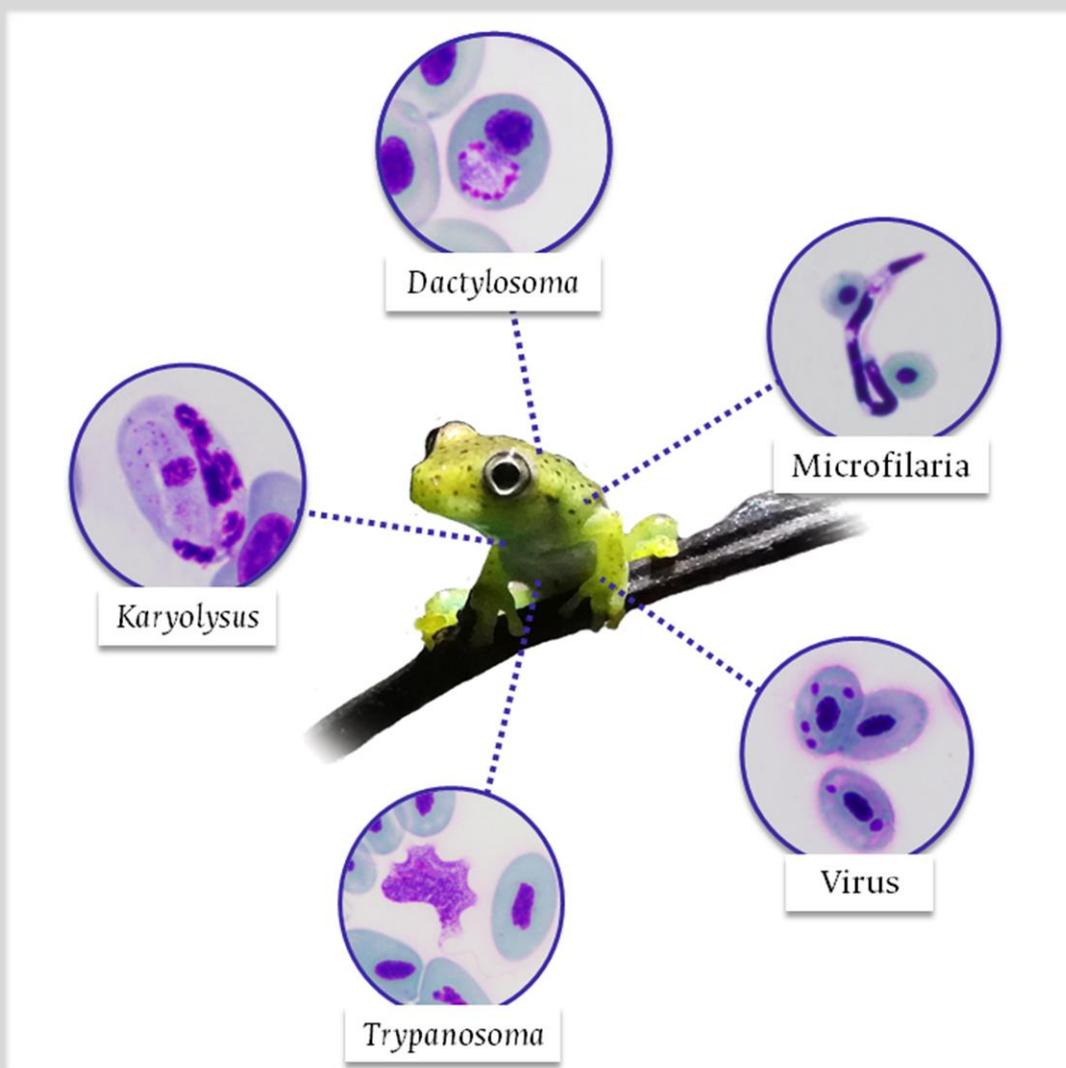


MARILUCE GONÇALVES FONSECA & ALFONSO MARZAL REYNOLDS
(ORGANIZADORES)

PARASITAS SANGUÍNEOS DE ANFÍBIOS



TERESINA – PIAUÍ

2021

MARILUCE GONÇALVES FONSECA & ALFONSO MARZAL REYNOLDS
(ORGANIZADORES)

PARASITAS SANGUÍNEOS DE ANFÍBIOS

AUTORES

JAIME MURIEL, MANUEL GONZÁLEZ-BLÁZQUEZ, NUBIA ESTELA MATTA CAHACHO, CAROLINA

MARÍA VARGAS-LEÓN & ALFONSO MARZAL REYNOLDS



TERESINA – PIAUÍ

2021



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Reitor

Gildásio Guedes Fernandes

Vice-Reitora

Viriato Campelo

Superintendente de Comunicação Social

Fenelon Martins da Rocha Neto

Editor

Cleber de Deus Pereira da Silva

EDUFPI - Conselho Editorial

Cleber de Deus Pereira da Silva (presidente)

Cleber Ranieri Ribas de Almeida

Gustavo Fortes Said

Nelson Juliano Cardoso Matos

Nelson Nery Costa

Viriato Campelo

Wilson Seraine da Silva Filho



Editora da Universidade Federal do Piauí - EDUFPI

Campus Universitário Ministro Petrônio Portella

CEP: 64049-550 - Bairro Ininga - Teresina - PI - Brasil

Todos os Direitos Reservados

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Campus Senador Helvídeo Nunes de Barros
Biblioteca Setorial José Albano de Macêdo
Serviço de Processamento Técnico

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P223 Parasitas sanguíneos de anfíbios / organizadores, Mariluce Gonçalves Fonseca; Alfonso Marzal Reynolds. – Teresina,PI: EDUFPI, 2021.

77 f. : il.

E-book.

ISBN 978-65-5904-067-4

1. Anfíbios. 2. Hemosporídeos. 3. Piauí. I. Muriel, Jaime. II. González-Blázquez, Manuel. III. Cahacho, Nubia Estela Matta. IV. Vargas-León, Carolina Maria. V. Título.

CDD 597.6

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa CRB 3/1163

APRESENTAÇÃO

Neste livro nós apresentamos a diversidade e os tipos de hemoparasitas de anfíbios, um breve histórico da descoberta dos parasitas sanguíneos, os vetores de parasitas sanguíneos, a patogenicidade de hemoparasitas, discutimos a conexão entre os parasitas sanguíneos, mudanças globais e declínios populacionais de anfíbios, e concluímos com recomendações sobre o direcionamento de futuros estudos com anfíbios e seus respectivos parasitas sanguíneos.

Este é o primeiro eBook, em português, que abrange de forma ampla esta temática no Brasil. As informações são apresentadas de forma simples e com uma linguagem acessível, mas ao mesmo tempo com informações robustas e aprofundadas. Assim, esperamos que este livro - resultado da parceria entre vários pesquisadores do Brasil, Espanha e Colômbia, possa preencher uma lacuna no conhecimento sobre a diversidade de hemoparasitas de anfíbios, e que possa ser útil para aqueles que pretendem iniciar os estudos nesta área e para especialistas nas mais diferentes áreas da Biologia, Patologia e Medicina Veterinária.

Uma boa leitura a todos!

Mariluce Gonçalves Fonseca & Alfonso Marzal Reynolds

(Organizadores)

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO..... | 7 |
| HISTÓRIA DA DESCOBERTA DOS PARASITAS SANGUÍNEOS EM ANFÍBIOS..... | 10 |
| DIVERSIDADE DE HEMOPARASITAS..... | 15 |
| TIPOS DE HEMOPARASITAS..... | 17 |
| VETORES DE PARASITAS SANGUÍNEOS | 36 |
| PATOGENICIDADE DE HEMOPARASITAS | 43 |
| PARASITAS SANGUÍNEOS, MUDANÇAS GLOBAIS E DECLÍNIOS POPULACIONAIS..... | 50 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS E DIRECIONAMENTOS FUTUROS..... | 54 |
| AGRADECIMENTOS..... | 55 |
| ORGANIZADORES..... | 56 |
| REFERÊNCIAS..... | 57 |

PARASITAS SANGUÍNEOS DE ANFÍBIOS

Jaime Muriel¹, Manuel González-Blázquez¹, Nubia Estela Matta Cahacho², Carolina María Vargas-León² & Alfonso Marzal Reynolds¹

¹Departamento de Anatomia, Biología Celular e Zoología. Universidade de Extremadura, Badajoz, Espanha.

²Departamento de Biología, Faculdade de Ciências, Universidade Nacional da Colômbia, Bogotá, Colômbia.

INTRODUÇÃO

Entre todos os vertebrados, as espécies pertencentes à Classe Amphibia são as únicas que ainda estão intimamente ligadas a ambos os habitats terrestre e aquático, os quais são essenciais à sobrevivência e reprodução desses animais. Por esse motivo, essas espécies possuem uma estratégia de vida dupla, na qual podem viver na terra e na água de forma alternada, embora, excepcionalmente, algumas espécies habitem apenas a terra e outras apenas o ambiente aquático. A subclasse Lissamphibia contém todos os espécimes vivos, os quais estão agrupados em três ordens modernas: Anura ou Salientia - o grupo dos sapos, rãs e pererecas; Urodela ou Caudata - grupo dos tritões e salamandras; e Gymnophiona ou Apoda - grupo das cecílias, ou anfíbios sem membros, que são animais tropicais menos conhecidos (Frost *et al.*, 2006; Carroll, 2009).

Apesar de todos os anfíbios serem ectotérmicos e a maioria passar por metamorfose (com a exceção de algumas salamandras, como as axolotes), existem grandes diferenças entre os grupos em termos de caracteres ontogenéticos e de história de vida que fazem com que esses animais tenham a maior diversidade de estratégias reprodutivas entre todos os vertebrados tetrápodes (Fox, 1984; Haddad & Prado, 2005).

Geralmente, quando o período larval termina e os animais deixam o ambiente aquático, graças ao desenvolvimento dos membros e da respiração pulmonar, os indivíduos são expostos a novas ameaças como flutuações climáticas, diferentes predadores e doenças transmitidas por vetores. A pele dos anfíbios é fina e altamente vascularizada, o que permite que haja trocas gasosas através dela. Dessa forma, além da respiração aérea através dos pulmões, os anfíbios utilizam sua pele úmida como uma superfície respiratória secundária. Entretanto, devido à alta vascularização da pele e à proximidade a habitats aquáticos, que são idôneos para a reprodução de vetores, os anfíbios são altamente suscetíveis a uma ampla gama de vetores hematófagos (como sanguessugas e dípteros hematófagos) que transmitem uma grande variedade de hemoparasitas. Além disso, as larvas de insetos infectados podem sobreviver e penetrar mais facilmente quando depositadas sobre a pele úmida dos anfíbios do que sobre a pele seca de outros animais, como no caso da transmissão de filariose (Causey, 1939).

Os anfíbios são o grupo de animais vertebrados mais ameaçados (Stuart *et al.*, 2004), sendo que as doenças e infecções são os principais fatores que causam declínios em larga escala na diversidade de espécies, junto também à perda de habitat, à poluição e às mudanças climáticas (Beebee & Griffiths, 2005). Estes animais são conhecidos por hospedar uma grande diversidade de parasitas (Mitchell, 2007) que afetam a história de vida e a aptidão do hospedeiro (revisado por Møller *et al.*, 1990).

No contexto da conservação de anfíbios, a quitridiomiose é uma das doenças mais conhecidas e a mais letal (Readel & Goldberg, 2010); porém, os anfíbios podem hospedar outros tantos parasitas que podem comprometer sua sobrevivência. Nesse sentido, já foram descritos hemoparasitas intraeritrocíticos e extracelulares que vão desde protozoários (Davies & Johnston, 2000; Acosta *et al.*, 2013) a nematoides (Baker, 2008; D’Bastiani *et al.*, 2018), bem como parasitas intracelulares menos conhecidos que podem causar infecções bacterianas ou virais (Davies & Johnston, 2000; Davis *et al.*, 2009).

Portanto, o estudo e o conhecimento sobre esses parasitas sanguíneos são cruciais, pois podem contribuir para o sucesso das medidas de conservação dos anfíbios, e também porque a transmissão de doenças transmitidas por vetores pode estar relacionada a outros fatores-chave, como as mudanças climáticas e às práticas locais de uso da terra (Patz & Olson, 2006; Olson *et al.*, 2010). Nas próximas páginas nós iremos discutir um pouco mais sobre cada um destes aspectos (biologia e diversidade de parasitas, impacto sobre as espécies hospedeiras, conservação e recomendações sobre o direcionamento de futuros estudos).

HISTÓRIA DA DESCOBERTA DOS PARASITAS SANGUÍNEOS EM ANFÍBIOS

Ao longo dos séculos 16 e 17, investigadores ilustres, como Athanasius Kircher, Robert Hooke e Marcello Malpighi fizeram grandes avanços no mundo microscópico (Croft, 2006). No entanto, foi Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723) que entrou para os livros como o pai da microbiologia por suas observações extraordinárias do mundo microbiano através de microscópios simples que ele mesmo produziu, tornando-se assim, a primeira pessoa a ver e descrever bactérias. Tomando os avanços de Hooke como referência, Anthony van Leeuwenhoek construiu um microscópio com um poder muito maior de ampliação. Assim, com o desenvolvimento do microscópio óptico, ele conseguiu observar de perto microrganismos, sangue, penas, pólvora, cabelos, insetos, minerais, fibras musculares, peixes, esperma e estruturas de plantas.

A história do nosso conhecimento atual sobre protozoários que vivem no sangue está intimamente ligada à descoberta desses organismos em vertebrados ectotérmicos (Jakowska & Nigrelli, 1956) e à evolução do próprio microscópio. Nos últimos cinquenta anos, diversos estudos têm reportado a ampla distribuição de parasitas sanguíneos que utilizam anfíbios como hospedeiros (Bardsley & Harmsen, 1973; Levine & Nye, 1977; Barta & Desser, 1984; Davies & Johnston, 2000; Acosta *et al.*, 2013). Entretanto, temos que voltar à metade do século 19 quando Gluge (1842) e Gruby (1843) descobriram tripanossomas no sangue de anuros, aos quais o último autor estabeleceu o gênero *Trypanosoma*. David Gruby, considerado o fundador da microbiologia médica, chamou a espécie de *Trypanosoma sanguinis*, porque o movimento do organismo o lembrava a ação de um saca-rolhas (Gruby, 1843). A estrutura desses organismos era bem semelhante à de um parasita que foi nomeado meses antes por Mayer como *Amoeba rotatoria*, de forma que um novo nome válido foi estabelecido para a espécie-tipo

(*Trypanosoma rotatorium*) desse gênero (Mayer, 1843). Trinta anos depois, o mesmo flagelado foi indevidamente denominado *Undulina ranarum* por Lankester, por se tratar de um protozoário com uma membrana ondulante (Lankester, 1871), aparentemente por desconhecimento dos trabalhos de seus antecessores (Bardsley & Harmsen, 1973).

Os primeiros parasitas intraeritrocíticos registrados, *Lankesterella minima* (Chaussat, 1850; Nöller, 1912) e *Dactylosoma ranarum* (Lankester, 1882; Wenyon, 1926), foram posteriormente observados no sangue de *Pelophylax lessonae*. Chaussat observou um pequeno e não pigmentado parasita de hemácias e o chamou de *Anguillula minima*. No entanto, Lankester redescobriu esse minúsculo parasita em 1871 e o nomeou *Drepanidium ranarum*, classificando-o como um protozoário parasita intracorpúscular. Em 1882, Lankester o agrupou junto aos Sporozoa, onde ele permanece sob o nome de *Lankesterella* junto a outras hemogregarinas. Esse gênero *Lankesterella* foi criado posteriormente para *Anguillula mínima* por Labbe em 1899, utilizando o nome do descobridor desse organismo. Nöller (1912) descreveu os estágios merogônicos e esporogônicos de *Lankesterella minima* a partir de tecidos de *Pelophylax lessonae*. Posteriormente, ele descreveu a meronogia, a gametogonia e a esporogonia dentro de células endoteliais de vários órgãos. Nöller encontrou esporozoítos apenas em eritrócitos do epitélio intestinal de sanguessugas *Hemiclepsis marginata*, sugerindo que essa espécie agia como um vetor passivo de *L. minima* (Nöller, 1920).

Dentro do filo Apicomplexa, menos atenção foi dada à família Dactylosomatidae, apesar do longo período decorrido desde seu descobrimento. *Dactylosoma* é um gênero de protozoários sanguíneos descritos por Labbé em 1894, que sofrem esquizogonia sem produzir pigmento nas hemácias de vertebrados inferiores. Esses parasitas intraeritrocíticos de vertebrados ectotérmicos foram descritos pela primeira vez em anfíbios no final do século 19. A observação de *Dactylosoma ranarum* (Lankester, 1882; Wenyon, 1926) por Lankester em 1871 gerou considerável entusiasmo acadêmico (Levine, 1971). A família Dactylosomatidae

foi estabelecida para reconhecer este grupo de “Babesioidea em eritrócitos de vertebrados ectotérmicos, nos quais 4 a 16 merozoítos são produzidos” (Jakowska & Nigrelli, 1955). Os membros dos gêneros *Babesiosoma* e *Dactylosoma* (família Dactylosomatidae Jakowska & Nigrelli, 1955) são parasitas de distribuição cosmopolita que infectam eritrócitos de uma ampla gama de vertebrados aquáticos poiquilotérmicos, cujos hospedeiros e vetores definitivos são, provavelmente, hirudíneos rincobdelídeos (Barta, 1991).

Langmann (1899) foi o primeiro a documentar hemogregarinas em anfíbios, mas apenas em 1903 Sttebins descreveu *Haemogregarina catesbeiana* no sangue de *Lithobates catesbeianus* (Anura, Ranidae). Ao observar oocistos multisporeocísticos no mosquito *Culex territans*, Desser e colaboradores (1995) alteraram o nome desse parasita para *Hepatozoon catesbiana*. Por outro lado, o gênero *Haemoproteus* (Haemosporida: Haemoproteidae) é outro parasita intraeritrocítico, o qual foi descoberto em aves no final do século 19 (Danilovsky, 1889; Kruse, 1890), sendo detectado em anfíbios apenas em 1942 por Fantham e colaboradores. Estes autores descreveram três espécies de *Haemoproteus* (*H. laurentae*, *H. lavalia* e *H. lanoraila*) em *Anaxyrus americanus* de diferentes localidades do leste do Canadá. Levine & Campbell (1971) listaram essas espécies do gênero *Haemoproteus* de anfíbios em sua “Lista de verificação de espécies do gênero *Haemoproteus* (Apicomplexa, Plasmodiidae)”.

Protozoários parasitas têm sido comumente encontrados em anfíbios ao longo da história (Barta & Desser, 1984; Chen & Desser, 1989; Jones & Woo, 1989). Entretanto, há poucos registros de parasitas nematoides. Blanchard (1905) observou microfilárias pela primeira vez no sangue de larvas de anuros em Columbia. Posteriormente, em 1910, Leboeuf e Ringenbach descreveram *Microfilaria bufonis* em indivíduos de *Sclerophrys regularis*, no Congo, e, Mathis e Leger registraram, em 1911, outra microfilária, *Microfilaria* sp., no sangue de *Hoplobatrachus tigerinus* e *F. limnocharis* no Vietnã (Bain & Prod'hon, 1974). O primeiro registro de parasitas nematoides de anfíbios argentinos foi feito por Mazza & Franke (1927),

que encontraram *Microfilaria tamborinii* no sangue de *Leptodactylus latrans*. Mais tarde, a primeira ocorrência registrada de uma espécie de microfilária de qualquer espécie do gênero *Foleyella* em qualquer anfíbio foi proporcionada pela descoberta de vários exemplares de ambos os sexos de microfilárias (*Foleyella ranae*) encistadas nos mesentérios de um indivíduo de *Lithobates catesbeianus* da Louisiana (Walton, 1929). Fêmeas de *Foleyella americana* foram obtidas de cistos presentes nos mesentérios de espécimes de *Lithobates pipiens* coletados em Illinois (Walton, 1929). Anos depois, Barta & Dessler (1984) registraram microfilárias de *Foleyella* sp. (renomeadas como *Waltonella* sp. [Bain & Prod'hon, 1974]) no sangue de anuros. Como o gênero *Foleyella* ocorria tanto em espécies de anfíbios como de répteis, Caballero (1935) criou o gênero *Foleyellides* para excluir os helmintos de *Foleyella*. Posteriormente, *Foleyellides* e *Foleyella* foram considerados sinônimos (Witenberg & Gerichter, 1944), e o gênero *Foleyella* Seurat 1917 foi dividido em dois subgêneros morfológicamente distintos, *Poleyella* e *Waltonia*, encontrados em répteis e anfíbios, respectivamente (Schacher & Crans, 1973).

A partir do final do século 19, o poder de ampliação e a qualidade da imagem do microscópio composto melhoraram consideravelmente devido à descoberta e ao uso de novos conjuntos de lentes, que possibilitaram eliminar ou minimizar tanto aberrações cromáticas como ópticas (Croft, 2006). Nessa época também foram desenvolvidas importantes ferramentas moleculares, como os protocolos de PCR baseados na amplificação e sequenciamento de um fragmento do gene de citocromo-b de parasitas. Devidos aos avanços na análise da microscopia óptica e às ferramentas moleculares, a detecção e a identificação de parasitas sanguíneos foi bastante otimizada, levando a um aumento exponencial do conhecimento sobre a diversidade desses organismos (Žičkus, 2002; Maia *et al.*, 2014).

