

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD

INSTITUTO LEÔNIDAS  
& MARIA DEANE  
Fiocruz Amazônia

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA INTERAÇÃO**  
**PATÓGENO-HOSPEDEIRO**

**ADRIA MARIA MATOS TELES**



**PREVALÊNCIA DE *Trypanosoma cruzi* EM PEQUENOS MAMÍFEROS**  
**CAPTURADOS EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA**  
**CENTRAL**

MANAUS

2021

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA INTERAÇÃO**  
**PATÓGENO-HOSPEDEIRO**

**ADRIA MARIA MATOS TELES**

**PREVALÊNCIA DE *Trypanosoma cruzi* EM PEQUENOS MAMÍFEROS**  
**CAPTURADOS EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA**  
**CENTRAL**

Projeto de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Ciências Biológicas.

**ORIENTADORA:** Dra. Claudia María Ríos Velásquez

**CO-ORIENTADORA:** Dra. Keillen Monick Martins Campos

MANAUS

2021

## FICHA CATALOGRÁFICA

T269p

Teles, Adria Maria Matos

Prevalência de *Trypanosoma cruzi* em pequenos mamíferos capturados em um assentamento rural na Amazônia Central. / Adria Maria Matos Teles. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2021.

68 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2021.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Claudia Maria Ríos Velásquez.

Co- Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Keillen Monick Martins Campos.

1. *Trypanosoma cruzi* 2. Didelphimorphia 3. Rodentia  
4. Antropização 5. Amazônia I. Título

CDU 616.937:599.323(043.3)

CDD 616.9363

22. ed.

**ADRIA MARIA MATOS TELES**

**PREVALÊNCIA DE *Trypanosoma cruzi* EM PEQUENOS MAMÍFEROS  
CAPTURADOS EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA  
CENTRAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Ciências Biológicas.

Aprovada em: **29 de junho de 2021.**

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Claudia Maria Ríos Velásquez

Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Profa. Dra. Célia Maria Ferreira Gontijo - Membro externo

Instituto René Rachou – Fiocruz MG.

Prof. Dr. Artur Gomes Dias Lima - Membro interno

Universidade do Estado da Bahia – UNB

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Oswaldo Cruz, ao Instituto Leônidas e Maria Deane e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro (PPGBIO), pela formação, suporte, corpo de docentes e estrutura oferecidos para fazer possível a minha formação com mestre em Ciências Biológicas.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À Fapeam e ao ILMD pelo financiamento do projeto através do edital Proepe-ILMD-FAPEAM/2016-2018; Proepe-ILMD-CNPq/2019-2020; Proepe-ILMD-Fiotec/2020-2022.

À minha querida orientadora, Dra. Cláudia Ríos, pela orientação, ensinamentos, pela confiança que teve em mim e por todo o apoio que me deu durante o mestrado.

À minha co-orientadora, Dra. Keillen Campos, pelos ensinamentos e ajuda indispensáveis para minha formação e para a realização desse projeto.

Ao Dr. Felipe Pessoa, pelas aulas incríveis, por tantos conhecimentos compartilhados e pela orientação junto às doutoras, e ainda pelas excelentes músicas que me apresentou.

Ao MSc. Rafael Miranda do Instituto René Rachou, pela ajuda no início do mestrado, por partilhar seus conhecimentos comigo, pelos muitos esclarecimentos sobre biologia molecular e pelos controles positivos cedidos.

Ao Dr. José Joaquin Carvajal pela ajuda na análise dos dados.

À Dra. Maria Nazareth Ferreira da Silva, Dra. Alessandra Nava e MSc. Rafael Pinto Kautzmann pela ajuda no desenho amostral, na elaboração do CEUA e na coleta e identificação dos mamíferos.

A todos os membros da equipe de campo pelo árduo e valioso esforço realizado para coletar os mamíferos.

A todos os amigos do laboratório EDTA, pela ajuda intelectual e técnica e pelos mais variados conhecimentos que foram compartilhados durante esse tempo.

