

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**OCORRÊNCIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM
QUIRÓPTEROS URBANOS DE BAURU, SÃO PAULO:
EVIDÊNCIAS MOLECULARES, IMPLICAÇÕES ECOLÓGICAS E
EPIDEMIOLÓGICAS**

MAISA JAMPAULI BERNARDES

Botucatu – SP

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**OCORRÊNCIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM
QUIRÓPTEROS URBANOS DE BAURU, SÃO PAULO:
EVIDÊNCIAS MOLECULARES, IMPLICAÇÕES ECOLÓGICAS E
EPIDEMIOLÓGICAS**

MAISA JAMPAULI BERNARDES

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Animais Selvagens para
a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Associada Lígia Souza
Lima Silveira da Mota.

Coorientador: Prof. Dr. Benedito Donizete
Menozzi.

B522o

Bernardes, Maisa Jampauli

Ocorrência de tripanossomatídeos em quirópteros urbanos de Bauru, São Paulo: evidências moleculares, implicações ecológicas e epidemiológicas / Maisa Jampauli Bernardes. -- Botucatu, 2026

128 f.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Lígia Souza Lima Silveira da Mota

Coorientador: Benedito Donizete Menozzi

1. *Trypanosoma cruzi*. 2. *Trypanosoma lainsoni*. 3. Morcegos. 4. Fauna silvestre. 5. Saúde Única. I. Título.

Nome da autora: **Maisa Jampauli Bernardes**

TÍTULO: OCORRÊNCIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM QUIRÓPTEROS URBANOS DE BAURU, SÃO PAULO: EVIDÊNCIAS MOLECULARES, IMPLICAÇÕES ECOLÓGICAS E EPIDEMIOLÓGICAS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^ª. Associada Dr^ª. Lígia Souza Lima Silveira da Mota

Presidente e Orientadora

Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista, Botucatu

Doutora Fernanda Moreira Alves

Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos

Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro

Doutor Danilo Alves De França

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo,
São Paulo

Doutor Wesley Arruda Gimenes Nantes

Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos

Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro

Prof. Titular Dr. Paulo Eduardo Martins Ribolla

Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu

Data da Defesa: 27 de maio de 2026

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Simone e Gilberto.

Aos meus avós, Alice e Oswaldo.

Por me permitirem chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, à espiritualidade que orienta meus caminhos e à minha família.

À minha mãe, meu maior exemplo de força e amor, pelo cuidado e pela dedicação ao longo de toda a minha vida.

Ao meu pai, pelo amor e pelo suporte no decorrer deste processo e por sempre me incentivar a seguir os meus objetivos.

Ao meu marido, Leandro, pelo amor, carinho, compreensão e por compartilhar comigo os sonhos e a vida.

Aos meus avós, Alice e Oswaldo (*in memoriam*), pelo apoio que sempre me deram, fundamental à minha trajetória acadêmica.

À minha orientadora, Lúcia, por me acolher e conduzir comigo esta pesquisa, mas principalmente por me fazer acreditar em mim mesma.

Ao meu coorientador, Benedito, pela prontidão e pelo apoio na realização deste estudo.

Aos amigos de longa data e aos novos, com quem convivi no laboratório ao longo deste trabalho, Catharina, Larissa, Mateus, Bruna, João e Bicas, por tudo o que me ensinaram, pelo acolhimento, pelas risadas e pela presença nos momentos de crise.

A todos que dedicam seus esforços à conservação da biodiversidade e à compreensão das conexões que unem saúde, ambiente e vida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1 Quirópteros: aspectos gerais e sua relação com microrganismos potencialmente zoonóticos.....	03
2.2 Protozoários tripanossomatídeos.....	05
2.2.1 Gênero <i>Leishmania</i>	09
2.2.2 Gênero <i>Trypanosoma</i>	12
2.3 <i>Trypanosoma</i> spp. associados a quirópteros.....	16
2.4 <i>Leishmania</i> spp. associadas a quirópteros.....	18
2.5 Diagnóstico da infecção por tripanossomatídeos.....	19
2.5.1 Métodos parasitológicos e sorológicos.....	19
2.5.2 Métodos moleculares.....	20
2.5.2.1 Marcadores moleculares utilizados em tripanossomatídeos.....	21
3 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	23
4 OBJETIVO.....	26
4.1 Objetivo geral.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1 Aspectos éticos e legais.....	27
5.2 Vigilância ambiental.....	27
5.3 Identificação taxonômica, caracterização da comunidade de morcegos e dados complementares.....	28
5.4 Extração de DNA.....	28
5.5 Reações em cadeia da polimerase.....	29

5.6 Visualização por eletroforese em gel de agarose.....	30
5.7 Sequenciamento genético e análise das sequências.....	30
5.8 Análise filogenética.....	31
5.9 Análises estatísticas.....	32
6 RESULTADOS.....	34
6.1 Caracterização da amostra de morcegos.....	34
6.2 Detecção molecular de tripanossomatídeos.....	37
6.3 Detecção molecular de <i>Leishmania</i> spp.....	39
6.4 Sequenciamento genético das amostras positivas.....	40
6.5 Filogenia das sequências obtidas.....	43
6.6 Resultados das análises estatísticas.....	45
6.6.1 Associação entre positividade e família taxonômica.....	45
6.6.2 Associação entre positividade e hábito alimentar.....	45
6.6.3 Associação entre positividade e tecido analisado.....	46
6.6.4 Análises entre animais positivos.....	47
6.6.4.1 Frequência de detecção por tecido entre indivíduos positivos.....	47
6.6.4.2 Odds ratio entre tecidos.....	47
6.6.4.3 Análise de multitecidualidade.....	48
6.6.5 Positividade por espécie.....	48
6.6.6. Associação entre positividade e gênero taxonômico.....	49
7 DISCUSSÃO.....	51
8 CONCLUSÕES.....	63
9 REFERÊNCIAS.....	64
TRABALHO CIENTÍFICO.....	81
ANEXOS.....	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da amostra de morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024, segundo espécie, família taxonômica, hábito alimentar, número de indivíduos e abundância relativa.....	35
Tabela 2. Distribuição das amostras positivas para DNA de tripanossomatídeos, segundo o tecido analisado.....	38
Tabela 3. Distribuição dos quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos, segundo família, gênero e espécie (n = 18).....	38
Tabela 4. Caracterização molecular das amostras positivas para tripanossomatídeos com base no sequenciamento parcial do gene 18S rRNA e na comparação das sequências com o banco de dados GenBank por meio da ferramenta BLAST.....	41
Tabela 5. Associação entre família taxonômica e detecção de DNA de tripanossomatídeos.....	45
Tabela 6. Associação entre hábito alimentar e detecção de DNA de tripanossomatídeos.....	46
Tabela 7. Associação entre tecido analisado e detecção de DNA de tripanossomatídeos.....	46
Tabela 8. Frequência de detecção de DNA de tripanossomatídeos por tecido entre os quirópteros positivos (n = 18).....	47
Tabela 9. Distribuição dos quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos segundo a espécie (n = 50).....	48

Tabela 10. Associação entre gênero taxonômico (agrupado) e detecção de DNA de tripanossomatídeos.....	49
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagramas das principais classes morfológicas de tripanossomatídeos segundo Hoare e Wallace (1966).....	07
Figura 2. Árvore filogenética da família Trypanosomatidae resumindo reconstruções filogenéticas baseadas principalmente no gene 18S rRNA.....	08
Figura 3. Classificação filogenética das espécies do gênero <i>Leishmania</i>	10
Figura 4. Relações filogenéticas das principais linhagens de <i>Trypanosoma</i>	13
Figura 5. Localização do município de Bauru no Estado de São Paulo, Brasil.....	23
Figura 6. Distribuição do número de indivíduos por espécie de morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024 (n = 50).....	36
Figura 7. Distribuição percentual dos morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024, segundo a família taxonômica (n = 50).....	36
Figura 8. Eletroforese em gel de agarose a 1,5% dos produtos da Nested PCR para detecção de tripanossomatídeos por amplificação de fragmento do gene 18S rRNA utilizando os primers internos SSU561F e SSU561R.....	37

Figura 9. Eletroforese em gel de agarose a 1,5% dos produtos da PCR convencional para detecção de *Leishmania* spp. por amplificação de fragmento do gene HSP70 utilizando os primers HSP70F e HSP70R.....40

Figura 10. Reconstrução filogenética de *T. cruzi*, *T. c. marinkellei*, *T. rangeli*, *T. dionisii*, *T. wauwau*, *T. lainsoni* e *T. cascavelli*, baseada em um fragmento de 650 pb do gene 18S rRNA, inferida por abordagem Bayesiana.....44

BERNARDES, M. J. Ocorrência de tripanossomatídeos em quirópteros urbanos de Bauru, São Paulo: evidências moleculares, implicações ecológicas e epidemiológicas. Botucatu, 2026. 128p. Tese (Doutorado em Animais Selvagens – Clínica, conservação e preservação) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

As alterações ambientais decorrentes da urbanização favorecem a aproximação entre fauna silvestre, animais domésticos e seres humanos, ampliando as oportunidades de circulação de agentes infecciosos. Nesse contexto, os quirópteros destacam-se como hospedeiros de diversos microrganismos, incluindo protozoários da família Trypanosomatidae. O presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de tripanossomatídeos em morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru, estado de São Paulo, e caracterizar molecularmente os parasitas detectados. Foram analisados 50 morcegos provenientes das ações de vigilância ambiental do município, encontrados mortos ou moribundos entre janeiro e dezembro de 2024. Amostras de fígado, baço, coração e pele foram submetidas à extração de DNA e à detecção molecular de tripanossomatídeos por Nested PCR direcionada ao gene 18S rRNA. As amostras positivas foram sequenciadas pelo método Sanger, e as sequências obtidas foram utilizadas para identificação molecular e análise filogenética. Adicionalmente, realizou-se PCR convencional direcionada ao gene HSP70 para investigação específica de *Leishmania* spp. A detecção de DNA de tripanossomatídeos foi observada em 18 dos 50 morcegos analisados (36,0%). O sequenciamento revelou predominância de *Trypanosoma cruzi*, identificado em 32 das 33 sequências obtidas (96,97%), enquanto uma sequência (3,03%) foi identificada como *Trypanosoma lainsoni*. Não foi detectado DNA de *Leishmania* spp. nas amostras analisadas. A análise estatística evidenciou diferença global na frequência de detecção molecular entre os tecidos avaliados, com maior frequência observada no baço, seguido pelo coração. Além disso, 61,1% dos morcegos positivos apresentaram detecção do parasita em mais de um tecido. Os resultados ampliam o conhecimento sobre a circulação de tripanossomatídeos em morcegos urbanos, registram pela primeira vez a ocorrência de *Trypanosoma cruzi* em algumas das espécies analisadas e descrevem a detecção de *Trypanosoma lainsoni* em *Molossus rufus*, ampliando o espectro de hospedeiros conhecidos para esse tripanossomatídeo e sua

distribuição geográfica para o estado de São Paulo. Esses achados contribuem para o entendimento da circulação de tripanossomatídeos em ambientes urbanos e fornecem subsídios para futuras investigações ecológicas e epidemiológicas e para o aprimoramento da vigilância desses parasitas em populações de fauna silvestre.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma lainsoni*. Morcegos. Fauna silvestre. Saúde Única.

BERNARDES, M. J. Occurrence of trypanosomatids in urban bats from Bauru, São Paulo, Brazil: molecular evidence, ecological and epidemiological implications. Botucatu, 2026. 128 p. Thesis (Doctorate in Wild Animals – Clinical Practice, Conservation and Preservation) – School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil.

ABSTRACT

Environmental changes resulting from urbanization promote closer contact among wildlife, domestic animals, and humans, increasing opportunities for the circulation of infectious agents. In this context, bats are recognized as hosts of a wide range of microorganisms, including protozoa of the family Trypanosomatidae. The present study aimed to investigate the occurrence of trypanosomatids in bats from the urban area of the municipality of Bauru, São Paulo State, Brazil, and to molecularly characterize the detected parasites. A total of 50 bats obtained through the municipality's environmental surveillance activities, found dead or moribund between January and December 2024, were analyzed. Liver, spleen, heart, and skin samples were subjected to DNA extraction and molecular detection of trypanosomatids by Nested PCR targeting the 18S rRNA gene. Positive samples were sequenced using the Sanger method, and the resulting sequences were used for molecular identification and phylogenetic analysis. Additionally, conventional PCR targeting the HSP70 gene was performed for the specific detection of *Leishmania* spp. Trypanosomatid DNA was detected in 18 of the 50 bats analyzed (36.0%). Sequencing revealed a predominance of *Trypanosoma cruzi*, identified in 32 of the 33 sequences obtained (96.97%), whereas one sequence (3.03%) was identified as *Trypanosoma lainsoni*. No *Leishmania* spp. DNA was detected in the analyzed samples. Statistical analysis demonstrated an overall difference in the frequency of molecular detection among the tissues evaluated, with the highest frequency observed in the spleen, followed by the heart. Furthermore, 61.1% of the positive bats showed parasite detection in more than one tissue. The results expand current knowledge on the circulation of trypanosomatids in urban bats, report for the first time the occurrence of *Trypanosoma cruzi* in some of the bat species analyzed, and describe the detection of *Trypanosoma lainsoni* in *Molossus rufus*,

expanding the spectrum of known hosts for this trypanosomatid and its geographic distribution to São Paulo State. These findings contribute to a better understanding of the circulation of trypanosomatids in urban environments and provide support for future ecological and epidemiological investigations, as well as for improving the surveillance of these parasites in wildlife populations.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma lainsoni*. Bats. Wildlife. One Health.

Impacto científico do produto gerado

O presente estudo representa um avanço relevante para o conhecimento sobre a circulação de tripanossomatídeos em quirópteros de ambientes urbanos brasileiros, ao fornecer evidências moleculares inéditas sobre a ocorrência de *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma lainsoni* em morcegos do município de Bauru, São Paulo. Os resultados ampliam o espectro de hospedeiros conhecidos para esses parasitas, com novos registros de infecção por *T. cruzi* e *T. lainsoni* em determinadas espécies de quirópteros, além de estenderem a distribuição geográfica de *T. lainsoni* para o estado de São Paulo. Nesse contexto, a pesquisa reforça o papel dos morcegos como hospedeiros relevantes na manutenção de tripanossomatídeos e destaca sua possível participação em redes ecológicas complexas que envolvem múltiplos hospedeiros e vetores. Ao mesmo tempo, a ausência de detecção de material genético de *Leishmania* spp. contribui para o melhor entendimento da epidemiologia local. Do ponto de vista metodológico, o estudo demonstra a aplicabilidade e a robustez de ferramentas moleculares na investigação de tripanossomatídeos em fauna silvestre. A análise comparativa entre tecidos evidencia o potencial do baço e do coração como alvos prioritários para a detecção molecular desses parasitas em mamíferos silvestres, oferecendo subsídios práticos para o delineamento de futuros estudos. Por fim, os achados desta tese possuem implicações diretas para a vigilância epidemiológica e ambiental, ao demonstrar a circulação de *T. cruzi* na comunidade urbana de morcegos de Bauru, especialmente por se tratar de uma região não endêmica para a doença de Chagas. Dessa forma, esta tese fortalece a base científica necessária para subsidiar políticas públicas e ações integradas de vigilância em saúde, considerando as interações entre ambiente, fauna silvestre e populações humanas sob a perspectiva da Saúde Única.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as consequências diretamente associadas às alterações ambientais de origem antrópica, destaca-se a emergência e a reemergência de doenças infecciosas em populações humanas, animais domésticos e fauna silvestre (Daszak; Cunningham; Hyatt, 2001). As zoonoses, definidas como doenças e infecções naturalmente transmitidas entre animais vertebrados e seres humanos, representam uma parcela expressiva das doenças infecciosas emergentes e reemergentes, configurando importante desafio à saúde pública global (Karesh *et al.*, 2012; WHO; FAO, 1959).

Nesse contexto, epidemias e pandemias frequentemente resultam de processos de transbordamento zoonótico (*spillover*), nos quais agentes infecciosos originalmente mantidos em hospedeiros animais passam a infectar seres humanos, podendo posteriormente estabelecer cadeias de transmissão sustentadas (WHO, 2023).

Fatores como a intensificação da produção animal, a expansão da fronteira agrícola, as mudanças climáticas e a urbanização promovem a perda e a fragmentação de habitats naturais, alterando a disponibilidade de recursos e forçando o deslocamento da fauna silvestre para ambientes antropizados (Ellwanger *et al.*, 2020; García-Moreno, 2023; Karesh *et al.*, 2012; WHO, 2023). Esse cenário intensifica a interface entre seres humanos e animais silvestres, ampliando a exposição a agentes infecciosos (Keesing *et al.*, 2010; Tazerji *et al.*, 2022).

Entre os grupos de mamíferos que apresentam elevada capacidade de adaptação a ambientes modificados destacam-se os quirópteros (Nunes; Rocha; Cordeiro-Estrela, 2017). Diversas espécies da ordem Chiroptera utilizam áreas urbanizadas como fonte de alimento e abrigo, ocupando edificações, forros, tubulações e outras estruturas antrópicas (Reis, 2002). Características biológicas como longevidade, comportamento gregário, alta densidade populacional, mobilidade e ampla distribuição geográfica contribuem para o papel desses animais na manutenção e na circulação de diversos agentes potencialmente patogênicos (Calisher *et al.*, 2006).

Entre os agentes infecciosos de relevância zoonótica associados aos morcegos no Brasil, destacam-se os protozoários da família Trypanosomatidae, incluindo o *Trypanosoma cruzi* e espécies do gênero *Leishmania* (Castelo-Branco *et al.*, 2023). Esses hemoflagelados apresentam ciclos de transmissão complexos e envolvem múltiplos hospedeiros vertebrados e invertebrados, sendo os morcegos potenciais participantes de ciclos silvestres e, possivelmente, de cenários periurbanos e urbanos.

No município de Bauru, estado de São Paulo, foram registrados casos autóctones e óbitos por leishmaniose humana entre 2017 e 2025 (São Paulo, 2026c), indicando a manutenção da transmissão da doença na região. Entretanto, ainda são escassas as informações acerca da ocorrência molecular de tripanossomatídeos em quirópteros nesse contexto geográfico, especialmente diante da crescente urbanização e fragmentação ambiental.

A investigação molecular desses protozoários em morcegos contribui para a compreensão da manutenção de ciclos enzoóticos, da possível participação desses mamíferos na dinâmica de transmissão e de suas potenciais implicações para a saúde pública. Além disso, técnicas moleculares permitem a detecção de infecções subpatentes e a caracterização genética dos parasitas, ampliando a precisão diagnóstica e epidemiológica.

Considerando a crescente interface entre fauna silvestre, animais domésticos e seres humanos, investigações dessa natureza são fundamentais dentro da abordagem da Saúde Única (*One Health*), que reconhece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental.

Dessa forma, este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de tripanossomatídeos em morcegos coletados no município de Bauru (SP), contribuindo para o conhecimento da ocorrência, da diversidade e da circulação desses protozoários, bem como sobre suas potenciais implicações ecológicas e epidemiológicas na região.

Ao integrar aspectos relacionados à saúde pública, às alterações ambientais e à fauna silvestre, o presente estudo alinha-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas, especialmente ao ODS 3 — Saúde e Bem-Estar e ao ODS 15 — Vida Terrestre, que incentivam ações voltadas à promoção da saúde e à conservação dos ecossistemas terrestres.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Quirópteros: aspectos gerais e sua relação com microrganismos potencialmente zoonóticos

A ordem Chiroptera compreende os únicos mamíferos capazes de voo ativo, característica que os diferencia ecologicamente dos demais grupos (Kunz, 1982). Representa a segunda maior ordem de mamíferos, superada apenas por Rodentia, totalizando 21 famílias, 227 gêneros e 1.386 espécies descritas (Burgin *et al.*, 2018; Kunz, 1982).

A ecolocalização constitui uma adaptação fundamental para a orientação espacial e a captura de presas em ambientes de baixa luminosidade (Jones, 2005). Associada ao voo, essa característica impulsionou a diversificação de hábitos alimentares e estratégias comportamentais, possibilitando a exploração de uma ampla variedade de nichos ecológicos e recursos tróficos (Jones; Teeling, 2006; Kunz, 1982), o que contribui para a extensa distribuição geográfica dos morcegos, presentes em praticamente todos os ambientes terrestres, exceto regiões polares extremas (Fenton; Ratcliffe, 2010; Kunz, 1982).

Inicialmente, a ordem Chiroptera foi dividida nas subordens Megachiroptera e Microchiroptera. A subordem Megachiroptera compreendia exclusivamente a família Pteropodidae, cujas espécies não apresentam ecolocalização e utilizam predominantemente a visão e o olfato para orientação. Esses morcegos alimentam-se predominantemente de frutos e flores, sendo conhecidos como morcegos frugívoros do Velho Mundo (Mickleburgh; Hutson; Racey, 1992).

Por sua vez, a subordem Microchiroptera reunia morcegos com capacidade de ecolocalização e ampla distribuição geográfica. Esse grupo apresenta grande diversidade de hábitos alimentares, com predomínio da insetivoria, mas incluindo também espécies que consomem outros invertebrados, vertebrados, sangue, frutos, néctar e pólen (Hutson; Mickleburgh; Racey, 2001; Kunz, 1982; Reis *et al.*, 2007).

No entanto, estudos filogenéticos demonstraram que essa classificação não reflete adequadamente as relações evolutivas do grupo (Teeling *et al.*,

2000). Atualmente, a divisão reconhecida contempla as subordens Yinpterochiroptera e Yangochiroptera. A primeira é composta pelas famílias Pteropodidae, Rhinolophidae, Hipposideridae, Rhinonycteridae, Rhinopomatidae, Megadermatidae e Craseonycteridae. A subordem Yangochiroptera é composta pelas famílias Emballonuridae, Nycteridae, Natalidae, Molossidae, Cistugidae, Miniopteridae, Vespertilionidae, Myzopodidae, Mystacinidae, Mormoopidae, Phyllostomidae, Thyropteridae, Furipteridae e Noctilionidae (Hao *et al.*, 2023; Solari *et al.*, 2019; Springer *et al.*, 2001). Assim, a subordem Yangochiroptera é formada exclusivamente por morcegos ecolocalizadores, que também predominam em Yinpterochiroptera.

No Brasil, os quirópteros pertencem exclusivamente à subordem Yangochiroptera e estão distribuídos em todos os biomas, incluindo ambientes urbanos (Reis *et al.*, 2007), compreendendo nove famílias, 68 gêneros e 178 espécies, das quais dois gêneros e dez espécies são endêmicos (Nogueira *et al.*, 2014).

Mesmo diante de ameaças como perda e fragmentação de habitat, expansão agrícola, uso de pesticidas e herbicidas, poluição luminosa e mortalidade associada a turbinas eólicas (Fenton; Ratcliffe, 2010; Tuttle, 2013), os morcegos desempenham papéis ecológicos essenciais. Entre os serviços ecossistêmicos prestados destacam-se o controle de populações de insetos, inclusive pragas agrícolas e vetores de doenças (Aguiar *et al.*, 2021; Kunz *et al.*, 2011), a dispersão de sementes e a polinização, além da contribuição para a ciclagem de nutrientes por meio do acúmulo de guano (Kunz *et al.*, 2011).

Os morcegos apresentam características biológicas relevantes para a dinâmica de transmissão de microrganismos, como longevidade elevada para o porte corporal, comportamento gregário e formação de colônias numerosas (Fenton; Ratcliffe, 2010). Essas características podem favorecer a manutenção e a circulação de agentes infecciosos em populações naturais e, conseqüentemente, contribuir para a reconhecida associação dos quirópteros com diversos microrganismos potencialmente zoonóticos (Han *et al.*, 2015; Plowright *et al.*, 2015).

Entre os vírus, mais de 200 espécies já foram descritas em associação com morcegos, incluindo vírus de RNA de alta variabilidade genética (Allocati *et al.*, 2016). Destaca-se a importância epidemiológica dos *Lyssavirus*,

particularmente do vírus da raiva, cuja manutenção no Brasil envolve principalmente o morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Banyard *et al.*, 2013; Favoretto *et al.*, 2013).

No grupo das bactérias, espécies como *Bartonella* spp., *Leptospira* spp. e membros da família Enterobacteriaceae têm sido detectadas em morcegos (Allocati *et al.*, 2016). Quanto aos fungos, destacam-se *Histoplasma capsulatum*, associado à histoplasmose, e *Pseudogymnoascus destructans*, agente etiológico da síndrome do nariz branco (Allocati *et al.*, 2016; Frick; Puechmille; Willis, 2016; Taylor *et al.*, 1999).

Entre os protozoários potencialmente zoonóticos descritos em morcegos brasileiros, há registros de *Toxoplasma gondii*; entretanto, predominam os relatos envolvendo tripanossomatídeos. Espécies do gênero *Leishmania* e o *Trypanosoma cruzi* figuram entre os tripanossomatídeos mais frequentemente descritos nesses hospedeiros (Castelo-Branco *et al.*, 2023), evidenciando a possível relevância desse grupo de mamíferos na manutenção de ciclos silvestres de protozoários de importância médica.

Embora o papel dos quirópteros como reservatórios de diversos microrganismos seja amplamente discutido, o verdadeiro envolvimento desses animais nos ciclos epidemiológicos de muitos agentes infecciosos ainda permanece pouco esclarecido (Castelo-Branco *et al.*, 2023). A crescente sobreposição entre habitats humanos e populações de morcegos tem intensificado o interesse científico sobre sua participação na dinâmica de transmissão de agentes potencialmente zoonóticos, ressaltando a necessidade de investigações específicas que esclareçam sua contribuição nos diferentes contextos ecológicos.

2.2 Protozoários tripanossomatídeos

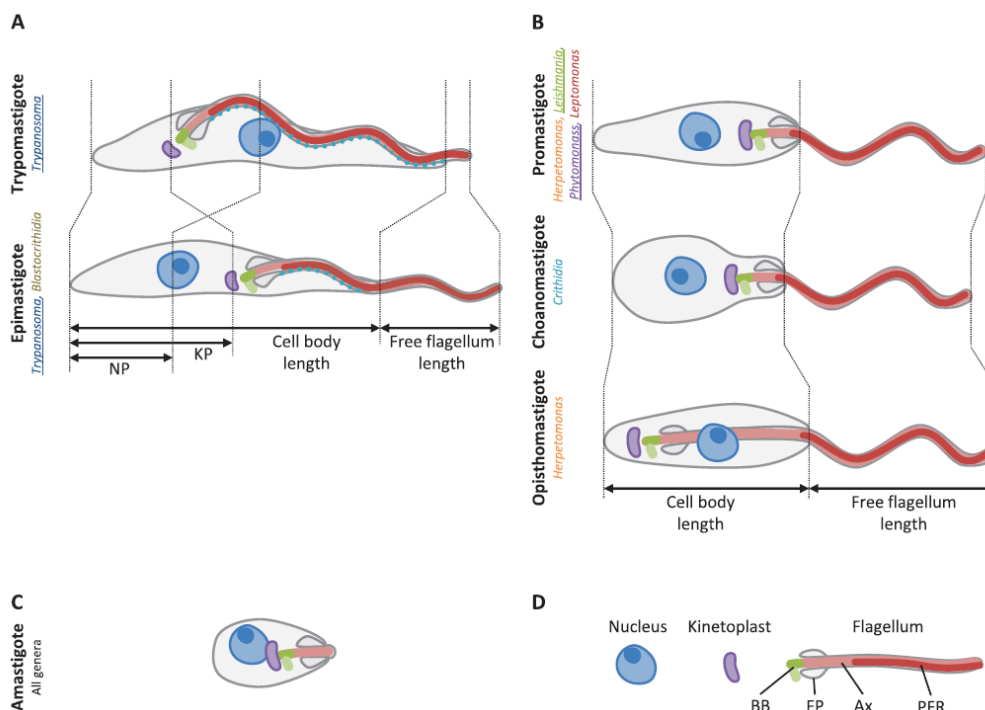
Os tripanossomatídeos (ordem Trypanosomatida) são protozoários pertencentes ao filo Euglenozoa e à classe Kinetoplastea (Kinetoplastida) (Adl *et al.*, 2018; Moreira; López-García; Vickerman, 2004). A principal característica dessa classe é a presença do cinetoplasto, uma estrutura composta por uma rede altamente organizada de DNA mitocondrial (kDNA), localizada próxima ao

corpo basal do flagelo (Adl *et al.*, 2005; Adl *et al.*, 2018; Brewster; Aslett; Barker, 1998; Simpson, 1987).

O kDNA é constituído por dezenas de maxicírculos (20–40 kbp) e milhares de minicírculos (1–2,5 kbp), interligados em uma única rede. Enquanto os maxicírculos apresentam sequência relativamente conservada dentro de uma mesma rede, os minicírculos são heterogêneos (Stuart, 1983). Os genes codificados nos maxicírculos sofrem um processo de edição de RNA guiado por pequenas transcrições derivadas dos minicírculos, resultando na formação de RNAs mensageiros funcionais (Brewster; Aslett; Barker, 1998).