Alguns parasitas ocorrem com baixa prevalência ou valores de parasitemia, de forma que esforços inadequados de amostragem também podem fazer com que os valores de diversidade

sejam subestimados (Poulin & Morand, 2000). Nesse sentido, os estudos moleculares atuais têm mostrado que a microscopia é uma técnica significativamente menos sensível que os métodos baseados em PCR para determinar a prevalência de infecções por parasitas sanguíneos em espécies de vertebrados (Richards *et al.*, 2002; Durrant *et al.*, 2006). Esses estudos questionaram a confiabilidade de trabalhos baseados no exame microscópico de esfregaços de sangue. Entretanto, Valkiūnas e colaboradores (2008) mostraram que tanto os exames microscópicos de esfregaços de sangue corado como os diagnósticos baseados em PCR podem ser métodos confiáveis desde que os esfregaços de sangue sejam de boa qualidade e examinados apropriadamente por pesquisadores qualificados. A microscopia óptica pode, ainda, fornecer informações relevantes sobre o status de saúde dos anfíbios, uma vez que é possível calcular a intensidade da infecção de diferentes hemoparasitas. Além disso, através dela é possível obter valiosas informações hematológicas sobre a morfologia e a morfometria de células sanguíneas e ainda a contagem diferencial de leucócitos (Campbell & Ellis, 2007; Omonona & Ekpenko, 2011; Cabagna-Zenklusen *et al.*, 2014). Entretanto, deve-se notar que outros estudos têm validado diferentes métodos de detecção e quantificação de hemoparasitas por ensaios de qPCR (Maia *et al.*, 2014). Esses estudos também têm validado métodos de avaliação das respostas imunológicas em anfíbios hospedeiros através ensaios de edema cutâneo de fitohemaglutinina (Brown *et al.*, 2011) ou por meio de citometria de fluxo com um corante lipofílico fluorescente (3,3' Dipentiloxacarbocianina) (Burraco *et al.*, 2017).

DIVERSIDADE DE HEMOPARASITAS

Anfíbios são um grupo de animais vertebrados amplamente distribuídos, o que cria um nicho favorável para uma grande diversidade de hemoparasitas em diferentes partes do mundo (Schmid-Hempel, 2011). Muitos estudos dão suporte a essa ideia. Por exemplo, um estudo sobre a diversidade de parasitas sanguíneos em anfíbios de Ontário (Canadá) determinou a presença diferencial de espécies de *Trypanosoma*, *Haemogregarina*, *Lankesterella*, *Babesiasoma* e *Thrombocytozoons*, bem como de duas espécies de microfilárias (provavelmente *Foleyella* spp.) e ainda de duas formas intraeritrocíticas (vírus e organismos de *Rickettsia*) em seis espécies de anuros (Barta & Desser, 1984). Outro estudo feito com anuros na África do Sul determinou a presença de parasitas intraeritrocíticos, sendo que 15 das 29 espécies de anuros estudadas estavam infectadas com hemoparasitas. Entre os parasitas foram encontrados *Hepatozoon*, *Dactylosoma* e organismos virais ou bacterianos, bem como parasitas extracelulares que incluem tripanossomas e nematoides microfilarídeos (Netherlands *et al.*, 2015). Desser (2001) conduziu um estudo descritivo da fauna de hematozoários em sete espécies de anuros na Costa Rica (*Trachycephalus typhonius*, *Lithobates forreri*, *Lithobates vaillanti*, *Eleutherodactylus fitzingeri*, *Smilisca baudinii*, *Leptodactylus melanonotus* e *Rhinella marina*). Os resultados dele incluíram vírus icosaédricos intraeritrocíticos e intraleucocíticos, *Rickettsia* (*Aegyptianella* sp.), *Lankesterella minima*, duas espécies de *Hepatozoon*, duas espécies desconhecidas de Apicomplexa, nove tipos distintos de tripanossomas e duas espécies de microfilária. *Lithobates vaillanti*, que é uma espécie de anuro aquático, apresentou a maior diversidade de espécies parasitas. Da mesma forma, Guerrero & Ayala (1977) conduziram um estudo na Floresta Amazônica do Peru e encontraram infecções por tripanossomas, hemogregarinas e microfilárias em *Ameerega trivittata*. Considerando a ampla distribuição de anuros pelo mundo, outros exemplos trazem mais alguns dados sobre tripanossomas que infectam anuros no Canadá (Boulianne *et al.*, 2007), Brasil (Lemos *et al.*, 2008), Argentina

(Cabagna-Zenklusen *et al.*, 2009), Nigéria (Omonona & Ekpenko, 2011), Lituânia (Žičkus, 2002), Panamá (Bernal & Pinto, 2016) e Irã (Rajabi *et al.*, 2017).

De forma contrária, a diversidade de hemoparasitas que infectam urodelos e cecílias é bem menor, talvez devido à biologia desses animais ou simplesmente porque eles têm sido pouco estudados. Existem alguns casos registrados de infecções sanguíneas em salamandras por tripanossomas (Reichenbach-Klinke & Elkan, 1965; Clark *et al.*, 1969), assim como por *Haemogregarina* ou *Pirhemocytion* (Dasgupta *et al.*, 1996) e bactérias *Rickettsia* (Davis & Cecala, 2010). A ordem de anfíbios Gymnophiona, ou cecílias, têm recebido menos atenção, e pouquíssimos casos de parasitas sanguíneos têm sido descritos. Por exemplo, uma espécie do gênero *Hepatozoon* foi descrita no sangue de cecílias da ilha de Silhouette, nas Seychelles (Harris *et al.*, 2014).

Em geral, hemoparasitas intraeritrocíticos registrados em anfíbios compreendem *Haemogregarina*, *Plasmodium*, *Aegyptianella*, *Haemoproteus* e *Lankesterella* (Reichenbach-Klinke & Elkan, 1965; Barta & Desser, 1984; Readell & Goldberg, 2010; Campbell & Ellis, 2007). *Haemogregarina* spp. e *Aegyptianella* spp. são organismos intraeritrocíticos comuns e considerados de baixa patogenicidade; no entanto, eles podem causar anemia em alguns animais, de forma que a taxa de eritrócitos afetados pode implicar no prognóstico (Wright, 2001; Campbell & Ellis, 2007). Além disso, outros parasitas intracelulares de identidade incerta, como os que causam infecções virais e bacterianas, têm sido detectados (Davies & Johnston, 2000; Davis *et al.*, 2009; Davis & Cecala, 2010). Parasitas sanguíneos extracelulares encontrados em anfíbios incluem tripanossomas e nematoides filariais. No entanto, a importância clínica desses organismos ainda não é conhecida (Campbell & Ellis, 2007; Readell & Goldberg, 2010). Por sua vez, nematoides da ordem Filarioidea podem ser encontrados tanto na corrente sanguínea quanto no sistema linfático de anfíbios (Reichenbach-Klinke & Elkan, 1965; Cabagna-Zenklusen *et al.*, 2011).

TIPOS DE HEMOPARASITAS

MICROFILÁRIA

Os nematoides sanguíneos, ou filárias, consistem num grupo de nematoides que podem ocorrer na corrente sanguínea, no tecido conjuntivo ou nas cavidades serosas de anfíbios adultos expostos a vetores na natureza (Anderson, 2000). A microfilária é um estágio inicial do ciclo de vida de parasitas nematoides que pertencem à família Onchocercidae (Anderson, 2000). A morfologia desses organismos consiste em uma faringe cilíndrica com uma porção muscular anterior e uma porção glandular posterior; os machos possuem asas caudais bem desenvolvidas e caudas em espiral (Smyth & Wakelin, 1994). As fêmeas sexualmente maduras desses vermes liberam microfilárias na corrente sanguínea do vertebrado hospedeiro, as quais correspondem aos estágios pré-larvais (D’Bastiani *et al.*, 2018). Essas formas podem ser observadas no sangue periférico, como é mostrado na Figura 1.

Como a completa identificação desses organismos até o nível de espécie requer o estudo dos adultos e a determinação molecular ainda não é comum, normalmente as infecções são registradas apenas como microfilárias. Esses nematoides requerem hospedeiros intermediários (vetores artrópodes hematófagos) para completar seus ciclos de vida. Quando ingeridos por vetores adequados (como mosquitos ou moscas; Blaxter, 2003), as microfilárias se desenvolvem em larvas infectantes que são inoculadas ou depositadas na pele do próximo hospedeiro durante a picada do inseto (Anderson, 2000). Vetores de microfilárias, que potencialmente incluem os mosquitos *Culex* e *Aedes* (Causey, 1939), podem ser mais abundantes em habitats desmatados (McKenzie, 2007), onde os hospedeiros anuros podem ter altas densidades de microfilárias (McKenzie & Starks, 2008). Outras espécies filarioides podem ser transmitidas por picadas de mosquitos (Diptera: Ceratopogonidae) (Desportes, 1942). Fêmeas de nematoides filariais, como *Foleyellides striatus*, ovipositam microfilárias larvais na

corrente sanguínea de *Lithobates vaillanti*, e dessa forma, as larvas podem viver nas cavidades do corpo desse anuro.

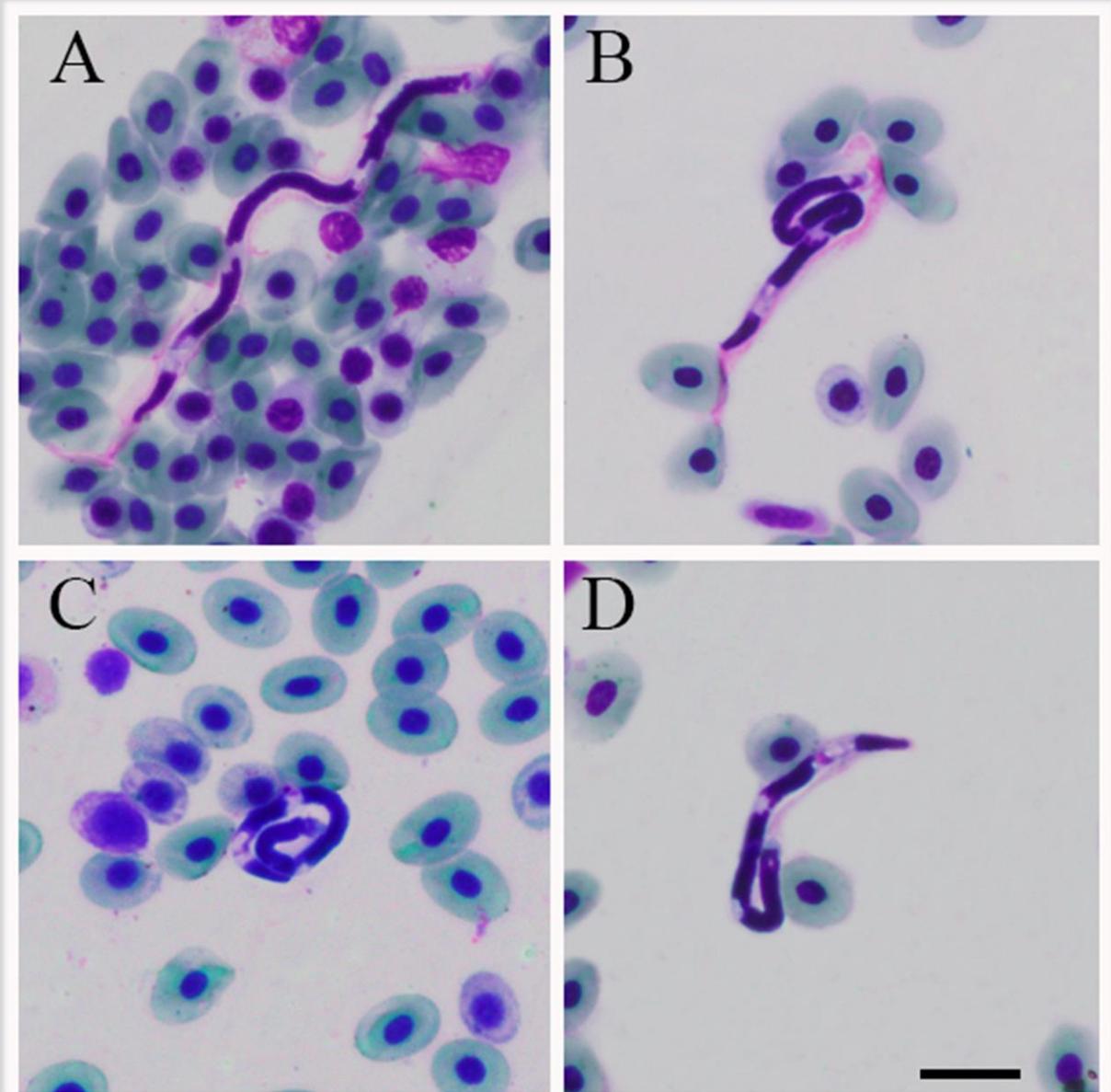


Figura 1. (A-D) Microfilária observada em *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758). O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN* sob o código UNAL:GERPH:MEH062. Bar = 20 μ m. *Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

Análises moleculares da filogenia de nematoides baseadas em sequências de DNA dos ribossomos dão suporte à monofilia desse filo, o qual é dividido em cinco grandes clados (Dorylaimia, Enoplia, Spurina, Tylenchina e Rhabditina). Cada um desses clados contém espécies parasitas (Blaxter *et al.*, 1998), sendo que os nematoides filariais pertencem a Spurina. De acordo com essas análises filogenéticas moleculares, diversas transições independentes nos modos de vida livre para os parasitários ocorreram ao longo da diversificação evolutiva dos nematoides (Dorris *et al.*, 2002; Blaxter, 2011). Apesar dos relatos de nematoides filariais em anfíbios serem pouco frequentes, há registros de que eles podem parasitar uma ampla gama de hospedeiros (principalmente anuros), tendo assim uma distribuição cosmopolita. Dentro do gênero *Foleyellides*, espécies como *F. striatus* foram descritas em *Lithobates montezumae* e *L. berlandieri* no México (Ochoterena & Caballero, 1932; Caballero, 1935), *F. ranae* em *L. catesbeianus* na Louisiana (Walton, 1929), *F. duboisi* em *Pelophylax ridibundus* no norte da Palestina (Witenberg & Gerichter, 1944) e *F. confusa* em *Fejervarya vittigera* nas Filipinas (Schmidt & Kuntz, 1969). Outros exemplos de hospedeiros anuros infectados por microfilárias podem ser encontrados na Argentina, como *Leptodactylus* spp. (Schurmans-Stekhovek, 1951) e *Rhinella fernandezae* (Cabagna-Zenklusen *et al.*, 2009, 2011), e no Perú, como *Ameerega trivittata* (Guerrero & Ayala, 1977). Os sinais geralmente são vagos, mas ocasionalmente é possível detectar as espécies de filarídeos cujos adultos ocorrem em sacos linfáticos como os nódulos serpentinos ou as cristas sob a pele (Densmore & Green, 2007).

Membros da subfamília Waltonellinae (Ordem Spirurida – Subordem Spirurina) são parasitas de anuros amplamente distribuídos (Bain & Prod'hon, 1974). Dentro dessa subfamília, os membros do gênero *Waltonella* são parasitas das cavidades do corpo e do mesentério de anuros. Microfilárias, as quais ocorrem no sangue, são embainhadas e se desenvolvem até os estágios infecciosos nos mosquitos culicídeos. Anderson (2000) descreveu as três principais espécies: *W. brachyoptera* (Wehr & Causey, 1939) em *Lithobates sphenoccephalus*, *W.*

flexicauda (Schacher & Crans, 1973) em *Lithobates catesbeianus* e *W. ranae* (Walton, 1929) em *L. catesbeianus* e *L. clamitans*.

TRIPANOSSOMAS

Muitas espécies de tripanossomatídeos do gênero *Trypanosoma* (Euglenozoa: Kinetoplastida) têm sido encontrados parasitando anuros de diversas famílias no Velho Mundo e no Novo Mundo (Bardsley & Harmsen, 1973; Dessler, 2001). Tripomastigotas de *Trypanosoma* sp. (Protozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatidae) têm sido encontrados em esfregaços de sangue de espécimes adultos argentinos de *Leptodactylus macrosternum* e *Trachycephalus typhonius*, com variação no tipo de morfo dependendo da região geográfica (Cabagna-Zenklusen *et al.*, 2009; Dessler, 2001; Cabagna-Zenklusen, 2012). Leal e colaboradores (2009) realizaram um estudo com três famílias de anuros em dois locais no Brasil e encontraram que 20% das amostras testaram positivo para *Trypanosoma* sp. No mesmo país, Lemos e colaboradores (2008) fizeram o primeiro registro de *Trypanosoma chattoni* em um novo hospedeiro - *Leptodactylus fuscus*, e a ocorrência de espécies semelhantes a *Trypanosoma rotatorium* em *Leptodactylus macrosternum*. Normalmente a transmissão desses organismos é feita por vetores hematófagos invertebrados (como mosquitos e sanguessugas). Tripanossomatídeos são um dos dois grupos de cinetoplastídeos que apresentam características como um único flagelo, cinetoplasto (Figura 2), uma bolsa flagelar, corpos basais com três raízes microtubulares e bastonetes paraxiais ou paraflagelares. Além disso, na corrente sanguínea, o tripanossoma sofre replicação assexuada por fissão binária longitudinal (Hoare, 1972; Adl *et al.*, 2012).

Tripanossomas têm sido agrupados dentro da família Trypanosomatidae (ordem Kinetoplastida). Essa família também possui outros membros de gêneros de parasitas de vertebrados como *Leishmania* e *Endotrypanum*, bem como de parasitas de invertebrados, como

Crithidia, *Leptomonas*, entre outros, e um protozoário de vida livre: *Proleptomonas* (Vickerman, 1976). A filogenia de *Trypanosoma*, utilizando marcadores moleculares 18S e GADPH (Hamilton *et al.*, 2007; Viola *et al.*, 2009; Hayes *et al.*, 2014; Papparini *et al.*, 2014), é fortemente influenciada pelo hospedeiro vertebrado. Essa filogenia apresenta alguns clados bem definidos, como o clado basal aquático, definido pelo habitat da espécie hospedeira, dentro do qual se encontra um clado de tripanossomas de anfíbios bem definido e alguns outros de peixes e outros animais aquáticos como o ornitorrinco. Outros clados importantes são o clado *avium* e o clado *corvi*, de tripanossomas de aves, os clados *cruzi* e *brucei*, de mamíferos, e o clado de lagartos. Todos eles estão agrupados num ramo de tripanossomas terrestres, diferente dos tripanossomas aquáticos (Hamilton *et al.*, 2007). Essas topologias também podem ser influenciadas pelo vetor, como no caso dos tripanossomas de clados basais, aquáticos e de lagartos, que são transmitidos por sanguessugas, enquanto os clados derivados terrestres são transmitidos por artrópodes. Os tripanossomas transmitidos por artrópodes também se dividem em dois tipos. O primeiro é o salivar (clado *brucei*), devido ao desenvolvimento de epimastigotas nas glândulas salivares dos insetos para sua inoculação através da alimentação. O segundo é o estereolariano (clados *cruzi*, *lewisi* e *theileri*), devido ao desenvolvimento do parasita ser limitado ao intestino e sua transmissão acontecer através das fezes do inseto (Vickerman, 1976; O'Donoghue, 2017).

Uma análise comparativa dos caracteres fenotípicos e das abordagens filogenéticas tem sugerido a evolução dos tripanossomas a partir de formas aquáticas de vida livre para invertebrados aquáticos (anelídeos e sanguessugas), e finalmente para vertebrados aquáticos (peixes, anfíbios e répteis). Mais tarde, outros grupos se tornariam parasitas em artrópodes hematófagos, sendo transmitidos a hospedeiros reptilianos, aviários e mamíferos. Eles seriam mantidos nesses vertebrados terrestres por transmissão salivar entre moscas vetores e vertebrados gregários ou por penetração cutânea entre insetos e vertebrados em nidificação

(O'Donoghue, 2017). Um estudo recente demonstrou uma alta prevalência de infecções por tripanossomas de mais de um grupo filogenético em anuros. Esse estudo dá respaldo ao cenário plausível de evolução do gênero *Trypanosoma*, no qual um parasita de anuros ancestral transmitido por sanguessugas teria se adaptado aos novos grupos de hospedeiros (peixes e amniotas aquáticos), levando ao surgimento de todos os outros tripanossomas (Spodareva *et al.*, 2018).

Tripanossomas de anuros são altamente pleomórficos (Figura 2). O pleomorfismo visto nesses parasitas é tal, que diferentes estágios de vida de uma única espécie podem se assemelhar a diferentes espécies (Martin *et al.*, 2002). Existem, pelo menos, 70 espécies já nomeadas, mas provavelmente algumas delas são espécies sinônimas (Bardsley & Harmsen, 1973; Lemos *et al.*, 2008). Quatro morfotipos de tripanossomas de anuros já foram observados em diversas espécies de anuros na Colômbia e, em alguns casos, três ou quatro deles podem estar presentes no mesmo esfregaço de sangue (Vargas-León & Matta, 2018; Vargas-León *et al.*, 2019). O primeiro morfotipo é delgado (Figura 2A), bastante semelhante aos tripomastigotas de mamíferos, nos quais estruturas diagnósticas como cinetoplastos, membrana ondulante e flagelo são facilmente observadas. O segundo morfotipo é um tripomastigota atacarrado (Figura 2B), que apresenta características diagnósticas observáveis, mas possuem corpos celulares mais largos que o morfotipo delgado; este morfotipo é semelhante a *Trypanosoma rotatorium*. O terceiro é um morfotipo arredondado (Figura 2C), no qual a membrana ondulante é observável, mas não o flagelo. Finalmente, o outro morfotipo observado é peculiar e geralmente não apresenta nem flagelo nem membrana ondulante, e o cinetoplasto é dificilmente observado, pois se encontra muito próximo ao núcleo ou até sobre ele. Algumas características notáveis deste morfotipo são o seu tamanho colossal e sua forma redonda/oval, que lembra as características do morfotipo de *T. chattoni* (Figura 2D) (Moreno *et al.*, 2015; Gutiérrez *et al.*, 2018; Vargas-León & Matta, 2018; Vargas-León *et al.*, 2019).