Ao Raphael Viana pelo apoio emocional, paciência e suporte artístico com os desenhos que ilustram parte dessa dissertação.

Ao meu irmão de alma Kev Lincoln, por todo apoio desde o início da minha vida acadêmica e por me ajudar a me preparar para ingressar no programa PPGGIO.

À minha mãe Rosi, que nesse período fez de tudo para eu me manter bem e finalizar meus estudos.

## **Dedicatória**

Dedico esta dissertação à Patrícia Dantas  
Mello (*Patty*), *in memoriam*.

## SUMÁRIO

lista de figuras.....	9
lista de tabelas.....	11
lista de abreviaturas .....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT .....	14
introdução .....	15
1.    Doença de Chagas <i>cruzi</i> .....	15
2.    Insetos vetores .....	19
3. <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	21
4.    Reservatórios.....	24
1.    Ordem didelphimorphia .....	26
2.    Ordem rodentia .....	27
5.    Ciclo de transmissão do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	29
6.    Ações antrópicas na Amazônia e seu impacto sobre as doenças transmitidas por vetores .....	31
OBJETIVOS .....	34
7.    Objetivo Geral.....	34
Objetivos Específicos .....	34
METODOLOGIA .....	35
Aspectos éticos.....	35
Área de estudo .....	35
Coleta de animais .....	36



Distribuição espacial dos Pequenos Mamíferos.....	38
Extração de DNA.....	39
Reação em Cadeia de Polimerase ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) - PCR.....	39
Análise de dados.....	39
RESULTADOS.....	41
Pequenos mamíferos coletados .....	41
Detecção molecular de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	46
Distribuição de <i>Trypanosoma cruzi</i> por ambiente .....	48
DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÕES .....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa da distribuição global de regiões endêmicas e não endêmicas com casos da Doença de Chagas .....	<b>16</b>
<b>Figura 2.</b> Mapa da incidência da Doença de Chagas no Brasil .....	<b>16</b>
<b>Figura 3.</b> Países da América do Sul com registros de Transmissão oral por diferentes subtipos de <i>T. cruzi</i> .....	<b>17</b>
<b>Figura 4.</b> Ciclo de vida do vetor de <i>Trypanosoma cruzi</i> , insetos da subfamília Triatominae, conhecidos como barbeiros .....	<b>19</b>
<b>Figura 5:</b> Distribuição mundial do número de espécies de Triatomíneos .....	<b>20</b>
<b>Figura 6.</b> Morfologia de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	<b>21</b>
<b>Figura 7.</b> Distribuição dos DTUs de <i>Trypanosoma cruzi</i> nos biomas brasileiros .....	<b>22</b>
<b>Figura 8.</b> Hospedeiros incriminados com competência infectiva para <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	<b>25</b>
<b>Figura 9.</b> Representação do ciclo de transmissão do <i>Trypanosoma cruzi</i> na Amazônia .....	<b>30</b>
<b>Figura 10.</b> Mapa de coleta dos pequenos mamíferos não voadores das ordens Rodentia e Didelphimorphia .....	<b>37</b>
<b>Figura 11.</b> Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) .....	<b>44</b>
<b>Figura 12.</b> Curvas de rarefação representando a riqueza acumulativa de espécies de mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia.....	<b>45</b>
<b>Figura 13.</b> Diversidade de Rényi para os ambientes Peridomicílio, Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua .....	<b>45</b>
<b>Figura 14:</b> Produto de PCR em gel de agarose 2% mostrando os fragmentos amplificados por PCR das seis amostras de fígado positivas para <i>T. cruzi</i> .....	<b>46</b>

<b>Figura 15.</b> Infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> em pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia.....	<b>47</b>
<b>Figura 16.</b> Distribuição de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia infectados por <i>T. cruzi</i> entre os diferentes ambientes de captura .....	<b>48</b>
<b>Figura 17.</b> Distribuição espacial de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia infectados por <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	<b>49</b>

