

**O papel dos pequenos roedores e marsupiais
no ciclo de transmissão de *Trypanosoma cruzi*
e *T. evansi* em áreas com diferentes
características ambientais no Pantanal Sul-
Matogrossense**



Vitor Rademaker

Rio de Janeiro

Janeiro/2010



Ministério da Saúde

FIOCRUZ - Instituto Oswaldo Cruz

Pós-Graduação em Biologia Parasitária

O papel dos pequenos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de *Trypanosoma cruzi* e *T. evansi* em áreas com diferentes características ambientais no Pantanal Sul-Matogrossense

Vitor Rademaker

Orientadores:

Dra. Ana Maria Jansen

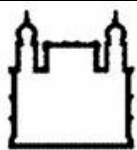
Dr. Paulo Sérgio D'Andrea

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Biologia Parasitária, e desenvolvida no Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos e no Laboratório de Biologia de Mamíferos Reservatórios (Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz).

Suporte Financeiro: Earthwatch Institute, USAID, Instituto Conservação Internacional do Brasil, The Center for Infectious Disease Dynamics (CIDDD)-Penn State University, CNPq/Fullbright.

DBP-IOC

Rio de Janeiro – Janeiro de 2010



Ministério da Saúde

FIOCRUZ - Instituto Oswaldo Cruz

Pós-Graduação em Biologia Parasitária

Esta tese intitula-se:

“O papel dos pequenos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de *Trypanosoma cruzi* e *T. evansi* em áreas com diferentes características ambientais no Pantanal Sul-Matogrossense”

Apresentada por:

VITOR RADEMAKER

Orientadores: Dra. Ana Maria Jansen e Dr. Paulo Sérgio D’Andrea

Aprovada em: 18/01/2010

Examinadores:

Dra. Cibele Rodrigues Bonvicino – IOC/Fiocruz (Presidente)

Dr. Adauto José Gonçalves de Araújo – IOC/Fiocruz

Dr. Carlos Eduardo de Viveiros Grelle – UFRJ

Dra. Marli Lima – IOC/Fiocruz

Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet – IOC/Fiocruz

Dedico esta Tese à minha
mãe, Anecy, meus irmãos,
Ernesto e Hugo, meu sobrinho
Gustavo, e à memória de meu
pai, Armando.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pelas oportunidades de crescimento concedidas a mim, pelas dificuldades que me ajudou a passar e a vencer nesta e em outras existências. Pelas pessoas que colocou e colocará no meu caminho como parte dos ensinamentos necessários à minha evolução como pessoa! Muito obrigado por esta vida maravilhosa!

Em seguida, agradeço aos meus super orientadores: Ana Jansen e Paulo Sérgio D'Andrea! Muito obrigado pelo apoio nas fases mais difíceis deste meu doutorado, pelos ensinamentos e confiança. Só vocês sabem o quanto apanhei e sofri neste período, sei também que vocês sofreram juntos comigo um tanto também. Muito obrigado por acreditarem em mim e me aturarem, sei que sou cabeça dura às vezes, mas antes assim do que aceitar tudo sem questionar, não? Antes de tudo, vocês são grandes amigos, por quem tenho um carinho imenso e admiração infinita!

Agradeço ao meu “supervisor” na Penn State University, Peter Hudson, pelo exemplo de vida e de pessoa que é. Pelo exemplo na eficiência do manejo do tempo em sua vida, você é realmente impressionante! Pela oportunidade de fazer parte de um dos mais renomados grupos de pesquisa em doenças infecciosas no mundo, “The Center for Infectious Disease Dynamics” (CIDDD). A oportunidade de participar de discussões e estudar fora do meu país foi realmente única, com tudo de bom e de ruim que aconteceu. Muito obrigado!

Agradeço ao Heitor Herrera, pela companhia e ensinamentos em campo, pelo exemplo de um vencedor na vida. Por sua amizade, discussões e brincadeiras, seu jeito “easy going”, pela confiança depositada em mim. Muito obrigado!

Agradeço ao Guilherme Mourão, por me conceder um espaço para trabalhar em seu laboratório na Embrapa Pantanal, pelas discussões filosóficas e científicas e pela amizade! Muito obrigado! E desculpe se fui “abusado” em algum momento...

Não posso esquecer de maneira alguma de meu fiel escudeiro de campo, Divino Aparecido Elias! Muito obrigado pela sua sinceridade, honestidade, amizade e sua pilha duracel!!! Caramba ele não parava de trabalhar... ficava meio chateado quando não tinha o que fazer! Você é uma pessoa de bom coração que merece vencer na vida! Fico feliz em ter te ajudado a vencer algumas etapas em sua vida! Continue em frente!

Agradeço à família “LBCE”, hoje LBPMSR (complicado!), Bernardo, Vanderson, Juberlan, André Roque e André Campos, Divino, Michele, Natalie, Arnaldo, Rosana, Raquel, Neto, Cecília (antes estagiária, hoje contratada da FIOCRUZ!), Samantha, Tatiana Freitas.... Me desculpem se esqueci alguém... nossa, é muita gente. Valeu mesmo galera pela amizade e mil e uma ajudas, é sempre muito divertido trabalhar com vocês!!!

Agradeço à galera do Lab Trip, muito obrigado a todos pela ajuda com as análises sorológicas, contagem de leucócitos e uma série de coisas que aprendi com vocês. Em especial gostaria de agradecer aos técnicos amigos: Marcão e Carlos! Não posso esquecer também da Marilene! E de algumas pessoas que ajudaram diretamente no meu trabalho, Monica, Daniela Rosas, André (de novo!) e Vanderson (de novo!). Muito obrigado pessoal!

Agora ao povo dos EUA! Primeiramente aos meus melhores amigos e companheiros de discussões e crises: Kurt, Eleca e Cris, vocês me ajudaram muito mesmo!

Aos meus “brothers” de coração, brasileiros amigos, alguns nos EUA, em especial ao Adriano, Chica, Sylvia, Leo e Stefano, sem vocês estaria realmente sozinho naquela terra estranha de gente esquisita! E também ao Chokito, Patricia, Érica, Sylvia e Zucco! Vocês são verdadeiros irmãos e me apoiaram em momentos muito difíceis na minha vida! Muito obrigado!

Agradeço a galerinha do LabVert que me deu um help e tanto nas coletas, Prof. Finotti, Diogo, Ana Beatriz, Vanina e Maja, muito obrigado!

Ao povo do Earthwatch e do Instituto Conservação Internacional do Brasil – Pantanal. Em especial à Alexine, Don, Reinaldo, Ellen, Hellen, Reginaldo e Camila.

Foi uma ótima experiência trabalharmos em conjunto. Sem deixar de agradecer e muito aos diversos grupos de voluntários que nos prestaram uma ajuda inestimável, troca de experiências e divertidas festas de encerramento!

Ao povo da Fazenda Rio Negro, Suzana, Tasso, Rodrigo, Picolé, Dona Geni, Lico, Seu Jorge, Seu Japão, ao Ilustre Baiano! Muito obrigado pela ajuda, amizade e carinho de todos!

Ao povo da Fazenda Nhumirim, Marcos Tadeu, Beto, Sidney, Seu Armindo, Murilo, Marcos José, Vadir, Augusto, Seu Roberto, Seu Marcio, Messias, Vitor Paraguaio, Márcia, aos motoristas off-road total Seu Moacir, Ricardo, Seu Airton, aos professores da escola e aos alunos! Muito obrigado pela companhia, ajuda, ensinamentos, carinho e amizade de todos! Em especial à dona Fátima e à memória de Dona Leda, minhas amigas super cuidadosas que me trataram como filho desde minha chegada, muito obrigado pelo carinho recebido, adoro vocês!

Ao pessoal da Embrapa, em especial ao Comastri, Thierry e Odilza! Obrigado pela oportunidade de trabalhar em conjunto com esta empresa maravilhosa! Sem me esquecer é claro do Bira, grande Bira! Muito obrigado pela amizade e apoio!

À Staff da Penn State, Kathryn, você é uma super secretária, me salvou diversas vezes de enrascadas, assim como meu caro orientador internacional, Markus Mayer! Muito obrigado e desculpe o trabalho... Diane, Linda e o pessoal do financeiro, IT e manutenção, ao povo que me socorreu quando quebrei a clavícula caindo da bicicleta! Obrigado!

Ao povo da Ecology Brasil, em especial ao Paulo Mário, Ivan, Saulo, Hellen, Policarpo e Victor! Muito obrigado pela amizade e apoio!

Aos meus filhotes, gatinhos lindos criaturas maravilhosas de Deus, a companhia destes bichinhos é uma coisa maravilhosa, um amor sincero! Obrigado por existirem!

À Comissão de pós-graduação, muito obrigado pelo apoio e compreensão, sem dúvida sou enormemente grato a vocês!

Aos membros da banca examinadora, muito obrigado!

Aos meus mais recentes amigos que tem um papel importantíssimo na minha vida, com os quais compartilho diversas situações de vida e aprendo muito pelo exemplo de pessoa que são: Chico, Carlos Edmundo, Pedro Paulo, Flávia, Maria Fernanda, Marcio Aguiar, Jonathan, Selene, Edi, Ana Paula, Alessandra, Rosanna, Carlos César. Muito obrigado por toda a força, confiança e por me apoiarem e não desistirem nunca de querer me ajudar a conquistar o melhor pra mim!!! Estamos juntos nesta caminhada!

Um agradecimento muito especial à minha companheira pelo tempo deste doutorado, Fabiana Rocha, por seu apoio nas horas mais difíceis, suas sugestões, companhia, amizade, amor e carinho. Muito obrigado por tudo que você me ajudou a enxergar e a mudar em minha vida. A convivência com você foi um enorme ensinamento diário. Acho que nunca serei capaz de lhe retribuir toda a ajuda que você me prestou nas mais diversas e importantes áreas da minha vida! Só você sabe o quanto foi e é importante para mim, você realmente mudou minha vida e o jeito de eu ver o mundo! Que Deus te proteja e ilumine seu caminho, tenho certeza de que você irá vencer onde quer que vá, você é sempre muito querida e admirada por todos pelo seu caráter, jeito de levar a vida e trabalho duro e sério! Te admiro demais por todas as coisas que você faz, você é um exemplo de mulher! Por isso tudo lhe deixo o meu muitíssimo obrigado, um enorme beijo no seu coração e nos seus olhos, com todo meu carinho e admiração! Que você seja muito feliz!

Não posso deixar de agradecer à Carmélia e Welington, vocês são um casal lindo e exemplar! Adoro a simplicidade, harmonia e paz de espírito que vocês têm e transmitem! Muito obrigado pela confiança depositada em mim, apoio, por me ajudarem em horas difíceis, por me ajudarem a entender melhor a nossa crença, pelo amor e carinho que sempre me tratam! Desculpem-me se deixei a desejar em alguns momentos, mas podem ter certeza de que dei o melhor de mim sempre! Agradeço todos os dias a Deus por ter colocado vocês e a Bia em meu caminho, amo vocês! Que Deus ilumine vocês e todas as pessoas à sua volta!

Lú, você também é uma pessoa linda, alegre decidida, um exemplo de perseverança, de quem corre atrás dos seus sonhos! Tenho certeza de que se nos empenharmos em nossos sonhos acontece o que aconteceu com você, você venceu e chegou onde queria! Parabéns, sem dúvida você foi a melhor cunhada que já tive! Parabéns a todos vocês por formarem uma família linda, amiga e cuidadosa! Que exemplo! Muito obrigado!

Agradeço enormemente à minha família, que nunca me abandonou e nem desistiu de mim este tempo todo, sei que passei muito tempo longe de vocês, mas graças a Bia, pude perceber o quanto estava errado e o quanto estava perdendo com esta distância! Mãe você sempre foi e é uma mãe maravilhosa, nunca deixou me faltar nada na vida, não tenho palavras para expressar todo meu agradecimento a você, posso apenas te dizer do fundo do meu coração que te amo muito! O mesmo digo aos meus irmãos! Ernesto, você é um exemplo de garra e perseverança e de firmeza na vida, tenho muito a aprender contigo ainda sobre muitas coisas! Hugo, desejo o melhor para sua vida e de seu filhinho maravilhoso, que possamos ter sempre nossos papos carinhosos e de confiança! Prometo a vocês não ficar mais ausente, espero poder ajudá-los como vêm sempre me ajudando! Amo vocês! Gostaria de agradecer a meu querido pai, Armando! Você foi um exemplo de garra e perseverança na vida! Gostaria muito que estivesse conosco neste momento de conquista, para podermos vibrar juntos! Pai, onde quer que você esteja, te agradeço pela educação que você e minha mãe me deram, pelo carinho e amor incondicional, e por vocês nos apoiarem e se orgulharem sempre de nós, Muito Obrigado!

Por último, gostaria de agradecer às agências financiadoras que tornaram possível a realização deste projeto no Pantanal e a realização de parte do meu doutorado na Penn State University e conclusão na FIOCRUZ! São eles: CNPq/Fullbright, CIDD, Penn State University, Earthwatch Institute, Instituto Conservação Internacional do Brasil, IOC-FIOCRUZ.

Resumo

A expansão das fronteiras agrícolas exigida pelo crescimento populacional humano tem causado impactos ambientais com consequências que se estendem da escala local à global. O Pantanal brasileiro é uma região de grande diversidade biológica e que sofre alterações ambientais, induzidas por humanos através da pecuária extensiva, e alterações ambientais sazonais, causadas pelo regime de inundação. Nesta região, o Mal das Cadeiras em cavalos, causado por *Trypanosoma evansi*, representa um fator de impacto à pecuária extensiva no Pantanal, onde cavalos são utilizados no manejo do gado e como principal meio de transporte. Embora não haja relatos da Doença de Chagas no Pantanal, *Trypanosoma cruzi* é encontrado circulando em alta prevalência em animais silvestres em vários biomas. Neste contexto, o objetivo desta tese foi avaliar o papel dos pequenos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de *T. cruzi* e *T. evansi* e como alterações ambientais causadas por humanos podem influenciar na micro e macrofauna do Pantanal e na interação entre as mesmas. Para isso comparamos a diversidade de roedores e marsupiais e de helmintos de *Thrichomys pachyurus* entre uma área de reserva e uma área de pecuária extensiva no Pantanal, o perfil de infecção por *T. cruzi* e *T. evansi* e analisamos ainda o impacto da infecção natural por dois tripanosomatídeos em três espécies de roedores silvestres. A criação de gado na área estudada não estava associada à perda de riqueza de espécies nem mudança na composição de espécies, mas influenciou na abundância relativa das espécies e padrão de ocupação dos habitats. O roedor *O. mamorae* foi a espécie que apresentou prevalência mais alta de ambos tripanosomas, provavelmente por ser encontrado nos mesmos ambientes utilizados tanto por Tabanídeos como por Triatomíneos, vetores de *T. evansi* e *T. cruzi*, respectivamente. Apesar da baixa prevalência de animais com parasitemias expressivas, os marsupiais apresentaram maior potencial de amplificação de *T. cruzi*. Os roedores examinados apresentaram baixo impacto das infecções por *T. evansi* e *T. cruzi* nos parâmetros hematológicos estudados. No roedor *T. pachyurus* as infecções por *T. evansi* e/ou helmintos, não apresentaram impacto relevante à saúde do animal, a julgar pelos parâmetros hematológicos dentro dos limites normais. Este roedor apresentou alta diversidade de helmintos, provavelmente por ocupar diversos tipos de habitat, sendo considerado habitat-generalista nas áreas estudadas. A presença de um nematódeo de cervídeos e porcos em *T. pachyurus*, apenas na área de gado, sugere que a criação de gado concentra diferentes espécies em uma mesma mancha e/ou mesmo tipo de habitat, ocasionando o compartilhamento de ambiente e a transmissão/aquisição de parasitos entre espécies distintas. Concluímos que nas áreas estudadas os pequenos roedores e marsupiais apresentam papel secundário na manutenção do ciclo de transmissão de *T. cruzi* e *T. evansi* em comparação com outras espécies de mamíferos no Pantanal.

Abstract

The demand for agriculture expansion required for the growing human population has caused from local to global scale environmental impacts. The Brazilian Pantanal is a region of great biological diversity, which suffers anthropogenic environmental alterations, caused by cattle ranching, and natural environmental alterations, caused by seasonal flooding. In this region, the horse illness called “Mal das Cadeiras”, caused by *Trypanosoma evansi*, can cause major impacts to the cattle ranching activities, where horses are frequently used for cattle management activities and transportation. Although in the Pantanal, human Chagas Disease has not been reported, *Trypanosoma cruzi* has been found in circulating in high prevalence in wild animals in a variety of Biomes. In this context, the objective of this thesis was to evaluate the role of small rodents and marsupials in the transmission cycle of *T. cruzi* and *T. evansi*, and how anthropogenic environmental alterations may influence the micro and macro fauna in the Pantanal, and also how they interact with each other. For that the diversity of small rodents and marsupials and the helminthes of *Thrichomys pachyurus* were compared between a preserved area and a cattle ranching area, as well as the infection profile of *T. cruzi* and *T. evansi* and analyzed the impact of the natural infection by *T. cruzi* and *T. evansi* in three species of wild rodents. Cattle ranching was not associated to species richness loss nor to a change in species composition, but has influenced on the relative abundance of the small rodent and marsupial species and their habitat occupation pattern. The rodent *O. mamorae* was the species with the highest prevalence of both trypanosomes, probably for being present in the same habitats as Tabanid flies and Triatomine bugs, vectors of *T. evansi* and *T. cruzi*, respectively. Despite of the low prevalence of animals with expressive parasitemias, marsupials presented a higher potential for amplifying *T. cruzi*. The examined rodents presented low impact to the infections by *T. cruzi* and *T. evansi* in the studied blood parameters. In the rodent, *T. pachyurus* the infections by *T. evansi* and/or helminthes did not present a relevant impact to the animal’s health, as their hematological parameters were within the normal limits. This rodent presented high diversity of helminthes, probably for occupying several habitat types, being considered a habitat-generalist in the studied areas. The presence of a nematode from cervids and pigs in *T. pachyurus* only in the cattle area, suggests that cattle ranching forces different species to share a same habitat type and/or patch, facilitating the transmission/acquisition of parasites between distinct species. We concluded that in the studied áreas the small rodents and marsupials presented a secondary role in the maintenance of the transmission cycle of *T. cruzi* and *T. evansi* in comparison to other mammal species in the Pantanal.

ÍNDICE

Agradecimentos	iv
Resumo	ix
Abstract	x
Índice	xi
Índice de figuras	xiii
1 - Introdução.....	1
1.1 - Os Trypanosomatidae	1
1.2 - Um histórico sobre a evolução do gênero Trypanosomatidae.....	1
1.3 - <i>Trypanosoma cruzi</i>	3
1.4 - <i>Trypanosoma evansi</i>	6
1.5 - Peculiaridades da transmissão de <i>T. evansi</i> e <i>T. cruzi</i>	10
1.6 - O diagnóstico da infecção por <i>T. cruzi</i> em animais silvestres e sua interpretação.....	11
1.7 - O diagnóstico da infecção por <i>T. evansi</i> em animais silvestres	12
1.8 - Parasitismo e a Interação Parasito-Hospedeiro	13
1.9 - Hospedeiro Reservatório – definição	15
1.10 - Bioindicadores.....	17
1.11 - Parasitos como reguladores de populações de mamíferos.....	18
1.12 - O Ambiente: O Pantanal.....	19
1.13 - Área de estudo: Fazenda Alegria e Fazenda Rio Negro	22
1.14 - Justificativa.....	23
2 - Objetivos	25
2.1 - Objetivos específicos.....	25
Capítulo 1	26
Capítulo 2	35

3 - Discussão	42
3.1 - Riqueza e composição das espécies hospedeiras	42
3.2 - Características Bionômicas, Distribuição e abundância das espécies hospedeiras.....	43
3.2.1 - Roedores	43
3.2.2 - Marsupiais	48
3.3 - Diferenças ambientais entre a Fazenda Rio Negro e Fazenda Alegria	52
3.4 - Padrões de infecção.....	53
3.4.1 - <i>Trypanosoma cruzi</i>	54
3.4.2 - <i>Trypanosoma evansi</i>	55
3.4.3 - Infecções concomitantes	56
3.5 - O Impacto de <i>T. cruzi</i> e <i>T. evansi</i> sobre a saúde dos hospedeiros.....	57
3.6 - O papel dos pequenos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de <i>T. evansi</i> e <i>T. cruzi</i>	58
4 - Conclusões.....	61
5 - Bibliografia	62
6 - Anexo 1	73
7 - Anexo 2	74
8 - Anexo 3	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Posição sistemática do gênero <i>Trypanosoma</i> segundo Levine et al.1980: Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Classe Zoomastigophorea, Ordem Kinetoplastida, Família: Tripanosomatidae, Gênero <i>Trypanosoma</i>	2
Figura 2 – Vista geral da paisagem de uma área típica do Pantanal brasileiro.	20
Figura 3 – <i>Oecomys mamorae</i> , rato arborícola (Foto: Vitor Rademaker).....	44
Figura 4 – <i>Thrichomys pachyurus</i> , rato-boiadeiro (Foto: Vitor Rademaker).....	45
Figura 5 – <i>Clyomys laticeps</i> , rato-de-espinho (Foto: Vitor Rademaker).....	46
Figura 6 – <i>Gracilinanus agilis</i> , cuíca (Foto: Vitor Rademaker).	48
Figura 7 – <i>Monodelphis domestica</i> , rato-cachorro (Foto: Vitor Rademaker).....	49
Figura 8– <i>Thylamys macrurus</i> , cuíca (Foto: Vitor Rademaker).	50
Figura 9– <i>Philander frenatus</i> , cuíca-cinza-de-quatro-olhos (Foto: Vitor Rademaker).	51

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Os Trypanosomatidae

Os Trypanosomatidae podem ser considerados como um dos grupos de parasitos de alto sucesso evolutivo, pois tem ampla distribuição, infectam um amplo espectro de hospedeiros e apresentam alta heterogeneidade e plasticidade biológica (Araújo et al. 2009). Este grupo de protozoários inclui parasitos de interesse para a vigilância sanitária, uma vez que apresentam risco à saúde pública e podem causar impacto na economia local, tais como *Phytomonas*, *Trypanosoma spp.* e *Leishmania spp.* Aliado a isto, a complexidade destes organismos exemplificada por sua peculiar biologia molecular e celular e organização genética (Donelson et al. 1999), geram interesse não só em estudos parasitológicos aplicados como em pesquisa básica. Embora muito estudada em função de seus representantes dixerem parasitos de mamíferos, a família Trypanosomatidae inclui numerosos outros gêneros restritos a hospedeiros invertebrados. Além da família Trypanosomatidae, os Kinetoplastida abrangem a família Bodonidae (Figura 1) – que também inclui parasitos responsáveis por doenças em peixes de valor comercial: *Ichthyobodo* e *Trypanoplasma (Cryptobia salmositica)*. No entanto, os Bodonidae, em sua maioria, são protistas bacterívoros de vida livre, encontrados principalmente em ecossistemas bênticos (Simpson et al. 2004). Embora exaustivamente estudados, a história evolutiva dos Kinetoplastida é até hoje pouco conhecida.

1.2 - Um histórico sobre a evolução do gênero Trypanosomatidae

A discussão sobre a sua origem (hospedeiro ancestral inseto ou mamífero) e evolução data do início do século passado, quando Minchin e Legèr apresentaram duas hipóteses opostas: Legèr –(1904) propôs que os parasitos do gênero *Trypanosoma* derivaram dos tripanoplasmas parasitos de sangue de peixe, quando eram transmitidos por sanguessuga. Através das sanguessuga estes parasitos foram transmitidos a vertebrados aquáticos que ao se adaptarem a ambientes terrestres,

levaram os parasitos para o meio terrestre. Quando os insetos terrestres desenvolveram hábitos hematofágicos, estes se infectaram a partir da ingestão de sangue de vertebrados terrestres infectados. Ao se adaptarem ao tubo digestivo de insetos, alguns Tripanosomatídeos adaptaram-se aos mamíferos. Tripanosomas de mamíferos, segundo este autor, derivaram de promastigotas parasitos de tubo digestivo de insetos. Ao contrário, Minchin (1905) propõe que a família Trypanosomatidae deriva de ancestrais parasitos do tubo digestivo de mamíferos que paulatinamente foram ganhando a intimidade dos tecidos dos hospedeiros até adaptarem-se à corrente circulatória. Insetos passaram a atuar como vetores após a aquisição de hábitos hematofágicos.

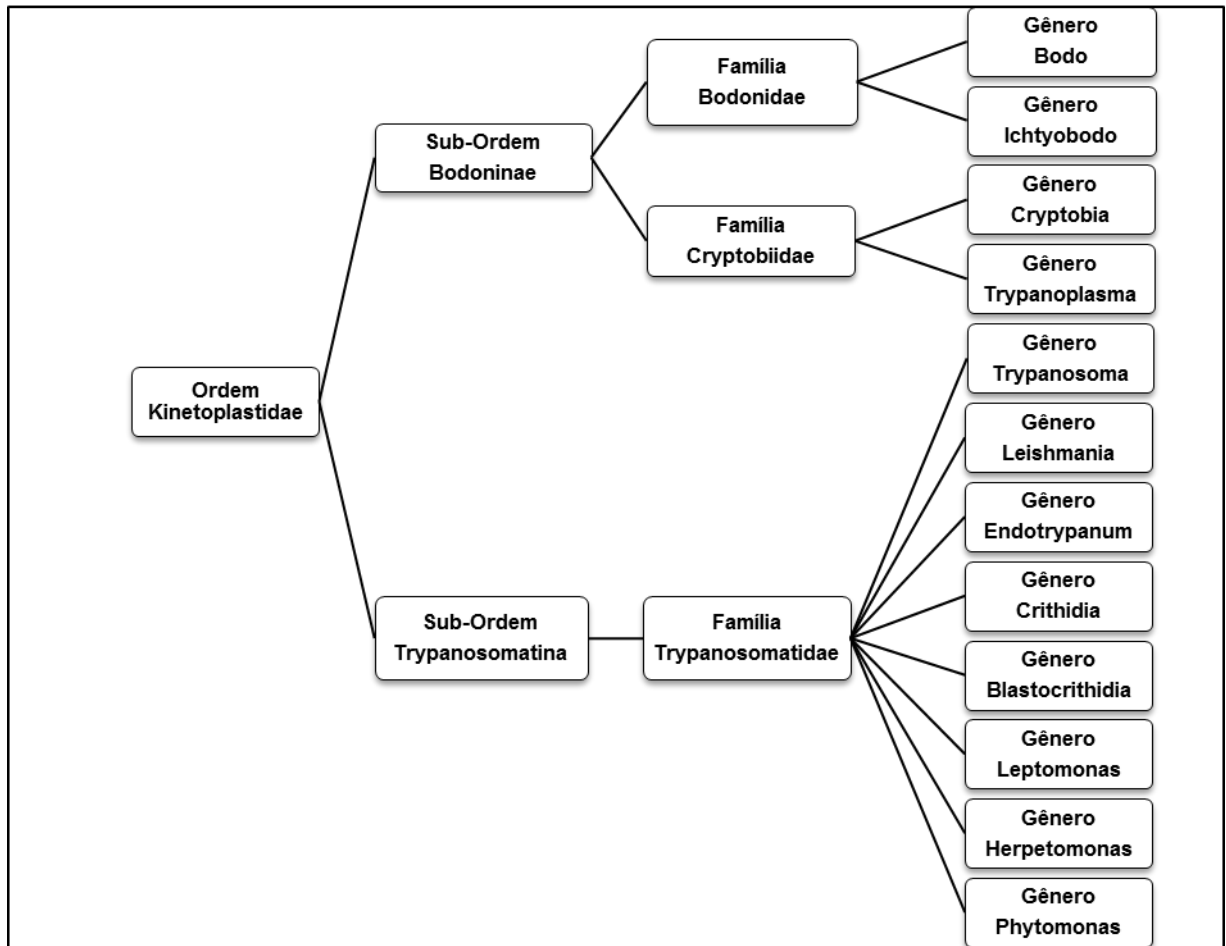


Figura 1 - Posição sistemática do gênero *Trypanosoma* segundo Levine et al. (1980): Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Classe Zoomastigophorea, Ordem Kinetoplastida, Família: Trypanosomatidae, Gênero *Trypanosoma*.

A origem dos tripanosomatídeos de vertebrados a partir dos tripanosomatídeos parasitos de tubo digestivo de insetos foi aceita por vários outros autores (Brumpt, 1908, Roubaud, 1909) até que em 1912 o próprio Minchin (1912) revê sua hipótese e passa a aceitar as hipóteses de Legèr. A partir daí, embora a hipótese do invertebrado prevalecesse (como até hoje) ainda não se obteve um consenso. Assim, Deane et al. (1984) observaram que o *T. cruzi* é capaz de se multiplicar e diferenciar nas glândulas de cheiro de *Didelphis aurita* e hipotetizou serem estas o habitat primordial de *T. cruzi* - ou seja, ao menos este táxon teria se especiado em um mamífero. O recente achado na França do primeiro isolamento de um tripanosomatídeo geneticamente semelhante a *Herpetomonas samuelpessoai* (descrito como parasito de insetos), a partir do sangue de um humano imunocomprometido (HIV positivo), novamente reforça a hipótese do inseto como hospedeiro ancestral dos tripanosomatídeos de mamíferos (Morio, 2008). No presente, aceita-se que os tripanosomatídeos de mamíferos tenham derivado de um kinetoplastida ancestral parasito de insetos (Araújo et al. 2009, Noireau et al. 2009).

1.3 - *Trypanosoma cruzi*

Causador da doença de Chagas em humanos, o protozoário *Trypanosoma cruzi* é um flagelado digenético que circula na natureza entre mais de uma centena de espécies de mamíferos distribuídos em oito diferentes ordens e dezenas de espécies de vetores, triatomíneos da família Reduviidae (PAHO, 2009). Embora este parasito apresente uma estrutura populacional predominantemente clonal, eventos de hibridização, ainda que esporádicos, têm sido descritos tanto em laboratório quanto na natureza. A estrutura multiclonal de *T. cruzi* resulta em uma extrema diversidade genética e ecletismo tanto no que se refere ao espectro de hospedeiros mamíferos quanto aos tecidos que o parasito coloniza.