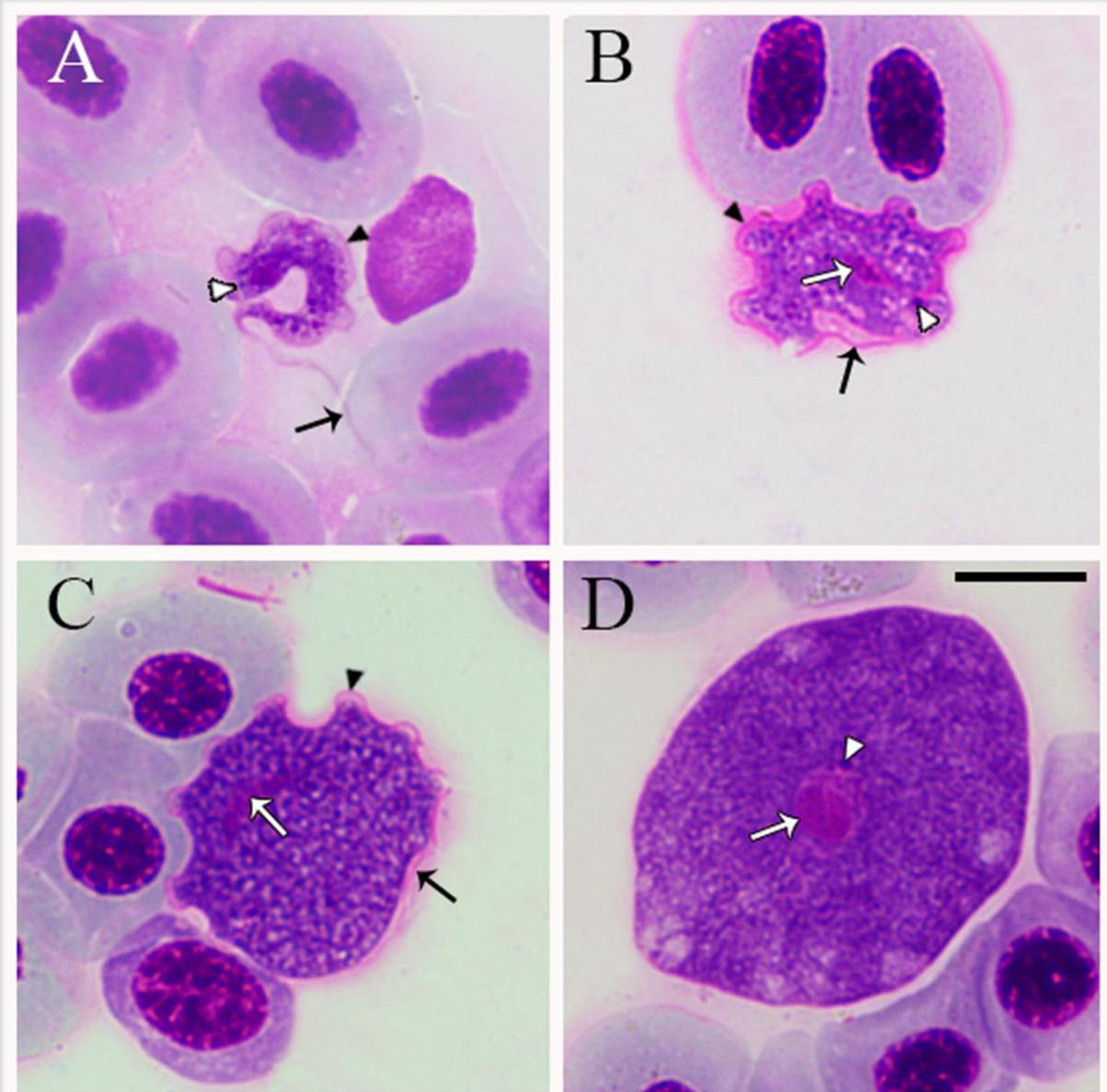


Figura 2. Tripanossomas observados em *Boana maculateralis* (Caminer & Ron, 2014). (A) morfotipo delgado, (B) morfotipo atarracado, (C) morfotipo arredondado e (D) morfotipo semelhante a *T. chattoni*. O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN* sob o código UNAL:GERPH:GU009. Setas brancas: Núcleo. Setas pretas: flagelo. Ponta de seta branca: Cinetoplasto. Ponta de seta preta: Membrana ondulante. Bar = 10 μ m. *Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

APICOMPLEXA

Mais de 4000 espécies de Apicomplexa já foram descritas como parasitas de hospedeiros vertebrados e invertebrados. Para os parasitas de Apicomplexa, os hospedeiros vertebrados são geralmente necessários. Enquanto a genética do processo de recombinação ainda precisa de uma definição definitiva, a formação de gamontes sugere que a divisão meiótica de hemoparasitas apicomplexos teve início em hospedeiros vertebrados. Entretanto, a maturação dos gametas e a subsequente recombinação através da fertilização geralmente ocorre em hospedeiros invertebrados, finalizando o ciclo de vida, por isso esses são considerados os hospedeiros definitivos (O'Donoghue, 2017). Esses parasitas foram agrupados em: Haemogregarina (Adeleorine Coccidia), Haemococcidia (Eimeriine Coccidia), Haemosporidia (hematozoários pleomórficos) e Piroplasmas (Haematozoa piriforme). Com base em características biológicas semelhantes, acredita-se que os hemococcídeos tenham afinidades próximas a outros coccídios (mais próximos a coccídios intestinais monoxenos que coccídios formadores de cistos de tecido heteroxeno). As hemogregarinas são consideradas evolutivamente próximas aos coccídios, enquanto os hemogregarídeos e os piroplasmas são considerados mais distantemente relacionados e de baixa ocorrência em anfíbios (Arisue & Hashimoto, 2015; Morrison *et al.*, 2004; Barta *et al.*, 2012). Apesar de O'Donoghue (2017) ter destacado apenas a presença de hemococídios e hemogregarinas infecciosos em anfíbios, estudos anteriores mostraram hemosporídios infectando células endoteliais dos pulmões de *Anaxyrus americanus* (Fantham *et al.*, 1942, ver acima). Com base no ciclo de vida dos hemosporídeos, é possível assumir que esses hemoparasitas devem completar seus estágios sexuais em vetores hematófagos.

Todos esses parasitas passam por estágios de desenvolvimento intracelular em células sanguíneas de vertebrados. Eles também realizam tanto a reprodução sexuada como a assexuada, envolvendo até três processos de divisão (Lee *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 2000): i)

merogonia assexuada (esquizogonia), ii) formação de gametas e fertilização para recombinação por fusão (singamia) com ou sem alinhamento pareado (sizígia), e iii) esporogonia (formação de esporozoítos infecciosos). Os quatro grupos apicomplexos diferem quanto aos processos de divisão. Hemogregarinas sofrem singamia com sizígia (alinhamento gamonte), os hemococcídeos e hemosporídeos sofrem singamia sem sizígia e os piroplasmas realizam singamia possivelmente com sizígia.

HEMOCOCCÍDEOS

O gênero *Haemococcidia* foi agrupado em duas famílias de eimeriídeos: Lankesterillidae (gêneros *Lankesterella*, *Lainsonia* e *Schellackia*), e Eimeriidae (gênero *Atoxoplasma*, agora considerado como *Isospora*) (O'Donoghue, 2017). O grupo *Haemococcidia* não é considerado uma assembleia natural de organismos, porque eles são divididos entre vários grupos independentes. Muitos estudos discutem que eles são diferentes tipos de coccídeos (formadores ou não de cistos) (Morrison *et al.*, 2004; Barta *et al.*, 2012). Entretanto, mais recentemente, estudos mais abrangentes (Merino *et al.*, 2006; Megía-Palma *et al.*, 2013, 2014) têm mostrado que *Lankesterella* e *Schellackia* (os únicos hemococcídeos que infectam anfíbios) não se agrupam, mas estão intercalados entre os coccídeos monoxênicos entéricos.

A diferença mais importante entre hemococcídeos e os outros parasitas apicomplexos é o desenvolvimento. Isso porque os hemococcídeos não precisam de um invertebrado aquático para completar o ciclo de vida. No caso deles, seus esporozoítos ou merozoítos, sem desenvolvimento completo, podem ser transportados por invertebrados hematófagos (sanguessugas em espécies de *Lankesterella* e mosquitos em espécies de *Schellackia*). Esses estágios são infecciosos para outros vertebrados que se alimentam dos vetores infectados.

Alguns exemplos de parasitas de anfíbios da família Lankesteridae são *Lankesterella bufonis*, que parasita *Sclerophrys regularis* no Egito (Mansour & Mohammed, 1962),

Lankesterella poeppigii, que parasita *Rhinella poeppigii* no Peru (Paperna *et al.*, 2009) e *Lankesterella petiti*, que infecta *Rhinella marina* no Brasil (Lainson & Paperna, 1995). Por sua vez, *Schellackia balli* possui registro de infecção em *Rhinella marina* na Guiana Francesa (Le Bail & Landau, 1974) e *Schellackia* sp. em *Trachycephalus venulosus* no norte do Brasil (Paperna & Lainson, 1995).

HEMOGREGARINAS

Cerca de 400 espécies de parasitas hemogregarinas já foram registradas, principalmente em células sanguíneas de vertebrados e em vários vetores invertebrados hematófagos (O'Donoghue, 2017). A maior diversidade de hemogregarinas foi descrita para répteis, mas algumas outras espécies também infectam peixes, anfíbios, aves e mamíferos. Todas as hemogregarinas utilizam esses hospedeiros vertebrados intermediários para realizar a merogonia cíclica (frequentemente formando macro em vez de micromerozoítos) em tecidos e gamontes em hemácias. Em contraste aos requerimentos do ciclo de vida dos hemococcídeos, as hemogregarinas necessitam de um vetor invertebrado (sanguessugas, ácaros e dípteros) para completar seu desenvolvimento (Lee *et al.*, 1985, 2000).

Hemogregarinas são os apicomplexos mais registrados de hemoparasitas de anfíbios (Netherlands *et al.*, 2014). Por exemplo, em um estudo com três famílias de anuros do Brasil, Leal e colaboradores (2009) encontraram que 10% das amostras eram positivas para hemogregarinas. Resultados semelhantes foram encontrados por Rajabi e colaboradores (2017) em indivíduos de *Pelophylax ridibundus* no Irã, onde eles detectaram *Hepatozoon magna* como a única espécie de *Haemogregarina* nos anuros examinados, com uma taxa de prevalência ao redor de 10%. Numerosas espécies foram descritas com base na ocorrência nos hospedeiros, mas pouco é conhecido sobre a real especificidade desses parasitas nestes hospedeiros. Entretanto, tem havido uma grande aceitação da classificação recente das hemogregarinas nas

famílias: Haemogregarinidae, Hepatozoidae, Karyolysidae, Dactylosomatidae, Legerellidae, Klosiellidae e Adeleidae (Adl *et al.*, 2012, 2019).

Três gêneros pertencem à família Haemogregarinidae: *Cyrtia* (4 espécies) e *Desseria* (40 espécies), as quais infectam peixes; e *Haemogregarina* (46 espécies), cujos indivíduos parasitam quelônios. Muitos membros da família Haemogregarinidae podem utilizar sanguessugas como vetores invertebrados (Siddall & Desser, 1991). *Hepatozoon* é o único gênero da família Hepatozoidae (Figura 3). Esse gênero é o que tem maior distribuição e número de espécies (cerca de 300 espécies), utilizando sanguessugas e artrópodes para infectar mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Em contraste, a família Karyolysidae apresenta menos de dez espécies nos gêneros *Karyolysus* (5 espécies), os quais utilizam ácaros como hospedeiros invertebrados para infectar lagartos e anfíbios, e *Hemolivia* (4 espécies), comumente encontradas parasitando lagartos, quelônios e anuros pela ingestão de carrapatos em sua alimentação (Lainson *et al.*, 2007). Dactylosomatidae contém os gêneros *Dactylosoma* (10 espécies que infectam camaleões, anuros e teleósteos) e *Babesiosoma* (7 espécies que parasitam anuros e peixes). Algumas características dos gêneros de hemogregarinas serão apresentadas abaixo.

Hepatozoon (Miller, 1908) é o gênero de parasitas presente em uma ampla variedade de vertebrados terrestres (Smith, 1996) e é transmitido por artrópodes hematófagos (Smith, 1996). O ciclo de vida dos organismos desse gênero envolve mais que um hospedeiro vertebrado no caminho presa-predador como anfíbios, serpentes e roedores (Telford, 2009). Esses parasitas têm sido amplamente registrados em anuros e caudatas, e recentemente, em gymnophionas (Harris *et al.*, 2014). No hospedeiro, esse gênero se caracteriza pela presença de gamontes intraeritrocíticos ou eventualmente gamontes intraleucocíticos (Figuras 3A-3C). Raramente alguns gamontes podem ser vistos fora da célula hospedeira (Figura 3D) e a merogonia ocorre nas células endoteliais vasculares (Netherlands *et al.*, 2014). No entanto, essas características

não são suficientes para definir um parasita no gênero *Hepatozoon*. Para isso é necessário conhecer um pouco mais sobre o desenvolvimento do seu ciclo de vida nos vetores. Ainda, as espécies de *Hepatozoon* possuem grandes oocistos multispocísticos (Desser, 1993).

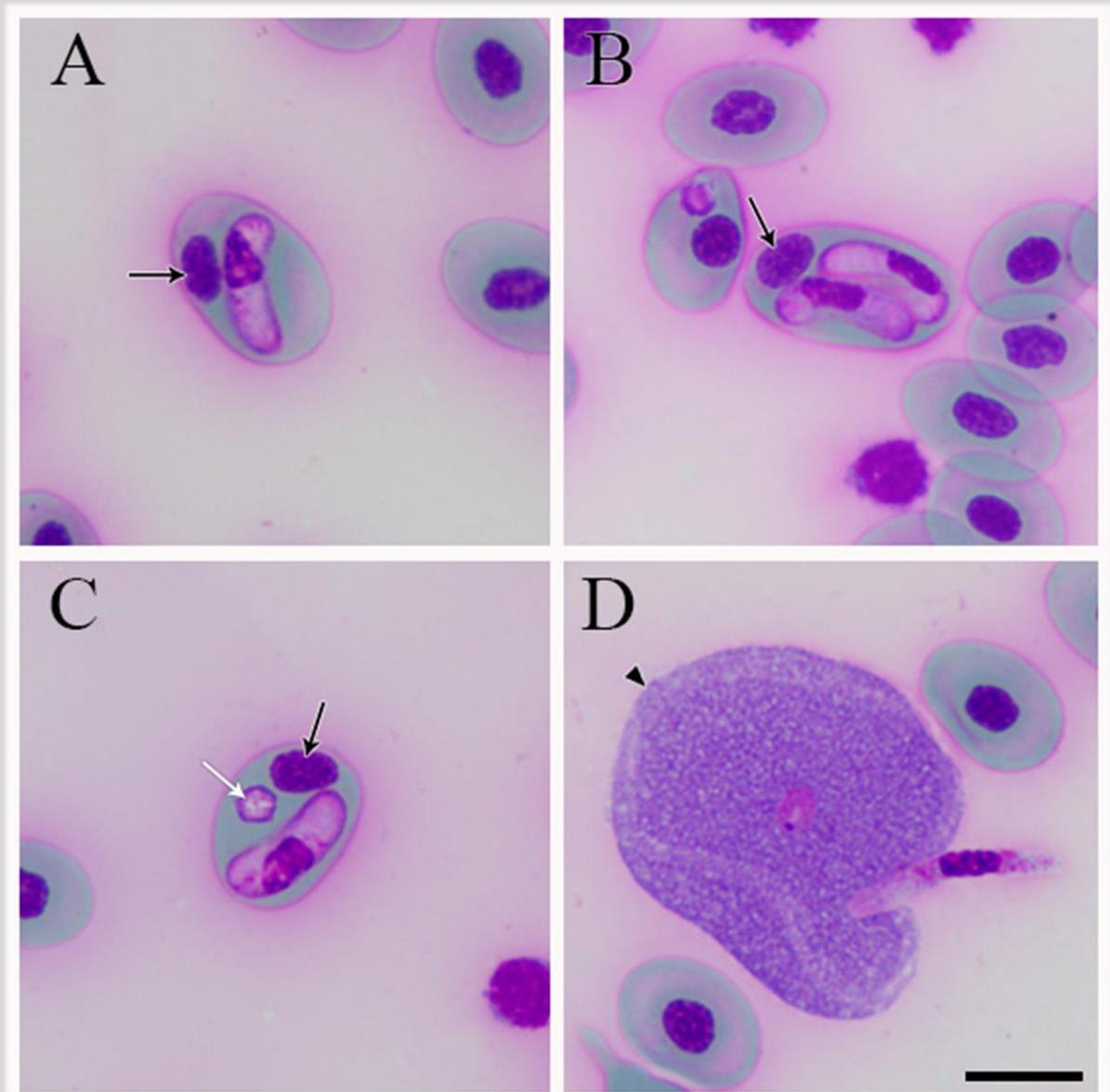


Figura 3. Coinfecção observada em *Leptodactylus colombiensis* (Heyer, 1994). (A-C) *Hepatozoon* sp., gamontes intraeritrocíticos, (C) Coinfecção viral, e (D) Coinfecção por tripanossoma. O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN* sob o código UNAL:GERPH:MEH016. Seta preta: Deslocamento do núcleo pelo parasita; Seta branca: Inclusão citoplasmática viral. Ponta de seta preta: Tripanossoma semelhante a *T. chattoni*. Bar = 10 μ m. * Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

O gênero *Karyolysus* foi descrito por Labbé em 1894 e a principal característica destes organismos é a destruição do núcleo das células dos hospedeiros (Figura 4). Anos mais tarde, Reichenow (1921) confirmou esse gênero como distinto das outras hemogregarinas não apenas pela cariólise gerada na célula do hospedeiro, mas também e ainda mais importante, pelas diferenças no ciclo de vida. Hemogregarinas normalmente apresentam esquizogonia nos eritrócitos enquanto em *Karyolysus* a esquizogonia ocorre nas células endoteliais e viscerais (Sanders, 1928; Lehmann, 1959; Sorsoli, 1961). Esse gênero foi descrito pela primeira vez em lagartos, posteriormente, em anfíbios, Lehmann (1959) descreveu *K. sonomae* e Sorsoli (1961) descreveu *K. dilloni*. Mesmo havendo outros registros desse tipo de parasita em anfíbios (Sanders, 1928), essas duas espécies são as únicas formalmente descritas. A Figura 4 mostra alguns gametócitos encontrados em *Lithobates palmipes* na Colômbia; devido à cariólise dos eritrócitos dos hospedeiros e à ausência de esquizogonia no sangue periférico, é muito provável que esse parasita pertença ao gênero *Karyolysus*.

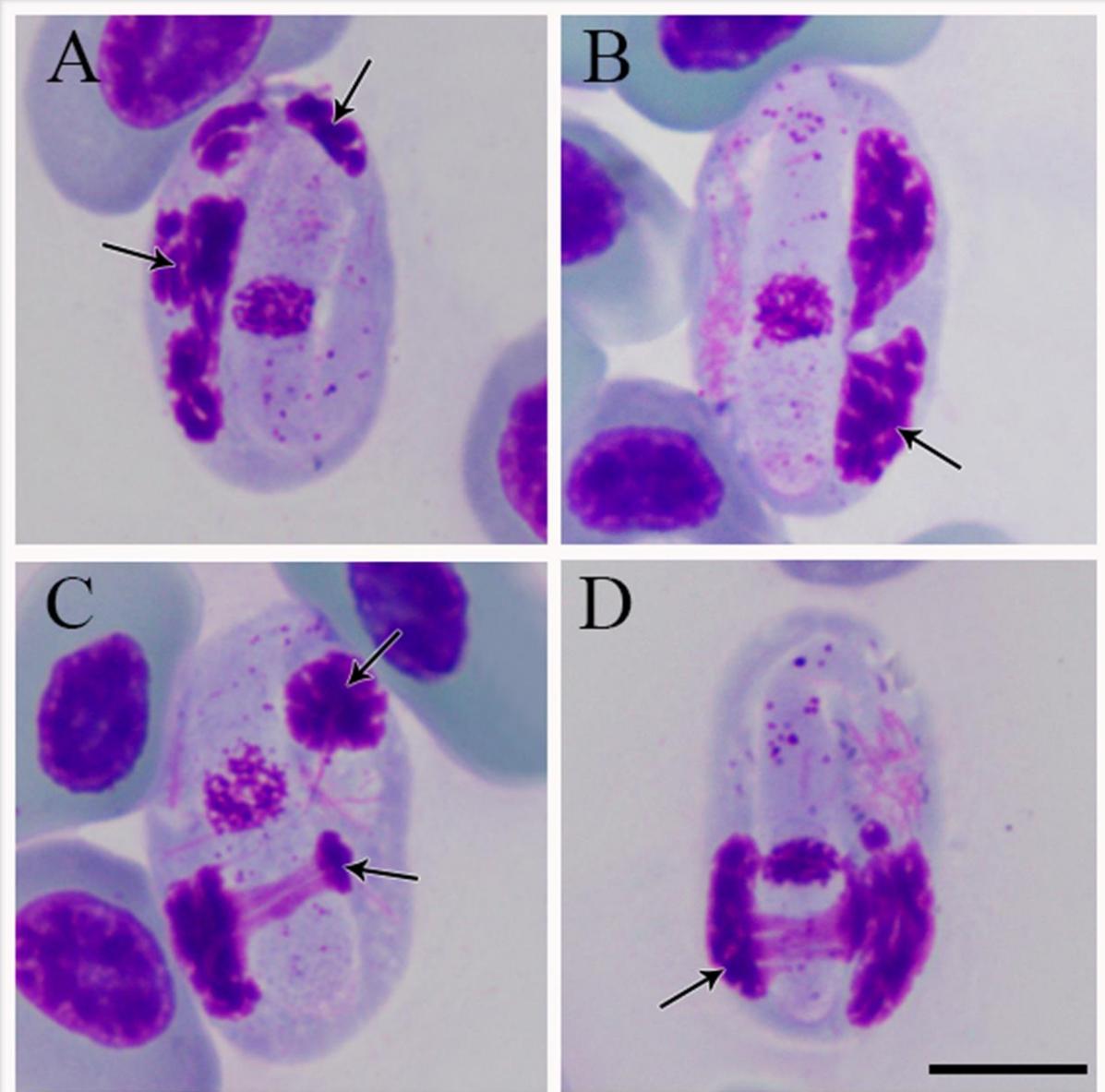


Figura 4. (A-D) *Karyolysus* sp. observado em *Lithobates palmipes* (Spix, 1824). O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN* sob o código UNAL:GERPH:MEH011. As setas pretas mostram a divisão do núcleo da célula hospedeira causada pelo parasita. Bar = 10 μ m. *Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

Parasitas *Hemolivia* (Karyolysidae) também infectam anfíbios. Existem quatro espécies descritas: *Hemolivia stellata* (Petit *et al.*, 1990), descrita em anfíbios, *Hemolivia mauritanica* (Sergent & Sergent, 1904), que infecta tartarugas, *Hemolivia mariae* (Smallridge & Paperna, 1997), que infecta lagartos (Lainson *et al.*, 2007) e *Hemolivia argantis* (Garnham, 1954), descrita pela primeira vez em carrapatos como *Hepatozoon arganis* e posteriormente atribuída ao gênero *Hemolivia* (Karadjian *et al.*, 2015). Parasitas *Hemolivia stellata* foram registrados em anuros e carrapatos, sendo estes os hospedeiros e os vetores, respectivamente (Petit *et al.*, 1990; Lainson *et al.*, 2007; Cotes *et al.*, 2019). As principais características desses parasitas nos hospedeiros são a presença de esquizontes, cistos e gametócitos nos eritrócitos e o desenvolvimento de esquizontes e cistos nas células reticuloendoteliais. Sobre o vetor, a formação de oocistos em forma de estrela no intestino deve ser destacada (Petit *et al.*, 1990; Lainson *et al.*, 2007).