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1:** Espécies de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no Assentamento Rural de Rio Pardo entre Agosto/ 2016 e Setembro/ 2017, utilizando armadilhas tipo Sherman, Tomahawk e Pitfall com cercas-guia ..... **42**

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ARRP** – Assentamento Rural de Rio Pardo

**CEUA** – Comitê de Ética no Uso de Animais

**DC** – Doença de Chagas

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**kDNA** – DNA do cinetoplasto (Kinetoplasto)

**ILMD** – Instituto Leônidas e Maria Deane

**INCRA** – Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária

**PCR** – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia de polimerase)

**UFOPA** – Universidade Federal do Oeste do Pará

**Fig.** – Figura

## RESUMO

A Doença de Chagas é uma antropozoonose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. É endêmica na América Latina mas é dispersada por vários continentes, onde há aproximadamente 6 a 7 milhões de pessoas com a doença. No Brasil há aproximadamente 1 milhão de casos e o ciclo de transmissão se mantém entre mamíferos e triatomíneos e humanos. Processos de antropização, tais como desmatamento, atividades agropecuárias, urbanização alteram o ambiente e conseqüentemente o padrão de transmissão de patógenos que têm seus ciclos de vida mantidos por insetos vetores e reservatórios silvestres. Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de *T. cruzi* em pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia capturados em diferentes paisagens de um assentamento rural na Amazônia Central. Para isso foram utilizadas amostras de fígado de pequenos mamíferos não voadores, coletados no Assentamento Rural de Rio Pardo. A identificação de *T. cruzi* foi realizada por PCR. Foi observada infecção por *T. cruzi* em 4,6%, (6/130) dos pequenos mamíferos avaliados. Na Ordem Didelphimorphia 8% (4/50) dos indivíduos estavam infectados, sendo 2 indivíduos de *Micoureus demerarae* e 2 de *Didelphis marsupialis*. Na Ordem Rodentia 2,5% (2/80) dos indivíduos da espécie *Neacomys* sp. estavam infectados. Todos os indivíduos infectados foram coletados em ambientes de floresta. Nossos resultados mostram que *D. marsupiais*, *M. demerarae* e *Neacomys* sp. atuam como reservatórios silvestres de *T. cruzi* em Rio Pardo e que o risco de transmissão envolvendo essas espécies está em áreas florestais. Em ambientes peridomiciliares parece não haver risco de transmissão de *T. cruzi* com envolvimento das espécies de mamíferos estudadas, devido à ausência de indivíduos infectados com o parasito.

**Palavras-Chaves:** Doença de Chagas; Antropização; Mamíferos – Rodentia; Mamíferos - Didelphimorphia

## ABSTRACT

Chagas disease is an anthrozoosis caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*. It is endemic in Latin America but is spread across several continents, where approximately 6 to 7 million people are infected with the disease. In Brazil there are approximately 1 million cases and the transmission cycle remains between mammal reservoirs and triatomine insect vectors and humans. Anthropization processes, such as deforestation, agricultural activities and urbanization, alter the environment and consequently the transmission dynamics of pathogens whose life cycles occur among vector insects and wild reservoirs. This study aimed to evaluate the prevalence of *T. cruzi* in small mammals of the orders Rodentia and Didelphimorphia captured in different landscapes of a rural settlement in Central Amazon. For the study were used liver tissue from non-volant small mammals collected in the Rural Settlement of Rio Pardo. Identification of *T. cruzi* was realized by PCR. Infection by *T. cruzi* was found in 4.6% (6/130) of the small mammals collected, 8% (4/50) of the Didelphimorphia and 2.5% (2/80) of the Rodentia, being the species *Neacomys* sp. infected were. All infected were collected in forest environments. Our results show that *D. marsupialis*, *M. demerarae* and *Neacomys* sp. act as wild reservoirs of *T. cruzi* in Rio Pardo and that the transmission risk involving these species occurs in forest areas. In peridomestic environments there seems to be no risk for *T. cruzi* transmission involving the studied mammal species, due to the absence of individuals infected with the parasite.

