



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL – PPGCA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Clauberth César Alves Carvalho

**PESQUISA DE PARASITAS DOS GÊNEROS *TRYPANOSSOMA* E
LEISHMANIA EM PEQUENOS MAMÍFEROS NO MUNICÍPIO DE
SÃO LUÍS-MARANHÃO, BRASIL.**

SÃO LUÍS- MA

2022



Pesquisa de parasitas dos gêneros *Trypanossoma* e *Leishmania* em pequenos mamíferos no município de São Luís – Maranhão, Brasil.

Clauberth César Alves Carvalho

Profa. Dra. Andréa Pereira da Costa

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão –UEMA como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva, Reprodução e Conservação Animal

Linha de Pesquisa: Epidemiologia, Patogênese e Controle de Doença de Animais e Microbiologia dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Andréa Pereira da Costa.

SÃO LUÍS-MA

2022

Carvalho, Clauberth César Alves

Pesquisa de parasitas dos gêneros *trypanossoma* e *leishmania* em pequenos mamíferos no município de São Luís - Maranhão, Brasil. / Clauberth César Alves Carvalho. – São Luis, MA, 2024.

88 f

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, 2024.

Orientador: Profa. Dra. Andréa Pereira da Costa

1.Roedores. 2.*Leishmania*. 3.*Trypanosoma*. I.Título.

CDU: 576.89(812.1)

CLAUBERTH CÉSAR ALVES CARVALHO

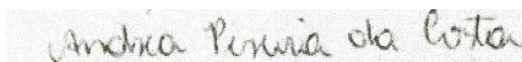
Pesquisa de parasitas dos gêneros *Trypanossoma* e *Leishmania* em pequenos mamíferos
no município de São Luís – Maranhão, Brasil.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão –UEMA como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva, Reprodução e Conservação Animal

Linha de Pesquisa: Epidemiologia, Patogênese e Controle de Doença de Animais e Microbiologia dos Alimentos.

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em: 30 / 08 / 2022 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

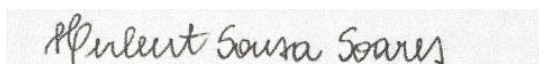


Prof^a. Dra. Andréa Pereira da Costa (Orientadora)



Prof^a. Dra. Rita de Maria Seabra Nogueira

1º Membro Titular



Prof Dr. Herbeth Sousa Soares

2ºMembro titular

Epígrafe

“Não vai demorar que passemos adiante uma grande e bela ciência, que faz parte em defesa da vida”.

Carlos Chagas, 1928

FOLHA DE DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, amigos, ao Grupo de Pesquisa em Parasitologia Veterinária em especial aos Professores Andréa Pereira da Costa e Francisco Borges Costa, aos colegas Nayara Louzeiro, Danielle Coutinho, Gianluca Bêrredo, Verdson Frazão e Júlia Lemos), e aos demais que também contribuíram de alguma forma. Meu muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela dádiva da vida, e por me manter forte e dedicado para alcançar todos os objetivos da vida, sem ele nada seria possível. À minha família, pelo incentivo de fazer a seleção do Mestrado e concluí-lo.

A FAPEMA pela concessão da bolsa, pois essa ajuda é essencial para qualquer pesquisador.

A professora Dra Andréa Costa, por todo incentivo, por acreditar no meu potencial, por me oferecer ajuda sempre que precisei, e por ser compreensiva e amiga. Meu muito obrigado, por me acolher como seu orientado desde o primeiro PIBIC até aqui.

Ao professor Dr Francisco Borges Costa, por sua ajuda nas coletas, pelo incentivo, ensinamentos e por fazer eu rir mesmo quando não queria.

A minha amiga Nayara Louzeiro, por sua ajuda em qualquer coisa que eu precisei, por sempre me ouvir de problemas da vida, e me aconselhar em tudo.

A Danielle Jordanny pela amizade, risadas e todo auxílio na parte de biologia molecular da execução do trabalho.

A Thalianne França pelo apoio e pela elaboração do Mapa.

Aos colegas de laboratório Gianluca Berredo, Verdson Frazão, Júlia Lemos, pela ajuda nas coletas, e por se colocarem a disposição quando eu mais precisei.

Aos meus amigos Andressa Emilly, Ivisson Pinheiro, Bianca Aguiar, Bruna Shirakubo, Adriana Costa, Ruan Marques, Priscila Alencar, Beatriz Rocha que sempre me apoiaram durante toda o mestrado.

A minha equipe do estágio vivência Ana Karoline Sodré, Rayka Milene, e aos demais, pelo companheirismo e amizade nessa experiência, que irei levar para sempre.

A Kellen Lisboa por sempre me acolher no Laboratório de Patologia Clínica durante o tempo vago.

A Rayanne Diniz pelo seu apoio e amizade desde a graduação e até hoje. Obrigado!

Ao PPGCA pela oportunidade de conclusão do curso de Mestrado em Ciência Animal.

A Francisca Silva Araújo (Fran) por todo suporte, e auxílio nos as: acadêmicos.

Ao Laboratório de Patologia Molecular- LaPMol por ceder o espaço e equipamentos para realização da parte molecular da pesquisa.

A toda equipe do Laboratório Multiusuário de Pós-Graduação em Ciência Animal – LAMP.

Meu muito obrigado!



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 64649-2	Data da Emissão: 31/10/2019 07:37:20	Data da Revalidação*: 23/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: THALIANE FRANÇA COSTA	CPF: 606.338.613-08
Título do Projeto: OCORRÊNCIA DE Leishmania sp. e Trypanosoma cruzi EM ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS DE UM BAIRRO DA ÁREA ITAQUI-BACANGA, SÃO LUÍS, MARANHÃO.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura de animais silvestres e Coleta de material biológico	10/2019	10/2020
2	Captura de animais silvestres e Coleta de material biológico	09/2018	09/2019

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Andréa Pereira da Costa	Coordenador	972.576.723-34	Brasileira
2	Ana Vitória Verde Oliveira Rocha	Colaboradora	015.734.613-77	Brasileira
3	Francisco Borges Costa	Colaborador	738.087.683-04	Brasileira
4	Rita de Maria Seabra Nogueira de Candanedo Guerra	Colaboradora	206.957.993-04	Brasileira



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 64649-2	Data da Emissão: 31/10/2019 07:37:20	Data da Revalidação*: 23/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: THALIANE FRANÇA COSTA	CPF: 606.338.613-08
Título do Projeto: OCORRÊNCIA DE Leishmania sp. e Trypanosoma cruzi EM ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS DE UM BAIRRO DA ÁREA ITAQUI-BACANGA, SÃO LUÍS, MARANHÃO.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68

Observações e ressalvas

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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 64649-2	Data da Emissão: 31/10/2019 07:37:20	Data da Revalidação: 23/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: THALIANE FRANÇA COSTA	CPF: 606.338.613-08
Título do Projeto: OCORRÊNCIA DE <i>Leishmania</i> sp. e <i>Trypanosoma cruzi</i> EM ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS DE UM BAIRRO DA ÁREA ITAQUI-BACANGA, SÃO LUÍS, MARANHÃO.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	BAIRRO ANJO DA GUARDA	São Luís-MA	Amazônia	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Rodentia	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Rodentia	-
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Rodentia	4
4	Captura de animais silvestres in situ	Didelphidae	-
5	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Didelphidae	-
6	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Didelphidae	4

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Ectoparasita, Fragmento de tecido/órgão, Outras amostras biológicas, Sangue, Secreção
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Armadilha tipo gaiola com atração por iscas (2-Box Trap/Tomahawk/Sherman ₄)



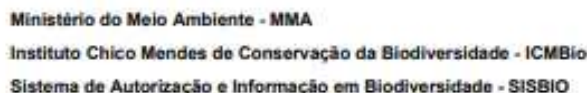
Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 64649-2	Data da Emissão: 31/10/2019 07:37:20	Data da Revalidação*: 23/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: THALIANE FRANÇA COSTA	CPF: 606.338.613-08	
Título do Projeto: OCORRÊNCIA DE Leishmania sp. e Trypanosoma cruzi EM ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS DE UM BAIRRO DA ÁREA ITAQUI-BACANGA, SÃO LUÍS, MARANHÃO.		
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68	

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	Laboratório



Número: 64649-2	Data da Emissão: 31/10/2019 07:37:20	Data da Revalidação*: 23/10/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Nome: THALIANE FRANÇA COSTA	CPF: 606.338.613-08
Título do Projeto: OCORRÊNCIA DE <i>Leishmania sp.</i> e <i>Trypanosoma cruzi</i> EM ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS DE UM BAIRRO DA ÁREA ITAQUI-BACANGA, SÃO LUÍS, MARANHÃO.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68

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

[illegible]



CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT
Processo 01200.002200/2015-06 - 19/06/2015

FORMULÁRIO DE PARECER

**DATA DA
ENTREGA DO
PROCESSO**
17/04/2018

**NÚMERO DO
PROCESSO**
09/2018

**NÚMERO DO
PARECER**
09/2018

**DATA DO
PARECER**
17/05/2018

1. TÍTULO DO PROJETO

EPIDEMIOLOGIA E VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Trypanosoma* sp. EM ANIMAIS E TRIATOMÍNEOS DE UMA REGIÃO DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.

2. LOCAL DA EXECUÇÃO (IES/Laboratório)

Laboratório de Patologia Molecular- Medicina Veterinária/ CCA/UEMA.

3. OBJETIVO

Geral: Determinar a variabilidade genética de populações do *Trypanosoma* sp. Que circulam em animais e triatomíneos em uma localidade do município de São Luís.

Específicos: Isolar parasitas do gênero *Trypanosoma* em pequenos mamíferos silvestres e em triatomíneos que circulam em uma localidade do município de São Luís, Maranhão; Diagnosticar e caracterizar, por meio de estudo molecular, amostras colhidas de pequenos mamíferos silvestres e em triatomíneos que circulam na região; Investigar a existência de genótipos associados à área geográfica estudada e espécies de pequenos mamíferos silvestres; Conhecer a riqueza de espécies de pequenos mamíferos silvestres e triatomíneos na área de estudo.

4. ESPÉCIE ANIMAL/RAÇA

Espécie Animal: caninos (*Canis familiaris*), Marsupiais.

5. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA AUTORIZADA.

Serão disponibilizadas gaiolas para a captura dos pequenos roedores e marsupiais. Os espécimes capturados serão mantidos individualmente em gaiolas, para a devida identificação e tomada de dados biométricos e fotografias. Em seguida serão sedados para a coleta de sangue, para fins de isolamento de parasitas por meio de cultura e posteriormente reintroduzidos a natureza. Os animais domésticos – Cães, serão contidos para a coleta de sangue pela veia jugular ou cefálica 5 ml de sangue.

6. PERÍODO DE EXECUÇÃO DA PESQUISA

Início: 01/08/2018 - Término: 30/11/2019

7. PESQUISADOR RESPONSÁVEL/EXECUTOR

Executor da pesquisa: Thalline França Costa – Pós-Graduada do PPGCA.

Nome do orientador: Profa. Dra. Andréa Pereira da Costa

8. EQUIPE/COLABORADORES

Profa. Dra. Andressa Pereira da Costa (UEMA)
Profa. Dra. Rita Maria Seabra Guerra (UEMA);
Prof. Dr. Francisco Borges da Costa (UEMA)
Profa. Dra. Márcia Aparecida Esperança (UFABC)

PESQUISA DE PARASITAS DOS GÊNEROS *TRYPANOSSOMA* E *LEISHMANIA* EM PEQUENOS MAMÍFEROS NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS-MARANHÃO, BRASIL.2022. 88 F. DISSERTAÇÃO (MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO, SÃO LUÍS, 2022.

RESUMO

As espécies dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* parasitam vertebrados, com ciclos de vida alternando entre vertebrados (mamíferos, peixes, anfíbios, répteis e aves, no caso de parasitas do gênero *Trypanossoma*, e as espécies de *Leishmania*, mamíferos do Velho e Novo Mundo) e invertebrados (triatomíneos e dípteros hematófagos para *Trypanossoma* e dípteros hematófagos para *Leishmania*). Considerando a importância de pequenos mamíferos silvestres como reservatórios destes parasitos, objetivou-se realizar o diagnóstico de *Trypanosoma* e *Leishmania* nesses hospedeiros na Área de Preservação Ambiental (APA) do Itaqui-Bacanga, APA do Maracanã e no campus Paulo VI da Universidade Estadual do Maranhão/UEMA do município de São Luís-Maranhão. Foram realizadas 11 coletas, sendo quatro na APA do Maracanã (janeiro, junho, setembro e dezembro de 2018); três na Área do Itaqui – Bacanga (dezembro de 2020, julho e dezembro de 2021) e quatro no campus Paulo VI da UEMA (maio, agosto e outubro de 2021), e capturados 36 animais. Os animais foram capturados pelo uso de armadilhas do tipo *Sherman* e *Tomahawk*. Os animais foram anestesiados e alguns espécimes eutanasiados para colheita de amostras biológicas. Foram coletadas amostras de sangue (punção cardíaca ou veia caudal) para hemocultura em meio de cultura bifásico (BAB/LIT) em duplicata por animal. Esfregaços sanguíneos foram confeccionados, em triplicata, para a pesquisa dos parasitos, e essas amostras sanguíneas foram utilizadas para o diagnóstico molecular. Dos animais eutanasiados foram colhidas amostras de sangue e fragmentos de fígado e baço para extração de DNA e posterior análise molecular, totalizando 81 amostras. A extração de DNA das amostras foi realizada através do Kit GeneJet Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific®) e para amplificação foram utilizados os genes V7V8 de SSU rRNA, gGAPDH e o Catepsina L-like. Todos os esfregaços e hemoculturas foram negativos, contudo na análise molecular para o gene V7V8, oito amostras foram positivas, provenientes de seis animais, sendo três da espécie *Didelphis marsupialis*, da APA do Maracanã, e um *Rattus rattus*, dois *Rattus* sp. da área do Itaqui-Bacanga; e para o gene gGAPDH, nove amostras de sete animais foram positivas, sendo três *Didelphis marsupialis* (APA do Maracanã), um *Rattus norvegicus*, um *Rattus rattus* e dois *Rattus* sp. (APA do Itaqui-Bacanga). Não houve positividade na análise molecular para o gene Catepsina L-like. É importante dar continuidade ao monitoramento dos pequenos mamíferos silvestres nessas áreas, uma vez que os resultados confirmam a presença de *Trypanossoma*, pois em áreas endêmicas roedores e marsupiais são reservatórios dessas espécies, contribuindo para manutenção do ciclo silvestre e peridoméstico.

PALAVRAS-CHAVE: roedores, *Leishmania*, *Trypanosoma*

RESEARCH FOR PARASITES OF THE GENRES *TRYPANOSOMA* AND *LEISHMANIA* IN SMALL MAMMALS IN THE MUNICIPALITY OF SÃO LUÍS-MARANHÃO, BRAZIL.2022. 88 F. DISSERTATION (MASTER IN ANIMAL SCIENCE) - STATE UNIVERSITY OF MARANHÃO, SÃO LUÍS, 2022.

ABSTRACT

Species of the genera *Trypanosoma* and *Leishmania* parasitize vertebrates, with life cycles alternating between vertebrates (mammals, fish, amphibians, reptiles and birds, in the case of parasites of the genus *Trypanosoma*, and the species of *Leishmania*, mammals of the Old and New World) and invertebrates (triatomines and blood-sucking dipterans for *Trypanosoma* and blood-sucking dipterans for *Leishmania*) Considering the importance of small wild mammals as reservoirs of these parasites, the objective was to carry out the diagnosis of *Trypanosoma* and *Leishmania* in these hosts in the Environmental Protection Area (APA) of Itaqui-Bacanga , APA do Maracanã and at the Paulo VI campus of the State University of Maranhão/UEMA in the municipality of São Luís-Maranhão. Eleven collections were carried out, four in the Maracanã APA (January, June, September and December 2018); three in the Itaqui – Bacanga Area (December 2020, July and December 2021) and four in the Paulo VI campus of UEMA (May, August and October 2021), and 36 animals were captured. The animals were captured using *Sherman* and *Tomahawk* traps. The animals were anesthetized and some specimens euthanized for collection of biological samples. Blood samples were collected (cardiac puncture or caudal vein) for blood culture in biphasic culture medium (BAB/LIT) in duplicate per animal. Blood smears were prepared, in triplicate, to investigate the parasites, and these blood samples were used for molecular diagnosis. Blood samples and liver and spleen fragments were collected from the euthanized animals for DNA extraction and subsequent molecular analysis, totaling 81 samples. DNA extraction from the samples was performed using the GeneJet Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific®) and the V7V8 genes of SSU rRNA, gGAPDH and Cathepsin L-like were used for amplification. All smears and blood cultures were negative, however in the molecular analysis for the V7V8 gene, eight samples were positive, from six animals, three of the species *Didelphis marsupialis*, from APA do Maracanã, and one *Rattus rattus*, two *Rattus* sp. from the Itaqui-Bacanga area; and for the gene gGAPDH, nine samples from seven animals were positive, three of which *Didelphis marsupialis* (APA do Maracanã), one *Rattus norvegicus*, one *Rattus rattus* and two *Rattus* sp. (APA of Itaqui-Bacanga). There was no positivity in the molecular analysis for the Cathepsin L-like gene. It is important to continue the monitoring of small wild mammals in these areas, since the results confirm the presence of *Trypanosoma*, since in endemic areas rodents and marsupials are reservoirs of these species, contributing to the maintenance of the wild and peridomestic cycle.

KEYWORDS: rodents, *Leishmania*, *Trypanosoma*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

μl	Microlitros
∞	Infinito
APA	Área de Preservação Ambiental
BAB	Blood Agar Base
DNA	Ácido desoxirribonucleico
gGAPDH	Gene que codifica a enzima Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase glicossômica
H ₂ O	Água
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
Kg	Quilograma
LIT	Liver Infusion Tryptose
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
Rnase	Ribonuclease
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SSU rRNA	Subunidade menor do RNA ribossômico
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Espécies e sexo de marsupiais e roedores capturados nas Áreas de 49
Preservação Ambiental do Maracanã e do Itaqui- Bacanga e Universidade
Estadual do Maranhão/UEMA campus Paulo VI, município de São Luis, estado
do Maranhão, Brasil
- Tabela 2-** Identificação de espécies positivas no V7V8 e gGAPDH. 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo Biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	33
Figura 2- Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> sp.	38
Figura 3- Mapa do estado do Maranhão demonstrando as áreas de coleta.	44
Figura 4- Armadilha do tipo Shermman.	45
Figura 5- Armadilha do tipo Tomahawk.	45
Figura 6- Fita de identificação, indicando a trilha e armadilha correspondente.	45
Figura 7- Pesagem de marsupial.	46
Figura 8- Medidas morfométricas.	46
Figura 9- Espécime de <i>Didelphis marsupialis</i> capturado em gaiola Tomahawk.	51
Figura 10- Espécime de <i>Monodelphis domestica</i> capturado em gaiola Tomahawk.	52
Figura 11- Espécime de <i>Rattus</i> sp. capturado em armadilha Tomahawk.	52

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1 Tripanossomatídeos	26
2.1.1 Gênero <i>Trypanosoma</i>	27
2.1.2 Gênero <i>Leishmania</i>	34
2.2 Genes tradicionalmente utilizados em análises filogenéticas de tripanossomatídeos: SSUrRNA, gGAPDH e Catepsina L-like	38
2.2.1 Gene que codifica a subunidade menor do RNA Ribossômico (SSU rRNA)	39
2.2.2 Gene Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase glicosomal (gGAPDH)	40
2.2.3 Gene Catepsina L- like	40
3 OBJETIVOS	42
3.1 Objetivo Geral:	42
3.2 Objetivos Específicos:	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Licenças e Comitê de Ética	43
4.2 Áreas de estudo	43
4.3 Captura e identificação dos animais	44
4.4 Coleta de amostras biológicas	46
4.5 Isolamento de parasitas dos gêneros <i>Trypanosoma</i> e <i>Leishmania</i>	47
4.6 Esfregaços sanguíneos	47
4.7 Extração de DNA genômico	47
4.8 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)	47
4.9 Purificação e Sequenciamento	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6. CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Animais sinantrópicos são aqueles que possuem alta capacidade adaptativa e reprodutiva, conseguindo habitar regiões urbanas, por terem disponibilidade de abrigo, alimento e água, o que acarreta grande incômodo à população, pois esses animais podem ocupar essas áreas, danificar construções, transmitir doenças para outros animais, além do risco de agravos a saúde pública (ZORZENON, 2002). Fatores como degradação ambiental, crescimento desordenado das cidades, invasão de áreas verdes, conturbação, mudanças nos biomas e ecossistemas, influenciam para que esses animais se adaptem a viver na zona urbana, promovendo contato com animais domésticos e humanos (ARAÚJO, 2018).

Dentre os animais sinantrópicos, os ratos são mais comuns nos domicílios, o que é bastante preocupante, isso porque podem transmitir leptospirose, peste bubônica, tifo murino e hantavirose, além de servirem como reservatórios de parasitas como, pulga, *Leishmania* sp e *Trypanossoma* sp. (OLIVEIRA *et al.*, 2009; BASSANI *et al.*, 2014; FONSECA *et al.*, 2018). Assim como os marsupiais do gênero *Didelphis*, que são apontados como reservatórios de parasitas como *Toxocara* sp., *Trichuris* sp, *Cryptosporidium* sp, bem como os hemoparasitos *Leishmania* sp e *Trypanosoma* sp., e, os marsupiais são considerados hospedeiros muito antigos do clado *T. cruzi* (CABRERA *et al.*, 2003; ANTUNES, 2005; SCHALLIG, *et al.*, 2007; ZANETTE, 2007; SILVA *et al.*, 2016; LOPES *et al.*, 2018).

Os animais silvestres da fauna brasileira são encontrados na natureza (vida silvestre) ou no cativeiro vivendo em parques zoológicos (zôos), criadouros conservacionistas, científicos ou comerciais, institutos de pesquisa, centros de triagem e reabilitação, ou em residências de munícipes (criados ilegalmente como animais de estimação), e tais animais, seja de vida silvestre ou de cativeiro, podem ser reservatórios e portadores de zoonoses (SILVA, 2004).

No Brasil, foram relatadas epidemias urbanas de leishmaniose e doença de Chagas, e, portanto, é de fundamental importância a identificação dos animais que servem de reservatório para esses protozoários (WHO, 2019).

A doença de Chagas é endêmica em 21 países da América Latina e afeta cerca de 6 milhões pessoas. Nas Américas, essa doença apresenta uma incidência anual média de 30.000 novos casos, 12.000 mortes por ano e 8.600 recém-nascidos infectados durante a gestação, enquanto a leishmaniose apresenta mais de 12 milhões de pessoas

infectadas, possuindo anualmente entre 20.000 e 30.000 mortes e cerca de 350 milhões de pessoas em risco de infecção (WHO, 2021).

A leishmaniose é uma das mais importantes doenças parasitárias emergentes e reemergentes, amplamente distribuída pelo mundo, desde a Ásia até à América, afetando animais e o homem, sendo, uma doença zoonótica, que apresenta como principais formas: cutânea, visceral e mucocutânea (ALVARENGA, 2010; WHO, 2019). Foram reportados casos de leishmaniose cutânea na América, desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, a cada ano são reportados em média 55.000 casos de leishmaniose cutânea e mucosa e 3.500 casos de leishmaniose visceral, apresentando taxa de mortalidade de 7%, está concentrada em 4 países América do Sul e Central: Brasil, Colombia, Peru e Nicaragua (WHO, 2022).

