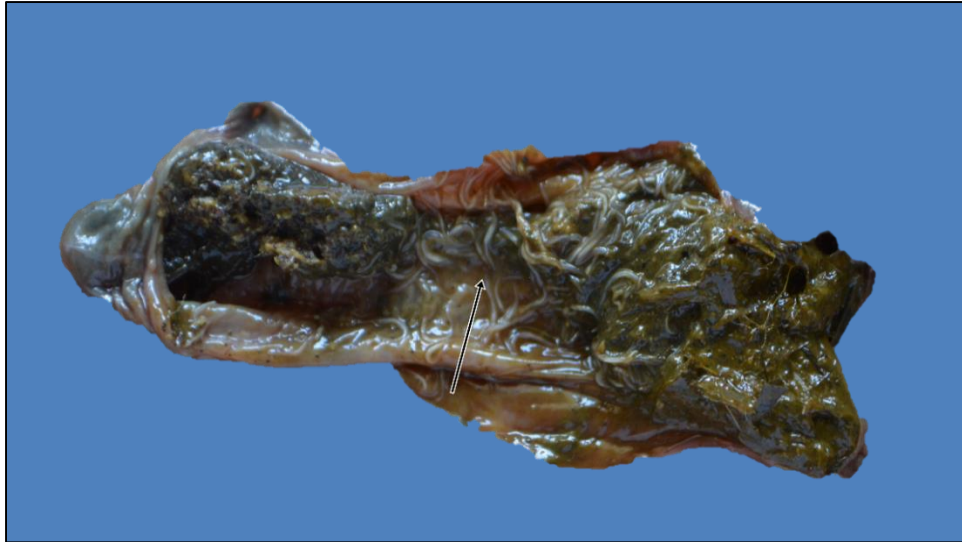


Figura 2.14 – Ceco, *Didelphis albiventris*, parasitismo acentuado por *Cruzia tentaculata*. Notam-se vermes enovelados em meio ao conteúdo intestinal após abertura do segmento.

Assim como em outras espécies (bovinos e outros ruminantes), cistos de *Sarcocystis* spp. também podem ser encontrados na avaliação microscópica musculatura esquelética de gambás-de-orelha-branca sem causar sinais clínicos e alterações macroscópicas. Nesse caso os animais atuam como hospedeiros intermediários. Algumas espécies de *Sarcocystis* spp. já foram descritas em outras espécies de gambás como: *Sarcocystis garnhami* (*Didelphis marsupialis*, *Philander* spp.), *Sarcocystis marmosae* (*Marmosa murina*, no Brasil), *Sarcocystis didelphidis* (*Didelphis marsupialis*) e *Sarcocystis greineri* (*Didelphis virginiana*) (CHEADLE, 2001). Contudo, não foram encontradas descrições de *Sarcocystis* spp. em *Didelphis albiventris*. Na nossa experiência tem sido um achado de necropsia de pouca importância clínica, exceto quando há rompimento dos cistos com miosite granulomatosa localizada e reacional (Figura 2.15).

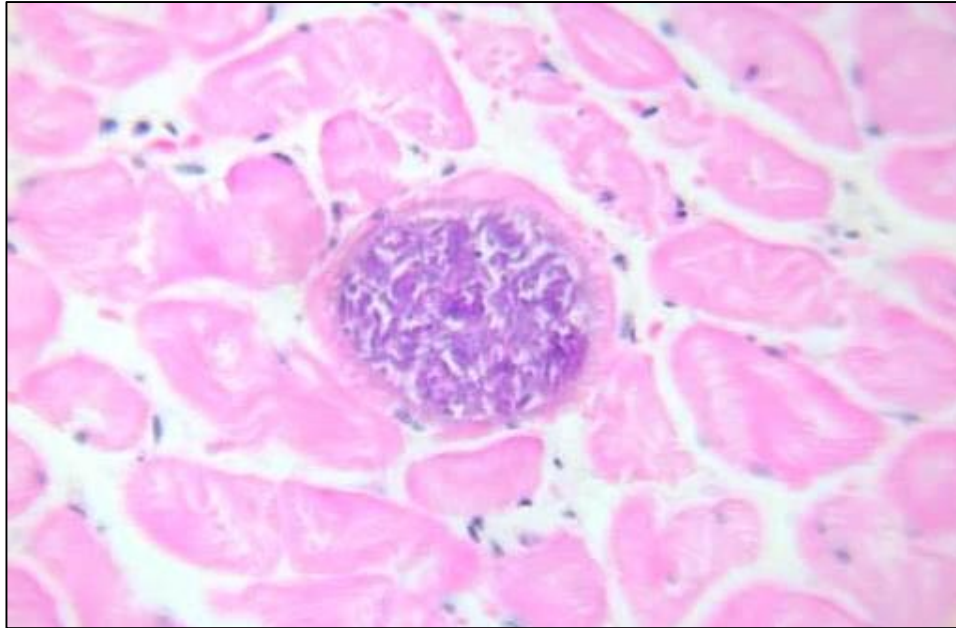


Figura 2.15 – Fotomicrografia, Músculo esquelético, *Didelphis albiventris*. Nota-se, no centro, cisto de *Sarcocystis* spp. preenchidas por inúmeros bradizoítos azuis (basofílicos). HE, Obj 40 x.

Hiperplasia da musculatura lisa de arteríolas pulmonares é um achado frequente em pulmões de *D. albiventris*. Essa alteração já foi relacionada ao parasitismo por *Didelphostrongylus hayesi*, provavelmente devido a migração larval e reação tecidual, sem significado clínico para o animal (LAMBERSKI et al., 2002). Na macroscopia não foram observadas alterações características e cortes de nematódeos intralesionais. Na histopatologia nota-se espessamento da túnica muscular das arteríolas pulmonares (Figura 2.16).

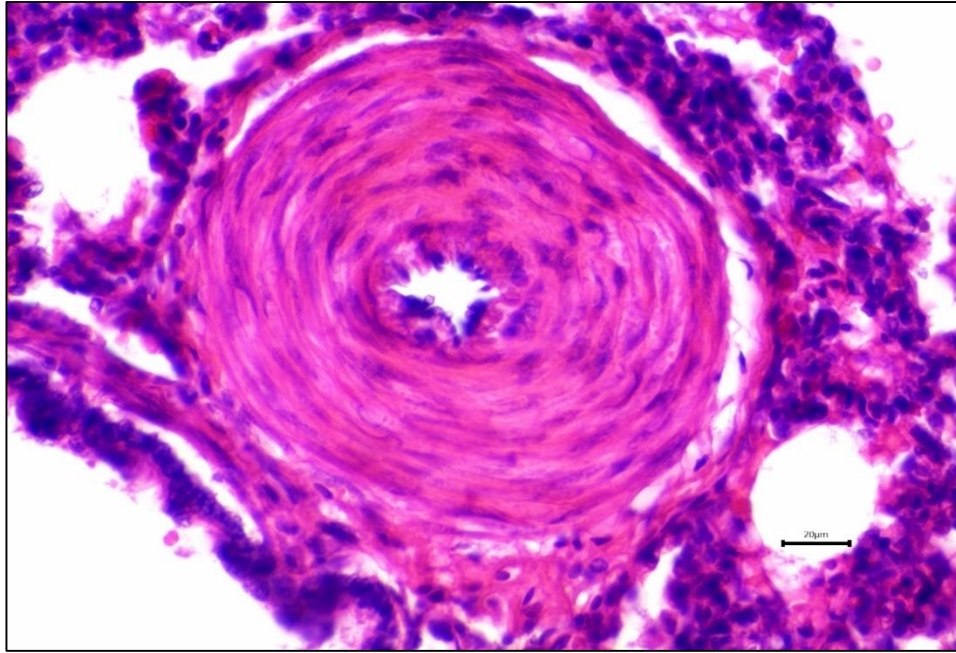


Figura 2.16 – Fotomicrografia, pulmão, arteríola, *D. albiventris*. Nota-se hiperplasia da musculatura lisa. A lesão é relacionada ao parasitismo por *Didelphostrongylus hayesi*.

Como em gatos e equinos, um grau leve a moderado de acentuação do padrão lobular (Figura 2.17) no fígado, por vezes, é encontrado sem associação a síndrome clínica (BARROS, 2016). Na microscopia nota-se congestão centro-lobular ou periportal, degeneração vacuolar e atrofia de hepatócitos.



Figura 2.17 – Fígado, face diafragmática, *Didelphis albiventris*, evidenciação do padrão lobular.

Lesões esqueléticas são comumente encontradas *ante mortem* em populações de

gambás de vida livre. Dentre elas cicatrizes, perfurações, calos e desalinhamentos ósseos (MEAD; PATERSON, 2009). Erosões cutâneas e laceração com cicatrização do coto na extremidade da cauda é também encontrada (Figura 2.18). Essas lesões são associadas a ataques e brigas com outros animais que não resultaram em trauma suficiente para causar a morte (MEAD; PATERSON, 2009).



Figura 2.18 – Membro pélvico, *Didelphis albiventris*: nota-se erosão cutânea leve (seta). B – Cauda, *Didelphis albiventris*: nota-se ausência da extremidade distal, a qual é substituída por uma cicatriz.

Alterações post mortem

As alterações *post mortem* em gambás-de-orelha-branca ocorrem de forma semelhante a animais domésticos em aspectos morfológicos, contudo algumas são mais frequentes e podem confundir o médico veterinário durante uma necropsia como enfisema intersticial *post mortem* pulmonar, pseudomelanose, timpanismo intestinal, embebição pela bile e palidez de órgãos.

O enfisema intersticial *post mortem* ocorre no pulmão por um processo autolítico já

tardiamente na decomposição do cadáver com atuação de bactérias putrefativas e produção de gás. Durante a inspeção é difícil a diferenciação dessa alteração do enfisema *ante mortem*. Elas aparecem como áreas aumentadas de volume, brancas e hipercreptantes principalmente nos lobos craniais. Nesse caso devem ser observadas outras alterações putrefativas concomitantes como pseudomelanose e embebição pela hemoglobina (SANTOS; GUEDES, 2016) (Figura 2.19).

O timpanismo *post mortem* é encontrado no trato gastrointestinal devido à proliferação de bactérias do lúmen intestinal especialmente as saprofíticas. Gambás-de-orelha-branca possuem intestino grosso e ceco amplos devido ao hábito onívoro e desenvolvem de forma exacerbada a alteração a partir de uma hora de intervalo entre a morte e a necropsia a depender das condições de temperatura. As alterações de coloração visceral por eventos putrefativos e autolíticos também são evidentes podendo resultar em palidez do miocárdio, intensa embebição pela hemoglobina, pseudomelanose e o descolamento da epiderme. O descolamento da epiderme ou maceração pode interferir na avaliação de lesões erosivas em gambás traumatizados. Nesse caso, a diferenciação pode ser feita pela ausência de alterações circulatórias como hiperemia e hemorragia (BROOKS, 2016) (Figuras 2.20, 2.21, 2.22). Por fim, trabalhos desse tipo auxiliam na determinação das lesões realmente importantes para a morte do animal (RECH et al., 2013).



Figura 2.19 - *Didelphis albiventris*, pulmão, enfisema *post mortem*. Nota-se no lobo cranial esquerdo áreas multifocais brancas de distensão gasosa e pequenos pontos brancos nos demais lobos (setas).