Os tripanossomatídeos são organismos flagelados, possuindo flagelo único associado a uma bolsa flagelar (Vickerman, 1994). Esse flagelo desempenha funções essenciais relacionadas à mobilidade, adesão celular e morfogênese (Wheeler; Gluenz; Gull, 2013). Ao longo do ciclo de vida, os tripanossomatídeos apresentam diferentes formas morfológicas, refletindo sua adaptação a distintos hospedeiros e ambientes. Historicamente, sua classificação baseava-se no posicionamento do flagelo em relação ao corpo celular (Hoare; Wallace, 1966), distinguindo formas como tripomastigota, epimastigota, promastigota e amastigota (Figura 1).

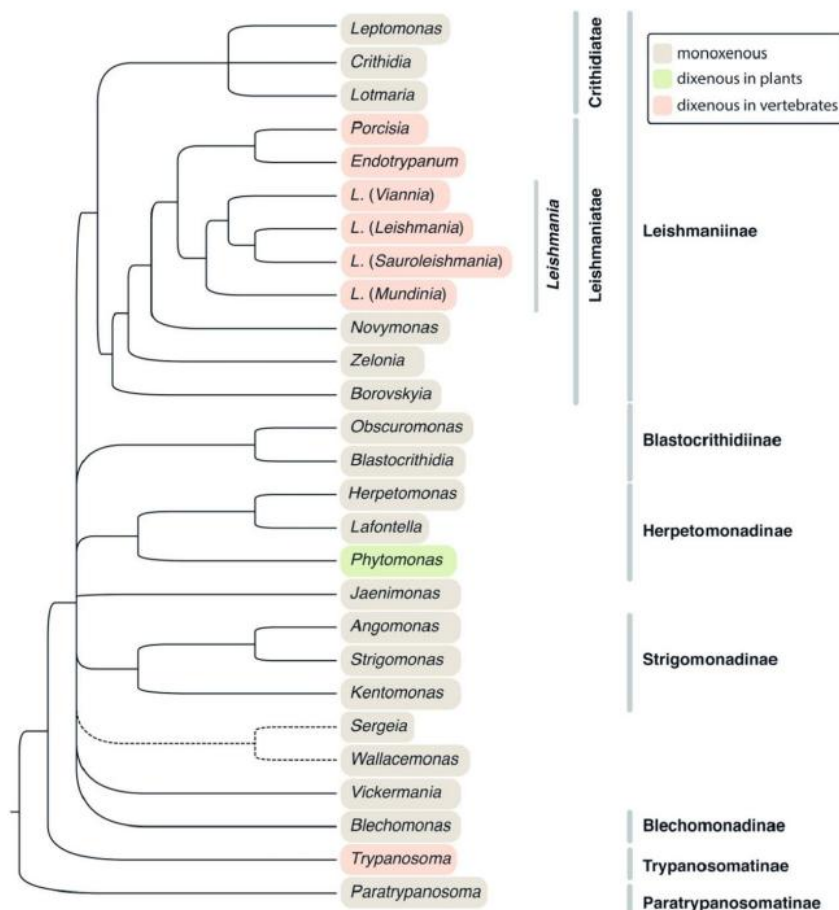
Figura 1 - Diagramas das principais classes morfológicas de tripanossomatídeos segundo Hoare e Wallace (1966). (A) Morfologias com flagelo fixado lateralmente ao corpo celular. (B) Morfologias com flagelo livre (sem fixação lateral ao corpo celular, estendendo-se além do pescoço da bolsa flagelar). (C) Morfologia amastigota, desprovida de flagelo longo e móvel. (D) Estruturas associadas ao flagelo.



Fonte: Wheeler; Gluenz; Gull (2013, p. 02)

Entretanto, análises filogenéticas baseadas em marcadores moleculares demonstraram limitações do sistema taxonômico tradicional, fundamentado exclusivamente em características morfológicas e na especificidade de hospedeiro (Kaufer *et al.*, 2017). Atualmente, a taxonomia e a sistemática dos tripanossomatídeos apoiam-se predominantemente em ferramentas moleculares (Yurchenko; Butenko; Kostygov, 2021), permitindo reconstruções filogenéticas mais robustas (Figura 2).

Figura 2 - Árvore filogenética da família Trypanosomatidae, resumindo reconstruções filogenéticas baseadas principalmente no gene 18S rRNA.



Fonte: Kostygov *et al.* (2021, p. 12)

Do ponto de vista biológico, os tripanossomatídeos são parasitas obrigatórios (Adl *et al.*, 2018; Vickerman, 1994; Wheeler; Gluenz; Gull, 2013), apresentando dois tipos de ciclo de vida: monoxênico, envolvendo apenas hospedeiros invertebrados, e dixênico, que inclui um hospedeiro invertebrado vetor e um hospedeiro vertebrado ou vegetal (Wheeler; Gluenz; Gull, 2013). Esses protozoários apresentam ampla diversidade de hospedeiros, podendo infectar desde vegetais e invertebrados até vertebrados, incluindo mamíferos e seres humanos (Rey, 2008).

Os gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* estão entre os tripanossomatídeos de maior relevância médica. No gênero *Trypanosoma*, *T. cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas, enquanto as leishmanioses, causadas por espécies do gênero *Leishmania*, constituem importantes doenças

tropicais negligenciadas que afetam milhares de pessoas anualmente em diferentes regiões do mundo (Simpson; Stevens; Lukes, 2006).

2.2.1 Gênero *Leishmania*

Os protozoários do gênero *Leishmania* são parasitas dixênicos que apresentam duas formas morfológicas principais: a promastigota, presente no trato digestório do inseto vetor (família Psychodidae, subfamília Phlebotominae), e a amastigota, forma intracelular obrigatória encontrada nos hospedeiros vertebrados (Rey, 2008; Silva *et al.*, 2014).

A descrição do gênero remonta a 1903, quando Ronald Ross, com base nos achados de William Leishman e Charles Donovan, propôs o nome *Leishmania donovani* para o agente identificado em pacientes com febre, esplenomegalia e anemia na Índia (Cupolillo; Boité; Porrozzi, 2014). Desde então, diversas espécies foram descritas e diferentes sistemas de classificação têm sido propostos.

Inicialmente, a classificação das leishmanias baseava-se em manifestações clínicas e aspectos epidemiológicos, distinguindo formas viscerais e tegumentares (Kirk, 1949). Contudo, esse sistema mostrou-se limitado, uma vez que manifestações clínicas distintas podem ser causadas por diferentes espécies (Rey, 2008).

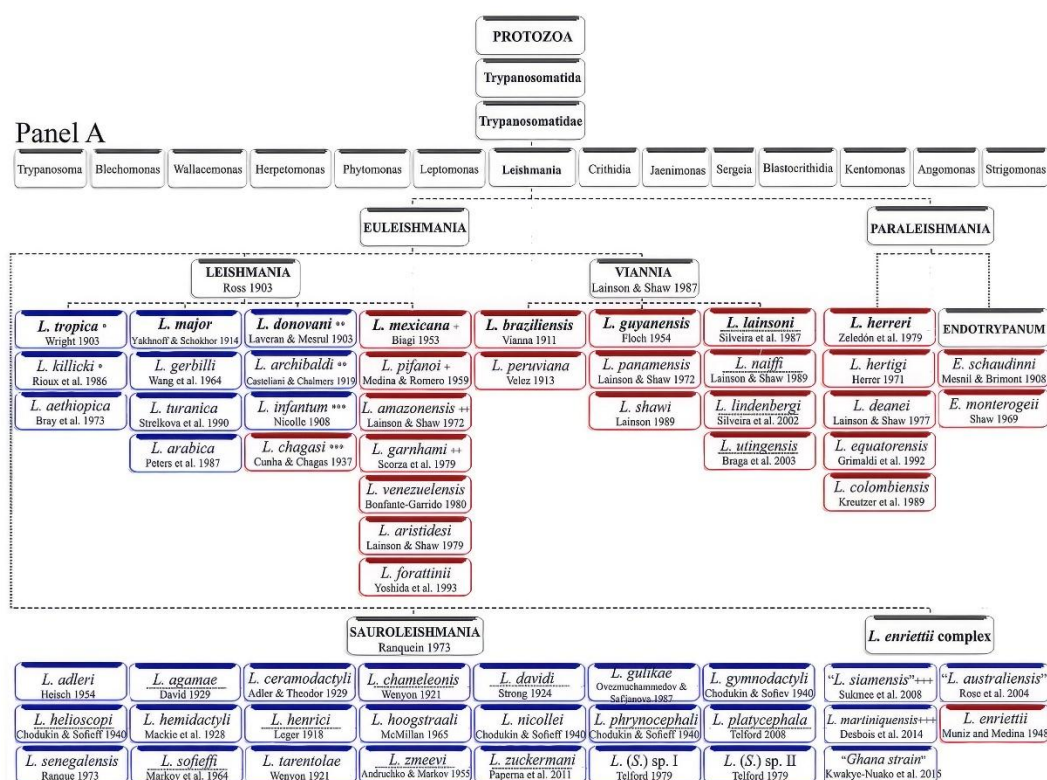
Com base em critérios biológicos, Lainson e Shaw (1987) propuseram a divisão das leishmanias que infectam mamíferos em dois subgêneros: *Leishmania* (*Leishmania*) e *Leishmania* (*Viannia*). O primeiro agrupa espécies que se desenvolvem no trato digestório médio e anterior do vetor, com distribuição tanto no Velho quanto no Novo Mundo, enquanto o subgênero *Viannia* reúne espécies que se desenvolvem no intestino posterior do vetor, com distribuição restrita aos trópicos americanos. As leishmanias que parasitam répteis são agrupadas no subgênero *Sauroleishmania*.

Estudos moleculares corroboraram essa divisão e contribuíram para o refinamento da sistemática do grupo (Fraga *et al.*, 2010; Harkins *et al.*, 2016). Mais recentemente, foi proposto o subgênero *Leishmania* (*Mundinia*) para agrupar espécies anteriormente não alocadas nos subgêneros clássicos (Espinosa *et al.*, 2016). Outra proposta filogenética sugere a divisão em duas

grandes seções: *Euleishmania*, que engloba os subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, e *Paraleishmania*, que inclui espécies anteriormente classificadas de forma incerta, além de espécies agrupadas em *Endotrypanum* (Cupolillo et al., 2000).

Atualmente, são reconhecidas 53 espécies de *Leishmania*, distribuídas entre os diferentes subgêneros e seções, das quais 31 infectam mamíferos e aproximadamente 20 são consideradas patogênicas para seres humanos (Akhoundi et al., 2016) (Figura 3).

Figura 3 - Classificação filogenética das espécies do gênero *Leishmania*.



Fonte: Akhoundi et al. (2016, p. 08)

Do ponto de vista epidemiológico, as espécies de maior importância médica pertencem aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* (Rey, 2008). Espécies filogeneticamente mais próximas podem ser agrupadas em complexos (Lainson; Shaw, 1987), como os complexos *L. braziliensis*, *L. mexicana* e *L. donovani*, que

apresentam padrões distintos de distribuição geográfica, tropismo tecidual e gravidade clínica.

O complexo *L. donovani*, que inclui *L. (L.) donovani* e *L. (L.) infantum*, apresenta marcada tendência à visceralização, com parasitismo predominante em órgãos do sistema fagocítico mononuclear. Nas Américas, *L. (L.) infantum* é o agente etiológico da leishmaniose visceral, tendo o cão doméstico como principal reservatório (Dantas-Torres, 2009; Rey, 2008).

As leishmanioses são consideradas antroponoses, apresentando ciclos de transmissão predominantemente silvestres ou peridomésticos, nos quais o ser humano pode atuar como hospedeiro acidental (Cupolillo; Boité; Porrozz, 2014). Os hospedeiros e reservatórios variam conforme a região geográfica, incluindo diversos mamíferos silvestres e domésticos (Akhoundi *et al.*, 2016). Nas Américas, determinadas populações pertencentes às ordens Didelphimorphia, Cingulata, Pilosa, Rodentia, Primates, Carnivora e Chiroptera têm sido identificadas como hospedeiras e/ou potenciais reservatórios de *Leishmania* spp. na natureza (Roque; Jansen, 2014).

Os vetores são flebotomíneos, dípteros hematófagos amplamente distribuídos, sendo descritas aproximadamente 1.000 espécies no mundo, das quais cerca de 20 estão envolvidas na transmissão das leishmanioses nas Américas (Alvar, 2018). Na América do Sul, *Lutzomyia longipalpis* é considerada a principal espécie vetora de *L. infantum*, embora outras espécies também possam participar da transmissão (Dantas-Torres, 2009).

O ciclo da leishmaniose inicia-se com a inoculação de promastigotas durante a hematofagia da fêmea do flebotomíneo. No hospedeiro vertebrado, os parasitas são fagocitados por células do sistema mononuclear fagocítico, onde se diferenciam em amastigotas e se multiplicam por divisão binária. A manifestação clínica da doença depende da interação entre a espécie parasitária e a resposta imune do hospedeiro (Conceição-Silva; Alves, 2014).

As leishmanioses são classificadas como doenças tropicais negligenciadas e apresentam forte associação com processos de desmatamento, urbanização e alterações ambientais, fatores que influenciam a distribuição dos vetores e favorecem a expansão da doença (Pacheco; Carvalho-Costa, 2014).

2.2.2 Gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* é composto por protozoários dixênicos que parasitam todas as classes de vertebrados, sendo transmitidos por artrópodes hematófagos ou sanguessugas (Hamilton; Gibson; Stevens, 2007; Kostygov *et al.*, 2021; Rey, 2008). Atualmente, são reconhecidas aproximadamente 500 espécies distribuídas em todos os continentes (Hamilton; Gibson; Stevens, 2007; Kostygov *et al.*, 2021).

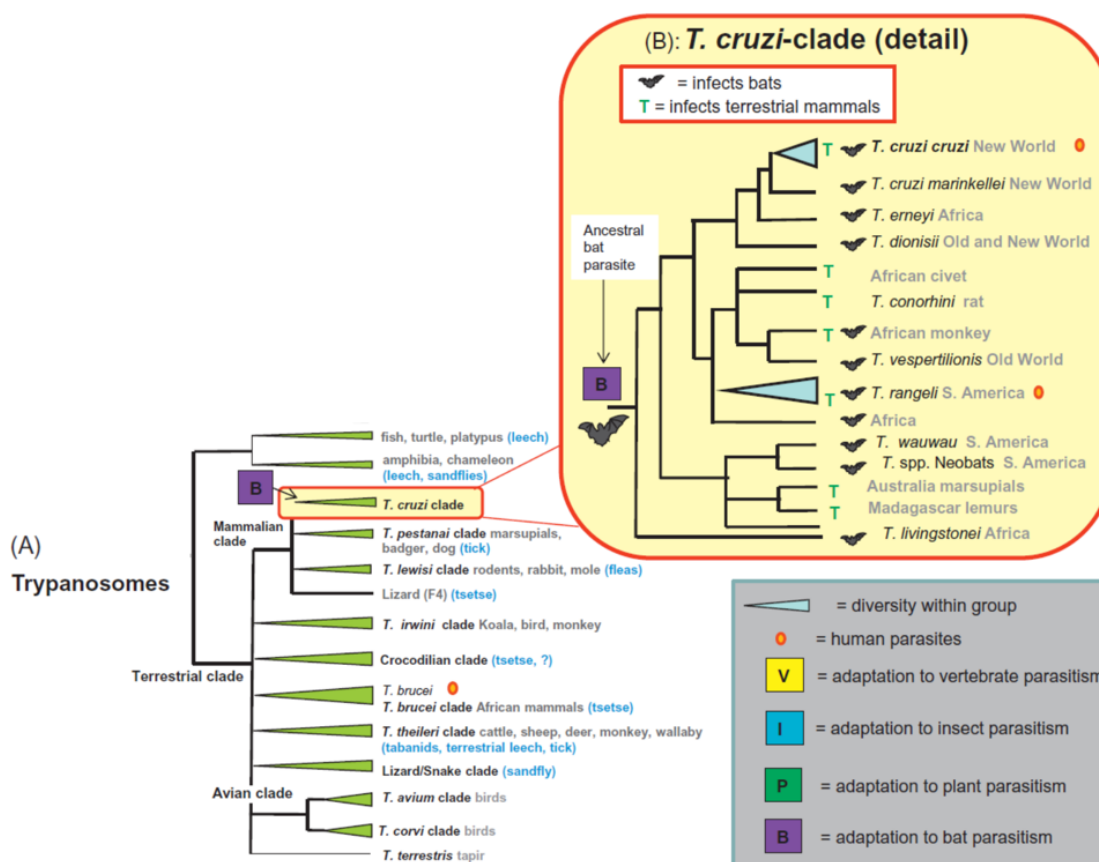
Nos hospedeiros vertebrados, os tripanossomas ocorrem predominantemente nas formas morfológicas tripomastigota e amastigota, enquanto, nos invertebrados vetores, predominam as formas epimastigota e tripomastigota (Kostygov *et al.*, 2021). A transmissão pode ocorrer por via inoculativa, quando o parasita é introduzido pela saliva do vetor durante a hematofagia, ou por via contaminativa, quando as formas infectantes são eliminadas nas fezes do vetor e penetram no hospedeiro por solução de continuidade ou por mucosas, podendo também ocorrer pela ingestão do vetor (Hamilton; Gibson; Stevens, 2007).

Tradicionalmente, os tripanossomas de mamíferos foram divididos nas seções Salivaria e Stercoraria, de acordo com o local de desenvolvimento no vetor e o modo de transmissão. A seção Stercoraria compreende os tripanossomas cujo desenvolvimento se completa na porção posterior do intestino do vetor, com transmissão contaminativa, incluindo subgêneros como *Megatrypanum*, *Herpetosoma*, *Schizotrypanum* e *Endotrypanum*. Já na seção Salivaria, o desenvolvimento ocorre na região anterior do vetor, com transmissão inoculativa, abrangendo subgêneros como *Duttonella*, *Nannomonas*, *Pycnomonas* e *Trypanozoon* (Hoare, 1964).

Entretanto, análises filogenéticas demonstraram que essa divisão não reflete adequadamente as relações evolutivas do grupo. Embora a seção Salivaria receba suporte parcial, a seção Stercoraria não é sustentada filogeneticamente (Hamilton; Stevens, 2017). Assim, os termos Salivaria e Stercoraria não possuem valor taxonômico formal, representando apenas distinções baseadas no modo de transmissão (Kostygov *et al.*, 2021).

Atualmente, a classificação do gênero baseia-se em clados filogenéticos que agrupam espécies com ancestralidade comum (Hamilton; Stevens, 2017) (Figura 4). Aproximadamente dez clados bem estabelecidos são reconhecidos:

Figura 4 - Relações filogenéticas das principais linhagens de *Trypanosoma*. (A) Relações filogenéticas entre os principais clados do gênero. Grupos conectados por linhas horizontais descendem de um ancestral comum. (B) Detalhamento das relações filogenéticas dentro do clado *T. cruzi*.



Fonte: Adaptado de Hamilton; Stevens (2017, p. 326)

- a) Clado aquático – inclui tripanossomas de vertebrados aquáticos, como peixes e anfíbios (Stevens; Gibson, 1999), além de jacarés (Fermino *et al.*, 2015), quelônios e ornitorrincos (Jakes; Donoghue; Adlard, 2001), sendo transmitidos principalmente por sanguessugas (Stevens; Gibson, 1999);

- b) Clado *Trypanosoma pestanaï* – compreende tripanossomas do texugo-europeu, transmitidos por pulgas (Lizundia *et al.*, 2011), além de espécies associadas a marsupiais australianos (McInnes *et al.*, 2010);
- c) Clado *Trypanosoma lewisi* – reúne tripanossomas de roedores (Hamilton; Stevens, 2017), além de coelhos (Hamilton *et al.*, 2005) e musaranhos (Bray *et al.*, 2007);
- d) Clado *Trypanosoma irwini* – inclui espécies parasitas de mamíferos e aves, evidenciando eventos de troca de hospedeiros entre diferentes classes de vertebrados (Hamilton; Stevens, 2017);
- e) Clado crocodiliano – agrupa tripanossomas de crocodilianos da África e da América do Sul, incluindo *Trypanosoma grayi*, transmitido pela mosca tsé-tsé (Viola *et al.*, 2008);
- f) Clado *Trypanosoma brucei* – engloba espécies de mamíferos africanos transmitidas por moscas tsé-tsé, incluindo *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma evansi* e outras de importância veterinária. Duas subespécies de *T. brucei* infectam seres humanos (*T. b. gambiense* e *T. b. rhodesiense*) (Hamilton; Stevens, 2017);
- g) Clado lagartos-serpentes/roedores-marsupiais – agrupa tripanossomas de lagartos e serpentes, transmitidos por flebotomíneos (Hamilton; Stevens, 2017; Minter-Goedbloed *et al.*, 1993), e tripanossomas de roedores e marsupiais, incluindo *Trypanosoma lainsoni* (Ortiz *et al.*, 2017);
- h) Clado aviário – compreende os subclados *Trypanosoma avium* e *Trypanosoma corvi*, transmitidos por diferentes grupos de insetos (Votýpka; Lukes; Oborník, 2004; Hamilton; Stevens, 2017);
- i) Clado *Trypanosoma theileri* – reúne tripanossomas de mamíferos marsupiais e placentários, incluindo *Trypanosoma theileri*, frequentemente encontrado em bovinos (Hamilton; Stevens, 2017; Rodrigues *et al.*, 2005);
- j) Clado *T. cruzi* – inclui tripanossomas associados a diversos mamíferos, destacando-se *T. cruzi* e *Trypanosoma rangeli*, além de várias espécies associadas a quirópteros, como *Trypanosoma dionisii*, *Trypanosoma erneyi*, *Trypanosoma vespertilionis*, *Trypanosoma livingstonei*, *Trypanosoma wauwau*, *Trypanosoma* spp. Neobats e *Trypanosoma cruzi marinkellei* (Hamilton; Stevens, 2017).

Dentre esses clados, o clado *T. cruzi* possui especial relevância epidemiológica por incluir o agente etiológico da doença de Chagas. Esse protozoário apresenta elevada diversidade genética, sendo classificado em seis Unidades Discretas de Tipagem (DTUs), denominadas TcI a TcVI, além da linhagem Tcbat, predominantemente associada a morcegos. Cada DTU apresenta diferenças quanto à distribuição geográfica, nichos ecológicos, hospedeiros, vetores e manifestações clínicas (Zingales *et al.*, 2012).

T. cruzi é um parasita com ampla gama de hospedeiros, cujo ciclo de transmissão, no Brasil, envolve diversas ordens de mamíferos, incluindo Artiodactyla, Chiroptera, Primates, Carnivora, Rodentia, Cingulata, Pilosa e Didelphimorphia. Nesse sistema complexo, determinadas populações de primatas, marsupiais, quirópteros e do carnívoro *Nasua nasua* têm sido identificadas como componentes importantes do sistema reservatório de *T. cruzi*, em razão das elevadas taxas de parasitemia e da competência para abrigar maior diversidade de espécies e genótipos de *Trypanosoma* spp. (Jansen; Xavier; Roque, 2018).

Historicamente, a doença de Chagas constituiu uma enzootia de animais silvestres, tornando-se uma zoonose de grande relevância após a adaptação de vetores ao ambiente doméstico, em decorrência de processos de desmatamento e ocupação humana (Zingales, 2011). Embora o controle de *Triatoma infestans* tenha reduzido a transmissão vetorial clássica no Brasil (Silva; Tonietti; Eleutério, 2019), espécies secundárias continuam desempenhando papel epidemiológico relevante (Monteiro *et al.*, 2025). Além disso, a circulação de animais silvestres em ambientes domésticos e peridomésticos, bem como a incursão de animais domésticos em áreas silvestres, influenciam a epidemiologia da doença, favorecendo a introdução da infecção no ambiente domiciliar (Zingales, 2011).

Atualmente, a epidemiologia de *T. cruzi* no Brasil vem se modificando, com predomínio de casos e surtos da doença de Chagas associados à ingestão de alimentos contaminados por formas metacíclicas do parasita (Jansen; Xavier; Roque, 2018). Em seres humanos, a infecção também pode ocorrer por outras vias, como a transmissão congênita, transfusional e por transplante (Brasil, 2026). A doença de Chagas permanece como uma importante doença tropical negligenciada, afetando milhões de pessoas nas Américas (PAHO, 2021; WHO, 2025).

2.3 *Trypanosoma* spp. associados a quirópteros

Os morcegos compartilham uma longa história evolutiva com os tripanossomatídeos e são reconhecidos como hospedeiros de diversas espécies de *Trypanosoma*, incluindo parasitas com potencial zoonótico (Torres *et al.*, 2024).

Embora morcegos com diferentes hábitos alimentares possam hospedar tripanossomas, a maioria das espécies infectadas descritas na literatura apresenta hábito insetívoro. Assim, a ingestão de insetos infectados durante a alimentação é considerada uma das principais vias de infecção (Beltz, 2018; Ramírez *et al.*, 2013; Torres *et al.*, 2024).

Além disso, quirópteros e triatomíneos podem compartilhar abrigos, inclusive em ambientes antropizados (Pinto *et al.*, 2015), ampliando as possibilidades de exposição ao vetor. A transmissão também pode ocorrer por contaminação com fezes de triatomíneos infectados (Hamilton; Teixeira; Stevens, 2012). Apesar dessas evidências, o real impacto dos quirópteros na dinâmica epidemiológica desses protozoários ainda permanece pouco compreendido (Lima *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2024).

A evolução do clado *T. cruzi* apresenta forte relação com os quirópteros. Evidências moleculares sustentam a hipótese da "semeadura por morcegos" (*bat seeding hypothesis*), segundo a qual o ancestral comum dos tripanossomas pertencentes ao clado *T. cruzi* teria sido um parasita exclusivo de morcegos que, ao longo do tempo, diversificou-se e expandiu sua distribuição geográfica, passando a infectar outras espécies de mamíferos tanto no Novo quanto no Velho Mundo (Hamilton; Teixeira; Stevens, 2012).

No Brasil, levantamentos recentes indicam que, pelo menos, nove espécies ou subespécies de tripanossomas já foram identificadas em morcegos distribuídos nos diferentes biomas, incluindo *T. cruzi*, *T. c. marinkellei*, *T. dionisii*, *T. evansi*, *T. rangeli*, *T. wauwau*, *T. desterrensis*, *T. lainsoni*, *T. maedeirae* e *T. janseni* (Torres *et al.*, 2024). Além disso, o grupo denominado *T. spp. Neobats* reúne diversas Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares ainda pouco conhecidas, associadas a morcegos neotropicais (Alves *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2015), sugerindo que a diversidade desses parasitas ainda esteja subestimada.

Os tripanossomas do subgênero *Schizotrypanum* apresentam forte associação com morcegos em diferentes regiões do mundo, com exceção de *T. cruzi*, que infecta uma ampla variedade de mamíferos (Beltz, 2018; Lima *et al.*, 2012).

Marcili *et al.* (2009) descreveram o genótipo Tcbat, inicialmente identificado exclusivamente em morcegos das regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil e, posteriormente, reconhecido como uma DTU distinta dentro de *T. cruzi*. Pinto *et al.* (2012) detectaram o mesmo genótipo no Panamá, indicando que Tcbat pode estar amplamente distribuído na América Latina. No Brasil, esse genótipo foi identificado em morcegos insetívoros das famílias Vespertilionidae e Noctilionidae, enquanto no Panamá foi isolado de morcegos insetívoros da família Phyllostomidae, sugerindo comportamento parasitário generalista (Marcili *et al.*, 2009; Pinto *et al.*, 2012).

Embora inicialmente considerado exclusivo de morcegos, Tcbat foi posteriormente detectado em infecção mista com TcI em uma criança na Colômbia. Esse achado representa um importante alerta epidemiológico, pois demonstra o potencial de infecção humana dessa linhagem, ainda que possivelmente associada a quadros assintomáticos (Ramírez *et al.*, 2014).

Além de Tcbat, outras DTUs de *T. cruzi* também têm sido observadas em morcegos, especialmente TcI e TcII, evidenciando uma associação preferencial, embora não exclusiva, desses genótipos com os quirópteros (Zingales; Macedo, 2023).

T. c. marinkellei, considerada uma subespécie de *T. cruzi*, apresenta forte associação com morcegos filostomídeos (Cavazzana *et al.*, 2010; Franzén *et al.*, 2012) e provavelmente é transmitida por triatomíneos do gênero *Cavernicola*, que compartilham abrigos como cavernas, ocos de árvores e folhas de palmeiras com esses mamíferos (Cavazzana *et al.*, 2010; Marinkelle, 1982).

Estudos realizados no Brasil demonstram elevada diversidade de tripanossomas em comunidades de morcegos. Cavazzana *et al.* (2010), ao analisarem 1.043 indivíduos pertencentes a 63 espécies distribuídas em quatro biomas brasileiros, identificaram *T. cruzi*, *T. c. marinkellei* e *T. dionisii* em hospedeiros com diferentes hábitos alimentares. Posteriormente, Dario *et al.* (2017) registraram alta diversidade de tripanossomatídeos em fragmentos de Mata Atlântica do Sudeste do Brasil, incluindo infecções mistas envolvendo *T.*

cruzi (TcI, TcIII e TcV), *T. c. marinkellei*, *T. rangeli* e *T. dionisii*, além de genótipos ainda não identificados pertencentes ao clado *T. cruzi*.

A ocorrência de infecções mistas é frequente em morcegos (Beltz, 2018). Cottontail *et al.* (2014) descreveram cinco espécies putativas de tripanossomas infectando um único indivíduo de *Artibeus jamaicensis*. Coinfecções também foram relatadas em seres humanos, como no caso descrito por Dario *et al.* (2016), no qual quatro DTUs de *T. cruzi* e *T. dionisii* foram detectadas em tecido cardíaco de um paciente infectado por transmissão oral.