Pesquisa recente realizada por Costa *et al.*, (2021), com cães domésticos na Área do Itaqui Bacanga, no município de São Luís-MA, para pesquisa de *Trypanosma cruzi* em 330 amostras, obtiveram os seguintes resultados: 105 (31,8%) foram reativos na RIFI, 46 (13,0%) no ELISA e 20 (6,0%) nos dois testes sorológicos, enquanto que na PCR, 58 amostras foram positivas (330/17,5%), e destas, uma (0,3%) após o sequenciamento apresentou similaridade com o *T. cruzi*.

Na mesma área, Rocha *et al.*, (2020) realizaram pesquisa de *Leishmania* em um 330 amostras de cães com os seguintes resultados: 152 (46,06%) foram soropositivas para *Leishmania amazonensis* e destas amostras, 78 (66,67%) também foram soropositivas para *Leishmania infantum*. Na PCR 41 (12,42%) estavam positivas, confirmando em 8 amostras para *L. infantum*, e em uma amostra, infecção mista de *L. infantum* e *L. amazonensis*. Obtiveram, também, 21 amostras de gatos domésticos, das quais 6 (28,57%) foram soropositivas para *L. amazonensis*, e na PCR, 2 amostras positivas com perfil de *L. infantum*. Esses estudos demonstram a circulação de *Trypanosoma* e *Leishmania* no município de São Luis.

A APA é uma categoria de Unidade de Conservação (UC), voltada para a produção de riquezas que estejam dentro de um contexto de ocupação humana, e objetiva-se segurar a sustentabilidade do uso dos recursos naturais, podendo utilizar de um planejamento turístico sustentável (VASCONCELOS, 1995; MENDES *et al.*, 2007). Localiza-se na zona rural de São Luís, e apresenta características rurais na sua infraestrutura, onde a maioria da população sobrevive através de atividades de subsistência, como a pesca, a caça, criação de animais de pequeno porte e até mesmo de extrativismo, principalmente o vegetal, como por exemplo, a atividade de produção da

juçara, onde acontece o famoso festejo da juçara, que otimiza o uso sustentável e cultural desse recurso, além de ampliar a oferta de lazer, a diversificação do produto turístico de São Luís, e posteriormente, a qualidade de vida dos moradores da comunidade (MENDONÇA, 2012).

A Área de Proteção Ambiental (APA) do Maracanã está localizada no município de São Luís, localizando-se na zona rural de São Luís-MA, e apresenta características rurais na sua infraestrutura, onde a maioria da população sobrevive de atividades de subsistência, destacando-se o extrativismo, principalmente o vegetal, como a produção da juçara, onde acontece o famoso festejo da juçara, o que otimiza o uso sustentável e cultural desse recurso, diversificando tal produto, bem como a qualidade de vida dos moradores da comunidade (SOARES, 2010; MENDONÇA, 2012). O açaí, conhecido como juçara no estado Maranhão, é comumente associado a infecção por via oral de *Trypanosoma cruzi*, devido a contaminação do fruto ou da polpa por animais ou vetores infectados, sendo relatados surtos da Doença de Chagas nos últimos anos pelo consumo do fruto *in natura* (MATTOS *et al.*, 2017).

A área Itaqui-Bacanga compreende, além de regiões residenciais (Anjo da Guarda, Mauro Fecury I e II, Vila Maranhão, além de outras), grandes atividades na área do Distrito Industrial (SEMA, 1997), englobando os portos de Itaqui, Ponta da Madeira e Ponta da Espera (ANDRADE, 2008), pertence à bacia de drenagem do rio Bacanga, que possui uma superfície da ordem de 11.030 ha, ocupando a porção Noroeste de São Luís. Os limites são: ao norte, a baía de São Marcos; ao sul, o tabuleiro central da ilha na região do Tirirical; a leste, o divisor de águas que separa as bacias dos rios Anil, Paciência e Tibirí e a oeste, pelo divisor de águas que separa a Bacia do Bacanga da Bacia Litorânea Oeste (MARANHÃO, 1998)

Além dessas duas áreas, a região do *Campus* Paulo VI (localizada no Bairro da Cidade Operária) foi escolhida, pois existem muitos casos de leishmaniose canina e a presença de animais domésticos positivos pode contribuir para o estabelecimento do ciclo peridoméstico, uma vez que existem áreas de mata e animais silvestres nessa localidade, como é o caso da Fazenda Escola situada no próprio *Campus*.

Considerando a capacidade de *Trypanosoma* sp. e *Leishmania* sp. em infectarem diversas espécies de mamíferos e a possibilidade de pequenos mamíferos silvestres de desempenharem o papel de reservatório em ambientes peridomiciliares, o objetivo do presente estudo foi avaliar a infecção natural por estes parasitos em roedores

e marsupiais presentes nas APAs Maracanã, Itaqui-Bacanga e do campus Paulo VI da UEMA, com a finalidade de apoiar a estratégia de conservação das espécies e indicar potenciais reservatórios de importância em Saúde Pública.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tripanossomatídeos

Tripanossomatídeos pertencem ao Reino Excavata (HONIGBERG, 1963); Filo Euglenozoa (CAVALIER-SMITH, 1998), Classe Kinetoplastea (HONIGBERG, 1963), Ordem Trypanosomatida (KENT, 1880) e Família: Trypanosomatidae (DOFLEIN, 1901).

O Filo Euglenozoa é formado por organismos eucariontes, unicelulares e flagelados, com ampla diversidade morfológica, genética e ecológica, que incluem organismos de vida livre- autotróficos e heterotróficos. Possuem de um a quatro flagelos, aparelho de Golgi desenvolvido e grande variedade de organismos com diferentes estilos de vida, como: vida livre fototróficos, osmotróficos ou fagotróficos, além de parasitas facultativos ou obrigatórios de plantas, invertebrados e vertebrados (CAVALIER-SMITH, 1981).

A classe Kinetoplastea é formada por protozoários flagelados, possuindo um ou dois flagelos, emergindo de uma bolsa flagelar (WALLACE, 1966), mitocôndria única e desenvolvida e na qual apresentam como apomorfia a presença do cinetoplasto, que é caracterizado como DNA mitocondrial, conhecido como kDNA e altamente condensado (VICKERMAN, 1976).

Dentro da classe Kinetoplastea, estavam os organismos cuja ordem era conhecida como Kinetoplastida, subdividida em duas subordens: Trypanosomatina e Bodonina (HOARE, 1972). Entretanto, com a evolução dos estudos filogenéticos, observou-se novas relações de parentesco entre os integrantes destas subordens, sendo proposto uma revisão taxonômica do grupo, na qual a atual classe Kinetoplastea foi dividida em duas subclasses: Prokinetoplastina e Metakinetoplastina. A subclasse Prokinetoplastina tem somente uma ordem: Prokinetoplastida, que, apresenta dois gêneros: Ichthyobodo e Perkinsela. A subclasse Metakinetoplastina apresenta quatro ordens, das quais três são de bodonídeos (Neobodonida, Eubodonida e Parabodonida) e a ordem Trypanosomatida, representada por uma única família (Trypanosomatidae) (MOREIRA *et al.* 2004; STEVENS *et al.*, 2008; DESCHAMPS *et al.*, 2011; D'AVILA LEVY *et al.*, 2015).

O ciclo de vida dos tripanossomatídeos pode ser heteroxênico ou monoxênico. Tripanossomatídeos heteroxênicos apresentam ciclo biológico com dois hospedeiros, sendo um hospedeiro invertebrado (geralmente insetos, artrópodes

hematófagos ou hirudíneo) e um hospedeiro vertebrado de todas as classes (mamíferos, peixes, anfíbios, répteis e aves) ou plantas. Esse grupo é amplamente conhecido por conter espécies responsáveis por causar doenças como Leishmaniose, doença de Chagas e doença do sono, em humanos e outros mamíferos (VICKERMAN, 1994; STUART *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2014).

Os tripanossomatídeos monoxênicos são caracterizados por completarem seu ciclo de vida em um hospedeiro e são amplamente descritos como parasitos do trato intestinal de insetos, principalmente das ordens Diptera e Hemiptera (VICKERMAN, 1976; WALLACE, 1966; WALLACE *et al.*, 1983; SIMPSON *et al.*, 2006; STEVENS, 2008).

Além dos patógenos de animais e humanos, espécies do gênero *Phytomonas* representam verdadeiras pragas agrícolas, e quando presentes em uma plantação podem ocasionar consideráveis perdas econômicas aos produtores (DOLLET, 1984; CAMARGO, 1999; JASKOWSKA *et al.*, 2015).

2.1.1 Gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* é um táxon monogenético, composto de hematozoários flagelados, parasitas obrigatórios de invertebrados e todas as classes de vertebrados: anfíbios, aves, mamíferos, peixes e répteis (HOARE, 1972; VIOLA *et al.*, 2008; LEMOS *et al.*, 2015; COOPER *et al.*, 2017; SPODAREVA *et al.*, 2018). Esse gênero tem ampla distribuição geográfica e uma gama de hospedeiros, constituído de espécies que se caracterizam pelos seguintes tipos ou formas evolutivas durante ciclo de vida: amastigota, epimastigota, tripomastigota. Estas formas são definidas em função da posição do cinetoplasto em relação ao núcleo e da presença ou não de flagelo livre assim como, a existência e grau de desenvolvimento da membrana ondulante (HOARE, 1972; WALLACE, 1979; VICKERMAN, 1994; REY, 2008; SPODAREVA *et al.*, 2018).

Os tripanossomas de mamíferos são divididos nas Secções Salivaria e Stercoraria, levando em consideração o desenvolvimento no hospedeiro invertebrado e a via de eliminação das formas infectantes pelo vetor, que pode ser com as fezes (transmissão contaminativa) ou com saliva (transmissão inoculativa). A Secção Salivaria, compreende as espécies que no inseto vetor se desenvolvem no tubo digestivo ou nas glândulas salivares e são transmitidas para o hospedeiro vertebrado, no momento que ocorre a picada pelo inseto hematófago (formas metacíclicas geradas nas porções

anteriores do tubo digestivo ou glândulas salivares). Esta Secção compreende os subgêneros *Duttonella* [composto pela espécie *Trypanossoma (Duttonella) vivax*]; *Trypanozoon* [*Trypanossoma (Trypanozoon) brucei*]; *Pycnomonas* (subgen. n: *Trypanosoma (Pycnomonas) suis*]; *Nannomonas* que possui a espécie *Trypanossoma (Nannomonas) congolense* (HOARE, 1972).

Na Secção Stercoraria, o desenvolvimento do protozoário ocorre exclusivamente no tubo digestivo do inseto vetor e a forma de transmissão ocorre pela contaminação com as fezes do inseto parasitado com as formas tripomastigotas metacíclicas (formas metacíclicas geradas na ampola retal e eliminados pelas fezes). Abrange três subgêneros: *Schizotrypanum* (espécie-tipo *T. cruzi*), *Herpetosoma* (*T. lewisi*) e *Megatrypanum* (*T. theileri*). A maioria das espécies desta secção não infecta o homem e não é patogênica para seus hospedeiros vertebrados, com exceção de *T. cruzi* (SARATAPHAN *et al.*, 2007).

T. cruzi, pertence à família Trypanosomatidae, Ordem Kinetoplastida. Caracteriza-se como protozoário flagelado parasita várias ordens de mamíferos e dezenas de espécies de triatomíneos da família Reduviidae (KAUFER *et al.*, 2017). Apresenta distribuição geográfica desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina, englobando 21 países nas Américas (ROELLIG *et al.* 2008, PICCINALI *et al.* 2010, CARRASCO *et al.* 2012). Doença de Chagas, é causada pela infecção de *T. cruzi* em humanos, sendo apontada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das 13 doenças tropicais mais negligenciadas no mundo (PAHO, 2022).

Estima-se que *T. cruzi* surgiu como espécie há aproximadamente 100 milhões de anos atrás no “supercontinente” composto pelos atuais continentes da América do Sul, Antártica e Austrália, que permaneceram conectados após a separação da África (STEVENS *et al.*, 1999; HAMILTON *et al.*, 2012). Pressupõe-se que antigamente, *T. cruzi* era transmitido diretamente entre marsupiais e xenartras, que equivaliam a fauna autóctone desse supercontinente e, futuramente, por via vetorial para outros mamíferos, logo após a aquisição do hábito de hematofagia pelos triatomíneos, por volta de cinco milhões de anos (SCHOFIELD, 2000).

A infecção por *T. cruzi* ocorre por diferentes vias: contaminativa da pele e mucosas com fezes de triatomíneos infectados, transfusional, congênita e oral pela ingestão acidental de triatomíneos triturados, ou parte dos mesmos, em alimentos como açaí e cana de açúcar (ROQUE; JANSEN, 2008; GALVÃO, 2014; TZIZIK *et al.*, 2018).

Devido as cepas de *T. cruzi* apresentarem diversidades biológica, bioquímica e genética, com o passar dos anos foram utilizadas diversas abordagens para caracterizar a população de *T. cruzi*, com o intuito de estabelecer o número de subgrupos (ZINGALES *et al.*, 2009). Atualmente, o *T. cruzi* é dividido em 7 unidades de tipagem discretas (DTus), TcI – TcVI e Tcbat (MARCILI *et al.*, 2009; ZINGALES, 2018). A estrutura populacional também foi analisada com base na genealogia de sequências mitocondriais, fundamentado nessa análise, três clados que possuem correlação com as DTus foram identificados: o clado A, representado pelo TcI; clado B agrupando TcIII e TcIV, estirpes TcV e TcVI; e, o clado C, o qual é restrito as cepas do TcII (MACHADO, AYALA, 2001).

A literatura tem registrado parasitismo por espécies de *Trypanosoma* em marsupiais do gênero *Didelphis* e em roedores. A espécie *Trypanosoma freitasi*, foi descrita em 1957, por Rego *et al.* parasitando *Didelphis paraguayensis*, em Ribeirão Preto. Em 2020, FERREIRA *et al.*, identificaram quatro novas espécies de parasitas do gênero *Trypanosoma*, proveniente de pequenos mamíferos silvestres das espécies *Hylaeamys megacephalus* (roedor); *Phylander opossum* e *Didelphis albiventris* (marsupiais).

No Brasil, foram relatadas as espécies *T. freitasi*; *T. saloboense*; *T. cruzi* e *T. rangeli* parasitando diversas espécies de marsupiais (RÊGO; MAGALHÃES; SIQUEIRA, 1957; DEANE *et al.*, 1972; MAIA DA SILVA *et al.*, 2004; LAINSON, DA SILVA; FRANCO 2008).

A infecção por parasitas do gênero *Trypanosoma* já foi descrita em roedores de várias espécies. Mello (1982) identificou em Góias, espécies de roedores (*Trychomys apereoides*, *Zygodontomys lasiurus*, *Cavia aperea*, *Oryzomys eliurus*, *Nectomys squamipes*, *Calomys collosus*, *Holochidus brasiliensis*, *Oryzomys subflavus*, *Oecomys sp.*, *Oxymycterus*, *Oryzomys lamia*) positivas para *T. cruzi*. Novas espécies desse parasita também foram identificadas em roedores, como a *Trypanosoma rochasilvai* n. sp., que foi registrada em dois exemplares da espécie *Oryzomys laticeps* (RODRIGUES, FERRAZ-FILHO, 1984). Os roedores podem estar infectados com mais de uma espécie de *Trypanosoma*, por exemplo *Trypanosoma musculi* e *T. lewisi* (HONG *et al.*, 2017).

Recentemente foram descritas as espécies *T. gennarii* em *Monodelphis domestica* e *Gracilinanus agilis* (FERREIRA *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2019) e

T. janseni parasitando *D. aurita* e *D. albiventris* (LOPES *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2019) utilizando descrição morfológica, caracterização molecular e filogenia.

Hospedeiros importantes para o estabelecimento do ciclo epidemiológico peridomiciliar da doença de Chagas são os gambás, popularmente conhecidos no estado do Maranhão como mucuras. A Família *Didelphidae*, possui 15 gêneros: *Glironia*, *Caluromys*, *Caluromysiops*, *Hyladelphys*, *Marmosa*, *Monodelphis*, *Tlacuatzin*, *Metachirus*, *Chironectes*, *Didelphis*, *Lutreolina*, *Philander*, *Chacodelphys*, *Cryptonanus*, *Gracilinanus*, *Lestodelphys*, *Marmosops*, *Thylamys* (GARDNER, 2007). Os marsupiais do gênero *Didelphis*, apresentam ampla distribuição, e desse gênero, destacam-se três espécies: *D. virginiana*, *D. marsupialis* e *D. albiventris* (MONTEIRO FILHO, 1987; JANSEN *et al.*, 2020).

Os marsupiais do gênero *Didelphis*, por apresentarem algumas características como taxas altas de infecção sem apresentar sintomatologia clínica, são fontes de alimentos a diferentes espécies de triatomíneo, possuem hábitos sinantrópicos, favorecendo condição para a manutenção do ciclo desse parasito (LOPES *et al.*, 2018; PAIZ *et al.*, 2018; ZECCA *et al.*, 2020). Além disso, apresentam fundamental importância no ciclo de transmissão do *T. cruzi*, pois o parasita desenvolve seu ciclo nas glândulas anais do marsupial, de maneira similar ao que ocorre nos triatomíneos (DIAS, 2006). Deane *et al.* (1984a) indicaram que essas glândulas de cheiro, como um local de adaptação do *T. cruzi* nesse hospedeiro mamífero, cujo é considerado por esses pesquisadores como o hospedeiro mais antigo de *T. cruzi*. (JANSEN *et al.*, 2020).

Esses animais (especialmente das espécies *D. albiventris* e *D. marsupialis*) no Brasil apresentam importante peculiaridade na transmissão de tripanossomas através da ejeção de líquido das suas glândulas anais, e podem infectar humanos se houver alguma lesão ou solução de continuidade que funciona como porta de entrada para esse patógeno, ou através da contaminação dos alimentos (DIAS, NETO, LUNA, 2011). Possuem características importantes para a transmissão dos tripanossomas, como resistirem ao parasitismo por protozoários do gênero *Leishmania* e *Trypanosoma* (JANSEN, 2006; JANSEN *et al.*, 2020).

Jansen *et al.*, (2018), afirmam que esses animais já foram relatados como bioacumuladores de espécies de *Trypanosoma* sp., isso porque possuem a capacidade de albergar diferentes espécies deste gênero. Infecções por *T. cruzi* já foram descritas em hospedeiros de diferentes ordens, incluindo a Chiroptera, Carnivora, Rodentia, Pilosa, entre de outras (ZECCA *et al.*, 2020).

T. cruzi é considerado comum na espécie *Rattus* sp. na Venezuela, Brasil, Equador, México, Peru, Chile e Argentina (PINTO *et al.*, 2006; BRIGADA *et al.*, 2010; URDANETA-MORALES *et al.*, 2014; PANTI-MAY *et al.*, 2017; ROSAL *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2019). Os roedores são importantes elos na transmissão do *T. cruzi*, devido ao fato de serem sinantrópicos, e, dessa forma, aumentando o contado do ciclo silvestre com o doméstico, dispersando esses tripanosomatídeos (PINTO *et al.*, 2006).

No Brasil, evidências indicam que os roedores são uns dos principais mantenedores de *T. cruzi* na natureza (KHADEM VATAN *et al.*, 2017). O processo de desmatamentos e ruralização, podem contribuir para o estabelecimento do ciclo zoonótico da doença de Chagas, principalmente porque os vetores dessas doenças e esses animais podem adaptar-se à ambientes peridomésticos e domésticos, propiciando um contato entre a fauna silvestre, animais domésticos e seres humanos, portanto, favorecendo a transmissão desses tripanossomatídeos, com consequente aumento do número de casos dessas enfermidades (COSTA *et al.*, 2013).

Roedores sinantrópicos (*Rattus* sp.) já foram evidenciados estando infectados por *T. cruzi* e *Trypanosoma lewisi*, em peridomício na Venezuela (HERRERA E URDANETA-MORALES, 1997; DE LIMA *et al.*, 2006; GARCIA *et al.*, 2019). Ainda que *T. lewisi* não era antigamente considerada uma espécie infecciosa para seres humanos, foram descritas infecções no homem na África e na Ásia, sendo posterior, considerada infecciosa para seres humanos, isso porque é resistente ao soro humano (JOHNSON 1933; SHRIVASTANA & SHRIVASTANA 1974, *apud* DA SILVA *et al.*, 2010; HOWIE *et al.*, 2006; LUN *et al.*, 2015).

É primordial que haja o controle desses animais sinantrópicos, tendo em vista a preservação da Saúde Pública, e dessa forma, impossibilita que muitos animais que são reservatórios (hospedeiros que albergam parasitas propiciando infecção do ambiente ou de outros seres vivos) como os vertebrados do gênero *Didelphis* e *Rattus rattus* (reservatórios de *T. cruzi*) conclua o ciclo biológico desses parasitas, com o intuito de evitar a transmissão (ACHILLES, 2018; PIMENTEL, 2020).

A transmissão de *T. cruzi* envolve um hospedeiro mamífero e um hospedeiro invertebrado (hemípetro hematófago) que é o vetor. (SHERLOCK, 2000; YASUDA-SHIKANAI; CARVALHO, 2012; JURBERG *et al.*, 2014).

Dentre as espécies de triatomíneos de importância médica, salientam-se *Triatoma infestans*, *Pastrongylus megistus*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma rubrofasciata* e *Triatoma sordida* (SHERLOCK, 2000; JURBERG *et al.*, 2014).

A espécie *T. infestans* é a prevalente vetora de *T. cruzi*, estando em grande parte na América do Sul, sul da Argentina e Nordeste do Brasil, e é amplamente domiciliada; *Pastrongylus megistus* é apontada como o vetor mais importante no Brasil, a julgar pela sua extensa distribuição no Brasil (encontrada do Nordeste ao Sul do País) e da alta suscetibilidade ao *T. cruzi*; *Rhodnius prolixus* possui intensa antropofilia, breve ciclo de desenvolvimento, alta densidade e intensa dispersão ativa, além de alta susceptibilidade para conter o *T. cruzi* na natureza (SHERLOCK, 2000; JURBERG *et al.*, 2014).

Triatoma brasiliensis é uma relevante espécie nas zonas secas do Nordeste do Brasil, adaptada em habitações humanas, encontrada no domicílio, peridomicílio e ambiente silvestre; *Triatoma rubrofasciata* possui extrema importância, em consequência de ser a única espécie cosmopolita, colonizando em ambiente domiciliar, frequentemente alberga *Trypanosoma conorhiri* (parasito de ratos domésticos e não patogênico ao homem), no entanto já foi encontrada parasitada por *T. cruzi*; *Triatoma sordida* é oriunda primitivamente dos planaltos centrais brasileiros, distante da faixa litorânea, e posteriormente se disseminou até chegar na Argentina, e, mesmo sendo encontrada no domicílio, seu papel é secundário na transmissão do *T. cruzi* (SHERLOCK, 2000; JURBERG *et al.*, 2014).