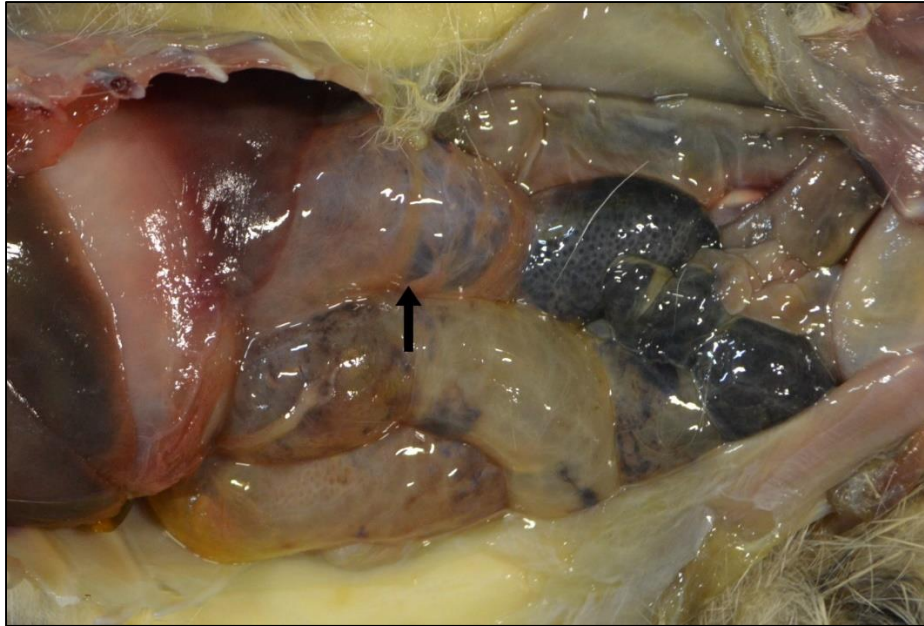


Figura 2.20 – *D. albiventris*, Cavidade abdominal, intestinos delgado e grosso. Nota-se o duodeno distendido por grande quantidade de gás e com áreas de pseudomelanose (seta).

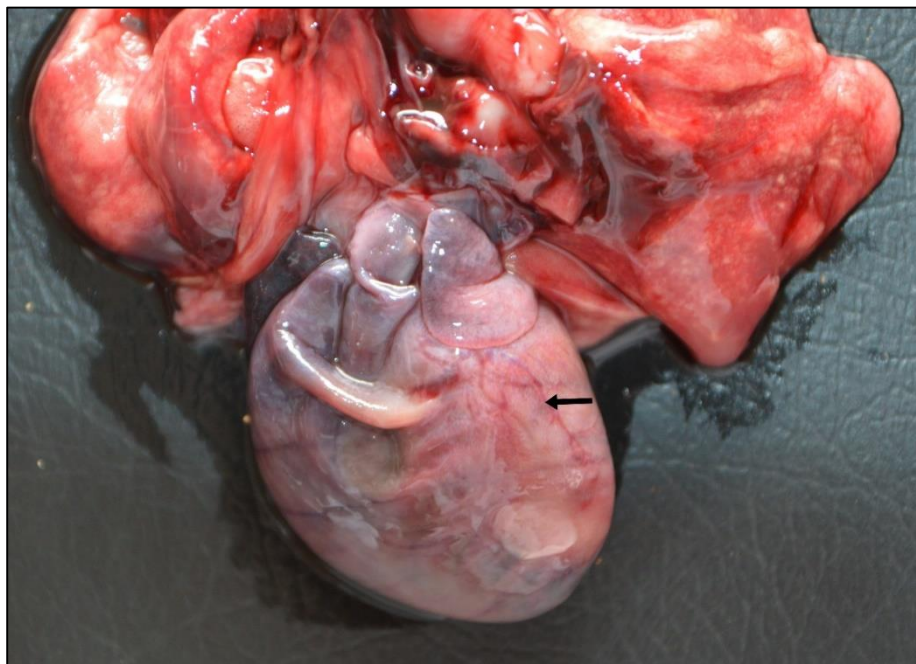


Figura 2.21 – *D. albiventris*, coração e pulmão: há moderada palidez do miocárdio ventricular esquerdo (seta). Acima, nota-se pulmão difusamente vermelho por embebição hemoglobínica.



Figura 2.22 - *Didelphis albiventris*, membro torácico, desprendimento da epiderme (maceração). Nota-se área sem pelos com descolamento da epiderme. Notar também a ausência de alterações circulatórias.

CONCLUSÕES

O conhecimento das particularidades anatômicas, lesões de pouco significado clínico e alterações *post mortem* em animais selvagens comprovou ser útil para as rotinas de laboratórios de diagnóstico, zoológicos e centros de triagem, principalmente naqueles em que se tem pouca experiência com necropsias de *D. albiventris*. Nesse caso, o diagnóstico diferencial da causa da morte deve ser feito através da exclusão de outras lesões de maior letalidade como politraumatismos e sepse.

Ressalta-se a importância do conhecimento da biologia e morfologia de espécies silvestres para a interpretação de lesões de pouco significado clínico e da sistematização das técnicas de necropsia e colheita de material. A familiaridade com a técnica de necropsia e o cadáver da espécie ajuda a reconhecer novas particularidades e até mesmo na produção de novos trabalhos de caracterização.

REFERÊNCIAS

- BARROS, Cláudio S. L. Fígado, Vias biliares e Pâncreas exócrino. *In*: SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. (org.) **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro : Roca, 2016. p. 308-460.
- BITENCOURT, Matheus M.; BEZERRA, Alexandra. Infection agents of Didelphidae (Didelphimorphia) of Brazil: an underestimated matter in zoonoses research. **Mammalia**, v. 86, n. 2, p. 105-122, dec. 2021.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. **Relatório técnico Cetos (2002-2014)**, 2016. Disponível em:http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/1309089/RESPOSTA_PEDIDO_cet.pdf. Acesso em 19 de jul. 2022.
- BROOKS, J. W. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval. **Veterinary pathology**, v. 53, n. 5, p. 929-940, Sep. 2016.
- CHEADLE, M. A. *Sarcocystis greineri* sp. (Protozoa: Sarcocystidae) in the Virginia opossum (*Didelphis virginiana*). **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 5, p. 1085-1089, Oct. 2001.
- CRUZ, Andréa Carla Costa da; MARGARIDO, Tereza Cristina Castellano. Características reprodutivas de *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (Mammalia-Marsupialia) na região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 6, n.2, p. 119-126, jul/dez. 2003.
- DAL MORO, Heloisa Pozzan; LIMA, Ana Paula Souza; MAJOLO, Juliano César; TRAMONTINA, Flávia Regina; ROSA, Milena; MASSA, Isadora Morais; COELHO, Mirelly Medeiros. Topografia dos órgãos abdominais em *Didelphis albiventris*. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 86-91, abr./jun. 2021.
- GARDNER, A. L. Order Didelphimorphia. WILSON, D. E; REEDER, D. M. (ed.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 2nd ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 2005. p. 15-23.
- GUILHON, G.; BRAGA, C.; CERQUEIRA, R. Variação morfológica do osso epipúbico de marsupiais Neotropicais (Didelphimorphia, Didelphidae): dimorfismo sexual e locomoção. **Informativo Sociedade Brasileira de Zoologia**, v. 122. p. 12, set./out. 2017.
- LAMBERSKI, Nadine *et al.* A retrospective study of 11 cases of lungworm (*Didelphostrongylus hayesi*) infection in opossums (*Didelphis virginiana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 2, p. 151-156, Jun. 2002.
- MATHEUS, Selma M. M.; GUAZZELLI FILHO, Joffre.; PINTO e SILVA José Ricardo; CESÁRIO, Maria Dalva. Aspectos morfológicos do pênis do gambá sul americano (*Didelphis albiventris*). **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 17, p. 1-11, jul. 2011.

MEAD, Alfred J.; PATTERSON, David. B. Skeletal lesions in a population of Virginia opossums (*Didelphis virginiana*) from Baldwin county, Georgia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 325-332, Apr. 2009.

MENDES, Ricardo E.; MINGOTTI, Taisson R.; EDWARDS John. F. (ed.) **Atlas de patologia veterinária: não lesões, lesões sem significado clínico e alterações cadavéricas em bovinos**. Blumenau: Editoria IFC, 2020. *E-book*. Disponível em: <https://editora.ifc.edu.br/2020/08/27/atlas-de-patologia-veterinaria-nao-lesoes-lesoes-sem-significado-clinico-e-alteracoes-cadavericas-em-bovinos/> Acesso em: 19 jul. 2022.

MOLLERICONA, José Luis; NALLAR, Rodolfo. *Cruzia tentaculata* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1917 en *Didelphis pernigra* (Allen, 1900) del Valle de Acero Marka de Los Yungas de La Paz, Bolivia. **Neotropical Helminthology**, v. 8, n. 2, 2014.

NASCIMENTO, Claudia; HORTA, Mauricio. Didelphimorphia (Gambá e Cuíca). In: CUBAS, Z.S; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L (ed.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2014. p. 682-706.

OLIVEIRA, Amanda C.; ANTÔNIO, Nayara S.; NEVES, Maria Francisca. *Physaloptera praeputialis*. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 12, jan. 2009.

RECH, R. R., SILVA, M. C.; LANGOHR, I. M.; MARQUES, M. G.; PESCADOR, C. A.; GUSTAVO, S. S.; DUTRA, M. C.; BRUM, J. S.; KRAMER, B.; BORDIN, L. C.; SILVA, V. S. Nem tudo que parece ser, é lesão: aspectos anatômicos, não lesões, artefatos, lesões sem significado clínico e alterações post mortem encontrados na necropsia de suínos domésticos e selvagens (*Sus scrofa*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1237-1255, 2013.

ROGRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Ordem Spirurida. In: MONTEIRO, Silvia Gonzalez (ed.). **Parasitologia na Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2018. p. 270-271.

SANTOS, Renato L.; GUEDES, Roberto. Sistema respiratório. In: SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. (org.) **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro : Roca, 2016. p. 308-460.p.14-18.

SCHÄFER, Bárbara Tavares. **Observações sobre a mucosa lingual em gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*), empregando os métodos de microscopia de luz, microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão**. 2018. (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-17082018-145803/publico/BARBARA_TAVARES_SCHAFFER_corrigida.pdf. Acesso em: 27 set. 2022.

SCHIMMING, B. C.; CESARIO, M. D.; MATHEUS, S. M. Morphology of the vaginal complex in the white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): Gross anatomy and light microscopy. **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 47, n. 6, p. 566-572, 2018.

ZABOTT, Marivone Valentim *et al.* Helminthofauna de *Didelphis albiventris* (Lund, 1841) no município de Palotina, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 20, n. 1, p. 19-22, jan./mar. 2017.

7 ARTIGO CIENTÍFICO 3

UNDIFFERENTIATED PLEOMORPHIC SARCOMA IN AN OPOSSUM (*DIDELPHIS ALBIVENTRIS*)

(Artigo submetido ao periódico *Journal of Comparative Pathology*)

Jair A Ferreira Junior*, **André S Leonardo****, **Saulo P Pavarini[†]**, **Karla A Nascimento***,
Juliana T S A Macêdo* and **Pedro M O Pedroso***

**Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brazil; ** Laboratório Histopatho, Brasília, Distrito Federal, Brazil [†]Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil*

Correspondence to: P M O Pedroso (e-mail: pedrosovet@yahoo.com).