Além da elevada diversidade de *Trypanosoma* spp. e da frequente ocorrência de infecções mistas nesses hospedeiros, os quirópteros também podem desempenhar papel relevante na manutenção de outros tripanossomatídeos.

2.4 *Leishmania* spp. associadas a quirópteros

A infecção de morcegos por *Leishmania* spp. permanece menos investigada quando comparada à infecção por tripanossomas, e o papel desses animais como reservatórios ainda não está completamente estabelecido (Castro *et al.*, 2020). Entretanto, estudos moleculares que detectaram DNA de *Leishmania* spp. em morcegos sugerem que esses mamíferos podem atuar como potenciais hospedeiros, participando da manutenção do ciclo de transmissão (Castro *et al.*, 2020; Shapiro *et al.*, 2013).

A transmissão vetorial por flebotomíneos é considerada a via mais provável de infecção (Lima *et al.*, 2025), especialmente em razão do compartilhamento de habitats, como áreas florestais, cultivos agrícolas, cavernas e ambientes urbanos (Berzunza-Cruz *et al.*, 2015; Gómez-Hernández *et al.*, 2017; Teodoro *et al.*, 2019). A coexistência espacial e a atividade noturna coincidente entre morcegos e flebotomíneos favorecem a interação entre esses organismos (Berzunza-Cruz *et al.*, 2015).

Estudos experimentais indicam que morcegos podem atuar como fontes naturais de sangue para *L. longipalpis* (Lampo, 2000), e que a infecção por *Leishmania* spp. também pode ocorrer por via oral, por meio da ingestão de flebotomíneos infectados ou células parasitadas (Reimann *et al.*, 2022).

No Brasil, investigações moleculares têm detectado DNA de *Leishmania* spp. em morcegos capturados tanto em ambientes urbanos quanto rurais (Castro *et al.*, 2020; Gómez-Hernández *et al.*, 2017; Savani *et al.*, 2010). Castro *et al.* (2020) relataram uma taxa de infecção de 28,9% em área endêmica para leishmaniose, com identificação de *L. infantum* e *L. braziliensis*. Mais recentemente, Lima *et al.* (2025) observaram elevada diversidade de tripanossomatídeos em um parque urbano do Sudeste do Brasil, incluindo coinfeções envolvendo *L. infantum*, *L. braziliensis* e *Trypanosoma* spp. Neobat 3.

Diante da elevada diversidade genética, da ocorrência de infecções mistas e da circulação simultânea de diferentes espécies e genótipos de tripanossomatídeos em quirópteros, torna-se evidente que métodos diagnósticos sensíveis e específicos são fundamentais para a correta identificação desses parasitas. Nesse contexto, as ferramentas moleculares consolidaram-se como instrumentos indispensáveis para a detecção e caracterização desses protozoários, contribuindo significativamente para estudos ecológicos, epidemiológicos e filogenéticos.

2.5 Diagnóstico da infecção por tripanossomatídeos

As técnicas utilizadas para o diagnóstico de tripanossomatídeos dos gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma* em animais baseiam-se na detecção direta do parasita, na identificação da resposta imune do hospedeiro ou na detecção de material genético do agente infeccioso (Desquesnes *et al.*, 2022; WOA, 2021).

2.5.1 Métodos parasitológicos e sorológicos

A detecção direta de *Leishmania* spp. pode ser realizada por meio de exame parasitológico direto, exame citológico (identificação de amastigotas no interior de macrófagos) ou técnicas histológicas. Entretanto, a baixa carga parasitária e a variação da sensibilidade diagnóstica entre diferentes tecidos podem comprometer a detecção do parasita. O isolamento em cultura também

é amplamente empregado, porém requer laboratórios especializados e apresenta tempo de processamento relativamente prolongado (WOAH, 2021).

No diagnóstico de *Trypanosoma* spp., os métodos parasitológicos incluem o exame microscópico de sangue fresco, o esfregaço sanguíneo corado pelo método de Giemsa e as técnicas de concentração de hematócrito (HCT). Contudo, a principal limitação dessas técnicas é a sensibilidade reduzida, diretamente relacionada à concentração parasitária e ao volume de amostra analisado. Embora apresentem bom desempenho durante a fase aguda da infecção, tornam-se pouco eficazes em infecções crônicas ou subclínicas, caracterizadas por baixa parasitemia. A eficiência do isolamento em cultura também varia conforme a espécie de tripanossoma, sendo altamente sensível para algumas espécies e pouco eficaz para outras (Desquesnes *et al.*, 2022).

Adicionalmente, a identificação morfológica de *T. cruzi* em morcegos deve ser interpretada com cautela, uma vez que espécies pertencentes ao subgênero *Schizotrypanum* apresentam elevada similaridade morfológica, sendo frequentemente referidas de forma genérica como *T. cruzi*-like (Marcili *et al.*, 2009).

Os testes sorológicos, como o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), são empregados tanto para *Leishmania* spp. quanto para *Trypanosoma* spp. e apresentam elevada sensibilidade para a detecção de anticorpos. Entretanto, esses testes estão sujeitos à ocorrência de reações cruzadas, especialmente entre *Leishmania* spp. e *T. cruzi*, e não permitem diferenciar infecção ativa de exposição prévia, uma vez que os anticorpos podem persistir mesmo após a eliminação do parasita (Desquesnes *et al.*, 2022; WOA, 2021).

2.5.2 Métodos moleculares

O desenvolvimento das técnicas moleculares representou um avanço significativo no diagnóstico de doenças infecciosas (Akhoundi *et al.*, 2017; Duncan, 2014). A reação em cadeia da polimerase (PCR) baseia-se na ação da enzima DNA polimerase, responsável pela síntese de moléculas de DNA de fita dupla a partir de uma molécula molde de fita simples e de oligonucleotídeos

iniciadores (*primers*), permitindo a amplificação seletiva de uma região-alvo específica (Schmitz *et al.*, 2022).

A PCR apresenta elevada sensibilidade, sendo capaz de detectar pequenas quantidades de DNA-alvo, inclusive em infecções caracterizadas por baixa carga parasitária. Sua especificidade depende diretamente do conjunto de *primers* utilizados, podendo ser direcionada para diferentes níveis taxonômicos ou para espécies específicas (Desquesnes *et al.*, 2022; WOA, 2021).

Além disso, a associação entre PCR e o sequenciamento dos fragmentos amplificados consolidou-se como uma ferramenta robusta para a identificação de agentes infecciosos e a investigação epidemiológica (Speers, 2006).

Métodos baseados em PCR também permitem a detecção simultânea de múltiplos tripanossomatídeos, sendo amplamente empregados em estudos envolvendo morcegos (Cavazzana *et al.*, 2010; Dario *et al.*, 2016; Dario *et al.*, 2017; Marcili *et al.*, 2009; Pinto *et al.*, 2012; Ramírez *et al.*, 2014; Savani *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2024).

Apesar de suas vantagens, o desempenho da PCR depende da qualidade e da quantidade do DNA extraído, da adequada seleção dos *primers* e da adoção de rigorosos controles de qualidade para prevenir contaminações por amplicons, sendo imprescindível a inclusão de controles negativos apropriados. Além disso, seus custos operacionais tendem a ser superiores aos das técnicas parasitológicas tradicionais (Desquesnes *et al.*, 2022; Speers, 2006).

2.5.2.1 Marcadores moleculares utilizados em tripanossomatídeos

Os marcadores moleculares empregados no diagnóstico e em estudos filogenéticos de tripanossomatídeos incluem regiões do DNA nuclear e do DNA do cinetoplasto (kDNA) (Akhoundi *et al.*, 2017; Hutchinson; Stevens, 2017).

Para *Leishmania* spp., destacam-se os alvos localizados no kDNA (maxicírculos e minicírculos) (Jara *et al.*, 2013), regiões do DNA ribossômico (mini-exon, ITS, 18S rRNA, 5.8S rRNA e 28S rRNA) (Harris *et al.*, 1998; Schönian *et al.*, 2001), além de genes codificadores de proteínas, como HSP20, HSP23 e HSP70 (Akhoundi *et al.*, 2017). O gene HSP70 codifica uma proteína de choque térmico de 70 kDa, envolvida na resposta ao estresse térmico, mecanismo essencial para parasitas dixênicos que alternam entre as

temperaturas do vetor e do hospedeiro vertebrado (Folgueira; Requena, 2007). Trata-se de um marcador altamente conservado e amplamente utilizado em estudos filogenéticos (Fraga *et al.*, 2010).

Para *Trypanosoma* spp., os marcadores mais empregados incluem o kDNA, o gene *GAPDH*, a região ITS, o gene do mini-exon e o gene 18S rRNA (Hutchinson; Stevens, 2017). Este último, responsável por codificar o RNA ribossômico da subunidade menor (SSU), é altamente conservado entre os tripanossomatídeos, sendo amplamente utilizado tanto no diagnóstico quanto em reconstruções filogenéticas (Akhoundi *et al.*, 2017; Filgueira *et al.*, 2020). Além disso, apresenta múltiplas cópias no genoma, característica que contribui para sua elevada sensibilidade diagnóstica (Filgueira *et al.*, 2020; Van Eys *et al.*, 1992). Sua ampla representação em bancos de dados genéticos também facilita a identificação de espécies por meio da comparação direta de sequências (D'Ávila-Levy *et al.*, 2015).

Dessa forma, a aplicação de técnicas moleculares baseadas em PCR, associadas ao sequenciamento dos fragmentos amplificados, constitui uma abordagem fundamental para a detecção e a caracterização de tripanossomatídeos. Nesse contexto, a escolha adequada do marcador molecular e do tecido analisado é determinante para maximizar a sensibilidade diagnóstica e possibilitar a identificação precisa das espécies circulantes em populações naturais.

3 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA

O município de Bauru está localizado na região Centro-Oeste do estado de São Paulo, Brasil (Figura 5). Possui área territorial de aproximadamente 673,488 km² e altitude média de 526 metros, apresentando clima tropical de altitude, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos secos e amenos (Bauru, 2026). Segundo o Censo Demográfico do IBGE (2022), o município possui 379.146 habitantes, concentrados majoritariamente na zona urbana, sendo o mais populoso de sua microrregião.

Figura 5 - Localização do município de Bauru no Estado de São Paulo, Brasil.



Fonte: Elaborado pela autora, com base em dados cartográficos do IBGE (2026)

Do ponto de vista fitogeográfico, Bauru situa-se em uma área de transição entre dois importantes domínios vegetacionais brasileiros: a Floresta Estacional Semidecidual e o Cerrado. Entretanto, a paisagem atual do município é marcada por intensa transformação antrópica. A expansão da fronteira agrícola, o crescimento urbano e a implantação de condomínios residenciais resultaram na

redução significativa da cobertura vegetal nativa nas últimas décadas (Bauru, 2015).

Atualmente, a vegetação remanescente encontra-se altamente fragmentada. Com exceção de dois fragmentos florestais de maior extensão, localizados na Área de Proteção Ambiental Municipal Vargem Limpa–Campo Novo e na Estação Ecológica Sebastião Aleixo da Silva, os demais remanescentes configuram pequenas ilhas de vegetação, isoladas entre si e circundadas por áreas agrícolas ou urbanizadas (Bauru, 2015). O Inventário Florestal do Estado de São Paulo indica que restam apenas 19,8% da cobertura vegetal nativa originalmente existente no município (São Paulo, 2022).

A fragmentação da paisagem promove alterações estruturais e funcionais nos ecossistemas, podendo modificar os padrões de abundância e composição da fauna silvestre, bem como a dinâmica de circulação de agentes infecciosos (Ellwanger *et al.*, 2020).

Espécies com maior plasticidade ecológica, como diversos quirópteros, tendem a persistir ou mesmo se beneficiar de ambientes fragmentados e urbanizados, utilizando edificações e outras estruturas antrópicas como abrigo (Nunes; Rocha; Cordeiro-Estrela, 2017). Essa capacidade adaptativa pode favorecer o aumento do contato entre morcegos, vetores, animais domésticos e populações humanas.

Esse cenário pode ser interpretado sob a perspectiva da Saúde Única, que reconhece a estreita interdependência entre a saúde humana, a saúde animal e a saúde ambiental. Em ambientes altamente modificados, como o município de Bauru, alterações na estrutura da paisagem e na dinâmica da fauna podem influenciar a circulação de agentes infecciosos, reforçando a necessidade de abordagens integradas que considerem, simultaneamente, os componentes ecológicos e epidemiológicos envolvidos.

No contexto das leishmanioses, Bauru apresenta relevância histórica e epidemiológica. A denominada "úlceras de Bauru", associada à leishmaniose tegumentar americana (LTA), foi descrita no início do século XX durante a construção da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil. O intenso desmatamento decorrente da obra favoreceu a proliferação de vetores e a ocorrência de surtos na região (Pallotta, 2024).

Atualmente, a transmissão da leishmaniose cutânea permanece registrada no município. Dados do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo indicam que, entre 2007 e 2025, foram notificados 64 casos autóctones na área do Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) de Bauru, dos quais 35 ocorreram no próprio município, número expressivo quando comparado ao de outras localidades da mesma regional (São Paulo, 2026b).

Em relação à leishmaniose visceral, Bauru é classificado como município com transmissão autóctone em humanos e cães, tendo registrado o primeiro caso humano em 2003. Entre 2017 e 2025, foram notificados 92 casos humanos na área de abrangência da GVE de Bauru, com 12 óbitos, sendo 72 casos e 10 óbitos confirmados no município (São Paulo, 2026c). Esses dados demonstram a circulação de *Leishmania* spp. na região e evidenciam sua importância epidemiológica.

Quanto à doença de Chagas, não há registros de casos agudos autóctones em Bauru entre 2006 e maio de 2025. No mesmo período, foram notificados nove casos no estado de São Paulo, envolvendo diferentes formas de transmissão (São Paulo, 2026a). Embora a ausência de casos agudos autóctones sugira controle da transmissão vetorial no município, essa condição não exclui a possibilidade de circulação de tripanossomatídeos em ciclos silvestres, envolvendo hospedeiros e vetores presentes na região.

A presença de remanescentes florestais fragmentados, a adaptação de morcegos a ambientes antropizados e a ocorrência documentada de leishmaniose humana e canina caracterizam um cenário complexo. Embora a transmissão ativa da doença de Chagas não esteja atualmente registrada no município, a diversidade de hospedeiros silvestres e de vetores potenciais reforça a importância da vigilância contínua.

Nesse contexto, a investigação molecular da ocorrência de tripanossomatídeos em quirópteros permite identificar a presença desses protozoários na região e fornecer evidências da exposição desses mamíferos ao parasita. Esses achados contribuem para o entendimento da circulação de tripanossomatídeos em ambientes urbanos e oferecem subsídios científicos para o aprimoramento das estratégias de vigilância.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Investigar a ocorrência de tripanossomatídeos em quirópteros coletados no município de Bauru, estado de São Paulo, contribuindo para a compreensão da circulação desses protozoários em ambiente urbano e de suas possíveis implicações ecológicas e epidemiológicas.

4.2 Objetivos específicos

- Identificar taxonomicamente os espécimes de quirópteros incluídos no estudo;
- Detectar DNA de tripanossomatídeos nas amostras biológicas coletadas;
- Realizar a identificação molecular e a caracterização filogenética dos tripanossomatídeos detectados;
- Avaliar a associação entre a classificação taxonômica dos quirópteros, os hábitos alimentares, os tecidos analisados e a ocorrência de tripanossomatídeos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos e legais

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e analítico, de base laboratorial, conduzido a partir de amostras biológicas de quirópteros provenientes das ações de vigilância ambiental do município de Bauru (SP). O delineamento do estudo contemplou a detecção molecular de tripanossomatídeos, a caracterização taxonômica dos hospedeiros e a análise da associação entre variáveis biológicas, ecológicas e a ocorrência de infecção.

O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Botucatu (CEUA, protocolo nº 514/2023), pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO, autorização nº 90179-1) e pela Comissão Científica da Secretaria Municipal de Saúde de Bauru (CCSMSB).

5.2 Vigilância ambiental

A Secretaria Municipal de Saúde de Bauru, por meio da Divisão de Vigilância Ambiental e do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), realiza o recolhimento de morcegos encontrados mortos ou moribundos em áreas urbanas do município. Os espécimes são encaminhados ao Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu, para o diagnóstico laboratorial da raiva.

Os indivíduos encaminhados em estado moribundo foram submetidos à eutanásia por via subcutânea, utilizando cetamina (80 mg/kg) associada à xilazina (20 mg/kg), conforme protocolos de bem-estar animal previamente aprovados.

Para o diagnóstico da raiva, procedeu-se à remoção do sistema nervoso central, seguida da realização da técnica de imunofluorescência direta e da prova biológica. Após essa etapa, foram coletadas, sob condições assépticas, amostras de fígado, baço, coração e pele de 50 morcegos encaminhados entre

janeiro e dezembro de 2024, totalizando 200 amostras teciduais. As amostras foram acondicionadas individualmente em microtubos estéreis de 1,5 mL e armazenadas a -20°C até a extração do DNA.

5.3 Identificação taxonômica, caracterização da comunidade de morcegos e dados complementares

A identificação taxonômica dos espécimes foi realizada com base em características morfológicas externas, utilizando as chaves de identificação propostas por Vizotto e Taddei (1973) e Reis *et al.* (2007, 2017).

A caracterização da comunidade de morcegos incluiu a estimativa da riqueza de espécies (número total de espécies registradas) e da abundância relativa (proporção de indivíduos de cada espécie em relação ao total amostrado).

Também foram compiladas informações complementares provenientes dos registros da vigilância ambiental, incluindo os resultados do diagnóstico da raiva e os registros de interação entre morcegos e animais domésticos.

5.4 Extração de DNA

As amostras teciduais foram previamente pesadas e submetidas individualmente à extração de DNA genômico total utilizando o kit comercial DNeasy Blood & Tissue (Qiagen®, Hilden, Alemanha), seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante. Ao término do procedimento, o DNA foi eluído em 30 μL de água ultrapura livre de nucleases e armazenado a -20°C até as análises subsequentes.

A concentração e a pureza do DNA extraído foram determinadas por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, EUA), por meio da razão de absorbância A260/A280.

As amostras foram padronizadas para as reações de PCR por meio do ajuste de suas concentrações. Amostras com concentração superior à desejada foram diluídas proporcionalmente em água ultrapura livre de nucleases, enquanto aquelas com concentração inferior foram utilizadas diretamente, sem diluição adicional. Após a padronização, as amostras foram acondicionadas

individualmente em microtubos estéreis de 1,5 mL e mantidas a -20°C até a realização das reações de amplificação.

5.5 Reações em cadeia da polimerase

A detecção de DNA de tripanossomatídeos foi realizada por Nested PCR direcionada ao gene 18S rRNA, utilizando os *primers* descritos por Noyes *et al.* (1999, 2000). O par externo foi composto pelos *primers* TRY927F (5' GAA ACA AGA AAC ACG GGA G 3') e TRY927R (5' CTA CTG GGC AGC TTG GA 3'), amplificando um fragmento de aproximadamente 927 pb. O par interno foi constituído pelos *primers* SSU561F (5' TGG GAT AAC AAA GGA GCA 3') e SSU561R (5' CTG AGA CTG TAA CCT CAA AGC 3'), gerando um amplicon de aproximadamente 650 pb. As reações foram conduzidas em volume final de 25 μL , contendo 12,5 μL de PCR Master Mix (Class Five® PCR Master Mix), 0,5 μL de cada *primer* (10 μM), aproximadamente 100 ng de DNA genômico e água ultrapura livre de nucleases para completar o volume final. Na segunda etapa da Nested PCR, utilizou-se como molde o produto da primeira amplificação, mantendo-se as mesmas condições reacionais. O protocolo térmico consistiu em desnaturação inicial a 94°C por 10 minutos, seguida de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e 30 segundos, finalizando com extensão a 72°C por 10 minutos.

Para a detecção específica de *Leishmania* spp., realizou-se PCR convencional utilizando os *primers* HSP70F (5' AGG TGA AGG CGA CGA ACG 3') e HSP70R (5' CGC TTG TCC ATC TTT GCG TC 3'), descritos por Hernández *et al.* (2014), que amplificam um fragmento de aproximadamente 337 pb do gene HSP70. As reações foram conduzidas em volume final de 25 μL , contendo 12,5 μL de PCR Master Mix, 0,5 μL de cada *primer* (10 μM), aproximadamente 50 ng de DNA genômico e água ultrapura livre de nucleases para completar o volume final. O protocolo térmico incluiu desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 59°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, finalizando com extensão a 72°C por 10 minutos.

Todas as reações foram realizadas em termociclador Mastercycler Nexus X2 (Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha). Em cada ensaio foram incluídos controles negativos (sem DNA molde) e controles positivos, utilizando DNA de

T. cruzi nas Nested PCRs direcionadas ao gene 18S rRNA e DNA de *L. infantum* nas PCRs direcionadas ao gene HSP70. Para minimizar o risco de contaminação cruzada, especialmente nas Nested PCRs, as etapas de preparo dos reagentes, adição do DNA molde e manipulação dos produtos amplificados foram realizadas em ambientes fisicamente separados. Além disso, foram utilizadas ponteiras com filtro e adotadas boas práticas laboratoriais para prevenção de contaminações por amplicons.

5.6 Visualização por eletroforese em gel de agarose

Os produtos amplificados por PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, preparado em tampão TAE 1X (Tris-ácido acético-EDTA) e corado com GelRed® (Uniscience, São Paulo, Brasil). Antes da aplicação no gel, as amostras foram homogeneizadas com o corante de carregamento DNA Loading Buffer Blue (5X) (Ampliqon, Odense, Dinamarca).

Todos os géis incluíram os controles positivos e negativos das reações, bem como o marcador de peso molecular Class Five® 100 bp DNA Ladder (Neobio, Botucatu, Brasil). A eletroforese foi realizada em cuba horizontal, sob tensão constante de 120 V, durante aproximadamente 60 minutos.

Após a corrida eletroforética, os géis foram visualizados em transiluminador Benchtop UV Transilluminator (Analytik Jena®, Upland, EUA), e as imagens foram capturadas utilizando o software UVP VisionWorksLS (Analytik Jena®, Upland, EUA). O tamanho dos fragmentos amplificados foi estimado por comparação com o marcador de peso molecular.

Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram bandas com tamanho compatível com o esperado para cada par de *primers*, na presença de controle positivo adequadamente amplificado e ausência de amplificação no controle negativo. Sempre que necessário, as amostras positivas foram submetidas a nova amplificação para confirmação dos resultados, garantindo a reprodutibilidade da detecção.

5.7 Sequenciamento genético e análise das sequências

Os produtos de PCR das amostras consideradas positivas foram previamente purificados utilizando o kit Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare, Chicago, EUA), conforme as recomendações do fabricante. Após a purificação, as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, EUA), e as concentrações de DNA foram ajustadas para as reações de sequenciamento.

As reações de sequenciamento foram preparadas individualmente contendo 5 µL de DNA purificado e 2,5 µL do respectivo *primer* utilizado na amplificação, sendo posteriormente encaminhadas ao Instituto de Biotecnologia (IBTEC) da UNESP, campus de Botucatu, para sequenciamento pelo método Sanger, com leitura bidirecional.

O sequenciamento foi realizado em equipamento ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, EUA). As sequências obtidas foram analisadas no software BioEdit Sequence Alignment Editor. Inicialmente, procedeu-se à inspeção dos cromatogramas e à edição manual das bases de baixa qualidade. Em seguida, as sequências foram alinhadas utilizando o algoritmo ClustalW, sendo geradas sequências consenso posteriormente exportadas no formato FASTA.

As sequências editadas foram comparadas com aquelas disponíveis no banco de dados GenBank (NCBI), por meio da ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). A atribuição da identidade taxonômica em nível de espécie foi realizada considerando um percentual de identidade igual ou superior a 98% em relação às sequências de referência depositadas no GenBank.

5.8 Análise filogenética

Para confirmar a identidade taxonômica dos isolados, as sequências obtidas neste estudo foram alinhadas com sequências de referência previamente validadas e disponíveis no GenBank, utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004). O alinhamento múltiplo foi inspecionado manualmente para identificação de regiões ambíguas ou mal alinhadas, sendo posteriormente utilizado para a reconstrução filogenética.

A inferência filogenética foi realizada por abordagem Bayesiana, implementada no software BEAST 2 (Bouckaert *et al.*, 2014), por meio de Cadeias de Markov via Monte Carlo (*Markov Chain Monte Carlo* – MCMC). Para a reconstrução das árvores filogenéticas foi adotado o modelo de substituição nucleotídica *General Time Reversible* (GTR).

A convergência das cadeias e a definição do período de *burn-in* foram avaliadas no programa Tracer (Drummond; Rambaut, 2007), por meio da inspeção dos valores de ESS (*Effective Sample Size*), considerando-se adequados valores superiores a 200. Como grupo externo (*outgroup*), foi utilizada a sequência de *Leishmania major* (acesso FN677342.1), permitindo o enraizamento da árvore filogenética.

A árvore consenso de máxima credibilidade (*Maximum Clade Credibility Tree* – MCC) foi gerada no programa TreeAnnotator e posteriormente visualizada e editada no software FigTree versão 1.3.1.

5.9 Análises estatísticas

Partindo da hipótese de que diferenças taxonômicas e ecológicas entre os hospedeiros poderiam influenciar sua exposição aos tripanossomatídeos, foram conduzidas análises estatísticas para investigar possíveis associações entre a detecção de DNA desses protozoários e características dos hospedeiros, como família taxonômica, gênero e hábito alimentar. Adicionalmente, considerando que a infecção por tripanossomatídeos pode apresentar distribuição distinta entre os tecidos do hospedeiro, investigou-se se a frequência de detecção molecular diferia entre os tecidos analisados.

Com base nesses pressupostos, foram estabelecidos os critérios para classificação dos indivíduos quanto à positividade para tripanossomatídeos. Foram considerados positivos os animais que apresentaram amplificação molecular em pelo menos um dos tecidos avaliados. A partir dessa classificação, foi calculada a positividade, definida como a proporção de indivíduos com detecção molecular de tripanossomatídeos em relação ao total de quirópteros analisados.

As associações entre a detecção molecular de tripanossomatídeos e as variáveis categóricas hábito alimentar e família taxonômica foram avaliadas por

meio do teste exato de Fisher. A associação entre a frequência de detecção molecular e os diferentes tecidos analisados foi avaliada por meio do teste Q de Cochran (Cochran, 1950), apropriado para a comparação de proporções em dados binários pareados, considerando que cada indivíduo foi avaliado simultaneamente em quatro tecidos distintos. Quando observada diferença global significativa, foram realizadas comparações múltiplas entre pares de tecidos utilizando o teste exato de McNemar (McNemar, 1947), com ajuste dos valores de p pelo método de Holm (Holm, 1979), controlando o erro do tipo I decorrente das múltiplas comparações.

Entre os animais positivos, foi determinada a frequência de detecção de tripanossomatídeos em cada tecido analisado. Para comparar as chances de detecção de DNA entre os diferentes tecidos, foram calculadas as razões de chances (*odds ratios* – OR). Também foi realizada uma análise descritiva da distribuição do número de tecidos positivos por indivíduo, com o objetivo de avaliar a ocorrência de detecção multitecidual do parasita.

Adicionalmente, foi calculada a positividade por espécie de quiróptero e ajustado um modelo de regressão logística binária univariada para avaliar a associação entre o gênero taxonômico e a positividade para tripanossomatídeos, considerando como variável dependente a presença ou ausência de DNA desses protozoários. O gênero taxonômico dos quirópteros foi inserido como variável independente, permitindo estimar a razão de chances bruta (*odds ratio* – OR) para a detecção molecular. Considerando o número limitado de eventos positivos observados, optou-se pela utilização de modelo univariado, evitando a inclusão simultânea de múltiplas variáveis independentes e reduzindo o risco de superajuste e de instabilidade das estimativas.

Para todas as análises, adotou-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando os softwares GraphPad Prism, versão 10 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA), e Jamovi, versão 2.7 (The jamovi project, 2025).

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização da amostra de morcegos

A amostra analisada neste estudo foi composta por 50 morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados mortos ou em estado moribundo entre janeiro e dezembro de 2024.

Todos os animais foram coletados em áreas urbanizadas do município, predominantemente em logradouros residenciais, incluindo casas, apartamentos e uma unidade escolar. Apenas dois registros ocorreram em locais com maior cobertura vegetal, sendo um em área periurbana e outro nas proximidades de uma unidade de conservação.

Foram identificadas 13 espécies pertencentes a três famílias da ordem Chiroptera: Molossidae, Vespertilionidae e Phyllostomidae. A família Molossidae foi a mais representativa, concentrando 38 indivíduos (76,0%) da amostra.

A espécie mais frequente foi *Molossus molossus*, representada por 16 indivíduos (32,0%), seguida por *Eumops glaucinus* e *Molossus rufus*, com seis indivíduos cada (12,0%), e *Eumops auripendulus*, com cinco indivíduos (10,0%). As demais espécies apresentaram frequências inferiores a 10%.

Quanto ao hábito alimentar, predominaram espécies insetívoras, que corresponderam a 46 indivíduos (92,0%) da amostra. As espécies predominantemente frugívoras, representadas por *Artibeus lituratus* e *Carollia perspicillata*, totalizaram quatro indivíduos (8,0%).