Esta diversidade genética vem sendo amplamente estudada com o objetivo de tentar associar determinado genótipo/linhagem/sub-população do parasito a um determinado perfil epidemiológico ou nosológico. Caracterizações de sub-populações do parasito por diferentes marcadores biológicos, bioquímicos, genéticos e moleculares apontam para a existência de pelo menos duas linhagens genéticas bastante distintas e filogeneticamente distantes. Recentemente, tem sido visto que estes dois genótipos também apresentam uma expressiva variabilidade. Atualmente, não há um consenso de como as sub-populações de *T. cruzi* podem ser agrupadas, sendo três as principais vertentes: (i) *T. cruzi* é formado por três grandes e distintos grupos TCI, TCII e TCIII que correspondem aos zimodemas propostos por Miles et al. (1977), sendo todos os híbridos resultados de eventos de recombinação entre TCII e TCIII (Pena et al. 2009), (ii) *T. cruzi* é formado por seis diferentes linhagens (ou DTUs – unidades tipológicas discretas) do parasito, TCI, TCIIa, TCIIb, TCIIc, TCIIId, e TCIIe (Brisse et al. 2000, Llewellyn et al. 2009a), sendo TCIIId e TCIIe resultantes de dois eventos de hibridização (iii) *T. cruzi* inclui duas diferentes espécies monofiléticas, TCI e TCII e todos os demais isolados são híbridos resultantes de diferentes combinações entre sub-populações desses dois grupos (Tomazi et al. 2009).

A forma contaminante vetorial, descrita como a forma clássica de transmissão do parasito à humanos, ocorre quando o inseto vetor, ao realizar seu repasto sanguíneo, elimina formas tripomastigotas metacíclicas junto com as fezes. Esses parasitos penetram pelo local da picada ou mucosas ou quando a pessoa se coça ou esfrega o local da picada. No hospedeiro vertebrado, esses parasitos invadem as células nucleadas de praticamente todos tecidos, onde se multiplicam na forma amastigota. A saída da célula, após nova diferenciação celular para forma tripomastigota, se dá pelo rompimento celular. A transmissão para o inseto vetor ocorre quando formas tripomastigotas circulantes no sangue do hospedeiro vertebrado são ingeridas por outro triatomíneo em um novo repasto sanguíneo. No hospedeiro invertebrado, o parasito diferencia-se para a forma epimastigota, que é a forma replicativa no trato digestivo do inseto vetor. Na porção final do intestino do

inseto, os parasitos sofrem nova diferenciação para a forma tripomastigota metacíclica, que é a forma infectiva eliminada nas fezes do barbeiro.

Esta clássica via de transmissão não reflete todas as formas possíveis de infecção a humanos e muito menos entre mamíferos silvestres. Das quatro formas evolutivas do parasito, três (tripomastigota sanguícola, tripomastigota metacíclica e amastigota) são capazes de infectar e essa infecção se dá por diferentes vias, mostrando quão efetivo são os mecanismos de dispersão desse parasito. Infecções humanas podem ocorrer também por via congênita, mais frequente na Bolívia, e sul do Brasil por transfusão sanguínea e transplante de órgãos, embora atualmente essa forma de transmissão seja mais importante em áreas não endêmicas, como a Europa e EUA. Nesses casos, as infecções estiveram relacionadas à presença de *T. cruzi* em tecidos oriundos de imigrantes provenientes de áreas endêmicas dessa protozoose (Schmunis, 2007).

Uma via de transmissão muito importante no ambiente silvestre e que tem sido responsável pela maior parte das infecções humanas nos últimos anos é a via oral (Dias, 2006). Estas infecções estão normalmente associadas à ingestão de alimentos contaminados por fezes de triatomíneos ou material de glândula de cheiro de *Didelphis* sp. infectados, ou até mesmo por triatomíneos infectados triturados acidentalmente junto com o alimento (PAHO, 2009). Na natureza a via oral é provavelmente a mais antiga e eficiente via de dispersão do parasito e ocorre nas seguintes situações: (i) ingestão de fezes de triatomíneos quando o animal coça com a boca o local da picada, (ii) ingestão de barbeiros por mamíferos que se alimentam de insetos, (iii) predação de outro mamífero que esteja infectado por *T. cruzi*, (iv) brigas entre animais, nas situações onde ocorrem mordeduras com perfurações e contato do sangue infectado de um mamífero com a mucosa oral de outro, e (v) ingestão de frutos e sementes contaminados por fezes de barbeiros ou material de glândula de cheiro de *Didelphis* sp. (PAHO, 2009).

Essa plasticidade biológica de *T. cruzi* resulta em ciclos de transmissão na natureza que se caracterizam por serem multivariáveis, complexos e peculiares para cada localidade. Sendo encontrado nos mais diversos nichos ecológicos, esses ciclos de

transmissão podem ser distintos e independentes ou estarem sobrepostos contribuindo para formar modalidades distintas de focos naturais de transmissão.

Vários fatores associados às alterações ambientais, naturais ou não, contribuíram para que parasitos sejam cada vez mais introduzidos em novas áreas, provocando sérios impactos socioeconômicos, ocorrência da doença em áreas não endêmicas e proporcionando o envolvimento de novos hospedeiros mamíferos nos ciclos de transmissão (Daszak, 2000, Dobson, Foutopoulos, 2001, Williams et al. 2002). Estes fenômenos são especialmente importantes quando ocorrem com organismos como *T. cruzi*, que possuem a habilidade de infectar um grande número de hospedeiros mamíferos utilizando diferentes ciclos de transmissão, os quais diferem conforme características e particularidades de cada região.

A perda da biodiversidade é uma consequência imediata das alterações ambientais ocorridas em virtude do constante crescimento das cidades e expansão da atividade agropastoril. Esse cenário cria uma série de situações que favorecem a emergência ou re-emergência de parasitoses, como *T. cruzi* ou outros tripanosomatídeos: (a) diminuição e fragmentação da cobertura vegetal original, resultando em um maior contato entre os animais silvestres e os animais domésticos/humanos, (b) modificação na ecologia do vetor, do parasito e de seu hospedeiro, e (c) uma situação ambiental das áreas periurbanas semelhante ao meio rural, consequência da ocupação humana desordenada na periferia das cidades. Um aspecto importante a ser considerado diz respeito às espécies de mamíferos silvestres sinantrópicos e seu contato com animais domésticos e peridomiciliares. Deste modo, em áreas endêmicas, casos humanos podem se originar a partir da expansão de um foco zoonótico residual (Ashford, 1996).

1.4 - *Trypanosoma evansi*

Trypanosoma evansi é um flagelado da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e está classificado na Seção Salivaria (Hoare, 1972), em função do modo inoculativo de transmissão. Quatro subgêneros são reconhecidos na Seção Salivaria: *Nannomonas*, *Duttonella*, *Picnomonas* e *Trypanozoon*, que inclui

Trypanosoma evansi. Ao contrário dos tripanosomatídeos da Seção Stercoraria (transmitidos por contaminação) que não são considerados patogênicos para o hospedeiro mamífero, com exceção de *Trypanosoma cruzi*, os Salivários podem causar patologias graves tanto em animais domésticos como silvestres, além dos dois tipos da Doença do Sono humana.

Alguns autores sugerem que *T. evansi* tenha se originado de *T. brucei* na África tropical, pois *T. brucei* tem ampla distribuição entre animais domésticos e silvestres da África sub saariana e ambos são próximos filogeneticamente. Daí, através de camelos infectados *T. evansi* teria sido disseminado para o norte deste continente. A perda dos maxicírculos por uma determinada subpopulação de *T. brucei* teria resultado na incapacidade de evoluir nas Glossinas, e na conseqüente adaptação a transmissão mecânica, ampla dispersão e especiação de *T. evansi* (Lun ,Desser, 1995).

A introdução de *T. evansi* no Continente Americano supostamente aconteceu no século XVI através da chegada de cavalos infectados trazidos pelos colonizadores espanhóis. Alguns aspectos nos permitem sugerir que a introdução de *T. evansi* na América possa ter sido muito anterior. Vale lembrar que tripanosomatídeos de mamíferos são amplamente distribuídos e podem já ter parasitado os mamíferos primitivos que migraram e se dispersaram pelas Américas, tais como os roedores caviomorfos (Flyn , Wyss, 1998). Cavalos infectados teriam que suportar uma viagem que, na época da colonização, demorava em torno de três meses e era feita em condições extremamente precárias reduzindo a capacidade destes animais controlarem a infecção. Por outro lado, a capivara é considerada um excelente reservatório de *T. evansi*, pois este roedor caviomorfo mantém o parasitismo por longo tempo, sem sinais de doença (Franke et al. 1994).

Os aspectos expostos acima sugerem que talvez *T. evansi* tenha entrado no continente Americano muito antes da colonização, com roedores caviomorfos infectados vindos da África (Araújo et al. 2003, Herrera et al. 2004). Neste caso, *T. evansi* teria inicialmente estabelecido um ciclo silvestre e com a colonização de

espécies de roedores que se tornaram sinantrópicos, estabeleceram um ciclo domiciliar de transmissão.

Na América do Sul, o parasito adaptou-se a mais um vetor, além das moscas do gênero *Tabanus* sp. e *Stomoxys* sp.: o morcego hematófago *Desmodus rotundus*. O primeiro caso de infecção natural por *T. evansi* em morcegos foi relatado por Johnson em 1936. Os tripanosomas penetram na mucosa oral dos morcegos e a partir daí se estabelecem na corrente circulatória (Hoare, 1972). As membranas da mucosa permitem ao parasito passar em ambas as direções o que permite tanto a infecção quanto a inoculação do parasito. A tripanosomíase por *T. evansi* em Chiroptera pode ser letal ou crônica.

O ciclo biológico de *T. evansi*, não inclui morfogênese no vetor nem pleomorfismo na corrente circulatória no mamífero. Esta espécie dificilmente é cultivada em meio axênico, e ainda restam muitos aspectos biológicos e bioquímicos a serem esclarecidos. O parasito não invade células desenvolvendo-se exclusivamente no sangue e linfa podendo nas fases tardias da infecção ultrapassar a barreira hematoencefálica o que resulta nos sinais neurológicos tão típicos da doença causada pelo subgênero *Trypanozoon*.

De todas as espécies de tripanosomas, *T. evansi* é a que tem a mais ampla distribuição geográfica e o maior espectro de hospedeiros. Embora a associação entre a perda dos maxicírculos do kDNA com esta ampla distribuição seja ainda bastante discutida, o fato é que ausência de maxicírculos vem sendo observado em todas as cepas examinadas (Borst et al. 1987, Songa et al. 1990, Artama et al. 1992, Lun et al. 1992).

Em áreas enzoóticas para *T. evansi* a parasitose pode se apresentar com quadros fulminantes, com poucos dias de duração, síndromes brandas ou até formas assintomáticas. Nessas áreas os hospedeiros susceptíveis sobrevivem muitas vezes infectados durante anos, exibindo baixos níveis de parasitemia, sendo comuns surtos epizoóticos envolvendo animais domésticos e silvestres (Luckins, 1988, Payne et al. 1991a, 1991b, 1991c). Em condições experimentais, roedores (*Rattus rattus*, *Mus musculus* e *Thrichomys* spp.) são extremamente sensíveis. As ondas de

parasitemia e remissões, típicas dos salivários, podem ser observadas (principalmente em *R. rattus*) mas o animal não consegue manter o controle da população parasitária e morre sempre com parasitemias extremamente altas – que alcançam até 10^9 flagelados/ml (Menezes et al. 2004 e A.M. Jansen comunicação pessoal).

No Brasil a tripanossomíase por *T. evansi* é encontrada particularmente na região do Pantanal Matogrossense onde a doença tem caráter epizootico afetando equinos (localmente chamada de “Mal de cadeiras”), bovinos, cães, capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), quatis (*Nasua nasua*) e pequenos mamíferos (Franke et al. 1994, Silva et al. 1995, Herrera et al. 2004). Durante muitos anos, a equinocultura se tornou quase impossível tanto no Pantanal do Mato Grosso quanto na Ilha de Marajó, ambas localidades de criação de gado em regime extensivo que depende basicamente de cavalos. Os prejuízos econômicos resultantes dos surtos do Mal de Cadeiras são significativos uma vez que a doença apresenta um alto grau de letalidade.

No Pantanal, por ser uma área grande caracterizada por 11 ecorregiões bastante distintas (Silva, Abdon, 1998) a enzootia por *T. evansi* pode apresentar distintos perfis. Assim, as populações de hospedeiros susceptíveis em diversos locais no Pantanal, poderão apresentar diferenças em relação à prevalência e quadro clínico. Em situações em que animais infectados movem-se para outras regiões o número de casos pode aumentar rapidamente e resultar em surtos epizooticos, seguidos do desenvolvimento de portadores assintomáticos nos animais que conseguem sobreviver a fase aguda (Herrera et al. 2004, 2005).

Assim, o entendimento do papel que as espécies hospedeiras desempenham na rede de transmissão é de fundamental importância na definição de um plano de manejo. Frequentemente os animais domésticos (principalmente os cães) podem atuar como reservatórios o que resulta em que o contato destes com animais silvestres possa facilitar a disseminação da parasitose para o ambiente natural (Herrera et al. 2004).

1.5 - Peculiaridades da transmissão de *T. evansi* e *T. cruzi*

As características biológicas de *T. cruzi* e *T. evansi* resultam em perfis epidemiológicos peculiares, expressas por distintas estratégias de transmissão vetorial e particularidades na interação com o hospedeiro mamífero. Uma das principais diferenças entre as duas espécies de parasitos é o polimorfismo de *T. cruzi* observado conforme a etapa de seu ciclo de vida e tecidos infectados, além da expressiva heterogeneidade genética. *T. evansi* é monomórfico e quase que exclusivamente sanguícola e até o presente, considerado como um táxon homogêneo. Ao infectar tecidos, *T. cruzi* por ser intracelular, evade do sistema imune do hospedeiro, mantendo um reservatório de parasitos em determinados tecidos, que servem de fonte de produção de formas tripomastigotas infectantes presentes no sangue.

T. evansi que se encontra quase que exclusivamente no sangue, apresenta como mecanismo de escape uma camada externa de glicoproteínas que o parasito substitui sequencialmente. Cada novo tipo de glicoproteína de superfície que é expresso, as VSGs (variant surface glycoprotein) elicitam do hospedeiro mamífero uma resposta imune humoral como se fosse uma primoinfecção. Esta expressão seriada de glicoproteínas de superfície resulta nas ondas e remissões da parasitemia, tão característicos dos salivários.

Uma segunda característica que difere entre os dois parasitos é o fato de *T. cruzi* infectar e se multiplicar no vetor, e ser transmitido por toda a vida e por todos os estágios do inseto. Por outro lado, o vetor de *T. evansi* só irá transmiti-lo enquanto os tripanosomas presentes no aparelho bucal da mosca estiverem vivos. Deste modo, a transmissão mecânica de *T. evansi* depende de parasitemias mais altas do que *T. cruzi*, pois os poucos tripanosomas inoculados pelo vetor têm que ser capazes de se multiplicar rapidamente para que a infecção seja bem sucedida e assim manter o ciclo do parasito.

Adicionalmente, os vetores destes tripanosomas apresentam características comportamentais distintas. Enquanto as moscas do gênero *Tabanus* têm preferência por habitats abertos tipo campo limpo, principalmente próximo a áreas alagadas ou corpos d'água, as principais espécies de triatomíneos locais (*Triatoma sordida*, *Panstrongylus geniculatus* e *Rhodnius neglectus*) são encontrados preferencialmente em áreas de mata (Carcavalho et al. 1999). Assim, seria de se esperar que encontrássemos um maior número de animais infectados com *T. cruzi* em áreas florestadas, enquanto que *T. evansi* deveria ser encontrado mais frequentemente em animais de áreas abertas.

Outra característica importante que difere os dois taxa de vetores está relacionada ao comportamento e vulnerabilidade à predação dos mesmos. Triatomíneos, embora alados, são menos ágeis que as mutucas, deslocam-se pouco provavelmente são facilmente predados. Por outro lado, as mutucas (Tabanidae) interrompem frequentemente seu repasto sanguíneo sobre um hospedeiro para continuar sobre outro, o que otimiza a transmissão mecânica no caso do *T. evansi*. Como os Tabanídeos transmitem *T. evansi* mecanicamente, a transmissão deste parasito será dependente da mosca ter sua alimentação interrompida e em seguida escolher um segundo animal para se alimentar, caso contrário os parasitos presentes no aparelho bucal da mosca não sobreviverão e portanto não serão transmitidos.

1.6 - O diagnóstico da infecção por *T. cruzi* em animais silvestres e sua interpretação

A metodologia utilizada para o diagnóstico da infecção por *T. cruzi* é baseada em três técnicas:

- 1) Exame a fresco do sangue em microscopia óptica e, no caso dos gêneros *Didelphis* sp., também pelo exame da secreção da glândula anal. Os exames a fresco, quando positivo, mostram que o animal apresenta alta parasitemia, ou seja, alta transmissibilidade. Um exame a fresco de sangue positivo equivale a uma concentração mínima de 10^3 flagelados por ml, devido ao volume médio da amostra de sangue examinada.

2) Hemocultura: Trata-se de um método de amplificação do parasito, hemoculturas positivas também evidencia parasitemia importante, ou seja, alta transmissibilidade. Isto porque são inoculados cerca de 0,3 mL de sangue no meio e para resultado positivo teria que haver no mínimo um parasito nesta amostra, resultando em uma concentração mínima de 3 parasitos /mL de sangue.

3) Sorologia: O diagnóstico sorológico, ou seja, a pesquisa de anticorpos específicos. Sorologia positiva sinaliza que os animais foram expostos à infecção. Animais com sorologia positiva e provas parasitológicas (exames de sangue a fresco e hemoculturas) negativas indicam que os mesmos foram expostos à infecção, mas a transmissibilidade do parasito ao vetor é baixa.

Assim a interpretação dos resultados, ou seja, o entendimento do eventual papel desempenhado pelo hospedeiro na cadeia de transmissão deverá ter como base os distintos perfis da infecção no seu habitat no sentido de compreender o cenário onde esta ocorre. Os dois primeiros testes diagnósticos, quando positivos (principalmente o primeiro), demonstram uma alta parasitemia no animal em questão, o que significa uma alta chance de transmissão vetorial. São provas muito específicas, porém, pouco sensíveis – sua importância reside em detectar animais que além de infectados representam fonte de infecção para o vetor. O teste sorológico aponta para a exposição do animal a infecção. Portanto, um animal no qual apenas o teste sorológico resultou positivo, demonstra estar exposto ao ciclo de transmissão, é um hospedeiro do parasito, mas não está envolvido com a amplificação das populações parasitárias, pois seu potencial de transmissibilidade ao vetor é baixo.

1.7 - O diagnóstico da infecção por *T. evansi* em animais silvestres

Uma vez que *T. evansi* não é cultivável em laboratório, o diagnóstico da infecção e a avaliação da parasitemia são realizados por exame de sangue a fresco por um método de enriquecimento (método de Strout) que, caso positivo, demonstra uma parasitemia a partir de 10^3 flagelados por ml de sangue, assim como para *T. cruzi*. Do mesmo modo que para *T. cruzi* o exame sorológico indica exposição do animal ao parasito, mas não o grau de infectividade ao vetor.

1.8 - Parasitismo e a Interação Parasito-Hospedeiro

As interações parasito-hospedeiro se modificam de acordo com o ambiente do parasito e o ambiente do hospedeiro. O ambiente do parasito é o hospedeiro que sofre diretamente as alterações ambientais causadas por humanos, principalmente para fins de habitação ou produção agropecuária. Estas alterações, quando causam um impacto negativo à saúde dos hospedeiros, podem resultar na amplificação, ou aumento populacional, de um determinado parasito. No caso de parasitos de sangue generalistas, como tripanosomatídeos de mamíferos, a amplificação dos mesmos aumenta a probabilidade de transmissão vetorial. Este aumento representa por sua vez, um risco à saúde humana e de animais domésticos e silvestres, sendo a situação agravada para as espécies de distribuição restrita ou que possuam pequenas populações (Anderson, 1979, Lyles , Dobson, 1993, Daszak et al. 2000).

A amplificação dos parasitas em um hospedeiro é também função da virulência do parasito, termo utilizado aqui para expressar a taxa de proliferação do parasito em um hospedeiro. A virulência de um parasito pode estar ou não associada à patogenicidade sofrida pelo hospedeiro e também à transmissibilidade do parasito. Neste sentido, a interpretação das consequências da virulência e patogenicidade em um determinado sistema parasito-hospedeiro têm seguido duas hipóteses não mutuamente excludentes: (a) parasitos são sempre patogênicos, espoliando e/ou lesando seus hospedeiros em um maior ou menor grau, e (b) um sistema parasito-hospedeiro tende, ao longo do tempo, à redução na patogenicidade causada pelo parasito, atingindo um equilíbrio onde a interação seria transformada em mutualismo. Contudo, recentemente vem sendo considerado que a virulência pode ser, e às vezes é, uma característica vantajosa para o parasito (Poulin , Combes, 1999).

No entanto, muitas outras variáveis devem ser levadas em consideração antes que se possam traçar hipóteses sobre a origem ou o provável prognóstico de um dado sistema parasito-hospedeiro. Tais como os mecanismos de defesa do hospedeiro e mecanismos de evasão desenvolvidos pelos parasitos, a composição e estrutura populacional da espécie do parasito, a presença de outra espécie de parasito no mesmo hospedeiro que poderia resultar em competição ou em facilitação, em diminuição ou potencialização da patogenicidade, o modo de transmissão do parasito, se vertical (entre espécies distintas) ou horizontal (dentre indivíduos de uma mesma espécie), direto ou vetorial deve ser considerado, já que a virulência e/ou patogenicidade podem ser favorecidos em um caso e não no outro. Além de fatores mais sutis como a alteração causada por parasitos no comportamento do hospedeiro, podendo torná-lo mais suscetível à predação (Poulin , Thomas, 1999).

A resultante de todas estas variáveis dentro de um determinado cenário é que vai definir a permanência ou eliminação de um dado sistema parasito-hospedeiro, ou seja, é difícil avaliar a antiguidade de um sistema parasito-hospedeiro com base apenas na virulência, uma compreensão detalhada da biologia e do ciclo de vida do parasito são fundamentais antes de qualquer interpretação nesta direção.

Em parasitos eurixenos (ecléticos), como é o caso de *T. cruzi* e *T. evansi*, uma alta virulência é certamente vantajosa devido à estratégia de transmissão vetorial, principalmente no caso de *T. evansi*, pois, devido à transmissão mecânica, uma alta população parasitária circulante aumenta a probabilidade de ser transportado (transmitido) a um novo hospedeiro. Nestes casos, ainda que a parasitemia esteja positivamente associada à patogenicidade, a virulência pode ser considerada como uma característica vantajosa, pois mesmo que uma alta parasitemia resulte na morte do hospedeiro infectado estes parasitos podem ser transmitidos por via oral (predação). Vale mencionar que *T. evansi* é um parasito extremamente eclético e amplamente distribuído apesar de seu potencial de virulência e patogenicidade: lesões importantes já foram descritas em quatis (Herrera et al. 2001) e capivaras, (Franke et al. 1994) considerados seus “reservatórios naturais”.

1.9 - Hospedeiro Reservatório – definição

A importância de compreender a ecologia das espécies animais que estão incluídas na rede de transmissão de um determinado parasito bem como o papel que desempenham nesta como forma de prevenir zoonoses vem sendo reconhecida atualmente (Ashford, 1996, Ostfeld , Keesing, 2000, Randolph et al. 2001, Swinton et al. 2001, Noireau et al. 2009). Este interesse vem aumentando em função do aumento nos últimos anos de “novas doenças” ou de doenças consideradas controladas, assim chamadas respectivamente de Doenças Emergentes e Re-emergentes.

Embora a maioria dos autores ainda direcione a definição reservatório como a espécie animal que, na natureza, é fonte de infecção de parasitos para humanos e animais domésticos, suportando o parasitismo sem danos (Ashford, 1997, Swinton et al. 1998, Swinton et al. 2001), novas conceituações vem sendo propostas. Isto porque a interação reservatório-parasito é considerada um sistema complexo, na medida em que é multifatorial, imprevisível e dinâmico, formando uma unidade biológica que está em constante mudança em função das alterações do meio ambiente. Isto significa que generalizar cenários epidemiológicos e medidas de controle pode resultar no insucesso. De fato, um reservatório pode ser definido como uma espécie ou conjunto de espécies responsáveis por manter determinado parasito em um determinado recorte de espaço e tempo sem incluir nesta definição uma espécie alvo (Ashford, 1997). Este conjunto, esta unidade biológica está em constante mudança em função dos processos coevolutivos entre hospedeiro/parasito/vetor, bem como das alterações naturais e antrópicas do meio na qual está inserida (Ashford,1997, Haydon et al. 2002).

Estudos com hospedeiros reservatórios devem considerar as diferentes características epidemiológicas e padrões de infecção, os quais se modificam de uma região para outra em função de: (a) habitat e clima locais, (b) estratégias de vida e ciclo reprodutivo dos hospedeiros vertebrados, (c) presença, hábitos e capacidade vetorial do hospedeiro invertebrado, (d) peculiaridades da interação

parasito-hospedeiro e (e) conjugação de todos esses fatores num mesmo intervalo de tempo e espaço (Ashford, 1997, Roque et al. 2005).

Para definir uma determinada espécie animal como reservatório de um determinado parasito, são necessários determinar os seguintes parâmetros:

1) Distribuição geográfica do hospedeiro: define a área máxima de ocorrência da parasitose. Interpretações epidemiológicas equivocadas podem surgir a partir de dados taxonômicos imprecisos.

2) Perfil de infecção e sua distribuição na área de ocorrência dos hospedeiros: A prevalência da infecção na população de reservatórios pode ser muito alta em algumas localidades e muito baixa em outras áreas, que podem inclusive estar bem próximas. É possível que parasitos sejam extintos periodicamente em uma determinada população de reservatórios e seja reintroduzida algum tempo mais tarde. A dinâmica e os fatores que controlam estes processos são ainda desconhecidos, mas indicam que o estudo longitudinal é fundamental para esclarecer o padrão temporal e espacial da parasitose.

3) Análise regional do parasito e reservatórios em distintos ecossistemas dentro de um mesmo bioma: Indica o grau de generalismo ambiental do hospedeiro e, conseqüentemente, o risco de “spillover” da parasitose - a infecção de novos hospedeiros por um parasita, os quais não fariam parte do ciclo de transmissão do mesmo,

4) Prevalência da infecção entre as distintas composições demográficas dos hospedeiros: Com esta informação é possível determinar se a infecção está acontecendo (caso esteja em altos índices em animais jovens). Tomando como exemplo (a) os gambás: estes são descritos como animais nômades, no entanto, os machos têm um comportamento nômade muito mais acentuado do que as fêmeas. (b) primatas: vivem em grupos e tem um comportamento territorialista. As taxas de infecção podem variar entre os grupos, sendo outro aspecto a ser considerado.

5) Dinâmica das populações de hospedeiros no tempo: Estudos longitudinais para: a) identificar os efeitos de um determinado parasito na população e/ou indivíduo. b) flutuação sazonal c) estabilidade da infecção d) transmissibilidade.

1.10 - Bioindicadores

Pequenos roedores e marsupiais são considerados bons bioindicadores ambientais por: (i) apresentarem populações numerosas, (ii) possuírem ciclo de vida curto, (iii) serem encontrados em todos os biomas e habitats – naturais e modificados, (iv) suas densidades são dependentes do habitat. Todos esses fatores associados fazem com que respondam rapidamente a alterações ambientais (Epstein et al. 1997). Eles são ainda presas importantes para a maioria dos carnívoros de pequeno e médio porte, o que potencializa a transmissão de tripanosomatídeos.

Interessante notar que as comunidades com reduzidas espécies de hospedeiros tendem a apresentar alta abundância relativa de pequenos mamíferos generalistas na sua composição faunística. Neste cenário caso alguma espécie generalista apresente alta competência em manter e amplificar um determinado parasito é de esperar a ampliação do ciclo de transmissão deste, ou seja, o aumento de risco de “spillover”. Ao contrário, em comunidades com alta riqueza faunística, onde espécies animais com distintas competências em amplificar a população do parasito em questão são encontradas, a transmissão se manterá em níveis mais baixos uma vez que a transmissão incluirá espécies com diferentes graus de competência para ampliar a população do parasito em questão. Em um cenário deste tipo, a prevalência da infecção na população de vetores diminui e conseqüentemente também a transmissão do parasito - efeito diluidor (Ostfeld , Keesing, 2000).

1.11 - Parasitos como reguladores de populações de mamíferos

Os parasitos podem atuar como reguladores das populações hospedeiras de acordo com a sua capacidade de modificar direta ou indiretamente a longevidade e/ou a fecundidade do hospedeiro (Anderson , May, 1978, May , Anderson, 1978, Gulland, 1995). Inicialmente, acreditava-se que os impactos dos parasitos sobre seus hospedeiros estavam relacionados apenas à mortalidade dos indivíduos na população. No entanto, infecções moderadas, atuam mais como fator de morbidade do que mortalidade do hospedeiro e assim causar a desestabilização populacional.

A morbidade induzida por parasitos reduzem a condição corporal (Tompkins et al. 2001, Stien et al. 2002) e, conseqüentemente, a reprodução do hospedeiro (Hudson,1986, Vandegrift et al. 2008). Em alguns casos, o parasito pode causar mudanças de comportamento ou na aparência do hospedeiro de modo a facilitar a predação e, assim, a transmissão ao hospedeiro definitivo (Moore, 1984, Dobson, 1988, Hudson et al. 1992).

A extensão destes efeitos pode ser influenciada pela idade (Woolhouse, 1998, Cattadori et al. 2005), sexo ou estado reprodutivo (Klein, 2004, Coe et al. 1988), estado nutricional e/ou de saúde do hospedeiro (Wakelin et al. 2002, Scheuerlein , Ricklefs, 2004), ou mesmo por características intrínsecas ao parasito, tais como genótipo, intensidade de infecção e/ou mutualismo ou competição entre parasitos (Cox, 2001, Poulin, 2001, Lello et al. 2004, Crossan et al. 2007).

