

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ANIMAIS SELVAGENS

Investigação da presença de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em pequenos mamíferos silvestres no município de Botucatu, São Paulo

LARISSA PEREIRA RODRIGUES

BOTUCATU, 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ANIMAIS SELVAGENS

Investigação da presença de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em  
pequenos mamíferos silvestres no município de Botucatu, São Paulo

LARISSA PEREIRA RODRIGUES

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-  
Graduação em Animais Selvagens como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de Mestre.

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

Coorientadora: Profa. Assoc. Renata Cristina Batista  
Fonseca

BOTUCATU, 2022

R696i	<p>Rodrigues, Larissa Pereira</p> <p>Investigação da presença de <i>Leishmania</i> spp. e <i>Trypanosoma cruzi</i> em pequenos mamíferos silvestres no município de Botucatu, São Paulo / Larissa Pereira Rodrigues.</p> <p>-- Botucatu, 2022</p> <p>71 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu</p> <p>Orientadora: Lígia Souza Lima Silveira da da Mota</p> <p>Coorientadora: Renata Cristina Batista Fonseca Fonseca</p> <p>1. zoonoses. 2. reservatório. 3. pequenos mamíferos. 4. leishmaniose. 5. doença de Chagas. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

*Aos meus pais Luzia e José Nilton, as pessoas que mais amo no mundo.*

## AGRADECIMENTOS

A minha família, que esteve sempre presente em todas as etapas da minha vida, me apoiando e realizando junto comigo os meus sonhos.

Aos meus pais, Luzia e José Nilton que abriram mão de muitas coisas para que eu pudesse prosseguir na minha formação acadêmica, sempre acreditando na educação como ferramenta de transformação social, me apoiando e me incentivando nesta jornada.

As minhas irmãs, Patrícia, Vanessa, Vania e Roberta que me ajudaram ao longo de toda a minha graduação e no mestrado não poderia ser diferente, assim como os meus pais, sempre me incentivando, me auxiliando e cuidando dos meus pais enquanto eu estava longe.

Aos meus sobrinhos, Gyovanna, Arthur, Fernanda, Yasmin, Kaique, Mikael, e agora a pequena Helena, que se espelham e acreditam em mim, que muitas vezes foram plateia para eu treinar minhas apresentações, me deixando mais calma e segura.

Aos meus tios postiços que estiveram sempre presentes ao longo desses anos, a Maura que me acompanhou junto com a minha mãe durante a mudança para Botucatu e me ligava todos os finais de semana para saber como estava a faculdade. Ao Tio Zé a Dona Cida por me acolherem e serem meu primeiro lar em Botucatu, e assim como os demais, sempre acreditando e torcendo por mim. Infelizmente Maura e dona Cida não se encontram mais aqui, mas tenho certeza que estão vibrando pela minha conquista onde quer que estejam.

Aos meus amigos do grupo “Todo mundo se vestido”, Giovana, Camarão, Carolina, a família que eu pude escolher para viver comigo a graduação e se fazem presentes até hoje. Obrigada por me auxiliarem em cada prova, cada atividade, cada aula junto, sem vocês eu jamais teria conseguido. A Giovana, por ser uma das melhores amigas, por ser a minha gêmea da terceira idade, que saía comigo para comprar chás e tricôs, que sempre me deu colo, me acolheu como irmã, meu deu muitas caronas, soltou muitos gambás, e me auxiliou sempre que possível nas atividades do mestrado e da vida. Ao Camarão, que sentou do meu lado na biblioteca para estudar na primeira semana de aula comigo, e nunca mais saiu. A Carolina que me salvou em diversos momentos, sendo na faculdade ou em casa quando dividimos apartamento. Eu amo vocês!

Aos meus amigos Pérola e Alan, que também estiveram presentes ao longo da graduação e me dão suporte até hoje.

Aos meus antigos amigos de república Surra, Smeagol, Beijo e Tuani, que tornaram meus dias mais felizes e também são uma família que eu pude escolher.

As minhas amigas Águeda e Clarice da UNB, e as demais pessoas que tive a oportunidade de conhecer lá, por me acolherem, me ensinarem grande parte do que sei hoje de atividades de campo e manejo de pequenos mamíferos.

A minha orientadora Ligia Mota, que me acolheu de braços abertos em seu laboratório, estando sempre presente e me auxiliando ao longo de todo o mestrado. Obrigada por confiar no meu trabalho, acreditar nas minhas ideias e por ser uma orientadora maravilhosa que me inspira diariamente.

A minha coorientadora Renata Fonseca pelo suporte com as atividades de campo.

Aos meus amigos de Laboratório Bruna e Pedro, que pegaram na minha mão, me ensinaram todas as técnicas moleculares utilizadas nesse trabalho, me auxiliaram sempre que necessário, se tornando meus amigos independente da academia.

A minha equipe de campo, Eduardo, João, Laura, Mateus e novamente ao Pedro, que estiveram presentes em todos os momentos, me auxiliando na captura e manejo dos animais, na instalação das armadilhas, nas solturas dos gambás, nas fotografias. A ajuda de vocês foi fundamental para esse trabalho acontecer, obrigada por tanto!

Ao Marcelo Santos da Silva por auxiliar nas atividades de biologia molecular, cedendo as amostras de *Leishmania* e *Trypanosoma*.

À Comissão Examinadora do Exame Geral de Qualificação, Dra. Débora Andrade Silva e Dr. William Pinheiro Costa pelas sugestões que foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

Aos membros da Comissão Examinadora da defesa de Dissertação de Mestrado Dr. Marcelo Santos da Silva e Dr. Felipe Fornazari pelo interesse e disponibilidade em analisar o trabalho e pelas considerações que foram de extrema importância para que a finalização do trabalho.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu, que foi minha casa durante todos esses anos.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Programa de Pós Graduação em Animais Selvagens.

À Vigilância Ambiental em Saúde do município de Botucatu por ceder os animais participantes deste estudo.

À Faculdade de Ciências Agronômicas por ceder as áreas de estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos.

meu recado às mulheres

contem suas histórias

descubra o poder  
de milhões de vozes  
que foram caladas  
por séculos.

Ryane Leão

## RESUMO

RODRIGUES, L. P. Investigação da presença de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em pequenos mamíferos silvestres no município de Botucatu, São Paulo. Botucatu, 2022. 71 p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMVZ – UNESP).