**Palavras-Chaves:** Chagas disease; Anthropization; Mammals – Rodentia; Mammals - Didelphimorphia

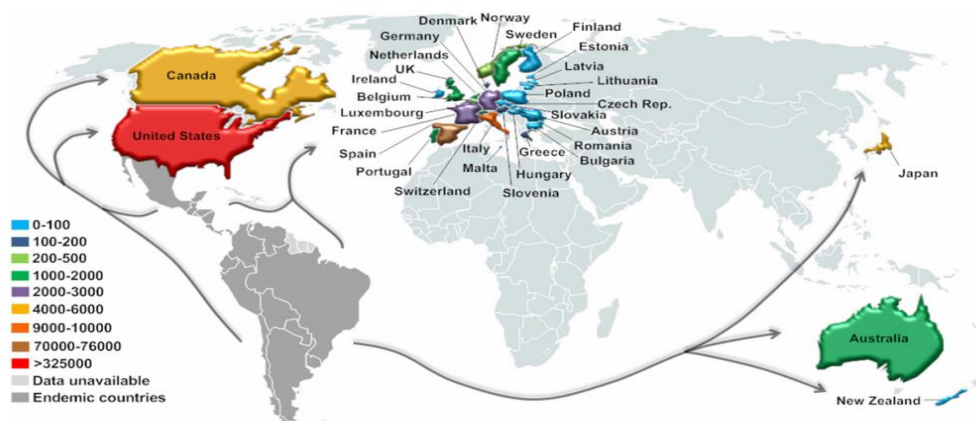
# 1. INTRODUÇÃO

## 1. Doença de Chagas

A Doença de Chagas (DC) é uma doença infecciosa, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e transmitida, principalmente, por insetos da família Triatominae. Esta doença foi descoberta por Carlos Chagas em 1909, quem conseguiu descrever o parasito, os vetores e a síndrome causada em pacientes da cidade de Lassance, no interior de Minas Gerais, Brasil (COUTINHO; DIAS, 1999).

A doença de Chagas (DC) apresenta uma fase aguda e outra crônica. A fase aguda por vezes se apresenta assintomática e, quando sintomática, os sintomas englobam febre, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia e outros sintomas associados à transmissão vetorial, como inflamação no local da inoculação do parasita e um edema na pálpebra (sinal de Romaña) que surge após a penetração do parasita na pele do hospedeiro (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). A fase crônica podem ocorrer de 10 a 30 anos após a infecção e os sintomas envolvem principalmente complicações cardíacas (p. ex. cardiomiopatia), e digestivas (p. ex. Megaesôfago e Megacólon Chagásico) (NUNES *et al.*, 2013).

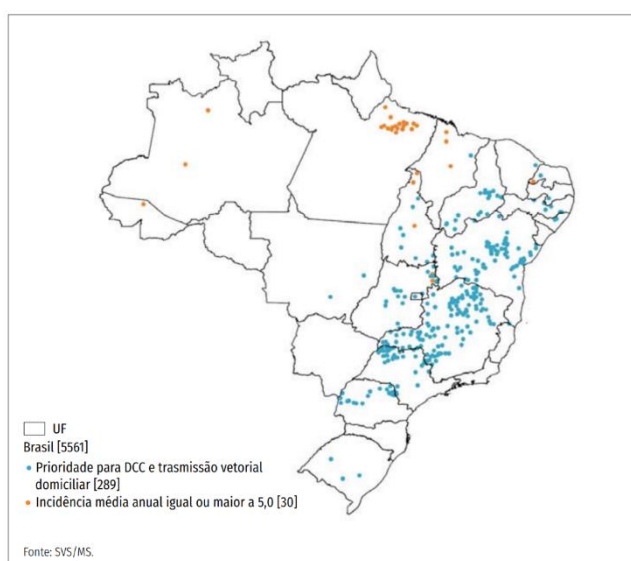
Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que no mundo há cerca 75 milhões de pessoas sob risco de contrair a DC, 6 a 7 milhões estão infectadas, e todo ano são registradas aproximadamente 10 mil mortes, a grande maioria associada à situação de pobreza extrema (WHO 2020). A DC é endêmica em 21 países da América Latina, mas tem se espalhado através da migração humana para países da América do Norte, Europa, Ásia e Oceania (Fig. 1) (MONTGOMERY *et al.*, 2016).