Entre os 50 morcegos analisados, 15 (30,0%) apresentaram registro de contato prévio com animais domésticos (cães ou gatos) no momento da coleta, conforme informações constantes nas fichas de atendimento da vigilância ambiental.

Em relação ao diagnóstico da raiva, dois indivíduos (4,0%) foram positivos, correspondendo a um exemplar de *E. auripendulus* e um de *Histiotus montanus*. Ambos foram encontrados em áreas residenciais e apresentavam registro de contato com animais domésticos.

A Tabela 1 apresenta a composição da amostra segundo espécie, família taxonômica, hábito alimentar, número de indivíduos e abundância relativa. A

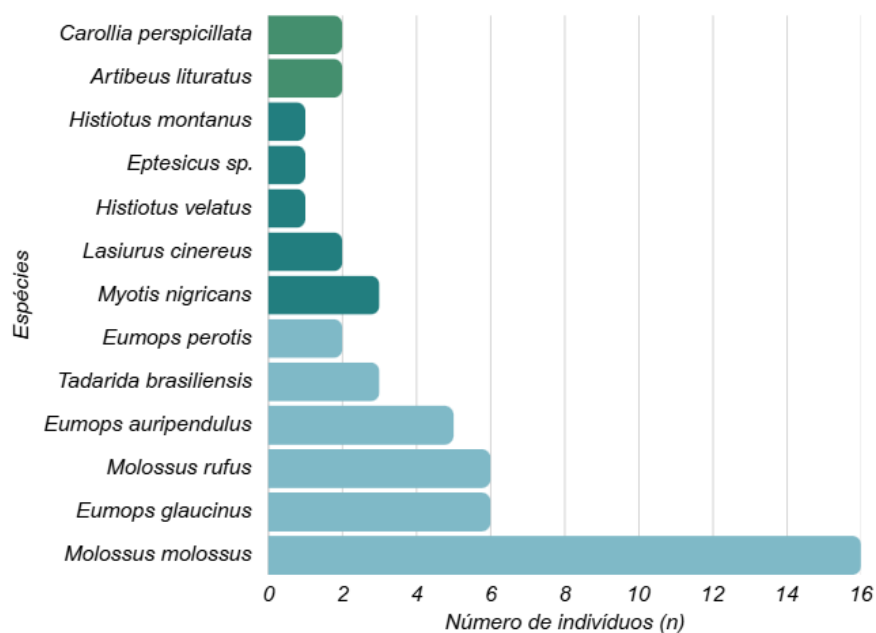
distribuição dos morcegos por espécie é apresentada na Figura 6, enquanto a Figura 7 ilustra a composição da amostra por família taxonômica.

Tabela 1 - Composição da amostra de morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024, segundo espécie, família taxonômica, hábito alimentar, número de indivíduos e abundância relativa.

Espécie	Família	Hábito alimentar	Nº de indivíduos	Abundância relativa (%)
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	Insetívoro	16	32
<i>Eumops glaucinus</i>	Molossidae	Insetívoro	6	12
<i>Molossus rufus</i>	Molossidae	Insetívoro	6	12
<i>Eumops auripendulus</i>	Molossidae	Insetívoro	5	10
<i>Tadarida brasiliensis</i>	Molossidae	Insetívoro	3	6
<i>Eumops perotis</i>	Molossidae	Insetívoro	2	4
<i>Lasiurus cinereus</i>	Vespertilionidae	Insetívoro	2	4
<i>Myotis nigricans</i>	Vespertilionidae	Insetívoro	3	6
<i>Histiotus velatus</i>	Vespertilionidae	Insetívoro	1	2
<i>Eptesicus</i> sp.	Vespertilionidae	Insetívoro	1	2
<i>Histiotus montanus</i>	Vespertilionidae	Insetívoro	1	2
<i>Artibeus lituratus</i>	Phyllostomidae	Pred. frugívoro	2	4
<i>Carollia perspicillata</i>	Phyllostomidae	Pred. frugívoro	2	4
Total	-	-	50	100

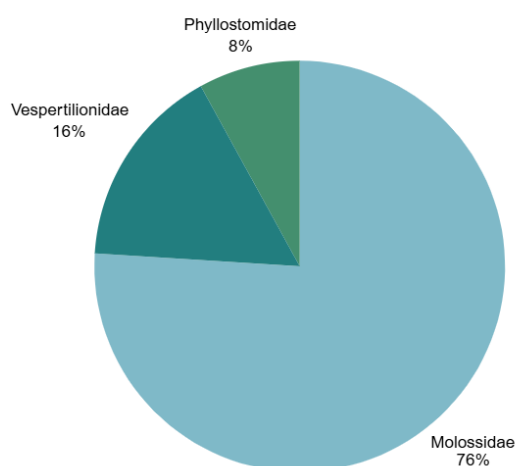
Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Figura 6 - Distribuição do número de indivíduos por espécie de morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024 (n = 50).



Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Figura 7 - Distribuição percentual dos morcegos provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), coletados entre janeiro e dezembro de 2024, segundo a família taxonômica (n = 50).



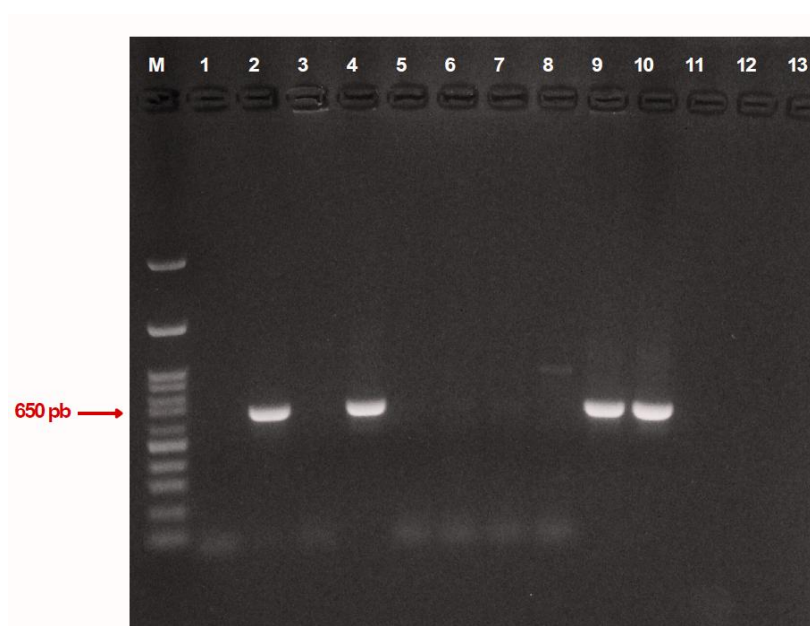
Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

6.2 Detecção molecular de tripanossomatídeos

Entre os 50 morcegos analisados, 18 apresentaram amplificação em pelo menos um dos tecidos avaliados, correspondendo a uma positividade de 36,0%. Considerando os quatro tecidos analisados nesses 18 indivíduos positivos, obteve-se um total de 72 amostras teciduais, das quais 33 apresentaram amplificação (45,8%).

Das 33 amostras positivas, 13 (39,4%) corresponderam ao baço, 11 (33,3%) ao coração, cinco (15,2%) ao fígado e quatro (12,1%) à pele, indicando maior frequência de detecção molecular no tecido esplênico, seguido pelos tecidos cardíaco, hepático e cutâneo (Tabela 2). Um exemplo representativo da amplificação obtida por Nested PCR é apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Eletroforese em gel de agarose a 1,5% dos produtos da Nested PCR para detecção de tripanossomatídeos por amplificação de fragmento do gene 18S rRNA utilizando os *primers* internos SSU561F e SSU561R. M: marcador de peso molecular de 100 pb (Class Five® 100 bp DNA Ladder); 1: controle negativo; 2: controle positivo; 3–13: amostras de tecidos de morcegos. A banda de aproximadamente 650 pb corresponde ao amplicon esperado.



Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Tabela 2 - Distribuição das amostras positivas para DNA de tripanossomatídeos, segundo o tecido analisado.

Tecido	Positivos	% entre positivos (n = 33)
Baço	13	39,4
Coração	11	33,3
Fígado	5	15,2
Pele	4	12,1
Total	33	100,0

Nota: Os percentuais foram calculados com base no total de amostras positivas (n= 33), provenientes de 18 quirópteros positivos.

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Dos 18 quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos, 16 (88,9%) pertenciam à família Molossidae e dois (11,1%) à família Phyllostomidae. A distribuição dos indivíduos positivos segundo família, gênero e espécie é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos, segundo família, gênero e espécie (n = 18).

Família	Gênero	Espécie	Positivos
Molossidae	<i>Molossus</i>	<i>Molossus molossus</i>	5
Molossidae	<i>Molossus</i>	<i>Molossus rufus</i>	2
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops auripendulus</i>	4
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops glaucinus</i>	2
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops perotis</i>	2
Molossidae	<i>Tadarida</i>	<i>Tadarida brasiliensis</i>	1
Phyllostomidae	<i>Artibeus</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	1
Phyllostomidae	<i>Carollia</i>	<i>Carollia perspicillata</i>	1
Total	-	-	18

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Os gêneros mais representativos entre os indivíduos positivos foram *Eumops*, com oito indivíduos (44,4%), seguido por *Molossus*, com sete indivíduos (38,9%). Em conjunto, esses dois gêneros corresponderam a 83,3% dos quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos.

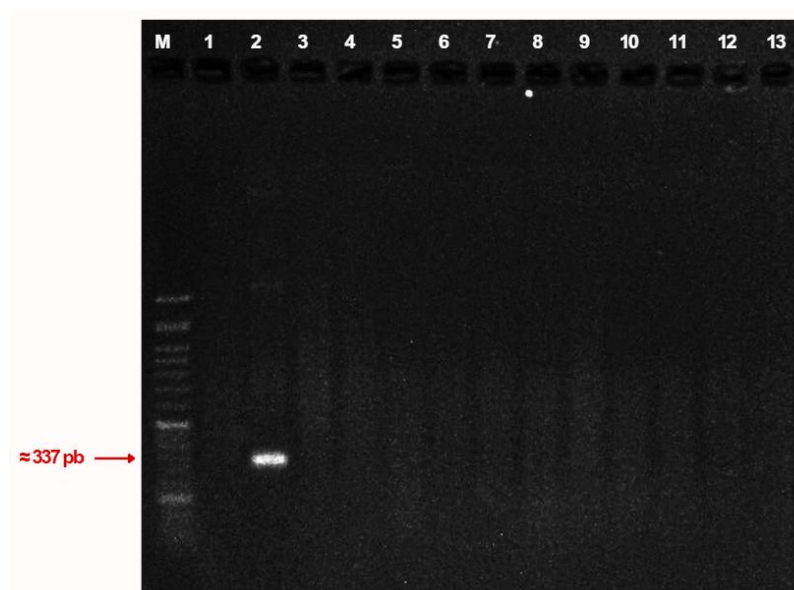
As espécies mais frequentes entre os indivíduos positivos foram *M. molossus*, com cinco indivíduos (27,8%), e *E. auripendulus*, com quatro indivíduos (22,2%). *M. rufus*, *E. glaucinus* e *Eumops perotis* apresentaram dois indivíduos positivos cada (11,1%), enquanto *Tadarida brasiliensis*, *A. lituratus* e *C. perspicillata* registraram um indivíduo positivo cada (5,6%). Destaca-se que os dois exemplares de *E. perotis* incluídos na amostra apresentaram detecção de DNA de tripanossomatídeos.

Quanto ao hábito alimentar, 16 indivíduos positivos pertenciam a espécies insetívoras (88,9%) e dois a espécies predominantemente frugívoras (11,1%). Ressalta-se que, na amostra total, também houve predomínio de espécies insetívoras (92,0%).

6.3 Detecção molecular de *Leishmania* spp.

Embora a Nested PCR utilizando os *primers* TRY927 e SSU561 tenha evidenciado a presença de DNA de tripanossomatídeos, nenhuma das amostras apresentou amplificação específica para *Leishmania* spp. na PCR convencional direcionada ao gene HSP70. Em todas as reações, observou-se a amplificação esperada do controle positivo, confirmando a adequação das condições experimentais e a integridade dos reagentes utilizados (Figura 9).

Figura 9 - Eletroforese em gel de agarose a 1,5% dos produtos da PCR convencional para detecção de *Leishmania* spp. por amplificação de fragmento do gene HSP70 utilizando os *primers* HSP70F e HSP70R. M: marcador de peso molecular de 100 pb (Class Five® 100 bp DNA Ladder); 1: controle negativo; 2: controle positivo; 3–13: amostras de tecidos de morcegos. A banda de aproximadamente 337 pb corresponde ao amplicon esperado.



Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

6.4 Sequenciamento genético das amostras positivas

As sequências obtidas por sequenciamento pelo método Sanger apresentaram elevada similaridade nucleotídica com sequências de tripanossomatídeos depositadas no banco de dados GenBank, com índices de identidade superiores a 98% (Tabela 4). Das 33 sequências analisadas, 32 (96,97%) apresentaram identidade com *T. cruzi*, enquanto uma (3,03%) foi identificada como *T. lainsoni*.

Entre os 18 morcegos positivos para DNA de tripanossomatídeos, 11 (61,1%) apresentaram detecção do DNA do parasita em mais de um tecido. Além disso, um indivíduo de *M. rufus* apresentou coinfeção por *T. cruzi* e *T. lainsoni*, detectados, respectivamente, no baço e no fígado, enquanto um exemplar de *E. auripendulus* apresentou detecção de *T. cruzi* em tecido cardíaco e resultado positivo para o vírus da raiva.

A caracterização molecular das amostras positivas, incluindo a espécie identificada, o percentual de identidade, a cobertura, o valor de E e o número de acesso no GenBank, é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização molecular das amostras positivas para tripanossomatídeos com base no sequenciamento parcial do gene 18S rRNA e na comparação das sequências com o banco de dados GenBank por meio da ferramenta BLAST.

ID	Família	Espécie	Hábito alimentar	Tecidos positivos	Espécie identificada	Identidade (%)	Cobertura (%)	Valor de E	Número de acesso (GenBank)
19	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	Fígado	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239334
21	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.82	100	0.0	PZ239335
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.31	100	0.0	PZ239336
				Pele	<i>T. cruzi</i>	99.83	100	0.0	PZ239337
22	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	Fígado	<i>T. cruzi</i>	98.29	100	0.0	PZ239338
				Baço	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239339
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.66	100	0.0	PZ239340
35	Molossidae	<i>Eumops glaucinus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.78	100	0.0	PZ239341
53	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.66	100	0.0	PZ239342
70*	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insetívoro	Coração	<i>T. cruzi</i>	98.58	100	0.0	PZ239343
73	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.61	100	0.0	PZ239344
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.33	100	0.0	PZ239345
76	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insetívoro	Coração	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239346
86	Phyllostomidae	<i>Artibeus lituratus</i>	Predom. frugívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239347
87	Molossidae	<i>Eumops glaucinus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.1	100	0.0	PZ239348
				Coração	<i>T. cruzi</i>	98.44	100	0.0	PZ239349
106	Molossidae	<i>Eumops perotis</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239350
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.70	100	3e-172	PZ239351

113	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239352
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239353
151	Molossidae	<i>Eumops perotis</i>	Insetívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.41	100	0.0	PZ239354
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.35	100	0.0	PZ239355
197	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro	Coração	<i>T. cruzi</i>	99.75	100	0.0	PZ239356
225	Phyllostomidae	<i>Carollia perspicillata</i>	Predom. frugívoro	Baço	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239357
				Coração	<i>T. cruzi</i>	99.67	99	0.0	PZ239358
				Pele	<i>T. cruzi</i>	99.34	100	0.0	PZ239359
230	Molossidae	<i>Molossus rufus</i>	Insetívoro	Fígado	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239360
				Pele	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239361
239	Molossidae	<i>Molossus rufus</i>	Insetívoro	Fígado	<i>T. lainsoni</i>	99.84	100	0.0	PZ239362
				Baço	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239363
320	Molossidae	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Insetívoro	Fígado	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239364
				Baço	<i>T. cruzi</i>	99.48	100	0.0	PZ239365
				Pele	<i>T. cruzi</i>	99.82	100	0.0	PZ239366

*Positivo para raiva

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

6.5 Filogenia das sequências obtidas

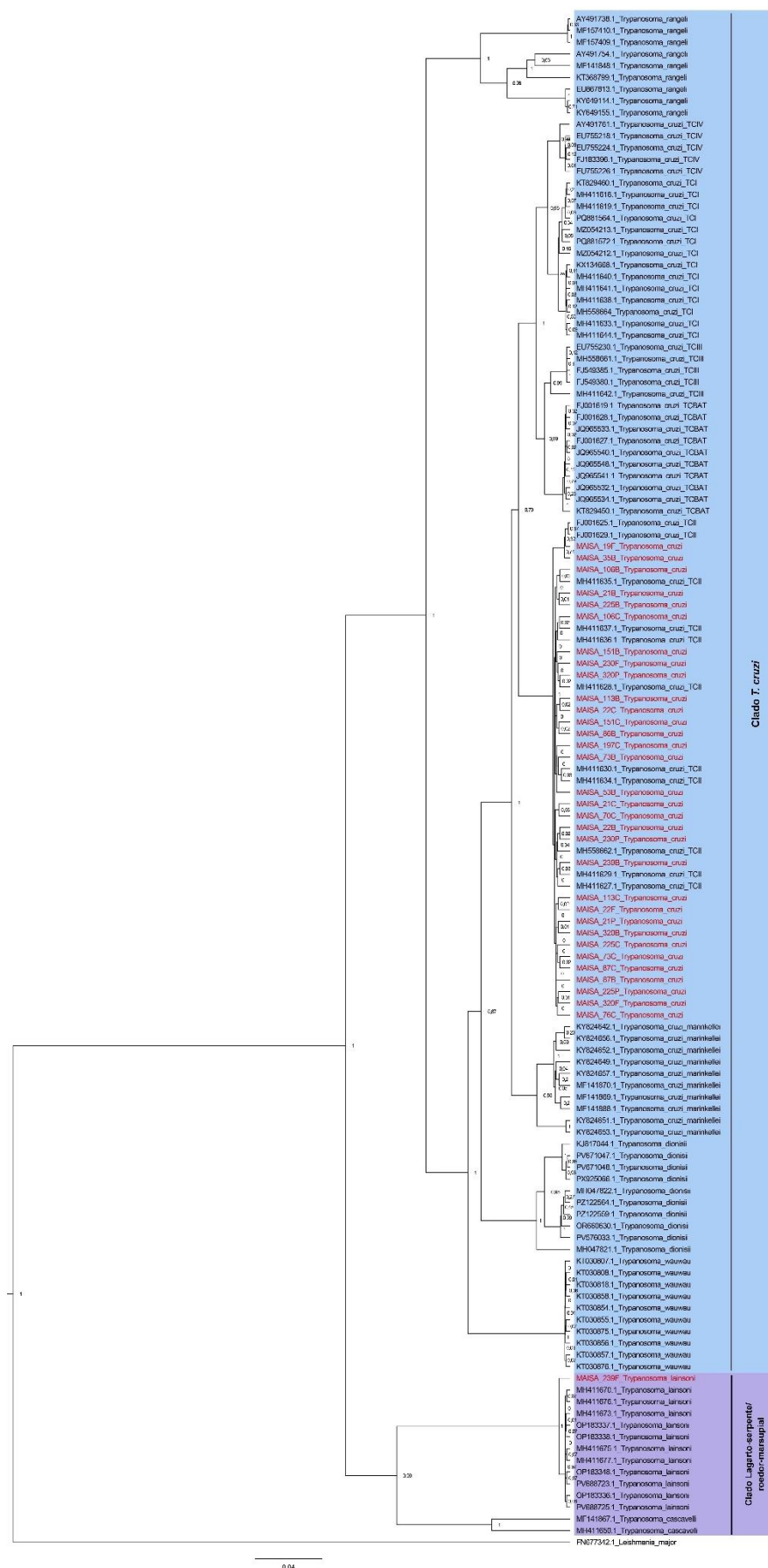
Foram selecionadas 32 sequências para a construção da árvore filogenética. Uma sequência foi excluída da análise por apresentar comprimento reduzido, o que, embora não tenha comprometido sua identificação por meio da análise BLAST no GenBank, poderia prejudicar o alinhamento múltiplo e a robustez das inferências filogenéticas.

A árvore consenso de máxima credibilidade revelou que as sequências identificadas como *T. cruzi* agruparam-se consistentemente dentro do clado correspondente, juntamente com sequências de referência de *T. rangeli*, *T. dionisii*, *T. wauwau*, *T. c. marinkellei*, *T. cruzi TcI*, *T. cruzi TcII*, *T. cruzi TcIII*, *T. cruzi TcIV* e *T. cruzi Tcbat*, formando um agrupamento com alto valor de probabilidade posterior. Além disso, todas as sequências de *T. cruzi* obtidas neste estudo agruparam-se com sequências de referência da DTU TcII, sugerindo que sejam compatíveis com essa unidade discreta de tipagem.

A sequência identificada como *T. lainsoni* agrupou-se exclusivamente com sequências de referência dessa espécie, formando um clado distinto daquele observado para *T. cruzi*. Esse agrupamento foi recuperado juntamente com *T. cascavelli*, compondo o clado Lagarto-serpente/roedor-marsupial e apresentando elevado suporte estatístico.

Algumas ramificações terminais apresentaram valores menores de probabilidade posterior, refletindo a proximidade genética entre determinadas sequências analisadas. A topologia obtida mostrou-se congruente com classificações filogenéticas previamente descritas para tripanossomatídeos (Figura 10).

Figura 10 - Reconstrução filogenética de *T. cruzi*, *T. c. marinkellei*, *T. rangeli*, *T. dionisii*, *T. wauwau*, *T. lainsoni* e *T. cascavelli*, baseada em um fragmento de 650 pb do gene 18S rRNA, inferida por abordagem Bayesiana. Os valores indicados nos nós correspondem às probabilidades a posteriori. As sequências destacadas em vermelho correspondem às obtidas no presente estudo, enquanto as sequências em preto foram recuperadas do banco de dados GenBank. A árvore foi enraizada utilizando *Leishmania major* como grupo externo.



Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

6.6 Resultados das análises estatísticas

6.6.1 Associação entre positividade e família taxonômica

A distribuição da positividade segundo a família taxonômica está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 - Associação entre família taxonômica e detecção de DNA de tripanossomatídeos.

Família	Positivos	Negativos	Total	Positividade (%)
Molossidae	16	22	38	42,1
Vespertilionidae	0	8	8	0,0
Phyllostomidae	2	2	4	50,0
Total	18	32	50	36,0

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Não foi observada associação estatisticamente significativa entre a família taxonômica e a detecção de DNA de tripanossomatídeos (teste exato de Fisher, $p = 0,050$). Além disso, a maior parte dos indivíduos positivos pertenceu à família Molossidae. Observou-se ausência de positividade entre os indivíduos da família Vespertilionidae e elevada frequência relativa de positividade entre Phyllostomidae, embora esta última tenha sido representada por reduzido número amostral.

6.6.2 Associação entre positividade e hábito alimentar

A distribuição da detecção de tripanossomatídeos segundo o hábito alimentar das espécies analisadas está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 - Associação entre hábito alimentar e detecção de DNA de tripanossomatídeos.

Hábito alimentar	Positivos	Negativos	Total	Positividade (%)
Insetívoro	16	30	46	34,8
Pred. frugívoro	2	2	4	50,0
Total	18	32	50	36,0

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Não foi observada associação estatisticamente significativa entre o hábito alimentar e a detecção de DNA de tripanossomatídeos (teste exato de Fisher, $p \approx 0,60$). A positividade foi de 34,8% entre as espécies insetívoras e de 50,0% entre as espécies predominantemente frugívoras.

6.6.3 Associação entre positividade e tecido analisado

A distribuição da detecção de DNA de tripanossomatídeos por tecido analisado está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 - Associação entre tecido analisado e detecção de DNA de tripanossomatídeos.

Tecido	Positivos	Negativos	Total	Positividade (%)
Fígado	5	45	50	10,0
Baço	13	37	50	26,0
Coração	11	39	50	22,0
Pele	4	46	50	8,0
Total	33	167	200	16,5

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Foi observada diferença estatisticamente significativa na frequência de detecção de DNA de tripanossomatídeos entre os quatro tecidos avaliados (teste Q de Cochran = 11,56; gl = 3; $p = 0,009$). O baço apresentou a maior frequência

de detecção molecular (26,0%), seguido pelo coração (22,0%), enquanto o fígado e a pele apresentaram frequências de 10,0% e 8,0%, respectivamente.

Apesar da diferença global observada, as comparações múltiplas entre pares de tecidos, realizadas por meio do teste exato de McNemar com ajuste dos valores de p pelo método de Holm, não identificaram diferenças estatisticamente significativas entre quaisquer pares de tecidos (p ajustado $> 0,05$).

6.6.4 Análises entre animais positivos

6.6.4.1 Frequência de detecção por tecido entre indivíduos positivos

Entre os 18 morcegos positivos para DNA de tripanossomatídeos, a frequência de detecção segundo o tecido analisado está apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 - Frequência de detecção de DNA de tripanossomatídeos por tecido entre os quirópteros positivos ($n = 18$).

Tecido	Positivos	Frequência (%)
Baço	13	72,2%
Coração	11	61,1%
Fígado	5	27,8%
Pele	4	22,2%

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

O baço apresentou a maior frequência de detecção molecular entre os indivíduos positivos (72,2%), seguido pelo coração (61,1%). Os tecidos hepático e cutâneo apresentaram frequências de 27,8% e 22,2%, respectivamente.

6.6.4.2 Odds ratio entre tecidos

A análise exploratória das razões de chances (*odds ratios* – OR) indicou maior chance de detecção de DNA de tripanossomatídeos no baço em comparação ao fígado e à pele. Os valores estimados foram:

- a) Baço vs Fígado: OR = 3,16;
- b) Baço vs Pele: OR = 4,03;
- c) Baço vs Coração: OR = 1,26.

Os resultados sugerem tendência de maior detecção molecular no baço em relação ao fígado e à pele, enquanto baço e coração apresentaram chances de detecção mais semelhantes.

6.6.4.3 Análise de multitecidualidade

Entre os 18 morcegos positivos para DNA de tripanossomatídeos, sete apresentaram detecção em apenas um tecido, sete em dois tecidos e quatro em três tecidos analisados. Dessa forma, 11 (61,1%) indivíduos positivos apresentaram detecção molecular em mais de um tecido, evidenciando a ocorrência de infecção multitecidual.

6.6.5 Positividade por espécie

A distribuição de detecção de tripanossomatídeos por espécie de quiróptero está apresentada na Tabela 9.

Tabela 9 - Distribuição dos quirópteros positivos para DNA de tripanossomatídeos segundo a espécie (n = 50).

Espécie	n total	Positivos	Positividade (%)
<i>Molossus molossus</i>	16	5	31,3
<i>Eumops auripendulus</i>	5	4	80,0
<i>Eumops glaucinus</i>	6	2	33,3
<i>Eumops perotis</i>	2	2	100,0

<i>Molossus rufus</i>	6	2	33,3
<i>Tadarida brasiliensis</i>	3	1	33,3
<i>Artibeus lituratus</i>	2	1	50,0
<i>Carollia perspicillata</i>	2	1	50,0
<i>Myotis nigricans</i>	3	0	0,0
<i>Lasiurus cinereus</i>	2	0	0,0
<i>Histiotus velatus</i>	1	0	0,0
<i>Histiotus montanus</i>	1	0	0,0
<i>Eptesicus</i> sp.	1	0	0,0

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Algumas espécies apresentaram positividade aparentemente elevadas, porém associadas a reduzido número amostral, como *E. perotis* (100,0%; 2/2) e *E. auripendulus* (80,0%; 4/5). Por outro lado, *M. molossus*, espécie com maior número de indivíduos analisados (n = 16), apresentou positividade de 31,3%. Devido ao reduzido número de indivíduos em algumas espécies, foram realizadas análises adicionais agrupadas por gênero taxonômico.

6.6.6 Associação entre positividade e gênero taxonômico

A análise agrupada por gênero taxonômico está apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 - Associação entre gênero taxonômico (agrupado) e detecção de DNA de tripanossomatídeos.

Grupo	Positivos	Negativos	Total	Positividade (%)
<i>Molossus</i>	7	15	22	31,8
<i>Eumops</i>	8	5	13	61,5
Outros	3	12	15	20,0
Total	18	32	50	36,0

Fonte: Dados da pesquisa, elaborados pela autora (2026)

Os resultados do modelo de regressão logística binária indicaram maior chance de detecção de DNA de tripanossomatídeos em indivíduos do gênero *Eumops* quando comparados ao gênero *Molossus* (OR = 3,43; IC95%: 0,82–14,37; $p = 0,092$), embora a associação não tenha sido estatisticamente significativa. Para o grupo Outros, a razão de chances foi inferior à observada para *Molossus* (OR = 0,54; IC95%: 0,11–2,53; $p = 0,430$), também sem associação estatisticamente significativa. As positivities observadas foram de 31,8% para *Molossus*, 61,5% para *Eumops* e 20,0% para os demais gêneros agrupados.

7 DISCUSSÃO

Neste estudo buscou-se compreender a ocorrência e a diversidade de tripanossomatídeos em quirópteros da região de Bauru (SP) por meio de abordagens moleculares. Foram analisados 50 espécimes provenientes da vigilância ambiental do município, dos quais 18 apresentaram amplificação positiva para DNA de tripanossomatídeos, correspondendo a uma positividade de 36,0%.