Summary

We report a case of high-grade undifferentiated pleomorphic sarcoma in a free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*) in Central Brazil. Grossly, a yellow, soft mass, approximately 8 cm in diameter, with an irregular, adherent and ulcerated surface, which extended from the proximal epiphysis of the femur to the proximal third of the tibia and fibula, was observed. The mass invaded the medullary cavity and had a necrotic centre. Multiple nodular metastases (0.5–1.5 cm) were present in the liver, lungs and spleen. Histologically, the neoplasm was characterized by pleomorphic cells with indistinct boundaries, many multinucleated cells, necrosis and tissue invasion. There was intense cytoplasmic immunolabelling of neoplastic cells for vimentin and moderate cytoplasmic and nuclear labelling for human muscle actin, human smooth muscle actin, and lysozyme. Immunolabelling for Iba1, CD18, CD1A, cytokeratin AE1/AE3, glial fibrillary acidic protein and desmin was negative. To our knowledge, this is the first report of a undifferentiated pleomorphic sarcoma in this species.

Keywords: marsupial; sarcoma; white-eared opossum; immunohistochemistry

The white-eared opossum (*Didelphis albiventris*) is a synanthropic frugivorous–omnivorous, didelphid marsupial mainly distributed in eastern and Central-West Brazil (NASCIMENTO; HORTA, 2014). *D. albiventris* inhabits diverse environments such as plains, swamps, forests and mountains. They have good adaptation in cities, dumps, pastures and close to rural housing. They usually prefer these locations because they have easy access to water and food (TARDIEU, 2017). In their natural environment, opossums consume fruits, seeds, shoots, insects, molluscs, little birds, amphibians, reptiles and small mammals (MULLER et al., 2005). The proximity of these animals to the urban environment has increased the interest in the knowledge of general biology, injuries and diseases that affect the species.

In domestic animals, the generic term undifferentiated pleomorphic sarcoma is used to classify mesenchymal neoplasms with histological and immunohistochemical features of diverse histogenesis (HENDRICK, 2017). Some authors have reported that pleomorphic sarcomas in dogs and cats have primitive myofibroblastic origin, being analogous to human malignant fibrous histiocytoma (MOORE, 2014; HENDRICK, 2017). They can be subdivided into subtypes, namely storiform-pleomorphic and giant cell tumours (HENDRICK, 2017). The giant cell pattern is more common in cats, with numerous multinucleated giant cells mixed with spindle cells and mononuclear histiocytoid cells (CECCO et al., 2020). To the best of our knowledge, there are no reports of undifferentiated pleomorphic sarcoma in white-eared opossums. The objective of our study was to document the anatomopathological and immunohistochemical features of a case of undifferentiated pleomorphic sarcoma in a free-living white-eared opossum.

An adult white-eared opossum was rescued by the Wild Animal Rescue Centre in the urban perimeter of the Federal District, Brazil and referred to the Hospital Veterinário at the Universidade de Brasília. The animal had an ulcerated mass in the left pelvic limb at the height of the femoro-tibial-patellar joint, and was apathetic with severe pallor of the mucous membranes and anorexia. Radiographic examination revealed bone resorption in the tibia and fibula and the joint space was expanded by zones of slightly radiopaque soft tissue (Fig. 3.1A). Approximately 10 h after admission, the animal was euthanised *in extremis* due to its worsening condition, and was subsequently necropsied. Samples of liver, kidney, spleen, heart, lung, brain and neoplastic mass tissue were collected and fixed in 10% formaldehyde, processed for histology and stained with haematoxylin and eosin (HE). Immunohistochemistry (IHC) was performed to confirm the histopathological diagnosis. The sections were placed on previously silanized slides and a panel of primary antibodies was used for immunolabelling (Table 1). Heat-induced antigen retrieval was performed for 20–30 min at 120 °C in a steam pot. The

samples were incubated with primary antibodies overnight at 4 °C. A kit (Dako EnVision™ FLEX+; Dako, Glostrup, Denmark) and 3,3 diaminobenzidine chromogen was used for visualization of immunolabelling with all antibodies except those against vimentin and lysozyme. The streptavidin-biotin-peroxidase technique (LSAB+System HRP, Easylink One, Easypath, São Paulo, Brazil) was used with the anti-vimentin and anti-lysozyme antibodies. Sections were counterstained with haematoxylin. As a negative control, sections of neoplastic tissue were used in which the primary antibody was replaced by a phosphate buffer saline solution. As a positive control, normal dog tissue was used. They are listed in table 1. Equivalence between immunostaining in human, domestic mammal tissue and opossum tissue using commercial antibodies was expected similar to a previously published neoplasm report (DÍAZ-DELGADO et al, 2018).

Macroscopically, a soft yellow mass (5.5 × 6.5 × 8.0 cm) with an irregular, adherent and ulcerated surface extended from the proximal epiphysis of the femur to the proximal third of the tibia and fibula. The mass presented a necrotic centre when cut (Fig. 3.1B). Multiple metastatic nodules (0.5–1.5 cm) with similar characteristics were observed in the liver (Fig. 3.2 and 3.3), lung and spleen.

Histopathological examination revealed an ulcerated, densely cellular, infiltrative neoplasm in the muscle, bone and tendons. Neoplastic cells were spindle-shaped with indistinct boundaries. Many histiocytoid cells and multinucleated giant cells with distinct boundaries were observed. They were supported by a moderate fibrovascular stroma (Figs. 3.1C) and had an average amount of slightly basophilic cytoplasm. The nucleus was peripheral, round and vesicular with 1 or 2 nucleoli. There were marked anisocytosis and anisokaryosis, and four mitoses in 10 high-power fields (×400). Multifocal areas of necrosis were present in the centre of the neoplastic mass. Very high numbers of intact and degenerate neutrophils, histiocytes and plasma cells were seen within the necrotic areas. The bone cortex was infiltrated by a moderate number of neoplastic cells with marked fibrosis. Bone lysis, necrosis, haemorrhage and exostosis were also seen. Similar neoplastic infiltrates were present in the lungs, liver and spleen.

IHC revealed intense cytoplasmic labelling of vimentin in neoplastic cells and moderate cytoplasmic and nuclear labelling in neoplastic cells for human muscle actin, human smooth muscle actin and lysozyme. (Figs. 3.4A and D). Immunolabelling for Iba1, CD18, CD1A, cytokeratin AE1/AE3, glial fibrillary acidic protein and desmin was negative.

Undifferentiated pleomorphic sarcoma was diagnosed based on histopathology and immunohistochemistry. The multicentric form of this neoplasm was present with the primary

site involving bone, muscle and a hindlimb joint. In domestic animals, pleomorphic sarcomas appear as single or disseminated subcutaneous nodules with a grey or white mass, usually non-encapsulated, but can also have red spots depending on the amount of haemorrhage and necrosis (HENDRICK, 2017). The marked degree of microscopic anaplasia with pleomorphism and the presence of multinucleated giant cells was consistent with undifferentiated pleomorphic sarcoma full of giant cells (HENDRICK, 2017; CECCO et al., 2020).

Malignancy was determined by marked anisocytosis, anisokaryosis and liver, lung, and spleen metastases. The prognosis for undifferentiated pleomorphic sarcomas is usually reserved due to its indistinct origin and biological behavior in addition to its recurrent and metastatic capacity (HENDRICK, 2017). A possible traumatic pathogenesis was not excluded in this case as free-living opossums are subject to musculoskeletal trauma resulting from fights, predation or aggression. This hypothesis is supported by reports of post-vaccine myofibrosarcoma and myofibroblastic tumours expressing smooth muscle actin after eye trauma in cats (DUBIELZIG et al, 1993). Furthermore, myofibroblasts are commonly associated with the formation of post-traumatic granulation tissue (GROSS, 2005).

The main differential diagnoses include histiocytic sarcoma, fibrosarcoma, leiomyosarcoma and rhabdomyosarcoma with giant cell formation, which can be differentiated only by IHC. Leucocytes, histiocytes or Langerhans cells were excluded as potential cells of origin on the basis of absence of immunolabelling for CD18, Iba1 and CD1a, respectively. These antibodies are widely used as histiocytic tumour markers in dogs and cats and immunolabelling for Iba1 is expected in normal or neoplastic histiocyte lines, including multinucleated giant cells of histiocytic origin (MOORE, 2014; CECCO et al., 2020). It was not possible to access more specific antibodies for macrophages such as CD204. Comparatively, one morphological diagnosis of poorly differentiated sarcoma located in the heart and kidney was recorded in a Virginia opossum (*Didelphis virginiana*). In this report, immunolabelling was not obtained for von Willebrand Factor (vWF), c-kit, CD3, CD20, CD79 and CD18. Lymphocytic differentiation was not discarded in the reported case because CD 20 and CD79 were not identified in normal B-lymphocytes in opossums (POPE; DONNELL, 2017). Thus, the difficulty of accurately determining histogenesis in neoplasms poorly differentiated from opossums is highlighted.

It is suggest here an undifferentiated pleomorphic sarcoma with a possible fibroblast/myofibroblast origin supported by the location of the neoplasm and in the variable labeling for actin and desmin. Immunolabeling for both smooth muscle actin and desmin was found in pleomorphic sarcomas with ultrastructural evidence of myofibroblastic differentiation

in humans (HASEGAWA et al., 2003). Furthermore in cats, it was considered a fibroblastic/myofibroblastic phenotic in cases of pleomorphic sarcoma that obtained immunolabeling for vimentin and variable immunolabeling for smooth muscle actin and desmin (CECCO *Et al.*, 2020). This variable labeling believed to be caused by cytological transitions between smooth muscle and fibroblast (HEIM-HALL; YOHE, 2008). Finally, we emphasise the importance of this study for the knowledge it adds to existing literature of mesenchymal neoplasms in white-eared opossums, and its relevance for the comparative study of neoplasm in domestic animals and humans.

CRedit Author Statement

Jair Alves Ferreira Junior - Conceptualization, Data curation, Writing - original draft.

André Santos Leonardo - Conceptualization, Data curation, methodology.

Saulo P Pavarini - Investigation, Writing - review.

Karla Alvarenga Nascimento – methodology.

Juliana T S A Macêdo - Investigation, supervision.

Pedro M O Pedroso - supervision, Project administration, Writing - review & editing.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Dr. Felipe Ruiz Sueiro (VetPat Laboratory, Campinas, São Paulo, Brazil) for the help in carrying out the immunohistochemistry tests.

Conflict of Interest Statement

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship or publication of this article.

Funding

Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel provided the scholarship design. The graduate programme at the University of Brasília provided the financial assistance for translation and proofreading.