**Figura 1.** Mapa da distribuição global de regiões endêmicas e não endêmicas com casos de Doença de Chagas (Adaptado de LIDANI *et al.* 2019).



No Brasil a DC atinge pelo menos um milhão de pessoas (BRASIL 2021). Em 2020, foram confirmados 146 casos novos da doença e 3 mortes (2%), sendo a região Norte a que apresentou a maior taxa de incidência da doença no País, essa alta incidência se deve principalmente ao consumo de alimentos contaminados e coexistência de outras parasitoses sanguíneas presentes na região norte, que facilitam o diagnóstico da doença aguda (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020) (Fig. 2).

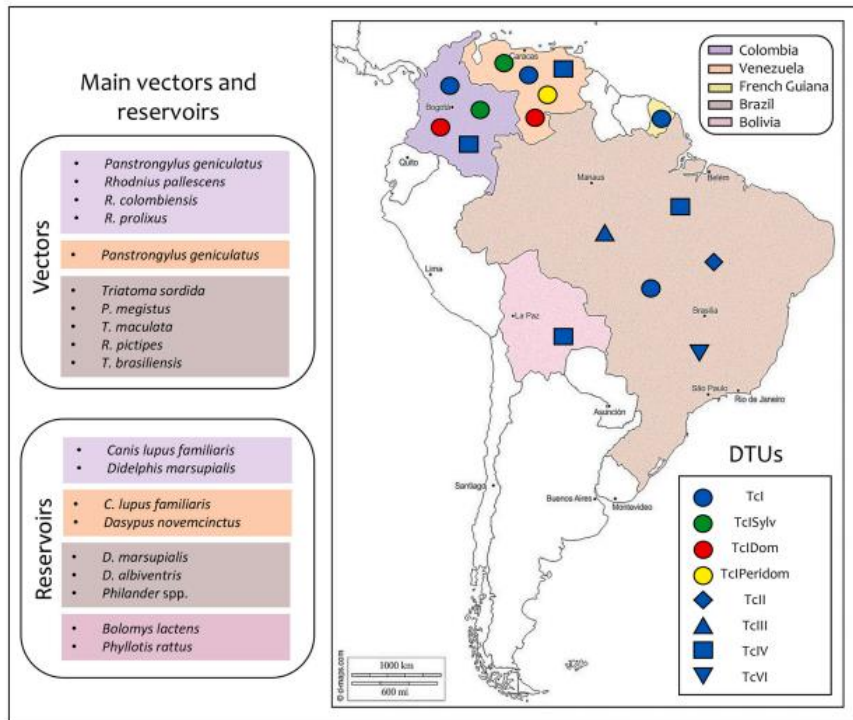


**Figura 2.** Mapa da incidência da Doença de Chagas no Brasil (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

A transmissão vetorial através do contato com fezes de triatomíneos infectados é a forma mais comum de transmissão do parasito *T. cruzi*, porém, há outras formas de transmissão que incluem:

- Transmissão por via oral: causa doença mais severa do que a transmitida por vetores. É a forma mais comum de transmissão de *T. cruzi* na Amazônia, e geralmente se dá pelo consumo de alimentos contaminados com fezes de triatomíneos infectados, tais como suco de cana de açúcar e de frutos de palmeiras (GUHL, 2009; LABELLO BARBOSA *et al.*, 2019), e/ou com as secreções das glândulas de cheiro e urina de animais reservatórios (COURA; JUNQUEIRA, 2015; BARROS *et al.*, 2020).