A análise das sequências obtidas revelou predomínio expressivo de *T. cruzi*, identificado em 96,97% das amostras positivas, enquanto *T. lainsoni* foi detectado em apenas uma amostra (3,03%). A predominância de *T. cruzi* observada neste estudo é consistente com a ampla distribuição desse parasita entre mamíferos silvestres na América Latina e, particularmente, no Brasil, onde sua circulação envolve um complexo sistema de hospedeiros e vetores (Jansen; Xavier; Roque, 2018). Esse protozoário apresenta elevada plasticidade ecológica, sendo capaz de infectar diversas espécies de mamíferos pertencentes a diferentes ordens taxonômicas, o que contribui para sua manutenção em múltiplos ciclos de transmissão na natureza.

A ocorrência de *T. cruzi* em morcegos brasileiros é amplamente documentada na literatura, sugerindo que esses animais participam dos ciclos naturais de transmissão do parasita (Dario *et al.*, 2017; Jansen; Xavier; Roque, 2018; Marcili *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2024). Além de hospedar diversas espécies do gênero *Trypanosoma*, a ordem Chiroptera tem sido considerada um importante componente do sistema reservatório de *T. cruzi*, apresentando características ecológicas e biológicas que favorecem a manutenção e a dispersão do parasita, como a longevidade, a capacidade de voo e a ampla distribuição geográfica (Jansen; Xavier; Roque, 2018).

Os resultados obtidos indicam a circulação de *T. cruzi* na região de Bauru e demonstram a exposição dos quirópteros ao parasita, sendo compatíveis com a manutenção de ciclos locais de transmissão. Resultados semelhantes têm sido descritos em estudos conduzidos em contextos urbanos no estado de São Paulo. França *et al.* (2024), por exemplo, detectaram material genético de *T. cruzi* em tecidos de morcegos coletados em áreas urbanas e rurais do interior paulista, com identificação do parasita em seis indivíduos, correspondendo a uma

positividade aproximada de 3%. Embora tenham sido observadas diferenças na frequência de detecção entre os estudos, ambos evidenciam a ocorrência de DNA de *T. cruzi* em morcegos no interior do estado de São Paulo, reforçando a circulação do parasita em quirópteros nessa região.

Espécies pertencentes às três famílias registradas neste estudo são conhecidas por ocorrerem em ambientes urbanos no Brasil, sendo que Molossidae e Phyllostomidae se destacam por apresentarem maior riqueza de espécies nesse contexto, no qual também predominam morcegos insetívoros, seguidos pelos frugívoros. Do ponto de vista ecológico, os filostomídeos tendem a estar mais associados a fragmentos florestais inseridos na matriz urbana, enquanto os molossídeos apresentam maior associação com estruturas antrópicas, como forros e juntas de dilatação em edificações, utilizadas como locais de abrigo, refletindo a grande plasticidade ecológica dessa família (Nunes; Rocha; Cordeiro-Estrela, 2017).

A análise molecular demonstrou que, dos 18 indivíduos positivos para DNA de tripanossomatídeos, 16 pertenciam à família Molossidae, dois à Phyllostomidae, não sendo observada positividade entre os indivíduos da família Vespertilionidae. Embora não tenha sido observada associação estatisticamente significativa entre a família taxonômica e a detecção de DNA de tripanossomatídeos, a predominância de indivíduos positivos em Molossidae deve ser interpretada considerando que essa família também representou a maior parte da amostra analisada e constitui um dos grupos de morcegos mais abundantes e adaptados aos ambientes urbanos brasileiros (Nunes; Rocha; Cordeiro-Estrela, 2017).

Em nível de gênero, o modelo de regressão logística indicou maior razão de chances para detecção de DNA de tripanossomatídeos em *Eumops* quando comparado a *Molossus* (OR = 3,43), embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Dessa forma, os resultados não permitem afirmar diferenças na suscetibilidade ou na exposição entre esses gêneros, mas indicam um padrão que poderá ser investigado em estudos futuros envolvendo maior número de indivíduos e espécies.

A detecção de DNA de *T. cruzi* em *E. auripendulus* e *E. perotis* amplia o conjunto de espécies de morcegos potencialmente envolvidas na circulação desse parasita. Esses achados reforçam a reconhecida plasticidade ecológica

de *T. cruzi* e sua capacidade de circular entre múltiplos hospedeiros silvestres, característica amplamente documentada na literatura (Jansen; Xavier; Roque, 2018). Considerando que essas espécies são frequentemente encontradas em ambientes urbanos e utilizam edificações como abrigo, elas representam hospedeiros relevantes para a vigilância da circulação de *T. cruzi* em áreas antropizadas.

No que se refere ao hábito alimentar, não foi observada associação estatisticamente significativa com a detecção de DNA de tripanossomatídeos, sugerindo que a exposição aos parasitas pode ocorrer por diferentes vias, independentemente da estratégia alimentar predominante das espécies analisadas. A transmissão de *T. cruzi* pode envolver múltiplos mecanismos, destacando-se a via oral como uma das mais prováveis entre os animais silvestres, considerando que diversas espécies se alimentam de insetos (Coura, 2015). Entre os quirópteros, a ingestão de insetos é comum, inclusive em espécies cuja dieta é predominantemente frugívora. A transmissão também pode ocorrer por via vetorial, envolvendo triatomíneos, além da via congênita, que pode contribuir para a manutenção do ciclo desse agente infeccioso em morcegos (Añez; Crisante; Soriano, 2008).

Em conjunto, os resultados contribuem para ampliar o conhecimento sobre a ocorrência de *T. cruzi* em morcegos urbanos. Embora as diferenças identificadas entre os grupos taxonômicos e os hábitos alimentares não tenham sido estatisticamente significativas, os padrões observados fornecem subsídios para futuras investigações sobre fatores ecológicos que possam influenciar a circulação do parasita em ambientes urbanos.

Adicionalmente, alguns aspectos devem ser considerados na interpretação desses resultados. A detecção de material genético do parasita em tecidos não implica, necessariamente, que o hospedeiro seja competente para transmitir o agente infeccioso aos vetores. A competência reservatória está relacionada principalmente à presença de parasitas viáveis na circulação sanguínea, em níveis suficientes para permitir sua ingestão por triatomíneos durante o repasto hematofágico (Jansen; Xavier; Roque, 2018).

Assim, o potencial de infectividade de um hospedeiro mamífero depende, em grande medida, dos períodos de parasitemia elevada, que possibilitam a aquisição do parasita pelos triatomíneos e, conseqüentemente, a manutenção

do ciclo de transmissão na natureza. Esses períodos podem variar amplamente entre espécies hospedeiras e também entre indivíduos de uma mesma espécie (Jansen; Xavier; Roque, 2018).

Dessa forma, embora a detecção de DNA de *T. cruzi* nos morcegos analisados evidencie a circulação do parasita na área de estudo e indique a exposição desses animais ao agente infeccioso, esses resultados não permitem inferir diretamente o papel desses quirópteros como fontes de infecção para os vetores.

Estudos demonstram que *T. cruzi* apresenta ampla capacidade de colonizar diferentes tipos celulares e tecidos em hospedeiros vertebrados. Em modelos murinos infectados experimentalmente, o parasita foi detectado em múltiplos órgãos, incluindo coração, fígado, baço, cérebro, tecido adiposo e diferentes segmentos do trato digestório, refletindo sua disseminação sistêmica após a infecção (Añez; Crisante, 2021; Silva-dos-Santos *et al.*, 2017).

De forma semelhante, no presente estudo, o DNA do parasita foi detectado em diferentes tecidos dos morcegos analisados. Entre as 200 amostras teciduais avaliadas, observou-se maior frequência de detecção no baço (26,0%), seguido pelo coração (22,0%), fígado (10,0%) e pele (8,0%). A análise estatística evidenciou diferença global significativa entre os tecidos, indicando que a distribuição da detecção molecular não foi uniforme. Entretanto, as comparações entre pares de tecidos não permaneceram estatisticamente significativas após o ajuste para múltiplas comparações, sugerindo que esse resultado deve ser interpretado como uma diferença geral na distribuição tecidual do DNA do parasita, e não como evidência de superioridade estatisticamente demonstrada de um tecido específico em relação aos demais.

Apesar da ausência de diferenças significativas nas comparações par a par, a maior frequência de detecção observada no baço e no coração é consistente com estudos que descrevem a colonização de *T. cruzi* em órgãos linfoides e musculares durante a infecção (Añez; Crisante, 2021; Silva-dos-Santos *et al.*, 2017), sugerindo que esses tecidos constituem amostras de interesse para estudos de vigilância molecular.

As diferenças observadas podem refletir características biológicas dos tecidos analisados. O tecido cardíaco constitui um importante local de multiplicação de *T. cruzi*, cujos amastigotas se desenvolvem e se multiplicam no

interior das fibras musculares, formando ninhos parasitários (Rey, 2008). Consequentemente, esse tecido pode apresentar elevada carga parasitária. O baço, por sua vez, é um órgão linfóide altamente vascularizado que atua como importante filtro imunológico do sangue, respondendo rapidamente aos antígenos circulantes (Junqueira; Carneiro, 2004). Essas características podem favorecer a detecção molecular do parasita nesse órgão.

Adicionalmente, como as amostras foram obtidas *post mortem* e frequentemente apresentavam diferentes graus de autólise, a preservação diferencial dos tecidos e da integridade do DNA pode ter influenciado a sensibilidade da detecção molecular. Assim, a maior frequência observada no baço e no coração deve ser interpretada como uma tendência compatível com a biologia da infecção, mas que poderá ser melhor esclarecida em estudos futuros utilizando maior número de indivíduos e amostras obtidas em diferentes condições de preservação.

Outro aspecto relevante observado neste estudo foi a elevada proporção de indivíduos que apresentaram detecção de DNA de *T. cruzi* em múltiplos tecidos. Esse padrão reforça a capacidade de disseminação sistêmica do parasita (Añez; Crisante, 2021; Jansen; Xavier; Roque, 2018; Silva-dos-Santos *et al.*, 2017) e evidencia que sua distribuição tecidual pode variar entre indivíduos infectados. Do ponto de vista metodológico, esses achados ressaltam a importância da análise de diferentes tecidos em estudos envolvendo *T. cruzi*, uma vez que a avaliação de um único tecido pode aumentar a probabilidade de resultados falso-negativos.

Em conjunto, esses resultados demonstram que a distribuição tecidual de *T. cruzi* em morcegos é complexa e reforçam que a avaliação de múltiplos tecidos pode aumentar a sensibilidade da detecção molecular, contribuindo para uma caracterização mais precisa da infecção e para o aprimoramento de estudos epidemiológicos envolvendo fauna silvestre.

No que se refere às coinfeções, destaca-se a identificação de um exemplar de *E. auripendulus* apresentando detecção concomitante de DNA de *T. cruzi* em tecido cardíaco e infecção pelo vírus da raiva. Esse achado demonstra que os morcegos podem estar expostos simultaneamente a diferentes agentes infecciosos circulantes na região, podendo atuar como hospedeiros de múltiplos microrganismos de relevância para a saúde pública.

Outro achado relevante foi a detecção de *T. lainsoni* no fígado e *T. cruzi* no baço de um indivíduo de *M. rufus*, caracterizando um caso de coinfecção envolvendo duas espécies distintas de tripanossomatídeos.

Os quirópteros destacam-se por hospedar uma grande diversidade de espécies do gênero *Trypanosoma*, sendo relativamente frequentes os registros de infecções simultâneas envolvendo diferentes espécies ou linhagens parasitárias em populações naturais. Entretanto, os efeitos dessas coinfecções sobre os hospedeiros e sobre a dinâmica de transmissão ainda permanecem pouco compreendidos (Jansen; Xavier; Roque, 2018). Assim, evidencia-se a necessidade de estudos que aprofundem a compreensão das implicações das coinfecções em morcegos, especialmente quanto aos seus impactos sobre a biologia dos hospedeiros, a interação entre os parasitas e a dinâmica de transmissão.

No caso da coinfecção observada em *M. rufus*, a detecção de *T. lainsoni* merece destaque, uma vez que se trata de uma espécie ainda pouco conhecida e com número limitado de registros na literatura. Esse parasita foi descrito inicialmente por Naiff e Barrett (2013), a partir do isolamento em um roedor caviomorfo, *Mesomys hispidus*, no estado do Amazonas. Posteriormente, foi detectado em diferentes mamíferos na América do Sul, incluindo o carnívoro *Leopardus geoffroyi*, o roedor *Calomys* sp. e espécies de marsupiais, como *Gracilinanus agilis* e *Micoureus paraguayanus* (Díaz et al., 2020; Rodrigues et al., 2019).

Registros adicionais incluem sua detecção em *Didelphis albiventris*, no estado de Mato Grosso do Sul (Nantes et al., 2021), e em diferentes espécies de roedores e marsupiais em Minas Gerais (Oliveira et al., 2023). Em quirópteros, sua ocorrência havia sido relatada anteriormente apenas em *Platyrrhinus lineatus* e *Artibeus planirostris*, na região Nordeste do Brasil (Rodrigues et al., 2019).

A coinfecção por *T. lainsoni* observada em *M. rufus* amplia o conhecimento sobre a diversidade de tripanossomatídeos capazes de infectar essa espécie de morcego. A identificação de *T. lainsoni* nessa espécie amplia o espectro de hospedeiros conhecidos para esse tripanossoma e, adicionalmente, estende sua distribuição geográfica conhecida para o estado de São Paulo, indicando que sua ocorrência pode ser mais ampla no território brasileiro do que

previamente reconhecido. *M. rufus* é uma espécie insetívora e gregária, capaz de formar colônias numerosas e frequentemente compartilhadas com outras espécies de morcegos (Esbérard, 2011; Reis *et al.*, 2007). Essas características podem favorecer o contato entre indivíduos e aumentar as oportunidades de exposição a diferentes agentes infecciosos.

Do ponto de vista filogenético, *T. lainsoni* tem sido associado ao clado Lagarto-Serpente/Roedor-Marsupial, um agrupamento que inclui tripanossomas frequentemente relacionados a flebotomíneos como potenciais vetores (Ortiz *et al.*, 2018). No entanto, apesar da associação filogenética, estudos experimentais indicam que espécies de triatomíneos e flebotomíneos testadas até o momento não demonstraram competência vetorial para esse parasita (Madureira *et al.*, 2026; Naiff; Barrett, 2013).

Os resultados obtidos neste estudo, em conjunto com as evidências disponíveis na literatura (Díaz *et al.*, 2020; Naiff; Barrett, 2013; Nantes *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2023; Rodrigues *et al.*, 2019), sugerem que *T. lainsoni*, assim como *T. cruzi*, possa apresentar um sistema de transmissão envolvendo múltiplos hospedeiros mamíferos. Entretanto, permanecem importantes lacunas de conhecimento quanto à identificação das espécies vetoras envolvidas em seu ciclo de vida, às possíveis vias de transmissão e à real extensão de sua distribuição na fauna silvestre brasileira.

A análise filogenética baseada em inferência Bayesiana evidenciou a formação de dois agrupamentos principais bem definidos, correspondentes aos clados *T. cruzi* e Lagarto-serpente/roedor-marsupial, ambos com alto suporte estatístico (probabilidade posterior $\geq 0,99$). Esse padrão evidencia uma separação filogenética consistente entre as duas espécies identificadas e reforça a confiabilidade da caracterização molecular das sequências analisadas. A topologia obtida mostrou-se compatível com a organização filogenética atualmente reconhecida para espécies do gênero *Trypanosoma*, corroborando estudos recentes que empregaram esse mesmo marcador para investigar a diversidade de tripanossomatídeos em mamíferos silvestres, incluindo morcegos (Ibarra-López *et al.*, 2026).

Embora os principais agrupamentos tenham apresentado elevado suporte estatístico, algumas ramificações terminais exibiram menores valores de probabilidade posterior. Esse resultado é esperado para análises baseadas no

gene 18S rRNA, um marcador amplamente utilizado para identificação e posicionamento filogenético de tripanossomatídeos em nível interespecífico, mas que apresenta menor variabilidade para resolver relações evolutivas em níveis taxonômicos mais refinados, como a discriminação entre linhagens intraespecíficas.

As sequências de *T. cruzi* obtidas neste estudo agruparam-se consistentemente com sequências de referência classificadas como TcII, sugerindo afinidade filogenética com essa DTU. Entretanto, essa interpretação deve ser realizada com cautela, uma vez que o fragmento do gene 18S rRNA não possui resolução suficiente para discriminar de forma inequívoca as diferentes DTUs de *T. cruzi*. Assim, os resultados obtidos constituem uma forte evidência de proximidade filogenética com TcII, cuja confirmação dependeria da utilização de marcadores moleculares mais informativos, como genes codificadores ou abordagens multilocus.

A DTU TcII é tradicionalmente associada a ciclos domésticos de transmissão e apresenta ampla distribuição no Cone Sul da América do Sul. No Brasil, essa linhagem tem sido frequentemente relacionada a formas clínicas graves da doença de Chagas, incluindo manifestações cardíacas e digestivas, sendo uma das principais DTUs identificadas em pacientes com doença de Chagas crônica (Macedo; Segatto, 2010; Nielebock et al., 2020).

Outro aspecto relevante evidenciado neste estudo refere-se à interface entre fauna silvestre, animais domésticos e populações humanas em ambientes urbanos. Aproximadamente 30% dos morcegos analisados apresentaram registro de contato com cães ou gatos, incluindo o indivíduo de *E. auripendulus* que apresentou coinfeção por *T. cruzi* e pelo vírus da raiva. Esse achado evidencia a sobreposição entre habitats e as oportunidades de contato entre diferentes grupos de hospedeiros, criando condições favoráveis ao compartilhamento de agentes infecciosos entre a fauna silvestre, os animais domésticos e, potencialmente, os seres humanos. Esse cenário é particularmente relevante quando se considera o comportamento predatório de cães e gatos sobre morcegos, aumentando as oportunidades de exposição desses animais a diferentes agentes infecciosos.

Nesse contexto, os cães merecem destaque por poderem ser expostos a *T. cruzi* e participar do ciclo epidemiológico do parasita. Entretanto, esses

animais geralmente apresentam baixos níveis de parasitemia, frequentemente associados a resultados negativos em hemoculturas. Assim, são considerados importantes sentinelas epidemiológicos da circulação de *T. cruzi*, uma vez que a infecção em cães pode indicar a presença de focos de transmissão e, em determinadas situações, preceder a ocorrência de casos humanos (Roque; Jansen, 2008; Xavier *et al.*, 2012).

Além disso, morcegos e triatomíneos podem compartilhar abrigos em ambientes urbanos e periurbanos, incluindo estruturas artificiais, como frestas e cavidades em edificações. Esse compartilhamento de micro-habitats favorece a proximidade entre hospedeiros e vetores e pode influenciar a dinâmica de transmissão dos tripanossomatídeos. Triatomíneos associados a colônias de morcegos podem alimentar-se oportunisticamente em diferentes hospedeiros, incluindo seres humanos, contribuindo potencialmente para a circulação desses parasitas em ambientes antropizados (Pinto *et al.*, 2015).

Apesar de o município de Bauru ser considerado área endêmica para leishmaniose, com registros da infecção em cães e seres humanos, não foi detectado DNA de *Leishmania* spp. nos morcegos analisados. Esse resultado contrasta com estudos realizados em outras áreas endêmicas, nos quais DNA de *Leishmania* spp. foi identificado em diferentes espécies de quirópteros, sugerindo que esses animais possam participar do ciclo epidemiológico da leishmaniose em determinados contextos ecológicos (Castro *et al.*, 2020; Torres *et al.*, 2024).

A ausência de detecção de *Leishmania* spp., mesmo em uma área endêmica, sugere que os morcegos avaliados podem não desempenhar papel relevante na manutenção local desse protozoário ou que a infecção ocorra em níveis inferiores ao limite de detecção da metodologia empregada. Deve-se considerar, ainda, que diferentes espécies de mamíferos podem participar da manutenção desses hemoflagelados na natureza, compondo, em uma determinada escala espaço-temporal, um conjunto dinâmico de hospedeiros com diferentes graus de competência para a transmissão (Roque; Jansen, 2014).

No caso específico de Bauru, as evidências disponíveis sugerem que a manutenção do ciclo urbano da leishmaniose esteja mais fortemente associada a outros mamíferos sinantrópicos. Além do cão doméstico, amplamente

reconhecido como o principal reservatório de *L. infantum* no Brasil, estudos realizados no município demonstraram elevadas taxas de infecção em marsupiais do gênero *Didelphis*, especialmente em áreas urbanas e periurbanas (Santiago *et al.*, 2007).

A alta frequência de infecção observada nesses marsupiais, aliada à sua capacidade de ocupar ambientes antrópicos e de interagir tanto com ambientes naturais quanto urbanos, sugere que esses animais possam atuar como importantes hospedeiros no ciclo local do parasita. Nesse contexto, *Didelphis* spp. podem desempenhar um papel relevante na conexão entre ciclos silvestres e urbanos de transmissão da leishmaniose (Santiago *et al.*, 2007).

Em relação à doença de Chagas, os resultados obtidos neste estudo são particularmente relevantes considerando que, embora não existam registros de casos agudos autóctones no município, foi evidenciada a circulação de *T. cruzi* em morcegos urbanos. Ainda que a competência reservatória dos quirópteros não tenha sido avaliada diretamente, a detecção do parasita em tecidos indica a exposição dos morcegos ao agente infeccioso.

A presença de focos naturais de *T. cruzi* em ambientes urbanos pode representar um risco potencial para a introdução ou manutenção da transmissão do parasita em ciclos domésticos, especialmente em cenários nos quais há interação entre fauna silvestre, vetores e populações humanas (Zingales; Macedo, 2023).

Nesse contexto, é importante destacar que os morcegos desempenham funções ecológicas fundamentais para a manutenção dos ecossistemas, atuando na polinização, dispersão de sementes e controle de populações de insetos, contribuindo de forma significativa para o equilíbrio dos ecossistemas naturais (Aguiar *et al.*, 2021; Kunz *et al.*, 2011).

Além de sua importância ecológica, os quirópteros compõem a fauna nativa brasileira e são protegidos por legislação ambiental. Entretanto, apesar de seu papel fundamental nos ecossistemas, esses animais são frequentemente associados a percepções negativas e a crenças populares equivocadas, especialmente devido à sua possível participação na epidemiologia de algumas doenças (Fenton; Ratcliffe, 2010).

Essa associação entre morcegos e doenças pode favorecer a estigmatização desses animais e estimular práticas de perseguição ou

eliminação, o que pode gerar impactos negativos para a conservação das espécies, sem necessariamente contribuir para a prevenção de zoonoses. Dessa forma, é fundamental evitar abordagens reducionistas que associem os morcegos exclusivamente à transmissão de agentes infecciosos. A compreensão do papel epidemiológico desses animais deve considerar a interdependência das interações entre parasitas, hospedeiros e o ambiente.

Os resultados do presente estudo devem ser interpretados sob a perspectiva da Saúde Única, abordagem que reconhece a interdependência entre a saúde humana, a saúde animal e a integridade dos ecossistemas. Nesse contexto, alterações antrópicas, como urbanização, fragmentação de habitats e mudanças no uso do solo, modificam as interações entre hospedeiros, vetores e agentes infecciosos, favorecendo o contato entre espécies silvestres, domésticas e humanas e aumentando o potencial de emergência e reemergência de zoonoses (Webster *et al.*, 2015).

Algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, a parasitemia dos quirópteros não foi quantificada, impossibilitando inferências sobre a intensidade da infecção e sobre o potencial desses animais como fontes de infecção para vetores hematófagos. Além disso, embora o gene 18S rRNA seja amplamente utilizado para identificação molecular e inferência filogenética de espécies de *Trypanosoma*, sua baixa variabilidade limita a discriminação inequívoca entre as diferentes DTUs de *T. cruzi*. Outro aspecto a ser considerado refere-se ao tamanho amostral relativamente reduzido e à limitação geográfica da amostragem, restrita ao ambiente urbano do município de Bauru. Estudos futuros envolvendo maior número de indivíduos, diferentes espécies de morcegos e áreas com distintos graus de conservação ambiental poderão contribuir para uma compreensão mais abrangente da dinâmica de circulação de tripanossomatídeos em quirópteros.

Por fim, os resultados deste estudo demonstram a circulação de tripanossomatídeos em morcegos urbanos da região de Bauru e ampliam o conhecimento sobre a diversidade de hospedeiros envolvidos na manutenção desses protozoários na natureza. Esses achados fornecem informações relevantes para a vigilância epidemiológica e reforçam a importância de abordagens integradas de monitoramento de zoonoses, considerando a

interface entre fauna silvestre, animais domésticos, vetores e populações humanas.

8 CONCLUSÕES

O presente estudo evidenciou a circulação de *T. cruzi* em quirópteros provenientes da zona urbana do município de Bauru (SP), demonstrando a exposição desses animais ao parasita e ampliando o conhecimento sobre a diversidade de espécies de morcegos naturalmente infectadas na região.

A detecção de *T. lainsoni* em *M. rufus* representa um novo registro desse tripanossomatídeo para essa espécie de hospedeiro e amplia sua distribuição geográfica conhecida para o estado de São Paulo.

Não foi detectado DNA de *Leishmania* spp. nas amostras analisadas, indicando ausência de evidências moleculares de infecção nos morcegos avaliados nas condições deste estudo.

A frequência de detecção molecular de tripanossomatídeos diferiu entre os tecidos analisados, com maior ocorrência no baço e no coração, indicando que esses tecidos constituem amostras promissoras para investigações moleculares em quirópteros.

Os resultados obtidos ampliam o conhecimento sobre a circulação de tripanossomatídeos em morcegos urbanos e fornecem subsídios para futuras investigações ecológicas e epidemiológicas, contribuindo para o aprimoramento da vigilância desses protozoários em populações de fauna silvestre.

9 REFERÊNCIAS

- ADL, S. M. *et al.* Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Hoboken, v. 66, n. 1, p. 44-119, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jeu.12691>. Acesso em: 1 out. 2024.
- ADL, S. M. *et al.* The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Hoboken, v. 52, n. 5, p. 399–451, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x>. Acesso em: 1 out. 2024.
- AGUIAR, L. M. S.; PEREIRA, M. J. R. Are we underestimating the threat status of Brazilian bats? **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, Rio de Janeiro, v. 85, p. 144-151, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/338171454_Are_we_underestimating_the_threat_status_of_Brazilian_bats. Acesso em: 20 ago. 2024.
- AKHOUNDI, M. *et al.* A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of leishmania parasites and sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. 1-40, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26937644/>. Acesso em: 20 nov. 2024.
- AKHOUNDI, M. *et al.* Leishmania infections: molecular targets and diagnosis, **Molecular Aspects of Medicine**, Oxford, v. 57, p. 1-29, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299716300450?via%3Dihub>. Acesso em: 20 nov. 2024.
- ALLOCATI, N. *et al.* Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. **Cell Death Discovery**, New York, v. 2, e16048, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.48>. Acesso em: 30 ago. 2024.
- ALVAR, J. Prefácio. In: RANGEL, E. F.; SHAW, J. J. (ed.) **Brazilians and flies: biology, taxonomy, medical importance and control**. Cham: Springer, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-75544-1>. Acesso em: 8 jan. 2025.
- ALVES, F. M. *et al.* Trypanosoma spp. Neobats: insights about those poorly known trypanosomatids. **International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 16, p. 145-152, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224421000961?via%3Dihub>. Acesso em: 14 abr. 2025.
- AÑEZ, N.; CRISANTE, G. The tissue specific tropism in *Trypanosoma cruzi*. Is it true? **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 213, p. 1-9, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X20316491?via%3Dihub>. Acesso em: 10 fev. 2026.
- AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; SORIANO, P. J. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 109, n. 1, p. 78-80, 2009. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X08002180?via%3Dihub>. Acesso em: 10 fev. 2026.

BANYARD, A. C. *et al.* Bat rabies. In: JACKSON, A. C. (org.). **Rabies: scientific basis of the disease and its management**. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 215-267. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123965479000067?via%3Dihub#s0010>. Acesso em: 28 ago. 2024.

BAURU. **Plano Municipal de Conservação e Recuperação da Mata Atlântica e do Cerrado**. Bauru, 2015. Disponível em:

https://www2.bauru.sp.gov.br/arquivos/arquivos_site/sec_meioambiente/plano_mata_atlantica.pdf. Acesso em: 15 jun. 2025.

BAURU. Prefeitura Municipal. **Bauru conheça a cidade**. Bauru, 2026. Disponível em: <https://www2.bauru.sp.gov.br/bauru.aspx?m=2>. Acesso em: 15 mar. 2026.

BELTZ, L. A. **Bats and human health: Ebola, SARS, rabies and beyond**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2018.

BERZUNZA-CRUZ, M. *et al.* *Leishmania (L.) mexicana* infected bats in Mexico: novel potential reservoirs. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 9, n. 4, p. 1-15, 2015. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003438>. Acesso em: 12 mar. 2025.

BOUCKAERT, R. *et al.* BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. **PLOS Computational Biology**, San Francisco, v. 10, n. 4, p. 1-6, 2014. Disponível em:

<https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1003537>. Acesso em: 10 fev. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doença de Chagas**. Brasília: Ministério da Saúde, 2026. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas>. Acesso em: 26 mar. 2026.