REFERENCES

- CECCO B.S.; ARGENTA F.F.; BIANCHI R.M.; DE LORENZO C.; WRONSKI J.G.; BANDINELLI M.B.; COSTA F.V.A.; DRIEMEIER D.; PAVARINI S.P., SONNE L. Feline giant-cell pleomorphic sarcoma: cytologic, histologic and immunohistochemical characterization. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n.8, 738-744, 2020.
- DÍAZ-DELGADO J.; COIMBRA A.A.C.; SANTOS-CIRQUEIRA C.; SANCHES T.C.; GUERRA J.M.; OLIVEIRA A.S.; DI-LORETTO C.; ZWARG T.; RESSIO R.; RIVAS L.; SANSONE, M.; NAGAMORI, F.O; KANAMURA, C.; GONÇALVES, P.S.; FERNANDES, W.C.C.A.; GROCH, K.R.; CATÃO-DIAS, J.L.. Parotid salivary gland basal cell adenocarcinoma in a big-eared opossum (*Didelphis aurita*). **Journal of comparative pathology**, v.159, p. 21-25, 2018.
- DUBIELZIG, R.; HAWKINS, K.; MILLER, P. Myofibroblastic sarcoma originating at the site of rabies vaccination in a cat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p. 637–638, 1993.
- FISHER, C. Myofibrosarcoma. **Virchows Archives**, v.445, p. 215–223, 2004.
- GROSS, T.L. Fibrous Tumors. *In*: GROSS, T.L (ed.) **Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis**, 2nd ed. Ames: Blackwell Science, 2005. p. 709–734.
- HASEGAWA, T.; HASEGAWA, F.; HIROSE, T.; SANO, T.; MATSUNA, Y. Expression of smooth muscle markers in so-called malignant fibrous histiocytoma. **Journal of Clinical Pathology**, v. 56, p. 666–671, 2003.
- HEIM-HALL, J.; YOHE S.L. Application of immunohistochemistry to soft tissue neoplasms. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v.132, p. 476–489, 2008.
- HENDRICK, M.J. Mesenchymal tumors of the skin and soft tissues. *In*: MEUTEN D.J. (ed.) **Tumors in Domestic Animals**, 5th ed. Ames: John Wiley & Sons, 2017. p.142–175.
- KANNEGIETER, N.J. Myofibroblastic fibrosarcoma with multifocal osseous metaplasia at the site of equine influenza vaccination. **Australian Veterinary Journal**, v. 88, p.132–136, 2010.
- MOORE, P.F. A review of histiocytic diseases of dogs and cats. **Veterinary Pathology**, v.51, p. 167–184, 2014.
- MULLER, G.; BRUM, I.G.W; LANGONE, P.Q.; MICHELS, G.H.; SINKOC, A.L.; RUAS, J.L.; BERNE, M.E.A. *Didelphis albiventris* lund, 1841, parasitado por *Ixodes loricatus neumann*, 1899, e *Amblyomma aureolatum* (pallas, 1772) (Acari: Ixodidae) no Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 319-324, 2005.
- NASCIMENTO, Claudia; HORTA, Mauricio. Didelphimorphia (Gambá e Cuíca). *In*: CUBAS, Z.S; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L (ed.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2014. p. 682-706.

POPE, Jenny P.; DONNELL, Robert L. Spontaneous neoplasms in captive Virginia opossums (*Didelphis virginiana*): a retrospective case series (1989-2014) and review of the literature. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 29, n. 3, p. 331-337, Apr. 2017.

TARDIEU, L.; ADOGWA A. O.; GARCIA, G. W. *Didelphis* species, neo-tropical animals with the potential for intensive production: Part 1 Review of taxonomy, natural history, general biology, animal behaviour, and nutrition. **Tropical. Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 157-174, 2017.

TABLE 1**Antibodies used for immunohistochemistry**

<i>Antibody</i>	<i>Clone</i>	<i>Dilution</i>	<i>Source</i>	<i>Positive Control</i>	<i>Immunolabelling</i>
Vimentin	V9	1:800	Dako, Santa Clara, California, USA	Intestine	Intense
Lysozyme	Polyclonal	1:200	Dako	Lymph node	Intense
Human Smooth Muscle Actin	Monoclonal 1A4	1:200	Dako	Intestine	Moderate
Human Muscle Actin	Monoclonal HHF35	1:400	Dako	Intestine	Moderate
Iba1	Polyclonal	1:100	Abcam, Cambridge, UK	Lymph node	Negative
CD18	Polyclonal	1:100	Abcam	Lymph node	Negative
CD1a	Monoclonal 010	1:300	Dako	Lymph node	Negative
Pancytokeratin	Monoclonal AE1/AE3	1:300	Dako	Skin	Negative
Glial fibrillary acidic protein	Monoclonal GA-5	1:400	Cell Marque	Central nervous system	Negative
Desmin	Monoclonal D33	1:100	Cell Marque	Intestine	Negative

FIGURES LEGENDS

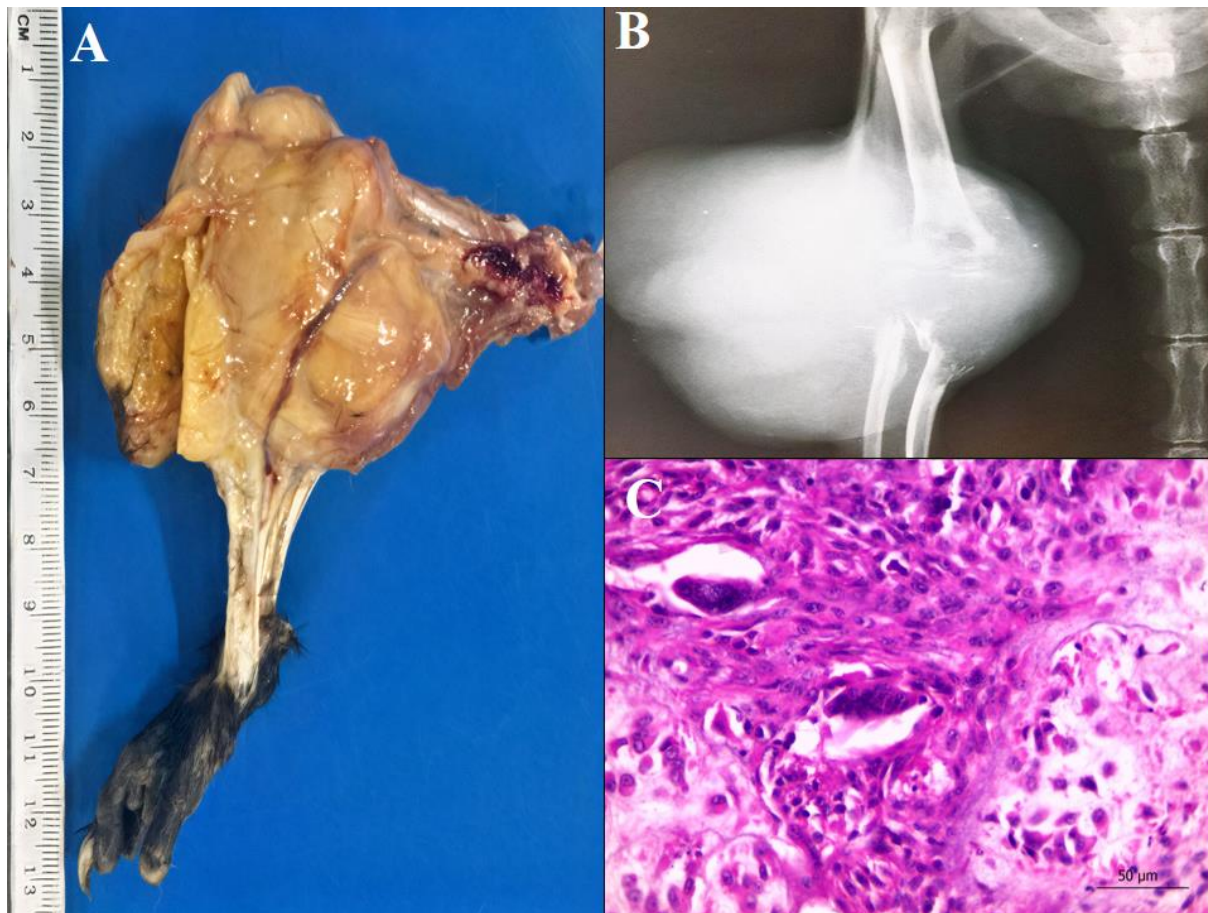


Figure 3.1 – Undifferentiated pleomorphic sarcoma, white-eared opossum. (A) Yellow mass with irregular surface expands the femoro–tibial–patellar joint. (B) Radiographic image reveals bone resorption in the tibia and fibula and the joint space was expanded by zones of slightly radiopaque soft tissue. (C) Bone, epiphysis, tibia: mantle of pleomorphic cells with indistinct borders and many giant cells in neoplasm. HE. Bar, 50 µm.



Figure 3.2 – Undifferentiated pleomorphic sarcoma, white-eared opossum, liver. There are contacts, metastatic, white and millimeter protruding on the capsular surface (seta).

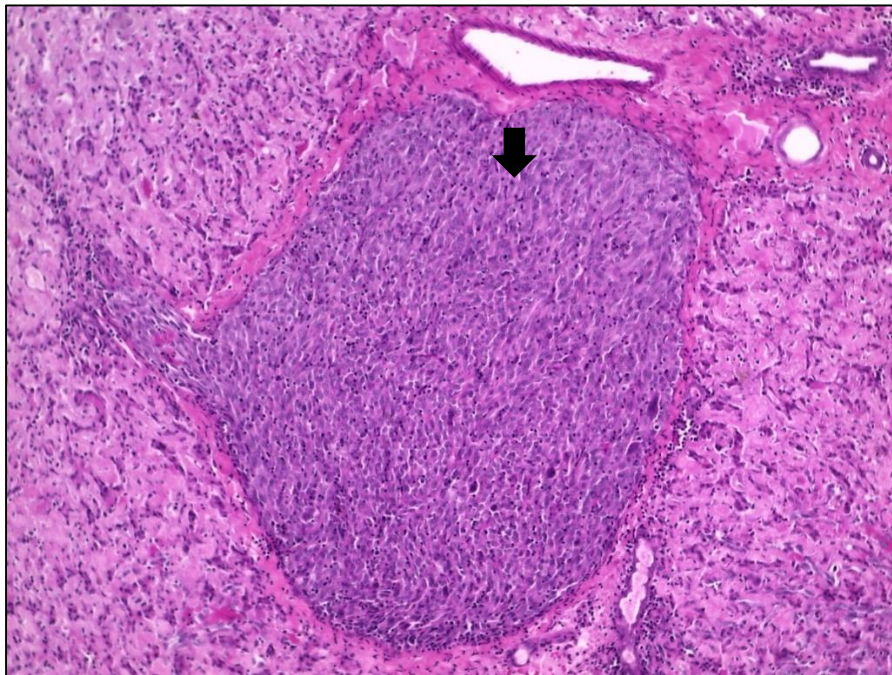


Figure 3.3 – Undifferentiated pleomorphic sarcoma, white-eared opossum. Photomicrograph of liver metastasis in the periportal region. HE, obj. 10x.