Problemas ecológicos envolvendo a destruição da fauna e da flora são consequências da crescente urbanização, promovendo maior contato com animais sinantrópicos, possibilitando a emergência ou reemergência de zoonoses como leishmanioses e doença de Chagas. O papel dos mamíferos silvestres como potenciais reservatórios tem sido discutido. Espécies silvestres de ordens distintas como gambás (*Didelphis* spp.) e roedores já se apresentam como potenciais reservatórios de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi*. O presente estudo teve como objetivo diagnosticar pequenos mamíferos com protozoários causadores das leishmanioses e/ou doença de Chagas, por meio de técnicas moleculares. O estudo foi desenvolvido em Botucatu, São Paulo e foram amostrados fragmentos de vegetação natural nas Fazendas Experimentais Edgárdia e Lageado. Para captura dos animais de vida livre foram utilizadas armadilhas de interceptação e queda, Shermans e Tomahawks, além de animais resgatados em domicílios e cedidos pela Vigilância Ambiental em Saúde (VAS) de Botucatu. Foram capturados 51 indivíduos de seis gêneros em campo (*Didelphis albiventris* e *Gracilinanus microtarsus*, *Akodon* sp., *Juliomys ossitenius*, *Juliomys pictipes*, *Necromys lasiurus*, *Oecomys catherinae*, *Oligoryzomys nigripes*) e 65 cedidos pela VAS (*Didelphis albiventris*, *Guerlinguetus aestuans* e *Lutreolina crasicaudata*), totalizando 115 animais pertencentes às ordens Didelmorpha e Rodentia. Os animais foram identificados, tiveram material biológico coletado, e após os procedimentos, encaminhados para a soltura em locais adequados. A partir do material coletado foi realizada a extração de DNA e PCRs empregando *primers* específicos previamente avaliados em testes de sensibilidade a detecção dos patógenos. Todas as amostras obtiveram resultados negativos para a presença de DNA dos agentes causadores de leishmanioses e doença de Chagas, os *primers* se mostraram para detecção destes patógenos. Ainda que os resultados obtidos neste trabalho não tenham identificado a presença destes protozoários nas amostras analisadas, os pequenos mamíferos foram relatados como reservatórios destes parasitas e a atenção para com esses animais deve se manter sempre ativa.

**Palavras chave:** zoonoses, reservatório, pequenos mamíferos, leishmaniose, doença de Chagas.

## ABSTRACT

RODRIGUES, L. P. Investigation of the presence of *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in small wild mammals in Botucatu, São Paulo. Botucatu, 2022. 71 p. Dissertation (Master in Wild Animals) Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University (FMVZ – UNESP).

Ecological problems involving the destruction of fauna and flora are consequences of increasing urbanization, promoting more significant contact with synanthropic animals, and enabling the emergence or reemergence of zoonoses such as leishmaniasis and Chagas disease. The role of wild mammals as potential reservoirs has been discussed. Wild species of different orders such as skunks (*Didelphis* spp.) and rodents are already potential reservoirs of *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*. The present study aimed to diagnose small mammals with protozoa that cause leishmaniasis and/or Chagas disease, using molecular techniques. The study was carried out in Botucatu, São Paulo, and samples were collected in fragments of natural vegetation at the Edgárdia and Lageado Experimental Farms. To capture the free-living animals, traps and pitfalls, Shermans and Tomahawks were used, in addition to animals rescued from homes and provided by the Environmental Health Surveillance (VAS) of Botucatu. Fifty-one individuals of six genera were captured in the field (*Didelphis albiventris* and *Gracilinanus microtarsus*, *Akodon* sp., *Juliomys ossitenius*, *Juliomys pictipes*, *Necomys lasiurus*, *Oecomys catherinae*, *Oligoryzomys nigripes*) and 64 provided by VAS (*Didelphis albiventris*, *Guerlinguetus aestuans* and *Lutreolina crasicaudata*), totalling 115 animals belonging to the Didelmorpha and Rodentia orders. The animals were identified, had biological material collected, and after the procedures, they were released in appropriate places. DNA extraction and PCRs were performed using specific primers that underwent sensitivity tests from the collected material. All samples obtained negative results for the presence of DNA of the causative agents of leishmaniasis and Chagas disease, the primers were shown to detect these pathogens. Although the results obtained in this work did not identify the presence of these protozoa in the analyzed samples, small mammals were reported as reservoirs of these parasites and attention to these animals must always remain active.

Keywords: zoonoses, reservoir, small mammals, leishmaniasis, Chagas disease.

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

AIQ – Armadilha de interceptação e queda

CEMPAS – Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

DC – Doença de Chagas

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EDG – Fragmento Fazenda Experimental Edgárdia

EDG 1 – Parcela um da Fazenda Experimental Edgárdia

EDG 2 – Parcela dois da Fazenda Experimental Lageado

FEE – Fazenda Experimental Edgárdia

FEL – Fazenda Experimental Lageado

ha – Hectares

kDNA – DNA do cinetoplasto

LAG – Fragmento Fazenda Experimental Lageado

LAG 1 – Parcela um da Fazenda Experimental Lageado

LAG 2 – Parcela dois da Fazenda Experimental Lageado

LT – Leishmaniose Tegumentar

LV – Leishmaniose Visceral

ng - nanograma

ng/  $\mu$ L – Nanograma/ Microlitro

pb – pares de base

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction)

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

v – volt

VAS – Vigilância Ambiental em Saúde

μL – Microlitro

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa da Fazenda Experimental Edgardia, destacando as parcelas amostradas: Fazenda Edgardia 1 (EDG 1), Fazenda Edgardia 2 (EDG 2). .....	26
<b>Figura 2.</b> Mapa da Fazenda Experimental Lageado, destacando as parcelas amostradas: Fazenda Lageado 1 (LAG 1), Fazenda Lageado 2 (LAG 2). .....	26
<b>Figura 3.</b> Armadilhas utilizadas para a captura de pequenos mamíferos. (a): Armadilha de interceptação e queda; (b): Sherman e (c): Tomahawk.....	28
<b>Figura 4.</b> Coleta de sangue. (a): coleta por gotejamento a partir da veia facial em roedores; (b): coleta por venopunção a partir da veia caudal em marsupiais. ....	29
<b>Figura 5.</b> Animais resgatados pela Vigilância Ambiental em Saúde. (a) e (b): <i>Didelphis albiventris</i> ; (c) e (d): <i>Lutreolina crasicaudata</i> ; (e): <i>Guerlinguetus aestuans</i> . .....	32
<b>Figura 6.</b> Local de resgate dos animais retirados pela VAS no município de Botucatu e cedidos e cedidos ao presente estudo.....	33
<b>Figura 7.</b> Marsupiais capturados nas parcelas amostradas. (a) e (b): <i>Didelphis albiventris</i> ; (c) e (d): <i>Gracilinanus microtarsus</i> .....	35
<b>Figura 8.</b> Roedores capturados nas parcelas amostradas. (a): <i>Akodon</i> sp. (b): <i>Necromys lasiurus</i> ; (c) e (d): <i>Oligoryzomys nigripes</i> ; (f): <i>Juliomys ossitenius</i> .....	35
<b>Figura 9.</b> Abundância e riqueza das Fazendas Experimentais Edgárdia (azul) e Lageado (laranja).....	36
<b>Figura 10.</b> Índices de diversidade e equabilidade na Fazendas Experimentais Edgárdia (azul) e Lageado (laranja). ....	36
<b>Figura 11.</b> Curva de acumulação de espécies ou curva do coletor. ....	37
<b>Figura 12.</b> Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da PCR para um fragmento de kDNA de <i>Trypanosoma cruzi</i> . Coluna 1: Ladder 1Kb Plus (marcador de peso molecular); Coluna 2: controle negativo; Coluna 3: Amostra de DNA de <i>T. cruzi</i> . As setas verdes indicam os valores do peso molecular e a seta vermelha indica o tamanho dos amplicons (330 pb). .....	38
<b>Figura 13.</b> Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da PCR para um fragmento do gene HSP70. Coluna 1: Ladder 1Kb Plus (marcador de peso molecular); Coluna 2: controle negativo; Coluna 3: Amostra de DNA de <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i> ; Coluna 4: Amostra de DNA de <i>L. (L.) infantum</i> ; Coluna 5: Amostra de DNA de <i>L. (L.) major</i> ; Coluna 6: Amostra de DNA de <i>Leishmania (Viannia)</i>	38

*braziliensis*. As setas verdes indicam os valores do peso molecular e a seta vermelha indica o tamanho dos amplicons (330 pb).....