O conhecimento sobre parâmetros parasitológicos, como prevalência, incidência e carga parasitária, é necessário, mas não suficiente, para identificar os parasitos de maior importância na regulação populacional. Isto porque parasitos altamente prevalentes podem não produzir efeitos populacionais, enquanto que aqueles menos prevalentes podem ter impactos significativos (Tompkins et al. 2002). Parasitos que influenciam na dinâmica populacional dos hospedeiros são possivelmente aqueles capazes de induzir morbidade, causando alterações nos parâmetros de saúde e conseqüentemente sucesso reprodutivo ou a longevidade do hospedeiro.

A avaliação do efeito de um parasito no estado de saúde do hospedeiro é especialmente complexa ao se estudar espécies silvestres em ambientes tropicais. Nestas regiões, são comuns parasitos multi-hospedeiros e hospedeiros multi-parasitados. Por isso, determinar o efeito de um parasito na saúde do hospedeiro pode ser confundido por infecções concomitantes por outros parasitos, ou seja, pela interação entre os dois ou mais parasitos em um mesmo hospedeiro (Pedersen , Fenton, 2007).

Neste sentido, pouco se sabe sobre quais os efeitos das infecções por helmintos, e das interações com outros parasitos, nos parâmetros fisiológicos, sobrevivência e reprodução de seus hospedeiros e como estes efeitos podem influenciar as populações hospedeiras de vida livre.

1.12 - O Ambiente: O Pantanal

O Pantanal brasileiro é considerado a maior planície inundável contínua do planeta com cerca de 140.000 Km² em território brasileiro (Silva , Abdon, 1988). Este ecossistema está localizado no centro da América do Sul, na Bacia Hidrográfica do Alto Rio Paraguai. O clima da região é tropical semiúmido com temperatura média anual de 25⁰ C, sendo que as máximas absolutas ultrapassam 40⁰ C e as mínimas absolutas estão próximas de 0⁰ C (Calheiros , Fonseca Jr., 1996).

O Pantanal apresenta grande complexidade de habitats, na medida em que inclui 11 ecorregiões bastante distintas. Sua fauna e flora são influenciadas por quatro biomas distintos: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Chaco. Devido às características geológicas, geomorfológicas e climáticas, em conjunto com as variações hidrológicas sazonais, formam-se no Pantanal regiões distintas quanto à duração e altura das inundações (Brasil, 1974). A paisagem é formada por um mosaico de Baías (lagoas de água doce), Salinas (lagoas de água salobra), manchas de vegetação florestal, campos e várzeas e rios (Figura 2)

A pecuária extensiva é uma prática antiga na região, e tornou-se a principal atividade econômica, embora o turismo pesqueiro seja também uma prática bem difundida, e atualmente o turismo ecológico venha crescendo na região. A criação de gado no Pantanal iniciou-se no século XVIII, originalmente com o “gado pantaneiro” o qual foi substituído gradualmente pelo zebu no século XX com predomínio atual da raça Nelore. Atualmente a população de bovinos no Pantanal chega a aproximadamente quatro milhões (Abreu et al. 2000).



Figura 2 – Vista geral da paisagem de uma área típica do Pantanal brasileiro.

Inicialmente a criação extensiva contava principalmente com as pastagens naturais, as quais vêm sendo substituídas por gramíneas exóticas de maior valor nutritivo. As atividades tradicionais relacionadas ao manejo do gado incluem queimadas, desflorestamento e um decréscimo na qualidade do habitat diretamente relacionado a altas densidades de gado. Estas atividades causam um distúrbio no ecossistema influenciando assim nas relações inter e intraespecíficas.

Tanto a criação de gado como o regime de inundação anual são fatores que influenciam na ecologia das espécies encontradas na região do Pantanal. O maior adensamento das populações animais na estação cheia causaria por sua vez uma maior competição intra e interespecífica. Isto significaria para roedores e marsupiais uma maior pressão de predação e maior competição por ninhos e territórios. Por outro lado, nesta estação ocorre também uma maior produção de frutos e maior abundância de inseto, o que pode por sua vez diminuir a competição intraespecífica e predação por parte de carnívoros com dieta onívora, além de aumentar a infecção por parasitos transmitidos por vetores.

Durante a estação seca a densidade animal diminui, porém, diminuem também a disponibilidade de frutos e água. Deste modo, aumenta a competição intra e interespecífica por água e recursos alimentares, diminuindo a competição por ninhos. As fontes de água e recursos alimentares como o acuri, palmeira que frutifica o ano inteiro, tornam-se pontos de encontro entre indivíduos da mesma e diferentes espécies e potencialmente em “hotspots” para a transmissão intra e interespecífica de parasitos diretamente transmissíveis e transmitidas por insetos.

Adicionalmente a criação extensiva de gado coloca humanos e animais domésticos e silvestres em maior contato, possibilitando introdução de parasitos exóticos nas populações naturais e, por outro lado, a emergência de novos parasitos nas populações humanas e de animais domésticos. Por estes motivos, o Pantanal torna-se uma área com características únicas que influenciam tanto a ecologia de espécies naturais e domésticas quanto à transmissão e disseminação de parasitos.

1.13 - Área de estudo: Fazenda Alegria e Fazenda Rio Negro

A Fazenda Alegria (FA), com cerca de 20 mil hectares, foi fundada em 1990 e atividade econômica da propriedade é a pecuária extensiva tradicional, com o manejo de gado baseado na rotação das pastagens nativas, com a utilização do fogo no manejo das pastagens. Esta situada em uma região sem influência de rio, onde a área florestada é naturalmente menor do que na área da Fazenda Rio Negro (FRN). Durante a época de cheia, grande parte da área de pastagem fica inundada. Vale ressaltar, a criação de gado mantém uma mesma densidade de gado por internada, área cercada destinada a uma parte do gado.

A Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Rio Negro, pertencente à ONG ambientalista Conservação Internacional do Brasil (CI-Brasil) é situada no Pantanal sul-matogrossense, e possui uma área aproximada de 7.000 hectares (Amaral, Silva, 2007). Esta fazenda abriga uma paisagem natural bem preservada e de grande riqueza biológica. Sua área sofre influência do Rio Negro, e possui centenas de lagoas de água doce (baías) e alcalina (salinas) em toda sua extensão. A área florestada é naturalmente maior do que na FA. Entre seus principais objetivos estão a proteção de espécies ameaçadas e a manutenção dos processos ecológicos na região. As principais atividades desenvolvidas nesta fazenda são a proteção, pesquisa e monitoramento da biodiversidade e dos processos ecológicos, além da visitação com finalidades contemplativa e científica. Nesta fazenda assim como em outras no Pantanal Sul-matogrossense, a pecuária extensiva foi dando espaço ao ecoturismo, devido à redução dos lucros com a pecuária extensiva. Na fazenda Rio Negro, o ecoturismo começou a substituir a criação de gado em 1989, sendo a RPPN criada em 2001, após a compra pela referida ONG (Amaral, Silva, 2007). Desde então a abundância do gado bovino foi sendo reduzida ao ponto de servir apenas para suprir a necessidade de carne na fazenda. Durante o período de estudo, a criação de gado estava presente em áreas delimitadas, sendo a abundância do gado muito reduzida em relação às fazendas onde a principal atividade é a pecuária extensiva.

1.14 - Justificativa

A diminuição e fragmentação da cobertura vegetal original a perda de habitats e consequente perda da biodiversidade são consequências imediatas do constante crescimento das cidades e da expansão da atividade agropastoril. Como consequência pode-se esperar uma modificação na ecologia das espécies remanescentes que incluem também seus parasitos bem como um maior contato entre os animais silvestres e animais domésticos/humanos. Reconhecer estas alterações e suas consequências é necessário para o estabelecimento de planos de manejo. As informações sobre hospedeiros de parasitos são em geral verticais e pontuais, não consideram condições epidemiológicas regionais e não incluem o caráter temporal e espacial dos aspectos ecológicos e parasitológicos relacionados às espécies de mamíferos silvestres locais.

A emergência e re-emergência da doença de Chagas e os diversos fatores que regulam os surtos de “Mal de Cadeiras” vem demonstrando o quanto são complexos os ciclos de transmissão desses flagelados e evidenciando que numerosos elos da cadeia de transmissão deste Trypanosomatidae ainda são desconhecidos (Jansen et al. 1999, Herrera et al. 2004, Herrera et al. 2005, Noireau et al. 2009).

Portanto, o objetivo desta tese foi fornecer dados à cerca do ciclo de transmissão de *T. evansi* e *T. cruzi* em pequenos roedores e marsupiais no Pantanal. Para isso, analisamos como alterações ambientais causadas pelo homem podem influenciar nos perfis de infecção por estes tripanosomas, através da comparação da diversidade de roedores e marsupiais e perfil de infecção entre uma área de reserva e uma área de pecuária extensiva no Pantanal (Capítulo 1). Analisamos ainda o impacto da infecção natural por dois tripanosomatídeos em três espécies de roedores silvestres (Capítulo 2) e avaliamos a relação entre este impacto e o papel destes hospedeiros na manutenção destes tripanosomas nas áreas estudadas.

Além destes capítulos, encontram-se em anexo um artigo (Anexo 2) e informações sobre infecções helmínticas em *Thrichomys pachyurus* (Anexo 3). Estes anexos representam a fase inicial da continuidade dos estudos sobre o parasitismo em roedores e marsupiais no Pantanal e sobre a interação entre parasitos, realizado por nosso grupo de pesquisa. O Anexo 2 consiste em um artigo com a identificação das espécies de helmintos de *T. pachyurus*, este roedor foi escolhido por ser uma das espécies com maior prevalência da infecção por *T. evansi* e por ser encontrado em diversos tipos de habitat no Pantanal. Em seguida, no Anexo 3, apresentamos algumas informações sobre o ciclo de vida e patogenicidade destes helmintos, assim como a descrição de alguns resultados preliminares à cerca de estudos em preparação sobre o impacto dos helmintos em *T. pachyurus* e possíveis interações entre alguns de seus parasitos. Estes resultados constituem um primeiro passo para compreender posteriormente a importância de infecções concomitantes como moduladores do perfil da infecção por *T. cruzi* e/ou *T. evansi*, ou seja, da transmissibilidade destas duas espécies de tripanosomatídeos.

2 - OBJETIVOS

O objetivo geral foi avaliar o papel dos pequenos roedores e marsupiais na manutenção do ciclo de transmissão de *T. cruzi* e *T. evansi* no Pantanal Sul-Matogrossense e determinar os fatores que influenciam no perfil da infecção destes tripanosomatídeos nos hospedeiros estudados.

2.1 - Objetivos específicos

1. Avaliar o impacto da pecuária extensiva na diversidade de espécies de pequenos roedores e marsupiais no Pantanal (Capítulo 1).
2. Avaliar o impacto da pecuária extensiva nos perfis de infecção por *T. evansi* e *T. cruzi* no Pantanal (Capítulo 1).
3. Avaliar o impacto da infecção por *T. cruzi* e *T. evansi* na saúde dos roedores no Pantanal e suas consequências para a transmissão e manutenção destes parasitos no meio silvestre e doméstico (Capítulo 2).

Capítulo 1

Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal.

H.M. Herrera, **V. Rademaker**, U.G.P. Abreu, P.S. D'Andrea ,
A.M. Jansen.

Artigo Publicado na Acta Tropica, 102 (2007): 55–62.

Available online at www.sciencedirect.com

Acta Tropica 102 (2007) 55–62

**ACTA
TROPICA**

www.elsevier.com/locate/actatropica

Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal

H.M. Herrera^{a,c}, V. Rademaker^d, U.G.P. Abreu^c, P.S. D'Andrea^b, A.M. Jansen^{a,*}^a Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos, Departamento de Protozoologia, FIOCRUZ/RJ, Av Brasil 4365, CEP 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil^b Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Departamento de Medicina Tropical, FIOCRUZ/RJ, Av Brasil 4365, CEP 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil^c Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, EMBRAPA/Pantanal, Rua 21 de Setembro, 1880, CEP 79320-900, Corumbá, MS, Brazil^d Center for Infectious Disease Dynamics, Pennsylvania State University, Biology Department, 208 Mueller Lab, University Park PA 16802-5301

Received 11 August 2006; received in revised form 16 February 2007; accepted 2 March 2007

Available online 12 March 2007

Abstract

An evaluation was made on how the landscape and cattle ranching affect the transmission cycles and the patterns of tripanosomatid infection (*Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi*) of small wild mammals in the Pantanal. This region comprises a large natural environment with a multiplicity of habitats, wide variety of biodiversity besides the presence of livestock. *T. cruzi* and *T. evansi* infections were evaluated by parasitological and serological methods in one preserved and one cattle ranching area. The diversity of the small mammal fauna showed to be the same in the two studied areas, however, their relative abundance was different. Distinct enzootiological scenarios of both trypanosomatids could be observed. Transmission of *T. cruzi* occurred mainly in forested areas, in the two study areas, while *T. evansi* occurred dispersed among all habitats studied in the unreserved area. The arboreal rodent *Oecomys mamorae*, the most abundant species in both areas, displayed high *T. cruzi* and *T. evansi* serum prevalence and parasitemias. Also, the caviomorph rodent *Thrichomys pachyurus* was shown to be an important host due to its expressive relative abundance, prevalence of infection by both trypanosomatid species and a broad range use of habitats. The role of the small mammal fauna in the transmission cycle of both trypanosomes species seems to be distinct according to land use since we found a broad range of *T. evansi* infected hosts in the preserved area in contrast to cattle ranching area and a half number of the rodents species infected with *T. cruzi* in unreserved in comparison to protect area. The present study showed that cattle ranching in this study area did not enhance overall prevalence of *T. cruzi* infection among small wild mammals. Together with the observation that small mammals diversity in FA is similar to RN area suggest that ranching activity may also not necessarily conduct to biodiversity loss or risk of Chagas disease. © 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma evansi*; Pantanal; Land use; Habitats; Epidemiology

1. Introduction

The pathogenic trypanosome species in the Brazilian Pantanal include (a) *Trypanosoma cruzi*, etiological agent of Chagas' disease, affecting 17 million people in Latin America (Dutra et al., 2005) and (b) *Trypanosoma*

* Corresponding author. Tel.: +55 21 25984324; fax: +55 21 25606572.

E-mail address: jansen@ioc.fiocruz.br (A.M. Jansen).

evansi, agent of a severe disease in horses and dogs (*mal de cadeiras* or *surra*) which may cause severe outbreaks, of unknown causative factors, leading to economic losses (Silva et al., 1995). These ancient eukaryotic flagellates display significantly distinct life strategies. While *T. cruzi* is cyclically transmitted by triatomine insects in the family Reduviidae, *T. evansi* is transmitted mechanically by biting flies, mainly Tabanidae. In Brazil, *T. cruzi* is found in all biomes, while *T. evansi* is prevalent mainly in the Pantanal region. Moreover, *T. evansi* is described as a very homogeneous taxon while *T. cruzi* is known for its extreme heterogeneity. Paradoxically, these parasites exhibit some very important common features: (a) both flagellates are well adapted to broad range of mammalian host species, (b) present complex transmission cycles, and (c) besides vectorial infection, carnivorous activity may also lead to transmission of both *T. cruzi* and *T. evansi*, through the oral route (Losos, 1980; Stevens and Gibson, 1999).

All these characteristics difficult the study of the transmission cycle of these parasites, especially since each biome displays its peculiar fauna, climate and human interference pattern. Consequently, in spite of *T. cruzi* and *T. evansi* having been described almost 100 years ago and since then more than 10,000 scientific studies have been carried out (mainly of *T. cruzi*), and the knowledge that both represent important threats to human and animal health, there are still unknown aspects concerning the ecology of these two pathogenic trypanosomatid species.

The Pantanal is a large seasonal floodplain covering about 140,000 km² in the core of South America. Although the Pantanal is a distinct ecosystem dominated by species of *cerrado* (similar to African savannahs), it contains areas that differ in landscape and hydrology characteristics, forming mosaics according to local hydrological conditions, soil type, and vegetation communities. The human population density is very low (<2 km⁻²) and the main economic activity, cattle ranching, is expressive (Adamoli, 1987). Its natural fauna is abundant and diverse and shares of the same habitat with domestic animals (Lourival and Fonseca, 1997).

Although the Pantanal region is considered a hotspot for conservation, in the last two decades this environment has been changed due to large development programs, principally due to the substitution of forested areas by exotic pasture in order to increase livestock population (Harris et al., 2005). Environmental alteration (natural or not) increases the contact between wildlife and domestic animals and modifies the epidemiological profiles of transmission cycles, also it is pointed as a principal

cause for disease emergence or re-emergence (Lafferty, 1997).

In this scenario, it was decided to evaluate the influence of cattle ranching on the transmission cycles of two pathogenic trypanosomatids, *T. cruzi* and *T. evansi*, kinetoplastids that occur sympatrically in the Pantanal. Acquired information will be fundamental for livestock and human health procedures as well as conservation programs.

This study focused the small mammal fauna as they are found naturally infected with both *T. cruzi* and *T. evansi* (Herrera et al., 2005a, 2005b), display a short life cycle, is abundant and therefore results in a high biomass. Moreover, they are a source of food for wild carnivorous animals and consequently an important way of trypanosomatid dispersion by the oral route.

2. Methods

2.1. Study areas and habitats

This study was carried out in two areas of the southern Pantanal, distant 120 km, that have distinct particularities in reference to landscape, pattern of flooding and land use: RN (Rio Negro farm—19°34'54"S and 56°14'62"W), an official preserved area with an intensive conservation program; and FA (Alegria farm—19°08'28"S and 56°49'23"W), a cattle ranching area. Weather conditions are markedly seasonal; the wet season (November–April) is hot and humid, while the dry season (May–October) is warm. During the wet season, many parts of open grassland change from terrestrial habitats into aquatic ones. In the dry season, the land dries out and only scarce pools, creeks, and some lakes remain.

Small wild mammal fauna was trapped in seven different habitats. The extension and density of vegetation of each habitat differed considerably according to the studied areas—(a) “*cerrado*”: small, twisted or gnarled trees, thinly spaced by herbaceous layers formed by grasses and shrubs; (b) “*cordilheira*”: higher ground covered by dense semi-deciduous forest, free of seasonal flood; (c) “edge of *cordilheira*”: interface between “*cordilheira*” and “grassland”, covered principally by dense bromeliacea bushes mixed with bushy shrubs and vines; (d) “grassland”: open fields flooded eventually under great inundation; (e) “edge of lakes”: covered by grass, seasonally flooding; (f) “gallery forest”: dense semi-deciduous forest, occurring only in the RN area along the Negro river, seasonally exposed to the highest flooding; (g) “peri-domicile”: human dwelling and rural constructions.

2.2. Capture methods

All animal procedures were in accordance to the licenses obtained from the Brazilian Government Institute for Wildlife and Natural Resources Care (IBAMA). Bio-security techniques and individual safety equipment was used in all procedures involving animals and biological samples.

The captures were performed twice a year, in wet and dry season during 2002–2003. For the RN area, samples were collected through two consecutive years, whereas in FA it was done in only 1 year. We used the standard methodologies during seven consecutive trap nights on a linear transect located inside the different habitats. Transects had 20 trapping stations spaced 10 m apart. On each station, two traps were placed on the floor (one Tomahawk[®] trap and one Sherman[®] trap). In forested areas, one additional trap was placed in the understory in each station. Traps were checked and baited daily. We totalized 13,440 trap nights. The relative abundance was estimated dividing the number of individuals of a given species by the total number of mammals captured.

The animals were tranquilized with Zoletil[®]50 (Virbac) and marked by ear tagging. A small blood sample was obtained by aseptic vein puncture. After these procedures, the captured and recovered animals were released in the same trapping stations at next sunrise.

2.3. Identification of small mammals

The small mammal species were identified through morphological traits and confirmed by karyological analysis of 10 specimens of each species. These animals were removed in areas destined specifically for that. To obtain the cell suspension, the bone marrow is placed in RPMI 1600 medium supplemented with 20% fetal bovine serum, colchicine (10^{-6} M) and ethidium bromide (5 μ g/ml) during 2 h at 37 °C. After centrifugation, a hypotonic shock is given (KCl 0.075 M) for 30 min. Afterwards a pre-fixation was done with 1 ml of Carnoy fixative (3 methanol:1 acetic acid) and after a second centrifugation the material is fixed again with Carnoy. A new fixation is carried out. The remaining analyses were gently performed by Dr. C.R. Bonvicino. The slides were prepared and for each individual at least five metaphases were to put together and at least 10 image of metaphases were count in an optic microscopy. The images were photographed and amplified. The karyotypes were mounted according the crescent order autosom size and the sexual chromosomes where put on apart from. The sacrificed animals are being deposited as voucher specimens in the National Museum at Rio de Janeiro.

2.4. Parasitological and serological tests

Trypanosome surveys were performed by serological and/or parasitological methods. If insufficient blood was collected, priority was given to the parasitological tests.

The Microhematocrit centrifuge technique (MHCT) (Woo, 1970) was carried out for *T. cruzi* and *T. evansi*. Hemoculture (HC) was performed for *T. cruzi*: two tubes containing NNN medium with a liver infusion tripotose overlay were each inoculated with 0.2 ml of blood from each animal sampled. The tubes were examined in the laboratory twice monthly up to 5 months. High parasitemia was defined by positive MHCT for both trypanosomatids and in the case of *T. cruzi* also by HC.

Immunofluorescence antibody test (IFAT) for detecting IgG was conducted according to Camargo (1964). Briefly, serial two-fold sera dilutions (1:10–1:1280) were assayed against trypanosomes antigen deriving from axenic medium (*T. cruzi*) or ionic exchange column (*T. evansi*). Control serum samples were obtained from animals born at a wildlife breeding center located in the Oswaldo Cruz Institute, before (negative controls) or after experimental infection (positive controls). Standardization of the protocol was undertaken in order to establish suitable working dilutions for each specific fluorescein antibody conjugate. We used anti-rat IgG (FITC, Sigma[®]) for rodents species. Marsupial sera were tested with specific intermediary antibody anti-opossum produced in rabbits; the reaction was visualized using a commercial FITC labeled anti-rabbit serum (Sigma[®]). The cut-off values for *T. cruzi* and *T. evansi* were: 1:10 for rodents, since it was the lowest serum sample titer of rodents in which parasites could be detected by MHCT or BC. For opossums, the cut-off value was 1:40, as described elsewhere (Jansen et al., 1985; Herrera et al., 2004).

2.5. Statistical analysis

To evaluate a possible correlation between habitat and relative abundance of small mammal species and for comparison of MHCT and IFAT positive results for every species sampled, the chi-square (χ^2) test was employed using the statistical analysis system (SAS, 1999).

3. Results

3.1. Species inventory

A total of 402 small mammals were trapped. Detailed data concerning relative abundance of small mammal

Table 1
Small mammals species trapped in the south Pantanal region, Brazil

Species	RN	FA	Total
<i>Oecomys mamorae</i>	88/35	33/23	121/30
<i>Thrichomys pachyurus</i>	56/22	40/28	96/24
<i>Clyomys laticeps</i>	33/13	20/14	53/13
<i>Holochilus brasiliensis</i>	17/7	8/5	25/6
<i>Cerradomys scotti</i>	3/1	8/5	11/3
<i>Calomys callosus</i>	4/2	8/5	12/3
Total rodents	201/79	117/79	318/79
<i>Gracilinanus agilis</i>	30/12	12/8	42/10
<i>Monodelphis domestica</i>	11/4	12/8	23/6
<i>Thylamys macrurus</i>	6/2	6/4	12/3
<i>Philander frenatus</i>	7/3		7/2
Total marsupials	54/21	30/20	84/21
Total small mammals	255	147	402
Trap nights	9520	3920	13,440
Trap success	2.70%	3.7%	2.9%

The data are expressed by number of captured animals/relative abundance (%).

species and trap success rate are shown in Table 1. Rodents prevailed throughout in FA and RN, whereas marsupials represented 20% of animals trapped in both areas.

The most abundant rodent species was the arboreal *O. mamorae* (30.1%) followed by the ground *Thrichomys pachyurus* (23.9%). Among marsupials, *Gracilinanus agilis* and *Monodelphis domestica* were the most abundant species.

The Didelphid *Philander frenatus* present a high level of habitat specificity since it was collected only in “gallery forest” at RN. On the other hand, the most habitat generalist species was the caviomorph rodent *T. pachyurus* since it was trapped in six habitats in both

RN and FA. Fig. 1 shows the small mammal dispersion among habitats in the southern Pantanal.

Even though the small mammal fauna composition remained similar it showed spatial variations according to the landscape. In this sense, the relative abundance of arboreal dwellers *O. mamorae* and *G. agilis* was significantly higher in RN in comparison to FA ($p < 0.001$). Moreover, in FA, the relative abundance of *T. pachyurus* ($p < 0.002$) and the scansorial *M. domestica* ($p < 0.05$) was significantly higher than in RN.

The influence of land use was demonstrated by the distinct distribution patterns of the animal species observed according to the habitats in the RN and FA areas. Indeed, we observed that in FA the small mammal fauna was trapped basically in forested areas mainly in “cerrado” while in RN it was more evenly distributed through the different habitats (Fig. 1). The influence of cattle activity in the dispersion of the small mammal fauna also was demonstrated by the presence of *O. mamorae*, *T. pachyurus*, *Clyomys laticeps* and *Holochilus brasiliensis* dispersed among six of seven distinct habitats in RN contrasted with FA, an unpreserved area, where only *T. pachyurus* was found dispersed in all the six studied habitats (Fig. 2). Furthermore, the more abundant species captured in the “cordilheira” of RN was *O. mamorae* ($p < 0.001$), while in the “cordilheira” of FA *T. pachyurus* was as abundant as *O. mamorae* ($p < 0.01$). In addition, *C. laticeps* was found mainly in grassland of the FA area. Concerning marsupials, in RN they were found dispersed among six of the seven habitats, while in FA only in the more forested areas (Fig. 2).

3.2. Trypanosomatid infection

A total of 289 and 266 animals were examined, respectively, for *T. cruzi* and *T. evansi* infection. Rodents

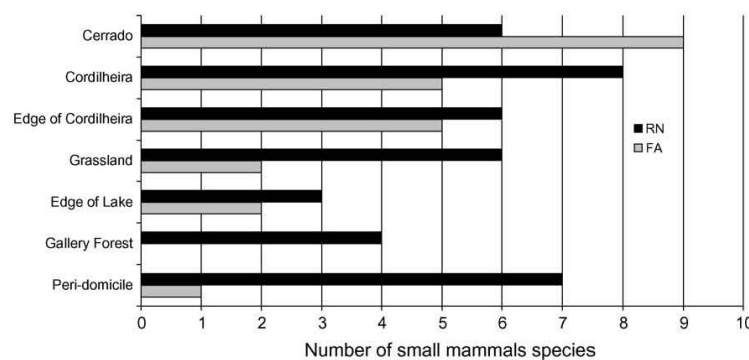


Fig. 1. Species richness by habitat in the two sampled areas in south Pantanal.

H.M. Herrera et al. / Acta Tropica 102 (2007) 55–62

59

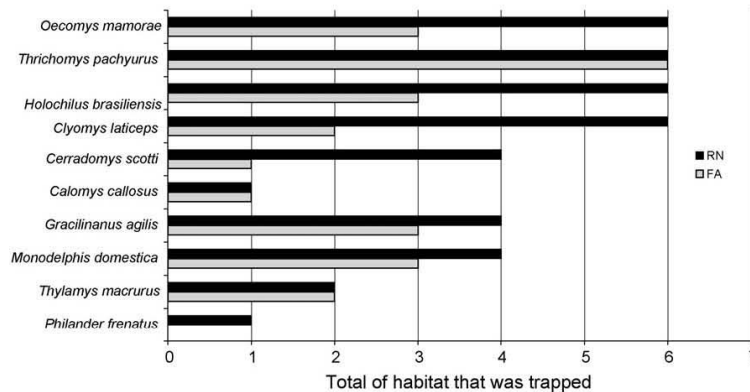


Fig. 2. Small mammals dispersion among habitats in the south Pantanal.

showed comparable overall serum prevalence for *T. cruzi* (18.6%) and *T. evansi* (17.8%) infection (Tables 2 and 3). Likewise, the high parasitemias as proven by positive HC and MHCT were similar—14.9% and 17.1%, respectively, for *T. cruzi* and *T. evansi*. Concerning marsupials, they displayed the highest serum prevalence rates and parasitemias of the *T. cruzi* infection. The arboreal rodent *O. mamorae* was the single species that displayed high serum prevalence with high parasitemias of both parasites (Tables 2 and 3).

Among the 249 animals examined for both trypanosomes, only two *O. mamorae*, one *T. pachyurus* and one *C. laticeps* showed to be positive by IFAT.

3.3. Infection by *T. cruzi*

The infection by *T. cruzi* was recorded in all species sampled: 8 of 10 species sampled at RN and all (9) species sampled at FA (Table 2). Marsupials demonstrated significantly higher prevalence of *T. cruzi* infection, as observed by IFAT and HC, in comparison to rodents ($p < 0.01$) in both study areas. All animals showed negative MHCT test for *T. cruzi*. In addition, males of marsupials showed a significantly higher prevalence of *T. cruzi* infection than females ($p < 0.05$).

The spatial overall pattern of *T. cruzi* infection remained similar in both areas at the different sample

Table 2

Pattern of *Trypanosoma cruzi* infection by small mammals species in two distinct areas in the south Pantanal, Brazil

Species	Overall		RN		FA	
	IFAT	HC	IFAT	HC	IFAT	HC
<i>O. mamorae</i>	27/29	5/18	23/34	5/22	4/16	–
<i>T. pachyurus</i>	5/7	1/20	3/8	1/33	2/6	–
<i>C. laticeps</i>	6/20	1/16	5/17	1/20	1/5	–
<i>H. brasiliensis</i>	5/26	–	4/33	–	1/14	–
<i>C. scotti</i>	2/18	–	–	–	2/29	–
<i>C. callosus</i>	2/25	–	–	–	2/40	–
Total Rodents	47/19	7/15	35/23	7/20	12/12	–
<i>G. agilis</i>	5/35	4/80	1/20	1/100	4/50	3/75
<i>M. domestica</i>	9/75	2/22	3/100	1/33	6/67	1/17
<i>Thylamys macrurus</i>	2/29	–	1/50	–	1/20	–
<i>P. frenatus</i>	2/50	1/50	2/50	1/50	–	–
Total marsupials	18/50	7/39	7/50	3/43	11/50	4/36
Total small mammals	65/22	14/21	42/24	10/24	23/19	4/17

The data of IFAT, HC and MHCT are expressed by number of positives following to percentual of positivity. (–) negative results. All animals showed negative MHCT test for *T. cruzi*.