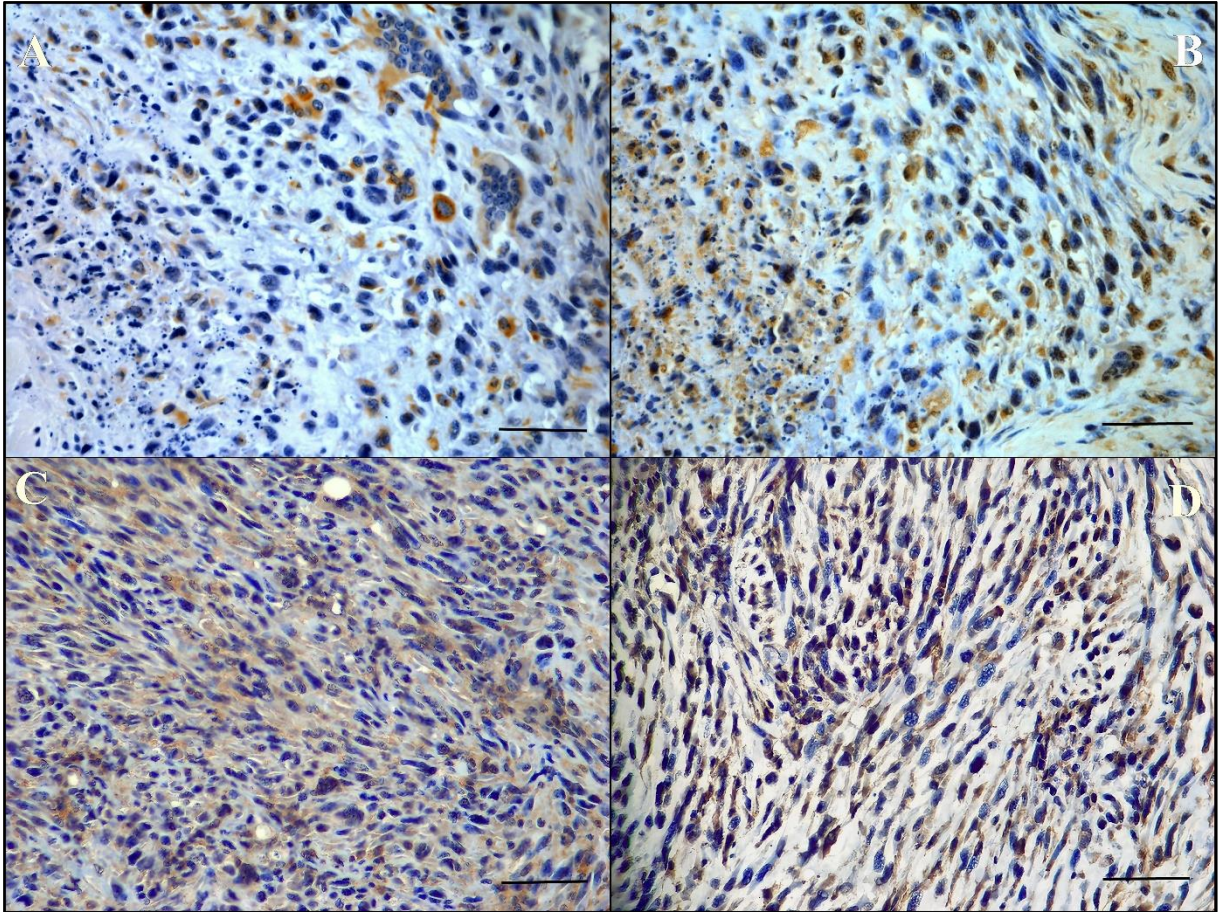


Figure 3.4 – Undifferentiated pleomorphic sarcoma, white-eared opossum (A) Femoro-tibial-patellar joint: Neoplastic cells have intense cytoplasmic labelling of vimentin. IHC. Bar, 50 µm. (B) Femoro-tibial-patellar joint: Neoplastic cells express moderate cytoplasmic and nuclear immunolabelling of lysozyme. IHC. Bar, 50 µm. (C) Femoro-tibial-patellar joint: Moderate cytoplasmic and nuclear immunolabelling for human muscle actin in neoplastic cells. IHC. Bar, 50 µm. (D) Femoro-tibial-patellar joint: Neoplastic cells express moderate cytoplasmic and nuclear immunolabelling of human smooth muscle actin. IHC. Bar, 50 µm.

8 ARTIGO CIENTÍFICO 4

Original Article
Wildlife Medicine

Rickets in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*)¹ **(Artigo publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)**

Jair A. Ferreira Júnior², Marina F. Landi³, Ariane O. Passos⁴, Karla A. Nascimento²,
João Paulo M.V.B Azevedo², Juliana T.S.A. Macêdo² and Pedro M.O. Pedroso^{2*}

ABSTRACT.- Ferreira Júnior J.A., Landi M.F., Passos A.O., Nascimento K.A., Macêdo J.T.S.A., & Pedroso P.M.O. 2020. **Rickets in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*)**. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 40(10):814-817. Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Via L4 Norte s/n, Brasília, DF 70910-970, Brazil. E-mail: pedrosovet@yahoo.com.br

Two young opossums were necropsied and diagnosed with rickets. This study aims to describe the clinical-pathological aspects of rickets in *Didelphis albiventris*. Macroscopically, the opossums presented kyphosis and scoliosis, lateral deviation of the limbs in *varus*, locomotion difficulty, and enlargement with softening of costochondral junctions (rickety rosary). Samples of bones and joints were processed for hematoxylin and eosin staining and Masson's trichrome. Microscopically, we observed thickening of the epiphyseal plate, characterized by irregular and multifocal proliferation of serialized and hypertrophic cartilage zones, which formed circular groups of large, dysplastic chondrocytes towards the spongy zone, often surrounded by non-mineralized osteoid tissue. In the cortical bone, there were pale eosinophilic zones around the Havers channels consistent with non-mineralized osteoid. The staining of Masson's trichrome evidenced the accumulation of osteoid tissue in cortical and trabecular bones. It is possible that a mixed cause of absorption deficiency of vitamin D3 associated with an unbalanced Ca:P diet based on lactose-free milk and fruits may have triggered the disease.

INDEX TERMS: Rickets, white-eared opossum, *Didelphis albiventris*, opossum, metabolic bone disease, pathology, vitamin D, calcium.

¹ Received on February 4, 2020.

Accepted for publication on May 16, 2020.

² Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), Via L4 Norte, Brasília, DF 70910-970, Brazil. E-mail: pedrosovet@yahoo.com.br

³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-000, Brazil.

⁴ Setor de Animais Silvestres, Hospital Veterinário, Universidade de Brasília (UnB), Via L4 Norte, Brasília, DF 70910-970, Brazil.

RESUMO.- [Raquitismo em gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*).] Dois gambás jovens foram necropsiados e diagnosticados com raquitismo. O objetivo do trabalho é descrever os aspectos clínico-patológicos de raquitismo em *Didelphis albiventris*. Macroscopicamente os gambás apresentaram cifose e escoliose, desvio lateral dos membros em *varus*, dificuldade de locomoção e alargamento com amolecimento das junções costochondrais (rosário raquítico). Amostras dos ossos e articulações foram

processadas para coloração de hematoxilina e eosina e Tricrômico de Masson. Microscopicamente havia espessamento da placa epifisária, caracterizada pela proliferação irregular e multifocal das zonas de cartilagem seriada e hipertrófica, que formavam grupos circulares de condrócitos grandes, displásicos em direção a zona esponjosa frequentemente cercados por tecido osteoide não mineralizado. No osso cortical haviam zonas eosinofílicas pálidas ao redor dos canais de Havers consistentes com osteoide não mineralizado. A coloração de Tricrômico de Masson evidenciou o acúmulo de tecido osteoide no osso cortical e trabecular. Acredita-se que uma causa mista de déficit de absorção de vitamina D3 associada a uma dieta desbalanceada em Ca:P a base de leite sem lactose e frutas tenha desencadeado a doença.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Raquitismo, gambá-de-orelha-branca, *Didelphis albiventris*, gambá, doença óssea metabólica, patologia, vitamina D, cálcio.

INTRODUCTION

Rickets is a metabolic disease that occurs in humans and animals. It is characterized by a deficiency in the mineralization of the physical and epiphyseal cartilage during the endochondral ossification of the newly formed osteoid in young animals before the end of growth. It affects bone tissue and growth cartilages, and occurs due to calcium and/or phosphorus deficiency, which can be primary, dietary deficiency, or secondary (Sekarides 2016). Metabolic bone disease (MBD) is one of the terms used to treat diseases that cause bone morphology and functional changes in captive Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). In these animals, the syndrome is usually caused by inadequate diet, Ca deficiency, or Ca:P imbalance and less likely by vitamin D deficiency (McRuer & Jones 2009). Vitamin D can be of dietary origins, such as D2 or D3, or the isomerization of 7-dehydrocholesterol (7-DHC) in the skin from ultraviolet light. Herbivores would typically perform this conversion, while carnivores are more dependent on eating other animal's fat. Vitamin D acts on the intestines, bones, kidneys, and parathyroid glands, maintaining the balance between calcium and phosphorus concentrations (Dittmer & Thompson 2011). In the disease, there is an increase in the volume of bony epiphyses and costochondral junctions, with an accumulation of non-eroded and osteoid cartilage; irregular epiphyseal plate, with delay and alteration of endochondral growth characterized by irregular invasion of the vessels in the growth cartilages, resulting in arching and reduction in bone length; and decreased bone strength, with spontaneous fractures and loss of radiopacity (Craig et al. 2016, Sekarides 2016). Altered skeletal integrity can manifest itself as retarded growth, fractured bones, and/or disturbed calcium and phosphorus levels in the blood (Madson et al. 2012). This study's objective was to describe ricket's clinical-pathological aspects in two free-living opossums (*Didelphis albiventris*) kept in the hospital.

MATERIALS AND METHODS

Two male, white-eared, young opossums (*Didelphis albiventris*) ("Saruê" no. 1 and 2) were referred to the "Laboratório de Patologia Veterinária" of the "Universidade de Brasília" for necropsy. During the necropsy, fragments of various organs and bones of the pelvic, thoracic, and ribs were collected and fixed in 10% buffered formaldehyde. The fragments were then sent for routine histological processing, embedded in paraffin, cut to 5µm thick, and stained with hematoxylin and eosin (HE). The special Masson's trichrome staining was also performed to show the non-mineralized osteoid matrix and connective tissue proliferation. Additional information was obtained from the requesting veterinarian.

RESULTS

The white-eared opossums ("saruês") were referred to as puppies for clinical care and, during the first month of life. Lactose-free milk and vitamin D3 supplementation were provided, in addition to fruits supplemented with calcium carbonate. The animals were kept in galvanized cages and without access to sunlight for the same period. In the third month, kyphosis (1/2) and scoliosis (2/2) were observed, in addition to limbs curved in varus in both animals, which promoted locomotor difficulties. Scoliosis and locomotion difficulty of the Saruê 1 made him unable to return to nature, and he died in transport to the Veterinary Hospital. Saruê 2 started to present dyspnea and nasal discharge. Laboratory tests showed an increase in metarubryocytes (nucleated red cells), lymphopenia, a marked increase in total alkaline phosphatase 1,119 U/L (mean 11.9 U/L for the species (standard deviation 4.2) (Malta & Luppi 2007) and a slight reduction in creatinine (0.3 mg/dl). Treatment with antibiotics was carried out, but there was no success, and due to the worsening of the clinical condition, euthanasia was chosen.

During necropsy, we observed marked curvature of the pelvic and thoracic limbs in varus (Fig.1A), enlargement of the joints, enlargement of the costochondral junctions (rachitic rosary), and spinal deformities (kyphosis and scoliosis). The long bones showed elasticity and softening and, when cut, regular thickening of the epiphyseal plates.