**Figura 14.** Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da PCR para um fragmento do gene HSP70 em diferentes concentrações de DNA de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Coluna 1: Ladder 1Kb Plus (marcador de peso molecular); Colunas 2 a 7: Amostra de DNA de *L. (V.) braziliensis* nas concentrações de 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001; 0,00001 ng respectivamente. As setas verdes indicam os valores do peso molecular e a seta vermelha indica o tamanho dos amplicons (330 pb).....

39

**Figura 15.** Eletroforese em gel de agarose a 1,5% da PCR para um fragmento de kDNA de *Trypanosoma cruzi* em diferentes concentrações de DNA deste protozoário. Coluna 1: Ladder 1Kb Plus (marcador de peso molecular); Colunas 2 a 7: Amostra de DNA de *T. cruzi* nas concentrações de 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001; 0,00001 ng respectivamente. As setas verdes indicam os valores do peso molecular e a seta vermelha indica o tamanho dos amplicons (330 pb).....

39

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Avaliação da sensibilidade dos conjuntos de primers na detecção dos patógenos em diferentes diluições.....	31
<b>Tabela 2.</b> Espécies de pequenos mamíferos não-voadores cedidos pela VAS.....	32
<b>Tabela 3.</b> Lesões apresentadas por indivíduos da espécie <i>Didelphis albiventris</i> .....	34
<b>Tabela 4.</b> Espécies de pequenos mamíferos não-voadores registrados nas Fazendas Experimentais Edgárdia e Lageado.....	34

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	16
<b>1 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
<b>1.1 Zoonoses e Trypanosomatidae</b> .....	16
<b>1.2 <i>Leishmania</i> spp. e as Leishmanioses</b> .....	16
<u>1.2.1 Leishmaniose Tegumentar</u> .....	17
<u>1.2.2 Leishmaniose Visceral</u> .....	18
<b>1.3 <i>Trypanosoma cruzi</i> e a doença de Chagas</b> .....	20
<b>1.4 Pequenos mamíferos como reservatório de <i>Leishmania</i> e <i>Trypanosoma cruzi</i></b> .....	21
<b>1.5 Biologia molecular como ferramenta de diagnóstico</b> .....	23
<b>2 OBJETIVO</b> .....	24
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	24
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	24
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	25
<b>3.1 Locais de estudo</b> .....	25
<u>3.1.1 Fazendas Experimentais Edgárdia e Lageado</u> .....	25
<u>3.1.2 Vigilância Ambiental em Saúde (VAS)</u> .....	27
<b>3.2 Captura de pequenos mamíferos</b> .....	27
<b>3.3 Armadilhas de interceptação e queda</b> .....	27
<b>3.4 Armadilhas do tipo gaiola</b> .....	28
<b>3.5 Coleta de material biológico</b> .....	29
<b>3.6 análises moleculares</b> .....	29
<u>3.6.1 Extração de DNA</u> .....	29
<u>3.6.2 Detecção de <i>Leishmania</i> spp.</u> .....	30

3.6.3 Detecção de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	30
3.6.4 Teste de sensibilidade dos primers .....	31
3.6.5 Visualização dos produtos amplificados na PCR.....	31
3.7 Análise de dados.....	31
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>32</b>
4.1 Animais provenientes da vigilância ambiental em saúde.....	32
4.2 Animais capturados em campo.....	34
4.3 Análises moleculares .....	38
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>45</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO II: TRABALHO CIENTIFICO .....</b>	<b>53</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>54</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>54</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>55</b>
<b>MATERIAL AND METHODS.....</b>	<b>56</b>
<b>RESULTS AND DISCUSSION .....</b>	<b>59</b>
<b>ACKNOWLEDGMENT.....</b>	<b>60</b>
<b>BIBLIOGRAPHIC REFERENCES.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>66</b>
<b>Anexo 1. Protocolo de extração de DNA – sangue fenol/clorofórmio .....</b>	<b>66</b>
<b>Anexo 2. Lista de endereços dos animais capturados e cedidos pela VAS.....</b>	<b>67</b>

## CAPÍTULO I

### 1 REVISÃO DE LITERATURA

#### 1.1 Zoonoses e Trypanosomatidae

Problemas ecológicos envolvendo a destruição da fauna e da flora são consequências da crescente urbanização, promovendo maior contato com animais sinantrópicos, possibilitando a emergência ou reemergência de zoonoses causadas por diferentes agentes etiológicos (FEITOSA et al., 2020). As zoonoses são enfermidades que acometem os animais vertebrados, incluindo os seres humanos (COLVILLE; BERRYHILL, 2007) com ocorrência global. Essas doenças incluem uma ampla diversidade de vetores e de agentes patológicos, como fungos, vírus, bactérias, protozoários e helmintos, (GUILLAUMOT, 2005; HAN; KRAMER, DRAKE, 2016) e geram impactos na saúde única mundial (FEITOSA et al., 2020).

Nesse contexto, destaca-se a importância do conceito de Saúde Única (*One Health*), que busca discutir os aspectos indissociáveis da saúde humana, animal e ambiental. Essa abordagem sugere que as condições sanitárias dos seres humanos estão relacionadas com a saúde animal e, ambas as populações, afetam o ambiente no qual coexistem e são igualmente afetadas pelo mesmo (LIMONGI; OLIVEIRA, 2020). Essa percepção ampla das situações de saúde tem possibilitado a adoção de medidas mais efetivas de saúde-adoecimento e cuidado.

Diante disso, a família Trypanosomatidae é um grupo que reúne espécies de protozoários de diversos gêneros de interesse médico, veterinário e agrícola. Esses microrganismos são capazes de infectar um grande número de vertebrados e invertebrados (que agem como vetores) (PODLIPAEV, 2001). Os gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* são os mais conhecidos dessa família e causam diversas doenças (HOARE, 1972) nas quais os mecanismos de interação parasita-hospedeiro-ambiente são complexos e carecem estudos (COOPER et al., 2017).