O gênero *Dactylosoma* foi descrito pela primeira vez em anfíbios durante o século 19 e depois encontrado em outros vertebrados ectotérmicos (Barta, 1991). Algumas características relevantes do gênero *Dactylosoma* são: (1) os merontes em forma de leque (Figura 5A), eventualmente eles podem adquirir uma forma de massa quadrilateral (Figura 5B), (2) o núcleo dos gametócitos que normalmente aparece como pontos entre o meio e a extremidade anterior do corpo celular (Figura 5C) e, eventualmente, (3) a presença de alguns grânulos nesses gametócitos (Figura 5D) (Manwell, 1964). O parasita *Dactylosoma* possui dois estágios merogônicos, o primeiro são os clássicos merontes em leque, nos quais quatro a dezesseis merozoítos podem ser vistos, e depois um segundo estágio merogônico, de aproximadamente seis merozoítos, que podem formar gamontes (Nöller, 1913; Barta *et al.*, 1987).

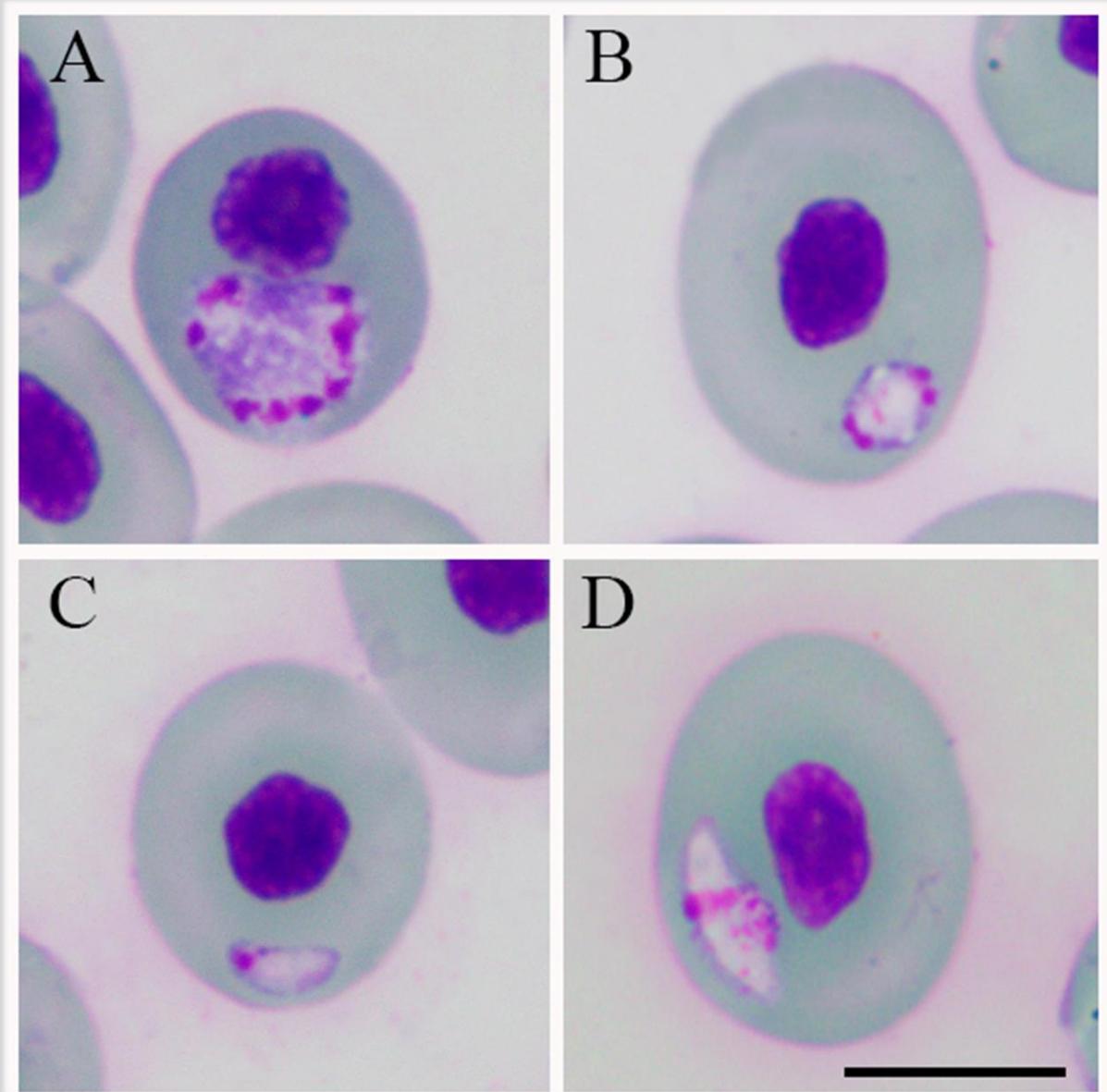


Figura 5. *Dactylosoma* sp. observado em *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758). (A) Meronte em leque, (B) Meronte com massa quadrilateral, (C) Gamonte imaturo e (D) Gamonte maduro. O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN sob o código UNAL:GERPH:MEH030. Bar = 10 μ m. *Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

Babesioma é outro gênero da família Dactylosomatidae. Este gênero foi proposto por Jakowska & Nigrelli (1956) para agrupar alguns parasitas anteriormente atribuídos ao gênero *Dactylosoma* devido a suas estruturas morfológicas. Esse gênero difere de *Dactylosoma* em quatro características principais: (1) um citoplasma menos granular e mais vacuolado; (2) um núcleo difuso, similar a *Babesia*; (3) reprodução que ocorre por esquizogonia, fissão binária ou brotamento; e (4) merontes que não produzem mais do que quatro merozoítos e que normalmente são organizados em forma de roseta ou cruz. Esse gênero foi nomeado *Babesiosoma* devido a sua similaridade a *Babesia quadrigemina* (Jakowska & Nigrelli, 1956).

Coinfecções são bastante comuns em animais silvestres, sendo que os anfíbios apresentam esse tipo de infecção normalmente (Figuras 3C e 3D). Este é um desafio para os pesquisadores, porque os estágios morfológicos podem apresentar pleomorfismos, tornando difícil a identificação das espécies. Além disso, as análises moleculares podem apresentar ampliações duplas ou picos múltiplos que prejudicam a determinação do microrganismo (Valkiūnas *et al.*, 2006; Pacheco *et al.*, 2018).

VÍRUS E BACTÉRIAS

Xenopus laevis é uma espécie de anuro que se caracteriza como o principal modelo para estudar e caracterizar a infecção patógeno-hospedeiro de dois importantes microrganismos que são as principais causas do declínio de anfíbios pelo mundo, os ranavírus e o fungo quitrídio *Batrachochytrium dendrobatidis* (Schloegel *et al.*, 2010). *Ranavirus* (Iridoviridae) é o gênero dos vírus de DNA que infectam e produzem infecções letais em anfíbios, peixes e répteis. Apesar de ocorrerem respostas imunes inatas em girinos, os anfíbios normalmente sucumbem à infecção (Robert, 2016). Comparado a outros vírus de outros vertebrados inferiores, existem pouquíssimos vírus patogênicos sendo descritos em anfíbios (Densmore & Green, 2007). Os vírus podem entrar pela corrente sanguínea através da picada de mosquitos e moscas e,

incidentalmente, penetrar nos eritrócitos dos anfíbios (Speare, 1990; Speare *et al.*, 1991; Gruia-Gray & Desser, 1992). Por exemplo, vírus eritrocíticos de anuros (por exemplo, *Toddia* spp. e *Pirhemocyton* spp.) foram registrados em amostras de sangue de anuros adultos do Canadá, Costa Rica, Brasil e África do Sul. Gruia-Gray & Desser (1992) mostraram que a prevalência do vírus eritrocítico foi significativamente mais alta em juvenis do que em adultos de *Lithobates catesbeianus*. Isso sugere que as consequentes citopatologia e anemia registradas nos animais infectados podem afetar negativamente a sobrevivência dos juvenis. Inclusões virais intracitoplasmáticas podem ser detectadas em lâminas de esfregaço de sangue coradas, descrevendo até três tipos de inclusões citoplasmáticas (Figura 6).

Em relação as bactérias, a maioria das infecções bacterianas podem ser detectadas através da presença de inclusões no citoplasma de células sanguíneas por exames microscópicos de esfregaços de sangue corado. Davis e colaboradores (2009) detectaram bactérias intracelulares na ordem Rickettsiales Gieszcwkiewicz, 1939 em hospedeiros urodelos, os quais servem como reservatórios para as bactérias. *Rickettsia* compreende qualquer membro dos três gêneros (*Rickettsia*, *Coxiella* e *Rochalimaea*) de bactérias na família Rickettsiaceae (Walker, 1996). Todas as bactérias nessa ordem são obrigatoriamente organismos intracelulares (geralmente se encontram dentro dos eritrócitos, onde se reproduzem) e são transmitidas por vetores artrópodes (Rikihiya, 2006). Eles são parasitas naturais de certos artrópodes, principalmente de piolhos, pulgas, carrapatos e ácaros, e podem causar doenças graves em uma variedade de vertebrados. As transmissões de *Rickettsia* também podem acontecer quando as fezes dos artrópodes são inaladas ou entram na pele através da abrasão (Walker, 1996). Desser (1987) detectou *Aegyptianella* (anteriormente *Cytamoeba*) *ranarum* (Rickettsiales, Anaplasmataceae) em amostras de sangue de *Lithobates catesbeianus*, *L. clamitans* e *L. septentrionalis* de cinco localidades no sul de Ontário.

Outro tipo de infecção bacteriana detectada na corrente sanguínea de anfíbios é a infecção

por estreptococos. Um estudo conduzido com *Lithobates catesbeianus* de criadouros no Brasil detectou um *Streptococcus* não hemolítico do grupo B, o qual causou um surto da infecção, matando 80% de aproximadamente 100.000 indivíduos criados. Provavelmente esse surto se deu pela superlotação e estresse (Amborski *et al.*, 1983).

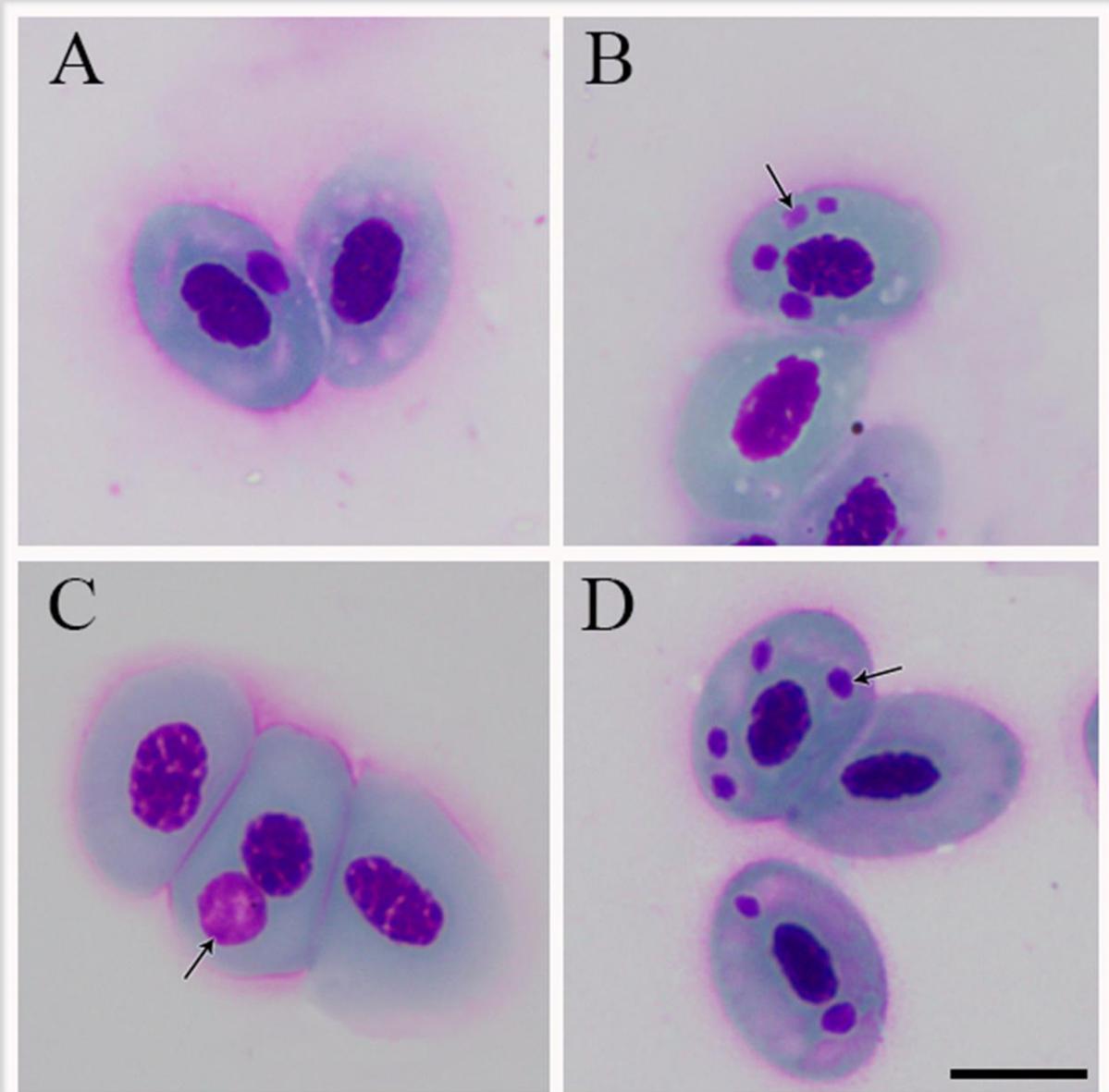


Figura 6. Vírus observado em *Boana xerophylla* (Duméril & Bibron, 1841) (A-D). O esfregaço de sangue está depositado na coleção biológica GERPH-UN* sob o código UNAL:GERPH:MEH002. As setas pretas mostram inclusões citoplasmáticas. Bar = 10 μ m. *Colección Biológica GERPH, Departamento de Biología, Universidad de Colombia. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/index.php?id=430>

VETORES DE PARASITAS SANGUÍNEOS DE ANFÍBIOS

Os vetores normalmente são insetos, carrapatos ou sanguessugas, que transmitem um parasita de um hospedeiro (animal ou planta) para outro. Como o complexo ciclo de vida de muitos parasitas sanguíneos geralmente envolve estágios sexuados e assexuados, os vetores são tipicamente necessários para que o hemoparasita complete o ciclo de vida (Schmid-Hempel, 2011). Um hospedeiro onde o parasita vive para atingir a maturidade sexual é chamado de hospedeiro definitivo, enquanto o hospedeiro no qual o parasita passa apenas parte de seu ciclo de vida ou não atinge a maturidade sexual é chamado de hospedeiro intermediário. Nesse sentido, mosquitos seriam hospedeiros definitivos no caso de parasitas hemósporos (Fantham *et al.*, 1942), mas eles podem ser hospedeiros intermediários no caso de tripanossomas ou filárias (Bailey, 1962). Dessa forma, a classificação de um vetor como intermediário ou definitivo depende do microrganismo.

Em anfíbios, normalmente mosquitos, sanguessugas e carrapatos são os principais vetores de parasitas (Bardsley & Harmsen, 1973; Dessler, 2001). Vários estudos têm mostrado que as espécies de anuros que passam mais tempo no ambiente aquático apresentam uma prevalência maior de parasitas sanguíneos do que os anuros terrestres, o que sugere um vetor aquático, como as diferentes espécies de sanguessugas (Barta & Dessler, 1984; McKenzie, 2007). McKenzie (2007) mostrou que a carga de parasitas helmintos em anfíbios que passam uma grande parte de seus ciclos de vida em ambientes aquáticos é mais alta em áreas modificadas pela agricultura do que em paisagens sem alterações. Além disso, as espécies que passam a maior parte de suas vidas no ambiente terrestre têm mais contato com vetores artrópodes do que sanguessugas. Nesse sentido, estudos recentes mostram que o canto de acasalamento emitido por algumas dessas espécies de anuros possui um efeito atrativo em mosquitos (Bernal & de Silva, 2015) e, conseqüentemente, as fêmeas, as quais não vocalizam, possuem uma prevalência menor de parasitas do que os machos (Bernal & Pinto, 2016).

Os caracteres fenotípicos dos anfíbios também podem determinar a prevalência de parasitas sanguíneos. Nesse sentido, alguns estudos têm mostrado uma relação positiva entre a média no número de espécies de parasitas sanguíneos por hospedeiro e o tamanho do hospedeiro (altamente correlacionado com a idade). Isso significa que uma exposição maior a vetores hematófagos leva a uma maior probabilidade de transmissão de diferentes espécies de parasitas sanguíneos (Barta & Desser, 1984). Da mesma forma, Davis *et al.* (2009) descobriram que bactérias intracelulares da ordem Rickettsiales não afetavam salamandras aleatoriamente; as maiores eram mais infectadas do que as menores. Isso sugere que os indivíduos mais velhos são mais susceptíveis a vetores hematófagos (como piolhos, pulgas, ácaros ou carrapatos).

DÍPTEROS

Embora as moscas hematófagas sejam, normalmente, mais atraídas por animais endotérmicos do que ectotérmicos (Lehane, 2005), estes vetores podem detectar anuros adultos facilmente pelo canto de acasalamento dos machos (Bernal *et al.*, 2006). O gênero mais típico de mosquito identificado como vetor de parasitas em anfíbios é o *Culex*, como *C. peccator* e *C. territans*. *Culex* spp. tem grande importância humana devido à relação com algumas doenças, como a Febre Nilo. Além disso, os mosquitos *Culex territans* são importantes vetores de *Trypanosoma* em populações de anfíbios e *Culex erraticus* são vetores de vírus da encefalomielite equina oriental (Cupp *et al.*, 2004; Hamer *et al.*, 2009). Estudos com *Culex territans* mostraram que esses mosquitos se alimentam preferencialmente de vertebrados ectotérmicos, e particularmente anfíbios (Crans, 1970), os quais têm sido considerados como vetores potenciais de *Trypanosoma rotatorium* (Desser *et al.*, 1973). *Aedes aegypti* é outra espécie de mosquito a qual também é descrita como um possível hospedeiro intermediário para o flagelado *T. rotatorium* (Bailey, 1962). Além disso, estudos têm mostrado que moscas que

picam anuros podem transmitir parasitas sanguíneos, como *Trypanosoma tungarae* a indivíduos de *Engystomops pustulosus* (Bernal & Pinto, 2016). Ainda, Desser e colaboradores (1995) demonstraram que *Culex territans* é o hospedeiro definitivo e vetor de *Hepatozoon catesbiana* em *Lithobates catesbeianus*, e descreveram o desenvolvimento esporogônico dessa espécie em túbulos de Malpighi de dípteros. Esse mesmo vetor, ou a mosca *Forcipomyia (Lasiohelea) fairfaxensis*, pode transmitir vírus eritrocíticos dos anuros mecanicamente (Gruia-Gray & Desser, 1992). Ao mesmo tempo, mosquitos podem infectar anfíbios com diferentes hemococídeos, como *Schellackia* (Paperna & Lainson, 1995).