BRAY, D. P. *et al.* Haemoparasites of common shrews (*Sorex araneus*) in Northwest England. **Parasitology**, London, v. 134, n. 6, p. 819-826, 2007. Disponível em: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17288633/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

BREWSTER, S.; ASLETT, M.; BARKER, D. C. Kinetoplast DNA minicircle database. **Parasitology Today**, Barking, v. 14, n. 11, p. 437-438, 1998. Disponível em:

[https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S0169-4758\(98\)01330-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0169475898013301%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S0169-4758(98)01330-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0169475898013301%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 2 out. 2024.

BURGIN, C. J. *et al.* How many species of mammals are there? **Journal of Mammalogy**, Oxford, v. 99, n. 1, p. 1-14, 2018. Disponível em:

<https://academic.oup.com/jmammal/issue/99/1>. Acesso em: 20 ago. 2024.

CALISHER, C. H. *et al.* Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 19, n. 3, p. 531-545, 2006. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1539106/pdf/0017-06.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2024.

CASTELO-BRANCO, D. S. C. M. *et al.* Role of Brazilian bats in the epidemiological cycle of potentially zoonotic pathogens. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 177, e106032, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36804526/>. Acesso em: 25 set. 2024.

CASTRO, L. S. *et al.* Leishmania presence in bats in areas endemic for leishmaniasis in central West Brazil. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 11, p. 261-267, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224420300201?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr. 2025.

CAVAZZANA, M. *et al.* Phylogeographical, ecological and biological patterns shown by nuclear (ssrRNA and gGAPDH) and mitochondrial (Cyt b) genes of trypanosomes of the subgenus Schizotrypanum parasitic in Brazilian bats. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 40, n. 3, p. 345–355, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751909003701?via%3Dihub>. Acesso em: 10 mar. 2025.

COCHRAN, W. G. The comparison of percentages in matched samples. **Biometrika**, v. 37, n. 3-4, p. 256–266, 1950. Disponível em: <https://academic.oup.com/biomet/article-abstract/37/3-4/256/176193?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 01 jul. 2026.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. Leishmanioses: uma apresentação. *In*: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. (org.). **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. p. 53-67. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/dgkx2>. Acesso em: 10 out. 2024.

COTTONTAIL, V. M. *et al.* High local diversity of trypanosoma in a common bat species, and implications for the biogeography and taxonomy of the *T. cruzi* clade. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 9, p. 1-6, 2014. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0108603>. Acesso em 30 mar. 2025.

COURA, J. R. The mains ceneries of Chagas disease transmission. The vectors, bloodand oral transmissions - A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, p. 277-282, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25466622/>. Acesso em: 15 fev. 2025.

CUPOLILLO, E. *et al.* A revised classification for Leishmania and Endotrypanum. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 16, n. 4, p. 142-144, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10725899/>. Acesso em: 2 jan. 2025.

CUPOLILLO, E.; BOITÉ, M. C.; PORROZZI, R. Considerações sobre a Taxonomia do Gênero Leishmania. *In*: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. (org.). **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. p. 53-67. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/dgkx2>. Acesso em: 10 out. 2024.

D'AVILA-LEVY, C. M. *et al.* Exploring the environmental diversity of kinetoplastid flagellates in the high-throughput DNA sequencing era. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 8, p. 956–965, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/4sgPK9hCbsZvKLBBZR4LJRK/?lang=en>. Acesso em: 8 maio 2025.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, London, v. 2, p. 1-8, 2009. Supplement 1. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-2-S1-S1#citeas>. Acesso em: 6 jan. 2025.

DARIO, M. A. *et al.* Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). **Parasites & Vectors**, London, v. 9, n. 477, p. 1-14, 2016. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1754-4>. Acesso em: 30 mar. 2025.

DARIO, M. A. *et al.* Small subunit ribosomal metabarcoding reveals extraordinary trypanosomatid diversity in Brazilian bats. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 11, n. 7, p. 1-15, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005790>. Acesso em: 30 mar. 2025.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 78, n. 2, p. 103-116, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X00001790>. Acesso em: 10 ago. 2024.

DESQUESNES, M. *et al.* A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. **Parasites & Vectors**, London, v. 15, n. 64, p. 1–24, 2022. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-022-05190-1>. Acesso em: 15 mai. 2025.

DÍAZ, A. G. *et al.* A novel genotype and first record of *Trypanosoma lainsoni* in Argentina. **Pathogens**, Basel, v. 9, n. 9, p. 73, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/9/731>. Acesso em: 7 nov. 2025.

DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 7, n. 214, p. 1-8, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2148-7-214>. Acesso em: 10 fev. 2026.

DUNCAN, R. Advancing molecular diagnostics for trypanosomatid parasites. **The Journal of Molecular Diagnostics**, New York, v. 16, n. 4, p. 379–381, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24815378/>. Acesso em: 20 mai. 2025.

EDGAR, R. C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics**, London, v. 5, n. 13, p. 1-19, 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2105-5-113>. Acesso em: 5 fev. 2026.

ELLWANGER, J. H. *et al.* Beyond diversity loss and climate change: Impacts of Amazon deforestation on infectious diseases and public health. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 1, e20191375, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/frVhxyPq4NLCsKTZPJMzV8J/?lang=en>. Acesso em: 20 ago. 2024.

ESBÉRARD, C. E. L. Variação do tamanho de colônias de *Molossus molossus* e *Molossus rufus* no Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 6, n. 2, p. 71-77, 2011. Disponível em:

<https://revistas.unisinos.br/index.php/neotropical/article/view/nbc.2011.62.01>. Acesso em: 10 fev. 2026.

ESPINOSA, O. A. *et al.* An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**, London, v. 145, n. 4, p. 430-442, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27976601/>. Acesso em: 21 nov. 2024.

FAVORETTO, S. R. *et al.* The emergence of wildlife species as a source of human rabies infection in Brazil. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 141, n. 7, p. 1552-1561, 2013. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/emergence-of-wildlife-species-as-a-source-of-human-rabies-infection-in-brazil/DF11186A5ED8085C2189C64511D5A7D>. Acesso em: 30 ago. 2024.

FENTON, M. B.; RATCLIFFE, J. M. Bats. **Current Biology**, Cambridge, v. 20, n. 24, p. 1060-1062, 2010. Disponível em: [https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(10\)013011?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982210013011%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(10)013011?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982210013011%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 25 set. 2024.

FERMINO, B. R. *et al.* Field and experimental evidence of a new caiman trypanosome species closely phylogenetically related to fish trypanosomes and transmitted by leeches. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 368-378, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224415300195?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jan. 2025.

FILGUEIRA, C. P. B. *et al.* Comparison and clinical validation of qPCR assays targeting *Leishmania* 18S rDNA and HSP70 genes in patients with American Tegumentary Leishmaniasis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 14, n. 10, p. 1-18, 2020. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008750>. Acesso em: 20 maio 2025.

FOLGUEIRA, C.; REQUENA, J. M. A post-genomic view of the heat shock proteins in kinetoplastids. **FEMS Microbiology Reviews**, Binghamton, v. 31, n. 4, p. 359-377, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1574-6976.2007.00069.x?sid=nlm%3Apubmed>. Acesso em: 15 maio 2025.

FRAGA, J. *et al.* Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 10, n. 2, p. 238-245, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134809002573?via%3Dihub>. Acesso em: 21 nov. 2024.

FRANÇA, D. A. *et al.* *Trypanosoma cruzi* in bats (Chiroptera; Mammalia) from the Brazilian Atlantic Forest, São Paulo State. **Microorganisms**, Basel, v. 12, n. 5, p. 945, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/5/945>. Acesso em: 9 nov. 2025.

FRANZÉN, O. *et al.* Comparative genomic analysis of human infective *Trypanosoma cruzi* lineages with the bat-restricted subspecies *T. cruzi marinkellei*. **BMC Genomics**, London, v. 13, n. 531, p. 1-19, 2012. Disponível em:

<https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-13-531>. Acesso em: 28 mar. 2025.

FRICK, W. F.; PUECHMAILLE, S. J.; WILLIS, C. K. R. White-nose syndrome in bats. In: VOIGT, C. C.; KINGSTON, T. (org.). **Bats in the Anthropocene**: conservation of bats in a changing world. London: Springer Open, 2016. p. 245 – 262.

GARCÍA-MORENO, J. Zoonoses in a changing world. **BioScience**, Oxford, v. 73, n. 10, p. 711-720, 2023. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioscience/article/73/10/711/7279054>. Acesso em: 12 dez. 2025.

GÓMEZ-HERNÁNDEZ, C. *et al.* Leishmania infection in bats from a non-endemic region of Leishmaniasis in Brazil. **Parasitology**, London, v. 144, n. 14, p. 1-7, 2017. Acesso em: <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/leishmania-infection-in-bats-from-a-nonendemic-region-of-leishmaniasis-in-brazil/BD67E7DF38B051C44457A93BA9FA8596>. Disponível em: 15 mar. 2025.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. **Doença de Chagas**: dados estatísticos. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 2026a. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/chagas/dados-estatisticos>. Acesso em: 20 mar. 2026.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. **Leishmaniose cutânea**: dados estatísticos. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 2026b. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-cutanea/dados-estatisticos>. Acesso em: 20 mar. 2026.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. **Leishmaniose visceral**: dados estatísticos. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 2026c. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-visceral/>. Acesso em: 20 mar. 2026.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística. **Inventário da cobertura florestal nativa do Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, 2022. Disponível em: <https://indd.adobe.com/view/a5aba10f-0090-4109-ac1c-944c8260b1ff>. Acesso em: 15 jun. 2025.

HAMILTON, P. B. *et al.* The inadvertent introduction into Australia of *Trypanosoma nabiasi*, the trypanosome of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), and its potential for biocontrol. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, p. 3167-3175, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16101782/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

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**, San Diego, v. 44, n. 1, p. 15-

25, 2007. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1055790307000905>. Acesso em: 21 dez. 2024.

HAMILTON, P. B.; STEVENS, J. R. Classification and phylogeny of *Trypanosoma cruzi*. In: TELLERIA, J.; TIBAYRENC, M. (ed.). **American Trypanosomiasis, Chagas Disease**: one hundred years of research. London: Academic Press, 2017. p. 321-344. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128010297/american-trypanosomiasis-chagas-disease>. Acesso em: 21 dez. 2024.

HAMILTON, P. B.; TEIXEIRA, M. M. G.; STEVENS, J. R. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'batseeding' hypothesis. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 136-141, 2012. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S1471-4922\(12\)00018-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492212000189%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S1471-4922(12)00018-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492212000189%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 12 mar. 2025.

HAN, H. J. *et al.* Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. **Virus Research**, Amsterdam, v. 205, p. 1-6, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016817021500177X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2024.

HAO, X.; LU, Q.; ZHAO, H. A molecular phylogeny for all 21 families within Chiroptera (bats). **Integrative Zoology**, Richmond, v. 19, n. 5, p. 989-998, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1749-4877.12772>. Acesso em: 19 dez. 2025.

HARKINS, K. M. *et al.* Phylogenomic reconstruction supports supercontinente origins for *Leishmania*. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 38, p. 101-109, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134815300605?via%3Dihub>. Acesso em: 20 dez. 2024.

HARRIS, E. *et al.* Single-step multiplex PCR assay for characterization of New World *Leishmania* complexes. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n. 7, p. 1989-1995, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9650950/>. Acesso em: 20 jun 2025.

HERNÁNDEZ, C. *et al.* Identification of Six New World *Leishmania* species through the implementation of a High-Resolution Melting (HRM) genotyping assay. **Parasites & Vectors**, London, v. 7, n. 501, p. 1-7, 2014. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-014-0501-y#citeas>. Acesso em: 18 jun. 2025.

HOARE, C. A. Morphological and taxonomic studies on mammalian Trypanosomes. x. revision of the systematics. **The Journal of Protozoology**, New York, v. 11, n. 2, p. 200-207, 1964. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1550-7408.1964.tb01741.x>. Acesso em: 21 dez. 2024.

HOARE, C. A.; WALLACE, F. G. Developmental stages of Trypanosomatid flagellates: a new terminology. **Nature**, London, v. 212, p. 1385-1386, 1966. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/2121385a0>. Acesso em: 25 out. 2024.

HOLM, S. A simple sequentially rejective multiple test procedure. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 6, n. 2, p. 65–70, 1979. Disponível em: <https://www.ime.usp.br/~abe/lista/pdf4R8xPVzCnX.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2026.

HUTCHINSON, R.; STEVENS, J. R. Barcoding in trypanosomes. **Parasitology**, London, v. 145, n. 5, p. 563–573, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29168449/>. Acesso em: 20 maio 2025.

HUTSON, A. M.; MICKLEBURGH, S. P.; RACEY, P. A. **Microchiropteran bats**. Oxford: Information Press, 2001.

IBARRA-LÓPEZ, M. P. *et al.* Bat-associated *Trypanosoma* diversity, geographic extension of known clades, and predominance of *T. cruzi* TcIV in a conserved tropical forest of southeastern Mexico. **Parasitology Research**, v. 125, n. 60, p. 2-16, 2026. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-026-08670-w>. Acesso em: 7 mar. 2026.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo populacional de Bauru**. Cidades e estados: Bauru. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sp/bauru.html>. Acesso em: 12 jun. 2025.

JAKES, K. A.; O'DONOGHUE, P. J.; ADLARD, R. D. Phylogenetic relationships of *Trypanosoma chelodina* and *Trypanosoma binneyi* from Australian tortoises and platypuses inferred from small subunit rRNA analyses. **Parasitology**, London, v. 123, n. 5, p. 483-487, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11719959/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

JAMOVI PROJECT. jamovi. Versão 2.6. Sydney: The jamovi project, 2025. Disponível em: <https://www.jamovi.org/>. Acesso em: 7 mar. 2026.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. S.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most importante reservoir hosts in Brazil. **Parasites & Vectors**, London, v. 11, n. 1, p. 502, 2018. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3067-2>. Acesso em: 3 mar. 2025.

JARA, M. *et al.* Real-time PCR assay for detection and quantification of *Leishmania* (*Viannia*) organisms in skin and mucosal lesions: exploratory study of parasite load and clinical parameters. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 51, n. 6, p. 1826-1833, 2013. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3716068/>. Acesso em: 20 jun. 2025.

JONES, G. Echolocation. **Current Biology**, Cambridge, v. 15, n. 13, p. 484-488, 2005. Disponível em: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0960-9822%2805%2900686-X>. Acesso em: 15 ago. 2024.

JONES, G.; TEELING, E. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 21, n. 3, p. 149-156, 2006. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/ecology-evolution/abstract/S0169-5347\(06\)00021-8?cc=y](https://www.cell.com/trends/ecology-evolution/abstract/S0169-5347(06)00021-8?cc=y). Acesso em: 10 ago. 2024.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KARESH, W. B. *et al.* Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. **The Lancet**, London, v. 380, p. 1936-1945, 2012. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(12\)61678-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(12)61678-X/fulltext). Acesso em: 21 ago 2024.

KAUFER, A. *et al.* The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasites & Vectors**, London, v.10, p. 1-17, 2017. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2204-7>. Acesso em: 10 out. 2024

KEESING, F. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, London, v. 648, p. 647–652, 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature09575>. Acesso em: 21 ago. 2024.

KIRK, R. The differentiation and nomenclature of *Leishmania*. **Parasitology**, London, p. 263-273, 1949. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18112009/>. Acesso em: 10 dez. 2024.

KOSTYGOV, A. Y. *et al.* Euglenozoa: taxonomy, diversity and ecology, symbioses and viroses. **Open Biology**, London, v. 11, n. 3, p. 1-47, 2021. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200407>. Acesso em: 25 out. 2024

KUNZ, T. H. **Ecology of bats**. New York: Plenum Publishing Corporation, 1982.

KUNZ, T. H. Ecosystem services provided by bats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1223, n. 1, p. 1-38, 2011. Disponível em: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x>. Acesso em: 12 ago. 2024.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. (org.). **The leishmaniases in biology and medicine**. London: Academic Press, 1987. p. 1-120. Disponível em: <https://patua.iec.gov.br/items/1bcf6193-872d-4980-a5ed-43ab8e232534>. Acesso em: 20 nov. 2024.

LAMPO, M. *et al.* A possible role of bats as a blood source for the *Leishmania* vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 62, n. 6, p. 718–719, 2000. Disponível em: <https://ajtmh.org/view/journals/tpmd/62/6/article-p718.xml>. Acesso em: 25 mar. 2025.

LIMA, L. *et al.* 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. **Parasites & Vectors**, London, v. 8, n. 657, p. 1-18, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-015-1255-x>. Acesso em: 29 mar. 2025.

LIMA, M. A. *et al.* 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**, Jena, v. 163, n. 6, p. 856-872, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1434461011001301?via%3DiHub>. Acesso em: 30 mar. 2025.

LIMA, M. A. *et al.* Hidden diversity of Trypanosomatidae (Protozoa: Kinetoplastea) in bats from an urban park in Brazil. **PlosOne**, San Francisco, v. 20, n. 3, p. 1-12, 2025. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0319781>. Acesso em: 20 mar. 2025.

LIZUNDIA, R. *et al.* Evidence for a role of the host-specific flea (*Paraceras melis*) in the transmission of *Trypanosoma (Megatrypanum) pestanaei* to the European Badger. **PlosOne**, San Francisco, v. 6, n. 2, p. 1-8, 2011. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0016977> Acesso em: 10 jan. 2025.

MACEDO, A. M.; SEGATTO, M. Implications of *Trypanosoma cruzi* Intraspecific Diversity in the Pathogenesis of Chagas Disease. **American Trypanosomiasis**, p. 489-522, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780123848765000204?via%3Dihub>. Acesso em: 13 fev. 2026.

MADUREIRA, A. C. C. *et al.* Zoonotic trypanosomatids in small mammals at a wildlife-urban interface in southeastern Brazil: Implications for transmission risk. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 20, n. 3, p. 1-14, 2026. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0013455>. Acesso em: 20 mar. 2026.

MARCILI, A. *et al.* 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**, London, v. 136, n. 6, p. 641-655, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19368741/>. Acesso em: 15 abr. 2025.

MARINKELLE, C. J. Developmental stages of *Trypanosoma cruzi*-like flagellates in *Cavernicola pilosa*. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 30, n. 2, p. 107-111, 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6820697/>. Acesso em: 29 mar. 2025.

MCINNES, L. M. *et al.* Novel trypanosome *Trypanosoma gilletti* sp. (Euglenozoa: Trypanosomatidae) and the extension of the host range of *Trypanosoma copemani* include the koala (*Phascolarctos cinereus*). **Parasitology**, London, v. 138, n. 1, p. 59-70, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20663248/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

MCNEMAR, Q. Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. **Psychometrika**, v. 12, p. 153-157, 1947. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02295996>. Acesso em: 01 jul. 2026.

MICKLEBURGH, S. P.; HUTSON, A. M.; RACEY, P. A. **Old world fruit bats**: an action plan for their conservation. Oxford: Information Press, 1992.

MINTER-GOEDBLOED, E. *et al.* *Trypanosoma varani* and *T. grayi*-like trypanosomes: development in vitro and in insect hosts. **Parasitology Research**, Berlin, v. 79, p. 329-333, 1993. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00932190>. Acesso em: 15 jan. 2025.

MONTEIRO, E. F. *et al.* Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* from triatomine species in São Paulo State, an area free of vector-borne Chagas disease. **Insects**, Basel, v. 16, n. 2, p. 1-12. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/16/2/161>. Acesso em: 19 dez. 2025.

MOREIRA, D.; LÓPEZ-GARCÍA, P.; VICKERMAN, K. Na 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**, London, v. 54, n. 5, p. 1861–1875, 2004. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/54/5/1861.pdf?expires=1731448954&id=id&accname=guest&checksum=3754AEE94952978C83C2D2FFB66629C1>. Acesso em: 2 out. 2024.

NAIFF, R. D.; BARRETT, T. V. *Trypanosoma (Megatrypanum) lainsoni* n. sp. from *Mesomys hispidus* (Rodentia: Echimyidae) in Brazil: trypomastigotes described from experimentally infected laboratory mice. **Parasite**, Paris, v. 20, n. 51, p. 1-5, 2013. Disponível em: https://www.parasite-journal.org/articles/parasite/full_html/2013/01/parasite130033/parasite130033.html. Acesso em: 7 nov. 2025.

NANTES, W. A. G. *et al.* Trypanosomatid species in *Didelphis albiventris* from urban forest fragments. **Parasitology Research**, v. 120, p. 223–231, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-020-06921-y>. Acesso em: 7 nov. 2025.

NIELEBOCK, M. A. P. *et al.* Association between *Trypanosoma cruzi* DTU TcII and chronic Chagas disease clinical presentation and outcome in an urban cohort in Brazil. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33264350/>. Acesso em: 10 dez. 2025.

NOGUEIRA, M. *et al.* Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. **CheckList**, v. 10, n. 4, p. 808-821, 2014. Disponível em: <https://www.biotaxa.org/cl/article/view/10.4.808>. Acesso em: 19 ago. 2024.

NOYES, H. A. *et al.* A nested PCR for the ssrRNA gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma sp.* in wombats and kangaroos in Australia. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 331-339, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751998001672?via%3DiHub>. Acesso em: 30 jun. 2025.

NOYES, H. A. *et al.* Corrigendum to “A nested PCR for the ssrRNA gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma sp.* in wombats and kangaroos in Australia”. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 228, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10704607/>. Acesso em: 20 dez. 2025.

NUNES, H.; ROCHA, F. L.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Bats in urban areas of Brazil: roosts, food resources and parasites in disturbed environments. **Urban Ecosystems**, London, v. 20, p. 953–969, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11252-016-0632-3>. Acesso em: 7 nov. 2025.

OLIVEIRA, M. M. *et al.* Prevalence of *Trypanosoma lainsoni* and its effects of parasitismo on the health of non-volant small mammals from the Brazilian Cerrado. **Parasitology Research**, v. 122, p. 1509–1518, 2023. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-023-07851-1>. Acesso em: 07 nov. 2025.

ORTIZ, P. A. *et al.* 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**, Amsterdam, v. 62, p. 380-390, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134817303052?via%3DiHub>. Acesso em: 05 jan. 2025.

PACHECO, R. S.; CARVALHO-COSTA, F. A. Diversidade Genética em Parasitos do Gênero *Leishmania*: uma abordagem molecular. *In*: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. (org.). **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. p. 53-67. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/dgkx2>. Acesso em: 10 out. 2024.

PAHO. **Neglected tropical and vector-borne diseases**. Washington: Pan American Health Organization, 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/neglected-tropical-and-vector-borne-diseases>. Acesso em: 26 mar. 2025.

PALLOTTA, F. P. Bauru e a sua úlcera: a estrada de ferro Noroeste do Brasil – NOB – e as condições sanitárias da cidade sob o olhar da imprensa (1916 e 1930). *In*: CONGRESSO LUSO-BRASILEIRO DE HISTÓRIA DA MEDICINA TROPICAL, 5., 2024, Lisboa. **Anais** [...] Lisboa, 2024. p. 91-101. Disponível em: <https://anaisihmt.com/index.php/ihmt/article/view/481>. Acesso em: 20 jun. 2025.

PINTO, C. M. *et al.* Bats, trypanosomes, and triatomines in Ecuador: new insights into the diversity, transmission, and origins of *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 10, p. 1-13, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0139999>. Acesso em: 30 mar. 2025.

PINTO, C. M. *et al.* TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 12, n. 6, p. 1328-1332, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134812001451?via%3DiHub>. Acesso em: 30 mar. 2025.

PLOWRIGHT, R. K. *et al.* Ecological dynamics of emerging bat vírus spillover. **Proceedings of the Royal Society. B**, London, v. 282, n. 1798, p. 1-9, 2014. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2014.2124>. Acesso em: 31 ago. 2024.

RAMÍREZ, J. D. *et al.* First report of *hTrypanosoma cruzi* infection attributed to TcBat genotype. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 61, n. 7, p. 477-479, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/zph.12094>. Acesso em: 18 fev. 2025.

RAMÍREZ, J. D. *et al.* Trypanosome species in neo-tropical bats: biological, evolutionary and epidemiological implications. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 22, p. 250–256, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134813002475?via%3DiHub>. Acesso em: 20 mar. 2025.

REIMANN, M. M. *et al.* Oral and intragastric: new routes of infection by *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum*? **Pathogens**, Basel, v. 11, n. 6, p. 1-13, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/11/6/688>. Acesso em: 15 abr. 2025.

REIS, N. R. *et al.* **História natural dos morcegos brasileiros**: chave de identificação de espécies. Rio de Janeiro: Technical Books, 2017.

REIS, N. R. *et al.* **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. Disponível em: http://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Morcegos_do_Brasil.pdf. Acesso em: 20 ago. 2024.

REIS, N. R.; LIMA, I. P.; PERACCHI, A. L. Morcegos (Chiroptera) da área urbana de Londrina, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 19, n. 3, p. 739-746, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbzool/a/CTxMNqHwPh5vTGQ9s3JgGnk/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 13 ago. 2024.

REY, L. **Parasitologia**: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RODRIGUES, A. C. *et al.* Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* And related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, London, v. 132, n. 2, p. 215-224, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16197590/>. Acesso em: 15 jan. 2025.

RODRIGUES, M. S. *et al.* Uncovering Trypanosoma spp. diversity of wild mammals by the use of DNA from blood clots. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 8, p. 171-181, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221322441830186X?via%3Dihub>. Acesso em: 7 nov. 2025.

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**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 191-193, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284534365_Importancia_dos_animais_domesticos_sentinelas_na_identificacao_de_areas_de_risco_de_emergencia_de_doenca_de_Chagas. Acesso em: 20 nov. 2025.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 251-262, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224414000273?via%3Dihub>. Acesso em: 06 jan. 2025.

SANTIAGO, M. E. B. *et al.* An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 150, n. 4, p. 283-290, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401707005298?via%3Dihub>. Acesso em: 10 dez. 2025.

SAVANI, E. S. M. M. *et al.* Detection of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in Brazilian bats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 168, n. 1-2, p. 5-10, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401709006682?via%3DiHub>. Acesso em: 10 abr. 2025.

SHAPIRO, J. T. *et al.* First record of *Leishmania braziliensis* presence detected in bats, Mato Grosso do Sul, southwest Brazil. **Acta Tropica**, v. 128, n. 1, p. 171-174, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X13001848?via%3DiHub>. Acesso em: 13 abr. 2025.

SCHMITZ, J. E. *et al.* Forty years of molecular diagnostics for infectious diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 60, n. 10, p. 1-17, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35852340/>. Acesso em: 1 jun. 2025.

SCHÖNIAN, G. *et al.* Genetic heterogeneity in the species *Leishmania tropica* revealed by different PCR-based methods. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 95, n. 2, p. 217-224, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0035920301901737>. Acesso em: 20 jun. 2025.

SILVA, C. G. *et al.* Ultraestrutura de parasitos do gênero *Leishmania*. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. (org.). **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. p. 53-67. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/dgkx2>. Acesso em: 10 out. 2024.

SILVA, R. A.; TONIETTI, V. B.; ELEUTÉRIO, M. R. J. Infecção por *Trypanosoma cruzi* em triatomíneos do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Health Review**, São José dos Pinhais, v. 2, n. 4, p. 3446–3453, 2019. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/2388/ojs/index.php/BJHR/article/view/2388>. Acesso em: 19 dez. 2025.

SILVA-DOS-SANTOS, D. *et al.* Unraveling Chagas disease transmission through the oral route: gateways to *Trypanosoma cruzi* infection and target tissues. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 11, n. 4, p. 1-26, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005507>. Acesso em: 10 fev. 2026.

SIMPSON, A. G. B.; STEVENS, J. R.; LUKES, J. The Evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 168-174, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S147149220600050X>. Acesso em: 20 out. 2024

SIMPSON, L. The mitochondrial genome of Kinetoplastid protozoa: Genomic organization, transcription, replication, and evolution. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 41, p. 363-382, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2825587/>. Acesso em: 2 out. 2024.

SOLARI, S.; SOTERO-CAIO, C. G.; BAKER, R. J. Advances in systematics of bats: towards a consensus on species delimitation and classifications through integrative taxonomy. **Journal of Mammalogy**, Oxford, v. 100, n. 3, p. 838–851, 2019. Disponível

em: <https://academic.oup.com/jmammal/article-abstract/100/3/838/5498013?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 20 dez. 2025.

SPEERS, D. J. Clinical applicationsof molecular biology for infectious diseases. **Clinical Biochemistry Reviews**, Alexandria, v. 27, n. 1, p. 39–51, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16886046/>. Acesso em: 15 mai. 2025.

SPRINGER, M. S. *et al.* Integrated fóssil and molecular data reconstruct at echolocation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 11, p. 6241–6246, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC33452/pdf/pq006241.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2024.

STEVENS, J. R.; GIBSON, W. The molecular evolution of Trypanosomes. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 15, n.11, p. 432-437, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10511684/>. Acesso em: 21 dez. 2024

STUART, K. Kinetoplastdna, mitochondrial DNA with a difference. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 93-104, 1983. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0166685183901032>. Acesso em: 3 out. 2024.

TAYLOR, M. L. *et al.* Environmental conditions favoring bat infection with *Histoplasma capsulatum* in mexican shelters. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore., v. 61, n. 6, p. 914–919, 1999. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/61/6/article-p914.xml>. Acesso em: 24 set. 2024

TAZERJI, S. S. *et al.* An overview of anthropogenic actions as drivers for emerging and re-emerging zoonotic diseases. **Pathogens**, Basel, v. 11, n. 11, p. 1-26, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/11/11/1376>. Acesso em: 15 dez. 2024.