Considera-se a via oral como via de transmissão de *T. cruzi* na natureza a mais antiga e possivelmente a mais eficaz via de transmissão (ROQUE *et al.*, 2008; SOUZA 2009; JANSEN *et al.*, 2018). Em mamíferos, a infecção por esta via pode acontecer em várias circunstâncias: (i) ingestão de fezes contaminadas de triatomíneos, logo após coçar o local da picada; (ii) consumo de frutos ou sementes contaminados pelas fezes de triatomíneos ou excreção da glândula anal de *Didelphis* spp. que são capazes de eliminar formas infectivas do parasito (metacíclicos) (DEANE *et al.* 1984); (iii) ingestão de triatomíneos infectados; (iv) processos que impliquem em mordeduras com perfuração, possibilitando o contato da mucosa da boca com sangue infectado; ou (v) predação de mamíferos infectados (THOMAS *et al.* 2007; JANSEN & ROQUE 2010, PAHO 2009; ROELLIG *et al.* 2009). A predação pode suceder pela ingestão de tripomastigotas sanguíneas, além das formas amastigotas existentes nos tecidos das presas, uma vez que amastigotas são infectivas, assim, salientando-se a importância das interações na rede trófica nos ciclos de transmissão de *T. cruzi* (JANSEN, ROQUE, 2008).

O ciclo de *T. cruzi* no hospedeiro invertebrado inicia-se quando o inseto hematófago realiza o repasto sanguíneo em mamífero infectado, adquirindo as formas tripomastigotas sanguíneas. No estômago do vetor, se diferenciam em epimastigotas, se aderem à superfície do intestino médio e posterior, multiplicando-se intensamente por divisão binária simples longitudinal. Em seguida, as formas epimastigotas migram para o intestino posterior atingindo o reto, iniciando a metaciclogênese, processo no qual se transforma em tripomastigotas metacíclicas (fase infectante), e quando esse triatomíneo se alimenta do sangue de um novo hospedeiro, elimina nas suas fezes e urina as formas infectantes. As formas tripomastigotas metacíclicas, invadem células de defesa, diferenciando-se nas fases amastigotas, e no final da multiplicação, diferenciam-se novamente em tripomastigotas, que ganham a corrente sanguínea, adquirindo, novamente a fase infectante (Figura 1) (KOLLIEN & SCHAUB, 2000; TYLER ENGMAN, 2001; MARTINS *et al.*, 2012; YASUDA-SHIKANAI; CARVALHO, 2012).

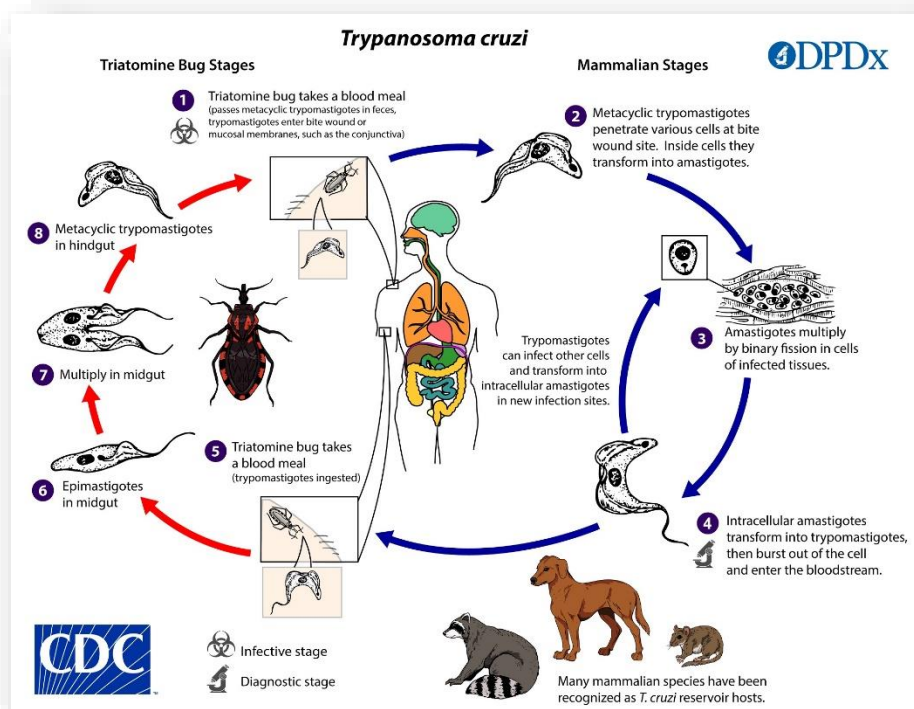


Figura 1- Ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi*.

Fonte: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>

2.1.2 Gênero *Leishmania*

O gênero *Leishmania* foi descrito primeiramente por Ross em 1903, após observação de lâminas, foram visualizadas estruturas ovais, denominadas de corpúsculos Leishman-Donovan e, posteriormente, tais corpúsculos foram nomeados como *Leishmania donovani* (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014). Abrange aproximadamente 22 espécies conhecidas, destas 15 são potencialmente patogênicas à humanos (WHO, 2019). No novo mundo, principalmente na América Latina, as espécies incluem *L. infantum*, *L. mexicana*, *L. pifanoi*, *L. venezuelensis*, *L. garnhami*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis*, *L. shawi*, *L. naiffi*, *L. lainsoni*, *L. lindenbergi*, *L. peruviana* e *L. colombiensis* (OPAS, 2019).

Os parasitas do gênero *Leishmania* possuem duas formas, a forma amastigota que é arredondada, intracelular, com flagelo internalizado, e presente no hospedeiro vertebrado; e a forma promastigota, alongada, com flagelo evidente, encontrada no inseto hematófago vetor (HOARE, 1972; OPAS, 2019; WHO, 2019).

Compreende parasitas que apresentam ciclo de vida heteroxeno, apresentando um hospedeiro definitivo vertebrado e um vetor invertebrado, responsável pela transmissão do parasita. Nos mamíferos, apresentam-se como amastigotas intracelulares (sistema macrofágico celular) e no vetor, como promastigotas (NEVEZ, 2011; ROCHA, 2011; AKHOUNDI *et al.*, 2016; MEDKOUR, *et al.*, 2019).

As espécies de *Leishmania* que infectam mamíferos classificadas em dois subgêneros *L. (Leishmania)* que se desenvolvem intraluminal no intestino médio do vetor, e que estão presentes tanto no Novo quanto no Velho Mundo e *L. (Viannia)* que se desenvolvem no intestino posterior do inseto vetor, compreendendo espécies que são limitadas ao neotrópico (LAINSON, SHAWN, 1987, 2005; BOITÉ, 2014; SANTOS, 2020).

No Brasil foram registradas oito espécies de *Leishmania*, incluindo *L. (Leishmania) infantum*, causador da Leishmaniose Visceral, do mesmo modo que as principais espécies associadas a ocorrência das formas dermatrópicas: *L. (Viannia) braziliensis* (Vianna, 1911), *L. (Viannia) guyanensis* (Floch, 1954) e *L. (Leishmania) amazonensis* (Lainson & Shaw, 1972), e as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* e *L. (V.) lindenberg* (FARIAS, 2015; GALVIS-OVALLOS *et al.*, 2020). O subgênero *Viannia* abrange os complexos “*Leishmania braziliensis*” e “*Leishmania guyanensis*”, conhecidas apenas no Novo Mundo, enquanto que os protozoários que

pertencem ao subgênero *Leishmania* estão classificados em seis complexos denominados “*Leishmania mexicana*”, “*Leishmania donovani*”, “*Leishmania major*”, “*Leishmania tropica*” e “*Leishmania aethiopica*” (SILVA *et al.*, 2015; SANTOS, 2020).

Na epidemiologia da enfermidade, existem animais que são considerados como sentinelas, que é um animal cujo sistema imunológico é capaz de manter populações do parasito que consigam sobreviver indefinidamente, com alta carga do microrganismo. Para que um animal seja classificado sentinela, são necessários alguns aspectos, como fatores determinantes da susceptibilidade de um hospedeiro: densidade populacional, a duração da infecção, a localização do parasito no seu interior e o seu estado imunológico após a cura. Além disso, o hospedeiro é capaz de albergar o parasito em seu corpo, no entanto não consegue transmiti-lo diretamente a outros animais (ASHFORD, 1996).

Dentre os animais considerados sentinelas, os mais pesquisadas para infecção por *Leishmania* sp. são os marsupiais do gênero *Didelphis*, principalmente a espécie *D. marsupialis* (SCHALLIG, *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2016). Algumas características fazem com que esses animais sejam considerados bons indicadores epidemiológicos no ciclo biológico da leishmaniose, como dieta onívora, fazendo com que esses animais se adaptem tanto aos ambientes silvestres quanto modificados pelo homem, apresentaram taxas altas de infecção sem apresentar sintomatologia clínica, são fontes de alimentos para diferentes espécies de flebotomíneos, além de apresentarem hábitos sinantrópicos, tornando-se o elo perfeito entre o ciclo silvestre e periurbano (CUTOLO *et al.*, 2014; PAIZ *et al.*, 2018).

Além dos marsupiais, outros hospedeiros silvestres têm sido relatados parasitados com *Leishmania* como: *Proechimys* sp. (rato-soiá), *Oryzomys* sp., *Neacomys* sp., *Nectomys* sp e *Dasyprocta* sp.; os marsupiais *Metachirus* sp., *Philander* sp., *Didelphis* sp. e *Marmosa* sp.; raposa *Cerdocyon thous*, xenartros (tatu, tamanduá e preguiça), primatas e morcegos (QUINTAL *et al.*, 2010; DA COSTA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

Os roedores domésticos são importantes reservatórios de patógenos causadores de zoonoses como peste, tifo murino, leptospirose, angiostrongilíase, toxoplasmose e as tripanossomíases (leishmanioses e doença de Chagas) (BEGON, 2003; MEERBURG *et al.*, 2009).

Esses roedores já foram identificados parasitados por *Leishmania* sp. No Brasil já foram relatadas infecções naturais por *Leishmania braziliensis*, em diversas espécies

de roedores, incluindo o gênero *Rattus* (LAINSON; SHAW, 1979; BRANDÃO-FILHO *et al.*, 1994; VASCONCELLOS *et al.*, 1994). Segundo Brandão-Filho *et al.*, (2003), existem poucos reservatórios comprovados como reservatórios primários e secundários de *Leishmania braziliensis*, destacandam-se *Necromys lasiurus*, *Nectomys squamipes* e *Rattus rattus*.

A espécie *Rattus rattus* está provavelmente envolvida no ciclo epidemiológico doméstico zoonótico de transmissão, estabelecido no intra e peridomicílio (MARINHO-JÚNIOR, 2010). Marinho-Júnior (2010), afirma que essa espécie apresenta indícios de infecção por *Leishmania* sp., e tem comportamento típico no ambiente doméstico, no entanto, é muito comum em áreas de endemia para Leishmaniose Tegumentar Americana, tendo potencial para possuir relação com o ciclo zoonótico de transmissão. Estudos apontam que, espécies como *Didelphis albiventris*, *Mus musculus*, *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus* são encontradas no peridomicílio, e isso favorece a ocorrência do ciclo peridoméstico (BRANDÃO-FILHO *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2005; MELO, 2008; QUARESMA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2013; LARA-SILVA *et al.*, 2014; NAVEA-PÉREZ, *et al.*, 2015; DE CASTRO FERREIRA *et al.*, 2015; PEREIRA *et al.*, 2017).

Os únicos vetores comprovados de *Leishmania* sp. são espécies e subespécies do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo (MOTA, MIRANDA, 2011; TONELLI *et al.*, 2017).

A disseminação do agente da Leishmaniose Visceral entre animais silvestres ou domésticos e o homem, em países do Velho Mundo (causada por *Leishmania donovani*), acontece pela picada do flebótomo das espécies *Phlebotomus perniciosus*, *P. ariasi*, *P. perfiliewi* e *P. neglectus*, ao passo que no Novo Mundo (causada por *Leishmania infantum*) decorre especialmente através da picada do flebótomo das espécies *L. longipalpis* ou *L. cruzi* (GRIMALDI JR *et al.*, 1989; DOS SANTOS *et al.*, 1998; WHO, 1990; MISSAWA *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2015; OLIVEIRA, *et al.*, 2017; DE PITA-PEREIRA, *et al.*, 2018).

Os flebotomíneos são dípteros hematófagos da família Psychodidae que tem atividade crepuscular e noturna ainda que possam estar ativas durante o dia. As principais espécies encontradas infectadas no Brasil são *Lutzomyia umbratilis*, *Lutzomyia anduzei*, *Lutzomyia whitmani*, *Lutzomyia flaviscutellata*, *Lutzomyia intermedia*, *Lutzomyia wellcomei*, *Lutzomyia complexa*, *Lutzomyia neivai*, *Lutzomyia edwardsi*, *Lutzomyia migonei*, *Lutzomyia almerio*, *Lutzomyia salesi*, *Lutzomyia ubiquitalis*,

Lutzomyia squamiventris, *Lutzomyia paraenses*, *Lutzomyia amazonenses*, *Lutzomyia ayrozai* (HASHIGUCHI *et al.*, 2018; OPAS, 2019).

Os vetores do gênero *Lutzomyia*, são insetos da ordem Diptera, . *L. longipalpis* tem característica antropofílica, vastamente distribuído pelo país, enquanto *Lutzomyia cruzi* que é predominante em alguns municípios da região centro-oeste (VILELA, 2013; GUIMARÃES-SILVA *et al.*, 2017).

São flebotomíneos bastante comuns habitando os locais com grande quantidade de matéria orgânica e baixa luminosidade, particularmente galinheiros, chiqueiros e também residências, e apenas a fêmea se alimenta de sangue para desenvolver os ovos (WHO, 2004). A espécie *L. cruzi* está relacionada, também com a transmissão da leishmaniose visceral em algumas regiões do Brasil, em destaque para as regiões de Cerrado, que é o ambiente de preferência, onde a espécie *L. longipalpis* ocorre nas regiões norte, nordeste, centro oeste e sudeste e *L. cruzi* ocorre nas mesmas regiões com exceção da região norte (MISSAWA *et al.*, 2011).

Lutzomyia longipalpis é apontado como o principal vetor da LV no Brasil (causada por *L. infantum*), retratado inicialmente por Lutz & Neiva (1912). Tem prevalência na fauna flebotomínica de áreas endêmicas para LV nas Américas. Em regiões onde não existia a presença de *L. longipalpis*, *Lutzomyia cruzi* foi atribuída como vetor da LV, e ocorrências da doenças eram notificadas (GALATI *et al.*, 1997; DOS SANTOS *et al.*, 1998).

A capacidade de adequação de *L. longipalpis* a locais modificados e sua competência de infecção e transmissão de *Leishmania infantum*, torna-o vetor predominante nas regiões Norte, Nordeste, Centro Oeste e Sudeste do Brasil (FÉLIX, 2013).

O ciclo biológico de *Leishmania* sp. ocorre quando o vetor realiza o repasto sanguíneo pela ingestão de formas amastigotas de *Leishmania* sp. existentes no interior de células do Sistema Fagocitário Mononuclear (SFM) do hospedeiro vertebrado. O desenvolvimento de *Leishmania* sp. no tubo digestivo dos flebotomíneos ocorre através de diversas mudanças morfológicas e fisiológicas, até se diferenciarem, em formas infectantes para o hospedeiro mamífero, denominadas promastigotas metacíclicas (ROGERS *et al.*, 2002; MOTA, MIRANDA, 2011).

Através de um novo repasto sanguíneo, as fêmeas dípteras inoculam as formas promastigotas metacíclicas infectantes em um novo hospedeiro e ao serem fagocitadas pelos macrófagos, retornam à forma amastigota, multiplicam-se até rompê-

los, sendo então, fagocitadas por novos macrófagos. Desta forma, ocorre à disseminação hematogênica para os tecidos ricos em células do SFM, como, linfonodos, fígado, baço e medula óssea (Figura 2) (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2006; MOTA, MIRANDA, 2011).

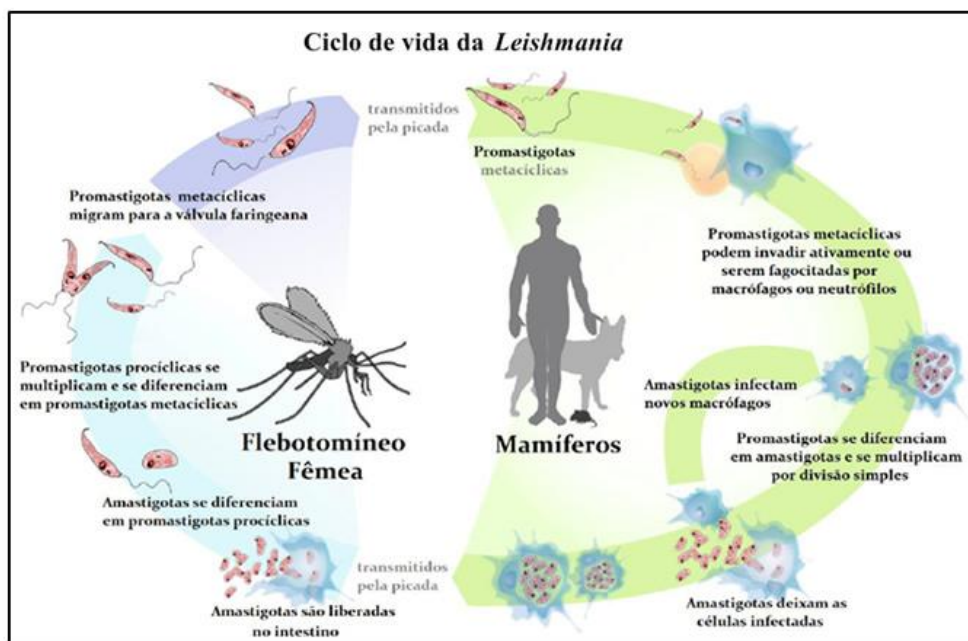


Figura 2- Ciclo biológico de *Leishmania* sp.

Fonte: <https://labvet.com.br/laboratorio-veterinario/41/2/19/Leishmaniose-canina-%E2%80%93-desafios-diagnosticos,-tratamento-e-prevencao>

2.2 Genes tradicionalmente utilizados em análises filogenéticas de tripanossomatídeos: SSUrRNA, gGAPDH e Catepsina L-like

O reconhecimento e classificação dos tripanossomatídeos basearam-se inicialmente em princípios biológicos e morfológicos das diversas espécies. Apesar disso, com o desenvolvimento e uso de uma diversidade de marcadores moleculares desses parasitas, incontáveis erros de classificação e identificação têm sido relatados. Mesmo com o uso criterioso de técnicas moleculares para caracterizações mais confiáveis, dados biológicos, morfológicos e comportamentais ainda são utilizados para a averiguação de diversas espécies de tripanossomatídeos (SOGIN *et al.*, 1986; FERNANDES *et al.*, 1993., VARGAS, 2014; BARBOSA *et al.*, 2016).

Ampla variedade de genes, sequências e marcadores moleculares têm sido utilizados por diversos grupos, a fim da obtenção do diagnóstico molecular e genotipagem, assim como pressupostos taxonômicos e filogenéticos. No entanto, marcadores essenciais, cuja finalidade é adquirir boas análises comparativas entre os táxons da família Tripanossomatidae são numericamente limitados, destacando-se os

genes Ribossômicos (preferentemente a região SSUrRNA), gGAPDH e o Catepsina L-like (LIMA, 2011; VARGAS, 2014).

2.2.1 Gene que codifica a subunidade menor do RNA Ribossômico (SSU rRNA)

Os genes nucleares de rDNA dispõem de uma estrutura complexa e característica, com um dos mais relevantes padrões de moléculas maduras de DNA. As sequências do gene ribossômico têm sido largamente empregadas para inferir ligações filogenéticas entre tripanossomatídeos, e outros organismos do Filo Euglenozoa. Os genes que codificam as moléculas de RNA ribossômico (rRNA) constituem em unidades de repetição, que são formadas por unidades de transcrição (cistrons ribossômicos) intercaladas por um espaço intergênico (IGS), que determinam cada unidade de repetição, isso porque o rDNA se repete em tandem mais de 100 vezes no genoma dos tripanossomatídeos. Cada gene ribossômico é processado em uma única unidade de transcrição conhecida como pré-rRNA, que dá origem aos rRNAs maduros 18S (SSU, subunidade menor), 5.8S e 24 S (LSU), subunidade maior que nestes organismos é constituída por dois fragmentos de alto peso molecular, 24Sa e 24Sb e quatro subunidades de peso molecular baixo (S1, S2, S4 e S6). Ademais, as subunidades SSU e LSU (codificadas por sequências altamente conservadas) são alternadas por regiões transcritas mais polimórficas que equivalem aos espaçadores internos transcritos (ITS) e externos transcritos (ETS) do gene (SOGIN *et al.*, 1986; HERNÁNDEZ *et al.*, 1990).

Esses genes estão completamente distribuídos e são funcionalmente equivalentes em todos os organismos conhecidos sendo os mais utilizados para pressupostos de relacionamentos filogenéticos entre tripanossomatídeos. A presença de várias regiões, transcritas ou não, apontam diferentes graus de variabilidade, ocasionando um alto grau de polimorfismo dos citrons ribossômicos e, por este motivo, têm se revelam excelentes como ferramentas na identificação e em estudos filogenéticos de tripanossomatídeos (SOGIN *et al.*, 1986; HERNÁNDEZ *et al.*, 1990; SOUTO *et al.*, 1996; RODRIGUES *et al.*, 2006; VIOLA *et al.*, 2008).

Diversas características fazem com que o uso do SSUrRNA seja prosseguido, como o tamanho e, por seguinte, a facilidade de amplificação do PCR e sequenciamento, assim como a presença de domínios com diferentes graus de polimorfismo e conservação, possui regiões conservadas que permitem alinhamentos altamente confiáveis. Além do que, esse gene é o que tem o maior número de sequências,

de diferentes espécies de tripanossomatídeos, disponíveis em bancos de dados, proporcionando comparações simples e abrangentes entre organismos conhecidos ou recentemente descobertos (VARGAS, 2014; LIMA, 2011).

2.2.2 Gene Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase glicosomal (gGAPDH)

Os parasitas da família Tripanossomatidae contêm uma organela denominada de glicosoma, que apresentam um grande número de enzimas glicolíticas que estão envolvidas no metabolismo de glicose e glicerol, participando da conversão de glicose e glicerol em 3-fosfoglicerato. Essa enzima é codificada por dois genes acoplados de sequência idêntica havendo apenas um único gene para GAPDH citosólica, e a compartimentalização dos tripanossomatídeos difere dos outros eucariontes onde a glicólise ocorre no citosol (HANNAERTH *et al.*, 1992).

Os genes de gGAPDH têm uma baixa taxa de evolução molecular, dessa forma, são adequados para estudos evolutivos compreendo grandes escalas de tempo. De maneira semelhante ao que ocorre com sequências de da SSUrRNA, sequências do gene gGAPDH são indicadas para análises filogenéticas e posicionamento taxonômico dos tripanossomatídeos e têm-se apresentadas úteis para determinar o “bacording” desses organismos (LIMA *et al.*, 2013; FERMINO *et al.*, 2015).

Esses genes codificam proteínas e estão predispostos a pressões seletivas, exibindo taxas de evoluções menores quando comparadas as de genes não codificadores. Devido a esse fato, genes de gGAPDH têm se revelados como excelentes marcadores para estudos filogenéticos dos tripanossomatídeos, possibilitando alinhamentos confiáveis de sequências de organismos geneticamente distantes, em análises de sequências independentes ou combinadas com sequências de SSU rRNA (HAMILTON *et al.*, 2004; VIOLA *et al.*, 2009a; LIMA *et al.*, 2015a).