#### 1.2 *Leishmania* spp. e as leishmanioses

As leishmanioses são zoonoses ocasionadas por protozoários do gênero *Leishmania* Ross 1903 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), que são transmitidas aos mamíferos silvestres, domésticos e ao homem por meio da picada de fêmeas de dípteros chamados flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae) (GALATI; OVALLOS, 2012; MCINTYRE et al., 2017; QUARESMA; 2011) e faz parte do grupo de doenças tropicais negligenciadas (DTNs) (BRINDHA; BALAMURALI; CHANDA, 2021).

Os flebotomíneos são insetos conhecidos popularmente como “mosquito-palha” e geralmente se deslocam por apenas alguns metros, durante o crepúsculo ou à noite. Os criadouros naturais incluem diversos microhabitats, mas a maioria das espécies estão associadas a ambientes naturais como florestas e cavernas. De maneira geral, se adaptam bem a locais úmidos, escuros e ricos em matéria orgânica (MARCONDES, 2011). Ao se alimentarem de um reservatório vertebrado parasitado os flebotomíneos são infectados. Por meio do repasto sanguíneo eles ingerem sangue e tecido contendo macrófagos com amastigotas, que se diferenciam em promastigotas no sistema digestivo do vetor (AZAMI-CONESA et al., 2021).

Estas doenças apresentam uma heterogeneidade epidemiológica e clínica atribuída à diversidade de espécies de parasitas, vetores e hospedeiros vertebrados envolvidos (QUARESMA, 2011). A maioria dos humanos e animais infectados pelo parasita não desenvolvem sintomas mas, quando presente, a doença pode seguir três formas clínicas básicas em humanos: cutânea, mucocutânea e visceral enquanto que, em animais, são observadas apenas as formas cutânea e/ou visceral (AZAMI-CONESA et al., 2021).

Historicamente, as leishmanioses tem sido difundidas em climas tropicais em vários continentes, incluindo Europa, África, Ásia e Américas (MAXFIELD; CRANE, 2021). Até o ano de 2018, 92 países foram considerados endêmicos ou já haviam reportado casos de leishmanioses dos tipos cutânea e/ou visceral (OMS, 2020).

### 1.2.1 Leishmaniose Tegumentar

A Leishmaniose Tegumentar (LT) é uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, que produz úlceras na pele e mucosas. Existe uma variedade de protozoários envolvidas nos casos de LT no Brasil, dentre essas, as mais importantes são: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (V.) braziliensis* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Estima-se que, anualmente ocorram um milhão de novos casos de LT no mundo (OMS 2020). No continente americano há registros de casos de LT desde os Estados Unidos até a Argentina, com exceção do Chile e Uruguai (RODRÍGUEZ; DÍAZ; PÉREZ, 2013).

Todas as regiões do Brasil possuem registros de casos de LT devido as características específicas de ocupação de territórios e de ecossistemas que propiciam a existência de habitats e ambientes onde localizam-se diferentes vetores e hospedeiros do parasita. No entanto, ambientes florestais antropizados associados ao desmatamento e a urbanização próximas as florestas apresentam casos mais frequentes da doença, favorecendo o desenvolvimento do ciclo peridomiciliar das leishmanioses (NEGRÃO; FERREIRA, 2014).

Estima-se que de 72.000 a 120.000 pessoas sejam afetadas no Brasil anualmente. E no estado de São Paulo foram notificados 4.388 casos entre os anos de 2007 a 2018, além de 221 casos no ano de 2020 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Não foram encontrados dados do contexto municipal de LT na cidade de Botucatu

Os roedores silvestres são considerados os principais reservatórios da espécies de *Leishmania* causadoras da LT (AZAMI-CONESA et al., 2021).

### 1.2.2 Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral é uma doença de evolução crônica, com acometimento sistêmico e, quando não tratada de forma adequada, pode levar a óbito em até 90% dos casos. Em humanos, apenas uma parcela dos indivíduos infectados desenvolve a enfermidade. Estima-se que ocorram anualmente 30.000 novos casos de LV (OMS 2020). No Brasil o agente etiológico da LV é a *Leishmania (Leishmania) infantum* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O Brasil é o país com maior ocorrência de LV na América Latina, tendo em média 90% dos casos registrados no continente. O primeiro caso foi descrito em 1913 no Mato Grosso. No ano de 1934, 41 casos foram identificados em lâminas de viscerotomias praticadas *post-mortem* em pacientes da região Norte e Nordeste. A partir deste momento, a enfermidade vem sendo descrita em vários municípios brasileiros, incluindo mudanças importantes no padrão de transmissão. Anualmente são registrados em média cerca de 3.500 casos (2,0 casos/100.000 habitantes) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A evolução da leishmaniose visceral no estado de São Paulo vem ocorrendo de maneira concomitante ao desmatamento associado as fronteiras agrícolas no centro-oeste do estado (MORETTI; FERREIRA, 2011). Até a década de 90, o estado de São Paulo era considerado livre de casos autóctones de LV, onde os vetores estavam presentes apenas em áreas rurais de alguns municípios (PAULA et al., 2020). Todavia, esse cenário vem se modificando e, até o ano de 2018, o vetor *Lutzomyia longipalpis* foi detectado em 201 municípios do estado (SUCEN, 2018). De acordo com o Ministério da Saúde, foram registrados 72 casos de LV em humanos no ano de 2020 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

No município de Botucatu não foram identificados casos positivos autóctones de LV (COIRO et al., 2014) e o vetor *Lutzomyia longipalpis* não foi encontrado nos levantamentos entomológicos realizados pela SUCEN até o ano de 2018. Entretanto, há registros do vetor em cidades próximas como Agudos, Bauru e Barra Bonita e recentemente (SUCEN, 2018).

O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) atua como importante reservatório de *L. (L.) infantum*, sendo a principal fonte de infecção para os humanos em ambientes urbanos. Estima-se que, para cada caso humano relatado, exista em média 200 cães infectados (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Um estudo empregando anticorpos anti-*Leishmania (Leishmania) infantum* foi realizado em mamíferos silvestres de vida livre pertencentes a 38 espécies na região de Botucatu. O resultado mostrou anticorpos nas espécies *Callithrix jacchus* (sagui-de-tufobranco), *Lepus europaeus* (lebre europeia), *Sphiggurus villosus* (ouriço-cacheiro), *Nasua nasua* (quati), *Eira barbara* (irara) e *Galictis* (furão). Já os gambás não foram soropositivos nesse estudo, porém a possibilidade de infecção nesses animais não deve ser descartada (PAIZ et al., 2015).

### 1.3 *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas

A Tripanossomíase Americana, conhecida como doença de Chagas também é uma doença tropical negligenciada (DTN), causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (BRINDHA; BALAMURALI; CHANDA, 2021). É considerada um problema de saúde com implicações socioeconômicas em países da América Latina, devido a mortalidade precoce, altos custos com assistência médica e previdenciária, além da perda de anos de vida por incapacidade (SIMÕES et al., 2018; WHO, 2002).