Nematoides da família Onchocercidae são os principais parasitas filariais associados a anfíbios e são, geralmente, transmitidos por artrópodes hematófagos (Anderson, 2000). Espécies de *Culex* e *Aedes* (Culicidae) são vetores de larvas microfilárias que infectam anuros (Causey, 1939; McKenzie, 2007). A exposição de anfíbios a vetores e, portanto, aos potenciais parasitas sanguíneos, pode ser determinada pelo uso do território do próprio hospedeiro. Por exemplo, já foi observado que anuros que ocorrem em poças d'água de áreas de pastagem possuem cargas significativamente mais altas de helmintos do que aquelas que habitam riachos em áreas de pastagem, brejos em áreas de floresta ou riachos em áreas florestadas (McKenzie, 2007). Isso significa que os vetores de helmintos (*Foleyellides* spp.), que incluem potencialmente mosquitos de *Culex pipiens* e *Aedes aegypti* (Causey, 1939), são mais abundantes em brejos localizados em áreas de pastagem. Áreas desmatadas para a pastagem de gado apresentam uma grande abundância de mosquitos anofelinos e culicídeos devido à criação de áreas favoráveis à reprodução dessas espécies, ou seja, corpos d'água lânticos que são menos ácidos devido à falta de depósito de serapilheira (Camargo *et al.*, 1994).

SANGUESSUGAS

Sanguessugas, um subgrupo cosmopolita de anelídeos, tem quase 700 espécies, as quais podem ser encontradas em ecossistemas de água doce, marinha, estuarina e ambientes úmidos terrestres (Apakupakul *et al.*, 1999; Sket & Trontelj, 2007). A ordem Rhynchobdellida (sem mandíbulas ou dentes) se alimenta, comumente, do sangue de vertebrados (Sawyer, 1981; Moser *et al.*, 2009). Devido a esse hábito alimentar, as pesquisas com sanguessugas hematófagas estão incessantemente em andamento, já que elas podem causar efeitos tanto negativos quanto positivos na saúde dos hospedeiros (Nehili *et al.*, 1994; Wells, 2007; Al-Khleif *et al.*, 2011; Elliott & Kutschera, 2011; Brisola Marcondes *et al.*, 2017). Apesar de sanguessugas afetarem muitos animais de diferentes táxons, algumas espécies desses parasitas hematófagos podem se especializar em certas espécies de vertebrados (Sawyer, 1981). Os gêneros *Batrachobdella*, *Macrobdella* e *Oligobdella*, por exemplo, são frequentemente vistos em anfíbios (Hoff *et al.*, 1984).

Sanguessugas de água doce, incluindo espécies predadoras e parasitas, podem afetar diretamente a sobrevivência e o recrutamento de anfíbios através da predação dos ovos (Chivers *et al.*, 2001; Romano & Di Cerbo, 2007), das larvas ou de adultos desses animais (Howard, 1978; Mock & Gill, 1984; Berven & Boltz, 2001). Anuros e sanguessugas têm sido o objeto de muitos estudos sobre as interações hospedeiro-parasita (por exemplo, Beukema *et al.*, 2010; Tiberti & Gentili, 2010), apesar de haver estudos também com urodelos (por exemplo, Trauth & Neal, 2004; Lunghi *et al.*, 2018). Essa pressão sobre os anfíbios exercida pela proliferação de sanguessugas em ambientes aquáticos pode contribuir para o declínio das espécies (Stead & Pope, 2010). Sanguessugas têm acesso mais fácil aos anfíbios em ambientes aquáticos do que em ambientes terrestres, apesar de algumas interações hospedeiro-parasita terem sido descritas fora da água (Rocha *et al.*, 2012; Lunghi *et al.*, 2018). Geralmente, sanguessugas utilizam anfíbios como fonte de alimento sem levar o hospedeiro à morte (Getz, 2011; Rocha *et al.*,

2012), mas diversos estudos já detectaram um efeito negativo na sobrevivência das populações estudadas (Merilä & Sterner, 2002; Elliott & Dobson, 2015). Entretanto, a magnitude do impacto das sanguessugas sobre a sobrevivência e o crescimento da população dos anfíbios depende de fatores ambientais e, em menor grau, da abundância das sanguessugas (Berven & Boltz, 2001). Já foi observado que espécimes do gênero *Batrachobdella* podem matar girinos devido à perda de sangue (Boltz, 1997). Sanguessugas podem se aderir em qualquer parte da cabeça, do corpo e da cauda dos hospedeiros, deixando uma úlcera hemorrágica arredondada na pele dos animais (Boltz, 1997).

Sanguessugas também podem diminuir a aptidão dos anfíbios hospedeiros por contribuir com a disseminação de patógenos (Raffel *et al.*, 2006) e de parasitas secundários (Sawyer, 1986). Nesse sentido, sanguessugas são vetores potenciais de muitos patógenos, especialmente em regiões com disseminação endêmica de patógenos humanos e/ou animais. Entre esses patógenos existem desde bactérias até protozoários parasitas como *Toxoplasma*, *Trypanosoma* e *Plasmodium*, os quais são capazes de se reproduzir dentro do intestino das sanguessugas (Nehili *et al.*, 1994). No caso específico dos anfíbios, por exemplo, sanguessugas parasitas desempenham um importante papel na transmissão de parasitas sanguíneos como *Trypanosoma diemyctili* (Mock, 1987; Barta & Desser, 1989). De forma semelhante, no caso de bactérias, evidências preliminares sugerem que o hospedeiro intermediário e vetor de *Aegyptianella ranarum* em Ontário é a sanguessuga hematófaga *Desserobdella picta*, dentro da qual as riquetsias passam por um desenvolvimento prolífico (Desser, 1987). Em referência ao ciclo de hemococcídeos (gêneros *Schellackia* e *Lankesterella*), pensava-se que quando os esporozoítos eram ingeridos por uma sanguessuga (*Hemiclepsis marginata* na Europa e, presumidamente, *Batrachobdella picta* na América do Norte), eles permaneceriam no epitélio intestinal até que a sanguessuga fosse predada por um anuro (Nöller, 1920). Porém, Tse e colaboradores (1986) mostraram que os esporozoítos se acumulavam no tecido salivar de *B. picta*. Eles notaram que

a morfologia desses esporozoítos era diferente quando eles estavam dentro dos eritrócitos dos anuros e quando eles apareciam nas glândulas salivares das sanguessugas, provavelmente devido à sua infectividade.

CARRAPATOS

Carrapatos (Acari: Ixodidae e Argasidae) transmitem uma variedade de patógenos aos vertebrados, incluindo vírus, bactérias, protozoários e helmintos. Patógenos transmitidos por carrapatos são responsáveis por mais de 100.000 casos de doenças em humanos em todo o mundo, sendo considerados como o segundo maior vetor de doenças humanas, depois de mosquitos (Dennis & Peisman, 2005). No entanto, eles são os mais importantes vetores de patógenos causadores de doenças em rebanhos e animais silvestres, infestando todas as classes de vertebrados (de la Fuente *et al.*, 2008; Randolph, 2008). Além disso, carrapatos que infectam animais silvestres podem ser causadores de zoonoses. Por exemplo, muitos répteis e anfíbios podem carregar carrapatos que abrigam cepas de *Rickettsia* e *Ehrlichia*, que são patogênicas para humanos (Andoh *et al.*, 2015).

Existem mais de 900 espécies de carrapatos, os quais pertencem a três famílias. A maioria dos carrapatos pertence a uma das duas maiores famílias, a Ixodidae, dos “carrapatos duros”, que compreende 702 espécies de 14 gêneros; e a Argasidae, de “carrapatos moles”, que consiste em 193 espécies. A família Nuttalliellidae é representada por uma espécie monotípica (*Nuttalliella namaqua*), restrita a África do Sul (Guglielmone *et al.*, 2010; Dantas-Torres *et al.*, 2012). Espécies de carrapatos estão amplamente distribuídas pelo mundo, mas elas são mais abundantes e diversas nos climas tropical e semitropical. Isso porque os carrapatos precisam da umidade do ar para sofrerem metamorfose e também porque baixas temperaturas podem inibir o desenvolvimento do ovo à larva. Carrapatos também são amplamente distribuídos entre táxons de hospedeiros, incluindo mamíferos, aves, répteis e anfíbios (Dantas-Torres *et al.*,

2008). Entre as diversas espécies, *Amblyomma dissimile* é um carrapato encontrado em anfíbios e répteis na região Neotropical (Guglielmone *et al.*, 2003). *Amblyomma rotundatum* foi encontrada infectando *Rhinella jimi*, *R. gildae* e *R. marina* (Alcantara *et al.*, 2018). Além disso, Argasídeos do gênero *Ornithodoros* também foram encontrados recentemente infectando *Thoropa miliaris* (Barros-Battesti *et al.*, 2015) e *Cycloramphus boraceiensis* (Muñoz-Leal *et al.*, 2017). A tularemia é uma doença bacteriana contagiosa causada por *Francisella tularensis* e afeta principalmente primatas, lagomorfos e roedores. Entretanto, infecções naturais também têm sido registradas em anfíbios que passam pelo menos parte do ciclo de vida no ambiente aquático e, nesses casos, os carrapatos agem como vetores biológicos transmitindo patógenos e também como importantes reservatórios de tularemia (Foley & Nieto, 2010).

Espécies das famílias Ixodidae e Argasidae localizam os potenciais hospedeiros pelo odor ou por mudanças no ambiente. O ciclo de vida dos carrapatos é bastante complexo, envolvendo quatro estágios classificados como ovos, larvas, ninfas e adultos. Carrapatos Ixodídeos possuem três hospedeiros e levam pelo menos um ano para completar o ciclo de vida. Carrapatos Argasídeos possuem mais de sete estágios de ninfa (instares) e cada um requer sangue como alimento. A infecção e o desenvolvimento dos patógenos, tanto nos carrapatos quanto nos hospedeiros vertebrados, envolveram caracteres moleculares na relação carrapato-patógeno, levando à evolução de características comuns e espécie-específicas (de la Fuente *et al.*, 2008). Apesar dos esforços feitos, ainda são escassas as informações sobre a taxonomia e a ecologia dos carrapatos que infectam anfíbios (Dantas-Torres *et al.*, 2008), e novas associações carrapato-hospedeiro estão sendo descobertas. Por exemplo, Alcantara e colaboradores (2018) analisaram recentemente carrapatos coletados em 21 espécies de anfíbios e répteis capturados no Nordeste do Brasil durante 2001 a 2017, identificando *Rhinella gildae* como um novo hospedeiro para o carrapato Ixodídeo *Amblyomma rotundatum*.

PATOGENICIDADE DE HEMOPARASITAS EM ANFÍBIOS

Anfíbios podem ser infectados por uma variedade de parasitas sanguíneos em todo o mundo, incluindo vírus, bactérias, várias espécies de protozoários e nematoides microfilarídeos. De acordo com essa definição, os parasitas devem provocar efeitos prejudiciais em seus hospedeiros (Schmid-Hempel, 2011). No entanto, muitos estudos têm falhado em encontrar efeitos negativos de parasitas sanguíneos em seus hospedeiros anfíbios, e, por isso, alguns hemoparasitas, como os hemoflagelados, têm sido considerados como não-patogênicos (Densmore & Green, 2007). Por exemplo, Aisen e colaboradores (2015) analisaram 89 anuros silvestres compreendendo 14 espécies do sul da Nigéria em busca de parasitas sanguíneos. Eles encontraram que 10% dos indivíduos estavam infectados por microfilárias e *Trypanosoma* sp. No entanto, tanto anuros infectados como não infectados aparentavam estar clinicamente normais no momento da amostragem. Além disso, Sailasuta e colaboradores (2011) analisaram parasitas sanguíneos em 140 indivíduos de *Hoplobatrachus rugulosus*, e encontraram que 70% deles estavam infectados com parasitas sanguíneos dos gêneros *Trypanosoma*, *Hepatozoon* e *Lankesterella*. Eles também não encontraram sintomas clínicos de infecção, e o valor de hematócrito dos indivíduos infectados e não infectados foi semelhante. No entanto, uma análise mais aprofundada através de um exame patológico dos órgãos viscerais de anuros infectados revelou que *Hepatozoon* e *Lankesterella* produziram lesões inflamatórias em alguns órgãos desses indivíduos, enquanto as infecções por *Trypanosoma* não apresentaram lesões. Eles encontraram lesões patológicas no fígado, pulmões, baço e rins dos anuros infectados por *Lankesterella* com parasitemias médias de 0.15% dos eritrócitos. Já os anuros infectados, mas com parasitemias médias abaixo de 0.01% dos eritrócitos não apresentaram lesões relevantes. Da mesma forma, anuros infectados por *Trypanosoma* apresentaram parasitemia média de 0.01% dos eritrócitos, o que pode explicar a ausência de lesões patológicas nos tecidos desses animais. Portanto, a demonstração dos efeitos dos parasitas pode exigir uma abordagem

empírica, onde a manipulação experimental de cargas naturais de parasitas sanguíneos pode revelar efeitos prejudiciais sobre os hospedeiros (Keymer & Read, 1991; Merino *et al.*, 2000; Knowles *et al.*, 2010).

VÍRUS

Ranavirus é provavelmente o vírus mais patogênico que infecta anfíbios, principalmente anuros e salamandras. A epidemia mais extensa por ranavírus em anfíbios aconteceu em meados da década de 1980 no Reino Unido, onde ranavírus semelhantes ao FV3 causaram mortalidades em massa de anuros nativos ao longo de vários anos (Drury *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 2007). A infecção provoca necrose e lesões macroscópicas como eritemas, edemas generalizados ou dos membros, hemorragias, inchaço e fragilidade no fígado. Devido à sua patogenicidade, esse vírus é responsável por causar eventos de mortalidade em massa na Ásia, Europa, América do Norte e América do Sul (Gray *et al.*, 2009). Ranavírus podem ser adquiridos pela ingestão do vetor ou por exposição à água contaminada (Pearman *et al.*, 2004; Harp *et al.*, 2006), embora a taxa de mortalidade por ingestão seja mais alta que a taxa por exposição à água infectada (Brunner *et al.*, 2005; Cunningham *et al.*, 2007). Por exemplo, já foi demonstrado que girinos inoculados oralmente com ranavírus têm taxas de mortalidade mais altas que indivíduos que adquiriram a infecção pelo ambiente aquático (Hoverman *et al.*, 2010). Dentro do gênero *Ranavirus*, *Bohle iridovirus* (BIV) foi isolado pela primeira vez em *Platyplectrum ornatum*, na Austrália (Speare & Smith, 1992). Cullen & Owens (2002) conduziram um estudo experimental em anuros de cativeiro e observaram que os juvenis de *Litoria caerulea*, *L. alboguttata*, *Cyclorana brevipes* e *Pseudophryne coriacea* foram mais susceptíveis ao BIV do que os adultos, apresentando altas mortalidades por necrose do fígado, rins e baço. Dessa forma, essa ameaça virológica pode ter um grande impacto na herpetofauna australiana.

Alguns outros grupos de vírus diferentes dos ranavírus têm sido registrados como causadores de desordens sanguíneas em anfíbios, embora o impacto desses vírus nas populações silvestres ainda não tenha sido bem estudado. Por exemplo, mosquitos ou moscas podem transmitir o vírus eritrocítico de anuros, o qual pertence à família Iridoviridae e é maior do que os ranavírus. As infecções por esses vírus resultam em mudanças no formato dos eritrócitos de oval para esferoidal, causando assim, anemia nos anuros infectados e contribuindo para a mortalidade dos juvenis. Esse vírus foi descoberto pela primeira vez em populações silvestres de *Lithobates* spp. no Canadá (Gruia-Gray *et al.*, 1989; Gruia-Gray & Dessler, 1992), embora ele também tenha sido encontrado em anuros adultos da Costa Rica, Brasil e da África do Sul (Berger & Green, 2012). Além disso, o Vírus Guatapo 6 (GV6) tem sido registrado como causador de necrose em tecidos hematopoiéticos em *Rhinella marina*, na Venezuela (Hyatt *et al.*, 2000). Ainda, Gruia-Grey e colaboradores (1992) encontraram que indivíduos de três espécies de anuros do Canadá (*Lithobates catesbeianus*, *L. clamitans* e *L. septentrionalis*) sofriam de anemia e tinham a perspectiva de sobrevivência reduzida quando infectados por vírus eritrocíticos de anfíbios.

BACTÉRIAS

Um pequeno número de bactérias tem sido registrado causando doenças em anfíbios. Infecções bacterianas em anfíbios silvestres são raras e, quando presentes, normalmente se tratam de invasores secundários ou oportunistas (Taylor *et al.*, 2001). A septicemia bacteriana (uma infecção na corrente sanguínea causada por bactérias com sinais associados da doença) é a principal doença causada por bactérias e está associada a mortalidades significativas de anuros. A síndrome primária ligada à septicemia bacteriana é chamada de síndrome das pernas vermelhas devido à vermelhidão cutânea que ocorre na parte ventral das coxas dos anuros (Emerson & Norris, 1905). Bacilos Gram-negativos são os principais responsáveis por essa

síndrome, embora *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp. e *Acinetobacter* spp. também tenham sido registradas. Os efeitos patogênicos são similares aos da infecção por ranavírus, incluindo a pele pálida, úlceras cutâneas hemorrágicas, letargia, anorexia, ascite, edema e hemorragias em órgãos internos (Taylor *et al.*, 2001; Hemingway *et al.*, 2009). Miopatias degenerativas e múltiplos focos de necrose coagulativa com aglomerados de bactérias podem ser observados através de um exame histológico (Hemingway *et al.*, 2009). A transmissão experimental pode ser realizada pela inoculação ou pelo lavado de bactérias (Glorioso *et al.*, 1974; Somsiri *et al.*, 1997). Barribeau e colaboradores (2008) demonstraram experimentalmente que a genética do anfíbio hospedeiro também é importante na determinação da susceptibilidade à bactéria patogênica, como *Aeromonas hydrophila* em *Xenopus laevis*.

Algumas espécies de *Aegyptianella* (ordem Rickettsiales) são também encontradas infectando anfíbios. Estes bastonetes Gram-negativos são conhecidos por se replicarem nas hemácias de anuros (Desser, 1987). Por exemplo, *Aegyptianella ranarum* é um agente semelhante a *Anaplasma* e infecta eritrócitos em *Lithobates catesbeianus*, *L. clamitans* e *L. septentrionalis* nos EUA e Canadá (Desser, 1987). Além disso, foi registrado na Córsega que *A. bacterifera* pode desenvolver-se dentro de um vacúolo ligado à membrana no citoplasma do eritrócito de *Pelophylax lessonae* (Desser & Barta, 1989).

PROTOZOÁRIOS

Mais de 60 espécies de tripanossomas já foram registrados em anuros, sendo que os hemoparasitas são a maioria em anfíbios. Embora a patogenicidade desses organismos não tenha sido registrada para a maioria das espécies, ela pode variar de não patogênica a letal, dependendo do tripanossoma e o do hospedeiro envolvidos (Bardsley & Harmsen, 1973; Delvinquier & Freeland, 1989). Os efeitos patogênicos de tripanossomas em Anura foram estudados em detalhe em *Typanosoma inopinatum*. Por exemplo, infecções experimentais por

esse flagelado transmitido pelo sangue se mostram letais para anfíbios Europeus, provocando aglutinação de tripanossomas no músculo cardíaco, surgimento de hemorragias, inchaço das glândulas linfáticas e anemia (Brumpt, 1924; Bardsley & Harmsen, 1973). *T. rotatorium* pode ser patogênico em girinos ou em infecções severas, provocando lesões graves nos rins (Bardsley & Harmsen, 1973). Além disso, *T. pipientis* causa aumento no tamanho do baço, mas raramente há registros de mortalidade para esse tipo de infecção (Flynn, 1973). A principal via de transmissão desse organismo é pela ação hematofágica de sanguessugas (Berger & Green, 2012).

Doenças associadas a coccidiose são mais comuns em larvas, jovens recém metamorfoseados ou adultos imunocomprometidos de anfíbios. Normalmente, girinos australianos e africanos parasitados apresentam crescimento reduzido e espessamento da parede intestinal (Densmore & Green, 2007). *Lankesterella* spp. normalmente apresenta merogonia e esporogonia nas células endoteliais vasculares (nos órgãos viscerais), e os esporozoítos maduros são liberados no sangue e invadem os eritrócitos (Desser, 1993). Merontes de *Hepatozoon* sp. e *Lankesterella* foram registrados produzindo lesões patológicas predominantemente no fígado de anfíbios, com inflamações de subagudas a crônicas (Chutmongkonkul *et al.*, 2005). Além disso, os merontes e merozoítos de *Lankesterella* presentes no fígado, pulmões e rins produzem resposta inflamatória (Rungsipipat, 2005).

Haemogregarina spp. são parasitas eritrocíticos comuns em anfíbios. Embora considerados como organismos de baixa patogenicidade, eles podem provocar anemia em alguns animais e a taxa de eritrócitos afetados pode influenciar o prognóstico (Wright, 2001; Campbell & Ellis, 2007). Desser *et al.* (1995) realizaram a transmissão experimental de *Hepatozoon clamatae* em indivíduos de *Lithobates pipiens*, *L. catesbeianus* e *L. clamitans* criados em laboratório. As tentativas feitas para infectar *Lithobates catesbeianus* e *L. clamitans* com *Hepatozoon catesbiana* tiveram sucesso, porém a transmissão para *Lithobates pipiens*

não foram bem-sucedidas. Essa transmissão para hospedeiros intermediários anuros ocorre pela ingestão do mosquito *Culex territans*, que é o hospedeiro definitivo e que carrega oocistos multispóricos nos túbulos de Malpighi. Uma etapa da merogonia acontece no fígado, produzindo merozoítos que entram na corrente sanguínea, penetram nos eritrócitos e se transformam em gamontes (Desser *et al.*, 1995).