2.2.3 Gene Catepsina L- *like*

A Catepsina L é uma importante cisteína protease encontrada nos lisossomos, sendo vastamente difundida na maioria dos animais (TURK *et al.*, 2000; ZHOU *et al.*, 2015). As catepsinas possuem aproximadamente 30 Kda de tamanho, compondo-se de cadeias pesadas e leves ligadas de dissulfeto. A maior parte das pesquisas proteômicas e pesquisas relacionadas com catepsinas cisteínas, centralizou-se em vertebrados, principalmente em mamíferos, com enfoque em primatas e roedores (SHAHINIAN *et al.*, 2013; FONOVIC, 2014).

Essas proteases estão envolvidas em vários processos fisiológicos e patológicos, degeneração de tecidos por macrófagos e reabsorção óssea e infecções parasitárias (SCHORLEMNER *et al.*, 1976; DELAISSE *et al.*, 1984; SLOANE *et al.*, 1987; MCKERROW, 1989). Essas proteases há bastante tempo são apontadas como alvos potenciais do controle de parasitas devido aos seus comportamentos propostos na alimentação do parasita, mutação e invasão imune (COX *et al.*, 1990; CARMONA *et al.*, 1993; LUSTIGMAN *et al.*, 1996).

As cisteíno-proteases são apontadas como a família de proteases mais numerosas nos protozoários do gênero *Leishmania*, sucedendo-se em maiores quantidades nos megassomos que se constituem a volumosos lisossomos particularmente consideráveis nas formas amastigotas (DUBOISE *et al.*, 1994). Possuem aplicabilidade na manutenção de rota metabólica de fins regulatórios, diferenciação celular nos vertebrados e vetores, aspectos de patogenia e virulência como invasão celular, evasão da resposta imune do hospedeiro, colonização de macrófagos, morte celular programada, além de outras finalidades (PASCALIS *et al.*, 2013; SILVA-ALMEIDA *et al.*, 2012; AGALLOU *et al.*, 2017).

Dessa forma, destaca-se a catepsina L-like, que é resultado da expressão multigênica, possuindo cópias dispostas em tandem, cujos se observam SNP's polimórficos (MOTTRAM *et al.*, 2004; JULIANO *et al.*, 2014). Segundo Mundodi *et al.* (2005), sobre a espécie *Leishmania infantum*, há análises sobre knock-out e transcriptômica pela enzima mRNA antiteno apontam um perfil específico de expressão dessa enzima, onde a isoforma CPA não têm expressão construtiva, dessa forma, ocorrendo especificadamente na forma amastigota, por outro lado, acontece a expressão proteica da isoforma CPB na forma promastigota.

Logo, as sequências de catepsina L-like, têm sido utilizadas para compreender relacionamentos filogenéticos de diversas espécies de tripanossomatídeos sendo capaz de reproduzir de forma lógica as deduções existidas feitas com base nas sequências de SSU rRNA e gGAPDH (STEVENS *et al.*, 2001; CORTEZ *et al.*, 2006; HAMILTON *et al.*, 2007). No gênero *Leishmania* os estudos de variedade e entendimento gênico já foram realizados nas espécies *L. mexicana*, *L. major*, *L. aethiops* e *L. infantum* (SAKANARI *et al.*, 1997; ALVES *et al.*, 2001; RAFATI *et al.*, 2001; MUNDODI *et al.*, 2002; ONISHI, *et al.*, 2004.; JULIANO *et al.*, 2004; MUNDODI *et al.*, 2005; KURU *et al.*, 2007; PIMENTEL-ELARDO *et al.*, 2011; DA SILVA, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

- Determinar a ocorrência de *Trypanosoma* sp. e *Leishmania* sp. em pequenos mamíferos silvestres na Área de Preservação Ambiental do Maracanã, Itaquibacanga e no campus Paulo VI da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA do município de São Luís-Maranhão.

3.2 Objetivos Específicos:

- Isolar parasitas dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* em pequenos mamíferos silvestres no peridomicílio e no ambiente silvestre;
- Caracterizar molecularmente e morfolologicamente os isolados de *Trypanosoma* sp. e *Leishmania* sp. obtidos de pequenos mamíferos silvestres no peridomicílio e no ambiente silvestre;
- Caracterizar molecularmente *Trypanosoma* sp. e *Leishmania* sp. em amostras de tecidos colhidos dos mamíferos silvestres no peridomicílio e no ambiente silvestre.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Licenças e Comitê de Ética

A captura e coleta de amostras biológicas de marsupiais e pequenos roedores foram autorizadas por meio das licenças nº 60972/1 e nº 64649/1 do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), e pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão com os números dos protocolos 06/2018 e nº 09/2018.

4.2 Áreas de estudo

Na APA Itaqui-Bacanga, no oeste de São Luís, a pesquisa foi realizada nos bairros do Fumacê (2° 33' 36.4'' S; 44° 20' 23.9'' W) e Mauro Fecury (2° 32' 32.5'' S 44° 19' 54.2'' W) (Figura 3) e no Campus Paulo VI da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA (2°35'06.6"S 44°12'30.9"W), conforme a figura 3. A área do Itaqui-Bacanga está centrada na maior reentrância do litoral do estado - o Golfão Maranhense - na parte oeste da capital, precisamente, entre o Rio Bacanga (leste), Oceano Atlântico (norte) e a baía de São Marcos (oeste) (CONCEIÇÃO; CARVALHO; BOUÇAS, 2012).

A APA do Maracanã está localizada no município de São Luís, distante 18 km do centro da capital, abrangendo 1.813 hectares, encontra-se localizada entre as coordenadas 02° 24'09'' e 02° 46'13'' S e 44° 01'20'' e 44° 29'47'' W de Greenwich e possui como limites geográficos a Baía de São Marcos a oeste; a Baía de São José, a leste; o Estreito dos Mosquitos, ao sul e o Oceano Atlântico, ao norte (SOARES, 2010). Delimita-se, ao Norte pelo parque Estadual do Bacanga, ao Sul pela localidade do Rio Grande, ao Leste pela BR-135 e a Oeste pelo Distrito Industrial de São Luís.

A fazenda escola da Universidade estadual do maranhão, localiza-se no *campus* Paulo VI (São Luís-Maranhão), localizada nas coordenadas (02° 35' 04,0'' S e 44° 12' 33,3'' W). A Fazenda Escola São Luís (FESL) possui uma área de 25ha, apresentando um ambiente que é composto por um mosaico de floresta natural, Floresta Ombrófila, espécies exóticas e campo de pesquisa experimental do Centro de Ciências Agrárias -UEMA (CAVALCANTE *et al.*, 2007).

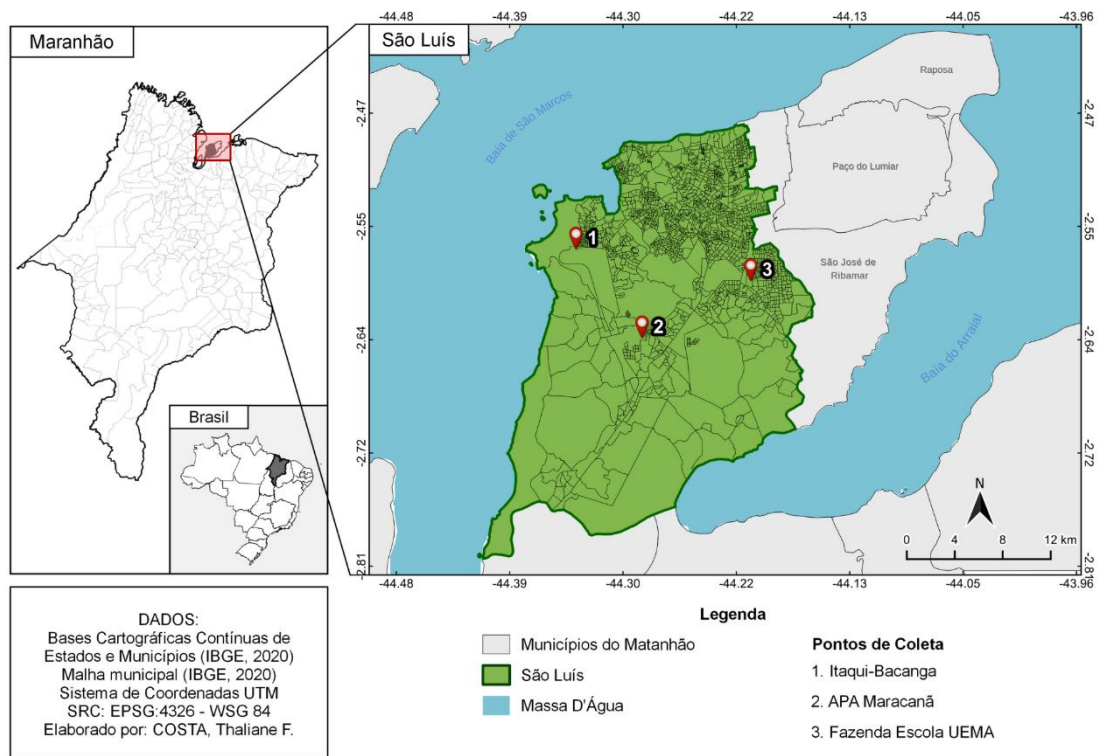


Figura 3- Mapa do Estado do Maranhão demonstrando as áreas de coleta.

Fonte: Acervo Pessoal.

4.3 Captura e identificação dos animais

Para a captura de pequenos mamíferos silvestres, foram utilizadas armadilhas, 30 tipos *Shermman* e 10 *Tomahawk*, com diferentes atrativos como iscas (mortadela e uma mistura de fubá, sardinha e pasta de amendoim) (Figuras 4 e 5) que foram distribuídas de forma equidistantes em trilhas distintas e marcadas com uso de fitas de identificação, além do uso no peridomício (Figura 6).



Figura 4- Armadilha do tipo Sherman.

Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 5- Armadilha do tipo Tomahawk.

Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 6- Fita de identificação, indicando a trilha e armadilha correspondente.

Fonte: Acervo pessoal.

As armadilhas foram vistoriadas diariamente pelo período da manhã, entre 7:00 e 8:00 horas. Os animais capturados foram transportados dentro da própria gaiola até o laboratório onde foram identificados, pesados com uma balança Pesola® (Linha Light), medidos com uma régua graduada em centímetros, sexados, obtidas as medidas morfométricas (comprimento torácico, comprimento da cauda, comprimento da orelha, comprimento da pata com garra e sem garra, tais medidas utilizadas para identificação das espécies) (Figuras 7 e 8) e anotações referentes às coletas, tais como: data, local, hora, número de captura e ambiente. A identificação dos espécimes de marsupiais ocorreu por

meio da chave de ROSSI *et al.* (2012), e a de roedores por meio da chave de identificação de BONVICIVO *et al.*, (2008).



Figura 7- Pesagem de marsupial.

Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 8- Medidas morfométricas.

Fonte: Acervo Pessoal.

Foram realizadas 11 coletas, sendo quatro na APA do Maracanã, onde primeira foi realizada no mês de janeiro/2018, a segunda em junho/2018, a terceira em setembro/2018 e a última em dezembro/2018; três na Área do Itaqui – Bacanga, em dezembro/2020, julho/2021 e dezembro/2021) e quatro no campus Paulo VI da UEMA, duas em maio, uma em agosto e a última em outubro/2021.

4.4 Coleta de amostras biológicas

Os animais capturados foram anestesiados com cloridrato de cetamina (8 mg/kg) e cloridrato de xilazina (0,8 mg/kg) em uma única dose por via intramuscular. Nos roedores também foi realizada contenção química com associação de cetamina (22-40mg/Kg) e xilazina (1mg/Kg) por via intramuscular (BATISTA *et al.*, 2022). Após confirmação do efeito anestésico, foram colhidas amostras de sangue por punção cardíaca ou pela veia caudal, e quando possível, foi eutanasiado um casal de cada espécie para servir de espécie-testemunho. Os roedores foram todos eutanasiados. Dos animais capturados foram colhidas amostras de sangue e dos eutanasiados foram colhidos fragmentos de fígado e baço.

As amostras de sangue colhidas dos animais foram utilizadas para confecção de esfregaços sanguíneos e tentativa de isolamento do parasita em meio de cultura bifásico.

Para análises moleculares amostras de sangue e tecidos (fígado e baço) foram coletadas e preservadas em microtubos com etanol absoluto.

4.5 Isolamento de parasitas dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania*

Para o isolamento de espécies de *Leishmania* sp e *Trypanosoma* sp., amostras de sangue colhidas dos 36 animais capturados foram semeadas (duplicata por animal) em tubos contendo um meio de cultura bifásico constituído por fase sólida BAB (blood agar base com 15% sangue de carneiro desfibrinado) e fase líquida de meio LIT (contendo soro fetal bovino e antibióticos, mantidas a 28°C, totalizando 72 amostras de hemocultura. As leituras foram realizadas com a utilização da microscopia óptica comum com objetiva de 40X uma vez por semana, durante 30 dias (DA SILVA *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2015).

4.6 Esfregaços sanguíneos

Esfregaços sanguíneos foram confeccionados em triplicata, fixados com metanol, corados com Giemsa (2:30 por 15 min), analisados no microscópio óptico no aumento de 40 X e 100X (LYNCH, 1969) para a pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* sp e tripomastigotas de *Trypanosoma* sp.

4.7 Extração de DNA genômico

O DNA das amostras (sangue, e tecidos de fígado e baço) foi extraído seguindo as recomendações do fabricante com o protocolo estabelecido pelo Kit GeneJet Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific®).

4.8 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

A caracterização molecular foi realizada através dos genes ribossômicos, V7V8 da subunidade menor do rDNA (LIMA *et al.*, 2012, 2013, 2015a; MAIA DA SILVA *et al.*, 2004; STEVENS, 2008; MARCILI *et al.*, 2009 a, b e c), gGAPDH (HAMILTON *et al.*, 2004, HAMILTON *et al.*, 2007; MARCILI *et al.*, 2014), e Catepsina L-like (DA SILVA, 2018; DA SILVA *et al.*, 2019). A utilização desses dois genes foi realizada, e para o gene V7V8 SSU rRNA o tamanho esperado foi de 800 pb

(BORGHESAN *et al.*, 2013; LEMOS *et al.*, 2015) e de 600 pb para o gGAPDH (LEMOS *et al.*, 2015).

Com o volume final de 25 µl foram utilizados os seguintes componentes para a amplificação do gene V7V8 SSU rRNA: 8 µl de Taq Polimerase, 13 µl de H₂O, 1 µl do oligonucleotídeo 609F, 1 µl do 706R e 2 µl do DNA genômico. Para o gene gGAPDH, foram utilizadas a mesma quantidade do gene anterior, modificados os oligonucleotídeos (GAPTRY-mod-F e GAPTRY-R).

As sequências de nucleotídeos do V7V8 SSU rRNA são:

- Forward (609F): 5' – CAC CCG CGG TAA TTC CAG C – 3', e
- Reverse (706R): 5' - TCT GAG ACT GTA ACC TCA A – 3'.

As sequências de nucleotídeos do gGAPDH são:

- Forward (GAPTRY-mod-F): 5' - GGB CGC ATG GTS TTC CAG - 3'
- Reverse (GAPTRY-R): 5' - CCC CAC TCG TTR TCR TAC C – 3'.

O volume de 25 µl também foi utilizado para a amplificação do gene Catepsina L-like; mudando os oligonucleotídeos (CatLeishF e CatLeishR). As sequências do CatLeishF são: 5- GAC AAC GGC ACC GTC GGC GCC AAA ATA AAA G- 3', e do CatLeishR: 5' - CAG TAC GGC GGT TTC GCT TGT CTG TTG AAG C - 3'.

4.9 Purificação e Sequenciamento

Os produtos da PCR foram purificados seguindo o protocolo estabelecido pelo Kit de extração GeneJet Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific®). As sequências obtidas no estudo serão submetidas à análise de similaridade através do programa BLAST para verificar homologia com sequências correspondentes disponíveis no GenBank. O sequenciamento das amostras positivas ainda será realizado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram capturados 36 animais, sendo 14 da APA do Maracanã, sete na área do Itaqui-Bacanga e 15 na área do campus da UEMA- Paulo VI. Dos 14 animais da APA, cinco eram da espécie *Didelphis marsupialis* e nove *Monodelphis domestica*; dos sete animais da área do Itaqui Bacanga, um era *Didelphis marsupialis*, um *Rattus rattus*, dois *Rattus novergicus* e três *Rattus* sp., enquanto que os 15 espécimes da UEMA foram um *Didelphis marsupialis*, um *Didelphis aurita* e 13 *Monodelphis domestica*, com pesos variando de 0,06 kg a 1,450 kg, conforme demonstra abaixo a Tabela 1, e as figuras 11, 12, 13 e 14.

Tabela 1- Espécies e sexo de marsupiais e roedores capturados nas Áreas de Preservação Ambiental do Maracanã e do Itaqui- Bacanga e Universidade Estadual do Maranhão/UEMA campus Paulo VI, município de São Luis, estado do Maranhão, Brasil.

Espécie	Sexo	Área
<i>Didelphis marsupialis</i>	F	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	F	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	F	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Didelphis marsupialis</i>	M	APA do Maracanã
<i>Didelphis marsupialis</i>	F	APA do Maracanã
<i>Didelphis marsupialis</i>	M	APA do Maracanã

<i>Monodelphis domestica</i>	F	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Monodelphis domestica</i>	M	APA do Maracanã
<i>Didelphis marsupialis</i>	F	APA do Maracanã
<i>Rattus rattus</i>	M	Itaqui-Bacanga
<i>Didelphis marsupialis</i>	M	Itaqui-Bacanga
<i>Rattus novergicus</i>	F	Itaqui-Bacanga
<i>Rattus novergicus</i>	F	Itaqui-Bacanga
<i>Rattus</i> sp.	F	Itaqui-Bacanga
<i>Rattus</i> sp.	M	Itaqui-Bacanga
<i>Rattus</i> sp.	F	Itaqui-Bacanga
<i>Didelphis marsupialis</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	F	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	F	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Didelphis aurita</i>	F	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA

<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	F	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
<i>Monodelphis domestica</i>	M	UEMA
TOTAL	36	-



Figura 9- Espécime de *Didelphis marsupialis* capturada em gaiola Tomahawk

Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 10- Espécime de *Monodelphis domestica* capturada em gaiola Tomahawk.

Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 11- Espécime de *Rattus* sp. capturada em gaiola Tomahawk.

Fonte: Acervo Pessoal.

As 72 amostras de hemoculturas foram avaliadas resultando em negativas para tripanossomatídeos. Corroborando com os resultados obtidos, Nantes *et al.*, (2020), fizeram uma pesquisa em áreas de fragmentos de florestas (Fonte Bandeiras Stream, Parque Estadual de Prosa, Reserva do Patrimônio Natural da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Instituto São Vicente, Centro de Educação Ambiental Polônes e Parque Ecológico de Anhanduï), utilizando amostras sanguíneas de *D. albiventris*, e os meios de culturas NNN + LIT, cujas amostras também foram negativas, justificaram os resultados com o fato de: os animais utilizados apresentarem janelas de transmissão (parasitemia patente), o que pode ter garantido a dispersão do parasita pelo vetor; parasitemias baixas (indetectáveis na cultura), ou transmissão alternativa, como no caso de *D. aurita* que é capaz transmitir *T. cruzi* pelas glândulas anais.

Diferindo do presente estudo, Ortiz *et al.*, (2017) realizaram um estudo com *Rattus* spp. pesquisando *Trypanosoma* sp. na região de São Paulo e Rondônia, utilizando o mesmo meio de cultura do presente estudo, e obtiveram sete culturas positivas, mostrando quantidade relevante de tripanossomas sanguíneos, típicos de *T. lewisi*.

Cominetti *et al.*, (2011), em uma pesquisa de *T. cruzi* em uma comunidade quilombola do Mato Grosso do Sul, obtiveram uma cultura positiva (oriunda de hemocultura), proveniente de *D. albiventris*, utilizando o meio de cultura NNN (McNeal,

Novy & Nicolle) e 1mL do meio de Schneider. O uso da combinação de dois meios de culturas diferentes nesse estudo, pode ter sido responsável pelo crescimento do parasito.

A espécie *T. lewisi* possui estreita relação com *Rattus rattus*, e já fora comprovado por Da Silva *et al.*, (2010), que a proximidade com primatas, favoreceu a ocorrência do ciclo biológico desse parasito. Nesse experimento, foram utilizados o mesmo meio de cultura do presente estudo, no entanto, eles caracterizaram 3 isolados de *T. lewisi*.

No Nordeste do Brasil, Costa *et al.*, (2018), fizeram uma pesquisa sobre *Trypanosoma* sp. no Parque Nacional da Serra das Confusões, sul do Piauí, capturando 76 espécimes de quatro ordens (Rodentia, Didelphimorphia, Cingulata e Pilosa), e coletaram amostras sanguíneas para hemocultura e PCR, e todas as amostras primárias de sangue foram negativas na PCR, o que difere da presente pesquisa, uma vez que constatamos positividade na PCR. Esses pesquisadores isolaram tripanossomas em hemoculturas, utilizando o meio de cultura BAB/LIT, que é semelhante ao usado na presente pesquisa.

Pereira *et al.*, (2017), utilizando amostras maceradas de baço, fígado, pele da orelha e da medula óssea de 25 mamíferos silvestres (15 roedores das espécies *R. rattus* e *Cerradomys subflavus*, e 10 marsupiais das espécies *D. abiventris* e *Marmosops incanus*) coletados no estado de Minas Gerais, e amostras inoculadas em meio de cultura NNN (McNeal, Novy & Nicolle) e LIT suplementados com 20% de soro fetal bovino, obtendo amostras positivas para *Leishmania* sp., de fígado e baço da espécie *Rattus rattus*, o que indica que a utilização de mais de um meio de cultura, e o uso da combinação de mais de uma amostra por cultivo, pode ter influenciado na sobrevivência do protozoário.

Foi executado por Lima *et al.*, (2013), um experimento no município de São Vicente de Férrer na região de Pernambuco, utilizaram amostras de 180 pequenos mamíferos silvestres capturados, dispondo do meio de cultura Schneider e NNN (4ml) modificado, obtendo um isolado de *Leishmania braziliensis*, de baço da espécie *Nectomys squamipes*.

Também, diferindo dos resultados da presente pesquisa, Drozino *et al.*, (2019), utilizando o hemocultura NNN + LIT, obtiveram uma cultura positiva de *T. cruzi* de *D. albiventris*, (1/12= 8,3%), proveniente do seu experimento no estado do Paraná.

O resultado da pesquisa de formas tripomastigostas de *Trypanosoma* nos esfregaços sanguíneos foi negativo. Corroborando com o presente estudo, Dario *et al.*,

(2016), realizaram uma pesquisa sobre *Trypanosoma* sp. em cães e pequenos mamíferos silvestres no Estado do Espírito Santo, capturando *Trinomys paratus* (n = 5), 4 espécies de Didelphimorphia [*Didelphis aurita* (n = 1), *Philander frenatus* (n = 1), *Metachirus nudicaudatus* (n = 2) e *Marmosops incanus* (n = 2), sendo todos os esfregaços sanguíneos negativos.

Resultados divergentes aos encontrados no presente trabalho, foram constatados por Schwan *et al.*, (2016), avaliando tripanossomas de pequenos mamíferos na África Ocidental, cujo estudo obteve 22 esfregaços positivos (22/724), provenientes de *R. rattus*, *M. natalensis* e *M. erythroleucus*. Resultados contrários aos aqui encontrados podem ser em razão de baixa parasitemia dos animais encontrados na presente pesquisa e/ou pela diferença de número amostral. Em 2013, Charles *et al.*, no Sul do Texas (EUA), obtiveram três esfregaços sanguíneos positivos para *T. cruzi* em espécie *Neotoma micropus*. Egan *et al.*, (2020), na Austrália, capturaram 47 animais, e destes foram coletadas 11 amostras para esfregaços sanguíneos, sendo sete de *Rattus fuscipes* e quatro de *Rattus novergicus*, obtendo um esfregaço positivo para *Trypanosoma* sp., proveniente da amostra de *R. rattus*.