A enfermidade apresenta uma fase aguda, que pode ser sintomática e uma fase crônica que se manifesta de diferentes formas. A transmissão ocorre de diversas maneiras, com destaque para a vetorial, devido ao contato com as fezes dos “barbeiros” (ordem, subfamília Triatominae) contaminadas (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Além disso, pode ser transmitida via oral, por ingestão de alimentos contaminados, ou ainda transfusão de sangue infectado, transmissão vertical, transplante de órgãos e acidentes de laboratório (GUHL; RAMÍREZ, 2021) .

Anteriormente, essa doença era considerada um problema de saúde pública apenas na América Latina contudo, se expandiu para áreas não endêmicas como Canadá, EUA e países da Europa (ANDRADE; GOLLOB; DUTRA, 2014). Atualmente estima-se que sete milhões de pessoas estejam infectadas pelo protozoário em todo o mundo e 75 milhões de pessoas correm risco de contrair a infecção. (WHO, 2022).

Os primeiros dados entomológicos e sorológicos sobre a doença no Brasil foram realizados entre os anos de 1975 a 1983 trazendo informações sobre as áreas endêmicas da enfermidade e priorizando esses locais para as ações de controle (SILVEIRA, REZENDE, 1994). Por meio de programas de controle vetorial e melhoria nas condições de moradia, houve uma diminuição na incidência da doença. No entanto, no Nordeste, o número de casos ainda é alarmante, tendo em vista que essa região possui uma grande quantidade de vetores secundários (ARRAIS et al., 2019; COSTA et al., 2018).

Atualmente a transmissão oral tem se mostrado uma importante via de infecção no Brasil, e está frequentemente envolvida nos casos agudos de DC registrados no país nos últimos anos, com destaque para a região amazônica (MARTINS-MELO; CASTRO; WERNECK, 2021; SANTOS et al., 2020). Isso ocorre dado ao elevado consumo de alimentos contaminados e não pasteurizados, como produtos naturais de palma açáí (*Euterpe oleracea*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*) (SANTOS et al., 2020).

No estado de São Paulo, entre os anos de 1985 e 2006, foram registrados em média 40.000 óbitos por DC (SANTO, 2009). Até 2019, a Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), foi o órgão responsável pela investigação da presença dos vetores associados às infecções por *T. cruzi* em ambiente intradomiciliar (DE CARVALHO et al., 2011). Atualmente existem fatores que geram preocupação quanto a possível reemergência da transmissão vetorial no estado: o frequente encontro de marsupiais (*Didelphis* spp.) (TEODORO et al., 2019) e triatomíneos (*Panstrongylus megistus*) (RIMOLDI et al., 2016).

Existem registros disponíveis sobre paciente positivos que realizam ou realizaram acompanhamento médico ambulatorio de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. A maioria dos casos está associada a prováveis picos de transmissão entre 1950 e 1970, no entanto, até o ano de 2018, novos pacientes foram acometidos (NUNES, 2020). Acredita-se que pessoas que foram infectadas até o ano de 1983 têm conhecimento de como contraíram a doença (DE GODOY; MEIRA, 2007).

Cachorros e gatos também foram diagnosticados como positivos para *T. cruzi* (LUCHEIS et al., 2005; LUCIANO et al., 2009; TRONCARELLI et al., 2009; ELOY, 2010;), o que poderia indicar um novo ciclo de transmissão em que algum vetor secundário possa estar envolvido, mesmo que não tenha sido detectado em residências, criando um estado de alerta para a vigilância da doença na cidade (LUCHEIS et al., 2005). Os dados sobre DC em Botucatu referem-se a seres humanos e cachorros, sem informações sobre a participação de mamíferos silvestres como reservatórios.

#### **1.4 Pequenos mamíferos como reservatório de *Leishmania* e *Trypanosoma***

Os pequenos mamíferos são os responsáveis pela formação do grupo ecológico mais diversificado e que compõem a maior parte da riqueza de mamíferos brasileiros. No Brasil existem, em média, 240 espécies de pequenos mamíferos (REIS et al., 2006). No entanto, esse número pode ser subestimado, devido as grandes divergências taxonômicas e as descobertas de novas espécies que vem ocorrendo ao longo dos anos (WEKSLER et al., 2020).

Esses animais apresentam características bem definidas, como tamanho reduzido, alta taxa metabólica e uso de territórios de pequena dimensão, além de diversas estratégias de forrageamento (COROMINAS, 2004), sendo capazes de responder de maneira efetiva as modificações ambientais (PARDINI et al., 2005; NICOLA, 2009). Em contrapartida, existem algumas espécies generalistas que são favorecidas pelo desmatamento e também vetores de doenças humanas (DONALISIO et al., 2008; UMETSU; PARDINI, 2007).

O papel de mamíferos silvestres como potenciais reservatórios tem sido discutido em relatos ocasionais de manifestações clínicas de leishmaniose em espécies silvestres de ordens distintas (DÍAZ-SÁEZ et al., 2014). Algumas espécies ainda apresentam poucos estudos no entanto, o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), gambás (*Didelphis* spp. e *D. marsupialis*) e roedores (*Akodon cursor*, *Necromys lasiurus*, *Rattus rattus*, entre outros) já se apresentam como potenciais reservatórios de *Leishmania* sp. e tem sido descritos em áreas de transmissão nas Américas (ACHILLES, 2018; ROQUE; JANSEN, 2014).

Os marsupiais são os mamíferos com relatos mais frequentes de infecção por *T. cruzi* em todos os biomas (BARROS et al., 2017). Os gambás são reconhecidos como reservatórios e podem ter um papel importante no ciclo de transmissão (ROQUE et al., 2008). Sabe-se que estes animais podem se infectar com *T. cruzi* por via oral pois são onívoros e se alimentam tanto de triatomíneos quanto de outros pequenos mamíferos que podem estar infectados. (JANSEN; XAVIER,; ROQUE, 2018).

A propagação das leishmanioses e DC ocorre de áreas florestadas para áreas antropizadas e/ou periurbanas pela adaptação do vetor por meio do processo de sinantropização (GUERRA et al., 2015; REIS et al., 2013). Os animais silvestres infectados servem como reservatório e como fonte dos protozoários para os vetores, contribuindo para a manutenção e ciclo de transmissão dos patógenos aos seres humanos.

Partindo deste pressuposto, roedores e marsupiais sinantrópicos assumem um papel importante como hospedeiros, tendo em vista a facilidade de adaptação de algumas espécies aos ambientes peridomiciliares (KHLIYAP; WARSHAVSKY, 2010) e por serem considerados reservatórios de relevantes parasitas zoonóticos (HAN et al., 2015; HAN, KRAMER; DRAKE, 2016).

Ainda que o conhecimento sobre a infecção por protozoários do gênero *Leishmania* e *Trypanosoma* tenha crescido ao longo dos anos, por ora há escassez de informações sobre a participação efetiva das diferentes espécies de protozoários e mamíferos envolvidos na transmissão dessas doenças (PAIZ, 2018). Entre os fatores que contribuem para essas lacunas de informações sobre o tema podemos citar as dificuldades referentes ao estudo da relação parasita-hospedeiro em mamíferos silvestres e ao isolamento e identificação das espécies de parasitas nesses animais (ROQUE; JANSEN, 2014).