Table 3
Pattern of *Trypanosoma evansi* infection by small mammals species in two distinct areas in the south Pantanal

Species	Overall		RN		FA	
	IFAT	MHCT	IFAT	MHCT	IFAT	MHCT
<i>O. mamorae</i>	14/17	5/35	8/13	3/37	6/35	2/33
<i>T. pachyurus</i>	16/22	1/6	1/3	1/100	15/43	–
<i>C. laticeps</i>	9/20	1/11	1/3	1/100	8/47	–
<i>H. brasiliensis</i>	1/5	–	1/8	–	–	–
<i>C. scotti</i>	–	–	–	–	–	–
<i>C. callosus</i>	1/14	–	1/25	–	–	–
Total rodents	41/18	7/17	12/8	5/42	29/35	2/7
<i>G. agilis</i>	2/15	–	1/20	–	1/12	–
<i>M. domestica</i>	1/8	–	1/33	–	–	–
<i>Thylamys macrurus</i>	1/14	–	1/50	–	–	–
<i>P. frenatus</i>	1/25	1/100	1/25	1/100	–	–
Total marsupials	5/14	1/20	4/29	1/25	1/4	–
Total small mammals	46/17	8/17	16/10	6/37	30/29	2/7

The data of IFAT, HC and MHCT are expressed by number of positives/to percentual of positivity. (–) negative results.

collection points. However, peculiarities of the prevalence and profile of infection could be observed: the total serum prevalence of *T. cruzi* infection in rodents was significantly higher in RN (22.8%) than in FA (12.2%) ($p < 0.01$). Furthermore, rodents in RN and not in FA showed high parasitemias as demonstrated by positive HC test (Table 2).

Distinct scenarios of the enzootia could be observed in the two areas since infected animals could be detected in all sampled habitats of FA, contrasting with RN where infected animals were not reported in “grassland” or “edge of lakes”. Additionally, a positive high correlation between habitat and *T. cruzi* infection was recorded: the arboreal *O. mamorae* displayed higher *T. cruzi* serum prevalence rates and parasitemias in “cordilheiras” ($p < 0.004$). Moreover, we found high parasitemias comprovated by positive HC in *O. mamorae* and in one *C. laticeps* in the “peri-domicile” of the RN area.

3.4. Infection by *T. evansi*

Overall, no significative differences were observed in *T. evansi* serum prevalence rates among the more representative species of small mammals (Table 3). However, high *T. evansi* parasitemias were found mainly in *O. mamorae* in both studied areas (Table 3). Moreover, overall higher parasitemias were found in RN, while in the FA area the highest *T. evansi* serum prevalence was recorded.

Higher serum prevalence of *T. evansi* infection was found in “grassland” (30 positives in 38 sampled). In con-

trast, only minor *T. evansi* serum prevalence was found in the “cerrado” habitat (4 positives in 48 sampled).

The infection of *T. evansi* in small mammal fauna occurred dispersed throughout landscape. However, the role as reservoir was fulfilled by distinct species according to the habitat. In this context, a positive and high correlation between habitat and *T. evansi* infection was detected for (a) *T. pachyurus* and *O. mamorae* in “cordilheira” ($p < 0.005$); and (b) *C. laticeps* in “open grassland” ($p < 0.003$).

4. Discussion

The importance of vegetal cover in the distribution pattern of small wild mammals in the southern Pantanal is demonstrated by (a) the presence of marsupials mainly observed in arboreal habitats of both RN and FA areas; (b) abundance of *C. laticeps* in the “open grassland” habitat present essentially in FA; (c) the occurrence of *P. frenata* only in RN “gallery forest”; (d) the lower species richness found at the “edge of lake” and in “gallery forest”.

In the Pantanal, the small mammal fauna composition, as well as their relative abundance, showed to be influenced not only by the peculiarities of the landscape and different habitats but also by the presence of livestock. In this context, while in the preserved RN area the small mammal species were found uniformly dispersed among the habitats; in FA area the small mammal fauna is concentrated mainly in the “cerrado”. This phenomenon is probably associated to the higher density of livestock in the cattle farming area.

Mixed infections by *T. cruzi* and *T. evansi* seem to be unimportant because low serum prevalence (1.6%) was found for both trypanosomatids. The negligible quantity of mixed *T. cruzi* *T. evansi* infection in small wild mammals may be explained by two hypotheses: cross-protection between these parasite species, and/or distinct exposure to transmission condition.

The role of the small mammal fauna in the transmission cycle of both *T. cruzi* and *T. evansi* seems to be distinct according to land use, as exemplified by: (a) the broad range of *T. evansi* infected hosts in the preserved RN area (eight infected species) in comparison to FA (only four species); (b) half the number of the rodents infected with *T. cruzi*, without high parasitemias, in FA in comparison to RN. The low number of small mammals with positive MHCT in FA suggests that these animals have a minor importance in the transmission cycle of *T. evansi* in this area. Indeed, capybaras, coatis and horses have been demonstrated as the main reservoir of this parasite (Herrera et al., 2004).

Rodents and marsupials were shown to display distinct roles in the transmission cycle of *T. cruzi* in the Pantanal region: while rodents compensate their low prevalence of infection with their high abundance, marsupials compensate their low biomass with high parasitemias and serum prevalence.

Marsupials males seems to be important reservoir of *T. cruzi* due to their significantly higher prevalence of infection. This feature may be explained by: (a) their more extensive roaming habits, habitat choice, diet composition and body size, and/or (b) physiological explanations like direct or indirect effects of steroid hormones on components of the immune system and/or on parasite growth and development, and/or (c) their eminent nomad behaviour (Poulin, 1996; Zuk and Mc Kean, 1996).

The presented data showed that the *T. cruzi* and *T. evansi* transmission cycles in the Pantanal occur in the underbush and on the ground, as demonstrated by the presence of infected small mammals throughout. Nevertheless, the differences in transmission strategies displayed by *T. cruzi* and *T. evansi* were clearly expressed by the distinct profiles in seroprevalence and parasitemias found in the habitats sampled. Thus, the higher *T. evansi* serum prevalence in animals collected in “open grassland” contrasted with the near absence of animals infected by *T. cruzi* in this habitat and vice versa. This is probably due to the ecology of the local vectors of these trypanosomatid species.

The data point to an interesting epidemiological picture concerning *T. evansi* transmission in FA. The higher serum prevalence of *T. evansi* infection was found in

“grassland” (80%), a habitat where only two host species have been trapped (*C. laticeps* and *T. pachyurus*). On the contrary, a lower *T. evansi* serum prevalence was found in the “cerrado” (8%), where nine species were found. This observation may be explained by a “dilution effect” phenomenon, as proposed by Ostfeld and Keesing (2000).

The abundant rodent *T. pachyurus* seems to play distinct roles in the transmission cycles of *T. cruzi* and *T. evansi*. This ground dwelling rodent showed to be an important host of *T. evansi* since infected specimens has been collected in the majority of the studied habitats in both RN and FA. Concerning *T. cruzi*, this rodent showed only low serum prevalence and low parasitemias. It is worth mentioning that in experimental conditions, this caviomorph species demonstrated to be extremely susceptible to infection but able to maintain long lasting *T. cruzi* infection (Roque et al., 2005).

The transmissibility of multihost parasites, as it is the case of *T. evansi* and *T. cruzi*, and competence as reservoir host, are not fixed traits. Therefore, monitoring the sylvatic transmission cycles of these trypanosomatids is necessary to prevent re-emergence of Chagas disease and outbreaks of animal tripanosomiasis.

Cattle ranching in this study area did not enhance overall prevalence of *T. cruzi* infection among small wild mammals. Together with the observation that small mammals diversity in FA is similar to RN area suggest that ranching activity may also not necessarily conduct to biodiversity loss or risk of Chagas disease.

Acknowledgements

To Dr. Vera Bongertz for English revision and insightful discussion; Dr. Cibele Bonvicino for karyotype identification of small mammal species. This work was supported by Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq no. 470100/01-0); Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz; Programa de Apoio a Pesquisa Estratégica em Saúde de/Fiocruz (PAPES III—0250250108); Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do estado de Mato Grosso do Sul; Conservação Internacional do Brasil, Earth Watch Institute and FUNDECT. The assistance provided by the local people is gratefully acknowledged.

References

- Adamoli, J., 1987. Fisiografia do Pantanal. In: Allem, A.C., Valls, J.F.M. (Eds.), Recursos Forrageiros Nativos do Pantanal Matogrossense. DDT-EMBRAPA, Brasília, pp. 23–25.

- Camargo, M.E., 1964. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis for toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 3, 117–118.
- Dutra, W.O., Rocha, M.O., Teixeira, M.M., 2005. The clinical immunology of human Chagas disease. *Trends Parasitol.* 21, 581–587.
- Harris, M.B., Tomas, W., Mourao, G., Da Silva, C.J., Guimaraes, E., Sonoda, F., Fachim, E., 2005. Safeguarding the Pantanal wetlands: threats and conservation initiatives. *Conserv. Biol.* 19, 714–720.
- Herrera, H.M., Davila, A.M., Norek, A., Abreu, U.G., Souza, S.S., D'Andrea, P.S., Jansen, A.M., 2004. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. *Vet. Parasitol.* 10, 263–275.
- Herrera, H.M., Norek, A., Freitas, T.P.T., Rademaker, V., Fernandes, O., Jansen, A.M., 2005a. Domestic and wild mammals infection by *Trypanosoma evansi* in a pristine area of the Brazilian Pantanal region. *Parasitol. Res.* 96, 121–126.
- Herrera, H.M., Rademaker, V., Barcelos, D.S., Campos, C.O., D'Andrea, P.S., Jansen, A.M., 2005b. Pequenos mamíferos nos ciclos de transmissão de *Trypanosoma cruzi* no pantanal sul mato-grossense. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, Porto Alegre. *Anais do XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia—Rev. Pat. Trop.* v. 35, suppl. 34.
- Jansen, A.M., Moriearty, P.L., Castro, B.G., Deane, M.P., 1985. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: an indirect fluorescent antibody test for the diagnosis and follow-up of natural and experimental infections. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79, 474–477.
- Lafferty, K.D., 1997. Environmental parasitology: What can parasites tell us about human impacts on the environment? *Parasitol. Today* 13, 251–255.
- Losos, G.J., 1980. Diseases caused by *Trypanosoma evansi*. A review. *Vet. Res. Commun.* 4, 165–181.
- Lourival, R.F.F., Fonseca, G.A.B., 1997. Análise de Sustentabilidade do Modelo de Caça Tradicional, no Pantanal da Nhecolândia, Corumbá, MS. In: Valladares-Padua, C., Bodmer, R.E., Cullen Jr., L. (Eds.), MCT-CNPq, Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. Sociedade Civil Mamirauá, pp. 123–172.
- Ostfeld, R.S., Keesing, F., 2000. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. *Conserv. Biol.* 14, 722–728.
- Poulin, R., 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *Am. Nat.* 147, 287–295.
- Roque, A.L., D'Andrea, P.S., de Andrade, G.B., Jansen, A.M., 2005. *Trypanosoma cruzi*: distinct patterns of infection in the sibling caviomorph rodent species *Thrichomys apereoides laurentius* and *Thrichomys pachyurus* (Rodentia, Echimyidae). *Exp. Parasitol.* 111, 37–46.
- Silva, R.A., Arosemena, N.A., Herrera, H.M., Sahib, C.A., Ferreira, M.S., 1995. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. *Vet. Parasitol.* 60, 167–171.
- Stevens, J.R., Gibson, W.C., 1999. The evolution of pathogenic trypanosomes. *Cad. Saude Publica* 15, 673–684.
- Woo, P.T.K., 1970. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Trop.* 27, 384–386.
- Zuk, M., Mc Kean, K.A., 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *Int. J. Parasitol.* 26, 1009–1024.

Capítulo 2

What is the role of small rodents in the transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (kinetoplastida trypanosomatidae)? A study case in the Brazilian Pantanal.

V. Rademaker, H.M. Herrera, T.R. Raffel, P.S. D'Andrea, T.P.T. Freitas, U.G.P. Abreu, P.J. Hudson, A.M. Jansen.

Artigo Publicado na Acta Tropica, 111 (2009): 102–107.



What is the role of small rodents in the transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae)? A study case in the Brazilian Pantanal

V. Rademaker^{a,b,*}, H.M. Herrera^{c,d}, T.R. Raffel^a, P.S. D'Andrea^b, T.P.T. Freitas^c, U.G.P. Abreu^d, P.J. Hudson^a, A.M. Jansen^c

^a Center for Infectious Disease Dynamics, The Pennsylvania State University, Biology Department, 208 Mueller Lab, University Park, PA, 16802-5301, USA

^b Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Departamento de Medicina Tropical, FIOCRUZ/RJ, Av Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

^c Laboratório de Biologia de Trypanosomatídeos, Departamento de Protozoologia, FIOCRUZ/RJ, Av Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ, 21045-900, Brazil

^d Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, EMBRAPA/Pantanal, Rua 21 de Setembro, 1880, Corumbá, MS, 79320-900, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 June 2007

Received in revised form

25 November 2008

Accepted 23 February 2009

Available online 5 March 2009

Keywords:

Rodent

Trypanosomiasis

Hematology

Trypanosoma evansi

Trypanosoma cruzi

Pantanal

ABSTRACT

Determining the reservoir hosts for parasites is crucial for designing control measures, but it is often difficult to identify the role that each host species plays in maintaining the cycle of infection in the wild. One way to identify potential maintenance hosts is to estimate key parameters associated with transmission and pathogenicity. Here we assess the potential for three native rodent species of the Brazilian Pantanal (*Clyomys laticeps*, *Thrichomys pachyurus* and *Oecomys mamorae*) to act as reservoir or maintenance hosts of *Trypanosoma evansi*, an important parasite of domestic livestock. By analyzing blood parameters of naturally infected wild-caught rodents of these species, we compared their levels of parasitemia and anemia due to *T. evansi* infection with literature values for other host species infected by this parasite. We also analyzed levels of these blood parameters relative to infection by *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease in humans, for which wild rodents are already thought to be important reservoir species. All three species showed low impacts of the two trypanosomes on their blood parameters compared to other species, suggesting that they experience a low virulence of trypanosome infection under natural conditions in the Pantanal and might act as maintenance hosts of trypanosome infections. The low parasitemia of trypanosome infections suggests that these rodents play a secondary role in the transmission cycle compared to other species, especially compared to the capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) which also experiences low pathogenicity due to infection despite much higher levels of parasitemia.

© 2009 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

The two common South American trypanosomes *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma cruzi* infect a range of mammalian host species, and cross-species transmission is common since vectors bite multiple host species (Hoare, 1972; Barretto, 1979). These parasites have widespread distributions and are primarily parasites of free-living mammals. *T. cruzi* causes Chagas disease in humans and is transmitted mainly via the feces of infected blood sucking triatomine bugs. *T. cruzi* transmission can also occur trophically when a predator ingests the infected blood or tissues of an infected mammal or insect. *T. evansi*, the etiologic agent of wasting disease in horses and dogs (locally called *Mal de Cadeiras*), is mechanically

transmitted by tabanid flies. Since vector transmission is mechanical, it is thought to be dependent on high parasitemias in the mammalian host.

Identifying reservoir and maintenance hosts for zoonotic parasites are difficult because measuring cross-species transmission and long-term persistence within host populations requires large-scale and technically challenging studies. However, one can narrow down potential candidates by examining characteristics of host–parasite interactions which tend to differ between hosts. *T. evansi* has proven to be highly pathogenic in nearly every wild host species studied. This parasite has been shown to cause generalized loss of body condition and immune suppression coupled with anemia in both domestic and wild mammals (Silva et al., 1995, 1997; Holland et al., 2001; Aquino et al., 2002; Espinoza et al., 2002; Herrera et al., 2002; Menezes et al., 2004; Onah et al., 1996). The one clear exception is the capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), which is the only mammal tested to date that has lacked evidence of anemia in natural or experimentally induced infections despite high levels of parasitemia, measured by the number of trypanosomes

* Corresponding author at: Center for Infectious Disease Dynamics, The Pennsylvania State University, Biology Department, 208 Mueller Lab, University Park, PA, 16802-5301 USA. Tel.: +1 814 863 5895; fax: +1 814 863 9131.

E-mail addresses: vrademaker@yahoo.com, vr113@psu.edu (V. Rademaker).

per ml of blood (Franke et al., 1994a,b; Herrera et al., 2004). Coatis and capybaras are considered as the most significant reservoirs for *T. evansi* (Franke et al., 1994b; Silva et al., 1995). For *T. cruzi* several mammalian species are considered as important sources of infection to humans. Although it is described that small wild mammals are good reservoir hosts for *T. cruzi* (Cortez et al., 2006), their role in the parasitic web of *T. evansi* is still unknown (Coura et al., 2002; Herrera et al., 2004, 2005).

The aim of this study was to determine the likely role of free-living rodents in the maintenance of *T. cruzi* and *T. evansi* of three common rodent species, two spiny rats, *Thrichomys pachyurus* and *Clyomys laticeps* (Rodentia: Echimyidae), and one arboreal rice rat, *Oecomys mamorae* (Rodentia: Sigmodontinae), in the Brazilian Pantanal. Like capybaras, these rodents are native to Brazil and probably have a long evolutionary history of infection by both *T. evansi* and *T. cruzi* (Teixeira et al., 2006). These are also the most abundant small mammalian species in the Pantanal region and are frequently found around or inside human dwellings, making them potential reservoirs of infection for humans and domestic animals. To assess whether these species are potential maintenance hosts for *T. evansi* or *T. cruzi*, we examined anemia (reduction in erythrocyte numbers and hematocrit), lymphocytosis (increase in lymphocyte counts), and the change in the mean corpuscular volume in these wild-caught rodents as direct measures of pathogenicity and indirect measures of parasite induced mortality. Then we compared parasitemia levels and anemia in these rodent species to the results of previous studies of mammals naturally and experimentally infected with *T. evansi* (Franke et al., 1994a; Silva et al., 1995, 1997; Holland et al., 2001; Aquino et al., 2002; Espinoza et al., 2002; Herrera et al., 2002; Menezes et al., 2004; Onah et al., 1996; Rodrigues et al., 2005), in order to assess whether these species have the low anemia coupled with high parasitemia that would make them ideal maintenance hosts for *T. evansi*.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The study was undertaken from 2002 to 2003 at two locations in the southern Pantanal 120 km apart: Rio Negro farm (19°34'54"S and 56°14'62"W), with an area of 7700 ha and active conservation management, and a cattle ranching area of 20,000 ha (19°08'28"S and 56°49'23"W) where traditional cattle management practices include grass fires and selective tree cutting. The vegetation in both locations is a mosaic of Cerrado (savannah-like forest), grassland patches and semi-deciduous forest, with gallery forests alongside the rivers. The climate is sub-humid tropical, with heavy seasonal rainfall. The average annual rainfall reaches approximately 1100–1400 mm, 80% of which occurs during the wet season. During the wet season, much of the open grassland becomes flooded, whereas during the dry season only a few pools and creeks remain.

2.2. Capture methods

All animal procedures were undertaken in accordance with regulations, and licenses obtained from the Brazilian Government Institute for Wildlife and Natural Resource Care (IBAMA). Rodents were captured twice on each farm, once during the dry season and again during the wet season. Traps were set for seven consecutive nights on linear transects, each of which included 20 trapping stations spaced 10 m apart. Transect locations were chosen to obtain a representative sample of different habitat types. At each station, two traps were placed next to each other on the ground, one Tomahawk® (model 201, 16 in. × 5 in. × 5 in.) to catch large rodent species and one Sherman® (model XLK 3 in. × 3.75 in. × 12 in.) to

catch small species. In forested areas, we placed one additional trap in a tree at each station, a Tomahawk® trap on odd numbered station and a Sherman® trap on even numbered stations. Traps were baited with a mixture of banana, peanut butter, oat meal and bacon and checked daily. For each animal captured, species, sex, reproductive condition, body mass, body length, hind foot length, ear length, identifying characteristics and trapping station were recorded.

2.3. Blood analyses

Captured animals were anesthetized with Zoletil®50 (Virbac) and blood collected via heart puncture prior to euthanasia. Blood samples were stored in tubes with anti-coagulant (EDTA) and were kept under refrigeration at 4 °C until analyzed within 12 h from collection. Sample sizes for the analysis were reduced when insufficient blood could be collected or the blood became contaminated.

We searched for trypanosomes using serological and parasitological methods with priority given to the latter. We considered an animal infected when it was positive in at least one of the methods used. A complete analysis of the serological results and prevalence of *T. cruzi* and *T. evansi* between farms using data from all rodent species collected has been described in another paper (Herrera et al., 2008).

Blood samples were analyzed for the presence of trypanosomes as described by Herrera et al. (2008), using two semi-quantitative methods, hemoculture and microhematocrit centrifuge technique (Woo, 1970) and serological assay. Counts of erythrocytes and leukocytes were performed using a Neubauer chamber, and hematocrit was obtained by capillary tube centrifugation of 100 µl blood samples. The latter samples were also examined for hemoparasites following the microhematocrit centrifuge technique. Mean cell volume was estimated as the hematocrit value multiplied by 10 and divided by erythrocyte counts divided by 10⁶. The remaining blood was centrifuged and the plasma stored at –20 °C until serological analysis. Blood cell counts, serum collection and the microhematocrit centrifuge technique were undertaken in the field laboratory within 12 h of blood collection. Further analyses were undertaken at the Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. The hemoculture for *T. cruzi* was analyzed two times monthly for 5 months or until trypanosomes were detected. The immuno-fluorescence antibody test for detecting IgG was conducted according to Camargo (1966).

The immuno-fluorescence antibody test (IFAT) for detecting IgG was conducted. Briefly, serial twofold sera dilutions (1:10–1:1280) were assayed against trypanosomes antigen deriving from axenic medium (*T. cruzi*) or ionic exchange column (*T. evansi*). Control serum samples were obtained from animals born at a wildlife breeding center located in the Oswaldo Cruz Institute, before (negative controls) or after experimental infection (positive controls). Standardization of the protocol was undertaken in order to establish suitable working dilutions for each specific fluorescence antibody conjugate. We used anti-rat IgG (FITC, Sigma®) for rodents species. The cut-off values for *T. cruzi* and *T. evansi* were: 1:10 for rodents, since it was the lowest serum sample titer of rodents in which parasites could be detected by MHCT or BC, as described elsewhere (Herrera et al., 2004). Serum samples were assayed separately against *T. cruzi* and *T. evansi* antigen according to Herrera et al. (2008).

2.4. Statistical analysis

To examine the influence of *T. evansi* and *T. cruzi* on host condition, expressed by blood parameters, we used generalized linear models (GLMs). For each response variable (hematocrit, lymphocyte and erythrocyte counts, and mean cell volume) a model was built including trypanosome infection (*T. evansi* or *T. cruzi*). We also

Table 1

Number of rodents infected by *T. evansi* and *T. cruzi* (positive/total) on each diagnostic method (PCR: polymerase chain reaction; HC: hemoculture; IFAT: immunofluorescence antibody test; MHCT: microhematocrit centrifuge technique).

Species	<i>T. evansi</i>			<i>T. cruzi</i>		
	PCR	IFAT	MHCT	HC	IFAT	MHCT
<i>O. mamorae</i>	4/15	6/17	4/15	13/40	16/43	2/15
<i>C. laticeps</i>	1/24	10/33	1/24	5/42	5/43	0/24
<i>T. pachyurus</i>	2/24	12/34	1/23	1/52	1/52	0/23

included in the model other variables that could explain the variation in the blood parameters as rodent species, sex and season. Because the farms represented two different habitat conditions, all analyses were blocked by farm. Data from all three species were pooled together to perform the analysis for *T. evansi*. As only a few individuals of *T. pachyurus* and *C. laticeps* were infected by *T. cruzi*, only data from *O. mamorae* was used in the analysis. Minimal models were selected by backward selection using sub-model deviance tests (for negative binomial models) and *F*-tests (for Gaussian models) to test for the significance of predictors and their interactions to each model (*P* for exclusion=0.05). Hematocrit values were arcsine-transformed before analysis. Counts of lymphocytes and erythrocytes fit the negative binomial error distribution, and the arcsine-transformed hematocrit values and mean cell volume were normally distributed. We focused on trypanosome prevalence rather than intensity because too few hemocultures provided positive results to obtain sufficient quantitative data. Our sample size was also insufficient to test for effects of habitat type on blood parameters or infection status. For the between-species comparisons, we also performed two-tailed *t*-tests on the arcsine-transformed hematocrit values as an alternative method for testing for significant anemia in the *T. evansi* infected rodents (compared to controls), since this provided a straightforward way to calculate the power of our analysis.

To test whether the wild rodent species expressed a less severe trypanosome-induced decrease in hematocrit and erythrocyte counts than the published data, we performed a power analysis using the inverse of a one-tailed *t*-test with a power of 0.60, using the pooled variance of infected and uninfected individuals and the sample sizes of infected and uninfected individuals to calculate the detectable decrease in hematocrit and erythrocyte counts for each species studied. We estimated the reduction in hematocrit or log-erythrocyte count of naturally or experimentally *T. evansi* infected animals from published data on coatis, capybara, goat, sheep, buffalo, mice and dogs. We calculated this reduction as the mean hematocrit or log-erythrocyte count of infected individuals from the seventh day post-infection till the end of the experiment, subtracted from the mean of uninfected control animals during the same period. When controls were not available, we instead used the mean pre-infection hematocrit or log-erythrocyte count of experimental animals as a control value. Due to the lack of data for individual animals in the papers used, estimation of the true effect size was not possible, so we estimated the expected reduction in hematocrit or erythrocyte count as the difference between the mean values for infected and uninfected individuals divided by the mean value for uninfected individuals.

3. Results

We collected 262 rodents from both farms, 85 *C. laticeps*, 100 *T. pachyurus* and 111 *O. mamorae* (Table 1). Although many of these animals tested positive for *T. evansi* infection by serology (Table 1), only 4 *O. mamorae*, 1 *T. pachyurus* and 1 *C. laticeps* had parasitemias, detectable by microhematocrit (probably between 10³ and 10⁴ trypanosomes/ml).

Table 2

Results from the GLM analysis testing the relationship between response variables (lymphocytes, hematocrit, mean cell volume and erythrocytes) and predictors (season, sex, host species and *T. evansi*), using data from *T. pachyurus*, *C. laticeps* and *O. mamorae*. No relationship was found between erythrocytes and the predictors (not shown). Farm was included as a blocking variable in all analyses, and predictors with *P*>0.05 were excluded from models.

Response variable	Predictors	<i>N</i>	d.f.	Test statistic	<i>P</i>
Lymphocytes ^a	Farm	78	1	$\chi^2 = 2.875$	0.090
	Host species	2		$\chi^2 = 20.585$	0.000034
	<i>T. evansi</i>	1		$\chi^2 = 4.833$	0.028
Hematocrit ^b	Farm	43	1	$F = 3.329$	0.070
	Host species	2		$F = 4.082$	0.019
	Sex	1		$F = 11.091$	0.001
Mean cell volume ^b	Farm	125	1	$F = 1.279$	0.260
	Season	1		$F = 7.291$	0.008

^a Negative binomial error distribution.

^b Normal error distribution, arcsine-transformed proportions.

We found no significant effect of *T. evansi* infection status on either hematocrit or erythrocyte counts for any of the individual host species or in an analysis including all three species, using either GLMs (Table 2) or two-tailed *t*-tests (all *P*>0.10, Table 4). Similarly, *T. cruzi* had no significant effect on either of these blood parameters in *O. mamorae* (Table 3). When analyzed separately using the GLM, *O. mamorae* had significantly lower erythrocyte counts (Table 3) and higher hematocrits (Table 3) during the wet season, independent of infection (Fig. 1D), but this was found for no other species. Males from all three species had consistently higher hematocrits than females, independent of infection, with significant differences among species (Table 2), with higher hematocrits in *C. laticeps* and *T. pachyurus* than in *O. mamorae* (Fig. 1B).

The power analysis indicated that the sample sizes should have been sufficient for the individual *t*-tests to detect *T. evansi* induced reductions in hematocrit and erythrocyte counts of –8.0% and –19.0% for *T. pachyurus*, –9.5% and –12.5% for *C. laticeps* and –12.0% and –26.1% for *O. mamorae*, respectively. These values are all lower than typical trypanosome-induced decreases seen in other animals naturally or experimentally infected with *T. evansi* (Table 5), showing that we had sufficient power to detect anemia in each of the focal species if it had been as severe as previously observed in other species.

Lymphocyte counts were significantly higher in hosts infected with *T. evansi* (Table 2), an effect which was consistent across all three rodent species (Fig. 1A). There was no significant effect of *T. cruzi* on lymphocyte counts, but mean cell volume was higher in *O. mamorae* individuals infected with *T. cruzi* than uninfected (Fig. 1E, Table 3). This result was not significant at the 5% level when farm was used as a blocking variable (*N*=23, $F = 3.387$, *P*=0.081) but

Table 3

Results from the GLM analysis testing the relationship between response variables (lymphocytes, hematocrit, mean cell volume and erythrocytes) and predictors (season, sex, and *T. cruzi*), using data from *O. mamorae*. No relationship was found between lymphocytes and the predictors (not shown). Farm was included as a blocking variable in all analyses but the one for mean cell volume, and predictors with *P*>0.05 were excluded from models.

Response variable	Predictors	<i>N</i>	d.f.	Test statistic	<i>P</i>
Erythrocytes ^a	Farm	52	1	$\chi^2 = 0.045$	0.045
	Season	1		$\chi^2 = 0.040$	0.040
Hematocrit ^b	Farm	69	1	$F = 2.574$	0.114
	Season	1		$F = 4.080$	0.048
	Sex	1		$F = 4.775$	0.032

^a Negative binomial error distribution.

^b Normal error distribution, arcsine-transformed proportions.

Table 4

Mean erythrocyte counts and hematocrit levels for *T. evansi* infected and uninfected individuals, and the respective values for the *t*-test (*t*-value), degrees of freedom (d.f.) and significance level (*P*).