Com relação aos esfregaços sanguíneos, não foram observadas formas amastigotas compatíveis com *Leishmania* sp., isto pode ter ocorrido devido a um baixo nível de parasitemia, além do mais, essa pesquisa em esfregaço sanguíneo não é satisfatória, pois a porcentagem de células parasitadas por amastigotas circulantes como neutrófilos, linfócitos e monócitos é baixa. Em humanos, já foi constatado por Mary *et al.*, (2004), que de 3 a 5 dias ocorre a diminuição da parasitemia, resultando na não detecção do parasita.

Outro fator que pode estar relacionado com resultados negativos em esfregaços sanguíneos, é a interação da *Leishmania* com o hospedeiro, uma vez que parasitando os macrófagos, diferenciam-se em amastigotas, podendo parasitar outras células fagocíticas (como dendríticas) ou não fagocíticas (como fibroblastos), resultando em falsos-negativos em tal técnica (Naderer & McConville, 2008; GIUDICE; PASSANTINO, 2011). Além disso, esse parasito tem mecanismos de escape, como a metaciclogênese e impedimento de fusão dos vâcuolos ácidos, o que pode influenciar na fagocitose pelos macrófagos, e dessa forma, em achados nos esfregaços sanguíneos (DE CARVALHO, 2019).

Em contrapartida, difere dos achados de Humberg *et al.*, (2012), que no seu experimento em uma área urbana endêmica para leishmaniose visceral de Mato

Grosso do Sul (Brasil), testaram 54 *Didelphis albiventris* para *Leishmania infantum* e encontraram duas amostras positivas em sangue periférico.

No Irã, Motazedian *et al.*, (2010), obtiveram a primeira identificação de *Leishmania major*, provenientes de esfregaços de lâminas de pele de um espécime de *Rattus novergicus*, fato este que pode estar relacionado com o tipo de amostra utilizada no esfregaço. No estado de Minas Gerais, Lara-Silva *et al.*, (2014), uma pesquisa com pequenos mamíferos silvestres e flebotomíneos, onde foram capturados 32 pequenos mamíferos, onde 50 % destes eram da espécie *Rattus novergicus*, e destes foram coletadas amostras de sangue, pele da cauda, fígado, baço e medula óssea, de onde não foram encontradas formas compatíveis com *Leishmania* sp., resultados esses similares aos que encontramos na presente pesquisa.

Os resultados dos esfregaços sanguíneos da presente pesquisa, assemelham-se aos encontrados por Paiz *et al.*, (2018), onde no seu experimento sobre infecção por agentes das leishmanioses, doença de Chagas e febre maculosa brasileira em mamíferos silvestres na APA do município de Campinas (SP), não encontrou nenhuma forma compatível com os tripanossomatídeos investigados, *Leishmania* spp. e *T. cruzi*, proveniente de 82 amostras desses animais, incluindo de marsupiais da espécie *D. albiventris*, *D. marsupialis*, *D. aurita*. Com relação à *M. doméstica*, Araújo *et al.*, (2010), trabalhando com pequenos mamíferos silvestres em uma área endêmica de Pernambuco não encontraram animais positivos em esfregaços sanguíneos de *Didelphis* e de *M. domestica*, o que se assemelham ao presente estudo.

Em áreas silvestres do estado de São Paulo, Teodoro *et al.*, (2019), fizeram uma pesquisa, com intuito de identificar endoparasitos e hemoparasitos de marsupiais, onde capturaram 54 *D. albiventris* e 2 *D. aurita*. Desses espécimes, 2 amostras de esfregaços sanguíneos, provenientes de *D. aurita*, apresentaram formas compatíveis com tripomastigotas de *Trypanosoma* sp, porém, não foram encontradas formas amastigotas de *Leishmania* sp.

Os marsupiais do gênero *Didelphis*, são animais que possuem poucas mudanças evolutivas desde o período cretáceo (AUSTAD, 1988), e esses animais, por apresentarem hábitos sinantrópicos e nômades, podem ser encontrados em habitações humanas, o que amplia seu potencial de exposição a amplas fontes de infecção com diversos ciclos de transmissão, como de parasitas dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* (BRANDÃO *et al.* 2019; DONALISIO *et al.* 2017; JANSEN *et al.* 2015). Na natureza, *Didelphis* spp, pode ser visto em ocos de madeiras, de árvores, e outros abrigos, que são

ótimos habitats para triatomíneos, favorecendo a infecção desses animais (JANSEN *et al.*, 2018).

Por possuírem dieta onívora, esses mamíferos podem se infectar pela ingestão de triatomíneos infectados, e dispõe das glândulas odoríferas (onde pode ocorrer o ciclo extracelular de *T. cruzi*, onde ocorrer a metaciclogênese que é a diferenciação de formas epimastigotas em tripomastigotas metacíclicas), e glândulas, promovem eliminação das formas tripomastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes de *T. cruzi* (DEANE *et al.*, 1994; CARREIRA *et al.*, 2001).

As amostras de DNA extraídos foram utilizadas para detecção de tripanossomatídeos, pelo uso dos genes que codificam a região variável V7V8 da subunidade menor do rRNA, das 81 amostras de sangue e tecidos colhidas, oito amostras foram positivas provenientes de animais da Área do Itaqui-Bacanga (1 espécime de *Rattus rattus*, e de 2 *Rattus* sp.) e da APA do Maracanã (3 espécimes de *Didelphis marsupialis*). Da Silva *et al.*, (2010), concluíram uma pesquisa com *Rattus* sp. (regiões norte, nordeste e sudeste do Brasil) e primatas não humanos, com o uso do gene 18S SSU conseguiram identificar quatro tripanossomas dos ratos e três dos primatas, caracterizados como *T. lewisi*, porém não foi evidenciada positividade para *Leishmania*, pois, não utilizaram um gene mais específico para gênero.

Estudos feitos em diferentes biomas no Brasil (Floresta Amazônica, Floresta Atlântica, Cerrado, Pampa e Pantanal) foram realizados por Rodrigues *et al.*, (2019), dos quais foram adquiridas 120 amostras, provenientes de 15 animais da ordem Carnívora, 30 da ordem Chiroptera e 75 da Didelphimorphia. Amostras sanguíneas foram utilizadas para a PCR, e como gene amplificador foi usado o 18S SSU, e dessas amostras, 4 foram positivas para *Trypanosoma* sp., provenientes de espécimes de *Didelphis* sp, semelhante ao presente estudo, e tais resultados similares decorrem da utilização de biomas semelhantes do alvo da nossa pesquisa, além disso essa positividade pode ter ocorrido devido ao estudo ser realizado em diferentes biomas, que dependendo da área pode haver uma maior proximidade dos vetores com os hospedeiros vertebrados.

Utilizando os genes kDNA e SSUrRNA, Ferreira (2010), avaliou a prevalência de *Leishmania* sp., em cães e pequenos mamíferos silvestres (roedores, marsupiais e carnívoros), identificando em roedores, infecção mista por *Leishmania braziliensis* e *L. infantum*. Condições de transmissão desses parasitos, são constantemente modificadas no que refere a condições ambientais e do comportamento humano, e, esse ambiente onde parasitos e hospedeiros convivem, pode influenciar consideravelmente a

especificidade de seleção, proporcionando uma determinada espécie ter maior ou menor importância para manter o ciclo (GRAMICCIA, GRANDONI, 2005; WOLINSKA, KING, 2009).

Jorge-Costa (2020), realizou uma pesquisa no município de Miracatu estado de São Paulo, com mamíferos silvestres das ordens *Rodentia*, *Chiroptera* e *Marsupialia*. Amostras de sangue, fígado e baço foram testadas para os genes SSUrRNA, Citocromo B, gGAPDH e Catepsina L-like. Com o uso do gene SSUrRNA, as amostras foram posteriormente negativas para *Leishmania* sp, e da mesma forma para o gene Catepsina L-like, corroborando com nosso estudo. Epidemiologicamente, fatores como abundância de vetores em determinada região podem influenciar na positividade desses animais silvestres.

Ferreira, (2020), pesquisou parasitas do gênero *Trypanosoma* no Cerrado Brasileiro (Mato Grosso do Sul), em pequenos mamíferos silvestres e, na análise molecular, as amostras de DNA extraídos foram submetidas à reação da cadeia em polimerase, para os genes SSU rRNA e GAPDH, das quais foram descritas quatro novas espécies de *Trypanosoma*, mas não foram evidenciadas espécies de *Leishmania*, devido ao fato de que não foi utilizado um gene mais específico. Modificações ambientais relacionadas aos movimentos migratórios, desmatamento, queimadas, podem diminuir a presença dos vetores, bem como a mudança de hábitat deles, e como possuem alta adaptação ao peridomício, provavelmente nas áreas de estudo a presença de vetores poderia ser baixa, o que interfere no ciclo de transmissão, assim como na positividade dos animais capturados.

A importância do uso de técnicas de biologia molecular para a detecção de parasitas é imprescindível, no entanto é necessária que haja uma interpretação minuciosa desses exames, além de levar em consideração outros fatores, como as populações envolvidas e a ecologia dos animais e vetores, além de diferenciar espécies animais que são hospedeiros acidentais, daquelas que são de fato hospedeiros reservatórios (JULIÃO, 2011).

As 81 amostras utilizadas na PCR utilizando o gene gGAPDH, foram submetidas à uma nova PCR, e nove amostras provenientes de sete animais (amostras de fígado e baço) de três exemplares de *Didelphis marsupialis* (provenientes da APA do Maracanã), um *Rattus norvegicus*, um *Rattus rattus* e dois *Rattus* sp. (Área do Itaqui-Bacanga) foram positivas conforme a Tabela 2.

Tabela 2- Espécies de marsupiais e roedores positivas para os genes V7V8 e gGAPDH.

Espécie	Área	Amostra	V7V8	gGAPDH
<i>Didelphis marsupialis</i>	APA do Maracanã	Fígado	+	+
<i>Didelphis marsupialis</i>	APA do Maracanã	Fígado	+	+
<i>Didelphis marsupialis</i>	APA do Maracanã	Fígado	+	+
<i>Rattus rattus</i>	Itaqui-Bacanga	Baço	-	+
<i>Rattus rattus</i>	Itaqui-Bacanga	Fígado	+	-
<i>Rattus novergicus</i>	Itaqui-Bacanga	Fígado	-	+
<i>Rattus</i> sp.	Itaqui-Bacanga	Baço	+	+
<i>Rattus</i> sp.	Itaqui-Bacanga	Fígado	+	+
<i>Rattus</i> sp.	Itaqui-Bacanga	Baço	+	+
<i>Rattus</i> sp.	Itaqui-Bacanga	Fígado	+	+
TOTAL	10			

Em 2013, Botero *et al.*, na Austrália, utilizaram 554 marsupiais capturados e 250 amostras de tecidos extraídas de 50 carcaças de marsupiais mortos ou eutanasiados, e com o uso do gene gGAPDH obtiveram 67% de positividade no sangue e 60% dos tecidos, fato esse que se diferenciam aos resultados encontrados no nosso estudo.

Em seis regiões do estado do Maranhão (Zona de transição de clima semiárido da Amazônia Equatorial Úmida), Da Costa *et al.*, (2015), amostraram mamíferos (5 roedores, 10 marsupiais, e 116 morcegos), e utilizaram o gene gGAPDH na PCR de diferentes tecidos utilizadas, as amostras foram todas negativas. Ainda que essa pesquisa tenha sido realizada no mesmo bioma que o do nosso estudo, o fato de ter sido executada em regiões mais distantes de centros urbanos pode ter influenciado para os resultados negativos, uma vez que as interações dinâmicas do parasita com as diferentes espécies hospedeiras são distintas. O Bioma Amazônico é o que possui a maior biodiversidade, em relação aos demais, e provavelmente também a diversidade de parasitas (PAGLIA *et al.*, 2012).

No Cerrado Brasileiro (região do estado de Minas Gerais), Ferreira *et al.*, (2017), amostraram animais das ordens *Didelphimorphia*, *Rodentia*, *Chiroptera* e *Cingula*, as amostras foram submetidas à PCR utilizando os genes SSU rRNA e gGAPDH, identificaram de uma nova espécie nomeada como *Trypanosoma gennarii* sp. nov. Roedores e marsupiais são hospedeiros comuns de subpopulações de *T. cruzi* na maioria dos biomas brasileiros (PINHO *et al.*, 2000; LISBOA *et al.*, 2004). Estudos feitos em diferentes biomas, evidenciam que resultados divergentes estão relacionados com a variabilidade de espécies de vetores da Doença de Chagas no Brasil, apresentando correlação com a variação ambiental (JORGE-COSTA, 2020).

As amostras de sangue e tecidos obtidas no presente estudo também foram submetidas a PCR utilizando o gene Cathepsina L-like e todas foram negativas. Embora esses animais tenham sido negativos para *Leishmania infantum*, não se pode descartar a possibilidade de em uma amostragem com maior número de espécimens haja resultado positivo considerando que o município de São Luis é endêmico para essa espécie de parasito.

Embora os resultados para detecção molecular de *Leishmania infantum* tenha sido negativo nas amostras de sangue, fígado e baço, ressalta-se a importância da utilização de mais de um tipo de amostra para se ter um número amostral maior, o que favorece à resultados mais fidedignos (PAIZ *et al.*, 2018).

Lombardi *et al.*, (2014), avaliaram positividade de *Leishmania infantum*, em 81 animais de uma área de Belo Horizonte, dentre eles oito roedores e um marsupial, foram negativas, corroborando com o presente estudo. No entanto, como esse primer é específico para essa espécie, não se descarta a possibilidade de haver infecção por outros tripanossomatídeos.

Carreira *et al.*, (2015), no Rio de Janeiro, identificaram três *D. aurita* positivos para *Leishmania* sp. utilizando amostras de baço e fígado e um par de primers que codifica o kDNA dos minicirculos de *Leishmania* sp, que foram constatadas como positivas para *L. infantum*, resultados esses, diferentes dos aqui encontrados.

Estudo sobre pesquisa de *Leishmania* sp em mamíferos silvestres foi realizado por Pereira (2015) em áreas endêmicas de Minas Gerais. Foram utilizadas amostras de fígado, baço, pele de orelha e cauda, e medula óssea. As amostras foram testadas na PCR convencional e qPCR com os primers kDNA *hsp70*. Em 22% foram positivos em pelo menos um tecido, e nas amostras foram identificadas espécies de *L. (V) braziliensis*, *L. (L) infantum* e *L. (V) guyanensis*, resultados estes que se diferenciam do

presente resultado o que pode ter ocorrido porque no trabalho citado foram utilizados diversos tipos de amostras, o que favorece para maior probabilidade de positividade.

Da Silva (2016), adquiriu 40 amostras sanguíneas de *Didelphis albiventris*, de um fragmento de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil, e estas foram submetidas a análise molecular com os primer MC1 e MC2, que permitem a amplificação de um fragmento de 447 pares de base do kDNA de *L. infantum*, e todas essas amostras foram negativas, o que se assemelha aos resultados obtidos na nossa pesquisa.

Zuque (2016), amostrou *D. albiventris* provenientes do estado do Mato Grosso do Sul para pesquisa de *L. infantum* e *T. cruzi*. As amostras foram testadas na Reação de Cadeia em Polimerase (com o gene ITS1, que é um gene de triagem para parasitas da Família Tripanossomatidae), e posteriormente com os genes LINR4 e LIN19, que amplificam fragmentos de minicirculos de kDNA de *L. infantum*, obtendo resultados negativos. Resultado que se assemelha aos obtidos no presente estudo. Fatores como a presença do vetor, condições climáticas, podem influenciar para o estabelecimento do ciclo biológico do vetor, e conseqüentemente na infecção e positividade desses espécimes.

Estudos na espécie *D. albiventris* tem sido mais frequentes, isso porque esta espécie é reconhecida como reservatório de parasitas, e além de possuir caráter sinantrópico, o que favorece com que esse animal exerça um papel mais importante no trânsito peridomicílio-mata em áreas degradadas (GUERRA *et al.*, 2006; SANGUINETTE *et al.*, 2015).

No Amazonas, Achilles (2018) constatou a presença de *Leishmania* sp em pequenos mamíferos terrestres, dos quais foram capturados 135, e, destes, 81 eram roedores e 54 marsupiais. Utilizou o gene LSSP [trata-se de um primer que amplifica o gene mini-exon que está presente no minicírculo do Kinetoplasto, estrutura presente em diversos protozoários da classe Kinetoplastida (FERNANDES *et al.*, 1994)] na biologia molecular, que serve para identificar tripanossomatídeos, e, com isso observou-se amplificação de DNA de 86 amostras, com padrões compatíveis com *Leishmania*, o que difere do presente estudo, uma vez nossos resultados foram negativos para *L. infantum*.

Em virtude de alterações do ambiente natural dos animais silvestres e triatomíneos, os mesmos tendem a se deslocar para ambientes mais favoráveis. Isso ocorre, principalmente devido impactos ambientais, como queimadas e desmatamento, o que favorece o aparecimento destes animais na área urbana. Em alguns casos ocorre ainda a criação de animais domésticos e de sustento que servem como fonte de alimento para

os triatomíneos favorecendo a sua inclusão no ciclo doméstico do *T. cruzi* (ANTUNES, 2005).

No Brasil, *Didelphis* sp., já foi descrito parasitado por diferentes genótipos de *T. cruzi* (JANSEN *et al.*, 2015, 2018), *T. rangeli*, *T. dionisii*, *Trypanosoma* sp DID (uma unidade taxonômica que ainda não foi descrita), *T. cascavelli*, *T. janseni*, *Leishmania* (L.) *infantum*, *L. (V.) peruviana*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) braziliensis*, and *L. (V.) panamensis* (SHERLOCK *et al.* 1984; BRANDÃO-FILHO *et al.* 2003; HUMBERG *et al.* 2012; PAIZ *et al.* 2016; DONALISIO *et al.* 2017; BRANDÃO *et al.* 2019; RODRIGUES *et al.* 2019).

Além dos marsupiais, existem outros animais sinantrópicos que servem de hospedeiros para esses tripanossomatídeos, destacando-se *Rattus* sp, que atuam como importante elo no ciclo doméstico, silvestre e peridoméstico, albergando diversos parasitas, levando para as habitações humanas, nos quais são transmitidos para humanos e animais domésticos pelos vetores (ZELEDÓN, 1974 *apud* PINTO *et al.*, 2006).

Segundo Ortiz *et al.*, (2017), *Rattus* sp é o principal reservatório de patógenos zoonóticos em humanos. O surgimento de doenças transmitidas por ratos ocorre principalmente devido a distúrbios antropogênicos e pela pobreza humana, isso porque favorece o contato dos ratos, pessoas e pulgas, hospedeiros vertebrados e vetores de *T. lewisi*, respectivamente.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que há circulação de *Trypanosoma* sp. nas Áreas de Preservação do Maracanã e Itaquí-Bacanga, tendo os marsupiais da espécie *Didelphis marsupialis* e *Rattus novergicus*, *Rattus rattus* e *Rattus* sp., como prováveis reservatórios, respectivamente. Apesar do município de São Luis ser endêmico para leishmaniose visceral, não foi detectada *Leishmania* sp. nas amostras avaliadas.

Não se pode descartar a possível participação de outras espécies de *Leishmania* ou espécimes no ciclo de transmissão. A continuidade deste estudo possibilitará um melhor conhecimento acerca do envolvimento destes animais no ciclo de transmissão visando um melhor embasamento para implementação de medidas de controle.

REFERÊNCIAS

- ACHILLES, G.R. 6.2 ARTIGO 2–Infecção natural por *Leishmania* em espécies de pequenos mamíferos das ordens rodentia e didelphimorphia nas américas por ferramentas moleculares: uma revisão sistemática. **INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE–ILMD PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES**, Dissertação de Mestrado, p. 50, 2018.
- AGALLOU, M.; MARGARONI, M.; ATHANASIOU, E.; TOUBANAKI, D.K.; KONTONIKOLA, K.; KARIDI, K.; KAMMONA, O.; KIPARISSIDES, C.; KARAGOUNI, E. Identification of BALB/c immune markers correlated with a partial protection to *Leishmania infantum* after vaccination with a rationally designed multi-epitope cysteine protease a peptide-based nanovaccine. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 1, p. e0005311, 2017.
- AKHOUNDI, M.; KUHLS, K.; CANNET, A.; VOTYPKA, J.; MARTY, P.; DELAUNAY, P.; SERENO, D. A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v.10, n.3, p. e0004349, 2016.
- ALVARENGA, D.G.; ESCALDA, P.M.F.; DA COSTA, A.S.V.; MONREAL, M.T.F.D. **Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade**, 2010.
- ALVES, L.C.; MELO, R.L. SANDERSON, S.J.; MOTTRAM, J.C.; COOMBS, G.H.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; JULIANO, L.; JULIANO, M.A. S1 subsite specificity of a recombinant cysteine proteinase, CPB, of *Leishmania mexicana* compared with cruzain, human cathepsin L and papain using substrates containing non-natural basic amino acids. **European journal of biochemistry**, v. 268, n. 5, p. 1206-1212, 2001.
- ANDRADE, D.V.; GOLLOB, K.J.; DUTRA, W.O. Acute Chagas disease: new global challenges for an old neglected disease. **PLoS neglected tropical diseases**, v.8, n.7, 2014.
- ANDRADE, M.M.N. **Mapeamento das unidades de paisagem, da sensibilidade ambiental e da vulnerabilidade social na área do porto de Itaqui-Bacanga, Ilha de São Luís, MA**. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Geologia e Química)–Universidade Federal do Pará, Belém, p. 133, 2008.
- ALMEIDA, P.S.; ANDRADE, A.J.; SCIAMARELLI, A.; RAIZER, R.; MENEGATTI, J.A.; HERMES, S.C.N.M.; CARVALHO, M.S.L.; GURGEL-GONÇALVES, R. Geographic distribution of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 551-559, 2015.
- ANTUNES, G.M. **Diversidade e potencial zoonótico de parasitos de *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Marsupialia: Didelphidae)**, 2005.
- ARAÚJO, A.I.F; MARINHO-JÚNIOR, J.F.; GUIMARÃES, V.C.F.V.; BRITO, M.E.F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. **Deteccção de infecção natural por *Leishmania* spp em roedores silvestres capturados em área endêmica de Pernambuco, Brasil, 2010**. [Acessado 31Nov.2021].

Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0143-1.pdf>.

ARAÚJO, B.C. **Degradação do meio ambiente e gerenciamento de resíduos sólidos**, 2018.

ARGOLO, A.M., FELIX, M., PACHECO, R., COSTA, J. Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Fundação Oswaldo Cruz. Programa Integrado de Doença de Chagas (PIDC). Instituto Oswaldo Cruz. Ação comemorativa do centenário de descoberta da doença de Chagas. **Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2008.

ASHFORD, R. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in Dermatology**, v.14, p.523-532, 1996.

AUSTAD, N.S. The adaptable opossum. **Sci Am**, v.258, p. 98–104, 1988.