### **1.5 Biologia molecular como ferramenta de diagnóstico**

Uma das metodologias aplicadas rotineiramente na biologia molecular, a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), passou a ser utilizada como método alternativo no diagnóstico de doenças infecciosas, em consequência da sua alta capacidade de detectar microrganismos patogênicos com alta sensibilidade e especificidade (HOFMANN; GRIOT, CHAIGNAT et al., 2008). Desta forma, torna-se uma ferramenta de diagnóstico valiosa para a detecção e monitoramento de doenças infecciosas em animais, empregando diferentes amostras biológicas com baixas quantidade de DNA como leite, sangue, fezes, secreções e tecidos.

Outra vantagem da técnica PCR é que não é necessário encontrar patógenos viáveis nas amostras biológicas, o que facilita o diagnóstico de doenças complexas e a identificação de microrganismos patogênicos que possuem alto potencial zoonótico e com crescimento *in vitro* lento e fastigioso. Em vista disso, a técnica PCR é recomendada e prescrita pela Organização de Saúde Animal como método de diagnóstico de diversas doenças infecciosas (HAAS; TORRES, 2016).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Por meio deste estudo foi possível descrever a comunidade de pequenos mamíferos de vida livre das Fazendas Experimentais Edgardia e Lageado e a distribuição de pequenos mamíferos sinantrópicos no município de Botucatu.
- Os resultados negativos da presença de DNA de *Leishmania* spp. nos animais capturados corroboram com os dados referentes a ausência de casos autóctones de leishmaniose visceral no município de Botucatu.
- Ainda que os resultados obtidos neste trabalho não tenham identificado a presença de *Trypanosoma cruzi* nos possíveis hospedeiros, a literatura mostra os marsupiais didelfídeos como reservatórios naturais deste parasita e a atenção para com esses animais deve se manter sempre ativa.
- Este é o primeiro estudo que investiga *Leishmania* spp. e *T. cruzi*. em roedores silvestres em Botucatu, SP, contribuindo para o conhecimento atual não só nos aspectos relacionados à vigilância ambiental e ao controle de endemias no município, mas também aos aspectos ecológicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONINI, I.G. **Lageado: um esboço de sua história**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” 11 p., 1998.
- ACHILLES, G. R. **iversidade de pequenos mamíferos, das ordens Rodentia e Didelphimorphia, reservatórios de Tripanossomatídeos (Sarcomastigophora: Kinetoplastida) em um assentamento rural na Amazônia Central**. Dissertação (Mestrado em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia) - Instituto Leônidas e Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus 2018.
- ANDRADE, D. V.; GOLLOB, K. J.; DUTRA, W. O. Acute Chagas Disease: New Global Challenges for an Old Neglected Disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 7, 2014.
- ARRAIS, F. M. DE A. et al. Perfil entomológico da doença de Chagas no município de Potengi – CE, Brasil. **Saúde (Santa Maria)**, v. 45, n. 1, 23 abr. 2019.
- AZAMI-CONESA, I.; GÓMEZ-MUÑOZ, M. T.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A. A systematic review (1990–2021) of wild animals infected with zoonotic leishmania. **Microorganisms**, v. 9, n. 5, p. 1101, 1 maio 2021.
- BARROS, J. H. S. et al. Identification of novel mammalian hosts and Brazilian biome geographic distribution of *Trypanosoma cruzi* TcIII and TcIV. **Acta Tropica**, v. 172, p. 173–179, 1 ago. 2017.
- BERBIGIER, A. P. et al. Trypanosomatid Richness in Wild and Synanthropic Small Mammals from a Biological Station in Rio de Janeiro, Brazil. **Pathogens 2021, Vol. 10, Page 1442**, v. 10, n. 11, p. 1442, 5 nov. 2021.
- BONVICINO, C.; OLIVEIRA, J.; D’ANDREA, O. Guia dos Roedores do Brasil. **Rio de Janeiro: Or**, p. 120, 2008.
- BRANDÃO, E. M. V. et al. Trypanosomatids in Small Mammals of an Agroecosystem in Central Brazil: Another Piece in the Puzzle of Parasite Transmission in an Anthropogenic Landscape. **Pathogens 2019, Vol. 8, Page 190**, v. 8, n. 4, p. 190, 14 out. 2019.
- BRINDHA, J.; BALAMURALI, M. M.; CHANDA, K. An Overview on the Therapeutics of Neglected Infectious Diseases—Leishmaniasis and Chagas Diseases. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 37, 12 mar. 2021.
- CARDIA, D. F. F. et al. First report of *Strongyloides* sp. (Nematoda, Strongyloididae) in *Lutreolina crassicaudata* (Didelphimorphia: Didelphidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 4, p. 884–887, 3 maio 2016.
- CECHIN, S. Z.; MARTINS, M. Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragens de anfíbios e répteis no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 3, p. 729–740, 2000.
- COIRO, C. J. et al. Sistemática de vigilância para Leishmaniose Visceral Canina no Município de Botucatu-SP. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 2014, n. 9, p. 1689–1699, 2014.
- COLVILLE, J.; BERRYHILL, D. **Handbook of Zoonoses: Identification and Prevention**. 1ª ed. Missouri, USA,: Mosby, 2007.
- COOPER, C. et al. Host–Parasite Relationships and Life Histories of Trypanosomes in Australia. In: **Advances in Parasitology**. Crawley: Academic Press, 2017. v. 97p. 47–109.

COROMINAS, I. T. Distribution, population dynamics and habitat selection of small mammals in Mediterranean environments: the role of climate, vegetation structure, and predation risk. **Small**, v. PhD, n. 707, p. 1–178, 2004.

COSTA, M. M. R. DA et al. Doença de chagas: tendência epidemiológica por regiões do Brasil Chagas disease: epidemiological trend by regions of Brazil. **Brazilian Journal of health Review Braz. J. Hea. Rev**, v. 1, n. 1, p. 252–259, 4 nov. 2018.

COSTA, N. A. et al. Metacommunity Structure of Helminths of *Necromys lasiurus* (Rodentia: Sigmodontinae) in Different Land Use Areas in the Brazilian Cerrado. **Journal of Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 271–282, 1 abr. 2019.

DA CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Climatic classification for the districts of Botucatu and São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 1–11, 2009.

DE CARVALHO, M. E. et al. Chagas disease Control Program in the State of São Paulo, Brazil: Serological and entomological aspects of primary school-children surveys. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. SUPPL. 2, p. 95–106, 2011.

DE GODOY, I.; MEIRA, D. A. Seroprevalence of Chagas infection among inhabitants of municipalities in the Botucatu region, State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 5, p. 516–520, 2007.

DÍAZ-SÁEZ, V. et al. High rates of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma nabiasi* infection in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in sympatric and syntrophic conditions in an endemic canine leishmaniasis area: Epidemiological consequences. **Veterinary Parasitology**, v. 202, n. 3–4, p. 119–127, 2014.