Species	Parameter	Uninfected	Infected	<i>t</i> -value	d.f.	<i>P</i>
<i>O. mamorae</i>	Erythrocytes ^a	15.36	15.39	−0.22	12	0.831
	Hematocrit ^b	0.63	0.64	−0.51	21	0.618
<i>T. pachyurus</i>	Erythrocytes ^a	15.45	15.40	0.54	33	0.593
	Hematocrit ^b	0.65	0.66	−0.42	36	0.676
<i>C. laticeps</i>	Erythrocytes ^a	15.41	15.41	0.02	29	0.983
	Hematocrit ^b	0.65	0.68	−1.37	33	0.179

^a Log transformed.

^b Arcsine-transformed.

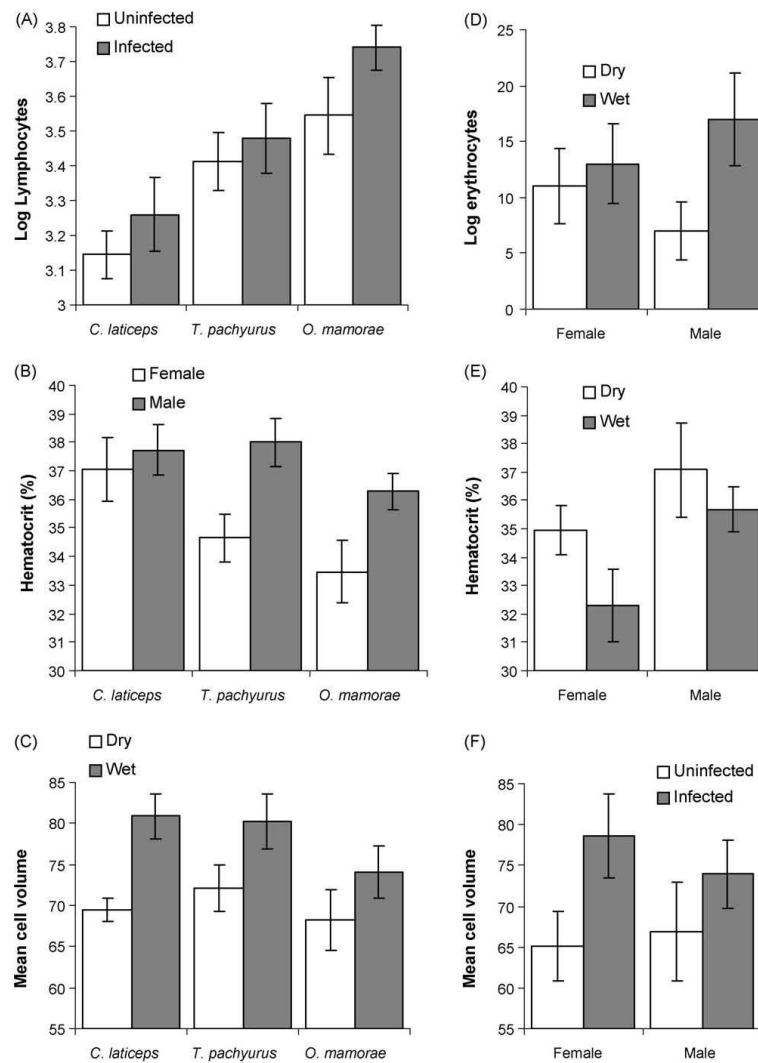


Fig. 1. Relationship of (A) *T. evansi* with lymphocytes, (B) sex with hematocrit and (C) season with mean cell volume for all three species of rodents; and (D) season and sex with erythrocytes by sex, (E) season and sex with hematocrit and (F) *T. cruzi* and sex with mean cell volume only for *O. mamorae*.

Table 5

Expected mean percentage of reduction on hematocrit levels and erythrocyte counts and parasitemia levels from individuals of different species naturally (*) and experimentally infected with *T. evansi*. Data extracted from literature and from the present study.

Species	Hematocrit	Erythrocyte counts	Parasitemia ^a	Source
Lab mice	–29%	N/A	High	Menezes et al. (2004)
Dog (<i>Canis familiaris</i>)	–32%	–33%	N/A	Aquino et al. (2002)
Dog* (<i>Canis familiaris</i>)	–38%	–34%	N/A	Colpo et al. (2005)
Sheep (<i>Ovis aries</i>)	–19%	N/A	N/A	Espinoza et al. (2002)
Buffalo (<i>Bubalus bubalus</i>)	–27%	–35%	N/A	Hilali et al. (2006)
Goat (<i>Capra hircus</i>)	–62%	–58%	N/A	Dargantes et al. (2005)
Coati (<i>Nasua nasua</i>)	–23%	–31%	High	Herrera et al. (2002)
Coati* (<i>Nasua nasua</i>)	–31%	–43%	N/A	Silva et al. (1997)
Capybara (<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>)	–13%	N/A	High	Franke et al. (1994a)
<i>Clyomys laticeps</i> *	+6%	–1%	Low–moderate	Present study
<i>Thrichomys pachyurus</i> *	+1%	–2%	Low–moderate	Present study
<i>Oecomys mamorae</i> *	+3%	+2%	Low–moderate	Present study

^a Parasitemia levels in the blood: high, 10⁴ to 10⁹ trypanosomes/ml; moderate, <10⁴ trypanosomes/ml; low, detectable only through serological analysis.

was significant when farm was removed from the model ($N=23$, $F=4.853$, $P=0.0390$).

Mean cell volume was also significantly higher in the wet season than the dry season for all three species (Table 2), particularly *C. laticeps* and *O. mamorae* and less so for *T. pachyurus* (Fig. 1C).

4. Discussion

Despite the high pathogenicity of *T. evansi* in other rodents such as mice, laboratory rats and *Thrichomys apereoides* in experimental conditions (Menezes et al., 2004; Jansen, unpublished observations), we found a complete absence of detectable trypanosome-induced anemia in wild-caught *T. pachyurus*, *C. laticeps*, and *O. mamorae*, possibly as a result of the low parasitemia levels of infected animals. This result implies that they have the characteristic low infection virulence expected for good maintenance host species. This lack of detectable anemia is unlikely to be due to insufficient statistical power, based on comparisons with other species, or of measurement error, since we have previously detected trypanosome-induced anemia in coatis and horses using the same techniques (Herrera et al., 2004). Unlike many of the other species included in our comparative analysis, the coatis tested by Herrera et al. (2004) were wild-caught and still showed parasite-induced anemia, suggesting that our findings were not due to technical bias.

Nevertheless, these rodent species are unlikely to be as effective at maintaining the cycle of infection as capybara, based on the very low levels of parasitemia we observed in infected individuals. High parasitemia, which is thought to correlate with transmission potential, is potentially as important to maintaining the cycle of infection as low virulence, which raises the value of R_0 by reducing mortality and lengthening the infectious period. Hosts that maintain higher parasitemias, such as coatis and capybaras, will probably have higher vector transmission rates than the small rodents in this study, which we suspect will only transmit these trypanosomes through ingestion by carnivores. Higher parasitemias are associated with anemia in coatis but not in capybaras (Herrera et al., 2004), which will probably reduce the coatis' infectious period due to mortality. Since both small rodents and capybaras lack infection-induced anemia but only capybaras have both low virulence and high parasitemia, capybaras remain the best candidates for maintenance hosts of *T. evansi* so far.

One limitation with this study is that individuals which develop a severe infection in the wild might die quickly, so the only hosts remaining alive and subsequently sampled would be those that are capable of controlling the parasitemia and consequently of resisting the infection. We do not believe that this is the case, since anemia is related to high parasitemias of *T. evansi* in naturally infected horses

and coatis (Herrera et al., 2004) and the few individuals found with moderate parasitemias in this study did not present anemia. In addition, the same argument applies to previous studies of naturally infected dogs and coatis, both of which were found to have substantial anemia due to infection (Table 5).

Infection with *T. evansi* had a higher impact on the blood parameters of the rodent hosts than *T. cruzi* infection. This finding was expected since salivarian trypanosomes are usually more virulent and pathogenic than stercorarian trypanosomes (Hoare, 1972). Although *T. evansi* infection did not cause anemia in the rodents, infection was associated with an increase in lymphocytes, most likely due to polyclonal activation of circulating B-cells to clear the parasite (Mansfield and Bagasra, 1978). The increase in mean cell volume observed in *T. cruzi* infected *O. mamorae* may be explained as a compensation mechanism for erythrocyte loss.

T. cruzi infections in free-living rodent species in the Pantanal have so far proven to be mainly sub-patent, which is detectable only through indirect diagnostic methods such as serology (Herrera et al., 2005). However, *T. cruzi* is highly variable such that even in experimental studies with high inocula there are subpopulations of the parasite that do not kill or produce a high parasitemia in experimentally infected rodents (Macedo and Pena, 1998). In such cases, *T. cruzi* infections produce chronic infections more often than acute infections, and natural inoculum size may be also important in this sense. This could be the reason for the low effect of *T. cruzi* on host blood parameters; however, histopathological damage cannot be excluded. Tissue damage commonly associated with *T. cruzi* infection, such as myocytolysis and myocarditis (Roque et al., 2005), has the potential to influence rodent fitness and trypanosome transmission.

O. mamorae had higher hematocrit and lower erythrocyte levels in the dry season than in the wet season. The most likely explanation for this is variation in dehydration between seasons, since lower fluid availability would cause increased concentrations of cells in the blood. Tsuchida et al. (2004) has shown that laboratory mice deprived of water for 3 days had increased hematocrit levels, significantly reduced numbers of lymphocytes in the spleen, liver, thymus and kidneys, and that these conditions ultimately resulted in immune suppression.

Altogether these findings suggest that small rodents have a secondary role in the transmission cycle of *T. cruzi* and *T. evansi* in the Pantanal. Nevertheless, since these species are locally abundant and live in close proximity with livestock, they have the potential to act as reservoir species for this parasite. Further population studies will be necessary to determine the extent of long-term maintenance of *T. evansi* and *T. cruzi* infections in these rodent populations and how commonly these species are the source of infection for horses and humans, respectively.

Acknowledgements

To CNPq, Instituto Conservação Internacional do Brasil, Earthwatch Institute and Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz and FUNDECT for financial support. Part of this research work was funded under the National Science Foundation under Grant No. 0516227.

References

- Aquino, L.P.C.T., Machado, R.Z., Alessi, A.C., Santana, A.E., Castro, M.B., Malheiros, E.B., 2002. Haematological, biochemical and anatomopathological aspects of the experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zool.* 54, 8–18.
- Barretto, M.P., 1979. Epidemiologia. In: Brener, Z., Andrade, Z. (Eds.), *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Guanabara, Koogan, Brasil.
- Camargo, M.E., 1966. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved cultured forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 8, 227–234.
- Colpo, B.C., Monteiro, S.G., Stainki, D.R., Colpo, E.T.B., Henriques, G.B., 2005. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães. *Ciênc. Rural* 35, 717–719.
- Cortez, M.R., Pinho, A.P., Cuervo, P., Alfaro, F., Solano, M., Xavier, S.C.C., D'Andrea, P.S., Fernandes, O., Torrico, F., Noireau, F., Jansen, A.M., 2006. *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae): ecology of the transmission cycle in the wild environment of the Andean valley of Cochabamba, Bolivia. *Exp. Parasitol.* 114, 305–313.
- Coura, J.R., Junqueira, A.C., Fernandes, O., Valente, S.A., Miles, M.A., 2002. Emerging chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol.* 18, 171–176.
- Dargantes, A.P., Campbell, R.S.F., Copeman, D.B., Reid, S.A., 2005. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in the goat II. Pathology. *J. Comp. Pathol.* 133, 267–276.
- Espinoza, E., Gonzalez, N., Primera, G., Rivero, E., Hidalgo, L., Gonzalez, B., 2002. Effects of *Trypanosoma evansi* in goats (*Capra hircus*) infected experimentally. *Rev. Cient. -Fac. Cient.* 12, 103–107.
- Franke, C.R., Greiner, M., Mehlitz, D., 1994a. Monitoring of clinical, parasitological and serological parameters during an experimental infection of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) with *Trypanosoma evansi*. *Acta Trop.* 58, 171–174.
- Franke, C.R., Greiner, M., Mehlitz, D., 1994b. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Pocone (Matogrosso, Brasil). *Acta Trop.* 58, 159–169.
- Herrera, H.M., Alessi, A.C., Marques, L.C., Santana, A.E., Aquino, L.P., Menezes, R.F., Moraes, M.A., Machado, R.Z., 2002. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in South American coati (*Nasua nasua*): hematological, biochemical and histopathological changes. *Acta Trop.* 81, 203–210.
- Herrera, H.M., Davila, A.M., Norek, A., Abreu, U.G., Souza, S.S., D'Andrea, P.S., Jansen, A.M., 2004. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. *Vet. Parasitol.* 125, 263–275.
- Herrera, H.M., Rademaker, V., Abreu, U.G.P., D'Andrea, P.S., Jansen, A.M., 2008. Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. *Acta Trop.* 102, 55–62.
- Herrera, L., D'Andrea, P.S., Xavier, S.C.C., Mangia, R.H., Fernandes, O., Jansen, A.M., 2005. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park 'Serra da Capivara' and its surroundings (Piauí, Brazil), an area endemic for Chagas disease. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 99, 379–388.
- Hilali, M., Abdel-Gawad, A., Nassar, A., Abdel-Wahab, A., 2006. Hematological and biochemical changes in water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.* 139, 237–243.
- Hoare, C.A., 1972. *The Trypanosomes of Mammals: A Zoological Monograph*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Holland, W.G., My, L.N., Dung, T.V., Thanh, N.G., Tam, P.T., Vercruyse, J., Goddeeris, B.M., 2001. The influence of *T. evansi* infection on the immuno-responsiveness of experimentally infected water buffaloes. *Vet. Parasitol.* 102, 225–234.
- Macedo, A.M., Pena, S.D.J., 1998. Genetic Variability of *Trypanosoma cruzi*: implications for the pathogenesis of Chagas disease. *Parasitol. Today* 14, 119–124.
- Mansfield, J.M., Bagasa, O., 1978. Lymphocyte function in experimental African trypanosomiasis. I. B cell responses to helper T cell-independent and -dependent antigens. *J. Immunol.* 120, 759–765.
- Menezes, V.T., Queiroz, A.O., Gomes, M.A.M., Marques, M.A.P., Jansen, A.M., 2004. *Trypanosoma evansi* in inbred and Swiss Webster mice: distinct aspects of pathogenesis. *Parasitol. Res.* 94, 193–200.
- Onah, D.N., Hopkins, J., Luckins, G.A., 1996. Haematological changes in sheep experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Parasitol. Res.* 82, 659–663.
- Rodrigues, A., Figuera, R.A., Souza, T.M., Schild, A.L., Soares, M.P., Milano, J., Barros, C.S.L., 2005. Surto de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em equinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. *Pesqui. Vet. Bras.* 25, 239–249.
- Roque, A.L., D'Andrea, P.S., de Andrade, G.B., Jansen, A.M., 2005. *Trypanosoma cruzi*: distinct patterns of infection in the sibling caviomorph rodent species *Thrichomys apereoides laurentius* and *Thrichomys pachyurus* (Rodentia, Echimyidae). *Exp. Parasitol.* 111, 37–46.
- Silva, R.A.M.S., Herrera, H.M., Barros, A.T.M., 1995. Trypanosomiasis outbreak due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.* 48, 315–319.
- Silva, R.A.M.S., Victório, A.M., Ramirez, L., Dávila, A.M.R., Trajano, V., Jansen, A.M., 1997. Effects of *Trypanosoma evansi* on the blood chemistry and hematology of coatis (*Nasua nasua*) naturally infected in the Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 92 (Suppl. 1), 110.
- Teixeira, A.R.L., Nascimento, R.J., Sturm, N.R., 2006. Evolution and pathology in Chagas disease—a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101, 463–491.
- Tsuchida, M., Nagura, T., Bai, X.F., Li, C.C., Tomiyama-Miyaji, C., Kawamura, T., Uchiyama, M., Abo, T., 2004. Granulocytic activation and reciprocal immunosuppression induced by dehydration: relationship with renal failure. *Biomed. Res. Tokyo* 25, 171–178.
- Woo, P.T.K., 1970. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Trop.* 27, 384–386.

3 - DISCUSSÃO

3.1 - Riqueza e composição das espécies hospedeiras

Nas duas fazendas foram identificadas seis espécies de roedores, *Oecomys mamorae*, *Thrichomys pachyurus*, *Clyomys laticeps*, *Holochilus chacarius*, *Calomys callosus* e *Cerradomys scotti*, e quatro espécies de marsupiais, *Gracilinanus agilis*, *Monodelphis domestica*, *Philander frenatus* e *Thylamys macrurus*. A riqueza de espécies não variou entre as áreas estudadas, a única diferença foi que na Fazenda Rio Negro (FRN – área preservada) capturamos *P. frenatus*, uma espécie de matas úmidas, fortemente associada a cursos d'água e áreas alagadas na Mata Atlântica. No presente estudo, *P. frenatus* foi capturado exclusivamente em Mata de Galeria, o que sugere que no Pantanal, assim como no Bioma Cerrado, a ocorrência desta espécie esteja restrita às matas mais úmidas destas regiões, como as Matas de Galeria e Veredas. Assim, como na FA não existe Mata de Galeria, consequentemente não encontramos esta espécie.

A riqueza total de espécies encontrada (n=10) está de acordo com outros estudos na mesma região (Alho et al. 1987, n=7, Alho et al. 2000, n=10). Embora a composição de espécies descrita para a Fazenda Nhumirim (Alho et al. 1987) seja um pouco diferente da encontrada neste estudo, esta diferença poderia estar associada à identificação realizada por estes pesquisadores. O marsupial *T. macrurus* não foi observado por Alho e colaboradores (1987, 2000), enquanto que *Cavia aperea*, *Oryzomys concolor*, *Oryzomys fornesi* (= *Oligoryzomys fornesi*), *Oryzomys subflavus* e *Rhipidomys mastacalis* foram registrados (Alho et al. 1987, 2000) Assim, no caso da espécie *Oryzomys subflavus* encontrada pelos autores, nova nomenclatura foi proposta recentemente após a revisão do táxon (Weksler et al. 2006) com a criação de novos gêneros, como *Cerradomys* e outros. Assim, os indivíduos de *O. subflavus* passaram a ser *Cerradomys subflavus*. No caso dos *Rhipidomys*, é provável que tenha sido confundida com *O. mamorae*, uma vez que estes gêneros são muito parecidos e a abundância relatada no estudo é muito próxima da abundância relativa

de *O. mamorae* encontrada neste estudo. No entanto, os dois gêneros estão presentes no Pantanal, não sendo possível descartar que fossem espécies distintas. Da mesma forma que na FA, na Fazenda Nhumirim, não foi encontrada a espécie *P. frenatus*.

Portanto, como a riqueza de espécies não variou, e a composição variou muito pouco, isto sugere que a criação de gado extensiva não influencia na riqueza e composição de espécies, mas sim na distribuição das espécies como descrito a seguir.

3.2 - Características Bionômicas, Distribuição e abundância das espécies hospedeiras

Dentre as espécies de roedores e marsupiais amostradas neste estudo, *O. mamorae* foi a espécie mais abundante, seguida por *T. pachyurus*, *C. laticeps*, *G. agilis*, *H. chacarius* e *M. domestica*. As demais espécies, *C. callosus*, *C. scotti*, *T. macrurus* e *P. frenatus*, foram menos abundantes, com menos de 3% de representatividade (abundância relativa) cada uma.

3.2.1 - Roedores

Oecomys mamorae (**Figura 3**) é uma espécie de roedor arborícola de pequeno a médio porte (80g) (Bonvicino et al. 2008). Apesar de ser considerada arborícola, esta espécie utiliza tanto a vegetação de sub-bosque e estrato médio quanto o chão para locomoção e abrigo. Assim, esta espécie utiliza ocos de árvores, palmeiras e buracos no solo como abrigo, espécies deste gênero no Cerrado são consideradas frugívoras onívoras (Bizerril, Gastal, 1997), sua dieta é composta por invertebrados, frutos e grãos. Sua distribuição se restringe ao sudoeste do estado do Mato Grosso e noroeste do Mato Grosso do Sul (Bonvicino et al. 2008). Esta espécie foi a mais abundante neste estudo, sua abundância relativa foi a maior na FRN (35%) e a segunda maior na FA (23%). Foi encontrada em 6 dos 7 habitats amostrados na FRN (Borda de Cerrado, Campo Limpo, Cerrado, Cordilheira, Mata de Galeria e

Peridomicílio), enquanto que em apenas 3 dos 6 amostrados na FA (Cerrado, Borda de Cerrado e Cordilheira). Pela variedade de habitats onde foi capturado, inclusive dentro de uma residência (observação pessoal), e por ser a mais abundante, esta espécie pode ser considerada habitat-generalista na região estudada, além de ser adaptada a áreas degradadas e à presença de humanos. Deste modo, esta espécie pode estar envolvida no transporte de parasitos entre o ambiente silvestre e doméstico, colocando esta espécie em destaque na análise do papel como hospedeiro dos tripanosomas estudados.



Figura 3 – *Oecomys mamorae*, rato arborícola (Foto: Vitor Rademaker).



Figura 4 – *Thrichomys pachyurus*, rato-boiadeiro (Foto: Vitor Rademaker).

Thrichomys pachyurus (**Figura 4**) é uma espécie de rato-de-espinho (Família Echimidae) semi-arborícola de grande porte (350g) (Bonvicino et al. 2008). Esta espécie se locomove principalmente no solo, mas também em arbustos ou árvores com o tronco próximo ao solo. Utiliza uma rede de túneis sob o solo levando ao seu abrigo, esta rede é relativamente ampla, chegando a uma área circular de 2-3 metros de raio, com diversas saídas (observação pessoal). Na Caatinga, *T. apereoides* é muito frequentemente associado a afloramentos rochosos e sob entulhos no Peri-domicílio (P. S. D'Andrea comunicação pessoal), o que demonstra a capacidade de adaptação a ambientes alterados pelas espécies deste gênero. Sua dieta é composta por invertebrados, frutos e grãos. Sua pele, assim como de outros equimídeos é muito fina e frágil, e sua cauda, assim como a pele e o pêlo, se rompe facilmente do corpo, como forma de fugir de predadores. Sua distribuição se restringe aos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Braggio , Bonvicino, 2004). Esta espécie foi a segunda mais abundante no estudo, sua abundância relativa foi a maior na FA (28%) e a segunda maior na FRN (22%). Foi encontrada

em 6 dos 7 habitats amostrados na FRN (Borda de Cerrado, Borda de Lago, Campo Limpo, Cerrado, Cordilheira e Peridomicílio) e em todos os 6 amostrados na FA (Borda de Cerrado, Borda de Lago, Campo Limpo, Cerrado, Cordilheira e Peridomicílio). Por ter sido a única espécie encontrada em todos os habitats amostrados em ambas as áreas e ter sido a segunda espécie mais abundante, assim como *O. mamorae*, esta pode ser classificada como habitat-generalista. Por possuir as mesmas características de *O. mamorae*, inclusive adaptação à ambientes alterados, embora seja terrestre e esta última escansorial, esta espécie também pode estar envolvida no transporte de parasitos entre o ambiente silvestre e doméstico, merecendo destaque na análise do papel como reservatório dos tripanosomas estudados.



Figura 5 – *Clyomys laticeps*, rato-de-espinho (Foto: Vitor Rademaker).

Clyomys laticeps (**Figura 5**) é um equimídeo terrestre de grande porte (350g), de habito semifossorial (Bonvicino et al. 2008) que utiliza exclusivamente solo para locomoção e abrigo. Esta espécie também utiliza uma rede de túneis como abrigo e

sua dieta é composta por invertebrados, frutos, grãos e folhas. Possui, da mesma forma que outros equimídeos, pele muito fina e pêlos espinhosos, os quais, assim como sua cauda fina e curta, se soltam facilmente do corpo para fugir de predadores. Sua distribuição é ampla, sendo encontrado nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Bahia, além do Distrito Federal. Esta espécie foi a terceira mais abundante no estudo, sua abundância relativa não variou entre áreas (13% na FRN, 14% na FA). Foi encontrada em 6 dos 7 habitats amostrados na FRN (Borda de Cerrado, Borda de Lago, Campo Limpo, Cerrado, Cordilheira e Peridomicílio), enquanto que em apenas 3 dos 6 amostrados na FA (Campo Limpo, Cerrado e Cordilheira). Esta espécie apresenta um grau de restrição quanto à sua distribuição e menor abundância relativa, tendo assim uma reduzida capacidade de dispersão de parasitos entre diferentes meios em comparação com *O. mamorae* e *T. pachyurus*.

Holochilus chacarius (citada no artigo como *H. brasiliensis*) é uma espécie de rato semiaquático e de porte médio, com cerca de 150g de massa corporal (Bonvicino et al. 2008), sendo encontrada necessariamente associada a áreas com pequenos cursos d'água ou brejos. Utiliza as margens dos corpos d'água e a água para locomoção (possui membrana interdigital nas patas traseiras para melhor natação). Os abrigos são feitos em buracos no solo, algumas vezes com saída apenas por dentro d'água, evitando assim predação em ninho. Sua dieta é composta principalmente por invertebrados aquáticos, frutos e grãos. Sua distribuição se restringe ao oeste do estado do Mato Grosso do Sul. Embora esta espécie tenha sido encontrada em 6 dos 7 habitats amostrados na FRN (Borda de Cerrado, Borda de Lago, Campo Limpo, Cerrado, Cordilheira e Peridomicílio), enquanto que em apenas 3 dos 6 amostrados na FA (Borda de Cerrado, Cerrado e Cordilheira), a ocorrência da mesma está fortemente associada a presença de corpos d'água ou brejos. Sua abundância relativa foi menor do que 7% em ambas as áreas (7% FRN, 5% FA). Esta espécie é habitat-específica, está sempre associada à corpos d'água, portanto, ela tem potencial para dispersão e participação no ciclo de parasitos transmitidos pela água, ou que necessitem de ambientes aquáticos no seu ciclo, como a esquistossomose.

Calomys callosus e *Cerradomys scotti* apresentaram abundância relativa abaixo de 5%, sendo a primeira encontrada apenas em Campo Limpo em ambas as áreas. A segunda foi encontrada em quatro tipos de habitat na FRN e apenas em áreas de Cerrado na FA. Estas espécies, devido a suas baixas abundâncias relativas nas áreas estudadas, apresentam baixa importância epidemiológica neste cenário. No entanto, *C. callosus* foi encontrado em currais e no peridomicílio, indicando alguma importância devido ao contato com animais domésticos e humanos. Esta espécie é também muito abundante em áreas de pasto no Bioma Cerrado, e sujeita ao fenômeno de ratadas, uma explosão populacional desta espécie em determinados anos. Assim, apesar de apresentar baixa importância no presente cenário, esta espécie tem uma capacidade de proliferação grande podendo ser responsável pela amplificação de parasitos, causando surto de doenças como hantavirose em outras regiões e, possivelmente, no Pantanal.

3.2.2 - Marsupiais



Figura 6 – *Gracilinanus agilis*, cuíca (Foto: Vitor Rademaker).

Gracilinanus agilis (Figura 6) é uma espécie de marsupial com cerca de 40g de massa corporal pequena e adaptada a hábitos arborícolas, mas utiliza também o solo para locomoção. Assim como *O. mamorae*, utiliza ocos de árvores e buracos no solo como abrigo, sua dieta é considerada insetívora-onívora (Santori , Astúa de Moraes, 2006), se alimentando de invertebrados e frutos. Estudos têm relatado esta espécie como semelparo, ou seja, se reproduz apenas uma vez em seu ciclo de vida, aproximadamente 12 meses. Sua distribuição vai do Ceará ao Matogrosso do Sul. Esta foi a espécie de marsupial mais abundante no estudo, sendo encontrada em quatro tipos de habitat, todos florestados, Cerrado, Cordilheira, Mata de Galeria e Borda de Baía. Apesar de sua abundância relativa ter sido de apenas 10% neste estudo, em um estudo populacional realizado em áreas de Cordilheira na FRN, esta espécie apresentou uma explosão populacional de maio-agosto de 2003 (publicação em preparação), aumentando o tamanho populacional em cinco vezes. Este potencial de proliferação não é tão eficiente quanto de *C. callosus* pois aparentemente esta espécie se reproduz apenas uma vez ao ano.



Figura 7 – *Monodelphis domestica*, rato-cachorro (Foto: Vitor Rademaker).

Monodelphis domestica (Figura 7) é uma espécie de marsupial com cerca de 80g massa corporal que utiliza o solo para locomoção e para abrigos. Dieta insetívora-onívora, alimentando-se de pequenos vertebrados frutos e carniça (Santori , Astúa de Moraes, 2006). Sua distribuição vai do Ceará ao Matogrosso do Sul (Cáceres ,

Monteiro Filho, 2006). Esta foi a segunda espécie de marsupial mais abundante no estudo, sendo encontrada ao todo em cinco tipos de habitat (Borda de Cerrado, Cerrado, Cordilheira, Peridomicílio e Campo Limpo), sendo encontrada também dentro de residências, evidenciando adaptação a ambientes alterados por humanos. Embora, sua abundância relativa tenha sido baixa, apenas 6%, a observação de alguns indivíduos com alta parasitemia por *T. cruzi*, indica que esta espécie também apresenta potencial para amplificação deste parasito e transporte do ambiente silvestre para o doméstico, não só de *T. cruzi*, mas possivelmente de outros parasitos também.



Figura 8– *Thylamys macrurus*, cuíca (Foto: Vitor Rademaker).

Thylamys macrurus (Figura 8) é uma espécie de marsupial de cerca de 40g, utiliza o solo com mais frequência, mas também o estrato arbóreo, tanto para locomoção quanto nidificação. Sua dieta é classificada como insetívora-onívora, podendo alimentar-se de pequenos vertebrados também (Santori , Astúa de Moraes, 2006). Esta espécie foi capturada em três tipos de ambiente, Cerrado, Cordilheira e Borda de Baía. Poucos indivíduos foram capturados, sendo sua abundância relativa a segunda mais baixa 3%. Esta espécie assim como as demais espécies de marsupial, apresenta potencial para amplificação de *T. cruzi*, porém em menor escala devido à sua abundância relativa.



Figura 9– *Philander frenatus*, cuíca-cinza-de-quatro-olhos (Foto: Vitor Rademaker).