Infecções por essa via ocorrem no Brasil e em outros países da América do Sul que compõem a Amazônia como Colômbia, Venezuela, Bolívia, Equador e Guiana Francesa (Fig. 3) (VELÁSQUEZ-ORTIZ; RAMÍREZ, 2020), sendo a mais comum e eficaz forma de transmissão de *T. cruzi* entre mamíferos e triatomíneos silvestres, onde mamíferos reservatórios adquirem as formas infectantes do parasita pelo consumo destes insetos com os quais dividem o mesmo habitat (PÉREZ-LAZO; MAYOR; LESCANO, 2019).



**Figura 3.** Países da América do Sul com registros de Transmissão oral por diferentes subtipos de *T. cruzi*, reservatórios e vetores envolvidos. Adaptado de VELÁSQUEZ-ORTIZ & RAMÍREZ (2020).

- Transmissão congênita: transmissão passada de mãe para filho durante a gestação ou durante o parto. Essa forma de transmissão também é observada em pequenos roedores cricetídeos (MELLO; BORGES, 1981). Em relação a humanos, estima-se que nos países endêmicos para DC haja pelo menos 1,1 milhão de mulheres em idade fértil infectadas com *T. cruzi* e aproximadamente 9 mil crianças nascidas / ano de mães infectadas (BUSTOS *et al.*, 2019). Em países não endêmicos essa forma de transmissão é relatada em mulheres imigrantes (RIERA *et al.*, 2006).

- Transfusões sanguíneas e transplante de órgãos: o *T. cruzi* é capaz de permanecer vivo e infectivo nos componentes do sangue e órgãos de doadores, podendo sobreviver em temperaturas de até 4°C, e dessa forma, se mantém ainda infectivo para os receptores (GÓMEZ; GUTIERREZ; PEÑUELA, 2019).

- Transmissão sexual: é considerada uma via de transmissão importante em países não endêmicos para DC (Gomes *et al.* 2019). Ocorre em modelos murinos, portanto pode ser considerada uma via para a manutenção do parasito entre mamíferos silvestres (RIBEIRO *et al.*, 2016; RIOS *et al.*, 2018).

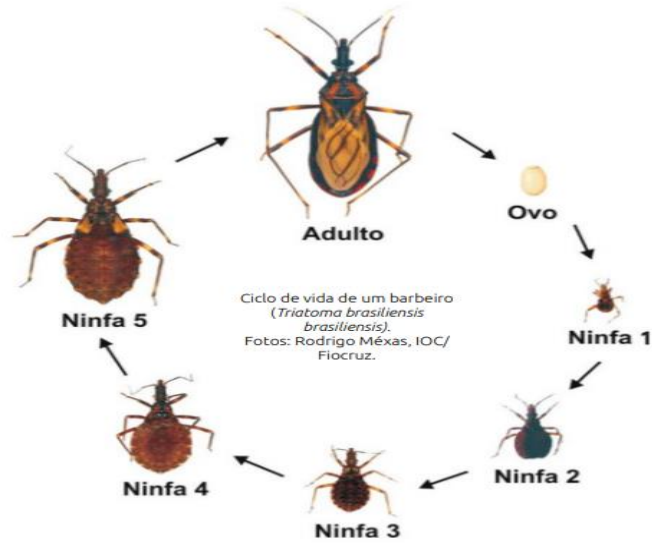
- Outras formas de transmissão menos frequentes são as ligadas a acidentes laboratoriais (GÓMEZ; GUTIERREZ; PEÑUELA, 2019).

## **2. Insetos vetores**

O *T. cruzi* é transmitido de forma vetorial por insetos da subfamília Triatominae, Tribos Triatomini e Rhodniini. São conhecidos popularmente como Barbeiros, Chupão, Chupança, Fincão, Bicudo, Percevejão, Bicho-de-parede, Bicho-de-parede preto, Chupapinto, Percevejo-do-sertão, Percevejo gaudério, Piolho-de-piaçava, Quiche do sertão, Rondão, Vunvun, Cascudo, dentre outros (GALVÃO; JUSTI, 2015).