Anuros infectados por *Hepatozoon* sp. podem desenvolver lesões inflamatórias predominantemente nos órgãos viscerais, apresentando lesões semelhantes a granulomas, sendo que a severidade depende do nível de parasitemia (Sailasuta *et al.*, 2011). A contagem reduzida de hemácias e o aumento da porcentagem de eritrócitos imaturos foram encontrados em infecções intensas de *Hepatozoon* spp. em *Lithobates clamitans*, e hemogregarinas não identificadas foram observadas em *Litoria caerulea* e *L. infrafrenata* (Young *et al.*, 2012). No entanto, não foram observadas relações significativas entre o número de leucócitos e infecções intensas de *Hepatozoon* spp. (Shutler *et al.*, 2009). Infecções são, normalmente, encontradas acidentalmente; porém infecções graves podem ser clinicamente significativas (Pessier, 2007).

MICROFILÁRIA

Muitas espécies de helmintos infectam anfíbios, sendo que para algumas delas há registros de doenças e graves parasitemias. Como já discutido anteriormente, determinados mosquitos são responsáveis pela transmissão de nematoides filariais, vivendo comumente em anfíbios adultos silvestres ou em colônias ao ar livre que ficam expostas a vetores. No nível clínico, esses parasitas extracelulares geralmente não apresentam sinais evidentes, embora em casos severos as filárias adultas possam ocupar os sacos linfáticos formando nódulos sob a pele e causando filariose linfática. Com relação ao diagnóstico clínico, os estágios iniciais das filárias (microfilárias) podem ser detectados em lâminas com esfregaço de sangue corado. Já em casos mais avançados, os filarídeos podem ser observados diretamente nos sacos linfáticos,

de onde eles podem ser extraídos através de incisão para serem posteriormente identificados (Densmore & Green, 2007). Por outro lado, *Rhabdias* é um gênero de nematoide parasita encontrado comumente nos pulmões de anfíbios anuros (Flynn, 1973; Müller *et al.*, 2018). As larvas podem atingir os pulmões indiretamente pela corrente sanguínea, provocando uma diminuição nas taxas de crescimento, aptidão e sobrevivência (Tinsley, 1995). Além disso, filaroides como *Foleyella* spp. podem aumentar a mortalidade de anuros que possuem infecções graves por microfilárias ou vermes adultos (Reichenbach-Klinke & Elkan, 1965; Klaphake, 2009).

PARASITAS SANGUÍNEOS, MUDANÇAS GLOBAIS E DECLÍNIOS

POPULACIONAIS DE ANFÍBIOS

Mais de 70% das espécies de anfíbios estão atualmente em declínio (Hayes *et al.*, 2010). Embora o declínio dos anfíbios tenha sido registrado pela primeira vez na década de 1950, esse fenômeno foi enfatizado apenas 40 anos depois (Wake, 1991). Cerca de 40% das quase 7.166 espécies de anfíbios estão ameaçadas de extinção (IUCN, 2020). Além disso, 43% das populações de anfíbios estão passando por alguma forma de declínio – entre 9 e 122 espécies já se extinguíram desde 1980 (Stuart *et al.*, 2004), e cerca de 7% das espécies de anuros estão previstas para serem extintas no próximo século (Alroy, 2015). De forma geral, esses dados exemplificam a sexta extinção em massa na Terra (Wake & Vredenburg, 2008).

Apesar de não haver uma causa única para a extinção global de anfíbios, três níveis hierárquicos têm sido propostos para explicar esse fenômeno (Hayes *et al.*, 2010). No primeiro nível, as causas imediatas do declínio das populações de anfíbios têm sido geralmente atribuídas à alta mortalidade e falha no recrutamento (Hayes *et al.*, 2010). No segundo nível, existem cinco fatores específicos principais (causas imediatas) que contribuem para as mortes individuais e para o declínio das populações, como a predação, a superexploração humana, a diminuição da nutrição, eventos catastróficos que levam a mortes acidentais, patógenos e parasitas que levam ao aumento das taxas de doenças (Hayes *et al.*, 2010). Finalmente, as últimas causas (terceiro nível) são as mudanças globais, a poluição ambiental, a modificação do habitat e a introdução de espécies exóticas (May, 2010; Hayes *et al.*, 2010). Essas últimas causas estão intimamente ligadas ao processo de mudança global e podem afetar profundamente os efeitos patogênicos dos parasitas em populações de anfíbios.

Os fatores que impulsionam as mudanças globais podem ter vastos efeitos na transmissão de parasitas transmitidos por vetores a humanos, rebanhos e animais silvestres

(Daszak *et al.*, 2000; Sutherst, 2004). Por exemplo, espera-se que altas concentrações de CO₂ aumentem a longevidade dos vetores e a expansão do alcance das doenças transmitidas por vetores. Além disso, um aumento na temperatura pode levar ao desenvolvimento mais rápido dos vetores e dos patógenos, à redução da mortalidade dos vetores em baixas temperaturas e à expansão do alcance de vetores e patógenos de climas quentes. Além disso, o desmatamento pode facilitar que haja mais locais para reprodução dos vetores, devido ao aumento da água superficial dos solos expostos pela exploração madeireira e pela agricultura, levando assim, ao aumento das taxas de contato entre parasitas e vetores. Ainda, poluentes químicos como pesticidas e disruptores endócrinos podem prejudicar o sistema imunológico dos hospedeiros, tornando as populações mais vulneráveis a infecções por patógenos (ver revisão em Sutherst *et al.*, 2004).

Existem propostas de que as mudanças climáticas tenham modificado as temperaturas, favorecendo a prevalência e o impacto de patógenos (Rohr *et al.*, 2008). Seguindo essa ideia, Pounds e colaboradores (2006) sugeriram que o aquecimento global pode ter alterado as temperaturas de muitas localidades montanhosas na Costa Rica criando condições ideais para o crescimento do quitrídio patogênico (*Batrachochytrium dendrobatidis*). Essas mudanças podem ter provocado o declínio e a extinção de anfíbios nos Neotrópicos, como das espécies *Atelopus* sp. e *Incilius periglenes* em Monteverde. De forma alternativa, mas não mutuamente exclusiva, as mudanças climáticas também podem levar a mudanças na temperatura de forma a diminuir a habilidade dos anfíbios de criar respostas imunes apropriadas para enfrentar o desafio dos patógenos (Rohr *et al.*, 2008). Nesse sentido, Maniero & Carey (1997) expuseram experimentalmente indivíduos de *Lithobates pipiens* a baixas temperaturas, e observaram a redução na proliferação de linfócitos e eosinófilos, e também na atividade sérica do complemento.

A exposição a estressores antropogênicos e poluentes como pesticidas, fertilizantes,

resíduos nitrogenados e metais pesados suprimem a função imune e aumentam a virulência do patógeno e as taxas de doenças (Carey *et al.*, 1999). Por exemplo, há propostas de que, em anfíbios, os estressores antropogênicos e a exposição subletal a pesticidas podem afetar a probabilidade de infecções por ranavírus e da morbidade associada devido à redução na função imunológica (Gray *et al.*, 2009). Além disso, tem sido demonstrado que a exposição a misturas de pesticidas reduz a proliferação de linfócitos em juvenis de *Lithobates pipiens*, resultando no comprometimento da imunidade e no aumento da infecção pelo parasita pulmonar (Gendron *et al.*, 2003; Christin *et al.*, 2004).

A alteração e a fragmentação do habitat podem levar ao isolamento demográfico e genético das populações de anfíbios (Marsh & Trenham, 2001). Por sua vez, estes fatores podem estar ligados à perda de heterozigosidade nas populações, e conseqüentemente, ao aumento de infecções e da susceptibilidade a patógenos (Altizer *et al.*, 2003). A introdução de ranavírus em populações geneticamente isoladas de *Rana latastei* provocou a mortalidade em massa desses animais, provavelmente devido ao aumento da susceptibilidade causada pela depressão endogâmica, ou pela perda de alelos resistentes a patógenos, provocada pela deriva genética (Pearman & Garner, 2005). A fragmentação do habitat pode, ainda, aumentar as taxas de contato entre indivíduos infectados, o que pode levar ao aumento da probabilidade de infecção pelo patógeno em populações de anfíbios localizadas em paisagens antropicamente modificadas (Gray *et al.*, 2009).

Novos patógenos cointroduzidos por espécies exóticas são também um fator importante para o declínio de populações nativas de anfíbios. Por exemplo, o copépodo parasita asiático *Lernaea cyprinacea* foi introduzido por *Lithobates catesbeianus* ao habitat de *Rana boylei*, causando malformações e redução no crescimento dos anuros nativos (Kupferberg *et al.*, 2009). Da mesma forma, *Xenopus laevis* é uma espécie invasora responsável pela introdução do quitrídio *Batrachochytrium dendrobatidis*, que gerou o surto da doença fúngica quitridiomicose

nos anfíbios da América do Norte (Weldon *et al.*, 2004; Schloegel *et al.*, 2009). Além disso, foram descritas mortalidades em massa de comunidades de anfíbios em quatro localidades no norte da Espanha após a introdução de duas espécies filogeneticamente relacionadas de *Ranavirus* (Price *et al.*, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS E DIRECIONAMENTOS FUTUROS

Em um cenário de mudanças globais, onde profundas e rápidas mudanças estão impactando intensamente os humanos, os rebanhos e os animais silvestres, a identificação de bioindicadores sensíveis a perturbações tanto nos ambientes terrestres como nos aquáticos, é uma necessidade urgente. Como muitas doenças infecciosas emergentes, a prevalência e a extensão geográfica de muitos parasitas sanguíneos têm aumentado nas últimas décadas em correlação com fatores socioeconômicos, ambientais e ecológicos (Jones *et al.*, 2008). Não há ainda um único modelo hospedeiro-parasita que compreenda todas as características para todas as circunstâncias ambientais. Porém, os anfíbios e seus parasitas sanguíneos possuem muitos atributos atraentes, que os tornam modelos ideais para estudar as respostas às mudanças ecológicas, incluindo sua importância trófica, a sensibilidade a perturbações ambientais, a tratabilidade da pesquisa e a iminente extinção (Hopkins, 2007). Contudo, nosso conhecimento sobre a patogenicidade de hemoparasitas de anfíbios, bem como as conexões entre parasitas e perda de habitat, poluição ambiental e mudanças climáticas, ainda é limitada. Portanto, é imperativo que haja mais esforços que foquem nos anfíbios e suas doenças para que estratégias de controle e manejo sejam bem planejadas.

AGRADECIMENTOS

O Ministério da Educação e Ciência da Espanha (CGL2015-64650P) e a Junta de Extremadura (IB16121) financiaram essa pesquisa. J. Muriel teve suporte por contrato de pós-doutorado pela Universidade de Extremadura (Junta de Extremadura - IB16121) e uma bolsa de pós-doutorado pelo Subprograma Juan de la Cierva (FJCI-2017-34109), com o patrocínio financeiro do MICINN. Vargas-León CM e Matta NE agradecem o apoio financeiro do projeto *Hematología y química sanguínea en Herpetofauna infectada por parásitos sanguíneos y gastrointestinales de dos estaciones biológicas de la Universidad Nacional de Colombia*, código de concessão 2063. Também agradecemos gentilmente a Fabiane Santana Annibale (UFG) pela revisão do português; e Ronildo Alves Benício (UFC) pela formatação, edição e revisão crítica do livro.

ORGANIZADORES



MARILUCE GONÇALVES FONSECA – Possui Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Mestrado em Ciências Biológicas pelo Instituto de Biociências de Botucatu. Doutorado em Doenças Tropicais pela Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Pós-Doutorado em Ecologia Animal pelo Departamento de Zoologia e Botânica da UNESP. Atualmente é Pesquisadora e Professora Associada da Universidade Federal do Piauí. Área de atuação multidisciplinar em doenças parasitárias associadas aos animais silvestres, saúde humana e animal. E-mail: marilucefonseca@ufpi.edu.br



ALFONSO MARZAL REYNOLDS – Possui Licenciatura e Bacharelado em Biologia pela Universidade de Extremadura, Espanha. Mestrado em Ensino Universitário no Espaço Europeu do Ensino Superior. Possui dois doutorados, um em Ciências e o outro em Uso e Gestão de Recursos Faunísticos pela Universidade de Extremadura, Espanha. Possui elevada produtividade científica (52 artigos, 3 capítulos de livros, 4 artigos populares, 2.555 citações em artigos científicos, índice H = 27). Pertence à Rede de Coordenação de Pesquisa para Haemosporida de Vertebrados Terrestres (Malaria RCN). Atualmente é professor titular no Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Zoologia da Universidade de Extremadura, Badajoz, Espanha. E-mail: amarzal@unex.es

REFERÊNCIAS

- Acosta, I.C., da Costa, A. P., Nunes, P. H., Gondim, M. F. N., Gatti, A., Rossi Jr, J. L., ... & Marcili, A. (2013). Morphological and molecular characterization and phylogenetic relationships of a new species of trypanosome in *Tapirus terrestris* (lowland tapir), *Trypanosoma terrestris* sp. nov., from Atlantic Rainforest of southeastern Brazil. *Parasites & Vectors*, 6(1), 1-12.
- Adl, S. M., Bass, D., Lane, C. E., Lukeš, J., Schoch, C. L., Smirnov, A., ... & Zhang, Q. (2019). Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 4-119.
- Adl, S. M., Simpson, A. G., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., ... & Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429-514.
- Aisen, M. S. O., Aigbrior, P. O., Ovwah, E., & Edo-Taiwo, O. (2015). Blood parasites of some Anurans from southern Nigeria. *Tropical Biomedicine*, 32(4), 598-607.
- Alcantara, E. P., Ferreira-Silva, C., Ávila, R. W., Pacheco, R. C., Martins, S. F., Muñoz-Leal, S., & Morais, D. H. (2018). Ticks (Acari: Argasidae and Ixodidae) infesting amphibians and reptiles in Northeastern Brazil. *Systematic and Applied Acarology*, 23, 1497-1508.
- Al-Khleif, A., Roth, M., Menge, C., Heuser, J., Baljer, G., & Herbst, W. (2011). Tenacity of mammalian viruses in the gut of leeches fed with porcine blood. *Journal of Medical Microbiology*, 60(6), 787-792.
- Alroy, J. (2015). Current extinction rates of reptiles and amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(42), 13003-8.
- Altizer, S., Harvell, D., & Friedle, E. (2003). Rapid evolutionary dynamics and disease threats to biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(11), 589-596.
- Amborski, R. L., Snider III, T. G., Thune, R. L., & Culley Jr, D. D. (1983). A non-hemolytic, group B Streptococcus infection of cultured bullfrogs, *Rana catesbeiana*, in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 19(3), 180-184.
- Anderson, R.C. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. Second Edition. CABI Publishing: Wallingford, England.
- Andoh, M., Sakata, A., Takano, A., Kawabata, H., Fujita, H., Une, Y., ... & Ando, S. (2015). Detection of Rickettsia and Ehrlichia spp. in ticks associated with exotic reptiles and amphibians imported into Japan. *PLoS One*, 10(7), e0133700.

- Apakupakul, K., Siddall, M. E., & Burreson, E. M. (1999). Higher level relationships of leeches (Annelida: Clitellata: Euhirudinea) based on morphology and gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12(3), 350-359.
- Arisue, N., & Hashimoto, T. (2015). Phylogeny and evolution of apicoplasts and apicomplexan parasites. *Parasitology International*, 64(3), 254-259.
- Bailey, J. K. (1962). *Aedes aegypti* as a possible new invertebrate host for frog trypanosomes. *Experimental Parasitology*, 12(3), 155-163.
- Bain, O., & Prod'hon, J. (1974). Homogénéité des filaire de genres *Waltonella*, *Ochoterenella* and *Madochotera*; création des *Waltonellinae* n. subfam. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 49, 721-739.
- Baker, D. G. (2008). *Flynn's parasites of laboratory animals*. John Wiley & Sons.
- Bardsley, J. E., & Harmsen, R. (1973). The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology*, 11, 1-73.
- Barros-Battesti, D. M., Landulfo, G. A., Luz, H. R., Marcili, A., Onofrio, V. C., & Famadas, K. M. (2015). *Ornithodoros faccinii* n. sp. (Acari: Ixodida: Argasidae) parasitizing the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) in Brazil. *Parasites & Vectors*, 8(1), 1-11.
- Barta, J. R., & Desser, S. S. (1984). Blood parasites of amphibians from Algonquin Park, Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*, 20(3), 180-189.
- Barta, J.R., Boulard, Y., & Desser, S. S. (1987). Ultrastructural observations on secondary merogony and gametogony of *Dactylosoma ranarum* Labbe, 1894 (Eucoccidiida; Apicomplexa). *The Journal of Parasitology*, 1019-1029.
- Barta, J.R. (1991). The Dactylosomatidae. *Advances in Parasitology*, 30, 1-37.
- Barta, J. R., Ogedengbe, J. D., Martin, D. S., & Smith, T. G. (2012). Phylogenetic position of the adeleorinid coccidia (Myzozoa, Apicomplexa, Coccidia, Eucoccidiorida, Adeleorina) inferred using 18S rDNA sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(2), 171-180.
- Barribeau, S. M., Villinger, J., & Waldman, B. (2008). Major histocompatibility complex based resistance to a common bacterial pathogen of amphibians. *PLoS One*, 3(7), e2692.
- Beebee, T. J., & Griffiths, R. A. (2005). The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology?. *Biological Conservation*, 125(3), 271-285.
- Bernal, X.E., Rand, A.S., & Ryan, M.J. (2006). Acoustic preferences and localization performance of blood-sucking flies (*Corethrella Coquillett*). *Behavioral Ecology*, 17,

709-715.

- Bernal, X. E., & de Silva, P. (2015). Cues used in host-seeking behavior by frog-biting midges (*Corethrella* spp. Coquillet). *Journal of Vector Ecology*, 40(1), 122-128.
- Bernal, X.E., & Pinto, C.M. (2016). Sexual differences in prevalence of a new species of trypanosome infecting túngara frogs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(1), 40-47.
- Berven, K. A., & Boltz, R. S. (2001). Interactive effects of leech (*Desserobdella picta*) infection on wood frog (*Rana sylvatica*) tadpole fitness traits. *Copeia*, 2001(4), 907-915.
- Beukema, W., De Pous, P., Donaire, D., Escoriza, D., Bogaerts, S., Toxopeus, A. G., ... & Carranza, S. (2010). Biogeography and contemporary climatic differentiation among Moroccan *Salamandra algira*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 101(3), 626-641.
- Blaxter, M. L. (2011). Nematodes: the worm and its relatives. *PLoS Biol*, 9(4), e1001050.
- Blaxter, M. L. (2003). Nematoda: genes, genomes and the evolution of parasitism. *Advances in Parasitology*, 54, 101-195.
- Blaxter, M. L., De Ley, P., Garey, J. R., Liu, L. X., Scheldeman, P., Vierstraete, A., ... & Thomas, W. K. (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392(6671), 71-75.
- Boltz, R.S. (1997). The impact of the hematophorous leech *Batrachobdella picta* on wood frog (*Rana sylvatica*) larvae, or another reason wood frog tadpoles croak. Master of Science Thesis, Oakland University, Rochester, MI.
- Boulianne, B., Evans, R. C., & Smith, T. G. (2007). Phylogenetic analysis of Hepatozoon species (Apicomplexa: Adeleorina) infecting frogs of Nova Scotia, Canada, determined by ITS-1 sequences. *Journal of Parasitology*, 93(6), 1435-1441.
- Brisola Marcondes, C., Coutinho-Abreu, I.V., Valenzuela, J., & Hurd, H. (2017). Blood sucking, vector-parasite relationship, and transmission of diseases. In *Arthropod Borne Diseases* (pp. 47-57). Springer International Publishing, Cham.
- Brown, G.P., Shilton, C.M., & Shine, R. (2011). Measuring amphibian immunocompetence: validation of the phytohemagglutinin skin-swelling assay in the cane toad, *Rhinella marina*. *Methods in Ecology and Evolution*, 2(4), 341-348.
- Brumpt, E. (1924). Un cas de rupture de la rate avec hémopéritoine au cours d'une infection expérimentale a *Trypanosoma inopinatum* chez la grenouille verte (*Rana esculenta*). *Annales de Parasitologie*, 4, 325-326.