DONALISIO, M. R. et al. Aspectos climáticos em áreas de transmissão de hantavirose no Estado de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saude Publica**, v. 24, n. 5, p. 1141–1150, 2008.

DUMONTEIL, E. et al. Shelter cats host infections with multiple *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in southern Louisiana. **Veterinary Research**, v. 52, n. 1, p. 1–8, 1 dez. 2021.

ELOY, L. J. **Avaliação da técnica de hemocultura pela reação em cadeia da polimerase (pcr) utilizando os iniciadores p35/p36 e tcz1/tcz2 para a detecção de *Trypanosoma cruzi* em cães e gatos**. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais), Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

FARIA, M. B.; LANES, R. O.; BONVICINO, C. R. Marsupiais do Brasil: guia de identificação com base em caracteres morfológicos externos e cranianos. 2019.

FEITOSA, L. S. et al. A relevância dos dados epidemiológicos das zoonoses e sua aplicabilidade na saúde única. **Brazilian Journal of health Review Braz. J. Hea. Rev**, v. 3, n. 4, p. 10634, 27 ago. 2020.

FERNANDES, J. J. et al. *Didelphis albiventris* as a carrier of *Leptospira* sp. in the central nervous tissue in the semiarid region of Northeast, Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 73, p. 101560, 1 dez. 2020.

FERNÁNDEZ, M. S. et al. Assessment of the role of small mammals in the transmission cycle of tegumentary leishmaniasis and first report of natural infection with *Leishmania braziliensis* in two sigmodontines in northeastern Argentina. **Parasitology Research**, v. 117, n. 2, p. 405–412, 1 fev. 2018.

FERREIRA, E. DE C. et al. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania*

- braziliensis in rodents from endemic urban area of the New World. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 20 mar. 2015.
- FINOTTI, R.; SANTOS, M. M.; CERQUEIRA, R. Diet, digestive tract gross anatomy and morphometry of *Akodon cursor* Winge (Sigmodontinae): Relations between nutritional content, diet composition and digestive organs. **Mammalia**, v. 76, n. 1, p. 81–89, 1 fev. 2012.
- FOLGUEIRA, C. et al. Genomic organization and expression of the HSP70 locus in New and Old World *Leishmania* species. **Parasitology**, v. 134, n. 3, p. 369–377, mar. 2007.
- GALATI, E. A. B.; OVALLOS, F. G. Description of Two New Sand Fly Species Related to *Nyssomyia antunesi* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 2, p. 238–252, 1 mar. 2012.
- GATTO-ALMEIDA, F. et al. Diversidade, biogeografia, caracterização cariotípica e tricológica dos pequenos mamíferos não voadores do Parque Estadual Rio da Onça, litoral sul do Paraná. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 56, p. 69–96, 2016.
- GUERRA, J. A. O. et al. Tegumentary leishmaniasis in the state of Amazonas: What have we learned and what do we need? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 12–19, 2015.
- GUHL, F.; RAMÍREZ, J. D. Poverty, Migration, and Chagas Disease. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 8, n. 1, p. 52–58, 1 mar. 2021.
- GUILLAUMOT, L. Arboviruses and their vectors in the Pacific—status report. **Pacific Health Surveillance and Response**, p. 45–52, 2005.
- GURGEL-GONÇALVES, R. et al. Geographic distribution of chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. **Journal of Tropical Medicine**, 2012.
- HAAS, D. J.; TORRES, A. C. D. Aplicações das técnicas de PCR no diagnóstico de doenças infecciosas dos animais | R. cient. eletr. Med. Vet.;26: 1-15, jan. 2016. tab | VETINDEX. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 26, p. 1–15, 2016.
- HAN, B. A. et al. Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. v. 112, n. 22, p. 7039–7044, 2015.
- HAN, B. A.; KRAMER, A. M.; DRAKE, J. M. Global Patterns of Zoonotic Disease in Mammals. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 7, p. 565–577, 1 jul. 2016.
- HANNIBAL, W. et al. Traits reveal how habitat-quality gradients structure small mammal communities in a fragmented tropical landscape. **Austral Ecology**, v. 45, n. 1, p. 79–88, 1 fev. 2020.
- HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. **The trypanosomes of mammals. A zoological monograph.**, 1972.
- HOFMANN, M. et al. Bluetongue disease reaches Switzerland. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 150, n. 2, p. 49–56, 2008.
- JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 502, 6 set. 2018.
- JORGE, L. A. B.; SARTORI, M. S. Uso do solo e análise temporal da ocorrência de vegetação natural na fazenda experimental Edgardia, em Botucatu-SP. **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p.

585–592, out. 2002.

KHLYAP, L. A.; WARSHAVSKY, A. A. Synanthropic and agrophilic rodents as invasive alien mammals. **Russian Journal of Biological Invasions**, v. 1, n. 4, p. 301–312, 24 out. 2010.

LIMONGI, J. E.; OLIVEIRA, S. V. DE. COVID-19 e a abordagem One Health (Saúde Única): uma revisão sistemática. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 8, n. 3, p. 139–149, 27 ago. 2020.

LUCHEIS, S. B. et al. Trypanosomatids in dogs belonging to individuals with chronic Chagas' disease living in Botucatu town and surrounding region, São Paulo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. 492–509, dez. 2005.

LUCIANO, R. M. et al. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 181, 2009.

MAGURRAN, A. E. Why diversity? In: **Ecological Diversity and Its Measurement**. [s.l.] Springer Netherlands, 1988. p. 1–5.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, F. et al. *Trypanosoma cruzi*, beyond the dogma of non-infection in birds. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 99, p. 105239, 1 abr. 2022.

MARTINS-MELO, F. R.; CASTRO, M. C.; WERNECK, G. L. Levels and trends in Chagas disease-related mortality in Brazil, 2000–2019. **Acta Tropica**, v. 220, p. 105948, 1 ago. 2021.

MARTINS, E. G. et al. Diet of the gracile mouse opossum (*Gracilinanus microtarsus*) (*Didelphimorphia: Didelphidae*) in a Brazilian cerrado: patterns of food consumption and intrapopulation variation. **Journal of Zoology**, v. 269, n. 1, p. 21–28, 1 maio 2006.

MAXFIELD, L.; CRANE, J. S. **Leishmaniasis**. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021.

MCINTYRE, S. et al. Species-specific ecological niche modelling predicts different range contractions for *Lutzomyia intermedia* and a related vector of *Leishmania braziliensis* following climate change in South America. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 1, p. 157, 24 mar. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença de Chagas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/d/doenca-de-chagas>>. Acesso em: 27 mar. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leishmaniose Tegumentar (LT)**. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/1/lt#:~:text=A%20Leishmaniose%20Tegumentar%20%C3%A9%20uma,\(Leishmania\)%20amazonensis%2C%20L.>](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/1/lt#:~:text=A%20Leishmaniose%20Tegumentar%20%C3%A9%20uma,(Leishmania)%20amazonensis%2C%20L.>)>. Acesso em 12 out. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leishmaniose Tegumentar**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/1/leishmaniose-visceral>>. Acesso em 12 out. 2022.