Microscopically, we observed the femur and ribs' metaphysis at the costochondral joint with thickening of the epiphyseal plate, characterized by the irregular and multifocal proliferation of the zones of serial and hypertrophic cartilage, which formed circular groups of large, dysplastic or anucleate (necrotic) chondrocytes. (Fig.2A) towards the spongy area, often surrounded by non-mineralized osteoid tissue. The cortical bone presented pale eosinophilic zones around the Haversian channels consistent with non-mineralized osteoid. The Masson's trichrome stain showed osteoids non-mineralization, staining in blue instead of red compared to a compact, healthy opossum bone (Figs.2C and 2D). Also, the first opossum, in addition to bone alterations, presented a marked multifocal pulmonary lesion, characterized by macrophage infiltration into alveolar spaces and edema.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The diagnosis of rickets in white-eared opossums ("saruês", *Didelphis albiventris*) was based on clinical-pathological and epidemiological aspects. MBD that occurs in captive *Didelphis virginiana* is treated as an entity involving a group of metabolic bone diseases such as osteoporosis, osteomalacia, rickets, imperfect osteogenesis, cage palsy, bone atrophy, juvenile osteoporosis, bone disease, fibrous osteodystrophy, and cystic fibrous osteitis, which have osteopenia and may or may not occur at the same time (McRuer & Jones 2009). Due to conditions of captivity and the absence of commercial formulations in the opossum's diet, we believe that the imbalance of the Ca:P ratio, with a cholecalciferol bioavailability deficit were determinant for the development of the lesions. The metabolic bone disease supported this hypothesis in opossums currently associated with food that does not reproduce the conditions of nature, mostly related to a calcium deficiency or an inadequate Ca: P ratio in the diet (McRuer & Jones 2009). However, vitamin D deficiency due to low sun exposure alone would be a less likely cause. Unlike humans, herbivores, pigs, and rats (How et al. 1994, Dittmer & Thompson 2011), nocturnal mammals such as *D. albiventris* and other twilight mammals are highly efficient at producing vitamin D3 (cholecalciferol) on the skin with less exposure to sunlight (McRuer & Jones 2009).

In opossums, the pathogenesis of rickets seems to be similar to what occurs in infants. Studies show some rickets cases attributed to deficient dietary calcium intake in the presence of adequate vitamin D intake. Also, in humans, a low calcium diet is known to exacerbate rickets' development due to vitamin D deficiency in children (Olson & Carlson 2017).

In addition to the dietary and environmental factors, other unknown causes could be raised for the development of rickets in opossums: hereditary factors or genetic defects of calcium or vitamin D malabsorption. Hereditary cases of rickets resulting from genetic defects have been described in several species, including humans, sheep, pigs (Madson et al. 2012), and domestic cats (Dittmer & Thompson 2011, Uhl 2018). These genetic mutations have primarily resulted in defects in vitamin D synthesis or abnormalities in phosphorus metabolism, supporting the central role of vitamin D and phosphorus in rickets' pathogenesis (Uhl 2018). Although uncommon, a possible phosphorus's primary difficulty was not ruled out in the two opossums since the offered diet's mineral composition is unknown, not supplemented with phosphate. In addition, thickening of the growth plates can directly affect phosphorus deficiency because average serum phosphorus concentrations are necessary for apoptosis of hypertrophic chondrocytes (Craig et al. 2016).

The main clinical sign in both opossums was locomotion difficulty due to bone deformities, which justified euthanasia or prevented the animals from returning to nature. MBD is considered one of the main problems in Didelphidae's orphaned puppies, and clinical signs include locomotion difficulty, inability to climb, bone fragility, fractures, and bone deformities (McRuer & Jones 2009, Nascimento & Horta 2014). As the syndrome progresses, systemic changes, such as polyuria, polydipsia, hyposthenuria, and folding fractures in the fingers, long bones, and spine, may occur. Long bones become painful when touched, and the opossum develops a squat posture (McRuer & Jones 2009). In both cases, bone deformities in the epiphyses were the most evident and justified by the irregular epiphyseal plate with irregular endochondral growth, resulting in arching and reduced bone length (Sekarides 2016). Serum increase in alkaline phosphatase was observed and empirically related to bone disease marker since concomitant liver pathology was not observed (Saraiva & Lazaretti-Castro 2002).

The anatomopathological findings were similar to those observed in domestic animals. Clusters of hypertrophic chondrocytes in endochondral ossification sites, both in the physis and below the articular cartilage, are histopathological findings characteristic of rickets (Craig et al. 2016). Dysplastic hypertrophic chondrocytes were a finding similar to that described in chondrodysplasias in dogs (Craig et al. 2016) and autosomal recessive hypophosphatemic rickets in Corriedale sheep (JPC 2015). Despite not being pathognomonic, osteoid buildup in the cortical bone was observed histologically and in sheep with rickets (Craig et al. 2016). The animals evaluated presented marked curvature of the pelvic and thoracic limbs and widening of the costochondral junctions. Lesions are typically more severe in the bones that grow faster,

including the radius, tibia and metacarpals, and metatarsals (Dittmer & Thompson 2011). Enlargement of costochondral junctions, the so-called "rickety rosary" is a classic rickets lesion in most domestic species and in children that can be seen on radiographic or *post-mortem* exams (Craig et al. 2016, Dittmer & Thompson 2011, Jaffe & Metabolic 1972, Olson & Carlson 2017). Masson's trichrome staining proved to be useful to evidence mineralization deficiency. However, like Goldner's trichrome, it should not be used as a diagnostic method alone (Craig et al. 2016).

Rickets in any species must be distinguished from metabolic diseases that develop osteopenia, in addition to arthritis, osteochondrosis, hereditary chondrodysplasias, vitamin A poisoning, or secondary renal hyperparathyroidism. In general, these diseases have ossification defects but not cortical bone mineralization. There are growth deformities and premature closure of growth plates in vitamin A poisoning due to necrosis of chondrocytes and osteoblasts, which leads to reduction in bone mass and non-mineralization (Olson & Carlson 2017).

Finally, according to the macro and microscopic findings, we conclude that both animals developed rickets, which caused locomotor difficulties and consequent depletion, in addition to secondary diseases.

Acknowledgments.- The authors would like to thank the "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior" (CAPES), Brazil, for granting the scholarship to carry out this work.

Conflict of interest statement.- The author(s) declared no potential conflicts of interest concerning the research, authorship, and/or publication of this article.

REFERENCES

- Craig L.E., Dittmer K.E. & Thompson K.G. 2016. Bones and joints. p.16-163. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol. 1. 6th ed. Vol. 1. Elsevier, St Louis, Missouri.
- Dittmer K.E. & Thompson K.G. 2011. Vitamin D metabolism and rickets in domestic animals: A review. *Vet. Pathol.* 48(2):389-407. <<https://dx.doi.org/10.1177/0300985810375240>> <PMid:20634407>
- How K.L., Hazewinkel H.A. & Mol J.A. 1994. Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. *Gen. Comp. Endocrinol.* 96(1):12-18. <<https://dx.doi.org/10.1006/gcen.1994.1154>> <PMid:7843559>
- Jaffe H.L. 1972. *Metabolic, Degenerative, and Inflammatory Diseases of Bones and Joints.* Lea & Febiger, Philadelphia, p.381-448.
- JPC 2015. Case I. 9th Wednesday Slide Conference, Joint Pathology Center Veterinary Pathology Service, Maryland. Available at https://www.askjpc.org/wsco/wsc_showcase2.php?id=Ukg0VXhXQ2djTHJwQjl2a2kvM29CQT09 Access on Abr. 02, 2019.
- Madson D.M., Ensley S.M., Gauger P.C., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Cooper V.L., Janke B.H., Burrough E.R., Goff J.P. & Horst R.L. 2012. Rickets: case series and diagnostic review of hypovitaminosis D in swine. *J Vet Diagn Invest* 24(6):1137-1144. <<https://dx.doi.org/10.1177/1040638712461487>> <PMid:22991390>
- Malta M.C.C. & Luppi M.M. 2007. Marsupialia - Didelphina (Gambá, Cuíca). p.340-357. In: Cubas Z.S. (Org.) *Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária.* Vol.1. 1ªed. Roca, São Paulo, SP.
- McRuer D.L. & Jones K.D. 2009. Behavioral and nutritional aspects of the Virginian opossum (*Didelphis virginiana*). *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 12(2):217-236. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2009.01.007>> <PMid:19341950>
- Nascimento C.C. & Horta M.C. 2014. Didelphina (Gambá, Cuíca). p. 682-707. In: Cubas Z.S (Org). *Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária.* Vol.1. 2th ed. Roca, São Paulo, SP.
- Olson EJ & Carlson C.S. 2017. Bones, Joints, Tendons and Ligaments. p. 954-1008. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease.* 6th ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Saraiva G.L. & Lazaretti-Castro M. 2002. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. *Arq bras endocrinol metab.* 46(1):72-78. <<https://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302002000100010>>
- Sekarides R. 2016. Ossos e Articulações. p. 619-663. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Org). *Patologia Veterinária.* 2th ed. Roca, Rio de Janeiro, RJ.
- Uhl E.W. 2018. The pathology of vitamin D deficiency in domesticated animals: An evolutionary and comparative overview. *Int J Paleopathol.* 23:100-109. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.ijpp.2018.03.001>> <PMid:29544996>

Figure Legends



Fig.1 – Rickets in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*). (A) Opossum with lateral varus deviation in the thoracic limbs. (B) Normal opossum without curvature of the thoracic limbs.

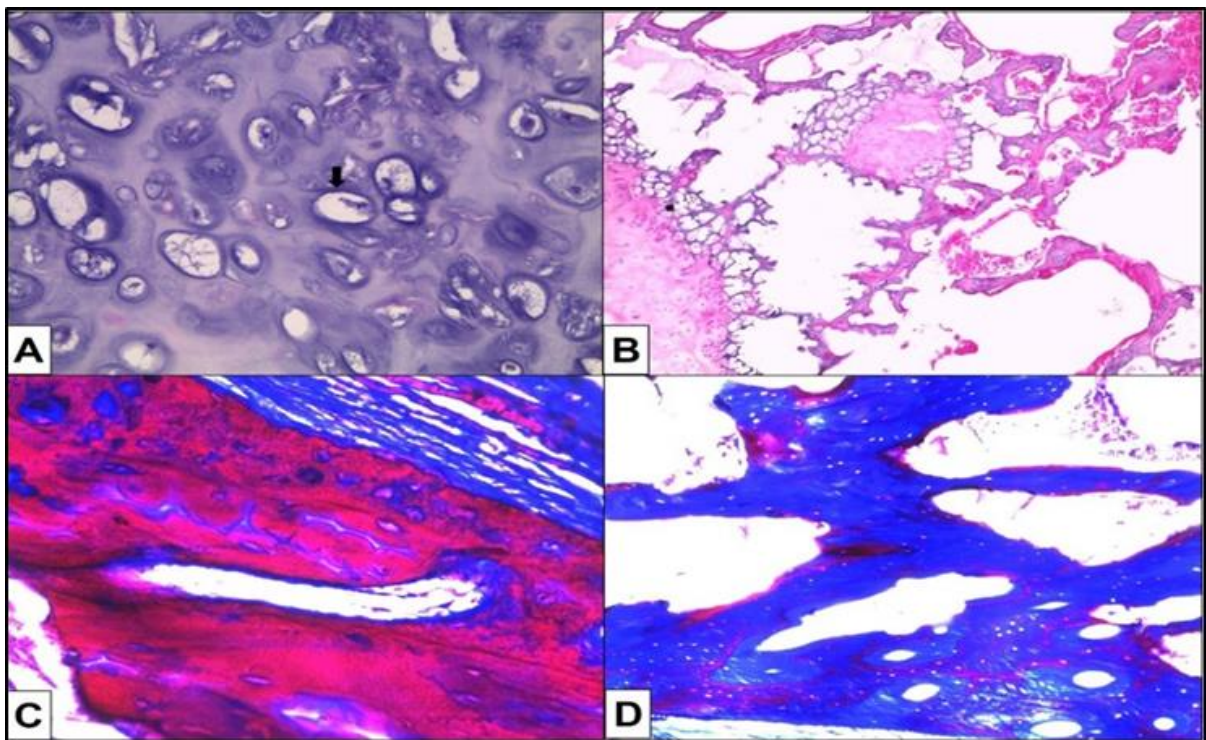


Fig.2 – Rickets in white-eared opossums (*Didelphis albiventris*). (A) Rib metaphysis. Disorganized, large, dysplastic, and sometimes anucleate chondrocytes are noted (arrow). HE, obj.40x. (B) Femur metaphysis with irregular and multifocal proliferation of the serial and hypertrophic cartilage zones. HE, obj.10x. (C) Cortical bone of the femur. A red coloring is noted, representing mineralized bone tissue in a normal opossum of the same age. Masson's trichrome, obj.10x. (D) Cortical bone of the rib. Bone's trabeculae are mostly stained in blue representing non-mineralized and fibrous bone tissue. Masson's trichrome, obj.10x.