- Brunner, J. L., Richards, K., & Collins, J. P. (2005). Dose and host characteristics influence virulence of ranavirus infections. *Oecologia*, 144, 399-406.
- Burraco, P., Miranda, F., Bertó, A., Vazquez L. A. and Gomez-Mestre, I. (2017). Validated flow cytometry allows rapid quantitative assessment of immune responses in amphibians. *Amphibia-Reptilia*, 38(2), 232-237.
- Cabagna-Zenklusen, M. C., Lajmanovich, R.C., Peltzer, P.M., Attademo, A.M., Fiorenza Biancucci, G.S., & Bassó, A. (2009). Primeros registros de endoparásitos en cinco especies de anfibios anuros del litoral argentino. *Cuadernos de Herpetología*, 23(1), 33-40.
- Cabagna-Zenklusen, M. C., Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Junges, C. M., Fiorenza Biancucci, G., & Bassó, A. (2011). Hematología y citoquímica de las células sanguíneas de *Rhinella fernandezae* (Anura: Bufonidae) en Espinal y Delta-Islands del río Paraná, Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 59(1), 17-28.
- Cabagna-Zenklusen, M.C. (2012). Caracterización hematológica de especies de anfibios anuros con distribución en los ecosistemas del litoral fluvial argentino (Provincias de Entre Ríos y Santa Fe). Potencialidad de su utilización como biomarcadores. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas.
- Cabagna-Zenklusen, M.C.; Lajmanovich, R.C.; Attademo, A.M.; Peltzer, P.M.; Junges, C.M.; Fiorenza-Biancucci, G. y Bassó, A. (2014). Generalidades sobre la Hematología de anfibios anuros. *Comunicación Museo Provincial de Ciencias Naturales "Florentino Ameghino"* (Nueva serie), 18(1), 1-16.
- Caballero, E. (1935). Nematodos parasitos de los batracios de Mexico III. Curata contribucion al conocimiento de la parasitologia de *Rana montezumae*. *Anales del Institute de Biologia Mexico*, 6, 103-117.
- Clark, G. W., Bradford, J., & Nussbaum, R. (1969). Blood parasites of some Pacific Northwest amphibians. *Bulletin of Wildlife Disease Association*, 5, 117-118.
- Camargo, L. M. A., Ferreira, M. U., Krieger, H., De Camargo, E. P., & Da Silva, L. P. (1994). Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51(1), 16-25.
- Campbell, T.W., & Ellis, C.K. (2007). *Avian and exotic animal hematology and cytology*, 3rd edn. Blackwell, Oxford.
- Carey, C., Cohen, N., & Rollins-Smith, L. (1999). Amphibian declines: an immunological

- perspective. *Developmental & Comparative Immunology*, 23(6), 459-472.
- Carroll, R. L. (2009). *The Rise of Amphibians: 365 Million Years of Evolution*. Johns Hopkins University Press.
- Causey, O. R. (1939). *Aedes* and *Culex* mosquitoes as intermediate hosts of frog filaria, *Foleyella* sp *American Journal of Hygiene Section*, C29: 79-81.
- Chen, G. J., & Desser, S.S. (1989). The Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of frogs from Algonquin Park, with descriptions of two new species. *Canadian Journal of Zoology*, 67, 1686-1689.
- Chivers, D. P., Kiesecker, J.M., Marco, A., Devito, J., Anderson, M.T., & Blaustein, A.R. (2001). Predator-induced life history changes in amphibians: egg predation induces hatching. *Oikos*, 92, 135-142.
- Christin, M. S., Menard, L., Gendron, A. D., Ruby, S., Cyr, D., Marcogliese, D. J., ... & Fournier, M. (2004). Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Xenopus laevis* and *Rana pipiens*. *Aquatic Toxicology*, 67(1), 33-43.
- Chutmongkonkul, M., Pariyanonth, P., Tangtrongpairos, J., & Sailasuta, A. (2005). Lankesterella in *Hoplobatrachus rugulosus* in Thailand. In *Proceedings of the 31st Congress on Sciences and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology* (pp. 89-90). Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Cotes, A., Santodomingo, A., & Castro, L. (2019). Detección molecular de *Rickettsia* y *Hemolivia* en garrapatas de sapos de Santa Marta, Magdalena. In *Asociación Colombiana de Zoología (Eds.), Libro de resúmenes, V Congreso Colombiano de Zoología*. (pp. 16). Available online at <http://vccz.aczcolombia.org/wp-content/uploads/2019/02/resumenes.pdf>
- Crans, W.J. (1970). The blood feeding habits of *Culex territans* Walker. *Mosquito News*, 30, 445-448.
- Croft, W.J. (2006). *Under the Microscope: A brief history of microscopy*. World Scientific Publishing, Singapore.
- Cullen, B.R., & Owens, L. (2002). Experimental challenge and clinical cases of Bohle iridovirus (BIV) in native Australian anurans. *Diseases of Aquatic Organisms*, 49, 83-92.
- Cupp, E. W., Zhang, D., Yue, X., Cupp, M. S., Guyer, C., Sprenger, T. R., & Unnasch, T. R. (2004). Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an eastern equine encephalomyelitis virus focus in central Alabama. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(3), 272-276.

- Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Russell, P., & Bennett, P. M. (2007). Emerging epidemic diseases of frogs in Britain are dependent on the source of ranavirus agent and the route of exposure. *Epidemiology & Infection*, 135(7), 1200-1212.
- Danilovsky, B. (1889). *La parasitologie comparee du sang. I. Nouvelles recherches sur les parasites du Sang des oiseaux*. Khartoff.
- Dantas-Torres, F., Oliveira-Filho, E.F., Soares, F.A.M., Souza, B.O.F., Valença, R.B.P., Sá, F.B. (2008). Ticks infesting amphibians and reptiles in Pernambuco, Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17, 218-221.
- Dantas-Torres, F., Chomel, B.B., Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases: A One Health perspective. *Trends in Parasitology*, 28(10), 437-446.
- Dasgupta, R., Halder, D.P., & Dasgupta, B. (1996). Blood parasites of *Tylototriton verrucosus*. (Caudata: *Salamandridae*). *Russian Journal of Herpetology*, 3(2), 186-190.
- Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2000). Wildlife ecology - emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. *Science*, 287, 443-449.
- Davies, A. J., & Johnston, M. R. (2000). The Biology of Some Intraerythrocytic Parasites of Fishes, Amphibia and Reptiles. *Advances in Parasitology*, 45, 1-107.
- Davis, A. K., & Cecala, K. (2010). Intraerythrocytic rickettsial inclusions in Ocoee salamanders (*Desmognathus ocoee*): prevalence, morphology, and comparisons with inclusions of *Plethodon cinereus*. *Parasitology research*, 107(2), 363-367.
- Davis, A.K., DeVore, J.L., Milanovich, J.R., Cecala, K., Maerz, J.C., & Yabsley, M.J. (2009). New findings from an old pathogen: intraerythrocytic bacteria (family *Anaplasmatacea*) in red-backed salamanders *Plethodon cinereus*. *EcoHealth*, 6(2), 219-228.
- D'Bastiani, E., Struett, M. M., & Campião, K. M. (2018). First record of Filiarial nematode in the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura, Hylodidae). *Herpetology Notes*, 11, 367-368.
- de la Fuente, J., Estrada-Pena, A., Venzal, J., Kocan, K., & Sonenshine, D. (2008). Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 13, 6938-46.
- Delvinquier, B.L.J., & Freeland, W.J. (1989). On some trypanosomes of the Australian anura. *Proceedings of the Royal Society of Queensland*, 100, 79-87.
- Dennis, D.T., & Piesman, J. (2005). Overview of tick-borne infections of humans. In *Tick-borne Diseases of Humans* (pp. 3-11). ASM Press, Washington.
- Densmore, C. L., & Green, D. E. (2007). Diseases of amphibians. *Ilar Journal*, 48(3), 235-254.

- Desportes, C. (1942). *Forcipomyia velox* winn. et *Sycorax silacea curtis*, vecteurs d'*Icosiella neglecta* (diesing) filaire commune de la grenouille verte. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 19(1-2-3), 53-68.
- Desser, S. S. (1987). *Aegyptianella ranarum* sp. n. (Rickettsiales, Anaplasmataceae): ultrastructure and prevalence in frogs from Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*, 23(1), 52-59.
- Desser, S. S. (1993). The haemogregarinidae and lankesterellidae. In *Parasitic protozoa* (pp. 247-272). Academic Press, San Diego.
- Desser, S.S. (2001). The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the Taxonomy of their Trypanosomes. *Journal of Parasitology*, 87, 152-160.
- Desser, S. S., & Barta, J. R. (1989). The morphological features of *Aegyptianella bacterifera*: an intraerythrocytic rickettsia of frogs from Corsica. *Journal of Wildlife Diseases*, 25(3), 313-318.
- Desser, S. S., McIver, S. B., & Ryckman, A. (1973). *Culex territans* as a potential vector of *Trypanosoma rotatorium*. I. Development of the flagellate in the mosquito. *The Journal of Parasitology*, 353-358.
- Desser, S.S., Hong, H., & Martin, D.S. (1995). The life history, ultrastructure, and experimental transmission of *Hepatozoon catesbiana* n. comb., an apicomplexan parasite of the bullfrog, *Rana catesbeiana* and the mosquito, *Culex territans* in Algonquin Park, Ontario. *Journal of Parasitology*, 81, 212-222.
- Dorris, M., Viney, M. E., & Blaxter, M. L. (2002). Molecular phylogenetic analysis of the genus *Strongyloides* and related nematodes. *International Journal for Parasitology*, 32(12), 1507-1517.
- Drury, S.E.N., Gough, R.E., & Cunningham, A.A. (1995). Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria*). *Veterinary Record*, 137, 72-73.
- Durrant, K.L., J.S. Beadell, F. Ishtiaq, G.R. Graves, S.L. Olson, E. Gering, M. Peirce, C.M. Milensky, B.K. Schmidt, C. Gebhard, & R.C. Fleischer. (2006). Avian haematozoa in South America: A comparison of temperate and tropical zones. *Ornithological Monographs*, 60, 98-111.
- Elliott, J. M., & Kutschera, U. (2011). Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics and conservation. *Freshwater Reviews*, 4(1), 21-41.
- Elliott, J.M., & Dobson, M. (2015). *Freshwater Leeches of Britain and Ireland. Keys to the Hirudinea and a Review of their Ecology*. Freshwater Biological Association Scientific

Publication, 69, 1-108.

- Emerson, H., & Norris, C. (1905). " Red-Leg" - An Infectious Disease of Frogs. *The Journal of Experimental Medicine*, 7(1), 32-58.
- Fantham, H.B., Porter, A., & Richardson, L.R. (1942). Some haematozoa observed in vertebrates of Eastern Canada. *Parasitology*, 34, 199-226.
- Flynn, R.J. (1973). Parasites of Laboratory Reptiles and Amphibians. In *Parasites of Laboratory Animals* (pp. 507-642). Iowa State University Press, Ames.
- Foley, J.E., & Nieto, N.C. (2010). Tularemia. *Veterinary Microbiology*, 140, 332-338.
- Fox, H. (1984). *Amphibian Morphogenesis*. Humana Press, Clifton, New Jersey.
- Frost, D. R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R. H., Haas, A., Haddad, C. F. B., ... & Green, D. M. (2006). and WC Wheeler. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297, 1-291.
- Garnham, P.C.C. (1954). A haemogregarine in *Argas brumpti*. *Rivista di Parassitologia*, 15, 425-435.
- Gendron, A.D., Marcogliese, D.J., Barbeau, S., Christin, M.S., Brousseau, P., Ruby, S., Cyr, D. & Fournier, M. (2003). Exposure of leopard frogs to a pesticide mixture affects life history characteristics of the lungworm *Rhabdias ranae*. *Oecologia*, 135, 469-476.
- Getz, W. M. (2011). Biomass transformation webs provide a unified approach to consumer–resource modelling. *Ecology Letters*, 14(2), 113-124.
- Gluge, G. (1842). Ueber ein eigenthiimliches Entozoon im Blute des Frosches. *Archiv für Anatomie und Physiologie*, 9, 148.
- Glorioso, J.C., Amborski, R.L., Amborski, G.F., & Culley, D.C. (1974). Microbiological studies on septicemic bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *American Journal of Veterinary Research*, 35, 1241-1245.
- Gray, M. J., Miller, D. L., & Hoverman, J. T. (2009). Ecology and pathology of amphibian ranaviruses. *Diseases of Aquatic Organisms*, 87(3), 243-266.
- Gruby, D. (1843). Recherches et observations sur une nouvelle espèce d'haematozoaire, *Trypanosoma sanguinis*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 17, 1134-1136.
- Gruia-Gray, J., & Desser, S. S. (1992). Cytopathological observations and epizootiology of frog erythrocytic virus in bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Wildlife Diseases*, 28(1), 34-41.
- Gruia-Gray, J., Petric, M., & Desser, S. (1989). Ultrastructural, biochemical and biophysical properties of an erythrocytic virus of frogs from Ontario, Canada. *Journal of Wildlife*

Diseases, 25(4), 497-506.

- Guerrero, S., & Ayala, S.C. (1977). Hemoparásitos de algunos reptiles y anfibios de la selva Amazonica del Perú. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 19, 283-288.
- Guglielmone, A.A., Estrada-Peña, A., Keirans, J.E., & Robbins, R.G. (2003). Ticks (Acari: Ixodida) of the neotropical zoogeographic region. International Consortium on Ticks and Tickborne Diseases, Atlanta Houten.
- Guglielmone, A.A., Robbins, R.G., Apanaskevich, D.A., Petney, T. N., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Shao, R. & Barker, S.C. (2010). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1-28.
- Gutiérrez, G. A., González, L. P., Giraldo, A., Calderón-Espinosa, M. L. & Vargas, M., Rodríguez-Fandiño, O., & Matta N. E. (2018). Blood parasites in Neotropical herpetofauna: a huge potential of research. Presented in 4th international conference on malaria and related haemosporidian parasites of wildlife. Beijing, China.
- Haddad, C.F.B., & Prado, C.P.A. (2005). Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience*, 55, 207-217.
- Hamer, G. L., Kitron, U. D., Goldberg, T. L., Brawn, J. D., Loss, S. R., Ruiz, M. O., ... & Walker, E. D. (2009). Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(2), 268-278.
- Hamilton, P. B., Gibson, W. C., & Stevens, J. R. (2007). Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(1), 15-25.
- Harp, E. M., & Petranks, J. W. (2006). Ranavirus in wood frogs (*Rana sylvatica*): potential sources of transmission within and between ponds. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(2), 307-318.
- Harris, D. J., Damas-Moreira, I., Maia, J. P., & Perera, A. (2014). First report of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina) in caecilians, with description of a new species. *Journal of Parasitology*, 100(1), 117-120.
- Hayes, T. B., Falso, P., Gallipeau, S., & Stice, M. (2010). The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 921-933.
- Hayes, P. M., Lawton, S. P., Smit, N. J., Gibson, W. C., & Davies, A. J. (2014). Morphological and molecular characterization of a marine fish trypanosome from South Africa,

- including its development in a leech vector. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-11.
- Hemingway, V., Brunner, J., Speare, R., & Berger, L. (2009). Viral and bacterial diseases of amphibians. In *Amphibian Biology, Amphibian Decline: Disease, Parasites, Maladies, and Pollution* (pp. 2969-2986). Surrey Beatty and Sons, NSW.
- Hoare, C. A. (1972). *The trypanosomes of mammals. A zoological monograph*. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh.
- Hoff, G.L., Frye, F.L., & Jacobson, E.R. (1984). *Diseases of amphibians and reptiles*. Plenum Press, New York.
- Hopkins, W. A. (2007). Amphibians as models for studying environmental change. *ILAR Journal*, 48(3), 270-277.
- Hoverman, J. T., Gray, M. J., & Miller, D. L. (2010). Anuran susceptibilities to ranaviruses: role of species identity, exposure route, and a novel virus isolate. *Diseases of Aquatic Organisms*, 89(2), 97-107.
- Howard, R. D. (1978) The influence of male-defended oviposition sites on early embryo mortality in Bullfrogs. *Ecology*, 59, 789-798.
- IUCN. (2020). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-3. Disponible em: <http://www.iucnredlist.org>.
- Jakowska, S., & Nigrelli, R. F. (1955). A taxonomic re-evaluation of *Dactylosoma* Labbé, 1894, a babesioid of cold-blooded vertebrates. *Journal of Protozoology*, 2(3), 8-8.
- Jakowska, S., & Nigrelli, R. F. (1956). *Babesiosoma* gen. nov. and other babesioids in erythrocytes of cold-blooded vertebrates. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 64(1), 112-127.
- Jones, S.R.M., & Woo, P.T.K. (1989). Use of kidney impressions for the detection of trypanosomes of Anura. *Journal of Wildlife Diseases*, 25, 413-415.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990-3.
- Keymer, A. E., & Read, A. F. (1991). Behavioural ecology: the impact of parasitism. *Unknown Journal*, 37-61.
- Kruse, W. (1890). Ueber blutparasiten. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 120(3), 541-560.
- Karadjian, G., Chavatte, J. M., & Landau, I. (2015). Systematic revision of the adeleid haemogregarines, with creation of *Bartazoon* ng, reassignment of *Hepatozoon argantis*

- Garnham, 1954 to Hemolivia, and molecular data on Hemolivia stellata. *Parasite*, 22, 31.
- Klaphake, E. (2009). Bacterial and parasitic diseases of amphibians. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 12(3), 597-608.
- Knowles, S. C. L., Palinauskas, V., & Sheldon, B. C. (2010). Chronic malaria infections increase family inequalities and reduce parental fitness: experimental evidence from a wild bird population. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(3), 557-569.
- Kupferberg, S.J., Catenazzi, A., Lunde, K., Lind, A. J., & Palen, W. J. (2009). Parasitic copepod (*Lernaea cyprinacea*) outbreaks in Foothill Yellow-legged Frogs (*Rana boylei*) linked to unusually warm summers and amphibian malformations in Northern California. *Copeia*, 529-537.
- Labbé, A. (1894). Recherches zoologiques et biologiques sur les parasites endoglobulaires du sang des vertébrés. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 2, 255-258.
- Lainson, R., & Paperna, I. (1995). Light and electron microscope study of a *Lankesterella petiti* n. sp. (Apicomplexa: *Lankesterellidae*) infecting *Bufo marinus* (Amphibia: Anura) in Parà, Northern Brazil. *Parasite*, 2(3), 307-313.
- Lainson, R., De Souza, M. C., & Franco, C. M. (2007). Natural and experimental infection of the lizard *Ameiva ameiva* with *Hemolivia stellata* (Adeleina: Haemogregarinidae) of the toad *Bufo marinus*. *Parasite*, 14(4), 323-328.
- Langmann, G. (1899). On haemosporidia in American reptiles and batrachians. *New York Medical Journal*, 69, 1-6.
- Lankester, E. R. (1871). Memoirs: On Undulina, the type of a New Group of Infusoria. *Journal of Cell Science*, 2(44), 387-389.
- Lankester, E. R. (1882). Memoirs: On Drepanidium Ranarum, the Cell-Parasite of the Frog's Blood and Spleen (Gaule's Würmschen). *Journal of Cell Science*, 2(85), 53-65.
- Leal, D.D.M., O'Dwyer, L.H., Ribeiro, V.C., Silva, R.J., Ferreira, V.L. Rodrigues, R.B. (2009). Hemoparasites of the genus *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) and hemogregarines in anurans of the São Paulo and Mato Grosso do Sul States-Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 81(2), 199-206.
- Leboeuf, A. & Ringenbach, —. (1910). Sur quelques hématozoaires du Congo. *Annales de l'Institut Pasteur*, 24, 945.
- Le Bail, O., & Landau, I. (1974). Description and experimental life cycle of *Schellackia balli* n. sp. (Lankesterellidae) a parasite of toads in Guyana (author's transl). *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 49(6), 663-668.

- Lee, J. J., Hutner, S. H., & Bovee, E. C. (1985). An Illustrated Guide to the protozoa. Society of Protozoologists, Allen Press, Kansas.
- Lee, J. J., Leedale, G. F., & Bradbury, P. (2000). The Illustrated Guide to the protozoa. Society of Protozoologists, Allen Press, Kansas.
- Lehane, M. (2005). The biology of blood-sucking in insects, 2nd edition Cambridge University Press, Cambridge.
- Lehmann, D. L. (1959). *Karyolysus sonomae* n. sp., a blood parasite from the California yellow-legged frog, *Rana boylei boylei*. Proceedings of the American Philosophical Society, 103(4), 545-547.
- Lemos, M., Morais, D.H., Carvalho, V.T., & D'Agosto, M. (2008). First record of *Trypanosoma chattoni* in Brazil and occurrence of other *Trypanosoma* species in Brazilian frogs (Anura, Leptodactylidae). The Journal of Parasitology, 94(1), 148-51.
- Levine, N. D. (1971). Taxonomy of the piroplasms. Transactions of the American Microscopical Society, 2-33.
- Levine, N. D., & Campbell, G. R. (1971). A check-list of the species of the genus *Haemoproteus* (Apicomplexa, Plasmodiidae). The Journal of Protozoology, 18(3), 475-484.
- Levine, N. D., & Nye, R. R. (1977). A survey of blood and other tissue parasites of leopard frogs *Rana pipiens* in the United States. Journal of Wildlife Diseases, 13(1), 17-23.
- Liu, H., Cupp, E. W., Micher, K. M., Guo, A., & Liu, N. (2004). Insecticide resistance and cross-resistance in Alabama and Florida strains of *Culex quinquefasciatus*. Journal of Medical Entomology, 41(3), 408-413.
- Lukeš, J., Skalický, T., Týč, J., Votýpka, J., & Yurchenko, V. (2014). Evolution of parasitism in kinetoplastid flagellates. Molecular and Biochemical Parasitology, 195(2), 115-122.
- Lunghi, E., Ficetola, G. F., Mulargia, M., Cogoni, R., Veith, M., Corti, C., & Manenti, R. (2018). Batracobdella leeches, environmental features and Hydromantes salamanders. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 7(1), 48-53.
- Maia, J. P., Harris D. J., Carranza S., & Gómez-Díaz E. (2014). A comparison of multiple methods for estimating parasitemia of hemogregarine hemoparasites (Apicomplexa: Adeleorina) and its application for studying infection in natural populations. PLOS ONE, 9(4), e95010.
- Maniero, G. D., & Carey, C. (1997). Changes in selected aspects of immune function in the leopard frog, *Rana pipiens*, associated with exposure to cold. Journal of Comparative Physiology B, 167(4), 256-263.