BASSANI, D. C. H.; CHAVES, J.; TABILE, P. M.; KRUMMENAUER, E. C.; MACHADO, J. A.; CARNEIRO, M. Hantavirose: importância do diagnóstico clínico e do manejo ambiental. **Blucher Medical Proceedings**, v. 1, n. 5, 2014.

BARBOSA, A.D.; MACKIE, J.T.; STENNER, R.; GILLET, A.; IRWIN, P.; RYAN, U. *Trypanosoma teixeirae*: a new species belonging to the *T. cruzi* clade causing trypanosomiasis in an Australian little red flying fox (*Pteropus scapulatus*). **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 214-221, 2016.

BATISTA, A.I.V.; ANDRADE, W.W.A.; NASCIMENTO, J.O.; DA SILVA, W.S.I.; OLIVEIRA, M.R.; DOS SANTOS, I.G.; NETO, M.B.O.; RAMOS, R.A.N.; ALVES, L.C.; LIMA, V.F.S. Leishmaniose em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e28511426659-e28511426659, 2022.

BEGON, M. Disease: Health effects on humans, population effects on rodents. In Rats, mice and people: Rodent biology and management, G. R. Singleton, L. A. Hinds, C. J. Krebs, and D. M. Spratt (eds.). **Australian Centre for International Agricultural Research Monograph Series**, Canberra, Australia, p. 448, 2003.

BERGALLO, H. G.; CERQUEIRA, R. Reproduction and growth of the opossum *Monodelphis domestica* (Mammalia: Didelphidae) in northeastern Brazil. **Journal of Zoology**, v. 232, n.4, p. 51-563, 1994.

BOITÉ, M.C. Desenvolvimento e aplicação de marcadores moleculares para estudos taxonômicos, genéticos e epidemiológicos em *Leishmania* (Viannia). **Tese de Doutorado**, 2014.

BONVICINO, C.R.; OLIVEIRA, J.A.; D'ANDREA, P.S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Série de Manuais Técnicos; 11, p.69, 2008.

BORGESAN, T.C.; FERREIRA, R.C.; TAKATA, C.S.; CAMPANER, M.; BORDA C.C.; PAIVA, F.; MILDRE, R.V.; TEIXEIRA, M.M.G.; CAMARGO, E.P. Molecular phylogenetic redefinition of *Herpetomonas* (Kinetoplastea, Trypanosomatidae), a genus of insect parasites associated with flies. **Protist**, v. 164, n. 1, p. 129-152, 2013.

BOTERO, A.; THOMPSON, C.K.; PEACOCK, C.S.; CLODE, P.L.; NICHOLLS, P.K.; WAYNE, A.F.; LYMBERY, A.J.; THOMPSON, R.C.A. Trypanosomes genetic diversity, polyparasitism and the population decline of the critically endangered Australian marsupial, the brush tailed bettong or woylie (*Bettongia penicillata*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 2, p. 77-89, 2013.

BRANDÃO, E.; XAVIER, S.C.C.; CARVALHAES, J.G.; D'ANDREA, P.S.; LEMOS, F.G.; AZEVEDO, F.C.; CÁSSIA-PIRES, R.; JANSEN, A.M.; ROQUE, A.L.R. Trypanosomatids in small mammals of an Agroecosystem in Central Brazil: Another piece in the puzzle of parasite transmission in an anthropogenic landscape. *Pathogens*, v. 8, n. 4, p. 190, 2019.

BRANDÃO, E.; XAVIER, S.C.C.; ROCHA, F.L.; LIMA, C.F.M.; CANDEIAS, Í.Z.; LEMOS, F.G.; AZEVEDO, F.C.; JANSEN, A.M.; ROQUE, A.L.R. Wild and Domestic Canids and Their Interactions in the Transmission Cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp. in an Area of the Brazilian Cerrado. *Pathogens*, v. 9, n. 10, p. 818, 2020.

BRANDÃO-FILHO, S.P.; BRITO, M.E.F.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.; CUPOLILO, E.; FLOETER-WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.

BRANDÃO-FILHO, S.P.; CARVALHO, F.G.; BRITO, M.E.F.; ALMEIDA, F.A.; NASCIMENTO, L.A. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in "Zona da Mata" region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p. 445-449, 1994.

BRIGADA, A.M.; DOÑA, R.; CAVIEDES-VIDAL, E.; MORETTI, E.; BASSO, B. American tripanosomiasis: a study on the prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma cruzi*-like organisms in wild rodents in San Luis province, Argentina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 43, p. 249-253, 2010.

CABRERA, M.A.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.B.; MARZOCHI, M.C.A.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.M.; JANSEN, A.M. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.45, n.2, p.79 – 83, 2003.

CAMARGO, E.P. Phytomonas and other trypanosomatid parasites of plants and fruit. *Advances in parasitology*, v. 42, p. 29-112, 1999.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; GLASSEI, C.M.; CRUZ, L.L; ALMEIDA, R.G. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral americana do Estado de São Paulo. In: **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral americana do Estado de São Paulo**, 2006.

CARMONA, C.; DOWD, A.J.; SMITH, A.M.; DALTON, J.P. Cathepsin L proteinase secreted by *Fasciola hepatica* in vitro prevents antibody-mediated eosinophil attachment to newly excysted juveniles. *Molecular Biochemical Parasitology*, v.62, p. 9-62, 1993.

CARREIRA, J.C.A.; DA SILVA, A.V.M.; PEREIRA, D.P.; BRAZIL, R.P. Natural infection of *Didelphis aurita* (Mammalia: Marsupialia) with *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasites & vectors*, v. 5, n. 1, p. 1-5, 2012.

CARREIRA, J.C.A.; JANSEN, A.M.; DE NAZARETH MEIRELLES, M.; COSTA E SILVA, F.; LENZI, H.L. *Trypanosoma cruzi* in the scent glands of *Didelphis marsupialis*: the kinetics of colonization. **Experimental parasitology**, v. 97, n. 3, p. 129-140, 2001.

CARRASCO, H.J.; SEGOVIA, M.; LLEWELLYN, M.S.; MOROCOIMA, A.; URDANETA-MORALES, S.; MARTINEZ, C.; MARTINEZ, C.E.; GARCIA, C.; RODRIGUEZ, M.; ESPINOSA, R.; DE NOYA, B.A.; DIAZ-BELLO, Z.; HERRERA, L.; FITZPATRICK, S.; YEO, M.; MILES, M.A.; FELICIANGELI, M.D. Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. **PLoS neglected tropical diseases**, v.6, n.6, p. e1707, 2012.

CAVALCANTE, M.R.; DE ARAÚJO, J.F., & ROCHA, A.E. TRILHAS AGROECOLÓGICAS DA FAZENDA ESCOLA SÃO LUÍS, UEMA: ESTRATÉGIA DE APROXIMAÇÃO DA UNIVERSIDADE E A COMUNIDADE. **Revista Brasileira de Agroecologia**, 2(2), 2007.

CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life. **Biological Reviews**, v.73, n.3, p.203-266, 1998.

CAVALIER-SMITH, T. **Eukaryote kingdoms: seven or nine?** Biosystems, v.14, n.3-4, p.461-481, 1981.

CHARLES, R.A.; KJOS, S.; ELLIS, A.E.; BARNES, J.C.; YABSLEY, M.J. Southern plains woodrats (*Neotoma micropus*) from southern Texas are important reservoirs of two genotypes of *Trypanosoma cruzi* and host of a putative novel *Trypanosoma* species. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, n. 1, p. 22-30, 2013.

CHAVES, J.R.V. **PROJETO MARACANÃ-DO DISCURSO À PRÁTICA DA SUSTENTABILIDADE: Estudo sobre as percepções dos Agentes Ambientais e os reflexos do desenvolvimento das ações no meio ambiente, no lazer e na qualidade de vida**, 2007.

COMINETTI, M.C.; ANDREOTTI, R.; OSHIRO, E.T.; DORVAL, M.E.M.C. Epidemiological factors related to the transmission risk of *Trypanosoma cruzi* in a Quilombola community, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 576-581, 2011.

CONCEIÇÃO, V.P.; CARVALHO, R.; BOUÇAS, D. Roteiros turísticos para os Participantes da 64ª Reunião Anual da SBPC. **São Luís: EDUFMA**, p.28, 2012.

CONCEIÇÃO-SILVA, Fátima; ALVES, Carlos Roberto. Leishmanioses do continente americano. **Editora Fiocruz**, 2014.

COOPER, C.; THOMPSON, R.C.A.; BOTERO, A.; KRISTANCIC, A.; PEACOCK, C.; KIRILAK, Y. A comparative molecular and 3-dimensional structural investigation into cross-continental and novel avian *Trypanosoma* spp. in Australia. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2017.

CORTEZ, A.P.; VENTURA, R.M.; RODRIGUES, A.C.; BATISTA, J.S.; PAIVA, F.; AÑEZ, N.; MACHADO, R.Z.; GIBSON, W.C.; TEIXEIRA, M.M.G. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. **Parasitology**, v. 133, n. 2, p. 159-169, 2006.

COSTA, A.P.; FERREIRA, J.I.G.S.; DA SILVA, R.E.; TONHOSOLO, R.; ARAÚJO, A.C.; GUIMARÃES, M.F.; HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; MARCILI, A.

Trypanosoma cruzi in Triatomines and wild mammals in the National Park of Serra das Confusões, Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, p. 445-451, 2018.

COSTA, P.L.; DANTAS-TORRES, F.; DA SILVA, F.J.; GUIMARÃES, V.C.F.V., GAUDÊNCIO, K., & BRANDÃO-FILHO, S. P. (2013). Ecology of *Lutzomyia longipalpis* in an area of visceral leishmaniasis transmission in north-eastern Brazil. **Acta tropica**, 126(2), 99-102, 2013.

COSTA, T.F.; ROCHA, A.V.V.O.; MIRANDA, L.M.; LIMA, L.F.S.; SANTOS, F.L.N.; SILVA, A.A.O.; ALMEIDA-SOUZA, F.; SEVÁ, A.P.; CABRAL, A.D.; SPERANÇA, M.A.; COSTA, F.B.; NOGUEIRA, R.M.S.; DA COSTA, A.P. Seroprevalence and detection of *Trypanosoma cruzi* in dogs living in a non-endemic area for Chagas disease in the legal Amazon region, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 26, p. 100648, 2021.

COX, G.N.; PRATT, D.; HAGEMAN, R.; BOISVENUE, R.J.; Molecular cloning and primary sequence of a cysteine protease expressed by *Haemonchus contortus* adult worms. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 41, n. 1, p. 25-34, 1990.

CUTOLO, A.A.; TEODORO, A.K.M.; OVALLOS, F.G; ALLEGRETTI, S.M.; GALATI, E.A.B. Sandflies (Diptera: Psychodidae) associated with opossum nests at urban sites in southeastern Brazil: a risk factor for urban and periurban zoonotic *Leishmania* transmission? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, n.3, p.391-393, 2014.

D'AVILA-LEVY, C.M.; BOUCINHA, C.; KOSTYGOV, A.; SANTOS, H.L.C.; MORELLI, K.A.; GRYBCHUK-IEREMENKO, A.; DUVAL, L.; VOTÝPKA, J.; Yurchenko, V.; Grellier, P.; LUKEŠ, J. Exploring the environmental diversity of kinetoplastid flagellates in the high-throughput DNA sequencing era. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 956-965, 2015.

DA COSTA, A.P.; COSTA, F.B.; SOARES, H.S.; RAMIREZ, D.G.; MESQUITA, E.T.K.C.; GENNARI, S.M.; MARCILI, A. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum* *chagasi* infection in wild mammals from Maranhão State, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.15, n.11, p.656-666, 2015.

DA SILVA, E.M. **DETECÇÃO DE *Cryptosporidium* spp., *Leishmania* spp. E IDENTIFICAÇÃO DE IXODÍDEOS EM *Didelphis albiventris* LUND, 1841 (MARSUPIALIA: DIDELPHIDAE)**, 2016.

DA SILVA, F.M.; MARCILI, A.; ORTIZ, P.A; EPIPHANIO, S.; CAMPANER, M.; CATÃO-DIAS, J.L.; SHAW, J.J.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M. Phylogenetic, morphological and behavioural analyses support host switching of *Trypanosoma* (Herpetosoma) *lewisi* from domestic rats to primates. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 4, p. 522-529, 2010.

DA SILVA, F.M.; MARCILI, A.; ORTIZ, P.A; EPIPHANIO, S.; CAMPANER, M.; CATÃO-DIAS, J.L.; SHAW, J.J.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M. Phylogenetic, morphological and behavioural analyses support host switching of *Trypanosoma* (Herpetosoma) *lewisi* from domestic rats to primates. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 4, p. 522-529, 2010.

DA SILVA, F.M.; NOYES, H.; CAMPANER, M.; JUNQUEIRA, A.C.V.; COURA, J.R.; AÑEZ, N.; SHAW, J.J.; STEVENS, J.R.; TEIXEIRA, M.M.G. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, v. 129, n. 5, p. 549-561, 2004.

DA SILVA, F.M.; NOYES, H.; CAMPANER, M.; JUNQUEIRA, A.C.V.; COURA, J.R.; AÑEZ, N.; SHAW, J.J.; STEVENS, J.R.; TEIXEIRA, M.M.G. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, v. 129, n. 5, p. 549-561, 2004.

DA SILVA, R.E. **Genes de cisteíno proteases (catepsina L-like) de *Leishmania infantum chagasi*: caracterização, relações filogenéticas e diagnóstico molecular**, 2018.

DA SILVA, R.E.; SAMPAIO, B.M.; TONHOSOLO, R.; DA COSTA, A.P.; COSTA, L.E.S.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPERANÇA, M.A.; MARCILI, A. Exploring *Leishmania infantum* cathepsin as a new molecular marker for phylogenetic relationships and visceral leishmaniasis diagnosis. **BMC infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 1-9, 2019.

DARIO, M.A.; RODRIGUES, M.S.; BARROS, J.H.S.; XAVIER, S.C.C.; D'ANDREA, P.S.; ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2016.

DE CARVALHO, G.Q. **Mecanismos de ativação de neutrófilos infectados por *Leishmania infantum*: papel da heme e do lipofosfoglicano (LPG)**. Tese de Doutorado. Instituto Gonçalo Moniz, 2019.

DE CASTRO FERREIRA, E.; CRUZ, I.; CAÑAVATE, C.; DE MELO, L.A.; PEREIRA, A.A.S.; MADEIRA, F.A.M.; VALÉRIO, S.A.N.; CUNHA, H.M.; PAGLIA, A.P.; GONTIJO, C.M.F. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2015.

DE LIMA, H.; CARRERO, J.; RODRIGUEZ, A.; DE GUGLIELMO, Z.; RODRIGUEZ, N. Trypanosomatidae of public health importance occurring in wild and synanthropic animals of rural Venezuela. **Biomedica**, v.26, p.42-50, 2006.

DE PITA-PEREIRA, D.; CARDOSO, M.A.; ALVES, C.R.; BRAZIL, R.P.; BRITTO, C. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica**, v.107, n.1, p.66-69, 2008.

DEANE, L. M.; ALMEIDA, F.B.; NETO, J.F.; DA SILVA, J.E. *Trypanosoma cruzi* e outros tripanossomas em primatas brasileiros. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 6, p. 361, 1972.

DEANE, M.P.; LENZI, H.L.; JANSEN, A. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.79, n.4, p.513-515, 1984.

DELAISSÉ, J.M.; EECKHOUT, Y.; VAES, G. In vivo and in vitro evidence for the involvement of cysteine proteinases in bone resorption. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 125, n. 2, p. 441-447, 1984.

DE CASTRO FERREIRA, E.; CRUZ, I.; CAÑAVATE, C.; DE MELO, L.A.; PEREIRA, A.A.S.; MADEIRA, F.A.M.; VALÉRIO, S.A.N.; CUNHA, H.M.; PAGLIA, A.P.; GONTIJO, C.M.F. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2015.

DE LIMA, H; CARRERO, J.; RODRIGUEZ, A.; DE GUGLIELMO, Z.; RODRIGUEZ, N. Trypanosomatidae of public health importance occurring in wild and synanthropic animals of rural Venezuela. **Biomedica**, v.26, p.42-50, 2006.

DEANE, M.P.; LENZI, H.L.; JANSEN, A. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.79, n.4, p.513-515, 1984.

DELAISSÉ, J.M.; EECKHOUT, Y.; VAES, G. In vivo and in vitro evidence for the involvement of cysteine proteinases in bone resorption. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 125, n. 2, p. 441-447, 1984.

DESCHAMPS, P.; LARA, E.; MARANDE, W.; LÓPEZ-GARCÍA, P.; EKELUND, F.; MOREIRA, D. Phylogenomic analysis of kinetoplastids supports that trypanosomatids arose from within bodonids. **Molecular biology and evolution**, v. 28, n. 1, p. 53-58, 2011.

DIAS, J.C.P. **Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos**, 2006.

DIAS, J.C.P.; NETO, A.M.; LUNA, E.J.A. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.3, p.375-379, 2011.

DOFLEIN, F. Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger nach biologischen Gesichtspunkten dargestellt. **Fischer**, 1901.

DOLLET, M. Plant diseases caused by flagellate protozoa (Phytomonas). **Annual review of phytopathology**, v. 22, n. 1, p. 115-132, 1984.

DONALISIO, M.R.; PAIZ, L.M.; V.G.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; VON ZUBEN, A.P.B.; CASTAGNA, C.L.; MOTOIE, G.; HIRAMOTO, R.M.; TOLEZANO, J.E. Visceral leishmaniasis in an environmentally protected area in southeastern Brazil: Epidemiological and laboratory cross-sectional investigation of phlebotomine fauna, wild hosts and canine cases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005666, 2017.

DOS SANTOS, S.O; ARIAS, J.; RIBEIRO, A.A.; DE PAIVA HOFFMAN, M.; DE FREITAS, R.A.; MALLACO, M.A. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Medical and veterinary entomology**, v. 12, n. 3, p. 315-317, 1998.

DROZINO, R.N.; OTOMURA, F.H.; GAZARINI, J.; GOMES, M.L.; TOLEDO, M.J.O. *Trypanosoma* found in synanthropic mammals from urban forests of Paraná, southern Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, 2019.

DUBOISE, S.M.; VANNIER-SANTOS, M.A.; COSTA-PINTO, D.; RIVAS, L.; PAN, A.A.; TRAUB-CSEKO, Y.; DE SOUZA, W.; MCMAHON-PRATT, D. The biosynthesis, processing, and immunolocalization of *Leishmania pifanoi* amastigote cysteine proteinases. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 68, n. 1, p. 119-132, 1994.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the Neotropics**. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. Chicago: The University of Chicago Press, v.3, p. 70-71, 1999.

EMMONS, L.; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals: a field guide**. 1997.

EGAN, S.L.; TAYLOR, C.L.; AUSTEN, J.M.; BANKS, P.B.; AHLSTROM, L.A.; RYAN, U.M.; IRWIN, P.J.; OSKAM, C.L. Molecular identification of the *Trypanosoma* (Herpetosoma) *lewisi* clade in black rats (*Rattus rattus*) from Australia. **Parasitology research**, v. 119, n. 5, p. 1691B-1696, 2020.

FARIAS, L. Utilização do alvo hsp70 em técnicas de biologia molecular para diferenciação de subgêneros de *Leishmania* spp. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2015.

FÉLIX, P.T. **Abordagem multi-metodológica utilizando o gene period (per) em estudos de genética de populações e filogeografia de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da *Leishmania infantum chagasi* na Região Tropical**, 2013.

FERMINO, B.R.; PAIVA, F.; SOAPRES, P.; TAVARES, L.E.R.; VIOLA, L.B. Field and experimental evidence of a new caiman trypanosome species closely phylogenetically related to fish trypanosomes and transmitted by leeches. **Int J. Parasites Wildl**, v.4, n.3, p 78-368, 2015.

FERNANDES, O.; DEGRAVE, W.; CAMPBELL, D.A. The mini-exon gene: a molecular marker for *Endotrypanum schaudinni*. **Parasitology**, v.107, n.3, p.219-224, 1993.

FERNANDES, O.; MURTHY, V.K.; KURATH, U.; DEGRAVE, W.M.; CAMPBELL, D.A. Mini-exon gene variation in human pathogenic *Leishmania* species. **Molecular and biochemical parasitology**, v.66, n.2, p.261-271, 1994.

FERREIRA, E.C. **Estudo dos hospedeiros de *Leishmania* em área de ocorrência das leishmanioses no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil**. Tese de Doutorado, 2010.

FERREIRA, J.I.G.S. **Descrição morfológica e Filogenia de parasitas do gênero *Trypanosoma* em pequenos mamíferos silvestres do Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2020.

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

- FONSECA, A. R.; ROCHA, B. F.; PEREIRA, M. H.; SILVA, D. A.; SOUSA, F. F. Levantamento de Ratos, Morcegos, Pombos e Cobras pelo Setor de Vigilância Ambiental do Município de Divinópolis-MG1. **Hygeia**, Minas Gerais, v.14, n. 27, p. 41 - 55, mar. 2018.
- FONSECA, G.A.B.; HERRMANN, G.; LEITE, Y.L.R.; MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B. & PATTON, J.L. **Lista anotada dos mamíferos do Brasil**. Conservation International & Fundação Biodiversitas, Occasional paper n.4, 1996.
- FONOVIC, M.; TURK, B Cysteine cathepsins and their potential in clinical therapy and biomarker discovery. **Proteom Clin Appl**.v.8, p. 416-26, 2014.
- GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; REGO-JR, F.A.; OSHIRO, E.T.; RODRIGUES, M. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 378-390, 1997.
- GALVÃO, C. Vetores da doença de Chagas no Brasil. **SciELO-Sociedade Brasileira de Zoologia**, 2014.
- GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, R.A.; GUSMON, V.; SABIO, P.B.; APARECIDA, E.; GALATI, B. **Leishmanioses no Brasil: aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Protozoários**. Rio Branco, Acre, 2020.
- GARCIA, H.A.; RANGEL, C.J.; ORTÍZ, P.A.; CALZADILLA, C.O.; CORONADO, R.A.; SILVA, A.J.; PÉREZ, A.M.; LECUNA, J.C.; GARCÍA, M.E.; AGUIRRE, A.M.; TEIXEIRA, M.M.G. Zoonotic trypanosomes in rats and fleas of venezuelan slums. **EcoHealth**, v. 16, n. 3, p. 523-533, 2019.
- GARDNER, A.L. **Mammals of South America Volume 1: Marsupials. Xenarthrans, Shrews and Bats**, 2007.
- GIUDICE, E.; PASSANTINO, A. Detection of *Leishmania* amastigotes in peripheral blood from four dogs. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.59, n.2, p.205-213, 2011.
- GOMES, N.F. Revisão sistemática do gênero *Monodelphis* (Didelphidae: Marsupialia). **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991
- GONZÁLES CAPA, S.; DURANTE, E. I. Agente etiológico: *Trypanosoma cruzi*. **Enfermedad de Chagas. Buenos Aires: Mosby-Doyma Argentina**, p. 31-40, 1994.
- GRAMICCIA, M; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. **International journal for parasitology**, v.35, n. 1-12, p.1169-1180, 2005.
- GRIMALDI JR, G.; TESH, ROBERT, B.; MCMAHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.41, n.6, p.687-725, 1989.

GUERRA, J.A.O.; RIBEIRO, J.A.S.; DA CAMARA COELHO, L.I.A.R.; BARBOSA, M.G.V.; PAES, M.G. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil Epidemiology of tegumentary leishmaniasis in São João, Manaus, Amazonas, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v.22, n.11, p.2319-2327, 2006.