TEELING, E. C. *et al.* Molecular evidence regarding the origin of echolocation and fight in bats. **Nature**, London, v. 403. p. 188–192, 2000. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/35003188#citeas>. Acesso em: 15 ago. 2024.

TEODORO, L. M. *et al.* Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em cavernas ferruginosas do estado do Pará, Brasil. *In*: ZAMPAULO, R. A. (org.). CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 35, 2019, Bonito. **Anais [...]** Campinas, 2019. p. 770-774. Disponível em: http://www.cavernas.org.br/anais35cbe/35cbe_770-774.pdf. Acesso em: 15 abr. 2025.

TORRES, J. M. *et al.* Trypanosomatid diversity in a bat community of na urban area in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 118, p. 1-9, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134824000145?via%3Dihub>. Acesso em: 25 mar. 2025.

TUTTLE, M. D. Threats to bats and educational challenges. *In*: ADAMS, R. A.; PEDERSEN, S. C. (org.). **Bat evolution, ecology, and conservation**. New York: Springer, 2013. p. 363-391.

VAN EYS, G. J. J. M. *et al.* Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 51, n. 1, p. 133-142, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0166685192902082?via%3Dihub>. Acesso em: 3 jun. 2025.

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 8, p. 1317-1331, 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0020751994901988>. Acesso em: 5 out. 2024.

VIOLA, L. B. *et al.* Evolutionary history of trypanosomes from South American caiman (*Caiman yacare*) and African crocodiles inferred by phylogenetic analyses using SSU rDNA and gGAPDH genes. **Parasitology**, London, v. 136, n. 1, p. 55-65, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18980702/>. Acesso em: 15 jan. 2025.

VIZOTTO, L. D.; TADDEI, V. A. **Chave para determinação de quirópteros brasileiros**. São José do Rio Preto: Boletim de Ciências, 1973.

VOTÝPKA, J.; LUKES, J.; OBORNÍK, M. Phylogenetic relationship of *Trypanosoma corvi* with other avian trypanosomes. **Acta Protozoologica**, Warsaw, v. 43, p. 225-231, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/241059112_Phylogenetic_Relationship_of_Trypanosoma_corvi_with_Other_Avian_Trypanosomes. Acesso em: 15 jan. 2025.

WEBSTER, J. P. *et al.* One health – an ecological and evolutionary framework for tackling neglected zoonotic diseases. **Evolutionary Applications**, Oxford, v. 9, n. 2, p. 313-333, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eva.12341>. Acesso em: 10 fev. 2026.

WHEELER, R. J.; GLUENZ, E.; GULL, K. The limits on trypanosomatid morphological diversity. **PlosOne**, San Francisco, v. 8, n. 11, p. 1-18. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079581>. Acesso em 10 out. 2024.

WHO. **Emerging zoonotic diseases and the one health approach**: an overview. Geneva: World Health Organization, 2023. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/risk-comms-updates/epi_win_digest_4_one-health.pdf?sfvrsn=b9feef83_2&download=true#:~:text=A%20One%20Health%20approach%20to,air%2C%20safe%20and%20nutritious%20food%2C. Acesso em: 10 ago. 2024.

WHO. **Joint WHO/FAO Expert Committee on Zoonoses [meeting held in Stockholm from 11 to 16 August 1958]**: second report. Geneva: World Health Organization, 1959. (Relatório de reunião científica). Disponível em: <https://iris.who.int/items/097bf421-6905-44a6-b91f-7b854630b9fc>. Acesso em: 19 dez. 2025.

WHO. **Neglected tropical diseases**. Geneva: World Health Organization, 2025. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 15 ago. 2024.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. Paris: WOAH, 2021. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/>. Acesso em: 10 maio 2025.

XAVIER, S. C. C. *et al.* Lower richness of small wild mammal species and Chagas disease risk. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 5, p. 1-11, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22616021/>. Acesso em: 11 dez. 2025.

YURCHENKO, V.; BUTENKO, A.; KOSTYGOV, A. Y. Genomics of Trypanosomatidae: where we stand and what needs to be done? **Pathogens**, Basel, v. 10, n. 9, p. 1-15, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/9/1124>. Acesso em: 20 out. 2024

ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi*: um parasita, dois parasitas ou vários parasitas da doença de Chagas? **Revista da Biologia**, São Paulo, v. 6, p. 44-48, 2011. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revbiologia/article/view/114812>. Acesso em: 22 mar. 2025.

ZINGALES, B.; MACEDO, A. M. Fifteen years after the definition of *Trypanosoma cruzi* DTUs: what have we learned? **Life**, Basel, v. 13, n. 12, p. 1-27, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-1729/13/12/2339>. Acesso em: 2 abr. 2025.

ZINGALES, B. *et al.* The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 12, n. 2, p. 240-253, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134811004564?via%3Dihub>. Acesso em: 2 mar. 2025.

TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho científico elaborado de acordo com as normas da revista EcoHealth (Springer Nature).

Trypanosomatids in urban bats from southeastern Brazil: molecular detection, host diversity, and One Health implications

Maisa Jampauli Bernardes¹²³, Larissa Pereira Rodrigues¹³, Catharina Eulasya Viana Resende¹³, Talita Roberto Aleixo Almeida³, Benedito Donizete Menozzi⁴, Helio Langoni⁴, Lúgia Souza Lima Silveira da Mota¹³

¹ Graduate Program in Wild Animals, School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

² Bauru Municipal Zoo, Bauru, São Paulo, Brazil

³ Department of Genetics, Microbiology and Immunology, Institute of Biosciences (IBB), São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

⁴ Department of Animal Production and Preventive Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

Corresponding author

Maisa Jampauli Bernardes

Graduate Program in Wild Animals

São Paulo State University (UNESP)

Botucatu, SP, Brazil

E-mail: maisajampauli@unesp.br

ABSTRACT

Environmental changes associated with urbanization increase interactions among wildlife, domestic animals, and humans, creating opportunities for the circulation of infectious agents. In this context, this study investigated the occurrence of trypanosomatids in bats from the urban area of Bauru, São Paulo State, southeastern Brazil, and molecularly characterized the detected parasites. Fifty bats obtained through the municipal rabies surveillance program were analyzed. Liver, spleen, heart, and skin samples were subjected to DNA extraction and molecular detection of trypanosomatids by Nested PCR targeting the 18S rRNA gene. Positive amplicons were sequenced using the Sanger method and subjected to molecular identification and phylogenetic analysis. Additionally, conventional PCR targeting the HSP70 gene was performed for the specific detection of *Leishmania* spp. Trypanosomatid DNA was detected in 18 of the 50 bats analyzed (36.0%). Sequence analysis identified *Trypanosoma cruzi* in 32 of the 33 sequences obtained (96.97%), whereas one sequence (3.03%) corresponded to *Trypanosoma lainsoni*. No *Leishmania* spp. DNA was detected. A significant overall difference in trypanosomatid detection was observed among the analyzed tissues, with the highest detection frequencies occurring in the spleen and heart. Furthermore, 61.1% of the positive bats presented parasite DNA in more than one tissue. The detection of *Trypanosoma cruzi* in several bat species, together with the first record of *Trypanosoma lainsoni* in *Molossus rufus* and in São Paulo State, expands current knowledge on the host range and geographic distribution of these parasites. These findings improve our understanding of trypanosomatid circulation in urban bat populations and provide relevant information for future ecological and epidemiological investigations within a One Health approach.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma lainsoni*; bats; wildlife; One Health.

INTRODUCTION

Anthropogenic environmental changes have been increasingly associated with the emergence and reemergence of infectious diseases affecting humans,

domestic animals, and wildlife (Daszak *et al.* 2001). Zoonotic diseases account for a substantial proportion of these infections and represent a major global public health challenge (Karesh *et al.* 2012; WHO 2020). Factors such as agricultural expansion, biodiversity loss, climate change, livestock intensification, and urbanization have intensified the interface among wildlife, domestic animals, and humans, creating new opportunities for pathogen transmission (Karesh *et al.* 2012; García-Moreno 2023; WHO 2023).

Among the infectious agents involved in these processes, protozoa of the family Trypanosomatidae deserve particular attention because of their broad geographic distribution, remarkable host diversity, and public health importance. *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease, is maintained through complex transmission cycles involving numerous wildlife reservoirs and hematophagous vectors (Jansen *et al.* 2018). Originally restricted to enzootic cycles among wild mammals, Chagas disease became an important zoonosis following environmental changes that favored the adaptation of triatomine vectors to domestic environments (Zingales 2011). Today, it is recognized as one of the major neglected tropical diseases in the Americas (PAHO 2021; WHO 2026). In addition to *T. cruzi*, species of the genus *Leishmania* are also of considerable medical and epidemiological importance, particularly in regions undergoing urbanization and environmental changes that influence the distribution of vectors and reservoir hosts (Pacheco and Carvalho-Costa 2014).

Bats (order Chiroptera) are recognized as important hosts of a wide diversity of microorganisms, including trypanosomatids. Their ecological and behavioral characteristics, such as high mobility, gregarious behavior, long lifespan, and the ability of many species to exploit anthropized environments, may facilitate both the maintenance and dispersal of infectious agents (Calisher *et al.* 2006).

In Brazil, molecular studies have detected DNA of different trypanosomatid species in bats inhabiting a wide range of environments, including urban areas, suggesting that these mammals participate in the natural transmission cycles of these protozoa (Cavazzana *et al.* 2010; Savani *et al.* 2010; Dario *et al.* 2017; Gómez-Hernández *et al.* 2017; Castro *et al.* 2020; Torres *et al.* 2024). However, information on the circulation of trypanosomatids in bats from urban areas of inland São Paulo State remains limited, particularly in municipalities undergoing

intense anthropogenic pressure and considered relevant for zoonotic disease surveillance. This knowledge gap is especially important in cities where wildlife increasingly occupies urban landscapes and frequently interacts with domestic animals and human populations.

Within this context, the One Health approach has become fundamental for understanding the complex interactions among environmental changes, wildlife, domestic animals, vectors, and humans. Investigating the circulation of trypanosomatids in urban bats contributes to this integrative perspective by improving our understanding of how urbanization influences host–parasite interactions and the ecology of infectious diseases. Such information is essential for supporting wildlife disease surveillance and developing evidence-based strategies for the prevention and control of zoonotic diseases in anthropized environments.

Given this scenario, the present study investigated the occurrence of trypanosomatids in bats from the urban area of the municipality of Bauru, southeastern Brazil, and molecularly characterized the detected parasites. We hypothesized that urban bats are exposed to trypanosomatids circulating in anthropized environments, reflecting the circulation of these parasites at the wildlife–urban interface.

MATERIALS AND METHODS

Study area and sampling

The municipality of Bauru is located in the central-western region of São Paulo State, southeastern Brazil, within a transition zone between the Cerrado and the Seasonal Semideciduous Atlantic Forest. Native vegetation remnants are highly fragmented as a consequence of agricultural expansion and urbanization over recent decades (Bauru 2015). From an epidemiological perspective, the municipality is endemic for both visceral and cutaneous leishmaniasis, whereas no autochthonous cases of acute Chagas disease have been reported (São Paulo 2026a, b, c). The location of the study area is shown in Figure 1.



Figure 1. Illustrative map showing the location of São Paulo State in Brazil and a detailed view of the study area. The figure was generated with the aid of artificial intelligence tools and subsequently reviewed and edited by the authors.

A total of 50 bats collected between January and December 2024 were included in this study. The specimens were obtained through the Environmental Surveillance Service of the municipality of Bauru, which routinely collects dead or moribund bats found in urban areas as part of the municipal rabies surveillance program.

Species identification was based on external morphological characteristics using the taxonomic keys proposed by Vizotto and Taddei (1973) and Reis *et al.* (2007, 2017). Information on rabies diagnosis and records of contact with domestic animals were obtained from the Environmental Surveillance Service database.

Ethical approval

This study was approved by the Animal Ethics Committee of the School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Botucatu campus (CEUA protocol No. 514/2023), by the Brazilian Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO permit No. 90179-1), and by the Scientific Committee of the Municipal Health Department of Bauru.

DNA extraction and molecular detection

Liver, spleen, heart, and skin samples were aseptically collected from each bat, totaling 200 tissue samples. Genomic DNA was individually extracted using the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. DNA concentration and purity were assessed using a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Trypanosomatid DNA was detected by Nested PCR targeting the 18S rRNA gene using the primers described by Noyes *et al.* (1999, 2000). *Leishmania* spp. DNA was investigated by conventional PCR targeting the HSP70 gene according to Hernández *et al.* (2014). Positive controls consisting of *T. cruzi* DNA and *Leishmania infantum* DNA, as well as a negative control, were included in all PCR assays.

Amplified products were resolved by electrophoresis on 1.5% agarose gels stained with GelRed®. Positive amplicons were purified using the Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Chicago, IL, USA) and sequenced in both directions using the Sanger method.

Sequence analysis and phylogenetic reconstruction

The obtained sequences were edited and assembled into consensus sequences before being compared with reference sequences available in GenBank (NCBI) using the BLAST algorithm. Phylogenetic reconstruction was performed under a Bayesian framework using BEAST 2 (Bouckaert *et al.* 2014). Thirty-two sequences generated in the present study, together with representative reference sequences retrieved from GenBank, were included in the analysis. *Leishmania major* (GenBank accession no. FN677342.1) was used as the outgroup. The maximum clade credibility tree was generated using TreeAnnotator and visualized in FigTree version 1.3.1.

Statistical analysis

A bat was considered positive when at least one of the four analyzed tissues yielded amplification of trypanosomatid DNA. Associations between trypanosomatid detection and bat family or feeding guild were evaluated using Fisher's exact test.

Differences in trypanosomatid detection among the four tissues were assessed using Cochran's Q test, which is appropriate for paired binary data. When significant overall differences were detected, pairwise comparisons were performed using McNemar's exact test with Holm's adjustment for multiple comparisons.

Among bats positive for trypanosomatids, detection frequencies were calculated for each tissue. Pairwise odds ratios (OR) were estimated to compare the likelihood of molecular detection between tissues, and the distribution of the number of positive tissues per individual was evaluated descriptively.

Additionally, trypanosomatid positivity was calculated for each bat species. Because several species were represented by a small number of individuals, bat genera were grouped for further analysis. A univariate binary logistic regression model was fitted to estimate the association between grouped bat genera and trypanosomatid detection, and OR with 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated.

All statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 10 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) and jamovi version 2.7 (The jamovi Project 2025). Statistical significance was established at $p < 0.05$.

RESULTS

A total of 50 bats collected in the urban area of Bauru, São Paulo State, southeastern Brazil, were analyzed. The sampled individuals belonged to 13 species distributed among three families of the order Chiroptera: Molossidae, Vespertilionidae, and Phyllostomidae. Molossidae was the predominant family, comprising 76.0% (38/50) of the sampled bats. The most abundant species were *Molossus molossus* (32.0%), *Eumops glaucinus* (12.0%), *Molossus rufus* (12.0%), and *Eumops auripendulus* (10.0%). Overall, insectivorous bats accounted for 92.0% of the sample, whereas frugivorous species represented 8.0% (Table 1).

Table 1. Species composition and ecological characteristics of bats sampled in the urban area of Bauru, São Paulo State, Brazil, between January and December 2024.

Species	Family	Feeding habit	Number of individuals	Relative abundance (%)
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	Insectivorous	16	32
<i>Eumops glaucinus</i>	Molossidae	Insectivorous	6	12
<i>Molossus rufus</i>	Molossidae	Insectivorous	6	12
<i>Eumops auripendulus</i>	Molossidae	Insectivorous	5	10
<i>Tadarida brasiliensis</i>	Molossidae	Insectivorous	3	6
<i>Eumops perotis</i>	Molossidae	Insectivorous	2	4
<i>Lasiurus cinereus</i>	Vespertilionidae	Insectivorous	2	4
<i>Myotis nigricans</i>	Vespertilionidae	Insectivorous	3	6
<i>Histiotus velatus</i>	Vespertilionidae	Insectivorous	1	2
<i>Eptesicus</i> sp.	Vespertilionidae	Insectivorous	1	2
<i>Histiotus montanus</i>	Vespertilionidae	Insectivorous	1	2
<i>Artibeus lituratus</i>	Phyllostomidae	Frugivorous	2	4
<i>Carollia perspicillata</i>	Phyllostomidae	Frugivorous	2	4
Total	-	-	50	100

Among the 50 bats analyzed, 15 (30.0%) had documented contact with domestic animals (dogs or cats) according to the records of the Municipal Environmental Surveillance Service. Rabies virus infection was confirmed in two individuals (4.0%), corresponding to one *E. auripendulus* and one *Histiotus montanus*. Both bats were collected in residential areas and had documented contact with domestic animals.

Trypanosomatid DNA was detected in 18 of the 50 bats analyzed (36.0%) by Nested PCR targeting the 18S rRNA gene. Among these positive individuals, 72 tissue samples (liver, spleen, heart, and skin) were examined, of which 33

showed positive amplification. Electrophoresis revealed amplicons of approximately 650 bp, corresponding to the expected fragment (Figure 2).

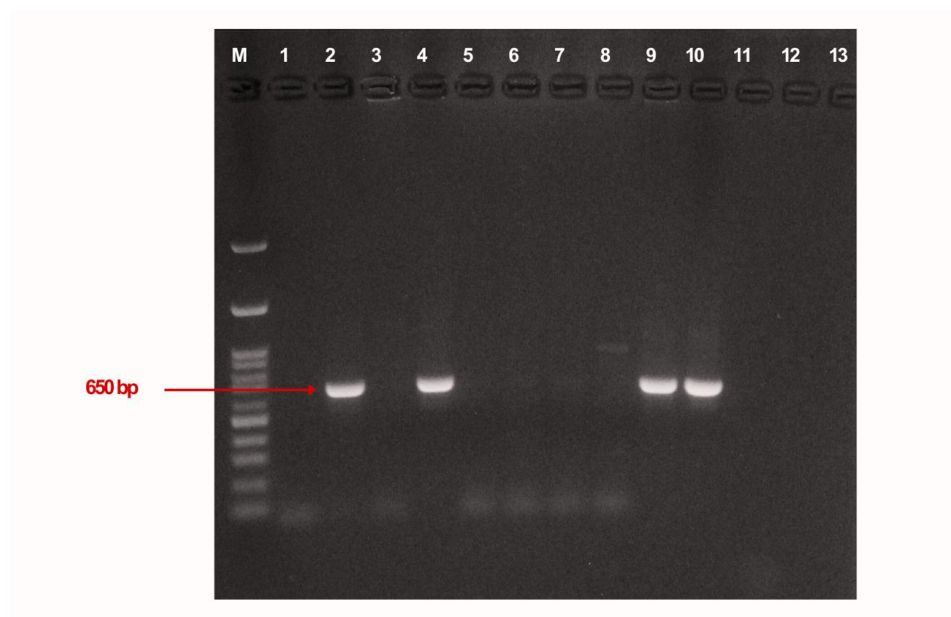


Figure 2. Electrophoresis on 1.5% agarose gel of Nested PCR products for detection of trypanosomatids by amplification of a fragment of the 18S rRNA gene using the internal primers SSU561F and SSU561R. M: 100 bp molecular weight marker (Class Five® 100 bp DNA Ladder); 1: negative control; 2: positive control; 3–13: bat tissue samples. The arrow indicates the expected amplicon of approximately 650 bp.

Considering all 200 tissue samples analyzed, trypanosomatid DNA was detected in 33 (16.5%). Detection frequencies differed significantly among the four tissues (Cochran's $Q = 11.56$, $df = 3$, $p = 0.009$). The spleen showed the highest detection frequency (26.0%), followed by the heart (22.0%), liver (10.0%), and skin (8.0%) (Table 2). However, pairwise comparisons performed using McNemar's exact test with Holm adjustment did not reveal statistically significant differences between any tissue pairs (adjusted $p > 0.05$).

Table 2. Detection of trypanosomatid DNA according to tissue type in bats from the urban area of Bauru, São Paulo State, Brazil.

Tissue	Positive	Negative	Total	Prevalence (%)
Spleen	13	37	50	26.0
Heart	11	39	50	22.0
Liver	5	45	50	10.0
Skin	4	46	50	8.0
Total	33	167	200	16.5

Among the 18 positive bats, trypanosomatid DNA was most frequently detected in the spleen (72.2%), followed by the heart (61.1%), liver (27.8%), and skin (22.2%). OR analyses indicated higher odds of molecular detection in the spleen than in the liver (OR = 3.16) and skin (OR = 4.03), whereas detection odds were similar between the spleen and heart (OR = 1.26). Furthermore, 11 of the 18 positive bats (61.1%) showed trypanosomatid DNA in more than one tissue, indicating frequent multitissue detection.

The distribution of trypanosomatid-positive bats according to family, genus, and species is presented in Table 3. Of the 18 positive bats, 16 (88.9%) belonged to the family Molossidae and two (11.1%) to Phyllostomidae, whereas no positive individuals were detected in Vespertilionidae. Although no statistically significant association was detected between bat family and trypanosomatid detection (Fisher's exact test, $p = 0.050$), most positive bats belonged to Molossidae.

Table 3. Distribution of bats positive for trypanosomatid DNA according to family, genus, and species in the urban area of Bauru, São Paulo State, Brazil.

Family	Genus	Species	Positive	Relative frequency (%)
Molossidae	<i>Molossus</i>	<i>Molossus molossus</i>	5	27.8
Molossidae	<i>Molossus</i>	<i>Molossus rufus</i>	2	11.1
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops auripendulus</i>	4	22.2
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops glaucinus</i>	2	11.1
Molossidae	<i>Eumops</i>	<i>Eumops perotis</i>	2	11.1
Molossidae	<i>Tadarida</i>	<i>Tadarida brasiliensis</i>	1	5.6
Phyllostomidae	<i>Artibeus</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	1	5.6

Phyllostomidae	<i>Carollia</i>	<i>Carollia perspicillata</i>	1	5.6
Total	-	-	18	100.0

The genera *Eumops* (44.4%) and *Molossus* (38.9%) together accounted for 83.3% of all positive bats. Among the species, *M. molossus* (27.8%) and *E. auripendulus* (22.2%) were the most frequently infected. High positivity rates were observed for *E. perotis* (100.0%; 2/2) and *E. auripendulus* (80.0%; 4/5), although these estimates were based on small sample sizes.

Grouping individuals by genus, univariate logistic regression indicated higher odds of trypanosomatid detection in *Eumops* than in *Molossus* (OR = 3.43; 95% CI: 0.82–14.37; $p = 0.092$), although the association was not statistically significant. The remaining genera presented lower odds of detection than *Molossus* (OR = 0.54; 95% CI: 0.11–2.53; $p = 0.430$).

Regarding feeding guild, 16 positive bats (88.9%) were insectivorous and two (11.1%) were frugivorous. No significant association was observed between feeding guild and trypanosomatid detection (Fisher's exact test, $p = 0.600$).

No *Leishmania* spp. DNA was detected in any of the analyzed samples by PCR targeting the HSP70 gene. Amplification was observed only in the positive control, confirming the performance of the assay (Figure 3).

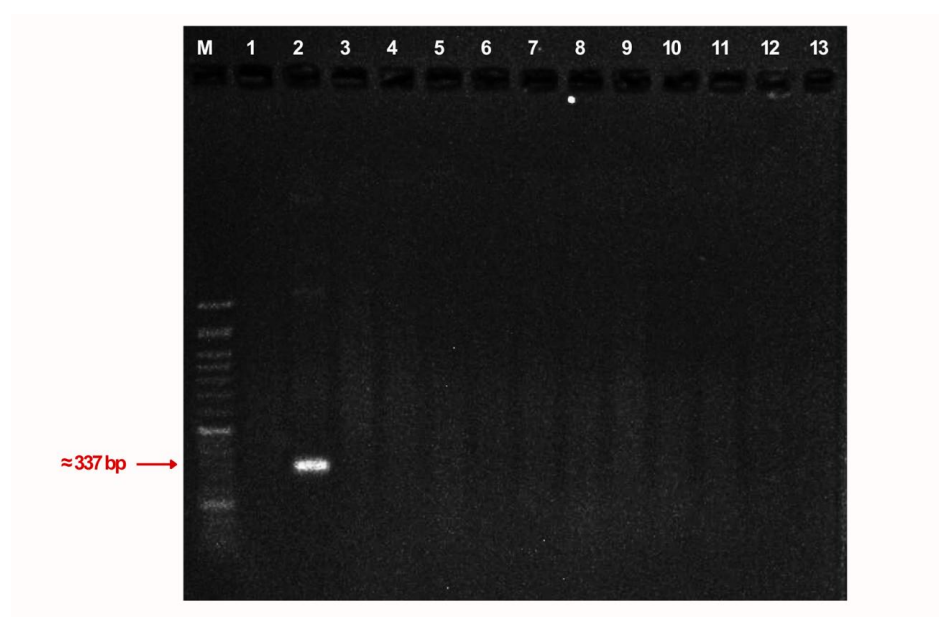


Figure 3. Electrophoresis on 1.5% agarose gel of conventional PCR products targeting the HSP70 gene of *Leishmania* spp. M: 100 bp molecular weight marker (Class Five® 100 bp DNA Ladder); lane 1: negative control; lane 2: positive control; lanes 3–13: bat tissue samples. The arrow indicates the expected amplicon of approximately 337 bp.

Sequence analysis revealed high nucleotide similarity (>98%) with reference trypanosomatid sequences deposited in GenBank. Of the 33 sequences analyzed, 32 (96.97%) were identified as *T. cruzi*, whereas one sequence (3.03%) was identified as *Trypanosoma lainsoni* (Table 4).

Table 4. Molecular identification of trypanosomatids detected in bats from the urban area of Bauru, São Paulo State, Brazil, based on 18S rRNA gene sequencing and BLAST analysis.

ID	Family	Species	Feeding habit	Tissue	Identified species (BLAST - 18S rRNA)	Percent identity (%)	Query coverage (%)	E-value	GenBank Accession number
19	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insectivorous	Liver	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239334
21	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.82	100	0.0	PZ239335
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.31	100	0.0	PZ239336
				Skin	<i>T. cruzi</i>	99.83	100	0.0	PZ239337
22	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insectivorous	Liver	<i>T. cruzi</i>	98.29	100	0.0	PZ239338
				Spleen	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239339
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.66	100	0.0	PZ239340
35	Molossidae	<i>Eumops glaucinus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.78	100	0.0	PZ239341
53	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.66	100	0.0	PZ239342
70*	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insectivorous	Heart	<i>T. cruzi</i>	98.58	100	0.0	PZ239343
73	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.61	100	0.0	PZ239344
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.33	100	0.0	PZ239345
76	Molossidae	<i>Eumops auripendulus</i>	Insectivorous	Heart	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239346
86	Phyllostomidae	<i>Artibeus lituratus</i>	Frugivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239347
87	Molossidae	<i>Eumops glaucinus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.1	100	0.0	PZ239348
				Heart	<i>T. cruzi</i>	98.44	100	0.0	PZ239349
106	Molossidae	<i>Eumops perotis</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239350
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.70	100	3e-172	PZ239351
113	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239352
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239353
151	Molossidae	<i>Eumops perotis</i>	Insectivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.41	100	0.0	PZ239354
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.35	100	0.0	PZ239355
197	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insectivorous	Heart	<i>T. cruzi</i>	99.75	100	0.0	PZ239356

225	Phyllostomidae	<i>Carollia perspicillata</i>	Frugivorous	Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239357
				Heart	<i>T. cruzi</i>	99.67	99	0.0	PZ239358
				Skin	<i>T. cruzi</i>	99.34	100	0.0	PZ239359
230	Molossidae	<i>Molossus rufus</i>	Insectivorous	Liver	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239360
				Skin	<i>T. cruzi</i>	99.65	100	0.0	PZ239361
239	Molossidae	<i>Molossus rufus</i>	Insectivorous	Liver	<i>T. lainsoni</i>	99.84	100	0.0	PZ239362
				Spleen	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239363
320	Molossidae	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Insectivorous	Liver	<i>T. cruzi</i>	100.00	100	0.0	PZ239364
				Spleen	<i>T. cruzi</i>	99.48	100	0.0	PZ239365
				Skin	<i>T. cruzi</i>	99.82	100	0.0	PZ239366

*Rabies virus infection

Among the 18 positive bats, 11 (61.1%) presented parasite DNA in more than one tissue. One *M. rufus* individual showed concomitant detection of *T. lainsoni* in the liver and *T. cruzi* in the spleen, whereas one *E. auripendulus* specimen presented *T. cruzi* DNA in cardiac tissue and was simultaneously positive for rabies virus infection.

Phylogenetic analysis confirmed the taxonomic identity of the detected trypanosomes, revealing two well-supported clades corresponding to *T. cruzi* and the Lizard–Snake/Rodent–Marsupial lineage (Figure 4). All *T. cruzi* sequences obtained in this study clustered consistently with reference sequences assigned to DTU TcII, suggesting phylogenetic affinity with this discrete typing unit. The single sequence identified as *T. lainsoni* clustered with reference sequences of the same species and *T. cascavelli*, corresponding to the Lizard–Snake/Rodent–Marsupial clade. Lower posterior probability values were observed in some terminal branches, probably reflecting the high genetic similarity among closely related sequences (Figure 4).