9 ARTIGO CIENTÍFICO 5

CASE REPORT

Toxoplasmose encefálica em um gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*)

Artigo publicado no periódico Acta Scientiae Veterinariae, 2021. 49(Suppl 1):727
DOI: 10.22456/1679-9216.117794

Encephalic Toxoplasma in a White-Eared Possum (*Didelphis albiventris*)

Jair Alves Ferreira Junior¹, Isabella Luanni de Oliveira Cunha¹, Líria Queiroz Luz Hirano², Nathália Dela-Sávia da Fonseca¹, Karla Alvarenga Nascimento¹, Juliana Targino Silva e Macêdo¹ & Pedro Miguel Ocampos Pedroso¹

¹Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil.

²Setor de Animais Silvestres, Universidade de Brasília, DF, Brazil. CORRESPONDENCE: P.M.O. Pedroso [pedrosovet@yahoo.com.br]. Via L4 Norte s/n. Campus Darcy Ribeiro. CEP 70910-970 Brasília, DF, Brazil.

ABSTRACT

Background: Toxoplasmosis is caused by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan that belongs to the Apicomplexa phylum, coccidian subclass, and affects all warm-blooded animals. The role of opossums in the epidemiology of toxoplasmosis in Brazil is not fully understood, and there are very few descriptions of toxoplasmosis lesions in these animals.

This report describes the anatomopathological, molecular and immunohistochemical findings of a case of encephalic toxoplasmosis in free-living white-eared possum (*Didelphis albiventris*).

Case: A young male opossum (*D. albiventris*), was treated at the Veterinary Hospital of Wild Animals of the University of Brasília, Federal District. The animal was apathetic, uncoordinated, reluctant to move, and had an exposed proximal fracture in the left radius and ulna with laceration of muscles and adjacent tendinous structures. Amputation on the left thoracic limb was performed followed by analgesia and antibiotic therapy. The environment is frequented by other wild animals, and stray cats have access to the patio of the building. Twenty-five days after arriving at the hospital, the animal was found dead in its cage. After death, a necropsy was performed. Organ fragments from the abdominal cavity, thoracic and central nervous system were collected, processed routinely for histology and stained with hematoxylin and eosin. Macroscopic lesions in the central nervous system were not observed. On microscopy, the brain showed moderate random glial nodules throughout the neuropil associated with the presence of spherical to elongated parasitic cysts of about 20 µm, with a thin wall and with its interior full of bradyzoites, consistent with *T. gondii*. There was also moderate fibrinoid necrosis and moderate multifocal lymphoplasmacytic infiltrate surrounding the blood vessels (perivascular cuffs). To investigate the etiology of the brain injury, brain sections were subjected to immunohistochemistry (IHC) and real-time polymerase chain reaction (qPCR) technique for detection of *T. gondii* and *Neospora caninum*. Immunostaining for *T. gondii* in the cyst wall and in bradyzoites and negative immunostaining for *N. caninum*. qPCR was positive for *T. gondii* and negative for *N. caninum*.

Discussion: Diagnosis of encephalic toxoplasmosis in a *D. albiventris* was possible based on histopathological, immunohistochemical and molecular findings. The morphological classification of the brain lesion was important for the diagnosis. Brain toxoplasmosis in opossums usually results in focal areas of malacia on macroscopy and focally extensive necrosis

on microscopy, neutrophil infiltrate, calcified necrotic material, and perivascular cuffs of lymphocytes and plasma cells. In the present case, similar histopathological lesions were noted, but no significant macroscopic changes were observed. The etiology here was defined by immunohistochemistry and qPCR, techniques proven to be useful and with good specificity for diagnosing toxoplasmosis in mammals. It is believed that the positive immunohistochemical and molecular result for *T. gondii* together with the negative result for *N. caninum* were conclusive for the diagnosis. Thus, we demonstrate here a *post mortem* diagnosis of toxoplasmosis in a free-living synanthropic opossum and the use of anatomopathology, immunohistochemistry and real-time polymerase chain reaction as a diagnostic option for this disease in opossums.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, marsupial, immunohistochemistry, Real time PCR, protozoal encephalitis.

Descritores: *Toxoplasma gondii*, marsupial, imuno-histoquímica, Real time PCR, encefalite protozoal.

INTRODUÇÃO

Toxoplasmose é causada por *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao filo Apicomplexa, subclasse coccidia. Seus hospedeiros definitivos são gatos e outros felídeos e seus hospedeiros intermediários são todos os animais de sangue quente, incluindo aves [9]. A doença afeta principalmente o sistema nervoso central e ocasionalmente sistema reprodutor, músculos estriados e órgãos viscerais como fígado [8]. No Brasil, há vários estudos sobre a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em gambás-de-orelhas-pretas (*D. marsupialis*) [10], gambás (*Didelphis* spp.), e gambás-de-orelhas-brancas (*D. albiventris*) [4]. Contudo, a participação dos gambás na epidemiologia da toxoplasmose no Brasil não está totalmente esclarecida.

A toxoplasmose clínica não é comum em gambás americanos, que possuem certa resistência. Quando a doença é identificada em gambás, foram observadas macroscopicamente consolidação pulmonar, hemorragias e estrias pálidas no músculo cardíaco, ulceração e avermelhamento gastrointestinal e malacia cerebral. Microscopicamente, no encéfalo, registrou-se gliose focal, necrose focal e extensa e infiltrados de neutrófilos, material necrótico calcificado, manguito perivascular de linfócitos e plasmócitos. O diagnóstico nesses casos pode ser confirmado por imuno-histoquímica [2]. O objetivo do presente trabalho é descrever os achados anatomopatológicos e imuno-histoquímicos de um caso de toxoplasmose encefálica em gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) de vida livre.

CASO

Um gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris* Lund, 1840), macho, jovem foi atendido no Setor de Animais Silvestres do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília (HVet-UnB), Distrito Federal. O animal apresentava apatia, incoordenação, relutância em se movimentar, além de uma fratura exposta proximal em rádio e ulna esquerdos com laceração de musculatura e estruturas tendíneas adjacentes. Foi realizada amputação do membro torácico esquerdo seguido de analgesia e antibioticoterapia. Vinte e cinco dias após a chegada ao hospital, o animal foi encontrado morto na gaiola.

Durante a necropsia notou-se leve quantidade de parasitos cilíndricos medindo 3,0 cm de comprimento por 0,2 cm de diâmetro em meio ao conteúdo estomacal consistentes com *Physaloptera* spp. Não foram observadas alterações macroscópicas no encéfalo. Fragmentos de órgãos da cavidade abdominal, torácica e sistema nervoso central foram colhidos, fixados em formol tamponado a 10%, clivados, processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (H&E)¹.

Microscopicamente, o encéfalo apresentou moderados nódulos gliais aleatórios por todo neurópilo associado à presença de cistos parasitários (Figura 1) esféricos a alongados de cerca de 20 µm, com fina parede e com o seu interior repleto de bradizoítos, consistentes com cistos de *T. gondii*. Havia também necrose fibrinoide moderada e infiltrado linfoplasmocítico multifocal moderado circundando os vasos sanguíneos (mangitos perivasculares). Adicionalmente foram observadas miocardite mononuclear multifocal discreta e broncopneumonia neutrofílica multifocal moderada associada a edema difuso acentuado.

Para confirmação da etiologia da lesão cerebral, blocos de parafina contendo cortes de encéfalo foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica (IHQ) e técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para detecção de *T. gondii* e *N. caninum*.

Na imuno-histoquímica a recuperação antigênica foi feita com tripsina 0,1% a 37 °C. O bloqueio das reações inespecíficas foi feito com leite desnatado (Molico[®])² a 5% diluído em PBS por 15 min. Em seguida, as lâminas foram cobertas com anticorpo primário policlonal (soro) anti-*T. gondii* na diluição de 1:10000 e outra amostra com anticorpo policlonal anti-*N. caninum* na diluição 1:200 (VMRD)³. As lâminas foram incubadas em câmara úmida por 14-16 h (*overnight*) a 6 °C. Utilizou-se a técnica de estreptavidina-biotina-peroxidase (Kit LSAB-HRP, Dako[®])⁴ para *T. gondii* e a técnica da peroxidase-HRP (Kit ImmPRESS[®])⁵ para *N. caninum*. A revelação foi com o cromógeno 3,3 diaminobenzidina (Kit DAB Dako[®])⁴ e contra corado com hematoxilina de Harris. Controles positivos testados anteriormente foram inseridos simultaneamente com as lâminas testadas. À avaliação notou-se forte imuno-marcação para *T. gondii* na parede do cisto e em bradizoítos (Figura 2) e nenhuma imuno-marcação para *N. caninum*.

Para a técnica de qPCR foi feita a desparafinização, reidratação e extração de DNA (Kit Wizard Genomic DNA Purification[®])⁶. A qPCR para detecção, quantificação de *T. gondii* e *N. caninum* foram utilizados kits específicos (Genesig[®])⁷ contendo os primers. Os princípios da

técnica foram semelhantes aos descritos na literatura [5,11]. Para obtenção dos dados de amplificação foi utilizado equipamento específico (StepOnePlus™ - Real Time PCR System®)⁸. Controles negativos e positivos foram incluídos em todas as reações, com adição de água livre de DNases e RNases para o controle das reações. A qPCR foi positiva para *T. gondii* e negativa para *N. caninum*.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de toxoplasmose encefálica em um gambá-de-orelha-branca foi possível com base nos achados histopatológicos, imuno-histoquímicos e moleculares. Por se tratar de um mamífero sinantrópico de vida livre, a provável fonte de infecção para o gambá foram gatos domésticos, já que este é conhecidamente o hospedeiro definitivo do agente e elimina oocistos no ambiente [9]. O Setor de Animais Silvestres do HVet-UnB se localiza em um prédio próximo do Setor de Pequenos Animais e o animal permaneceu em ambiente interno durante a internação, o que limitou o contato com gatos errantes, entretanto, não se descarta a hipótese de a infecção ter ocorrido durante a internação hospitalar devido ao tempo de 25 dias, que corresponde ao período para formação de cistos do *Toxoplasma*.