GUHL, F.; SCHOFIELD, C.J. Population genetics and control of Triatominae. **Parasitology Today**, v.12, p.169-70, 1996.

GUIMARAES-E-SILVA, A.S.; SILVA, S.O.; SILVA, R.C.R.; PINHEIRO, V.C.S.; REBÊLO, J.M.M.; MELO, M.N. *Leishmania* infection and blood food sources of phlebotomines in an area of Brazil endemic for visceral and tegumentary leishmaniasis. **PloS one**, v.12, n.8, p. e0179052, 2017.

HAMILTON, P.B.; GIBSON, W.C.; STEVENS, J.R. Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 44, n. 1, p. 15-25, 2007.

HAMILTON, P.B.; STEVENS, J.R.; GAUNT, M.W.; GIDLEY, J.; GIBSON, W.C. Trypanosomes are monophyletic: evidence from genes for glyceraldehyde phosphate dehydrogenase and small subunit ribosomal RNA. **International journal for parasitology**, v.34, n.12, p.404-1393, 2004.

HAMILTON, P.B.; TEIXEIRA, MARTA, M.G.; STEVENS, J.R. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'bat seeding' hypothesis. **Trends in parasitology**, v. 28, n. 4, p. 136-141, 2012.

HANNAERT, V.; ALBERT, M.A.; RIGDEN, D.J.; DA SILVA-GIOTTO, M.T.; THIEMANN, O.; GARRATT, R.C. Molecular analysis of the cytosolic and glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in *Leishmania mexicana*. **Molecular and biochemical parasitology**, v.55, n.1-2, p.115-126, 1992.

HASHIGUCHI, Y.; GOMEZ, E.A.L.; CÁRCERES, A.G.; VELEZ, L.N.; VILLEGAS, N.V.; HASHIGUCHI, K.; MIMORI, T.; UEZATO, H.; KATO, H. Andean cutaneous leishmaniasis (Andean-CL, uta) in Peru and Ecuador: the vector *Lutzomyia* sand flies and reservoir mammals. **Acta tropica**, v.178, p.264-275, 2018.

HERNÁNDEZ, R.; RIOS, P.; VALDES, A.M.; PINERO, D. Primary structure of *Trypanosoma cruzi* small-subunit ribosomal RNA coding region: comparison with other trypanosomatids. **Molecular and biochemical parasitology**, v.41, n.2, p.207-212, 1990.

HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S. Synanthropic rodent reservoirs of *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* in the valley of Caracas, Venezuela. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, p. 279-282, 1997.

HOARE, C.A. **The trypanosomes of mammals**. A Zoological Monograph. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph., 1972.

HONG, X.K.; ZHANG, X.; FUSCO, O.A.; LAN, Y.G.; LUN, Z.R.; LAI, D.H. PCR-based identification of *Trypanosoma lewisi* and *Trypanosoma musculi* using maxicircle kinetoplast DNA. **Acta tropica**, v. 171, p. 207-212, 2017.

HONIGBERG, B.M. A contribution to systematics of the non-pigmented flagellates. **Progress in protozoology**, p. 68, 1963.

HOWIE, S.; GUY, M.; FLEMING, L.; BAILEY, W.; NOYES, H.; FAYE, J.A.; PEPIN, J.; GREENWOOD, B.; WHITTLE, H.; MOLYNEAUX, D.; CORRAH, T. A Gambian infant with fever and an unexpected blood film. **PLoS Medicine**, v. 3, n. 9, p. e355, 2006.

HUMBERG, R.M.P.; OSHIRO, E.T.; PIRES-CRUZ, M.S.; RIBOLLA, P.E.M.; ALONSO, D.P.; FERREIRA, A.M.T.; BONAMIGO, R.A.; JR, N.T.; OLIVEIRA, A.G. *Leishmania chagasi* in Opossums (*Didelphis albiventris*) in an Urban Area Endemic for Visceral Leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.87, n.3, p.470-472, 2012.

JANSEN, A.M. Animais de Laboratório: Marsupiais Didelfídeos: gambás e cuícas. **Editora Fiocruz** cap.22, p.167-170, 2006.

JANSEN, A.M.; DAS CHAGAS-XAVIER, S.C.; ROQUE, A.L.R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & vectors**, v.11, n.1, p.502, 2018.

JANSEN, A.M.; ROQUE, A.L.R. Domestic and wild Mammalian Reservoirs in: *Telleria J, Tibayrenc M, editors. American trypanosomiasis: Chagas disease one hundred years of research*, 2010.

JANSEN, A.M.; XAVIER, S.C.C; ROQUE, A.L.R. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. **Acta tropica**, v. 151, p. 1-15, 2015.

JANSEN, A.M.; XAVIER, S.M.C.; ROQUE, A.L.R. Landmarks of the Knowledge and *Trypanosoma cruzi* Biology in the Wild Environment. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.10, p.10, 2020.

JASKOWSKA, E.; BUTLER, C.; PRESTON, G.; KELLY, S. Phytomonas: trypanosomatids adapted to plant environments. **PLoS pathogens**, v. 11, n. 1, p. e1004484, 2015.

JOHNSON, P D. A Case of Infection by *Trypanosoma lewisi* in a Child. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 26, n. 5, 1933.

JORGE-COSTA, J.O. **Diversidade de parasitas dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* em vertebrados silvestres e vetores da área da Sede Reserva Legado das Águas-Votorantim, no município de Miracatu, São Paulo**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2020.

JULIANO, M.A.; BROOKS, D.R.; SELZER, P.M.; PANDOLFO, H.L.; JUDICE, W.A.S.; JULIANO, L.; MENDAL. M.; SANDERSON, S.J.; MOTTRAM, J.C.; COOMBS, G.H. Differences in substrate specificities between cysteine protease CPB isoforms of *Leishmania mexicana* are mediated by a few amino acid changes. **European journal of biochemistry**, v. 271, n. 18, p. 3704-3714, 2004.

JULIÃO. F.S. **Uso de método de biologia molecular quantitativo (PCR real-time) na avaliação de reservatórios para leishmaniose visceral, Salvador. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia, p.84, 2011**

JURBERG, J.; RODRIGUES, J.M.S.; MOREIRA, F.F.F.; DALE, C.; CORDEIRO, I.R.S.; LAMAS-JR, V.D.; GALVÃO, C.; ROCHA, D.S. **Atlas Iconográfico dos triatomíneos do Brasil: vetores da doença de Chagas**, 2014.

KAUFER, A.; ELLIS, J.; STARK, D.; BARRAT, J. The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-17, 2017.

KHADEM VATAN, S., SALMANZADEH, S., FOROUTAN-RAD, M., BIGDELI, S., HEDAYATI-RAD, F., SAKI, J., HEYDARI-GORJI, E., 2017b. Spatial distribution and epidemiological features of cutaneous leishmaniasis in southwest of Iran. **Alexandria Journal of Medicine**, v.53, n.1, p.93-98, 2017.

KOLLIEN, A. H.; SCHAUB, G. A. The development of *Trypanosoma cruzi* in triatominae. **Parasitology Today**, v.16, n. 9, p.381–387, set. 2000.

KURU, T.; JIRATA, D.; GENETU, A.; BARR, S.; MENGISTU, Y.; ASEFFA, A.; GEDAMU, L. *Leishmania aethiopica*: identification and characterization of cathepsin L-like cysteine protease genes. **Experimental parasitology**, v. 115, n. 3, p. 283-290, 2007.

LAINSON, R.; DA SILVA, F. M.; FRANCO, C. M. *Trypanosoma (Megatrypanum) saloboense* sp. n. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) parasite of *Monodelphis emiliae* (Marsupialia: Didelphidae) from Amazonian Brazil. **Parasite**, v. 15, n. 2, p. 99-103, 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18642501/>> Acesso em: 11 fev. 2022.

LAINSON, R.; SHAW, J.J Evolution, classification, and geographical distribution. In The leishmaniasis in biology and medicine. Peters and R. Killick-Kendrick (eds.). **Academic Press**, London, v.1, p. 1-120, 1987.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. **Leishmaniasis in Brazil XIII: isolation of *Leishmania* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*), and observations on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in north Pará State**, 1979.

LARA-SILVA, F.O.; BARATA, R.A.; MICHALSKY, E.M.; FERREIRA, E.C.; LOPES, M.O.G.; PINHEIRO, A.C.; FORTES-DIAS, C.L.; DIAS, E.S. *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (syn. *Le. chagasi*) in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

LEMOS, M.; FERMINO, B. R.; SIMAS-RODRIGUES, C.; HOFFMANN, L.; SILVA, R.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G.; SOUTO-PADRÓN, T. Phylogenetic and morphological characterization of trypanosomes from Brazilian armoured catfishes and leeches reveal high species diversity, mixed infections and a new fish trypanosome species. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 573, p. 1-17, 2015.

LIMA, B.S.; DANTA-TORRES, F.; CARVALHO, M.R.; MARINHO-JUNIOR, J.F.; ALMEIDA, E.L.; BRITO, M.E.F.; GOMES, F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Small mammals as hosts of *Leishmania* spp. in a highly endemic area for zoonotic leishmaniasis in north-eastern Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 107, n. 9, p. 592-597, 2013.

LIMA, L. **Diversidade morfológica, biológica e genética, e relações filogenéticas de tripanossomas de morcegos do Brasil e Moçambique (África)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2011.

LIMA, L.; ESPINOSA-ÁLVAREZ, O.; HAMILTON, P.B.; NEVES, L.; TAKATA, C.S. *Trypanossoma livingstonei*: a new species from Africa bat supports the bat seeding hypothesis for the *Trypanossoma cruzi* clade. **Parasit Vectors**, v.221, n.6, 2013.

LIMA, L.; ESPINOSA-ÁLVAREZ, O.; ORTIZ, P.A.; TREJO-VÁRON, J.A.; CARRANZA, J.C.; PINTO, C.M.; SERRANO, M.G.; BUCK, G.A.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M.G. Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* in bats, and multilocus phylogenetic and phylogeographical analyses supporting Tcbat as an independent DTU (discrete typing unit). **Acta tropica**, v. 151, p. 166-177, 2015.

LIMA, L.; ESPINOSA-ÁLVAREZ, O.; PINTO, C.M.; CAVAZZANA-JR, M.; PAVAN, A.C.; New insights into the evolution of the *Trypanosoma cruzi* clade provided by a new trypanosome species tightly linked to Neotropical Pteronotus bats and related to an Australian lineage of trypanosomes. **Parasit Vectors**, v.8, p.657, 2015a.

LIMA, L.; SILVA, F.M.; NEVES, L.; ATTÍAS, M.; TAKATA, C.S.A.; CAMPANER, M.; SOUZA, W.; HAMILTON, P.B.; TEIXEIRA, M.M.G. Evolutionary insights from bat trypanosomes: morphological, developmental and phylogenetic evidence of a new species, *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *erneyi* sp. nov., in African bats closely related to *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* and allied species. **Protist**, v. 163, n. 6, p. 856-872, 2012.

LISBOA, C.V.; MANGIA, R.H.; DE LIMA, N.R.; MARTINS, A.; DIETZ, J.; BAKER, A.J.; RAMON-MIRANDA, C.R.; FERREIRA, L.F.; FERNANDES, O.; JANSEN, A.M. Distinct patterns of *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* in distinct Atlantic coastal rainforest fragments in Rio de Janeiro–Brazil. **Parasitology**, v.129, n.6, p.703-711, 2004.

LYNCH, M.J. **Medical laboratory technology and clinical pathology**, 1969.

LOMBARDI, M.C.; TURCHETTI, A.P.; TINOCO, H.P.; PESSANHA, A.T.; SPAVE, S.A.; MALTA, M.C.C.; PAIXÃO, T.A.; SANTOS, R.L. Diagnosis of *Leishmania infantum* infection by polymerase chain reaction in wild mammals. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 1243-1246, 2014.

LOPES, C.M.T.; MENNA-BARRETO, R.F.S.; PAVAN, M.G.; PEREIRA, M.C.D.S.; ROQUE, A.L.R. *Trypanosoma janseni* n. sp. (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) isolated from *Didelphis aurita* (Mammalia: Didelphidae) in the Atlantic Rainforest of Rio de Janeiro, Brazil: integrative taxonomy and phylogeography within the *Trypanosoma cruzi* clade. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.113, n.1, p.45-55, 2018.

LUN, Z.R.; WEN, Y.Z.; UZUREAU, P.; LECONDIÉ, L.; LAI, D.H.; LAN, Y.G.; DESQUESNES, M.; GENG, G.Q.; YANG, T.B.; ZHOU, W.L.; JANNIN, J.G.; SIMARRO, P.P.; TRUC, P.; VINCENDEAU, P.; PAYS, E. Resistance to normal human serum reveals *Trypanosoma lewisi* as an underestimated human pathogen. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 199, n. 1-2, p. 58-61, 2015.

LUSTIGMAN, S.; MCKERROW, J.H.; SHA, K.; LUI, J.; HUIMA, T.; HOUGH, M.; BROTMAN, B. Cloning of a cysteine protease required for the molting of *Onchocerca volvulus* third stage larvae. **J Biol Chem** v.9, p. 271: 30181, 1996.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.4, p.84-95, 1912.

MACHADO, C.A.; AYALA, F.J. Nucleotide sequences provide evidence of genetic exchange among distantly related lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 13, p. 7396-7401, 2001.

MAIA DA SILVA, F.; NOYES, H. A.; CAMPANER, M. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, v. 129, p. 549-561, 2004.

MARANHÃO. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Coordenadoria de Programas Especiais. Programa Estadual de Gerenciamento Costeiro. Macrozoneamento do Golfão Maranhense. **Diagnóstico Ambiental da Microrregião da Aglomeração Urbana de São Luís e dos Municípios de Alcântara, Bacabeira e Rosário. Estudo Sócio-Ambiental, São Luís: Sema/MMA/PNMA**, 1998.

MARCILI, A.; LIMA, L.; CAVAZZANA, M.; JUNQUEIRA, A.C.; VELUDO, H.H.; MAIA DA SILVA, F.; CAMPANER, M.; PAIVA, F.; NUNES, V.L.; TEIXEIRA, M.M. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, v. 136, n. 6, p. 641-55, 2009 a.

MARCILI, A.; LIMA, L.; VALENTE, V.C.; VALENTE, S.A.; BATISTA, J.S.; JUNQUEIRA, A.C.; SOUZA, A.I.; DA ROSA, J.A.; CAMPANER, M.; LEWIS, M.D.; LLEWELLYN, M.S.; MILES, M.A.; TEIXEIRA, M.M. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCIIC: new hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 9, n. 6, p. 1265-74, 2009 b.

MARCILI, A.; SPERANÇA, M.A.; COSTA, A.P.; MADEIRA, M.F.; SOARES, H.S.; SANCHES, C.O.C.C; ACOSTA, I.C.L.; GIROTTO, AL.; MINERVINO, A.H.H.; HORTA, M.C.; SHAW, J.J.; GENNARI, S.M. Phylogenetic relationships of *Leishmania* species based on trypanosomatid barcode (SSU rDNA) and gGAPDH genes: Taxonomic revision of *Leishmania* (L.) *infantum chagasi* in South America. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 25, p. 44-51, 2014.

MARCILI, A.; VALENTE, V.C.; VALENTE, S.A.; JUNQUEIRA, A.C.; DA SILVA, F.M.; PINTO, A.Y.; NAIFF, R.D.; CAMPANER, M.; COURA, J.R.; CAMARGO, E.P.; MILES, M.A.; TEIXEIRA, M.M. *Trypanosoma cruzi* in Brazilian Amazonia: Lineages TCI and TCIa in wild primates, *Rhodnius* spp. and in humans with Chagas disease associated with oral transmission. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 5, p. 615-23, 2009 c.

MARY, C.; FARAUT, F.; LASCOMBE, L.; DUMON, H. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. **Journal of clinical microbiology**, v.42, n.11, p.5249-5255, 2004.

MATTOS, E.C.; MEIRA-STREJEVITCH, C.S.; MARCIANO, M.A.M.; FACCINI, C.C.; LOURENÇO, A.M.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V.L. Molecular detection of *Trypanosoma cruzi* in acai pulp and sugarcane juice. **Acta tropica**, v. 176, p. 311-315, 2017.

MARINHO JÚNIOR, J.F. Infecção natural por *Leishmania* spp. em pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos envolvidos na manutenção da leishmaniose tegumentar americana em área endêmica da Zona da Mata Norte de Pernambuco, Brasil. **Tese de Doutorado**. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, 2010.

MARTINS, A.V.; GOMES, A.P.; DE MENDONÇA, E.G.; FIETTO, J.L.R.; SANTANA, L.A.; OLIVEIRA, M.G.A.; GELLER, M.; SANTOS, R.F.; VITORINO, R.R.; BATISTA-SIQUEIRA, R. Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. **Infectio**, v.16, n. 1, p.45–58, mar. 2012.

MCKERROW, J.H. Proteases de parasitas. **Experimental Parasitology**, v.68, p.5-111, 1989.

MEDKOUR, H.; DAVOUST, B.; DULIEU, F.; MAURIZI, L.; LAMOUR, T.; MARIE, J.L.; MEDIANNIKOV, L. Potential animal reservoirs (dogs and bats) of human visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in French Guiana. **PLoS neglected tropical diseases**, v.13, n.6, p. e0007456, 2019.

MEERBURG, B.G.; SINGLETON, G.R.; KIJLSTRA, A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. **Critical reviews in microbiology**, v. 35, n. 3, p. 221-270, 2009.

MELLO, D.A. Roedores, marsupiais e triatomíneos silvestres capturados no município de Mambai-Goiás: Infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi*. **Revista de Saúde pública**, v. 16, p. 282-291, 1982.

MELO, L.A. **Deteção de *Leishmania* sp. em pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos no município de Belo Horizonte, MG**, 2008.

MENDES, E.R.; RIBEIRO, E.F.V.; ROCHA, A.E. Florística e fitossociologia das Trilhas ecológicas da APA do Maracanã, Ilha de São Luís-MA. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, 2007.

MENDONÇA, D.J.F. Educação Ambiental em unidade de Conservação: um Estudo sobre Projetos Desenvolvidos na Apa do Maracanã. **SIMPÓSIO DE EXCELÊNCIA EM GESTÃO E TECNOLOGIA-SEGET**, 2012.

MISSAWA, N.A.; VELOSO, M.A.E.; MACIEL, G.B.M.L.; MICHALSKY, E.M.; DIAS, E.S. **Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil**. 2011.

MOTAZEDIAN, M.H.; PARHIZKARI, M.; MEHRABANI, D.; HATAM, G.; ASGARI, Q. First detection of *Leishmania major* in *Rattus norvegicus* from Fars province, southern Iran. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 10, p. 969-975, 2010.

MONTEIRO FILHO, E. **Biologia reprodutiva e espaço domiciliar de *Didelphis albiventris* em uma área perturbada na região de Campinas, Estado de São Paulo (Mammalia-Marsupialia)**. 1987.

MOREIRA, D.; LÓPEZ-GARCÍA, P.; VICKERMAN, K. An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 54, n. 5, p. 1861-1875, 2004.

MOTA, L.A.A.; MIRANDA, R.R. **Manifestações dermatológicas e otorrinolaringológicas na Leishmaniose. Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia**, v.15, n.3, p.376-381, 2011.

MOTTRAM, J.C.; COOMBS, G.H.; ALEXANDER, J. Cysteine peptidases as virulence factors of *Leishmania*. **Current opinion in microbiology**, v. 7, n. 4, p. 375-381, 2004.

MUNDODI, V.; KUCKNOOR, A.S.; GEDAMU, L. Role of *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* amastigote cysteine protease in intracellular parasite survival: studies by gene disruption and antisense mRNA inhibition. **BMC molecular biology**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2005.

MUNDODI, V.; SOMANNA, A.; FARRELL, P.J.; GEDAMU, L. Genomic organization and functional expression of differentially regulated cysteine protease genes of *Leishmania donovani* complex. **Gene**, v. 282, n. 1-2, p. 257-265, 2002.

NADERER, T; MCCONVILLE, M.J. The *Leishmania*-macrophage interaction: a metabolic perspective. **Cellular microbiology**, v.10, n.2, p.301-308, 2008.

NANTES, W.A.G.; SANTOS, F.M.; DE MACEDO, G.C.; BARRETO, W.T.G.; GONÇALVES, L.R.; RODRIGUES, M.S.; CHULLI, J.V.M.; RUCCO, A.C.; ASSIS, W.O.; PORFÍRIO, G.E.O.; DE OLIVEIRA, C.E.; XAVIER, S.C.C.; HERRERA, H.M.; JANSEN, A.M. Trypanosomatid species in *Didelphis albiventris* from urban forest fragments. **Parasitology Research**, v. 120, n. 1, p. 223-231, 2020.

NAVEA-PÉREZ, H.M.; SÁEZ-DÍAS, V.; CORPAS-LÓPEZ, V.; MERINO-ESPINOSA, G.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J. *Leishmania infantum* in wild rodents: reservoirs or just irrelevant incidental hosts? **Parasitology research**, v. 114, n. 6, p. 2363-2370, 2015.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 12. Ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

OLIVEIRA, D.S.C.; GUIMARÃES, M.J.B.; MEDEIROS, Z. Productive model for leptospirosis. **Revista Patologia Tropical, Recife**. v. 38, n. 1, p.17-26, jan/mar. 2009.

OLIVEIRA, F.S.; PIRMEZ, C.; PIRES, M.Q.; BRAZIL, R.P.; PACHECO, R.S. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 129, n. 3-4, p. 219-227, 2005.

OLIVEIRA, E.F.; OSHIRO, E.T.; FERNANDES, W.S.; MURAT, P.G.; DE MEDEIROS, M.J.; SOUZA, A.I.; *et al.* Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005401, 2017.b

ONISHI, K.; LI, Y.; ISHII, K.; HISAEDA, H.; TANG, L.; DUAN, X.; DAINICHI, T.; MAEKAWA, Y.; KATUNAMA, N.; HIMENO, K. Cathepsin L is crucial for a Th1-type immune response during *Leishmania major* infection. **Microbes and infection**, v. 6, n. 5, p. 468-474, 2004.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). **Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas**. <<http://iris.paho.org>>. Accessed 28 Mai 2020, 2019.

ORTIZ, P.A.; GARCIA, H.A.; LIMA, L.; DA SILVA, F.M.; CAMPANER, M.; PEREIRA, C.L.; JITTAPALAPONG, S.; NEVES, L.; DESQUESNES, M.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M.G. Diagnosis and genetic analysis of the worldwide distributed *Rattus*-borne *Trypanosoma* (Herpetosoma) *lewisi* and its allied species in blood and fleas of rodents. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 63, p. 380-390, 2017.

PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.; RAYLANDS, A.B.; HERRMAN, G.; AGUIAR, L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; *et al.* Lista anotada dos mamíferos do Brasil. **Occasional papers in conservation biology**, 2012.

PAIZ, L.M.; DONALISIO, M.R.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; MOTOIE, G.; CASTAGNA, C.L.; TOLEZANO, J.E. **Infecção por agentes das leishmanioses, doença de Chagas e febre maculosa brasileira em mamíferos silvestres de vida livre em Área de Proteção Ambiental do município de Campinas, São Paulo: Infection by agents of leishmaniasis, Chagas disease and Brazilian spotted fever in free-ranging wild mammals from an environmentally protected area of the municipality of Campinas, São Paulo**, 2018.