MORETTI, A. I. P.; FERREIRA, M. C. Dinâmica espacial e regionalização da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo. **Geografia**, v. 36, n. 3, p. 453–468, 2011.

NEGRÃO, G. N.; FERREIRA, M. E. M. C. Considerações sobre a leishmaniose tegumentar americana e sua expansão no território brasileiro. **Revista Percursos – NEMO**, p. 147–168, 2014.

NICOLA, P. A. Comunidades De Pequenos Mamíferos Como Indicadores De Qualidade Ambiental No Planalto Norte Catarinense. p. 145, 2009.

NUNES, É. A. P. **Epidemiologia espacial da Doença de Chagas no Estado de São Paulo e Fatores associados ao Desenvolvimento das formas cardíacas e digestivas em uma coorte de pacientes admitidos com a forma crônica indeterminada.** Botucatu: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2020.

PAIZ, L. M. et al. Serological Evidence of Infection by *Leishmania (Leishmania) infantum* (Synonym: *Leishmania (Leishmania) chagasi*) in Free-Ranging Wild Mammals in a Nonendemic Region of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 15, n. 11, p. 667–673, 13 nov. 2015.

PAIZ, L. M. **Infecção por agentes das leishmanioses, doença de Chagas e febre maculosa brasileira em mamíferos silvestres de vida livre em área de proteção ambiental do município de Campinas.** Tese (Doutorado Saúde Coletiva) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

PARDINI, R. et al. The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. **Biological Conservation**, v. 124, n. 2, p. 253–266, 2005.

PAULA, E. M. N. DE et al. Análise espacial e temporal da leishmaniose visceral no Estado de São Paulo em 1970 a 2014: aumento das áreas de risco ao longo do tempo. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e685974494, 30 maio 2020.

PINOTTI, B. T.; NAXARA, L.; PARDINI, R. Studies on Neotropical Fauna and Environment Diet and food selection by small mammals in an old-growth Atlantic forest of south-eastern Brazil Diet and food selection by small mammals in an old-growth Atlantic forest of south-eastern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 46, n. 1, p. 1–9, 2011.

PODLIPAEV, S. The more insect trypanosomatids under study-the more diverse Trypanosomatidae appears. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 5–6, p. 648–652, 1 maio 2001.

QUARESMA, P. F. **Estudo da Leishmaniose Tegumentar na Terra Indígena Xakriabá: o parasito, os hospedeiros e os vetores.** Belo Horizonte : Fundação Oswaldo Cruz , 2011. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde), Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2011.

REIS, S. R. et al. Occurrence of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the peridomestic environment in an area of transmission focus for cutaneous leishmaniasis in Manaus, Amazon. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 1, p. 121–124, 2013.

RIBEIRO, R. D.; BARRETTO, M. P. Studies on wild reservoirs and vectors of *Trypanosoma cruzi*. LH-Natural infections of *Sciurus (Guerlingueutus) aestuans ingrami* by *T. cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo** , v. 14, n. 6, p. 352–359, 1972.

RIMOLDI, A. R. et al. *Trypanosoma cruzi* isolated from a triatomine found in one of the biggest metropolitan areas of Latin America. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 2, p. 183–189, 2016.

RODRÍGUEZ, E. M.; DÍAZ, F.; PÉREZ, M. V. Spatio-temporal clustering of American Cutaneous Leishmaniasis in a rural municipality of Venezuela. **Epidemics**, v. 5, n. 1, p. 11–19, mar. 2013.

ROQUE, A. L. R. et al. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic

mammals in three areas of orally transmitted chagas disease outbreaks. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 5, p. 742–749, 1 nov. 2008.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, 1 dez. 2014.

ROSSI, N. F. **Pequenos mamíferos não-voadores do Planalto Atlântico de São Paulo: Identificação, história natural e ameaças**. [Dissertação (Mestrado em Ciências - Área zoológica), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SANTO, A. H. Tendência da mortalidade relacionada à doença de chagas, estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2006: Estudo usando causas múltiplas de morte. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 26, n. 4, p. 299–309, out. 2009.

SANTOS, E. F. et al. Acute Chagas disease in Brazil from 2001 to 2018: A nationwide spatiotemporal analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 8, p. e0008445, 1 ago. 2020.

SIMÕES, T. et al. Chagas disease mortality in Brazil: A Bayesian analysis of age-period-cohort effects and forecasts for two decades. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 9, p. e0006798, 1 set. 2018.

SOLANO-GALLEGO, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, 4(86):1-16.

SUCEN. **Presença do vetor *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<https://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/homepage/downloads/arquivos-leishmaniose-visceral>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

TALAMONI, S. et al. Diet of some species of Neotropical small mammals. **Mamm Biol**, v. 73, p. 337–341, set. 2008.

TEODORO, A. K. M. et al. Gastrointestinal, skin and blood parasites in *Didelphis* spp. from urban and sylvatic areas in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 16, p. 100286, 1 abr. 2019.

TRONCARELLI, M. Z. et al. *Leishmania* spp. and/or *Trypanosoma cruzi* diagnosis in dogs from endemic and nonendemic areas for canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2–4, p. 118–123, 14 out. 2009.

UMETSU, F.; PARDINI, R. Small mammals in a mosaic of forest remnants and anthropogenic habitats — evaluating matrix quality in an Atlantic forest landscape. **Landscape Ecology**, p. 517–530, 2007.

VALENTE, D.; FERREIRA, M. C. Análise geoespacial da leishmaniose tegumentar americana no estado de São Paulo: uma contribuição à geografia da saúde. ( Geospatial analysis of American cutaneous leishmaniasis in ... **Estudos Geográficos: Revista Eletrônica de Geografia**, n. October, p. 0–17, nov. 2020.

VIRREIRA, M. et al. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. **The American Society of Tropical**

**Medicine and Hygiene**574, v. 68, n. 5, p. 574–572, maio 2003.

WEKSLER, A. et al. Ten New Genera of Oryzomyine Rodents ( Cricetidae : Ten New Genera of Oryzomyine Rodents ( Cricetidae : Sigmodontinae ). **American Museum of Natural History**, v. 2006, n. May, p. 1–29, 2020.

WHO. **WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee.** 2002.

WHO, W. H. O. **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**WHO technical report series. Geneve , 22 mar. 2010.

WHO, W. H. O. **Leishmanioses.** Disponível em <[https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1)>. Acesso em: 21 de out. 2022.

WHO, W. O. H. **Doença de Chagas (tripanossomíase americana).** Disponível em: <[https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1)>. Acesso em: 5 mar. 2022.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference - Google Livros.** 3. ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland,: [s.n.].

ZAPPAROLI, D. et al. Commercially acquired açaí pulps contamination by Trypanosoma cruzi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 363, p. 109508, 16 fev. 2022.