Soroprevalências de 13 a 37,3% de toxoplasmose têm sido encontradas em gambás das Américas e no estado de São Paulo [4], o que comprova que o agente é circulante entre esses animais, contudo pouco se sabe sobre lesões causadas por esse agente em marsupiais brasileiros. Por outro lado, por serem protozoários persistentes no ambiente, os gambás podem servir de indicadores da contaminação ambiental no local em que vivem e contribuir com a manutenção do agente na natureza [7].

A patogenia nesses animais é semelhante ao que ocorre nos animais domésticos e certamente o cisto se formou no sistema nervoso central, em consequência da ingestão prévia de oocistos esporulados do ambiente. Protozoários do filo Apicomplexa se caracterizam por

reprodução assexuada e sexuada. O ciclo se inicia com eliminação do oocisto em fezes de felídeos [9]. A esporulação então se completa em 1-5 dias formando dois esporocistos, cada qual com quatro esporozoítas. O animal homeotérmico ingere o oocisto esporulado. Os oocistos esporulados então liberam esporozoítas no intestino, os quais penetram nas células intestinais e nos linfonodos satélites, originando as formas de multiplicação rápida chamadas de taquizoítas. Os taquizoítas invadem outras células, incluindo as células do sistema nervoso central originando então as formas de multiplicação lenta, os bradizoítos, que formam cistos teciduais [1,9]. Incoordenação, apatia e relutância em se movimentar são sinais clínicos decorrentes das lesões associadas aos cistos no parênquima cerebral e já foram descritos em um estudo com gambás australianos com toxoplasmose encefálica [2].

A classificação morfológica da lesão encefálica foi importante para o diagnóstico. Toxoplasmose encefálica em gambás normalmente resulta em áreas focais de malacia na macroscopia e na microscopia necrose focalmente extensa, infiltrados de neutrófilos, material necrótico calcificado e manguitos perivasculares de linfócitos e plasmócitos [2]. No presente caso notaram-se lesões microscópicas semelhantes, porém não se observaram alterações macroscópicas significativas. Tal achado explica-se pelo caráter subagudo da lesão sem a formação de áreas de malacia e, portanto, não vistas macroscopicamente. Apesar disso, a vasculite visualizada poderia formar áreas de necrose mais extensas com a evolução da lesão. Vasculite já é conhecida causada por *Toxoplasma*, como observada aqui, porém não há uma causa ou toxina definida [2].

Morfológicamente os cistos de *T. gondii* devem ser diferenciados de *N. caninum* e *Sarcocystis neurona*. Cistos de *N. caninum* no sistema nervoso têm normalmente parede mais espessa do que os de *T. gondii*, os quais podem ter parede imperceptível na microscopia ótica comum [1,3]. Gambás geralmente são hospedeiros definitivos de *Sarcocystis*, dentre eles *S. neurona* e, portanto, não apresentam doença clínica. Supletivamente, cistos de *Sarcocystis* são

maiores, muitas vezes sem reações inflamatórias e, quando presentes, as lesões microscópicas podem incluir miosite e miocardite ao invés de encefalite [3]. A miocardite mononuclear não teve agente etiológico intra-lesional, contudo não se descarta estar associada à toxoplasmose. Sabe-se que, além do sistema nervoso central, a doença pode afetar o músculo cardíaco associada à fase de migração dos taquizoítas instigando as lesões nesses órgãos [1,3].

A etiologia aqui foi definida por imuno-histoquímica e a especificidade da técnica foi reforçada por qPCR. Acredita-se que o resultado imuno-histoquímico e molecular positivo para *T. gondii* aliado ao resultado negativo para *N. caninum* foram conclusivos para o diagnóstico. Em um trabalho realizado com material de aborto ovino constatou-se que a imuno-histoquímica é um teste com especificidade de 96-100%, quando correlacionada com resultados de qPCR dos mesmos tecidos [6], o que torna a IHQ uma técnica segura para diagnóstico etiológico em mamíferos, além do mais quando aliada a qPCR.

Assim demonstramos aqui um diagnóstico *post mortem* de toxoplasmose em um gambá sinantrópico de vida livre e a utilização da anatomopatologia, imuno-histoquímica e qPCR como opção diagnóstica dessa doença em gambás.

MANUFACTURERS

¹WCOR Corantes. São Paulo, SP, Brazil.

²Nestlé Brasil Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

³VMRD, Inc. Pullman, WA, USA.

⁴Dako. Carpinteria, CA, USA.

⁵Vector Laboratories. Burlingame, CA, USA.

⁶Promega Corporation, Madison, WI, USA.

⁷Genesig Advanced. Primerdesign, United Kingdom.

⁸Applied Biosystem. Waltham, Massachusetts, USA.

Acknowledgements. Agradecemos a bolsa de pesquisa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) concedida à J.A. Ferreira Júnior.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 **Bowman D.D. 2010.** Protozoários - Toxoplasma. In: Bowman D.D. (Ed). *Georgis Parasitologia Veterinária*. 9.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.96-98.
- 2 **Canfield P.J., Hartley W.J. & Dubey J.P. 1990.** Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. *Journal of Comparative Pathology*. 103: 159-167. DOI:10.1016/s0021-9975(08)80172-7
- 3 **Gardiner C.H., Payer R. & Dubey J.P. 1988.** *Toxoplasma* and *Hammondia*. In: Gardiner C.H., Payer R. & Dubey J.P. (Eds). *An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues. Agriculture Handbook*. Washington: United States Department of Agriculture, pp.52-55.
- 4 **Horta M.C., Ragozo A.M.A., Casagrande R.A., Reiko E. & Gennari S.M. 2016.** Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira* spp. antibodies in opossums (*Didelphis* spp.) in São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 53: 1-9. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2016.110381
5. **Lin M.H., Chen T.C., Kuo T.T. & Tseng C.C. 2000.** Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *Journal of clinical microbiology*. 38(11): 4121-4125. DOI: 10.1128/JCM.38.11.4121-4125.2000
- 6 **Meixner N., Sommer M.F., Scuda N., Matiasek K. & Müller M. 2020.** Comparative aspects of laboratory testing for the detection of *Toxoplasma gondii* and its differentiation

from *Neospora caninum* as the etiologic agent of ovine abortion. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 32: 898-907. DOI: 10.1177/1040638720962110

7 Nascimento C.C. & Horta M.C. 2014. Didelphimorphia. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds). *Tratado de Animais Selvagens*. v.1. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.701-702.

8 Silva F.W.S., Alves N.D., Albano S.S., Amora F.H.V.T., Accioly M.P., Carvalho C.G. & Feijo F.M.C. 2006. Toxoplasmose: uma revisão. *Ciência Animal*. 16: 71-77.

9 Taylor M.A., Coop R.L. & Wall R.L. 2017. Protozoa. In: Taylor M.A., Coop R.L. & Wall R.L (Eds). *Parasitologia Veterinária*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.141-142.

10 Yai L.E.O., Cañon-Franco W.A., Geraldi V.C., Summa M.E.L., Camargo M.C.G., Dubey J.P. & Gennari S.M. 2003. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. *Journal of Parasitology*. 89: 870-871. DOI: 10.1645/GE-83R

11. Yamage M., Flechtner O. & Gottstein B. 1996. *Neospora caninum*: Specific oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Parasitology*. 82: 272-279. DOI: 10.2307/3284160

LEGENDA DAS FIGURAS

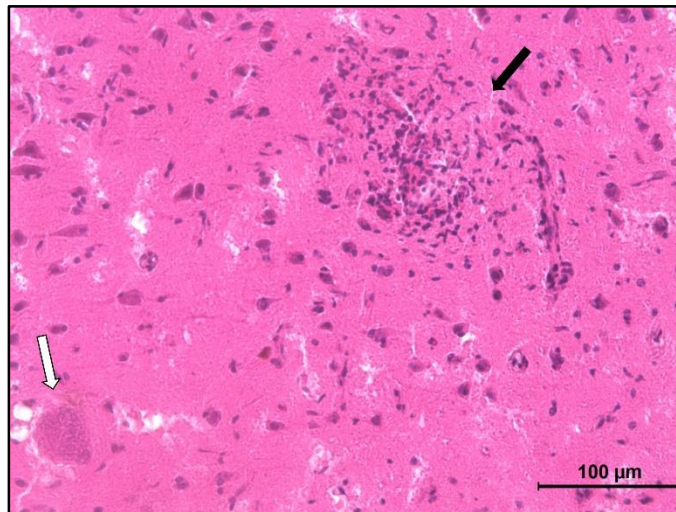


Figura 1 – Toxoplasmose encefálica em *Didelphis albiventris*. A direita do campo nota-se nódulo glial (gliose - seta preta) e um cisto esférico parasitário no neurópilo (seta branca) [H&E, Obj. 10x].

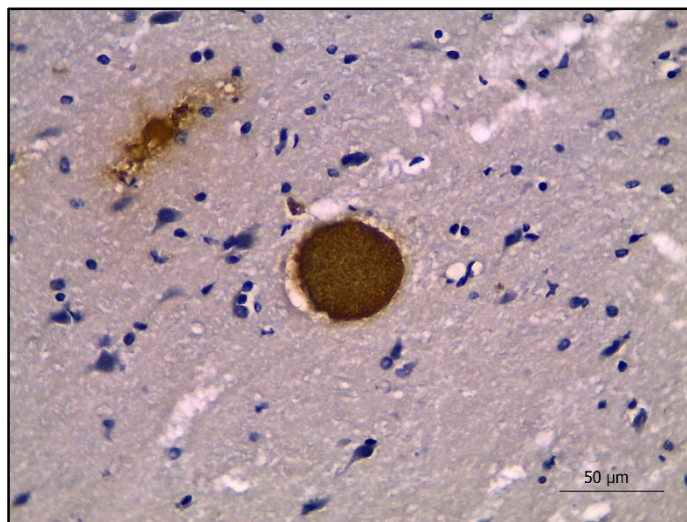


Figura 2 – Toxoplasmose encefálica em *Didelphis albiventris*. Nota-se forte imunomarcção anti-*Toxoplasma gondii* na parede e em bradizoítos no neurópilo. [Estreptavidina-biotina-peroxidase, DAB. Obj. 40x].

10 CONCLUSÕES

1. As principais causas de morte em *D. albiventris* no Distrito Federal entre 2010 e 2020 são politraumatismos contusos, infecções bacterianas sistêmicas secundárias. A mais frequente causa de morte de filhotes é a tríade neonatal, principalmente no período da primavera de setembro a novembro;
2. Os animais mais afetados são resgatados em residências e vias públicas e, portanto, atropelamentos e ataques por animais domésticos são considerados os principais causadores de traumatismos;
3. Os gambás-de-orelha-branca são susceptíveis a toxoplasmose, incluindo a forma encefálica, e, portanto, são mantenedores de *Toxoplasma gondii* na natureza e podem atuar no ciclo do mesmo;
4. Infecções parasitárias por *Physalopera* spp., *Cruzia tentaculata*, *Thricuris* spp., *Sarcocystis* spp. são comumente encontradas na rotina de necropsia, porém são de pouco significado clínico e quase nunca são letais a esses animais;
5. O estudo anatopatológico de *D. albiventris* é essencial para a preservação da espécie e monitoramento de doenças de potencial zoonótico.