Philander frenatus (Figura 9) é uma espécie de marsupial grande (400g em média) de habito semi-arborícola, utilizando o solo e também o estrato arbóreo. Aparentemente quando jovem utiliza o estrato arbóreo com mais frequência, aumentando a frequência de uso do solo quando adulto. Sua dieta é insetívora-onívora, sendo composta por insetos pequenos vertebrados e frutos (Santori , Astúa de Moraes, 2006). Esta espécie foi encontrada apenas em Mata de Galeria, o que indica uma forte associação desta com este ambiente, sendo considerada uma espécie habitat-especialista. O potencial para amplificação de *T. cruzi* por esta espécie é maior do que as demais pelo fato de ser uma espécie de marsupial grande e assim facilitaria a transmissão vetorial.

Um fato interessante foi a ausência do marsupial *Didelphis sp.*, as espécies deste gênero costumam ser muito abundantes, principalmente em áreas degradadas e são apontadas como os principais reservatórios silvestres de *T. cruzi*, além de sua importância na transmissão deste parasito, por apresentar a forma infectante (tripomastigota metacíclica) em sua glândula perianal. A existência desta espécie foi relatada nas duas áreas pelos trabalhadores locais, sendo que apenas recentemente um indivíduo foi capturado em uma fazenda vizinha à FA (G.M. Mourão comunicação pessoal). As espécies deste gênero estão fortemente associadas à presença humana, pois se alimentam muitas vezes de lixo, e possivelmente a presença humana afaste seus predadores naturais, como gatos silvestres, canídeos, mustelídeos e procionídeos, em geral ausentes ou em baixa abundância em áreas degradadas. Deste modo, a baixa densidade de indivíduos das espécies de gambá no Pantanal seria explicada pela baixa densidade populacional humana e a alta abundância de predadores naturais.

3.3 - Diferenças ambientais entre a Fazenda Rio Negro e Fazenda Alegria

Embora a riqueza e a composição de espécies por área tenha sido a mesma, o padrão de distribuição das espécies pelos habitats diferiu entre as áreas estudadas. Na FRN, área preservada, em todos os tipos de habitat, menos Cerrado, foi encontrado um número maior de espécies do que na FA, sendo que em cinco dos sete ambientes foram encontradas seis ou mais espécies, inclusive o Peridomicílio (7 de 10 espécies). Na FA, o Cerrado foi o habitat com o maior número de espécies (9 de 10 espécies), seguido por Cordilheira e Borda (4 de 10 espécies). Enquanto que na FRN a Cordilheira foi o ambiente com o maior número de espécies (8 de 10), mas Peridomicílio (7), Campo Limpo (6), Borda de Cerrado (6) e Cerrado (6) continham também mais da metade das espécies identificadas, demonstrando uma melhor qualidade de habitat e estado de conservação desta área.

Estas diferenças no padrão de distribuição das espécies podem ser explicadas através de diferenças na estrutura dos habitats das duas áreas, provavelmente associadas à presença do gado. Isto porque a criação de gado extensiva aparentemente ocasiona uma perda de qualidade nos habitats presentes na área, favorecendo espécies mais generalistas, como *T. pachyurus*. De fato, a presença do gado impacta as áreas florestadas na FA, devido ao pisoteio, causando uma maior compactação do solo, dificultando o crescimento da vegetação de sub-bosque, e aos bovinos se alimentarem destas espécies de plantas e plântulas. Assim, é possível notar que o sub-bosque destas áreas fica muito esparso e o chão muito pisoteado, muitas vezes com o solo exposto. Na FRN, o melhor estado de conservação da área favorecerá a distribuição das espécies em mais de um tipo de habitat. No entanto, é importante notar que a FA tem naturalmente uma área maior de pasto, com menor quantidade de áreas florestadas.

Estas diferenças na qualidade dos habitats, e conseqüentemente na distribuição das espécies nos mesmos, têm implicações epidemiológicas, pois mudam a relação do hospedeiro com o ambiente, podendo favorecer espécies com maior capacidade de transmissão de *T. cruzi* e *T. evansi*.

3.4 - Padrões de infecção

O padrão de dispersão espacial de um parasito está intimamente ligado à distribuição, ao comportamento e à ocupação do habitat por seus hospedeiros e vetores. Deste modo, é importante lembrar que na FRN a razão entre áreas florestadas e pasto é naturalmente maior do que a razão na FA e que a qualidade dos habitats a FA é menor do que na FRN. Estas diferenças levaram a padrões distintos de distribuição dos hospedeiros estudados nas duas áreas, conseqüentemente os padrões de infecção de *T. cruzi* e *T. evansi* também diferiram entre as áreas.

3.4.1 - *Trypanosoma cruzi*

Animais infectados por *T. cruzi* foram encontrados em todos os tipos de habitat na FA, enquanto que na FRN animais infectados não foram encontrados em Campo Limpo e Borda de Baía. Uma explicação para esta observação baseia-se nas diferenças na paisagem das duas áreas e no comportamento dos vetores de *T. cruzi*. No pantanal, as espécies de triatomíneos citadas como principais vetores de *T. cruzi*, *Triatoma sordida*, *Panstrongylus geniculatus* e *Rhodnius neglectus*, são encontradas em ambientes florestados (Carcavalho et al. 1999), conseqüentemente a transmissão deste parasito ocorre preferencialmente neste tipo de ambiente. Na FA, a área de ambientes florestados é bem menor do que a área de pasto, sendo que a qualidade ambiental parece ser reduzida. Assim, parte dos animais infectados nas áreas florestadas pode não permanecer nas mesmas, ou mesmo, utilizar outros tipos de habitat em sua área de vida, sendo capturados nestas áreas. Inversamente, na FRN a razão entre áreas florestadas e pasto é maior do que na FA. Deste modo, os animais infectados permaneceriam em seus habitat e não em áreas de Campo Limpo e Borda de Baía.

Na FRN, oito das nove espécies foram encontradas infectadas por *T. cruzi* (quatro marsupiais e quatro roedores) contra nove (todas) espécies na FA (seis roedores e três marsupiais). De maneira geral, os marsupiais apresentaram seroprevalência e parasitemias mais altas do que os roedores, evidenciadas pelos testes sorológicos e hemocultivo positivo, respectivamente.

Enquanto que a seroprevalência da infecção por *T. cruzi* em marsupiais e o número de indivíduos com altas parasitemias não variaram entre as áreas, em roedores observamos seroprevalência mais alta e um número mais alto de roedores com parasitemias altas (Hemocultivo positivo) na área preservada do que na área de gado. Como *T. cruzi* é mais transmitido em áreas florestadas no Pantanal e a FRN possui maior área florestada que a FA, seria de se esperar que a prevalência na FRN seja mais alta do que na FA. O que explica termos encontrado um maior número de indivíduos infectados por *T. cruzi* em ambientes florestados.

Todas as espécies de marsupial apresentaram prevalência mais alta do que qualquer espécie de roedor. A grande maioria destas espécies está associada a ambientes florestados, onde a transmissão de *T. cruzi* é maior.

Dentre os roedores, *Oecomys mamorae* foi a espécie que apresentou a prevalência mais alta da infecção por *T. cruzi* e também maior número de indivíduos com hemocultivo positivo (prevalência mais expressiva) em ambas as áreas. Este resultado é esperado, uma vez que este roedor é uma espécie arborícola, assim como duas das três espécies de vetores de *T. cruzi* no Pantanal. Por isso, também encontramos uma maior prevalência neste roedor e um número maior de animais com hemocultivo positivo em área de Cordilheira.

É importante ressaltar que foram encontrados indivíduos de *O. mamorae* e *C. laticeps* infectados por *T. cruzi* em área de Peri-domicílio na FRN. Isto pode ser consequência de uma maior proximidade das residências à áreas florestadas.

3.4.2 - *Trypanosoma evansi*

Animais infectados por *T. evansi* foram encontrados em todos os ambientes amostrados em ambas as áreas, sete na FRN e seis na FA. Isto se deve em grande parte ao número de espécies de Tabanídeos (mutucas) no Pantanal, as quais são encontradas tanto em áreas abertas (19 espécies) como florestadas (17 espécies) (Barros, 2001).

Na FRN, foram encontradas oito espécies infectadas por *T. evansi* contra apenas quatro na FA. Esta diferença poderia ser explicada pela densidade de animais de grande porte. Como na FA a abundância e densidade de mamíferos de grande porte, o gado e cavalos, é muito maior do que na FRN, as mutucas teriam uma disponibilidade (tanto em quantidade quanto em facilidade de obtenção) de recurso alimentar muito maior na FA, diminuindo a frequência de picadas em pequenos roedores e marsupiais e a probabilidade de transmissão do parasito. Este efeito pode ser considerado uma espécie de “efeito diluidor” (Ostfeld , Keesing, 2000),

onde a transmissão vetorial de um determinado parasito seria “diluída” por hospedeiros não-competentes. Assim, o gado estaria diluindo a transmissão de *T. evansi* nos pequenos roedores e marsupiais, uma vez que o gado não é infectado fazendo com que o vetor não necessite se alimentar em outro mamífero.

No entanto, como a seroprevalência da infecção por *T. evansi* nas espécies encontradas infectadas em ambas as áreas foi bem maior na FA, a hipótese do efeito diluidor não parece se adequar. Uma melhor explicação seria que provavelmente o ambiente da FA favorece a transmissão de *T. evansi* nas espécies de roedores encontradas.

Dentre as espécies de roedores, *O. mamorae* foi a espécie que apresentou seroprevalência e parasitemias mais altas, evidenciada pelo teste de microhematócrito positivos (parasitemia > 10³ parasitos por ml de sangue), nas duas áreas como um todo. Porém, na FA, as seroprevalências mais altas foram encontradas em *C. laticeps*, seguido por *T. pachyurus* e então *O. mamorae*, demonstrando a importância destes hospedeiros no ciclo de transmissão de *T. evansi* nestas áreas.

Quanto aos marsupiais, foi encontrado apenas um indivíduo por espécie infectado por *T. evansi* através de teste sorológico apenas, sendo possível concluir que estas espécies têm menor importância no ciclo deste parasito.

3.4.3 - Infecções concomitantes

Somente quatro indivíduos foram encontrados infectados por ambos tripanosomatídeos, dois indivíduos de *O. mamorae*, capturados em Mata de Galeria e Peridomicílio, um *M. domestica*, capturado em área de Cerradão e um *C. laticeps*, em área de Campo Limpo. O pequeno número de infecções com ambos tripanosomas indica que, ao estar infectado com um destes, o hospedeiro desenvolva uma resposta imune que impossibilitaria a infecção pela outra, proteção imunológica cruzada. Outra explicação seria que não há sobreposição das áreas de vida dos respectivos vetores, uma vez que a prevalência da infecção por *T. cruzi* foi maior em ambientes florestados e a por *T. evansi* foi maior em áreas abertas. No

entanto, esta última parece menos plausível já que as áreas de vida dos roedores e marsupiais podem abranger mais de um tipo de habitat aumentando as chances de exposição aos vetores. Não podemos descartar a possibilidade que a infecção por ambos tripanosomas seja letal.

Quanto a infecções por helmintos e tripanosomatídeos, resultados preliminares revelaram uma relação negativa entre *T. evansi* e nematódeos hematófagos. Para este resultado podemos apresentar três explicações, (i) a infecção por *T. evansi* ou nematódeos hematófagos conferem uma resposta imune mais eficiente contra o outro, (ii) a infecção concomitante aumenta a mortalidade dos indivíduos ou (iii) a infecção por um dos parasitos mencionados poderia ocasionar uma mudança no comportamento do animal de modo que a exposição ao outro seja reduzida.

3.5 - O Impacto de *T. cruzi* e *T. evansi* sobre a saúde dos hospedeiros

De um modo geral, não foi observado sinal de doença ou mesmo de prejuízo à saúde a julgar pelos parâmetros hematológicos das três espécies de roedores avaliadas quanto à infecção por *T. evansi*, *C. laticeps*, *T. pachyurus* e *O. mamorae*. Apenas uma alteração foi observada nos parâmetros hematológicos, um aumento do número de linfócitos ocasionado pela infecção por *T. evansi*. Este aumento no número de linfócitos muito provavelmente está relacionado à ativação policlonal de linfócitos B circulantes para limpeza do parasito (Mansfield , Bagasra, 1978).

O impacto mais comumente causado por *T. evansi* em seus hospedeiros é a anemia, em geral associada a altas parasitemias. Embora camundongos e ratos de laboratório e *T. apereoides* (Menezes et al. 2004 e A.M. Jansen observações não publicadas) sofram alta patogenicidade em infecções experimentais por *T. evansi*, neste estudo, os roedores infectados por estes tripanosomas não apresentaram anemia. Assim, a ausência de anemia nos animais infectados com *T. evansi* pode ser decorrente da baixa parasitemia observada nestes animais. Outra explicação, não excludente, seria que pequenos roedores que desenvolvam anemia induzida por *T. evansi*, morreriam rapidamente no ambiente, não sendo capturados.

Consequentemente, os roedores amostrados seriam a parcela sobrevivente da população, ou seja, aqueles capazes de resistir à infecção.

No caso da infecção por *T. cruzi* em *O. mamorae*, foi observado apenas um aumento no volume globular médio, ocasionado pela infecção por *T. cruzi*. Este aumento no volume globular médio pode ser explicado como um mecanismo para compensar a perda de hemácias.

O impacto das infecções pelos tripanosomas estudados pode ser função do inóculo ou via de transmissão. Assim, em infecções experimentais o inóculo possui uma concentração muito maior de parasitos do que em uma infecção natural, podendo causar um impacto maior sobre o hospedeiro. É possível também que no caso de *T. cruzi* a transmissão oral, através da ingestão de um barbeiro infectado ou das fezes do mesmo, resulte no desenvolvimento de parasitemia mais alta, aumentando o impacto da infecção, como observado em humanos. Em roedores, a transmissão oral de *T. evansi* através da ingestão de vetores é muito pouco provável, pois as mutucas são dípteros muito ágeis e não se infectam com o parasito, apenas transportam de um hospedeiro para o outro.

3.6 - O papel dos pequenos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de *T. evansi* e *T. cruzi*

Dentre as espécies examinadas, *O. mamorae* apresentou as mais altas prevalências de *T. cruzi* e *T. evansi* e *T. pachyurus* de *T. evansi*. Adicionalmente, são também as espécies com abundância relativa mais alta em ambas as áreas e são encontradas em uma grande variedade de habitats, estando adaptadas inclusive ao ambiente doméstico e peridoméstico, sendo consideradas habitat generalistas. Devido a estas características estas espécies são as que apresentam maior potencial de transmissão dos tripanosomas estudados, dentre os demais hospedeiros.

Os pequenos roedores e marsupiais em geral apresentaram alta prevalência de infecção por *T. evansi* e *T. cruzi*, sendo que a maioria dos animais infectados por estes tripanosomas apresentou parasitemia baixa, não detectável por exames parasitológicos. A parasitemia da infecção por *T. evansi* e *T. cruzi* está diretamente relacionada à amplificação e transmissão vetorial dos mesmos. Deste modo, devido à baixa parasitemia, a transmissão vetorial de ambos tripanosomas a partir destes animais é pouco provável, sendo mais provável a transmissão vertical, através de predação, uma via altamente eficiente, que não necessita de parasitemia alta. Assim, de maneira geral estes animais apresentam baixo potencial amplificador destes parasitos, principalmente de *T. evansi*, pois a transmissão vetorial é mecânica, o que necessita de uma parasitemia mais alta.

Deste modo, apesar de não amplificar, os pequenos roedores e marsupiais infectados, por não sofrerem impactos significativos das infecções por *T. cruzi* e *T. evansi*, tendem a manter a infecção por um período equivalente ao ciclo de vida de cada um, transmitindo estes parasitos quando são predados por outros mamíferos. Estas características indicam que estas espécies mantêm infecções “latentes” por um período de tempo prolongado, atuando como bons hospedeiros mantenedores, embora provavelmente não tão competentes quanto às capivaras e quatis. Isto porque estas últimas espécies apresentam um alto potencial amplificador e longevidade maior, sobretudo a capivara, pois mantém altas parasitemias por *T. evansi* e, no entanto, não apresenta anemia. No entanto, é importante notar que estas espécies ocupam uma maior amplitude de habitats e são encontradas no peridomicílio e até intradomicílio, conferindo uma importância especial principalmente como fonte de infecção para animais domésticos e humanos

Comparando-se as espécies de roedores e marsupiais em relação ao seu papel no ciclo de transmissão destes tripanosomas, cada grupo (marsupiais ou roedores) apresentou papel distinto. A prevalência de *T. evansi*, foi mais alta nos roedores, demonstrando uma maior relevância na transmissão de *T. evansi*. Por outro lado, no caso da infecção por *T. cruzi*, encontramos que marsupiais apresentam parasitemia e seroprevalência mais alta do que os roedores. No entanto, a abundância de

marsupiais foi menor do que a de roedores, influenciando no papel destas espécies hospedeiras na transmissão deste parasito.

Espécies do gênero *Didelphis* não foram capturadas, as quais são apontadas como os principais reservatórios silvestres de *T. cruzi*. Deste modo, no Pantanal esta espécie tem participação pouco importante no ciclo de transmissão de *T. cruzi*. De fato, estudos têm mostrado que o quati (*Nasua nasua*) é o principal reservatório silvestre no Pantanal, apresentando potencial de amplificação e transmissão de *T. cruzi*, uma vez que indivíduos infectados apresentam alta parasitemia.

O papel dos roedores e marsupiais no ciclo de transmissão de *T. evansi* e *T. cruzi* parece ser influenciado ainda pelas características dos habitat de cada área. Isto porque na área preservada infecções por *T. evansi* foram encontradas em um número maior de espécies do que na área de criação de gado. Ainda, os padrões de infecção por estes tripanosomatídeos diferiram de acordo com os tipos de habitat onde os animais foram coletados. Roedores infectados por *T. cruzi* foram encontrados principalmente em áreas de floresta nas duas áreas, enquanto que os infectados por *T. evansi* estavam presentes em todos os tipos de habitats na área de criação de gado extensiva, no entanto em maior frequência em áreas de campo aberto, sugerindo uma maior transmissão destes parasitos nestas áreas respectivamente.

4 - CONCLUSÕES

A criação extensiva de gado bovino na área estudada parece não estar associada à perda de riqueza de espécies nem mudança na composição de espécies, mas influencia na abundância relativa das espécies e padrão de ocupação dos habitats.

As infecções por *T. evansi* em *Thrichomys pachyurus*, *Clyomys laticeps* e *Oecomys mamorae* e *T. cruzi* em *O. mamorae* não estavam associadas à anemia ou à algum impacto relevante à saúde dos animais.

Em *T. pachyurus* a infecção por *T. evansi* com ou sem infecções concomitantes por helmintos, não apresentou impacto relevante à saúde do animal, a julgar pelos parâmetros hematológicos dentro dos limites normais.

Nas áreas estudadas os pequenos roedores e marsupiais aparentemente apresentam papel secundário na manutenção do ciclo de transmissão de *T. evansi*, isto porque estas espécies apresentam um baixo potencial amplificador e longevidade curta, reduzindo o potencial de transmissão das mesmas em relação a outras espécies de mamíferos no Pantanal.

As altas parasitemias da infecção por *T. cruzi* observadas nos marsupiais, sugerem que estas espécies apresentam maior potencial de amplificação de *T. cruzi* do que os roedores estudados.

Apesar do maior potencial de amplificação de *T. cruzi* dos marsupiais, tanto estas espécies quanto as espécies de roedores estudadas, apresentam papel secundário na manutenção do ciclo de transmissão deste tripanosoma em relação a outras espécies de mamíferos no Pantanal.

O roedor *O. mamorae* foi a espécie que apresentou prevalência mais alta de ambos tripanosomas, provavelmente por ser encontrado nos mesmos ambientes utilizados tanto por Tabanídeos como por Triatomíneos, vetores de *T. evansi* e *T. cruzi*, respectivamente.

5 - BIBLIOGRAFIA

- Abreu UGP, Chalita L, Seidl A, Moraes AS, Loureiro JMF. Introdução de tecnologia no sistema de produção de bovinos de corte no Pantanal, sub-região de Nhecolândia, MS. Circular Técnica, 25. Embrapa Pantanal, Corumbá. 37p, 2000.
- Alho CJR, Campos ZMS, Gonçalves HC 1987. Ecologia de Capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do Pantanal: - I Habitats, densidades e tamanho de grupo. Revista Brasileira de Biologia 1987; 47 (1/2): 87-97.
- Alho CJR, Strüssmann CR, Vasconcellos LAS. Indicadores da magnitude da diversidade e abundância de vertebrados silvestres do Pantanal num mosaico de habitats sazonais. III Simpósio sobre Recursos Naturais e Socioeconômicos do Pantanal. Corumbá, MS, 2000.
- Amaral V, Silva MC. Fazenda Rio Negro: tradição e conservação no Pantanal Mato-Grossense / Conservação Internacional – Brasil. Ed. UNIDERP, Campo Grande, MS. 116 p. 2007.
- Anderson RM, May RM. Regulation and stability of host-parasite interactions. I. Regulatory processes. Journal of Animal Ecology 1978; 47: 219-249.
- Anderson R.M. Parasite pathogenicity and the depression of hosts population equilibria. Nature 1979; 279: 150-152.
- Araújo A, Jansen AM, Bouchet F, Reinhard K, Ferreira LF. Parasitism, the diversity of life and Paleoparasitology. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2003; 98 (Suppl. I): 5-11.
- Araújo A, Jansen AM, Reinhard K, Ferreira LF. Paleoparasitology of Chagas disease - A Review. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2009; 104 (Suppl. I): 9-16.

- Artama WT, Agey MW, Donelson JE. DNA comparisons of *Trypanosoma evansi* (Indonesia) and *Trypanosoma brucei* spp. *Parasitology* 1992; 104 (1): 67-74.
- Ashford RW. Leishmaniosis reservoirs and their significance in control. *Clinical Dermatology* 1996; 14: 523-532.
- Ashford RW. What it takes to be a reservoir host. *Belgian Journal of Zoology* 1997; 127: 85–90.
- Barros ATM. Seasonality and relative abundance of Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Pantanal, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2001; 96 (7): 917-923.
- Bizerril MXA, Gastal MLA. Fruit phenology and mammal frugivory in *Renealmia alpinia* (Zingiberaceae) in a Gallery Forest in Central Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 1997; 57 (2): 305-309.
- Bonvicino CR, Oliveira JA, D'Andrea PS. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS. 120p. 2008.
- Borst P, Fase-Fowler F, Gibson WC. Kinetoplast DNA of *Trypanosoma evansi*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1987; 23 (1): 31-38.
- Braggio E, Bonvicino CR. Molecular divergence in the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). *Journal of Mammalogy* 2004; 85: 316-320.
- Brasil. Estudos hidrológicos da Bacia do Paraguai. Relatório Técnico. Ministério do Interior, Departamento de Obras de Saneamento, Rio de Janeiro, GB. 51p. 1974.
- Brisse S, Dujardin JC, Tibayrenc M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* lineages by sequence-characterised amplified region markers. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2000; 111: 95- 105.

- Burseley CR, Goldberg SR. A new species of *Spinicauda* (Nematoda: Heterakidae) and other endoparasites in *Platymantis pelewensis* (Anura: Ranidae) from the Palau Islands, Republic of Celau, Oceanica. *Journal of Parasitology* 2004; 90 (6): 1428-1433.
- Cáceres NC, Monteiro-Filho ELA. Uso do espaço por marsupiais: fatores influentes, comportamento exploratório e heterogeneidade espacial. In: Cáceres NC, Monteiro-Filho ELA. Os marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Evolução. UFMS, Campo Grande, MS. 2006.
- Calheiros DF, Fonseca Júnior WC. Perspectivas de estudos ecológicos sobre o Pantanal. EMBRAPA-CPAP. Documentos 18, Corumbá, MS. 41p. 1996.
- Carcavallo RU, Franca Rodríguez ME, Salvatella R, Curto de Casa S.I, Sherlock Í.A, Galvão C, et al. Capítulo 14: Habitats e fauna relacionada. A: Geral. In: Carcavallo R.U, Galíndez Girón I, Jurberg J, Lent H. (Eds.). Atlas dos vetores da doença de chagas nas Americas. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ. pp.561. 1999.
- Cattadori IM, Haydon DT, Hudson PJ. Parasites and climate synchronize red grouse populations. *Nature* 2005; 433: 737–741.
- Coe CL, Cassayre P, Levine S, Rosenberg LT. Effects of age, sex, and psychological disturbance on immunoglobulin levels in the squirrel monkey. *Developmental Psychobiology* 1988; 21: 161–175.
- Conder GA, Richards IM, Jen LW, Marbury KS, Oostveen, JA. Bronchoalveolar eosinophilia in Guinea pig harboring inapparent infections of *Paraspidodera uncinata*. *Journal of Parasitology* 1989; 75 (1): 144-146.
- Cox FE. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology* 2001; 122 (Suppl): S23–S38.
- Crossan J, Paterson S, Fenton A. Host availability and the evolution of parasite life-history strategies. *Evolution* 2007; 61 (3): 675-684.

- Cuocolo R. 'Pereiraia' n.g. para o '*Physocephalus lassancei*' Trav, 1931 (Nematoda: Spiruridae) com redescrção da espécie tipo. Arquivos do Instituto de Biologia 1943; 14: 213–216.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Emerging infectious diseases of wildlife-- threats to biodiversity and human health. Science 2000; 288: 2319-2320.
- Davidson WR, Kellog FE, Doster GL. Seasonal trends of helminth parasites of Bobwhite quail. Journal of Wildlife Disease 1980; 16 (3): 367-375.
- Deane MP, Jansen AM, Lenzi, HL. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host the opossum *Didelphis marsupialis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1984; 79: 513-515.
- Deter J, Cosson, JF, Chaval, Y, Charbonnel, N, Morand, S. The intestinal nematode *Trichuris arvicolae* affects the fecundity of its host, the common vole *Microtus arvalis*. Parasitology Research 2007; 101 (4): 1161-1164.
- Dias, JC. Notes about of *Trypanosoma cruzi* and yours bio-ecology characteristics with agents of the transmission by meals. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2006; 39 (4): 370-375.
- Dobson AP, Foufopoulos, J. Emerging infectious pathogens of wildlife. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B - Biological Sciences 2001; 356 (1411): 1001-1012.
- Dobson AP. The population biology of the parasite-induced changes in host behavior. Quaterly review of Biology 1988; 63: 139-165.
- Donelson JE, Gardner MJ, El-Sayed NM. More surprises from Kinetoplastida. Proceedings of the Natural Academy of Sciences USA 1999; 96: 2579–2581.
- Epstein PR, Dobson, AP, Vandermeer J. Biodiversity and infectious emerging diseases: Integrating health and ecosystem monitoring. In: Grifo F, Rosenthal J (Eds). Biodiversity and Human Health. Island Press, 60-86 pp. 1997.

- Flynn JJ, Wyss AR. Recent advances in South American mammalian paleontology. *Tree* 1998; 13 (11): 449-954.
- Franke CR, Greiner M, Mehlitz D. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeri*) in Pantanal de Poconé (Mato Grosso, Brasil). *Acta Tropica* 1994; 58: 159-169.
- Freitas MG. *Helmintologia Veterinária*. 6ª ed, Precisa Gráfica, Belo Horizonte/MG: 396p. 1982.
- Fremont JJ, Bowman DD. Parasites of Guinea Pig. In: Bowman DD (Ed.) *Companion and exotic animal parasitology*. International Veterinay Information Service. Ithaca, New York, USA. 2003.
- Gulland FM. The impact of infectious diseases on wild animal populations: a review. In: Grenfell BT, Dobson AP. (Eds). *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*. Cambridge University Press, Cambridge. 20-51 pp. 1995.
- Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK. Identifying Reservoirs of Infection: a conceptual and Practical Challenge. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8: 1468-1473.
- Herrera HM, Aquino LP, Menezes RF, Marques LC, Moraes MA, Werther K, et al. *Trypanosoma evansi* experimental infection in the South American coati (*Nasua nasua*): clinical, parasitological and humoral immune response. *Veterinary Parasitology* 2001, 102 (3): 209-216.
- Herrera HM, Dávila AMR, Norek A, Abreu UG, Souza SS, D'Andrea PS, et al. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. *Veterinary Parasitology* 2004; 125: 263–275.
- Herrera HM, Norek A, Freitas TPT, Rademaker V, Fernandes O, Jansen, AM. Domestic and wild mammals infection by *Trypanosoma evansi* in a pristine

- area of the Brazilian Pantanal region. *Parasitology Research* 2005; 96: 121–126.
- Hoare CA. *The Trypanosomes of mammals: a zoological monograph*. Oxford: Blackwell Scientific Publicatios. 1972.
- Hudson PJ, Dobson AP, Newborn, D. Do parasites make prey vulnerable to predation? Red Grouse and parasites. *Journal of Animal Ecology* 1992; 61 (3): 681-692.
- Hudson PJ. The effect of a parasitic nematode on the breeding production of red grouse. *Journal of Animal Ecology* 1986; 55: 85–94.
- Jansen AM, Pinho SD, Lisboa CV, Cupolillo E, Mangia RH, Fernandes O. The sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi*: a still unsolved puzzle. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1999; 94: 203-204.
- Johnson CM. A natural infection of *Trypanosoma hippicum* Darling in the vampire bat *Desmodus rotundus murinus* Wagner. *American Journal of Tropical Medicine* 1936; 16: 59-62.
- Klein SL. Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology* 2004; 26: 247–264.
- Lello J, Boag B, Fenton A, Stevenson IR, Hudson PJ. Competition and mutualism among the gut helminths of a mammalian host. *Nature* 2004; 428: 840-844.
- Llewellyn MS, Lewis MD, Acosta N, Yeo M, Carrasco HJ, Segovia M, et al. *Trypanosoma cruzi* Ilc: Phylogenetic and Phylogeographic Insights from Sequence and Microsatellite Analysis and Potential Impact on Emergent Chagas Disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2009a; 3 (9): e510.
- Llewellyn MS, Miles MA, Carrasco HJ, Lewis MD, Yeo M, Vargas J, et al. Genome-scale multilocus microsatellite typing of *Trypanosoma cruzi* discrete typing unit

- I reveals phylogeographic structure and specific genotypes linked to human infection. *PLoS Pathogens* 2009b; 5 (5): e1000410. Epub 2009 May 1.
- Luckins AG. *Trypanosoma evansi* in Asia. *Parasitology Today* 1988; 4 (5): 137-142.
- Lun ZR, Desser SS. Is the broad range of hosts and geographical distribution of *Trypanosoma evansi* attributable to the loss of maxicircle kinetoplast DNA? *Parasitology Today* 1995; 11: 131-133.
- Lun ZR, Brun R, Gibson W. Kinetoplast DNA and molecular karyotypes of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum* from China. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992; 50 (2): 189-196.
- Lyles AM, Dobson AP. Infectious-Disease and Intensive Management - Population-Dynamics, Threatened Hosts, and Their Parasites. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1993; 24: 315-326
- Mansfield JM, Bagasra O. Lymphocyte function in experimental African trypanosomiasis. I. B cell responses to helper T cell-independent and – dependent antigens. *Journal of Immunology* 1978; 120, 759–765.
- May RM, Anderson RM. Regulation and stability of host-parasite population interactions. II. Destabilizing processes. *Journal of Animal Ecology* 1978; 47 (1): 249–267.
- Menezes VT, Queiroz AO, Gomes MAM, Marques MAP, Jansen, AM *Trypanosoma evansi* in inbred and Swiss Webster mice: distinct aspects of pathogenesis. *Parasitology Research* 2004; 94: 193–200.
- Miles MA, Toyé PJ, Oswald SC, Godfrey DG. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1977; 71: 217–225.