- Mansour, N. S., & Mohammed, A. H. (1962). *Lankesterella bufonis* sp. nov. parasitizing toads, *Bufo regularis* Reuss, in Egypt. *The Journal of Protozoology*, 9(2), 243-248.
- Manwell, R. D. (1964). The genus *Dactylosoma*. *The Journal of Protozoology*, 11(4), 526-530.
- Marcondes, C. B., Contigiani, M., & Gleiser, R. M. (2017). Emergent and reemerged arboviruses in South America and the Caribbean: why so many and why now?. *Journal of Medical Entomology*, 54(3), 509-532.
- Marsh, D.M., & Trenham, P.C. (2001). Metapopulation dynamics and amphibian conservation. *Conservation Biology*, 15, 40-49.
- Martin, D. S., Wright, A. D. G., Barta, J. R., & Desser, S. S. (2002). Phylogenetic position of the giant anuran trypanosomes *Trypanosoma chattoni*, *Trypanosoma fallisi*, *Trypanosoma mega*, *Trypanosoma neveulemairei*, and *Trypanosoma ranarum* inferred from 18S rRNA gene sequences. *Journal of Parasitology*, 88(3), 566-571.
- May, R. M. (2010). Ecological science and tomorrow's world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1537), 41-47.
- Mayer, A. F. I. C. (1843). *Spicilegium observationum anatomicarum de organo electrico in Raiis anelectricis et de Haematozois*. Bonnae.
- Mathis, C., & Leger, M. (1911). Trypanosomes des batrachiens du Tonkin. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25, 671-681.
- Mazza, S., & Franke, I. (1927). Microfilarias de ranas (*Leptodactylus ocellatus* L.) del norte argentino. *Revista de la Universidad de Buenos Aires*, 5, 899-901.
- McKenzie, V.J. (2007). Human land use and patterns of parasitism in tropical amphibian hosts. *Biological Conservation*, 137, 102-116.
- McKenzie, V. J., & Starks, H. A. (2008). Blood parasites of two Costa Rican amphibians with comments on detection and microfilaria density associated with adult filarial worm intensity. *Journal of Parasitology*, 94(4), 824-829.
- Megía-Palma, R., Martínez, J., & Merino, S. (2013). Phylogenetic analysis based on 18S rRNA gene sequences of *Schellackia* parasites (Apicomplexa: Lankesterellidae) reveals their close relationship to the genus *Eimeria*. *Parasitology*, 140, 1149-1157.
- Megía-Palma, R., Martínez, J., & Merino, S. (2014). Molecular characterization of haemococcidia genus *Schellackia* (Apicomplexa) reveals the polyphyletic origin of the family Lankesterellidae. *Zoologica Scripta*, 43(3), 304-312.
- Merilä, J., & Sterner, M. (2002). Medicinal leeches (*Hirudo medicinalis*) attacking and killing adult amphibians. *Annales Zoologici Fennici*, 39, 343-346.

- Merino, S., Martínez, J., Martínez-de la Puente, J., Criado-Fornelio, Á., Tomás, G., Morales, J., ... & García-Fraile, S. (2006). Molecular characterization of the 18S rDNA gene of an avian Hepatozoon reveals that it is closely related to Lankesterella. *Journal of Parasitology*, 92(6), 1330-1335.
- Mitchell, M.A. (2007). Parasites of amphibians. In Flynn's parasites of laboratory animals (pp. 117-76). Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- Mock, B.A. (1987). Longitudinal patterns of trypanosome infections in red-spotted newts. *Journal of Parasitology*, 73, 730-737.
- Mock, B.A., & Gill, D.E. (1984). The infrapopulation dynamics of trypanosomes in red-spotted newts. *Parasitology*, 88, 267-28.
- Møller, A.P., K. Allander, & R. Dufva. (1990). Fitness effects of parasites on passerine birds: A review. In *Population biology of passerine birds: Integrated approach* (pp. 269-280), Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Moreno, A., González, L. P. & Barreto, D. (2015). Caracterización morfológica de hemoprástos presentes en algunos reptiles y anfibios de Guaviare, Colombia. Unpublished bachelor's degree work, Universidad Colegio Mayor de cundinamarca, Bogotá D.C.
- Morrison, D. A., Bornstein, S., Thebo, P., Wernery, U., Kinne, J., & Mattsson, J. G. (2004). The current status of the small subunit rRNA phylogeny of the coccidia (Sporozoa). *International Journal for Parasitology*, 34(4), 501-514.
- Moser, W.E., Govedich, F.R., & Klemm, D.J. (2009). Annelida, Hirudinida (leeches). *Encyclopedia of Inland Waters*. Elsevier Academic Press, New York.
- Müller, M. I., Morais, D. H., Costa-Silva, G. J., Aguiar, A., Ávila, R. W., & da Silva, R. J. (2018). Diversity in the genus *Rhabdias* (Nematoda, Rhabdiasidae): Evidence for cryptic speciation. *Zoologica Scripta*, 47(5), 595-607.
- Muñoz-Leal, S., Toledo, L.F., Venzal, J.M., Marcili, A., Martins, T.F., Acosta, I.C.L., Pinter, A., Labruna, M.B. (2017). Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: Ornithodoros) associated with stream-breeding frogs (Anura: Cycloramphidae: Cycloramphus) in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8, 282-292.
- Nehili, M., Ilk, C., Mehlhorn, H., Ruhnau, K., Dick, W., & Njayou, M. (1994). Experiments on the possible role of leeches as vectors of animal and human pathogens: a light and electron microscopy study. *Parasitology Research*, 80(4), 277-290.
- Netherlands, E. C., Cook, C. A., Smit, N. J., & du Preez, L. H. (2014). Redescription and

- molecular diagnosis of *Hepatozoon theileri* (Laveran, 1905) (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae), infecting *Amietia quecketti* (Anura: Pyxicephalidae). *Folia Parasitologica*, 61(4), 293-300.
- Netherlands, E. C., Cook, C. A., Kruger, D. J., du Preez, L. H., & Smit, N. J. (2015). Biodiversity of frog haemoparasites from sub-tropical northern KwaZulu-Natal, South Africa. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(1), 135-141.
- Nöller, W. (1912). Über eine neue Schizogonie von *Lankesterella minima* Chaussat. *Archiv für Protistenkunde*, 24, 201-208.
- Nöller, W. (1913). Die Blutprotozoen des Wasserfrosches und ihre Übertragung. *Archiv für Protistenkunde*, 31, 169-240.
- Nöller, W. (1920). Zur Kenntnis der Coccidien des Wasserfrosches (*Eimeria neglecta* nov. spec.) (Befruchtung und Sporogonie von *Lankesterella*). *Arch Protistenkd*, 41, 176-180.
- O'Donoghue, P. (2017). Haemoprotozoa: making biological sense of molecular phylogenies. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 6(3), 241-256.
- Ochoterena, I., & Caballero, E. (1932). Una nueva filaria parasita de las ranas. *Anales del Instituto de Biología, Mexico*, 3, 29-32.
- Olson, S. H., Gangnon, R., Silveira, G. A., & Patz, J. A. (2010). Deforestation and malaria in Mancio Lima county, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 16(7), 1108.
- Omonona, A.O., & Ekpenko, V. (2011). Haematology and prevalence of blood parasites of the common frog (*Rana temporaria*) in the tropical environment. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 3(2), 14-20.
- Pacheco, M. A., Cepeda, A. S., Bernotienė, R., Lotta, I. A., Matta, N. E., Valkiūnas, G., & Escalante, A. A. (2018). Primers targeting mitochondrial genes of avian haemosporidians: PCR detection and differential DNA amplification of parasites belonging to different genera. *International Journal for Parasitology*, 48(8), 657-670.
- Paparini, A., Macgregor, J., Irwin, P. J., Warren, K., & Ryan, U. M. (2014). Novel genotypes of *Trypanosoma binneyi* from wild platypuses (*Ornithorhynchus anatinus*) and identification of a leech as a potential vector. *Experimental Parasitology*, 145, 42-50.
- Paperna, I., & Lainson, R. (1995). *Schellackia* (Apicomplexa: Eimeriidae) of the Brazilian tree-frog, *Phrynohyas venulosa* (Amphibia: Anura) from Amazonian Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(5), 589-592.
- Paperna, I., Bastien, P., Chavatte, J.C, Landau, I. (2009). *Lankesterella poeppigii* n. sp. (Apicomplexa, *Lankesterellidae*) from *Bufo poeppigii* (Tschudi, 1845) from Peru. *Revista*

- Peruana de Biología, 16(2), 165-168.
- Patz, J.A., & Olson, S.H. (2006). Malaria risk and temperature: influences from global climate change and local land use practices. *PNAS*, 103(15), 5635-6.
- Pearman, P.B., & Garner, T.W.J. (2005). Susceptibility of Italian agile frog populations to an emerging *Ranavirus parallels* population genetic diversity. *Ecology Letters*, 8, 401-408.
- Pearman, P. B., Garner, T. W., Straub, M., & Greber, U. F. (2004). Response of the Italian agile frog (*Rana latastei*) to a Ranavirus, frog virus 3: a model for viral emergence in naive populations. *Journal of Wildlife Diseases*, 40(4), 660-669.
- Pessier, A.P. (2007). Cytologic Diagnosis of Disease in Amphibians. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 10(1), 187-206.
- Petit, G., Landau, I., Baccam, D., & Lainson, R. (1990). Description et cycle biologique d'*Hemolivia stellata* ng, n. sp., hémogrégarine de crapauds brésiliens. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 65(1), 3-15.
- Poulin, R., & Morand, S. (2000). The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology*, 75, 277-293.
- Pounds, J. A., Bustamante, M. R., Coloma, L. A., Consuegra, J. A., Fogden, M. P., Foster, P. N., ... & Young, B. E. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439(7073), 161-167.
- Price, S.J., Garner, T.W.J., Nichols, R. A., Balloux, F., Ayres, C., Mora-Cabello de Alba, A., & Bosch, J. (2014). Collapse of amphibian communities due to an introduced Ranavirus. *Current Biology*, 24, 2586-2591.
- Raffel, T. R., Dillard, J. R., & Hudson, P. J. (2006). Field evidence for leech-borne transmission of amphibian *Ichthyophonus* sp. *Journal of Parasitology*, 92(6), 1256-1264.
- Rajabi, F., Javanbakht, H., & Sajjadi, S. S. (2017). A preliminary study of haemoparasites in marsh frogs, *Pelophylax ridibundus* (Ranidae) from Iran. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(4), 1314-1317.
- Randolph, S. E. (2008). The impact of tick ecology on pathogen transmission dynamics. In *Ticks. Biology, disease and control* (pp. 40-72). Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Readel, A. M., & Goldberg, T. L. (2010). Blood parasites of frogs from an equatorial African montane forest in western Uganda. *Journal of Parasitology*, 96(2), 448-450.
- Reichenbach-Klinke, H., & Elkan, E. (1965). *The Principal Diseases of Lower Vertebrates. Book 2. Diseases of Amphibians*. Academic Press, London.

- Reichenow, E. (1921). Die Hämococcidien der Eidechsen: Vorbemerkungen und I. Teil, die Entwicklungsgeschichte von Karyolysus. Gustav Fischer.
- Richards, F.A., Sehgal, R.N.M., Jones, H.I., Smith, T.B. (2002). A comparative analysis of PCR-based detection methods for avian malaria. *Journal of Parasitology*, 88, 819-822.
- Rikihisa, Y. (2006). New findings on members of the family Anaplasmataceae of veterinary importance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078(1), 438-445.
- Robert, J. (2016). The Immune System of Amphibians. In *Encyclopedia of Immunobiology* (pp. 486-492). Academic Press Elsevier Ltd.
- Rocha, R., Borda, E., Andreone, F., & Rosa, G. M. (2012). First reports of leech parasitism in Malagasy anurans. *Comparative Parasitology*, 79(2), 352-356.
- Rohr, J. R., Raffel, T. R., Romansic, J. M., McCallum, H., & Hudson, P. J. (2008). Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(45), 17436-17441.
- Romano, A., & Di Cerbo, A.R. (2007). Leech predation on amphibian eggs. *Acta Zoologica Sinica*, 53, 750-754.
- Rungsipipat, A. (2005). Cell of Chronic Inflammation. In *General Veterinary Pathology* (pp. 103-108). Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Point Graphic Ltd, Bangkok, Thailand.
- Sailasuta, A., Satetasit, J., & Chutmongkonkul, M. (2011). Pathological Study of Blood Parasites in Rice Field Frogs, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834),” *Veterinary Medicine International*, 2011, Article ID 850568.
- Sanders, E. P. (1928). Observations and experiments on the haemogregarines of certain amphibia. *The Journal of Parasitology*, 14(3), 188-192.
- Sawyer, R. T., Lepont, F., Stuart, D. K., & Kramer, A. P. (1981). Growth and reproduction of the giant glossiphoniid leech *Haementeria ghilianii*. *The Biological Bulletin*, 160(2), 322-331.
- Sawyer, R. T. (1986). *Leech Biology and Behavior*. Clarendon Press, Oxford.
- Schacher, J.F., & Crans, W.J. (1973). *Foleyella flexicauda* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from *Rana catesbeiana* in New Jersey, with a review of the genus and erection of two new subgenera. *Journal of Parasitology* 59: 685-691.
- Schloegel, L. M., Picco, A. M., Kilpatrick, A. M., Davies, A. J., Hyatt, A. D., & Daszak, P. (2009). Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and ranavirus infection in imported North American bullfrogs (*Rana*

- catesbeiana*). Biological Conservation, 142(7), 1420-1426.
- Schloegel, L. M., Daszak, P., Cunningham, A. A., Speare, R., & Hill, B. (2010). Two amphibian diseases, chytridiomycosis and ranaviral disease, are now globally notifiable to the World Organization for Animal Health (OIE): an assessment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 92(2-3), 101-108.
- Schmid-Hempel, P. (2011). *Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology, ecology, and genetics*. University Press Oxford, Oxford.
- Schmidt, G.D., & Kuntz R.E. (1969). Nematode parasites of Oceanica. VI. *Foleyella confusa* sp. n., *Icosiella hoogstraali* sp. n. (Filarioidea), and other species from Philippine amphibians. *Parasitology*, 59, 885-889.
- Schurmans-Stekhovek, J.H. (1951). Nematodos parásitos de anfibios, pájaros y mamíferos de la República Argentina. *Acta Zoologica Lilloana*, 32, 315-400.
- Shutler, D., Smith, T. G., & Robinson, S. R. (2009). Relationships between leukocytes and *Hepatozoon* spp. in green frogs, *Rana clamitans*. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), 67-72.
- Sergent, E., & Sergent, E. T. (1904). Sur une hémogrégarine, parasite de *Testudo mauritanica*. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses Filiales*, 56, 130-131.
- Siddall, M. E., & Desser, S. S. (1991). Merogonic development of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa: Adeleina: Haemogregarinidae) in the leech *Placobdella ornata* (Glossiphoniidae), its transmission to a chelonian intermediate host and phylogenetic implications. *The Journal of Parasitology*, 426-436.
- Sket, B., & Trontelj, P. (2007). Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater. In *Freshwater animal diversity assessment* (pp. 129-137). Springer, Dordrecht.
- Smallridge, C., & Paperna, I. (1997). The tick-transmitted haemogregarinid of the Australian sleepy lizard *Tiliqua rugosa* belongs to the genus *Hemolivia*. *Parasite*, 4(4), 359-363.
- Smith, T. G. (1996). The genus *Hepatozoon* (apicomplexa: adeleina). *The Journal of Parasitology*, 565-585.
- Smyth, J. D., & Wakelin, D. (1994). *Introduction to animal parasitology*. Cambridge university press.
- Sorsoli, W. A. (1961). The biology of *karyolysus dilloni* n. sp. from rana aurora draytoni: a thesis Master Thesis University of the Pacific available in https://scholarlycommons.pacific.edu/uop_etds/1473
- Somsiri, T., Chinabut, S., & Soontornvit, S. (1997). Challenge of cultured frogs (*Rana tigerina*)

- with *Aeromonas* species. In *Diseases in Asian Aquaculture III* (pp. 15-18). Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila.
- Speare, R. (1990). A review of the diseases of the cane toad, *Bufo marinus*, with comments on biological control. *Australian Wildlife Research*, 17(4), 387-410.
- Speare, R., Freeland, W. J., & Bolton, S. J. (1991). A possible iridovirus in erythrocytes of *Bufo marinus* in Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases*, 27(3), 457-462.
- Speare, R., & Smith, J. R. (1992). An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 14, 51-51.
- Spodareva, V. V., Grybchuk-Ieremenko, A., Losev, A., Votýpka, J., Lukeš, J., Yurchenko, V., & Kostygov, A. Y. (2018). Diversity and evolution of anuran trypanosomes: insights from the study of European species. *Parasites & Vectors*, 11(1), 1-12.
- Stead, J. E., & Pope, K. L. (2010). Predatory leeches (Hirudinida) may contribute to amphibian declines in the Lassen region, California. *Northwestern Naturalist*, 91(1), 30-39.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S., Fischman, D. L., & Waller, R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702), 1783-1786.
- Sutherst, R. W. (2004). Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 136-173.
- Taylor, S.K., D.E. Green, K.M. Wright, & B. R. Whitaker. (2001). Bacterial diseases. In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry* (pp. 159-179). Krieger Publishing Co., Malabar, FL.
- Telford, S. R. (2009). *Hemoparasites of the Reptilia: Color atlas and text*. CRC Press, New York, New York.
- Tiberti, R., & Gentili, A. (2010). First report of freshwater leech *Helobdella stagnalis* (Rhyncobdellida: Glossiphoniidae) as a parasite of an anuran amphibian. *Acta Herpetologica*, 5(2), 255-258.
- Tinsley, R.C. (1995). Parasitic disease in amphibians: control by the regulation of worm burdens. *Parasitology*, 111(Suppl.), 153-178.
- Trauth, S. E., & Neal, R. G. (2004). Geographic range expansion and feeding response by the leech *Macrobdella diplotertia* (Annelida: Hirudinea) to wood frog and spotted salamander egg masses. *Journal of the Arkansas Academy of Science*, 58(1), 139-141.
- Tse, B., Barta, J. R., & Desser, S. S. (1986) Comparative ultrastructural features of the

- sporozoite of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in its anuran host and leech vector. *Canadian Journal of Zoology*, 64, 2344-2347.
- Valkiūnas, G., Bensch, S., Iezhova, T. A., Križanauskienė, A., Hellgren, O., & Bolshakov, C. V. (2006). Nested cytochrome b polymerase chain reaction diagnostics underestimate mixed infections of avian blood haemosporidian parasites: microscopy is still essential. *Journal of Parasitology*, 92(2), 418-423.
- Valkiūnas, G., Iezhova, T.A., Križanauskienė, A., Palinauskas, V., Sehgal, R.N.M., Hellgren, O. & Bensch, S. (2008). A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. *Journal of Parasitology*, 94, 1395-1401.
- Vargas-León, C. M., & Matta, N. E. (2018). Morphological and molecular characterization of *Trypanosoma* (Euglenozoa: Kinetoplastida) parasites of the biological collection GERPH-Colombia. Unpublished bachelor's degree work, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.
- Vargas-León, C. M., González, L. P., Calderón-Espinosa, M. L., Matta, N. E. (2019). Análisis morfométrico de parásitos del género *Trypanosoma* en anfibios de vida silvestre en Colombia. In Asociación Colombiana de Zoología (Eds.), Libro de resúmenes, V Congreso Colombiano de Zoología. (pp. 369). Available online at <http://vccz.aczcolombia.org/wp-content/uploads/2019/02/resumenes.pdf>
- Vickerman, K. (1976). The diversity of the kinetoplastid flagellates. In *Biology of the kinetoplastida*, vol 1 (pp. 1-34). Academic press inc., New York.
- Viola, L. B., Almeida, R. S., Ferreira, R. C., Campaner, M., Takata, C. S. A., Rodrigues, A. C., ... & Teixeira, M. M. G. (2009). Evolutionary history of trypanosomes from South American caiman (*Caiman yacare*) and African crocodiles inferred by phylogenetic analyses using SSU rDNA and gGAPDH genes. *Parasitology*, 136(1), 55-65.
- Wake, D. B. (1991). Declining amphibian populations. *Science*, (80)253, 860-861.
- Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1), 11466-11473.
- Walker, D.H. (1996). Rickettsiae. In *Medical microbiology*. The University of Texas Medical Branch, Galveston, U.S.A.
- Walton, A.C. (1929). Studies on Some Nematodes of North American Frogs. I. *The Journal of Parasitology*, 15(4), 227-249.
- Wehr, E. E., & Causey, O. R. (1939). Two new Nematodes (Filarioidea: Dipetalonematidae)

- from *Rana sphenoccephala*. American Journal of Hygiene, 30(2), 65-68.
- Weldon, C., Du Preez, L. H., Hyatt, A. D., Muller, R., & Speare, R. (2004). Origin of the amphibian chytrid fungus. Emerging Infectious Diseases, 10(12), 2100.
- Wells, K.D. (2007). The Ecology and Behaviour of Amphibians. University of Chicago Press, Chicago.
- Wenyon, C. M. (1926). Protozoology. A Manual for Medical Men, Veterinarians and Zoologists. Baillikre, Tindall and Cox, London.
- Witenberg, G., & Gerichter, C. (1944). The morphology and life history of *Foleyella duboisi* with remarks on allied filariids of amphibia. Journal of Parasitology, 30, 245-256.
- Wright, K. (2001). Amphibian hematology. In Amphibian medicine and captive husbandry (pp. 129-146). Krieger Publishing, Malabar, FL.
- Young, S., Warner, J., Speare, R., Berger, L., Skerratt, L. F., & Muller, R. (2012). Hematologic and plasma biochemical reference intervals for health monitoring of wild Australian tree frogs. Veterinary Clinical Pathology, 41(4), 478-492.
- Žičkus, T. (2002). The first data on the fauna and distribution of blood parasites of amphibians in Lithuania, Acta Zoologica Lituanica, 12(2), 197-202.