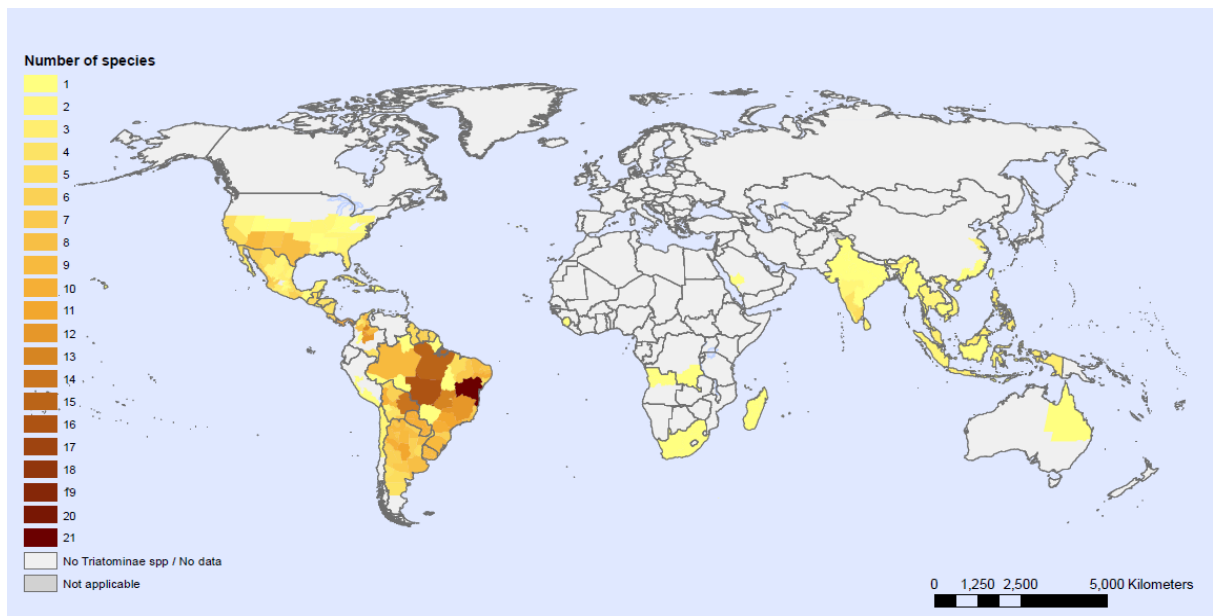
São insetos hemimetábolos, que durante seu desenvolvimento passam pelas fases de ovo, 5 instares ninfais e adulto (Fig. 4). Estes insetos apresentam hábitos de picada noturnos, e tanto os machos quanto as fêmeas são hematófagos, necessitando de pelo menos um repasto sanguíneo em sua vida para completar sua metamorfose e chegar à fase adulta (JURBERG *et al.*, 2014).

Esses insetos ocupam diversos habitats, principalmente associados a presença de animais que servirão como fonte de repasto sanguíneo, tais como galinheiros, currais, chiqueiros e paióis no peridomicílio; domicílios humanos, palmeiras, bromélias, ninhos de pássaros, embaixo de rochas, ocos de árvores, abrigos e tocas de animais e cavernas no ambiente silvestre (MEIS; CASTRO, 2017). Por exemplo, a espécie *Rhodnius prolixus* é encontrada em palmeiras *Elaeis guineensis* e *Attalea butyracea* na região amazônica, em ambientes peridomiciliares, onde os triatomíneos são atraídos pela luz elétrica, aumentando o risco de transmissão de *T. cruzi* aos humanos (ABAD-FRANCH *et al.*, 2013).



**Figura 4.** Ciclo de vida do vetor de *Trypanosoma cruzi*, insetos da subfamília Triatominae, conhecidos como barbeiros. Adaptado de MEIS *et al.* (2017).

São reconhecidas 150 espécies de triatomíneos no mundo, distribuídas em cinco tribos e 15 gêneros presentes principalmente nas Américas. Fora do continente americano ocorrem sete espécies: *Triatoma rubrofasciata*, de distribuição cosmopolita, e seis espécies do gênero *Linshcosteus*, distribuídas na Índia (MONTEIRO *et al.*, 2018) (Fig. 5).