- Moore J. Parasites that change the behavior of their host. *Scientific America* 1984; 250: 115-208.
- Morio F, Reynes J, Dollet M, Pratlong F, Dedet J, Ravel C. Isolation of a protozoan parasite genetically related to the insect trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai* from an HIV-positive patient. *Journal of Clinical Microbiology* 2008; 46 (11): 3845-3847.
- Noble ER, Noble GA, Schad GA, MacInnes AJ. Class Secernata (=Phasmodia), Orders Tylenchida, Rhabditida, Strongylida. In: Noble ER, Noble GA. *Parasitology – the biology of Animal Parasites*. Philadelphia, United States: 291-316pp. 1989.
- Noireau F, Diosque P, Jansen, AM. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary Research* 2009; 40 (2): 26.
- Ostfeld RS, Keesing E. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. *Conservation Biology* 2000; 14: 722-728.
- PAHO- Pan-American Health Organization. Doença de Chagas – Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos. 92pp. 2009. Disponível em: <http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guia Doenca Chagas 2009.pdf>
- Parasitology Biology – The Class Enoplea. 2001. Available in: <http://www.k-state.edu/parasitology/classes/625nematode18.html> (December 14th, 2006).
- Payne RC, Djauhari D, Partoutomo S, Jones TW, Pearson RA. *Trypanosoma evansi* infection in worked and unworked buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Indonesia. *Veterinary Parasitology* 1991a; 40 (3-4): 197-206.
- Payne RC, Sukanto IP, Djauhari D, Jones TW. *Trypanosoma evansi* infection in bovine and buffalo calves in Indonesia. *Veterinary Parasitology* 1991b; 38 (2-3): 253-256.

- Payne RC, Sukanto IP, Djauhari D, Partoutomo S, Wilson AJ, Jones TW, et al. *Trypanosoma evansi* infection in cattle, buffaloes and horses in Indonesia. *Veterinary Parasitology* 1991c; 38: 109-119.
- Pedersen AB, Fenton A. Emphasizing the ecology in parasite community ecology. *Tree* 2007; 22 (3): 133-139.
- Pena SD, Machado CR, Macedo AM. *Trypanosoma cruzi*: ancestral genomes and population structure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009; 104 Suppl 1: 108-114.
- Poulin R, Combes C. The concept of virulence: interpretations and implications. *Parasitology Today* 1999; 15 (12): 474-475.
- Poulin R, Thomas F. Phenotypic variability induced by parasites. *Parasitology Today* 1999; 15 (1): 28-32.
- Poulin R. Interactions between species and the structure of helminth communities. *Parasitology* 2001; 122: S3–S11.
- Rigby C. Natural infections of Guinea-Pigs. *Laboratory Animals* 1976; 10: 119-142.
- Randolph SE, Chemini C, Furlanello C, Genchi C, Hails RS, Hudson PJ, et al. The ecology of tick-borne infections in wildlife reservoirs. In: Hudson PJ, Rizzoli A, Grenfell BT, Heesterbeek H, Dobson AP. (Eds). *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press, Oxford. 2001.
- Roque AL, D'Andrea PS, de Andrade GB, Jansen, AM. *Trypanosoma cruzi*: distinct patterns of infection in the sibling caviomorph rodent species *Thrichomys apereoides laurentius* and *Thrichomys pachyurus* (Rodentia, Echimyidae). *Experimental Parasitology* 2005; 111: 37–46.
- Santori RT, Ástua de Moraes D. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. In: Cáceres, N.C, Monteiro-Filho, E.L.A. *Os marsupiais do Brasil: Biologia, Ecologia e Evolução*. UFMS, Campo Grande, MS. 2006.

- Scheuerlein A, Ricklefs RE. Prevalence of blood parasites in European passeriform birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 2004; 271 (1546): 1363-1370.
- Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2007; 102 Suppl 1: 75-85. Erratum in: *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2007; Dec, 102 (8):2 p following 1009.
- Silva JSV, Abdon MM. Delimitação do Pantanal brasileiro e suas sub-regiões. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 1988; 33: 1703-1717.
- Silva RAMS, Herrera HM, Barros ATM. Tripanosomosis outbreak due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Revue d'elevage et de medecine veterinaire des pays tropicaux* 1995; 48 (4): 315-319.
- Simpson AG, Gill EE, Callahan HA, Litaker RW, Roger AJ. Early evolution within kinetoplastids (euglenozoa), and the late emergence of trypanosomatids. *Protist* 2004; 155 (4): 407-422.
- Songa EB, Paindavoine P, Wittouck E, Viseshakul N, Muldermans S, Steinert M, et al. Evidence for kinetoplast and nuclear DNA homogeneity in *Trypanosoma evansi* isolates. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1990; 43 (2): 167-179.
- Stephenson LS, Holland CV, Cooper ES. The public health significance of *Trichuris trichiura*. *Parasitology* 2000; 121: S73-S95.
- Stien A, Irvine R J, Ropstad E, Halvorsen O, Langvatn R, Albon SD. The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *Journal of Animal Ecology* 2002; 71: 937-945.

- Swinton J, Harwood J, Grenfell BT, Gilligan CA. Persistence thresholds for phocine distemper virus infection in harbour seal *Phoca vitulina* metapopulations. *Journal of Animal Ecology* 1998; 67: 54–68.
- Swinton J, Woolhouse MEJ, Begon ME, Dobson AP, Ferroglio E, Grenfell BT, et al. Microparasite transmission and persistence. In: Hudson PJ, Rizzoli, A, Grenfell, B.T, Heesterbeek, H, Dobson AP. (Eds). *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press, Oxford. 2001.
- Tomazi L, Kawashita SY, Pereira PM, Zingales B, Briones MR. Haplotype distribution of five nuclear genes based on network genealogies and Bayesian inference indicates that *Trypanosoma cruzi* hybrid strains are polyphyletic. *Genetics and Molecular Research* 2009; 8 (2): 458-476.
- Tompkins DM, Dobson AP, Arneberg P, Begon ME, Cattadori IM, Greenman JV, et al. Parasites and host population dynamics. In: Hudson PJ, Rizzoli, A, Grenfell, B.T, Heesterbeek, H, Dobson AP. (Eds). *The Ecology of Wildlife Diseases*, Oxford, 45–62 pp. 2001.
- Vandegrift KJ, Raffel TR, Hudson PJ. Parasites prevent summer breeding in white-footed mice, *Peromyscus leucopus*. *Ecology* 2008; 89 (8): 2251-2258.
- Wakelin D, Farias SE, Bradley JE. Variation and immunity to intestinal worms. *Parasitology* 2002; 125: S39–S50.
- Weksler M, Percequillo AR, Voss R S. Ten new genera of Oryzomyine rodents (Cricetidae: Sigmodontinae). *American Museum Novitates* 2006; 3537: 1-29.
- Williams ES, Yuill T, Artois M, Fischer J, Haigh SA. Emerging infectious diseases in wildlife. *Revue Scientifique et Technique* 2002; 21 (1): 139-157.
- Woolhouse MEJ. Patterns in Parasite Epidemiology: The Peak Shift. *Parasitology Today* 1998; 14 (10): 428-434.

6 - ANEXO 1

Anexo 1 – Abundância relativa, número de habitats onde a espécie foi encontrada, seroprevalência, porcentagem de indivíduos encontrados com alta parasitemia por *T. cruzi* (TC), através do hemocultivo positivo, e *T. evansi* (TE) através do microhematócrito positivo), por espécie de roedor e marsupial nas fazendas Rio Negro (FRN) e Alegria (FA), Pantanal, MS.

Espécie	Abundância Relativa			Habitats		Prevalência (IFAT)						Alta parasitemia					
	FRN % (N)	FA % (N)	Total % (N)	FRN	FA	FRN TC	FRN TE	FRN TC	FRN TE	FA TC	FA TE	FA TC	FA TE	Total TC	Total TE	Total TC	Total TE
Roedores																	
<i>Oecomys mamorae</i>	35 (88)	23 (33)	30 (121)	6	3	34%	13%	16%	35%	29%	17%	34%	37%	16%	33%	18%	35%
<i>Thrichomys pachyurus</i>	22 (56)	28 (40)	24 (96)	6	6	08%	03%	06%	43%	7%	22%	8%	100%	6%	-	20%	6%
<i>Clyomys laticeps</i>	13 (33)	14 (20)	13 (53)	6	2	17%	03%	05%	47%	20%	20%	17%	100%	5%	-	16%	11%
<i>Hotohilus. brasiliensis</i>	07 (17)	05 (08)	06 (25)	6	3	33%	08%	14%	-	26%	5%	33%	-	14%	-	-	-
<i>Cerradomys scotti</i>	01 (03)	05 (08)	03 (11)	4	1	-	-	29%	-	18%	-	-	-	29%	-	-	-
<i>Calomys callosus</i>	02 (04)	05 (08)	03 (12)	1	1	-	25%	40%	-	25%	14%	-	-	40%	-	-	-
Marsupiais																	
<i>Gracilinanus agilis</i>	12 (30)	08 (12)	10 (42)	4	3	20%	20%	50%	12%	35%	15%	20%	-	50%	-	80%	-
<i>Monodelphis domestica</i>	04 (11)	08 (12)	06 (23)	4	3	100%	33%	67%	-	75%	8%	100%	-	67%	-	22%	-
<i>Thylamys macrurus</i>	02 (06)	04 (06)	03 (12)	2	2	50%	50%	20%	-	29%	14%	50%	-	20%	-	-	-
<i>Phliander frenatus</i>	03 (07)	-	02 (07)	1	-	50%	25%	-	-	50%	25%	50%	100%	-	-	50%	100%

7 - ANEXO 2

**Variation in the helminth community structure of
Thrichomys pachyurus (Rodentia: Echimyidae)
in two sub-regions of the Brazilian Pantanal: the
effects of land use and seasonality.**

R. Simões, R. Gentile, **V. Rademaker**, P. D'Andrea, H. Herrera,
T. Freitas, R. Lanfredi , A. Maldonado Jr.

Artigo Publicado no Journal of Helminthology, 84 (3) (2010):
266-275.

Variation in the helminth community structure of *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echimyidae) in two sub-regions of the Brazilian Pantanal: the effects of land use and seasonality

R. Simões¹, R. Gentile¹, V. Rademaker², P. D'Andrea¹, H. Herrera², T. Freitas^{1,3}, R. Lanfredi^{4†} and A. Maldonado Jr^{1*}

¹Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365 Manguinhos, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil: ²Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365 Manguinhos, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil: ³Universidade Federal do Mato Grosso, Av. Fernando Correia da Costa, sem número Coxipó, 78060-900 Cuiabá, MT, Brasil: ⁴Laboratório de Biologia de Helminthos Otto Wucherer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, bl. G. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, 21949-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

(Accepted 9 September 2009)

Abstract

The Pantanal is a large ecosystem located in South America. This preserved area is seasonally flooded due to abundant rainfall during the summer and the subsequent overflow of the Paraguai River. In this paper, we examine the helminth community structure in the wild rodent *Thrichomys pachyurus* during the wet and dry seasons in two locations of the preserved and cattle ranching areas in the Southern Pantanal. We identified 12 species of helminth, and, although we did not find any differences in species richness between locations within the Pantanal, we found that richness was higher during the wet season. Helminth species were largely aggregated in both farm locations and during seasons. The most common helminth species were more abundant during the dry season than during the wet season, which may have been due to the increased habitat availability and rodent population increase. The intensity of the infection also followed the same pattern for most helminths. The trichostrongylids (*Heligmostrongylus crucifer*, *H. almeidai* and *Pudica cercomysi*) were dominant at both farm locations. The land use of each area was not correlated with helminth diversity. However, species composition of the helminth community of *T. pachyurus* differed between locations and may be correlated with environmental differences between the habitats. The seasonality of the Pantanal was highly correlated with helminth parasitism in *T. pachyurus*.

*Fax: + 55-21-25621253
E-mail: maldonad@ioc.fiocruz.br
†In memoriam.

Introduction

The structure of parasite communities is influenced by several factors, including biogeography and abiotic parameters (environmental factors) as well as host density and life history (Abu-Madi *et al.*, 2000). Helminth communities are also influenced by host–parasite and parasite–parasite interactions within the host (Poulin, 2001). In discrete or isolated host populations, susceptibility to infection by parasitic organisms is strongly influenced by intrinsic host factors, including age and life history (Barnard *et al.*, 2002; Behnke, 2008).

Comparing parasitological parameters of a specific host species in different habitats may be an important approach in evaluating the impact of environmental factors on helminth community structure and host–parasite relationships. Moreover, climatic factors are known to influence the development of free-living stages of parasites and can affect survival, transmission and host infection (Haukisalmi & Henttonen, 1990; Behnke, 2008).

Helminth parasites have been studied extensively in European rodents (Montgomery & Montgomery, 1990; Behnke *et al.*, 1999, 2001; Fuentes *et al.*, 2004; Sainz-Elipe *et al.*, 2007). Most helminth studies focusing on Brazilian mammals are strictly taxonomic reports (Travassos, 1927; Travassos & Freitas, 1941; Gomes *et al.*, 2003; Durette-Desset *et al.*, 2006). The helminth community structure of Brazilian rodents has been reported for *Nectomys squamipes* in the Atlantic Forest (Maldonado Jr *et al.*, 2006). In the Brazilian Pantanal, studies of small mammal helminths have been performed only for the marsupial *Gracilinanus agilis* (Feijó *et al.*, 2008; Lopes Torres *et al.*, 2009).

Species of the genus *Thrichomys* (Rodentia: Caviomorpha) occupy diverse ecosystems in South America. *Thrichomys pachyurus* is a widespread rodent from Paraguay to western Brazil, occurring in the Pantanal biome (Bonvicino *et al.*, 2002; Braggio & Bonvicino, 2004). The species has a long gestation period of approximately 3 months and small litter size, with an average of 2.5 ± 0.9 offspring (Teixeira *et al.*, 2005). Recent parasitological studies of *Thrichomys* in the wild have shown its involvement in the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* (L. Herrera *et al.*, 2005; Xavier *et al.*, 2007). In the areas studied, this rodent species is abundant and is often infected with *T. evansi*, a flagellate that causes severe disease in horses and dogs (H.M. Herrera *et al.*, 2005, 2007).

The effects of land use and seasonal floodplain events on the helminth community structure have remained unclear in the Pantanal region. In this study, we evaluated and compared the helminth community structure and the parasitological parameters of *T. pachyurus* in two Brazilian Pantanal locations with different land-use histories. We considered the effects of these different areas and the effects of Pantanal seasonality on variation in the respective helminth communities.

Materials and methods

Collecting sites

The Pantanal is a large ecosystem located in central South America, with a seasonal floodplain that varies with local rainfall and flooding of the Paraguai River.

Although the Pantanal is a distinct ecosystem, it is dominated by species of the Cerrado biome and contains areas that differ in landscape and hydrological characteristics, forming a mosaic of local hydrological conditions, soil types and vegetation communities. Local climatic conditions are divided into two distinct seasons, which are the wet (summer and autumn) and dry (winter and spring) seasons. During the wet season, the local fauna share restricted areas and resources that are reduced in their availability. Another important feature of this region is the increase of ranching activities and the consequent habitat disturbance, which modify the characteristics of this environment and increase contact between wildlife and domestic animals (H.M. Herrera *et al.*, 2007). This may predispose the area to an increase in the transmission of helminths from low-specificity hosts to more distantly related hosts.

The study was performed at two farms in the Brazilian Pantanal, Mato Grosso do Sul State. The first site was the Rio Negro Farm, located in the sub-region of Aquidauana ($19^{\circ}34'54''S$, $056^{\circ}14'62''W$). This area is a private, protected area used for ecological tourism and scientific research by Conservation International. The second research site was the Alegria Farm, situated in the municipal district of Corumbá ($19^{\circ}15'01''S$, $057^{\circ}01'29''W$). This site is a private ranch used primarily for cattle breeding. In both sites, the landscape includes the following elements: (a) 'cerrado', characterized by small, twisted or gnarled trees that are thinly spaced by herbaceous layers formed by grasses and shrubs; (b) 'cordilheira', which is characterized by higher ground that is covered by dense, semi-deciduous forest and is free of seasonal floods; (c) 'grassland', characterized by open fields that are eventually flooded under great inundations; and (d) 'edge of lakes', which is characterized by areas that are covered by grass and are seasonally flooded.

The climate is sub-humid tropical with two distinct seasons: the rainy summer from October to April and the dry winter from May to September. The average annual temperature of the region is $26.9^{\circ}C$ during the summer and $23.7^{\circ}C$ during the winter, with a mean annual rainfall of 1066 mm.

Parasitological procedures

Small mammals were trapped between February and June 2002 at the Rio Negro Farm, and between February and September 2003 at the Alegria Farm. Each trapping session consisted of 5 days. Traps were placed in four transects representing different habitats: *cerrados*, *cordilheiras*, grassland and edge of lakes. Each transect had four trapping stations spaced 20 m apart. At each station, two live-traps, a Tomahawk[®] trap (model 201; $16 \times 5 \times 5$ inches ($40.6 \times 12.7 \times 12.7$ cm)) and a Sherman[®] trap (model XLK; $3 \times 3.75 \times 12$ inches ($7.6 \times 9.5 \times 30.5$ cm)) were placed on the ground. Traps were baited with a mixture of peanut butter, banana, oatmeal, bacon and manioc, and were checked daily in the morning.

Captured *Thrichomys pachyurus* were transported to a base camp for euthanasia and necropsy. All animals were preserved by taxidermy and deposited as voucher specimens in the Mammal Collection of the National Museum in Rio de Janeiro State. All animal procedures

followed the guidelines for capture, handling and care of mammals of the American Society of Mammalogy and the bio-security procedures of the Brazilian Health Ministry. Animals were collected under the authority of the Brazilian Government Institute for Wildlife and Natural Resources (IBAMA, CGFAU 009/2002 and CGFAU 137/2002). Bio-security techniques and individual safety equipment were used during all procedures involving animals or biological samples (Lemos & D'Andrea, 2006).

We examined the abdominal and thoracic cavities of the rodents for helminths, searching the oesophagus, stomach, small and large intestines, liver, pancreas, kidneys, lungs, heart and gall bladder. Organs were separated in Petri dishes and dissected under a stereomicroscope to remove small helminths. Collected parasites were washed twice in saline in order to remove tissue debris and were fixed in hot AFA (2% acetic acid, 3% formaldehyde and 95% ethanol). Specimens were cleaned in LAF (40% lactophenol, 20% acid lactic and 20% phenol, in water) for later species identification (Yamaguti, 1961; Durette-Desset & Chabaud, 1981; Durette-Desset, 1985; Vicente *et al.*, 1997).

Data analysis

Helminth species richness was considered to be the number of species present. Helminth diversity was calculated using the Shannon index (H') and compared using H_{max} and H_{min} (Ludwig & Reynolds, 1988; Magurran, 1988). Helminth richness and diversity were calculated at each farm, for each season and for the entire dataset.

The distribution pattern of each helminth species was determined using the index of dispersion, calculated as the ratio between the variance of parasite abundance and the mean of parasite abundance (Ludwig & Reynolds, 1988; Bush *et al.*, 2001; Combes, 2001). If the ratio was close to one, the distribution was considered to be random; if it was less than one, distribution was regular; if it was greater than one, distribution was aggregated. In the latter case, the higher the variance to mean ratio, the more aggregated the distribution.

To analyse helminth community structure, we considered prevalence, intensity of infection and abundance of each species, taking into account all captured rodents and using methods described by Bush *et al.* (1997). Each community parameter was also compared between seasons and farms, using a 2 × 2 contingency chi-square test whenever possible. When a helminth species occurred in only one farm, we compared abundance between seasons using a chi-square goodness of fit test (Zar, 1999). The presence/absence of each helminth was analysed considering both location and season using a logistic regression with a stepwise backward likelihood ratio model.

We investigated the co-occurrence of helminths by examining the Spearman correlations of the intensities for each pair of helminths. Since data were not normally distributed, only rodents that contained both species of a particular pair were considered in this analysis (Zar, 1999). The Jaccard index of species association (Ludwig & Reynolds, 1988) was calculated for each pair of species

with sufficient data, in order to investigate relationships between helminth species.

The helminth community structure was characterized according to Thul *et al.* (1985). We used an importance index to classify each helminth species in the community, based on the number of infected hosts and the number of individuals of each parasite species. The more parasites and number of animals infected with a parasite, the more dominant a parasite was considered in the community. The importance value, I , was calculated for each helminth species as follows:

$$I_j = M_j \times \left[\frac{(A_j \times B_j)}{\sum_i (A_i \times B_i)} \right] \times 100,$$

where A = number of individual parasites of a particular species; B = number of hosts infected with parasites of that species; j is the parasite species considered, i is any parasite species, and M is a maturation factor equal to 1.0 if at least one mature individual of the species considered was found, and otherwise equal to 0. If the importance index $I \geq 1.0$, the species was considered to be a dominant species; $0.01 \leq I \leq 1.0$ identified co-dominant species which contributed significantly to the community, though to a lesser degree than dominant species; $0 < I < 0.01$ characterized subordinate species that occurred infrequently, and, although they may have developed and reproduced, they did not contribute significantly to the community; and $I = 0$ characterized unsuccessful pioneer species that had gained access to a host but were not able to mature or reproduce, they contributed little to the community and were characteristic of another host (Thul *et al.*, 1985). Statistical significance was considered at $P < 0.05$.

Results

Helminth species richness

Seventy specimens of *Thrichomys pachyurus* were collected during this study. Eighteen animals were collected during the wet season and 14 during the dry season at the Rio Negro Farm. At the Alegria Farm, 26 *T. pachyurus* were collected during the wet season and 12 during the dry season (table 1).

The overall helminth richness was 12 species and there was no difference between locations. At both Rio Negro and Alegria, the richness was greater during the rainy season, although this difference was not significant.

Table 1. Number of host animals analysed in each study area and season.

	Rio Negro season			Alegria season		
	Wet	Dry	Total	Wet	Dry	Total
Males	12	13	25	15	6	21
Females	6	1	7	10	6	16
Total	18	14	32	26 ^a	12	38

^a One animal was not sexed.

Table 2. Richness and diversity indices of helminths recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil.

Farm	Season	Richness	H'	H_{max}	H_{min}
Rio Negro	Wet	9	1.46	2.19	0.063
	Dry	6	1.39	1.79	0.039
	Both	9	1.68	2.19	0.063
Alegria	Wet	8	1.34	2.07	0.055
	Dry	7	1.35	1.94	0.047
	Both	9	1.52	2.19	0.063
Total		12	1.81	2.48	0.086

H' , Shannon diversity index, H_{max} , maximum diversity index; H_{min} , minimum diversity index.

Further, there was no significant difference in diversity between seasons (table 2).

Helminth species recovered from the rodents in Rio Negro included the nematodes *Heligmostrongylus crucifer*, *H. almeidai*, *H. interrogans*, *Pudica cercomysi*, *P. maldonadoi*, *Trichuris* sp., *Avellaria intermedia* and *Stilestrongylus inexpectatus*. The latter three species were observed only during the wet season. Only one species of Cestoda *Raillietina* sp. was recorded. The helminth species recovered from rodents in Alegria included the nematodes *H. crucifer*, *H. almeidai*, *H. interrogans*, *P. cercomysi*, *Trichuris* sp., *Paraspidodera uncinata* and *Physocephalus lassancei*. *Trichuris* sp. was observed only during the dry season, and *P. lassancei* was only found during the wet season. Two species of Cestoda were also observed: *Raillietina* sp. and *Rodentolepis* sp. The latter species was only detected once in one host during the dry season. All helminths were recovered from the small intestine except *P. uncinata*, which was found in the large intestine, and *P. lassancei*, which was recovered from the stomach.

Helminth distribution and infection levels

The distribution of most nematode helminths was highly aggregated (table 3). In particular, the trichostrongylids *H. almeidai* and *H. crucifer* showed aggregated distributions at both farms during both seasons. *Heligmostrongylus interrogans* was randomly distributed in Rio Negro during the wet season, and *P. cercomysi* was randomly distributed during the dry season. *Avellaria intermedia* showed an aggregated distribution in Rio Negro during the wet season. The distribution of *Trichuris* sp. was aggregated in Rio Negro and Alegria during the dry season and was randomly distributed in Rio Negro during the wet season. The distribution of

P. uncinata was aggregated in Alegria during the dry season. The cestoda *Raillietina* sp. was consistently randomly distributed (table 3). The distributions of other species could not be adequately evaluated.

The nematode *H. interrogans* showed significantly higher abundance in Alegria during the dry season, and *P. cercomysi* showed significantly higher abundance in Rio Negro during the wet season (tables 4 and 5). The other species did not show any significant differences in abundance between farms or seasons (tables 4 and 5). The highest abundances in Rio Negro were observed for *H. almeidai* and in Alegria for *H. crucifer* (table 4).

In Rio Negro, *P. cercomysi* was much more abundant during the wet season and *H. almeidai* and *A. intermedia* were more abundant during the dry season; these species were abundant in this farm location (tables 4 and 5). *Heligmostrongylus crucifer* and *H. interrogans* were more abundant in Alegria during the dry season and were most abundant in this farm (tables 4 and 5).

Most species (*H. crucifer*, *H. interrogans*, *P. cercomysi*, *P. uncinata* and *Raillietina* sp.) were more abundant in Alegria during the dry season (tables 4 and 5). Only *Trichuris* sp. showed significantly higher prevalence in Rio Negro, also during the dry season (tables 4 and 5).

The logistic regression analysis assessing the presence of the helminths with respect to both the location and season showed that, for *H. almeidai*, *Trichuris* sp. and *Raillietina* sp., the season exerted a stronger influence on species presence than the location (table 6). For *H. crucifer*, *H. interrogans*, *P. maldonadoi*, *A. intermedia* and *P. cercomysi*, no significant differences were found between locations or seasons. Other species could not be tested.

There were no significant correlations between the helminth intensities of infection (table 7). The Jaccard indices of association did not show co-occurrence or segregation between any pair of helminth species (table 8). The nematodes *H. crucifer*, *H. almeidai* and *P. cercomysi* were dominant at both Rio Negro and Alegria (table 9). *Trichuris* sp., *A. intermedia* and *Raillietina* sp. were dominant only in Rio Negro, and *H. interrogans* and *P. uncinata* were dominant only in Alegria (table 9). The other helminths were either co-dominant or unsuccessful pioneer species at both farms (table 9).

Discussion

Thrichomys pachyurus is an abundant rodent in the Pantanal and acts as a wild reservoir for *T. cruzi* and *T. evansi* (H.M. Herrera *et al.*, 2007). Studies have investigated other parasites and their life cycles in this caviomorph rodent species.

Table 3. Dispersion indices for each helminth recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil.

Farm	Season	<i>H. crucifer</i>	<i>H. almeidai</i>	<i>Pudica cercomysi</i>	<i>Trichuris</i> sp.	<i>Avellaria intermedia</i>	<i>H. interrogans</i>	<i>P. uncinata</i>	<i>Raillietina</i> sp.
Rio Negro	Wet	12.62	1.38	32.34	0.20	6.43	0.40	–	0.13
	Dry	11.13	27.43	0.18	11.95	–	–	–	0.40
Alegria	Wet	38.48	4.43	8.77	–	–	2.67	–	–
	Dry	32.47	3.56	7.87	1.50	–	60.53	1.33	0.19

Variation in helminth community structure of *T. pachyurus*

5

Table 4. Abundance, intensity and prevalence (95% confidence limits) of each helminth species recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil.