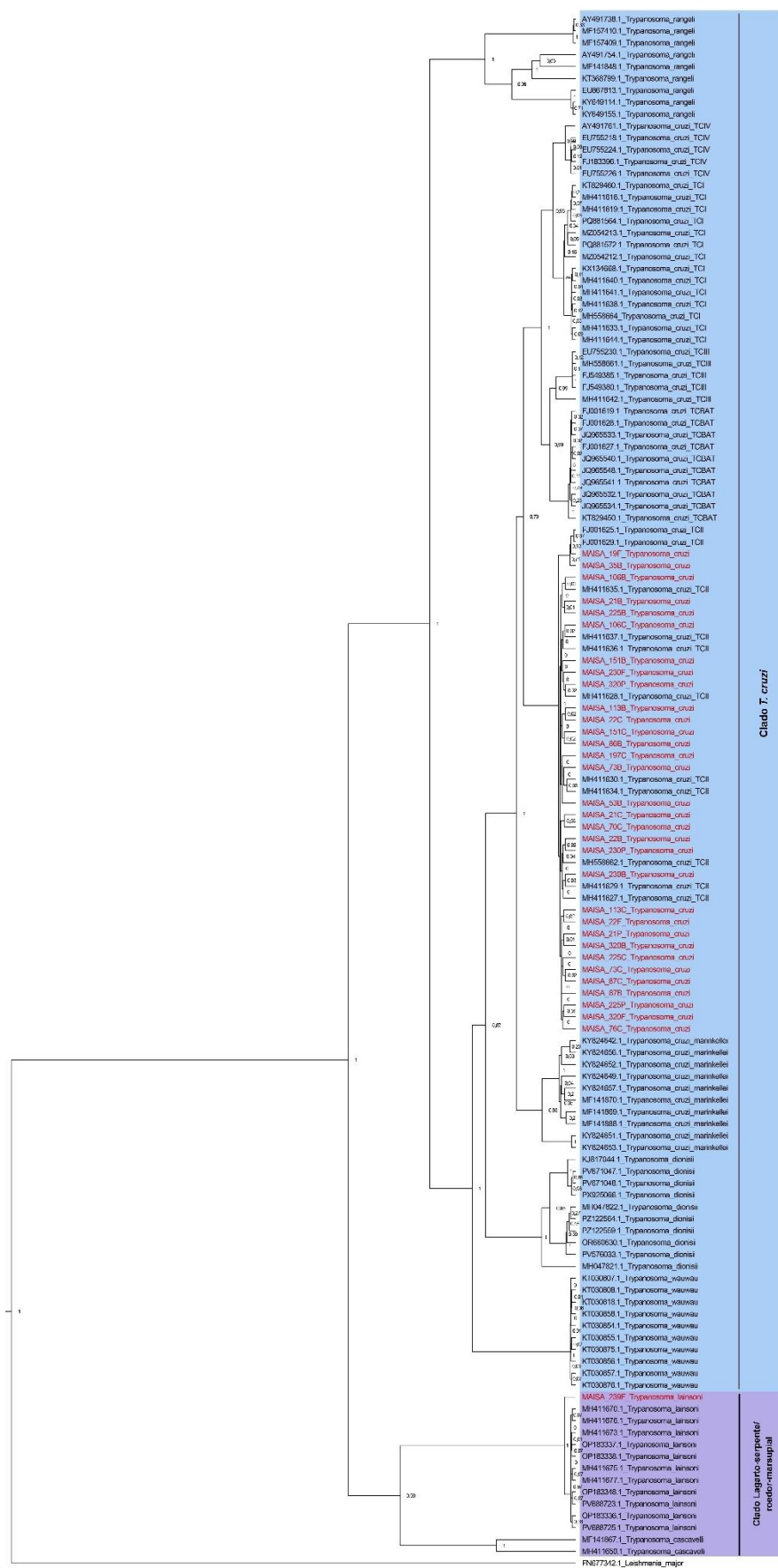


Figure 4. Bayesian phylogenetic tree inferred from a 650-bp fragment of the 18S rRNA gene showing the relationships among *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma cruzi marinkellei*, *Trypanosoma rangeli*, *Trypanosoma dionisii*, *Trypanosoma wauwau*, *Trypanosoma lainsoni*, and *Trypanosoma cascavelli*. Posterior probability values are indicated at the nodes. Sequences generated in the present study are highlighted in red, whereas reference sequences retrieved from GenBank are shown in black. The tree was rooted using *Leishmania major* (GenBank accession no. FN677342.1) as the outgroup.

DISCUSSION

The present study demonstrated the circulation of trypanosomatids in urban bats from Bauru, São Paulo State, southeastern Brazil, with an overall molecular positivity of 36.0%. The predominance of *T. cruzi*, together with the detection of *T. lainsoni*, highlights the diversity of trypanosomatids circulating in this urban environment and reinforces the exposure of bats to these parasites at the wildlife–urban interface.

The observed prevalence is comparable to that reported in other studies conducted in Brazil, where trypanosomatid detection in bats varies considerably according to host species, geographic region, and the molecular methods employed (Dario *et al.* 2017; Torres *et al.* 2024). This variability highlights the influence of local ecological conditions on parasite transmission dynamics and emphasizes the importance of regional surveillance studies.

The taxonomic composition of the sampled bats, characterized by the predominance of Molossidae, reflects the pattern commonly reported in Brazilian urban environments, where insectivorous bats are generally the most abundant. In contrast, phyllostomids are more frequently associated with forest remnants embedded within urban landscapes, whereas molossids preferentially occupy anthropogenic structures such as roofs, ceilings, and building crevices (Nunes *et al.* 2017). Therefore, the higher number of positive individuals observed among molossids is likely related, at least in part, to their greater representation in the sample. Nevertheless, ecological differences associated with habitat use and opportunities for contact with triatomine vectors sharing urban shelters may also contribute to this pattern (Pinto *et al.* 2015).

The predominance of the genera *Eumops* and *Molossus* among positive bats, together with the higher odds of detection estimated for *Eumops*, suggests a pattern that deserves further investigation. However, because this association was not statistically significant and the sample size was limited, no inference can be made regarding differences in susceptibility or exposure between these genera. Additional studies involving larger sample sizes and broader taxonomic representation will be necessary to clarify whether these observed patterns reflect biological or ecological differences.

The predominance of *T. cruzi* among the positive samples reflects its broad distribution among wild mammals in Latin America and its remarkable ecological plasticity, allowing its maintenance in complex transmission cycles involving multiple vertebrate hosts and hematophagous vectors (Jansen *et al.* 2018). The detection of this protozoan in more than one-third of the analyzed bats reinforces the role of these mammals as hosts of *T. cruzi* and suggests their participation in local transmission cycles. These findings are consistent with previous studies recognizing bats as important components of the *T. cruzi* reservoir system (Dario *et al.* 2017; Jansen *et al.* 2018).

To the best of our knowledge, the detection of *T. cruzi* in *E. Auripendulus* and *E. Perotis* expands the list of bat species in which this parasite has been reported. Considering that these species are frequently associated with urban environments and commonly use buildings as roosts, their potential participation in local transmission cycles deserves further investigation.

No significant association was observed between feeding guild and trypanosomatid detection, indicating that exposure to these parasites may occur through different transmission routes, regardless of the predominant feeding strategy of the analyzed species. Transmission of *T. cruzi* may occur through multiple mechanisms. Oral transmission is considered one of the most common routes among wild mammals and is frequently associated with insect consumption (Coura 2015). Among bats, insect ingestion occurs not only in insectivorous species but may also occur opportunistically in species with predominantly frugivorous diets. In addition, transmission may occur through contact with infected triatomines or through congenital transmission, which may contribute to parasite maintenance within bat populations (Añez *et al.* 2009).

The detection of parasite DNA in multiple tissues reinforces the systemic dissemination of *T. cruzi*, consistent with its well-known capacity to colonize different organs and cell types in vertebrate hosts (Añez and Crisante 2021; Silvados-Santos *et al.* 2017). In the present study, the spleen and heart exhibited the highest frequencies of molecular detection. Although Cochran's Q test indicated significant overall differences among tissues, pairwise comparisons were not statistically significant after correction for multiple testing, indicating that these findings should be interpreted as an overall pattern of tissue distribution rather than evidence supporting the superiority of a specific tissue. Nevertheless, the higher detection frequencies observed in the spleen and heart are consistent with previous reports describing parasite persistence in lymphoid and muscular tissues and suggest that these organs represent valuable samples for molecular investigations based on postmortem material.

The detection of *T. lainsoni* in one *M. rufus* individual represents an important finding, expanding both the known host range and the geographic distribution of this trypanosomatid to São Paulo State. This parasite remains poorly characterized and was originally described from an Amazonian caviomorph rodent (Naiff and Barrett 2013). Subsequently, it has been reported in several South American mammals, including rodents, marsupials, and carnivores (Díaz *et al.* 2020; Nantes *et al.* 2021; Rodrigues *et al.* 2019). Its occurrence in bats had previously been documented only in *Platyrrhinus lineatus* and *Artibeus planirostris* from northeastern Brazil (Rodrigues *et al.* 2019).

The transmission cycle of *T. lainsoni*, as well as its vectors, remains poorly understood. Phylogenetically, this species has been associated with the Lizard–Snake/Rodent–Marsupial clade, whose members are frequently linked to phlebotomine sand flies as potential vectors (Ortiz *et al.* 2018). However, experimental studies have not yet demonstrated vector competence for the insect species evaluated to date (Madureira *et al.* 2026; Naiff and Barrett 2013), indicating that important aspects of the biology and transmission of this parasite remain unresolved.

Phylogenetic analysis corroborated the molecular identification of the detected trypanosomatids, recovering well-supported clades for *T. cruzi* and *T. lainsoni*. The overall topology was consistent with the currently recognized phylogenetic relationships within the genus *Trypanosoma* and with recent studies

employing the 18S rRNA marker to investigate trypanosomatid diversity in wild mammals (Ibarra-López *et al.* 2026). Although all *T. cruzi* sequences clustered with reference sequences classified as TcII, this association should be interpreted with caution because the 18S rRNA gene has limited resolution for unequivocally discriminating among the different *T. cruzi* DTUs. Therefore, the observed clustering should be regarded as evidence of phylogenetic affinity rather than definitive DTU assignment.

Nevertheless, the observed pattern suggests phylogenetic proximity to DTU TcII, a lineage widely distributed throughout the Southern Cone of South America, frequently associated with domestic transmission cycles and representing one of the main DTUs identified in patients with chronic Chagas disease in Brazil (Macedo and Segatto 2010; Nielebock *et al.* 2020).

From an ecological and epidemiological perspective, the detection of trypanosomatids in urban bats, together with records of interaction with domestic animals and the identification of one bat simultaneously infected with *T. cruzi* and rabies virus, highlights the complexity of pathogen circulation in anthropized environments. Approximately 30% of the analyzed bats had documented contact with dogs or cats, emphasizing the opportunities for interaction among wildlife, domestic animals, and humans. Such contacts may facilitate the circulation of different infectious agents within urban ecosystems.

Dogs deserve particular attention because they may become infected with *T. cruzi* and serve as valuable epidemiological sentinels of parasite circulation. Infection in dogs may indicate the presence of active transmission foci and, in some circumstances, precede the occurrence of human infections (Roque and Jansen 2008; Xavier *et al.* 2012).

No *Leishmania* spp. DNA was detected in any of the analyzed bats, despite the study being conducted in a municipality endemic for both visceral and cutaneous leishmaniasis. This finding suggests that the analyzed bat species may not play a major role in maintaining *Leishmania* spp. in the local transmission cycle or that infections occur below the detection limit of the molecular methods employed. It is also important to recognize that different mammalian species may contribute differently to parasite maintenance over space and time, exhibiting varying degrees of transmission competence (Roque and Jansen 2014). In Bauru, previous studies have associated the urban transmission cycle of

leishmaniasis primarily with domestic dogs and synanthropic marsupials of the genus *Didelphis* (Santiago *et al.* 2007).

Some limitations of this study should be acknowledged. First, parasitemia was not quantified, precluding inferences regarding infection intensity and the potential role of bats as sources of infection for triatomine vectors. Second, although the 18S rRNA gene is widely used for molecular identification and phylogenetic inference of *Trypanosoma* species, its relatively low genetic variability limits the unequivocal discrimination among *T. cruzi* DTUs. Finally, the relatively small sample size for several bat species limited more robust ecological inferences.

Although molecular detection in bat tissues demonstrates exposure to trypanosomatids and confirms parasite circulation in the study area, it does not allow direct inference regarding the competence of bats as reservoirs capable of infecting vectors. Nevertheless, the presence of natural *T. cruzi* foci in urban environments may contribute to the maintenance of transmission cycles where wildlife, domestic animals, vectors, and humans interact.

It is important to emphasize that bats perform essential ecological functions, including insect population control, seed dispersal, and pollination. Therefore, approaches that associate these mammals exclusively with the transmission of infectious agents should be avoided. Their epidemiological role should be interpreted within the broader ecological context in which hosts, parasites, vectors, and environmental conditions interact.

Overall, the present study expands current knowledge on the circulation of trypanosomatids in urban bats from southeastern Brazil and reinforces the value of wildlife surveillance within the One Health approach. By integrating ecological, molecular, and epidemiological evidence, these findings contribute to a better understanding of host–parasite interactions in urban environments and provide useful information for future wildlife surveillance, conservation, and disease prevention strategies.

CONCLUSION

This study demonstrates the circulation of trypanosomatids in urban bats from Bauru, São Paulo State, southeastern Brazil, with the predominance of *T.*

cruzi and the sporadic detection of *T. lainsoni*. The detection of *T. cruzi* in multiple bat species, together with the first record of *T. lainsoni* in *M. rufus* and in São Paulo State, expands current knowledge on the host range and geographic distribution of these parasites.

The multitissue approach increased the molecular detection of trypanosomatids and highlighted differences in parasite distribution among tissues, supporting the inclusion of multiple organs in molecular investigations based on wildlife carcasses. In contrast, no molecular evidence of *Leishmania* spp. infection was found in the analyzed bats, suggesting that these species may have limited participation in the local transmission cycle of leishmaniasis.

Overall, these findings contribute to a better understanding of the circulation of trypanosomatids in urban bat populations and reinforce the importance of wildlife surveillance within a One Health approach. Further ecological, molecular, and epidemiological studies are needed to clarify the role of bats in the maintenance and transmission dynamics of these parasites in anthropized environments.

Acknowledgments

The authors thank the Environmental Surveillance Service of the Municipality of Bauru for providing the bat specimens and supporting this study. We also thank the Zoonosis Diagnostic Service of the School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, for technical assistance. Finally, we acknowledge São Paulo State University (UNESP) for institutional support.

REFERENCES

- Añez N, Crisante G (2021) The tissue-specific tropism in *Trypanosoma cruzi*: is it true? *Acta Tropica* 213:105736. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105736>
- Añez N, Crisante G, Soriano PJ (2009) *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. *Acta Tropica* 109:78–80. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.08.009>

Bauru (2015) *Plano Municipal de Conservação e Recuperação da Mata Atlântica e do Cerrado*. Prefeitura Municipal de Bauru, Bauru. https://www2.bauru.sp.gov.br/arquivos/arquivos_site/sec_meioambiente/plano_mata_atlantica.pdf

Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan TG, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ (2014) BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology* 10:e1003537. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>

Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T (2006) Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews* 19:531–545. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06>

Castro LS, Dorval MEC, Matheus LMD, Bednaski AV, Facco GG, Silveira M, Santos CF, Gontijo CMF, Oliveira APG, Ferreira EC (2020) *Leishmania* presence in bats in areas endemic for leishmaniasis in central-west Brazil. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 11:261–267. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.02.008>

Cavazzana M Jr, Marcili A, Lima L, Maia da Silva F, Junqueira ACV, Veludo HH, Viola LB, Campaner M, Nunes VLB, Paiva F, Coura JR, Camargo EP, Teixeira MMG (2010) Phylogeographical, ecological and biological patterns shown by nuclear (SSU rRNA and gGAPDH) and mitochondrial (Cyt *b*) genes of trypanosomes of the subgenus *Schizotrypanum* parasitic in Brazilian bats. *International Journal for Parasitology* 40:345–355. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.08.015>

Coura JR (2015) The main scenarios of Chagas disease transmission: the vectorial, blood transfusion and oral routes—a comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 110:277–282. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140362>

Dario MA, Moratelli R, Schwabl P, Jansen AM, Llewellyn MS (2017) Small subunit ribosomal metabarcoding reveals extraordinary trypanosomatid diversity in Brazilian bats. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11:e0005790. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005790>

Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD (2001) Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica* 78:103–116. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(00\)00179-0](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(00)00179-0)

Díaz AG, Ragone PG, Rusman F, Floridia-Yapur N, Barquez RM, Díaz MM, Tomasini N, Diosque P (2020) A novel genotype and first record of *Trypanosoma lainsoni* in Argentina. *Pathogens* 9:731. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090731>

García-Moreno J (2023) Zoonoses in a changing world. *BioScience* 73:711–720. <https://doi.org/10.1093/biosci/biad074>

Gómez-Hernández C, Bento EC, Rezende-Oliveira K, Nascentes GAN, Barbosa CG, Batista LR, Tiburcio MGS, Pedrosa AL, Lages-Silva E, Ramírez JD, Ramirez LE (2017) *Leishmania* infection in bats from a non-endemic region of leishmaniasis in Brazil. *Parasitology* 144:1980–1986. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001500>

Hernández C, Alvarez C, González C, Ayala MS, León CM, Ramírez JD (2014) Identification of six New World *Leishmania* species through the implementation of a high-resolution melting (HRM) genotyping assay. *Parasites & Vectors* 7:501. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0501-y>

Ibarra-López MP, Palomino RE, Rodríguez-Luna CR, Millán JM, Waleckx E, Dirzo R, Montiel S, Vidal-Martínez VM, Ibarra-Cerdeña CN (2026) Bat-associated *Trypanosoma* diversity, geographic extension of known clades, and predominance of *T. cruzi* TcIV in a conserved tropical forest of southeastern Mexico. *Parasitology Research* 125:60. <https://doi.org/10.1007/s00436-026-08670-w>

Jansen AM, Xavier SCCX, Roque ALR (2018) *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. *Parasites & Vectors* 11:502. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3067-2>

Karesh WB, Dobson A, Lloyd-Smith JO, Lubroth J, Dixon MA, Bennett M, Aldrich S, Harrington T, Formenty P, Loh EH, Machalaba CC, Thomas MJ, Heymann DL (2012) Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. *The Lancet* 380:1936–1945. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61678-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61678-X)

Macedo AM, Segatto M (2010) Implications of *Trypanosoma cruzi* Intraspecific Diversity in the Pathogenesis of Chagas Disease. In: American Trypanosomiasis: Chagas Disease One Hundred Years of Research, Telleria J, Tibayrenc M (editors), London: Elsevier pp 489-522

Naiff RD, Barrett TV (2013) *Trypanosoma (Megatrypanum) lainsoni* n. sp. from *Mesomys hispidus* (Rodentia: Echimyidae) in Brazil: trypomastigotes described from experimentally infected laboratory mice. *Parasite* 20:51. <https://doi.org/10.1051/parasite/2013049>

Nantes WAG, Santos FM, Macedo GC, Barreto WTG, Gonçalves LR, Rodrigues MS, Chulli JVM, Rucco AC, Assis WO, Porfírio GEO, Oliveira CE, Xavier SCC, Herrera HM, Jansen AM (2021) Trypanosomatid species in *Didelphis albiventris* from urban forest fragments. *Parasitology Research* 120:223–231. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06921-y>

Nielebock MAP, Moreira OC, Xavier SCC, Miranda LFC, Lima ACB, Pereira TOJS, Hasslocher-Moreno AM, Britto C, Sangenis LHC, Saraiva RM (2020) Association between *Trypanosoma cruzi* DTU TcII and chronic Chagas disease clinical presentation and outcome in an urban cohort in Brazil. *PLoS One* 15:1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243008>

Noyes HA, Stevens JR, Teixeira MMG, Phelan J, Holz P (1999) A nested PCR for the SSU rRNA gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma* sp. in wombats and kangaroos in Australia. *International Journal for Parasitology* 29:331–339. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00167-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00167-2)

Noyes HA, Stevens JR, Teixeira MMG, Phelan J, Holz P (2000) Corrigendum to "A nested PCR for the SSU rRNA gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma* sp. in wombats and kangaroos in Australia". *International Journal for Parasitology* 30:228. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00026-6)

Nunes H, Rocha FL, Cordeiro-Estrela P (2017) Bats in urban areas of Brazil: roosts, food resources and parasites in disturbed environments. *Urban Ecosystems* 20:953–969. <https://doi.org/10.1007/s11252-016-0632-3>

Ortiz PA, Garcia HA, Lima L, Maia da Silva F, Campaner M, Pereira CL, Jittapalapong S, Neves L, Desquesnes M, Camargo EP, Teixeira MMG (2018) Diagnosis and genetic analysis of the worldwide distributed *Rattus*-borne *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *lewisi* and allied species in blood and fleas of rodents. *Infection, Genetics and Evolution* 63:380–390. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.09.001>

Pacheco RS, Carvalho-Costa FA (2014) Diversidade genética em parasitos do gênero *Leishmania*: uma abordagem molecular. In: Conceição-Silva F, Alves CR (eds) *Leishmanioses do continente americano*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, pp 53–67.

Pan American Health Organization (2021) *Neglected tropical and vector-borne diseases*. Pan American Health Organization, Washington, DC.

Pinto CM, Ocaña-Mayorga S, Tapia EE, Lobos SE, Zurita AP, Aguirre-Villacís F, MacDonald A, Villacís AG, Lima L, Teixeira MMG, Grijalva MJ, Perkins SL (2015) Bats, trypanosomes, and triatomines in Ecuador: new insights into the diversity, transmission, and origins of *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease. *PLoS ONE* 10:e0139999. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139999>

Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP (2007) *Morcegos do Brasil*. Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

Reis NR, Peracchi AL, Batista CB, Lima IP, Pereira AD (2017) *História natural dos morcegos brasileiros: chave de identificação de espécies*. Technical Books, Rio de Janeiro.

Rodrigues MS, Lima L, Xavier SCC, Herrera HM, Rocha FL, Roque ALR, Teixeira MMG, Jansen AM (2019) Uncovering *Trypanosoma* spp. diversity of wild mammals by the use of DNA from blood clots. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 8:171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.02.004>

Roque ALR, Jansen AM (2008) Importância dos animais domésticos sentinelas na identificação de áreas de risco de emergência de doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41:191–193.

Roque ALR, Jansen AM (2014) Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 3:251–262. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.004>

Santiago MEB, Vasconcelos RO, Fattori KR, Munari DP, Michelin AF, Lima VMF (2007) An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). *Veterinary Parasitology* 150:283–290. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.026>

Savani ESMM, Almeida MF, Camargo MCGO, D'Auria SRN, Silva MMS, Oliveira ML, Sacramento D (2010) Detection of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in Brazilian bats. *Veterinary Parasitology* 168:5–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.10.019>

São Paulo (2026a) Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". *Leishmaniose cutânea: dados estatísticos*. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-cutanea/dados-estatisticos>

São Paulo (2026b) Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". *Leishmaniose visceral: dados estatísticos*. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-visceral/>

São Paulo (2026c) Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". *Doença de Chagas: dados estatísticos*. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/chagas/dados-estatisticos>

Silva-dos-Santos D, Barreto-de-Albuquerque J, Guerra B, Moreira OC, Berbert LR, Ramos MT, Mascarenhas BAS, Britto C, Morrot A, Serra Villa-Verde DM, Garzoni LR, Savino W, Cotta-de-Almeida V, de Meis J (2017) Unraveling Chagas disease transmission through the oral route: gateways to *Trypanosoma cruzi* infection and target tissues. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11:e0005507. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005507>

The jamovi Project (2025) *Jamovi* (Version 2.7) [Computer software]. <https://www.jamovi.org>

Torres JM, Oliveira CE, Santos FM, Sano NY, Martinez EV, Alves FM, Tavares LER, Roque ALR, Jansen AM, Herrera HM (2024) Trypanosomatid diversity in a bat community of an urban area in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil.

Infection, Genetics and Evolution 118:105563.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2024.105563>

Vizotto LD, Taddei VA (1973) *Chave para determinação de quirópteros brasileiros*. Boletim de Ciências, São José do Rio Preto.

Xavier SCC, Roque ALR, Lima VS, Monteiro KJL, Otaviano JCR, Ferreira da Silva LFC, Jansen AM (2012) Lower richness of small wild mammal species and Chagas disease risk. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6:e1647.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001647>

World Health Organization (2020) *Zoonoses*. World Health Organization, Geneva.

World Health Organization (2023) *Emerging zoonotic diseases and the One Health approach: an overview*. World Health Organization, Geneva.

World Health Organization (2026) *Neglected tropical diseases*. World Health Organization, Geneva.

Zingales B (2011) *Trypanosoma cruzi*: um parasita, dois parasitas ou vários parasitas da doença de Chagas? *Revista da Biologia* 6:44–48.
<https://doi.org/10.11606/issn.1984-5154.v6p44-48>

ANEXOS

Anexo 1. Autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO



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: 90179-1	Data da Emissão: 28/08/2023 19:26:11	Data da Revalidação*: 28/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maisa Jampaui Bernardes	CPF: 405.688.508-74
Título do Projeto: Autorização para coleta de material biológico visando pesquisa científica (carcaças de morcegos).	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA"	CNPJ: 48.031.918/0033-01

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material biológico	09/2023	02/2027

Observações e ressalvas

1	A autorização não exime o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, possessor ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonossária no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CBMAVE na Internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/sistemas/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
3	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
6	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, a difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
7	Esta autorização NÃO exime 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, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria Nº748/2022, 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.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
11	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.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0901790120230828

Página 1/3



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: 90179-1	Data da Emissão: 28/08/2023 19:26:11	Data da Revalidação*: 28/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maisa Jampaui Bernardes	CPF: 405.688.508-74
Título do Projeto: Autorização para coleta de material biológico visando pesquisa científica (carcaças de morcegos).	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA"	CNPJ: 48.031.918/0033-01

Observações e ressalvas

12	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno de UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.
----	---

Outras ressalvas

1	CENAP Atibaia-SP
---	------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Município de Bauru/SP	Bauru-SP	Cerrado	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Chiroptera	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA"	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0901790120230828

Página 2/3



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: 90179-1	Data da Emissão: 28/08/2023 19:26:11	Data da Revalidação*: 28/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maisa Jampaoli Bernardes	CPF: 405.688.508-74
Título do Projeto: Autorização para coleta de material biológico visando pesquisa científica (carcaças de morcegos).	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA"	CNPJ: 48.031.918/0033-01

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, 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]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio/).

Código de autenticação: 0901790120230828

Página 3/3

Anexo 2. Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp – campus de Botucatu/SP



ATESTADO

Atesto que o Projeto "ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE ZOONÓTICOS EM QUIRÓPTEROS DA REGIÃO DE BAURU, ESTADO DE SÃO PAULO." **Protocolo CEUA 0514/2023**, a ser conduzido por Maisa Jampauli Bernardes, responsável/orientador Lúcia Souza Lima Silveira da Mota, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	01/01/2024 a 30/06/2025
Nome Comum / Espécie / Linhagem	//
Raça	
Nº de animais machos	0
Nº de animais fêmeas	0
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	0
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Lab. de Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (FMVZ)

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 01/09/2023

JULIANY GOMES QUITZAN
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Seção Técnica Acadêmica
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Corrêa, s/n
UNESP - Campus de Botucatu/SP - Cep 18618-681
(14) 3880-2176 - patrizia@fmvz.unesp.br - www.fmvz.unesp.br

Anexo 3. Autorização da Comissão Científica da Secretaria Municipal de Saúde de Bauru



PREFEITURA MUNICIPAL DE BAURU

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
Divisão de Gestão do Trabalho e Educação na Saúde
Comissão Científica da Secretaria Municipal de Saúde de Bauru
Email: dgtes_saude@bauru.sp.gov.br
Fone: (14) 3104-1466 ou (14) 3104-1469



Bauru, 11 de outubro de 2023.

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado: **“ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE ZOONÓTICOS EM QUIRÓPTEROS DA REGIÃO DE BAURU, ESTADO DE SÃO PAULO”**, de autoria de Maisa Jampauli Bernardes, sob orientação da Profª. Ass. Lígia Souza Lima Silveira da Mota, foi **AUTORIZADO** pela Comissão Científica da Secretaria Municipal de Saúde de Bauru – CCSMSB, para fins de sua pesquisa científica, a utilizar e publicar os dados obtidos da coleta de amostras biológicas oriundas de morcegos enviados pelo Centro de Controle de Zoonoses/DVA/DSC desta Secretaria ao Laboratório de Serviço Diagnóstico de Zoonoses, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP Botucatu, local da coleta de amostras e execução da pesquisa.

Ressaltamos que os **resultados deste trabalho deverão ser apresentados à Secretaria Municipal de Saúde**, através de agendamento a Divisão de Gestão do Trabalho e Educação na Saúde através do fone: 3104-1466 ou 3104-1469.


Dra. Deborah Maciel Cavalcanti Rosa
Presidente da Comissão Científica da Secretaria
Municipal de Saúde de Bauru
Portaria GS nº 182/2017


Giulia da Cunha Fernandes Puttomatti
Secretária Municipal de Saúde de Bauru