PAIZ, L.M.; DONALISIO, M.R.; RICHINI-PEREIRA, V.M.; MOTOIE, G.; CASTAGNA, C.L.; TOLEZANO, J.E. Infection by *Leishmania* spp. in free-ranging opossums (*Didelphis albiventris*) in an environmentally protected area inhabited by humans in southeastern Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 16, n. 11, p. 728-730, 2016.

PANTI-MAY, J.A.; ANDRADE, R.R.C.; GURUBEL-GONZÁLES, Y.; PALOMO-ARJONA, E.; SODÁ-TAMAYO, L.; MEZA- SULÚ, J.; RAMÍREZ-SIERRA, M.; DUMONTEIL, E.; VIDAL-MARTINEZ, V.M.; MACHAÍN-WILLIAMS, C.; DE OLIVEIRA, D.; REIS, M.G.; TORRES-CASTRO, M.A.; ROBLES, M.R.; HERNÁNDES-BETANCOURT, S.F.; COSTA, F. A survey of zoonotic pathogens carried by house mouse and black rat populations in Yucatan, Mexico. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 11, p. 2287-2295, 2017.

PAHO – Pan-American Health Organization. Doença de Chagas – **Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos**,

p.92.http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guia_Doenca_Chagas_2009.pdf. Acesso: 14 fev 2022.

PAHO – Pan-American Health Organization. Neglected, **Tropical and Vector Borne Diseases**.<https://www.paho.org/en/topics/neglected-tropical-and-vector-borne-diseases>. Acesso em 29 abr 2022.

PASCALIS, H.; LAVERGNE, A.; BOURREAU, E.; PRÉVOT-LINGUET, G.; KARIMINIA, A.; PREDINAUD, R.; RAFATI, S.; LAUNOIS, P. Th1 cell development induced by cysteine proteinases A and B in localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania guyanensis*. **Infection and immunity**, v. 71, n. 5, p. 2924-2926, 2003.

PEREIRA, A.A.S.; DE CASTRO-FERREIRA, E.; DA ROCHA-LIMA, A.C.V.M.; TONELLI, G.B.; RÊGO, F.D.; PAGLIA, A.P.; ANDRADE-FILHO, J.D.; PAZ, G.F.; GONTIJO, C.M.F. Detection of *Leishmania* spp in silvatic mammals and isolation of *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* from *Rattus rattus* in an endemic area for leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 11, p. e0187704, 2017.

PEREIRA, A.A.S. **Avaliação da infecção por *Leishmania* spp. em pequenos mamíferos de áreas endêmicas de Minas Gerais, Brasil**. Tese de Doutorado, 2015.

PICCINALI, R.V.; CANALE, D.M.; SANDOVAL, A.E.; CARDINAL, M.V.; JENSEN O.; KITRON U.; GURTNER R.E. *Triatoma infestans* bugs in southern Patagonia, Argentina. **Emerging infectious diseases**, v.16, n.5, p.887, 2010.

PIMENTEL-ELARDO, S.M.; BUBACK, V.; GULDER, T.A.M.; BUGNI, T.S.; REPPART, J.; BRINGMANN, G.; IRELAND, C.M.; SCHIRMEISTER, T.; HENTSCHEL, U. New tetromycin derivatives with anti-trypanosomal and protease inhibitory activities. **Marine drugs**, v. 9, n. 10, p. 1682-1697, 2011.

PIMENTEL, C.C. **Animais sinantrópicos na percepção de estudantes do ensino médio, estudo de caso em João Pessoa-PB**, 2020.

PINHO, A.P.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R.H.; FERNANDES, O.; JANSEN, A.M. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.94, n.5, p.509-514, 2000.

PINTO, C.M.; OCAÑA- MAYORGA, S.; LASCANO, M.S.; GRIJALVA, M.J. Infection by trypanosomes in marsupials and rodents associated with human dwellings in Ecuador. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 6, p. 1251-1255, 2006.

QUARESMA, P.F.; RÊGO, F.D.; BOTELHO, H.A.; DA SILVA, S.R.; MOURA-JUNIOR, A.J.; TEIXEIRA-NETO, R.G.; MADEIRA, F.M.; CARVALHO, M.B.; PAGLIA, A.P.; MELO, M.N.; GONTIJO, C.M.F.F. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State,

Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. 10, p. 579-585, 2011.

QUINTAL, A.P.N. *Leishmania* spp. em *Didelphis albiventris* e *Micoureus paraguayanus* (Mammalia: Didelphimorphia), 2010.

RAFATI, S.; SALMANIAN, A.H.; HASHEMI, K.; SCHAFF, C.; BELLI, S.; FASEL, N. Identification of *Leishmania major* cysteine proteinases as targets of the immune response in humans. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 113, n. 1, p. 35-43, 2001.

RÊGO, S. F. M.; MAGALHÃES, A. E. A.; SIQUEIRA, A. F. Um novo tripanossoma dogambá, *Trypanosoma freitasi* sp. n. **Revista Brasileira Malariologia**, v. 9, p. 277-284, 1957.

REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. In: **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos Trópicos Ocidentais**. Guanabara Koogan, 2008.

ROCHA, A.V.V.O. **OCORRÊNCIA DE *Leishmania amazonensis* EM ANIMAIS DOMÉSTICOS EM ÁREA ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DO MARANHÃO**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2020.

ROCHA, L.C.; FRANCO, A.M.R.; MOREIRA, F.R.A.C.N. **Proteínas associadas à infectividade em *Leishmania (leishmania) amazonensis* Lainson e Shaw, 1972 (kinetoplastida: trypanosomatidae)**, 2011.

RODRIGUES, A.C.; PAIVA, F.; CAMPANER, M.; STEVENS, J.R.; NOYES, H.A.; TEIXEIRA, M.M. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 215-224, 2006.

RODRIGUES, B.A.; MELO, G.B. Contribuição ao estudo da tripanosomíase americana. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.37, n.1, p.77-90, 1942.

RODRIGUES, J.C.F.; GODINHO, J.L.P.; SOUZA, W. Biology of human pathogenic trypanosomatids: epidemiology, lifecycle and ultrastructure. **Proteins and Proteomics of *Leishmania* and *Trypanosoma***, p. 1-42, 2014.

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

RODRIGUES, V. L.; FERRAZ FILHO, A. N. *Trypanosoma* (Megatrypanum) *rochasilvai*, sp. n., encontrada no Estado de Sao Paulo, Brasil, parasitando o *Orzomys laticeps* (Leche, 1886) (Rodentia-Cricetidae). **Revista brasileira de biologia**, p. 299-304, 1984.

ROELLIG, D.M.; ELLIS, A.E.; YABSLEY, M.J. Oral transmission of *Trypanosoma cruzi* with opposing evidence for the theory of carnivory. **Journal of Parasitology**, v.95, n.2, p. 360-364, 2009.

ROELLIG, D.M.; MCMILLAN, K.; ELLIS, A.E.; VANDEBERG, J.L.; CHAMPAGNE D.E.; et al Experimental infection of two South American reservoirs with four distinct strains of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology**, v. 137, n. 6, p. 959-966, 2010.

ROGERS, K.A.; DEKREY, G.K.; MBOW, M.L.; GILLESPIE, R.D.; BRODSKYM, C.I.; TITUS, R.G. Type 1 and type 2 responses to *Leishmania major*. **FEMS microbiology letters**, v.209, n.1, p.1-7, 2002.

ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. Importância dos animais domésticos sentinelas na identificação de áreas de risco de emergência de doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. Sup III, p. 191-193, 2008.

ROQUE, A.L.R.; XAVIER, S.C.C.; ROCHA, M.G.; DUARTE, A.C.M.; D'ANDREA, P.S.; JANSEN, A.M. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks, 2008.

ROSAL, G.G.; NOGUEDA-TORRES, B.; VILLAGRÁN, M.E.; DIEGO-CABRERA, J.A.; MONTAÑEZ-VALDEZ, O.D.; MARTÍNEZ-IBARRA, J.A. Chagas disease: Importance of rats as reservoir hosts of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) in western Mexico. **Journal of infection and public health**, v. 11, n. 2, p. 230-233, 2018.

ROSS, R. Further notes of Leishman's bodies. **British Medical Journal**, v.2. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.2.2239.1401> >, 1903.

ROSSI, R. V.; CARMIGNOTTO, A.P.; BRANDÃO, M.V.; MIRANDA, C.L.; CHEREM, J.J. Diversidade morfológica e taxonômica de marsupiais didelídeos, com ênfase nas espécies brasileiras. **Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e conservação** (NC Cáceres, ed.). Ed. UFMS. Campo Grande, p. 23-72, 2012.

SAKANARI, J.A.; NADLER, S.A.; CHAN, V.J.; ENGEL, J.C.; LEPTAK, C.; BOUVIER, J. *Leishmania major*: comparison of the cathepsin L- and B-like cysteine protease genes with those of other trypanosomatids. **Experimental parasitology**, v. 85, n. 1, p. 63-76, 1997.

SANGUINETTE, C.C.; GONTIJO, M.F.; ANDRADE-FILHO, J.D. **Epidemiologia das leishmanioses no distrito de Barra do Guaiçui, município de Várzea da Palma, Minas Gerais, Brasil**. Tese de Doutorado, 2015.

SANTOS, J.C.B. Avaliação da atividade antiparasitária de compostos sintéticos à base de bisfosfonatos em *Leishmania amazonensis*. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2020.

SARATAPHAN, N.; VONGPAKORN, M.; NUANSRICHAY, B.; AUTARKOOL, N.; KEOWKARNKAH, T.; RODTIAN, P.; STICH, R.W.; JITTAPALAPONG, S. Diagnosis of a *Trypanosoma lewisi*-like (Herpetosoma) infection in a sick infant from Thailand. **Journal of medical microbiology**, v. 56, n. Pt 8, p. 1118, 2007.

SCHALLIG, H.D.; SILVA, E.S.; VAN DER MEIDE, W.F.; SCHOONE, G.J.; GONTIJO, C.M.F. *Didelphis marsupialis* (common opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.7, n.3, p.387-393, 2007.

SCHOFIELD, C.J. *Trypanosoma cruzi*--the vector-parasite paradox. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, n.4, p.535-544, 2000.

SCHORLEMMER, H. U.; DAVIES, P.; ALLISON, A.C. Ability of activated complement components to induce lysosomal enzyme release from macrophages. **Nature**, v. 261, n. 5555, p. 48-49, 1976.

SCHWAN, T.G.; LOPEZ, J.E.; SAFRONETZ, D.; ANDERSON, J.M.; FISCHER, R.J.; MAIGA, O.; SOGOBA, N. Fleas and trypanosomes of peridomestic small mammals in sub-Saharan Mali. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2016.

SEMA - Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Programa Estadual de Gerenciamento Costeiro. Macrozoneamento diagnóstico ambiental da microregião de aglomeração urbana de São Luís. **Estudo de ocupação espacial e cobertura da terra. São Luís: SEMA/GERCO**, p. 137, 1997.

SHAHINIAN, H.; THOLEN, S.; SCHILLING, O. Proteomic identification of protease cleavage sites: cell-biological and biomedical applications. **Expert review of proteomics**, v. 10, n. 5, p. 421-433, 2013.

SHERLOCK, I.A.; MIRANDA, J.C.; SADIGURSKY, M.; GRIMALDI, J.G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 4, p. 511-511, 1984

SHERLOCK, I.R.A. "Vetores." **Guanabara Koogan SA**, 2000.

SHRIVASTAVA, K.K.; SHRIVASTRA, G.P., Two cases of *Trypanosoma* (Herpetosoma) species infection of man in India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 2, p. 143-4, 1974.

SILVA, D.A.; MADEIRA, M.F.; FIGUEIREDO, F.B. Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 435-438, 2015.

SILVA, E.M.; ALVES, L.C.; GUERRA, N.R.; FARIAS, M.P.O.; OLIVEIRA, E.L.R.; SOUZA, R.C.; CUNHA, C.; RAMOS, R.A.N.; PORTO, W.J. *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from Northeastern Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.47, n.3, p.942-944, 2016.

SILVA, J.C.R. Zoonoses e doenças emergentes transmitidas por animais silvestres. **Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens/ABRAVAS**, p. 1-4, 2004.

SILVA, R. A. M. S.; RIVERA DÁVILA, A.M.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. **Embrapa Pantanal-Livro científico (ALICE)**, 2002.

SILVA-ALMEIDA, M.; PEREIRA, B.A.S.; RIBEIRO-GUIMARÃES, M.L.; ALVES, C.R. Proteinases as virulence factors in *Leishmania* spp. infection in mammals. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2012.

SIMPSON, A.G.B.; STEVENS, J.R.; LUKEŠ, J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends in parasitology**, v. 22, n. 4, p. 168-174, 2006.

SLOANE, B.F.; ROZHIN, J.; HATFIELD, J.S.; CRISSMAN, J.D.; HONN, K.V. Plasma membrane-associated cysteine proteinases in human and animal tumors. **Pathobiology**, v. 55, n. 4, p. 209-224, 1987.

SOARES, L.S **Avaliação da aplicação do “Índice de Sustentabilidade de Bacias Hidrográficas” como subsídio para formulação de políticas públicas de conservação nas sub-bacia dos rios Batatas e Maracanã, Ilha de São Luís – MA.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Maranhão. Departamento de Oceanografia e Limnologia. Programa de Pós Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas, 2010.

SOGIN, M.L.; ELWOOD, H.J.; GUNDERSON, J.H. Evolutionary diversity of eukaryotic small-subunit rRNA genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.83, n.5, p.1383-1387, 1986.

SOUTO, R.P.; FERNANDE, O.; MACEDO, A.M.; CAMPBELL, D.A.; ZINGALES, N. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and biochemical parasitology**, v.83, n.2, p.141-152, 1996.

SOUZA, D.F **Efeito do tempo de tratamento na eficácia do benzonidazol em camundongos inoculados por via oral com *Trypanosoma cruzi* I e II**, 2019.

SPODAREVA, V.V.; GRYBEHUK-IEREMENKO; A.; LOSEV, A.; VOTYPKA, J.; LUKE, J.; YURCHENKO, V.; KOSTYGOV, A.Y. Diversity and evolution of anuran trypanosomes: insights from the study of European species. **Parasites & vectors**, v.11, n.1, p.447, 2018.

STEVENS, J. R. Kinetoplastid phylogenetics, with special reference to the evolution of parasitic trypanosomes. **Parasite**, v. 15, n. 3, p. 226-232, 2008.

STEVENS, J.R.; NOYES, H.A.; DOVER, G.A.; GIBSON, W.C. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*. **Parasitology**, v.118, n.1, p.107-116, 1999.

STEVENS, J. R.; NOYES, H.A.; SCHOFIELD, C.J.; GIBSON, W. **The molecular evolution of Trypanosomatidae**. 2001.

STREILEIN, K.E. Ecology of small mammals in the semiarid Brazilian Caatinga. I. Climate and faunal composition. **Annals of Carnegie Museum**, Pittsburgh, v.51, p.79-107, 1982a.

STREILEIN, K.E. Ecology of small mammals in the semiarid Brazilian Caatinga. **Carnegie Museum of Natural History**, 1982b.

STUART, K.; BRUN, R.; CROFT, S.; FAIRLAMB, A.; GURTNER, R.E.; MCKERROW, J.; REED, S.; TARLETON, R. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. **The Journal of clinical investigation**, v. 118, n. 4, p. 1301-1310, 2008.

SZPEITER, B.B. **Diversidade, isolamento e filogenia de parasitas do Gênero *trypanosoma* em vertebrados silvestres da reserva extrativista Tapajós Arapiuns no estado do Pará**, 2016.

TALMI-FRANK, D.; NASEREDDIN, A.; SCHNUR, L.F.; SCHÖNIAN, G.; ÖZENSOY, T.; JAFFE, C.L.; BANETH, G. Detection and identification of old world *Leishmania* by high resolution melt analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 1, p. e581, 2010.

TARTAROTTI, E.; TERCÍLIA, M.; VILELA, A.O.; CERON, C.R. Problemática vetorial da Doença de Chagas. **Arq Ciênc Saúde**, v.11(1), p. 44-7, 2004.

TEODORO, A.K.M.; CUTOLO, A.A.; MONTOIE, G.; MEIRA-STREJEVITCH, C.S.M.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V.L.P.; MENDES, T.M.F.; ALLEGRETTI, S.M. Gastrointestinal, skin and blood parasites in *Didelphis* spp. from urban and sylvatic areas in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 16, p. 100286, 2019.

THOMAS, M.E.; RASWEILER, I.V.J.J.; D'ALESSANDRO, A. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and captive neotropical bats. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n.5, p.559-565, 2007.

TONELLI, G.B.; TANURE, A.; REGO, F.D.; CARVALHO, G.M.L.; STUMPP, R.; ASSIMOS, G.R.; CAMPOS, A.M.; LIMA, A.C.V.M.R.; GONTIJO, C.M.F.; PAZ, G.F.; FILHO, J.D.A. *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* infection in wild small mammals in ecotourism area of Brazil. **PloS one**, v.12, n.12, 2017.

TURK, B.; TURK, D.; TURK, V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1477, n. 1-2, p. 98-111, 2000.

TYLER, K.M.; ENGMAN, D.M. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. **International Journal for Parasitology**, v.31, n.5-6, p.472-481, maio 2001.

TZIZIK, D.M.; BORCHARDT, R.A. Chagas disease: An underrecognized diagnosis. **Journal of the American Academy of PAs**, v.31, n.12, p.30-33, 2018.

URDANETA-MORALES, S.; Chagas' disease: an emergent urban zoonosis. The Caracas Valley (Venezuela) as an epidemiological model. **Frontiers in public health**, v. 2, p. 265, 2014.

VARGAS, P.A.O. **Genes de cisteíno-proteases de *Trypanosoma* spp. de mamíferos: polimorfismo e relações filogenéticas**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2014.

VASCONCELOS, I.A.B.; VASCONCELOS, A.W.; FE FILHO, N.M.; QUEIROS, R.G.; SANTANA, E.W.; BOZZA, M.; SALLENAVE, S.M.; VALIM, C.; JR, D.; LOPES, U.G. The identity of *Leishmania* isolated from sand flies and vertebrate hosts in a major focus of cutaneous leishmaniasis in Baturite, northeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 50, n. 2, p. 158-164, 1994.

VASCONCELOS, J.R.de. **Maracanã para todos: uma proposta de desenvolvimento sustentável para a Área de Proteção Ambiental da Região do Maracanã**. UEMA/CTDS. São Luís, 1995.

VICKERMAN, K. The diversity of the kinetoplastid flagellates. **Biology of the Kinetoplastida**, p.1-34, 1976.

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **International journal for parasitology**, v. 24, n. 8, p. 1317-1331, 1994.

VIETTRI, M.; HERRERA, L.; AGUILAR, C.M.; MOROCOIMA, A.; REYES, J.; LARES, M.; LOZANO-ARIAS, D.; GARCÍA-ALZATE, R.; CHACÓN, T.; FELICIANGELI, M.D.; FERRER, E. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi/Leishmania* spp. coinfection in domestic, peridomestic and wild mammals of Venezuelan co-endemic areas. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.14, p.123-130, 2018.

VILELA, M., MENDONÇA, S. **Leishmaniose**. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/leishmaniose>>. Acesso em: 29/05/2020, 2013.

VIOLA, L.B.; ALMEIDA, R.S.; FERREIRA, R.C.; CAMPANER, M.; TAKATA, C.S.; RODRIGUES, A.C.; PAIVA, F.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M.G. Evolutionary history of trypanosomes from South American caiman (*Caiman yacare*) and African crocodiles inferred by phylogenetic analyses using SSUrDNA and gGAPDH genes. **Parasitology**, v.136, n.1, p.55-65, 2009a.

VIOLA, L.B.; CAMPANER, M.; TAKATA, C.S.; FERREIRA, R.C.; RODRIGUES, A.C.; FREITAS, R.A. Phylogeny of snake trypanosomes inferred by SSU rDNA sequences, their possible transmission by phlebotomines, and taxonomic appraisal by molecular, cross-infection and morphological analysis. **Parasitology**, v.35, n.5, p.595-605, 2008.

WALLACE, F.G. **Biology of the Kinetoplastida of arthropods**. Department of Zoology: University of Minneapolis, 1979

WALLACE, F.G. The trypanosomatid parasites of insects and arachnids. **Experimental parasitology**, v. 18, n. 1, p. 124-193, 1966.

WALLACE, F.G.; CAMARGO, E.P.; MCGHEE, R.B.; ROITMAN, I. Guidelines for the Description of New Species of Lower Trypanosomatids 1. **The Journal of protozoology**, v. 30, n. 2, p. 308-313, 1983.

WHO REPORT ON GLOBAL SURVEILLANCE OF EPIDEMIC-PRONE INFECTIONS DISEASES. **Leishmaniasis and Leishmaniasis/HIV co-infection**, 2004.

WHO. Control of the leishmaniasis. Report of a WHO Expert Committee. **World Health Organ Tech Rep Ser**, v. 793, p. 1-158, 1990.

WOLINSKA, J.; KING, K.C. Environment can alter selection in host–parasite interactions. **Trends in parasitology**, v.25, n.5, p.236-244, 2009.

World Health Organization (WHO). **Chagas Disease** (American trypanosomiasis). Fact Sheet. [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease(american-trypanosomiasis)), 2018a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. LEISHMANIASIS (WHO). **World Health Org Fact Sheet**. 2019;375. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Accessed 31 Jul 2020, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. LEISHMANIASIS (WHO). **World Health Org Fact Sheet**. 2019;375. < <https://www.paho.org/en/topics/chagas-disease>>. Accessed 03 Feb 2022, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. LEISHMANIASIS (WHO). **World Health Org Fact Sheet**. 2019;375. < <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>>. Accessed 03 Feb 2022, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. LEISHMANIASIS (WHO). **World Health Org Fact Sheet**. 2019;375. < <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>>. Accessed 25 Feb 2022, 2022.

YASUDA-SHIKANAI, M.A.; CARVALHO, N.B. **Oral transmission of Chagas disease. Clinical Infectious Diseases**, v.54, n. 6, p.845-852, 2012.

ZANETTE, R.A.; SILVA, A.S.; LUNARDI, F.; SANTURIO, J.M.; MONTEIRO, S.G. Occurrence of gastrointestinal protozoa in *Didelphis albiventris* (opossum) in the central region of Rio Grande do Sul state. **Parasitology International**. v.57, n.2, p.217 – 218, 2007.

ZECCA, I.B.; HODO, C.L.; SLACK, S.; AUCKLAND, L.; HAMER, S.A. *Trypanosoma cruzi* infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, 2020.

ZELEDON, R. Epidemiology, modes of transmission and reservoir hosts of Chagas' disease. **Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas disease**, v. 20, 1974.

ZHOU, J.; ZHANG, Y.Y.; LI, Q.Y.; CAI, Z.H. Evolutionary history of cathepsin L (L-like) family genes in vertebrates. **International journal of biological sciences**, v. 11, n. 9, p. 1016, 2015.

ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta tropica**, v. 184, p. 38-52, 2018.

ZINGALES, B.; ANDRADE, S.G.; BRIONES, M.R.S.; CAMPBELL, D.A.; CHIARI, E.; FERNANDES, O.; GUHL, F.; LAGES-SILVA, E.; MACEDO, A.M.; MACHADO, C.R.; MILES, M.A.; ROMANHA, A.J.; STURM, N.R.; TIBAYRENC, M.; SHIJMAN, A.G. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2009.B

ZORZENON, F.J. Noções sobre as principais pragas urbanas. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 231-234, 2002.

ZUQUE, M.A.S. **Participação de gambás e cães domiciliados como reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi* georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas-MS**, 2016.