	<i>Heligmosomylus crucifer</i>	<i>Heligmosomylus almeidai</i>	<i>Heligmosomylus interogens</i>	<i>Fudica cercomyi</i>	<i>Fudica mallomai</i>	<i>Thrichuris</i> sp.	<i>Avellaria intermedia</i>	<i>Stilestrongylus inexpectatus</i>	<i>Paraspidolera uncinata</i>	<i>Physophtelus laesemaci</i>	<i>Ratitattina</i> sp.
Abundance											
Rio Negro, wet season	4.56 (1.61-10.50)	2.22 (0.78-4.50)	1.11 (0.28-2.39)	17 (7.94-34)	0.67 (0-2)	0.28 (0.06-0.56)	1.94 (0-6.11)	0.89 (0-2.67)	-	-	0.44 (0.17-0.72)
Rio Negro, dry season	5.36 (1.71-13.07)	13.79 (4.93-32)	-	1.57 (0-4)	-	2.29 (0.57-8)	3.07 (0-9.21)	-	-	-	0.86 (1.50-2.75)
Rio Negro, total	4.91 (2.41-9.03)	7.28 (3.25-15.09)	0.63 (0.16-1.41)	10.25 (4.97-20.38)	0.38 (0-1.13)	1.16 (0.41-3.75)	2.44 (0.51-7.09)	0.50 (0-1.50)	-	-	0.63 (0.34-0.94)
Alegria, wet season	6.35 (1.38-18.42)	0.81 (0.04-2.35)	0.69 (0.08-2)	1.92 (0.69-5.08)	-	-	-	-	0.04 (0-0.12)	0.23 (0-0.69)	0.23 (0-0.69)
Alegria, dry season	9.25 (2.75-29.42)	1.50 (0.25-3.58)	17.83 (6.17-58.17)	8.33 (4.50-14.08)	-	1.17 (0.33-2.33)	-	-	0.75 (0.08-2.0)	-	0.75 (0.25-1.08)
Alegria, total	7.26 (3.11-16.29)	1.03 (0.32-2.18)	6.11 (2.18-19.66)	3.74 (2.03-6.45)	-	0.37 (0.11-0.95)	-	-	0.26 (0.05-0.76)	0.16 (0-0.47)	0.39 (0.16-0.89)
Intensity											
Rio Negro, wet season	10.25 (4.25-19.50)	8 (5.20-10.60)	5 (4-6.25)	27.8 (14.91-51.64)	12 (0-0)	1.25 (1-1.50)	17.50 (10-17.50)	16 (0-0)	-	-	1.14 (1-1.29)
Rio Negro, dry season	15 (5.20-25.20)	27.57 (11.71-51.86)	-	11 (10-12)	-	4.57 (1.29-13.14)	43 (0-0)	-	-	-	2 (1.17-2.50)
Rio Negro, total	12.08 (6.38-18.85)	19.42 (9.92-39.08)	5 (4-6.25)	25.23 (14.6-45.92)	12 (0-0)	3.36 (1.27-9.09)	26 (10-37)	16 (0-0)	-	-	1.54 (1.15-1.92)
Alegria, wet season	33 (13.20-68.40)	7 (1-10.67)	6 (2-8.67)	6.25 (2.88-13.25)	-	-	-	-	1 (0-0)	6 (0-0)	6 (0-0)
Alegria, dry season	15.86 (5.14-41.14)	3.60 (1-6.20)	26.75 (9.75-70.13)	10 (6.10-16.40)	-	2.80 (1.20-4.20)	-	-	3 (1-4.33)	-	1.29 (1-1.57)
Alegria, total	23 (10.92-44.92)	4.88 (1.88-7.63)	21.09 (8.55-61.82)	8.36 (5.47-13.41)	-	2.80 (1.20-4.20)	-	-	2.50 (1-4.0)	6 (0-0)	1.88 (1.13-3.50)
Prevalence											
Rio Negro, wet season	44.4 (0.21-0.69)	27.8 (0.10-0.53)	22.2 (0.06-0.48)	61.1 (0.36-0.83)	5.6 (0.001-0.27)	22.2 (0.06-0.48)	11.1 (0.01-0.35)	5.6 (0.001-0.27)	-	-	38.9 (0.17-0.64)
Rio Negro, dry season	35.7 (0.13-0.65)	50 (0.23-0.77)	-	14.3 (0.02-0.43)	-	50 (0.23-0.77)	7.1 (0.002-0.34)	-	-	-	42.9 (0.18-0.71)
Rio Negro, total	40.6 (0.24-0.59)	37.5 (0.21-0.56)	12.5 (0.03-0.29)	40.6 (0.24-0.59)	3.1 (0.0007-0.16)	34.4 (0.18-0.53)	9.4 (0.02-0.25)	3.1 (0.0007-0.16)	-	-	40.6 (0.24-0.59)
Alegria, wet season	19.2 (0.066-0.39)	11.5 (0.02-0.30)	66.7 (0.15-0.72)	30.8 (0.14-0.52)	-	-	-	-	3.8 (0.0009-0.20)	3.8 (0.0009-0.20)	3.8 (0.0009-0.20)
Alegria, dry season	58.3 (0.28-0.85)	41.7 (0.15-0.72)	28.9 (0.35-0.90)	44.7 (0.52-0.98)	-	41.7 (0.15-0.72)	-	-	25 (0.5-0.57)	-	58.3 (0.28-0.85)
Alegria, total	31.6 (0.18-0.49)	21.1 (0.09-0.37)	47.8 (0.15-0.46)	44.7 (0.29-0.62)	-	13.2 (0.04-0.28)	-	-	10.5 (0.03-0.25)	2.6 (0.0006-0.14)	21.1 (0.10-0.37)

Table 5. Results of the chi-square test for abundance, intensity and prevalence in relation to farm and season for each helminth recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil.

	Abundance		Intensity		Prevalence	
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
<i>H. crucifer</i>	0.229	0.75 > P > 0.50	4.974*	0.05 > P > 0.02	15.380*	<0.001
<i>H. almeidai</i>	0.657	0.50 > P > 0.25	7.061*	<0.01	2.998	0.10 > P > 0.05
<i>H. interrogans</i>	11.654*	<0.001	14.015*	<0.001	56.412*	<0.001
<i>P. cercomysi</i>	15.527*	<0.001	5.353*	0.05 > P > 0.02	53.081*	<0.001
<i>Thrichuris</i> sp.	0.138	0.75 > P > 0.50	0.703	P > 0.10	15.926*	<0.001
<i>A. intermedia</i>	0.255	0.75 > P > 0.50	10.747*	<0.01	0.879	0.50 > P > 0.25
<i>P. uncinata</i>	0.638	0.50 > P > 0.25	1.00	0.90 > P > 0.75	15.60*	<0.001
<i>Raillietina</i> sp.	0.029	0.95 > P > 0.90	2.150	>0.10	29.043*	<0.001

*Significant results.

Table 6. Significant results of the stepwise logistic regression of presence/absence of each helminth recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil, considering the location and the season.

Species	Significant parameter	Chosen model	Estimate	SE	P value	Odds ratio	95% confidence interval
<i>H. almeidai</i>	Season	Step 1	1.350	0.555	0.015	3.857	11.437–1.301
<i>Thrichuris</i> sp.	Season	Step 0	2.120	0.674	0.002	8.334	31.232–2.224
<i>Raillietina</i> sp.	Season	Step 1	1.658	0.555	0.003	5.250	15.567–1.771

Table 7. Spearman correlation coefficients of the intensities of infection between helminths recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil. Samples sizes (number of host animals) are in parentheses.

	<i>Heligmostrongylus almeidai</i>	<i>Heligmostrongylus crucifer</i>	<i>Heligmostrongylus interrogans</i>	<i>Pudica cercomysi</i>	<i>Thrichuris</i> sp.
<i>H. almeidai</i>	–	–	–	–	–
<i>H. crucifer</i>	0.193 (7)	–	–	–	–
<i>H. interrogans</i>	–0.857 (6)	0.354 (10)	–	–	–
<i>P. cercomysi</i>	0.482 (11)	0.103 (18)	–0.316 (15)	–	–
<i>Thrichuris</i> sp.	0.171 (6)	–0.303 (10)	0.783 (5)	–0.205 (9)	–
<i>Raillietina</i> sp.	0.442 (9)	–0.113 (8)	0.131 (6)	–0.361 (10)	0.413 (8)

Table 8. Jaccard indices of association between helminth species recovered from *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echymyidae) on the Rio Negro and Alegria Farms in the Pantanal, Brazil.

	<i>Heligmostrongylus almeidai</i>	<i>Heligmostrongylus crucifer</i>	<i>Heligmostrongylus interrogans</i>	<i>Pudica cercomysi</i>	<i>Thrichuris</i> sp.
<i>H. almeidai</i>	–	–	–	–	–
<i>H. crucifer</i>	0.179	–	–	–	–
<i>H. interrogans</i>	0.207	0.333	–	–	–
<i>Pudica cercomysi</i>	0.289	0.333	0.500	–	–
<i>Thrichuris</i> sp.	0.200	0.300	0.160	0.235	–
<i>Raillietina</i> sp.	0.281	0.216	0.207	0.225	0.276

This is the first report on the helminth fauna of *T. pachyurus* with new records of the geographic distributions for most of the helminth species. Four of the ten sampled nematode species were previously registered in another biome for the closely related species

T. apereoides which lives in the Brazilian Cerrado and Caatinga. Although *H. crucifer* had only been observed in the Pantanal, *H. almeidai*, *H. interrogans* and *S. inexpectatus* have been described previously in the Caatinga, and *S. inexpectatus* has also been described in Cerrado.

Variation in helminth community structure of *T. pachyurus*

7

Table 9. Importance indices for the helminths on the Rio Negro (RN) and Alegria (A) Farms in the Pantanal, Brazil.

	<i>Heligmosomoides cruxifer</i>	<i>Heligmosomoides abnoidi</i>	<i>Heligmosomoides ceromyxi</i>	<i>Thrichuris</i> sp.	<i>Avellaria intermedia</i>	<i>Heligmosomoides interogens</i>	<i>Pudica maldonadoi</i>	<i>Stilstrongylus inexpectatus</i>	<i>Paraspidodera uncinata</i>	<i>Physcephalus lassancei</i>	<i>Raillietina</i> sp.
RN	21.59 dominant	24.03 dominant	44.09 dominant	3.39 dominant	2.68 dominant	0.92 co-dominant	0.14 co-dominant	0.15 co-dominant	0.00 unsuccessful	0.00 unsuccessful	2.98 dominant
A	35.22 dominant	3.32 dominant	27.11 dominant	0.74 co-dominant	0.00 unsuccessful	31.93 dominant	0.00 unsuccessful	0.00 unsuccessful	1.17 dominant	0.19 co-dominant	0.32 co-dominant

The larger helminth diversity in *T. pachyurus* when compared with congeneric species from the Caatinga and Cerrado suggests an environmental adaptation of life cycles of most helminths to the Pantanal habitat, which is more humid than other biomes, in spite of the influence of the surrounding Cerrado on the Pantanal fauna (Alho & Gonçalves, 2005). In addition, the great diversity of helminth species found in this rodent could have resulted from sharing the habitat with other mammals. The infection of *T. pachyurus* likely results from sharing the habitat with other rodents and deer during the flood periods. Indeed, *P. lassancei* has been described from the stomach of the cervid *Mazama simplicicornis* from Lassance, Minas Gerais State (Cuocolo, 1943). This genus preferentially inhabits forested areas in Pantanal (Rivero *et al.*, 2005), and *T. pachyurus* are found preferentially in this habitat in the 'cordilheiras' (H.M. Herrera *et al.*, 2007). Thus, these two species may overlap during the flood season.

Paraspidodera uncinata is a parasite of the large intestine of *Cavia porcellus*, *C. aperea* and *C. fulgida* and has been found infecting caviomorph rodents of the families Caviidae and Agoutidae (Travassos & Freitas, 1948; Pinto *et al.*, 2002). Moreover, it has also been reported infecting lagomorphs (Vicente *et al.*, 1997), demonstrating that it has little vertebrate host specificity. Although this is the first report of *P. uncinata* infecting *T. pachyurus*, previous studies have reported this nematode infecting *Cavia* sp. in Mato Grosso do Sul State (Travassos & Freitas, 1941). Further, a *Cavia* sp. was trapped in the same habitat where the rodents were collected, reinforcing the importance of co-habitation as a determinant of co-occurring parasites. Likewise, *A. intermedia* has also been observed infecting caviomorph rodents such as *Dasyprocta fuliginosa* in Jauari, Amazonas (Durette-Desset *et al.*, 2006).

Extrinsic factors play a major role in determining the structure of helminth communities, with strong evidence in support of temporal variations in helminth communities arising from seasonal and annual changes in the environment (Langley & Fairley, 1982; Haukisalmi *et al.*, 1988; Montgomery & Montgomery, 1989). Helminth species composition differs in space and time, suggesting that each site and season sampled has specific habitat characteristics that allow for the occurrence of helminth species that are better adapted to these particular conditions. In this study, differences in spatial scale are demonstrated by the occurrence of *A. intermedia*, *S. inexpectatus* and *P. maldonadoi* only at Rio Negro, and *P. uncinata* and *P. lassancei* only at Alegria. With regard to temporal variations, seasonal differences in helminth community structure could potentially be a consequence of changes in mammal aggregation patterns as a result of the seasonal shrinkage and expansion of their natural habitats in response to the weather conditions.

The aggregated distribution observed for most nematodes analysed is a frequent pattern of parasite distribution in the wild (Bush *et al.*, 2001; Poulin, 2007). The random distribution in both localities for the cestoda *Raillietina* sp. may result from strong intra-specific competition between the species, which has been observed with other cestoda infections (Keymer, 1982). Further, the existence of several intermediary and definitive hosts suggests the occurrence of the transmission cycle in different habitats (Ackert, 1922; Horsfall, 1938).

The most common helminth species showed higher abundances, intensities and prevalences during the dry season, which may be a consequence of the regular expansion of habitat availability that is due to the shrinking bays, favouring helminth life cycles and dispersion (Lacher *et al.*, 1986). The higher abundance and intensity of *P. cercomysi* during the wet season at Rio Negro may be due to the low host specificity of this helminth in combination with the spatial restrictions of this season, which may favour the transmission of parasites among different host species, such as *Gracilimimus agilis* and *Clyomys laticeps*. The highest prevalence observed in this study was for *P. cercomysi* at the Alegria farm during the dry season, where more than 80% of the animals were infected. This extremely high infection rate indicates that parasites were frequently transmitted between *T. pachyurus* individuals. These data suggest that the potential host species for *P. cercomysi* at Alegria are reduced due to anthropogenic activities.

The less common species (*P. maldonadoi*, *S. inexpectatus*, *P. uncinata* and *P. lassancei*), which were characterized as either co-dominant or unsuccessful pioneer species, were favoured by flooding and appeared only during the wet season. Given that the abundance and intensity of infection of the dominant species were generally reduced during the wet seasons, other helminth species could have become established in the host population during these periods. Considering the higher prevalence of the dominant nematode species in the study areas during the dry season (except for *A. intermedia*, which showed higher prevalence in the wet season) and the higher prevalence of co-dominant species during the wet season (except for *P. uncinata*, which was dominant at this time), we propose the hypothesis of niche constriction for the helminth community during the wet season in this study. Considering the overall host population, the lack of correlation in the helminth intensities may indicate that habitat niche reduction for helminth species allows coexistence of these parasite species.

In conclusion, land use and seasonal effects of weather conditions in the Brazilian Pantanal region may lead to modifications in the patterns of rodent parasitism due to habitat alterations and habitat reduction imposed by flooding or cattle ranching. Although land use did not seem to affect helminth diversity and did not result in a loss of helminth biodiversity, the species composition of each helminth community in *T. pachyurus* differed between locations, and we suggest that this difference may result from habitat differences between regions (preserved versus disturbed). Seasonality in the Pantanal was an important factor in modulating helminth parasitism. The availability of habitat, one of the most important niche dimensions in mammal communities, was equally important in helminth communities. Habitat restriction may favour parasite transmission or the occurrence of co-dominant parasites and, consequently, dissemination of helminths between low-specificity hosts, increasing the supra-population or the prevalence of parasites in *T. pachyurus*. The Pantanal region is located in central South America with the Amazonian Forest to the north, the Cerrado to the east, the dry Chaco to the southwest and rain forest to the southeast. Since *T. pachyurus* is an abundant rodent in this large plain, the

Pantanal region may be acting as a corridor of dispersion between these large ecosystems for some of the helminth species that are not specific parasites of *T. pachyurus*.

Acknowledgements

We would like to thank Conservation International in Brazil for allowing us access to the Rio Negro Farm and to Sr. Herrera for access to the Alegria Farm. We are also grateful to Juberlan Silva for his valuable technical assistance. This study was supported by CNPq, IOC/FIOCRUZ, PAPES III FIOCRUZ, Conservation International, Earth Watch Institute and FUNDECT.

References

- Abu-Madi, M.A., Behnke, J.M., Lewis, J.W. & Gilbert, E.S. (2000) Seasonal and site specific variation in the component community structure of intestinal helminths in *Apodemus sylvaticus* from three contrasting habitats in south-east England. *Journal of Helminthology* 74, 7–15.
- Ackert, J.E. (1922) The house fly and tapeworm transmission. *Transactions of the Kansas Academy of Science* 30, 202–204.
- Alho, C.J.R. & Gonçalves, H.C. (2005) *Biodiversidade do Pantanal – ecologia & conservação*. Campo Grande, Editora UNIDERP.
- Barnard, C.J., Behnke, J.M., Bajer, A., Bray, D., Race, T., Frake, K., Osmond, J., Dinmore, J. & Sinski, E. (2002) Local variation in endoparasite intensities of bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from ecologically similar sites: morphometric and endocrine correlates. *Journal of Helminthology* 76, 103–112.
- Behnke, J.M. (2008) Structure in parasite component communities in wild rodents: predictability, stability, associations and interactions or pure randomness? *Parasitology* 135, 751–766.
- Behnke, J.M., Lewis, J.W., Mohd Zain, S.N. & Gilbert, E.S. (1999) Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in southern England: interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *Journal of Helminthology* 73, 31–44.
- Behnke, J.M., Barnard, C.J., Bajer, A., Bray, D., Dinmore, J., Frake, K., Osmond, J., Race, T. & Sinski, E. (2001) Variation in the helminths community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from three comparable localities in the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* 123, 401–414.
- Bonvicino, C.R., Otazu, I.B. & D'Andrea, P.S. (2002) Karyologic evidence of diversification of the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). *Animal Cytogenetics and Comparative Mapping* 97, 200–204.
- Braggio, E. & Bonvicino, C.R. (2004) Molecular divergence in the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). *Journal of Mammalogy* 85, 7–11.
- Bush, A.O., Lafferty, D.K., Lotz, M.J. & Shostak, W.A. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83, 575–583.
- Bush, A.O., Fernandez, J.C., Esch, G.W. & Seed, J.R. (2001) *Parasitism: the diversity and ecology of animal*

- parasites. 1st edn. 576 pp. Cambridge, Cambridge University Press.
- Combes, C. (2001) *Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions*. 1st edn. 728 pp. Chicago, University of Chicago Press.
- Cuocolo, R. (1943) 'Pereiraia' n.g. para o 'Physocephalus lassancei' Trav., 1931 (Nematoda: Spiruridae) com rediscussão da espécie tipo. *Arquivos do Instituto de Biologia* 14, 213–216.
- Durette-Desset, M.C. (1985) Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. *Advances in Parasitology* 24, 239–306.
- Durette-Desset, M.C. & Chabaud, A.G. (1981) Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 56, 297–312.
- Durette-Desset, M.C., Gonçalves, A.Q. & Pinto, R.M. (2006) Trichostrongylina (Nematoda, Heligmosomoidae) co-parasitos em *Dasypsecta fuliginosa* Wagler (Rodentia, Dasypsectidae) do Brasil, com o restabelecimento do gênero *Avellaria* Freitas & Lent e a descrição de duas novas espécies. *Revista Brasileira de Zoologia* 23, 509–519.
- Feijó, I.A., Lopes Torres, E.J., Maldonado, A. Jr & Lanfredi, R.M. (2008) A new oxyurid genus and species from *Gracilinanus agilis* (Marsupialia: Didelphidae) in Brazil. *The Journal of Parasitology* 94, 847–851.
- Fuentes, M.V., Sáez, S., Trellis, M., Galán-Puchades, M.T. & Esteban, J.G. (2004) The helminth community of the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, in the Sierra Espuña, Murcia, Spain. *Journal of Helminthology* 78, 219–223.
- Gomes, D.C., Cruz, R.P., Vicente, V. & Pinto, R.M. (2003) Nematode parasites of marsupials and small rodents from the Brazilian Atlantic Forest in state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 20, 699–707.
- Haukisalmi, V. & Henttonen, H. (1990) The impact of climatic factors and host density on the long-term population dynamics of vole helminths. *Oecologia* 83, 309–315.
- Haukisalmi, V., Henttonen, H. & Tenora, F. (1988) Population dynamics of common and rare helminths in cyclic vole populations. *Journal of Animal Ecology* 57, 807–825.
- Herrera, H.M., Norek, A., Freitas, T.P.T., Rademaker, V., Fernandes, O. & Jansen, A.M. (2005) Domestic and wild mammals infection by *Trypanosoma evansi* in a pristine area of the Brazilian Pantanal region. *Parasitology Research* 96, 121–126.
- Herrera, H.M., Rademaker, V., Abreu, U.G.P., D'Andrea, P.S. & Jansen, A.M. (2007) Variables that modulate the spatial distribution of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. *Acta Tropica* 102, 55–62.
- Herrera, L., D'Andrea, P.S., Xavier, S.C.C., Mangia, R.H., Fernandes, O. & Jansen, A.M. (2005) *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park Serra da Capivara, and its surroundings (Piauí, Brazil), endemic for Chagas disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 99, 379–388.
- Horsfall, M.W. (1938) Meal beetles as intermediate hosts of poultry tapeworms. *Science* 17, 8–11.
- Keymer, A.E. (1982) Density-dependent mechanisms in the regulation of intestinal helminth populations. *Parasitology* 84, 573–587.
- Lacher, T.E. Jr, Alho, C.J.R. & Campos, Z.M.S. (1986) Densidades y preferencias de microhábitat de los mamíferos en la Hacienda Nhumirin, sub-region Nhecolândia, Pantanal de Mato Grosso del Sur. *Ciência Interamericana* 26, 30–38.
- Langley, R. & Fairley, J.S. (1982) Seasonal variations in infestation of parasites in a wood mouse *Apodemus sylvaticus* population in the west of Ireland. *Journal of Zoology, London* 198, 249–261.
- Lemos, E.R.S. & D'Andrea, P.S. (2006) Trabalho com animais silvestres. pp. 273–288 in Martins, E.V., Martins, A.S., Silva, F.H.A.L., Lopes, M.C.M., Moreno, M.L.V. & Silva, P.C.T. (Eds) *Biossegurança, informação e conceitos, textos básicos*. Rio de Janeiro, FIOCRUZ.
- Lopes Torres, E.J., Maldonado, A. Jr & Lanfredi, R.M. (2009) Spirurids from *Gracilinanus agilis* (Marsupialia: Didelphidae) in Brazilian Pantanal wetlands with a new species of *Physaloptera* (Nematoda: Spirurida). *Veterinary Parasitology* 63, 87–92.
- Ludwig, J.A. & Reynolds, J.F. (1988) *Statistical ecology: a primer in methods and computing*. 4th edn. 368 pp. New York, Wiley Interscience Publications.
- Maldonado, A. Jr, Gentile, R., Fernandes-Moraes, C.C., D'Andrea, P.S., Lanfredi, R.M. & Rey, L. (2006) Helminth communities of *Nectomys squamipes* naturally infected by the exotic trematodes *Schistosoma mansoni* in Southeastern Brazil. *Journal of Helminthology* 80, 369–375.
- Magurran, A.E. (1988) *Ecological diversity and its measurements*. 179 pp. Princeton, Princeton University Press.
- Montgomery, S.S.J. & Montgomery, W.I. (1989) Spatial and temporal variation in the infracommunity structure of helminths of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae). *Parasitology* 98, 145–150.
- Montgomery, S.S.J. & Montgomery, W.I. (1990) Structure, stability and species interaction in helminth communities of Wood mice, *Apodemus sylvaticus*. *International Journal of Parasitology* 20, 225–245.
- Pinto, R.M., Gomes, D.C., Muniz-Pereira, L.C. & Noronha, D. (2002) Helminths of the guinea pig *Cavia porcellus* Linnaeus, in Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 19, 261–269.
- Poulin, R. (2001) Interactions between species and the structure of helminth communities. *Parasitology* 122, S3–S11.
- Poulin, R. (2007) Are there general laws in parasite ecology? *Parasitology* 134, 763–776.
- Rivero, K., Rimíz, D.I. & Taber, A.B. (2005) Differential habitat use by two sympatric brocket deer species (*Mazama americana* and *M. gouazoubira*) in a seasonal Chiquitano forest of Bolivia. *Mammalia* 69, 169–183.
- Sainz-Elise, M.T., Galán-Puchades, M.T. & Fuentes, M.V. (2007) The helminth community of the Mediterranean mouse, *Mus spretus*, in a post-fire regenerated Mediterranean ecosystem. *Helminthologia* 44, 107–111.

- Teixeira, B.R., Roque, A.L.R., Barreiros-Gomez, S.C., Borodin, P.M., Jansen, A.M. & D'Andrea, P.S. (2005) Maintenance and breeding of *Thrichomys* (Trouessart, 1880) (Rodentia: Echimyidae) in captivity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **100**, 627–630.
- Thul, J.E., Forrester, D.J. & Abercrombie, C.L. (1985) Ecology of parasitic helminths of wood ducks, *Aix sponsa*, in the Atlantic flyway. *Proceedings of the Helminth Society Washington* **52**, 297–310.
- Travassos, L. (1927) Nematodeos novos. *Boletim de Biologia* **6**, 52–61.
- Travassos, L. & Freitas, J.E.T. (1941) Relatório da terceira excursão a zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil realizada em fevereiro e março de 1940. II Pesquisas helmintológicas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **35**, 610–634.
- Travassos, L. & Freitas, J.E.T. (1948) Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao norte do Estado do espírito Santo, junto ao Parque Reserva e Refúgio Sooretama, em fevereiro de 1948. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **46**, 605–631.
- Vicente, J.J., Rodrigues, H.O., Gomes, D.C. & Pinto, R.M. (1997) Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de Mamíferos. *Revista Brasileira de Zoologia* **14**, 1–452.
- Xavier, S.C.C., Vaz, V.C., D'Andrea, P.S., Herrera, L., Emperaire, L., Alves, J.R., Fernandes, O., Ferreira, L.F. & Jansen, A.M. (2007) Mapping of the distribution of *Trypanosoma cruzi* infection among small wild mammals in a conservation unit and its surroundings (Northeast-Brazil). *Parasitology International* **56**, 119–128.
- Yamaguti, F. (1961) *Sistema Helminthum. Vol II. The nematodes of vertebrates*. 1261 pp. New York, Interscience Publisher.
- Zar, J.H. (1999) *Biostatistical analysis*. 4th edn. 960 pp. New Jersey, Prentice Hall.

8 - ANEXO 3

Descrição dos helmintos encontrados em *Thrichomys pachyurus*

Dentre as 12 espécies de helmintos encontradas em *Thrichomys pachyurus*, 10 são nematódeos e 2 cestódeos. Dos dez nematódeos, sete pertencem a superfamília Trichostrongyloidea, *Heligmostrongylus almeidai*, *H. crucifer*, *H. interrogans*, *Pudica cercomysi*, *P. maldonadoi*, *Avellaria intermedia* e *Stilestrongylus inexpectatus*, uma da Superfamília Spiruroidea, *Physocephalus lassancei*, uma da Superfamília Trichinelloidea, *Trichuris* sp., e uma da Superfamília Heterakoidea, *Paraspidodera uncinata*.

Os nematódeos da superfamília Trichostrongyloidea encontrados em *T. pachyurus* são parasitos monoxenos, ou seja, completam seu ciclo em apenas um hospedeiro. São hematófagos e aderem sobre a mucosa o intestino delgado. Os ovos saem nas fezes do hospedeiro para o solo, onde desenvolvem três estágios larvais após os quais infectam novo hospedeiro através ingestão da L-3 (Noble et al. 1989).

Physocephalus lassancei é um nematódeo heteróxico, ou seja, necessita mais de um hospedeiro para completar o ciclo. A infecção ocorre pela ingestão de larva encistada em um hospedeiro intermediário (coleópteros coprófagos). Colonizam a superfície da mucosa gástrica do hospedeiro. Esta espécie é descrita como parasito de porcos domésticos e selvagens (*P. sexalatus*) e cervídeos (Cuocolo, 1943, Bursey, Goldberg, 2004, Freitas, 1982). Esta espécie foi encontrada apenas na FA, sugerindo que a criação de gado concentra diferentes espécies em um mesmo tipo de habitat, ocasionando o compartilhamento de ambiente e a transmissão/aquisição de parasitos entre espécies distintas, no caso entre cervídeos e porcos com *T. pachyurus*.

Trichuris sp. é um nematódeo monoxeno que parasita o ceco com extremidade anterior embebida na mucosa. A infecção ocorre pela ingestão de ovos embrionados que se tornam infectivos após desenvolvimento no solo (Freitas, 1982, Stephenson et al. 2000, Parasitology Biology, 2001). Dentre os impactos causados por espécies deste gênero em roedores estão: anemia, problemas digestivos, redução do peso

corporal de recém-nascidos, redução na fecundidade através da redução no tamanho de ninhada, e número de reproduções ao ano (Deter et al. 2007).

Paraspidodera uncinata é um nematódeo monóxeno que habita o ceco e colon de seus hospedeiros. A infecção é direta através do contato com as fezes onde os ovos já são infectivos (Fremont , Bowman, 2003). Normalmente não patogênico, embora esteja associado à perda de peso e retardo de desenvolvimento em altas infestações (Conder *et al.* 1989). Em cobaias, apresenta baixa patogenicidade (Rigby, 1976), pouco se sabe a cerca do impacto deste parasito em animais silvestres.

Raillietina sp. é um cestódeo heteróxico que parasita o intestino delgado de seus hospedeiros. O seu ciclo inicia-se com a liberação das proglotes nas fezes, sendo ingeridas por hospedeiros intermediários artrópodos (insetos, crustáceos ou moluscos) onde forma cisticercóide. Geralmente sub-clínica, mas em laboratório cobaias com infecções severas sofrem sintomatologia severa, como: perda de peso, distensão do intestino delgado, diarreia e morte (Davidson et al. 1980).

O impacto dos helmintos em *Thrichomys pachyurus*

Em relação ao impacto destes helmintos em *T. pachyurus*, realizamos um estudo preliminar onde observamos que a infecção por nematódeos hematófagos (Apêndice 3) não influenciou nos parâmetros hematológicos analisados (contagem de leucócitos totais e diferencial, contagem de hemácias e hematócrito). No entanto, realizamos um estudo piloto em laboratório com animais naturalmente infectados, onde avaliamos a influência de helmintos na condição corporal de *T. pachyurus*. De acordo com as análises preliminares, o ganho de peso em animais naturalmente livres de parasitos (não-vermifugados) foi mais alto do que dos animais vermifugados e livres de parasitos, vermifugados e com parasitos e dos animais naturalmente infectados (não-vermifugados), nesta ordem. Este resultado tem implicações na ecologia de populações deste hospedeiro, pois uma redução na taxa de crescimento (ou ganho de peso) pode estar relacionada a uma diminuição da condição corporal, da sobrevivência e reprodução do hospedeiro (Vandegrift et al. 2008).