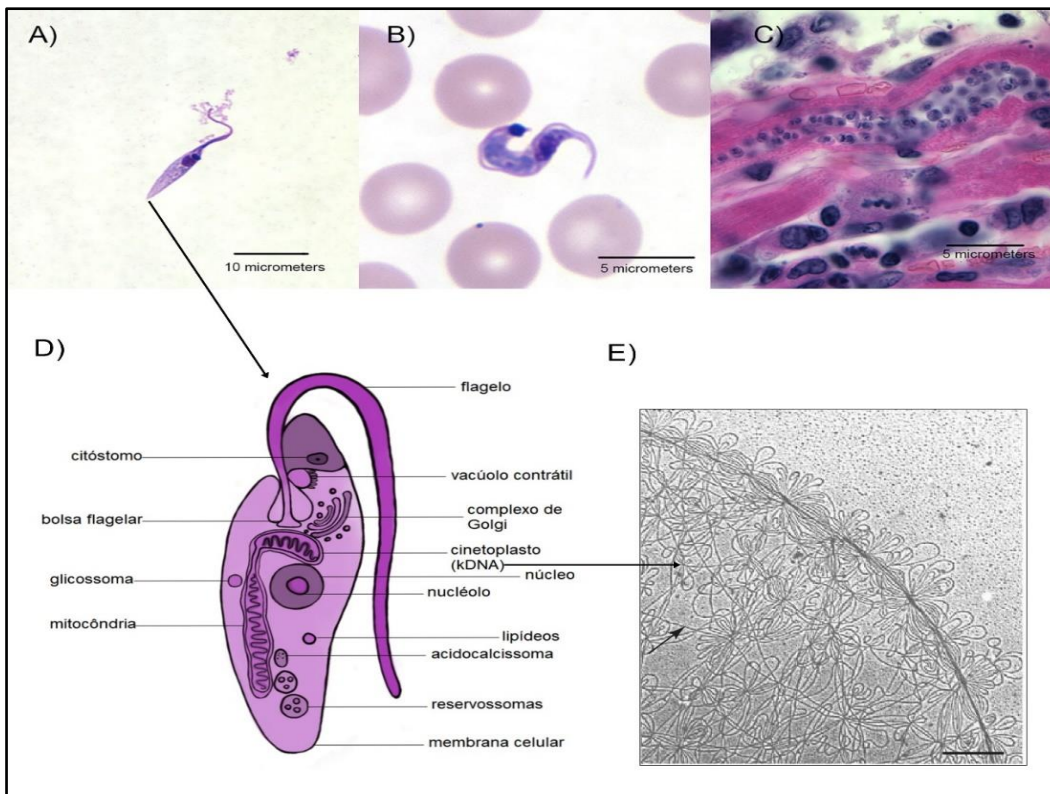
**Figura 5:** Distribuição mundial do número de espécies de Triatomíneos (WHO 2020).

No Brasil as principais espécies vetoras de *T. cruzi* são *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata*, *Panstrongylus megistus* e *Triatoma brasiliensis* (JURBERG *et al.*, 2014). Na Região Amazônica, das 27 espécies identificadas, pelo menos 24 têm sido encontradas infectadas com *T. cruzi*, principalmente dos gêneros *Belminus*, *Cavernicola*, *Eratyrus*, *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*, sendo *Rhodnius* o gênero que abriga a maior parte das espécies envolvidas na transmissão (COURA; MOREIRA DE CARVALHO; JUNQUEIRA, 2012; LAINSON *et al.*, 1979).

### **3. *Trypanosoma cruzi***

*T. cruzi* foi observado pela primeira vez por Carlos Chagas, em 1909, após examinar o intestino de um triatomíneo (*Panstrongylus megistus*). Ele enviou amostras destes insetos ao seu mentor, Oswaldo Cruz, para que entrassem em contato com saguis *Callithrix penicillata* em infecções experimentais, quando três semanas após a infecção, foram observadas formas tripomastigotas do parasita na corrente sanguínea desses animais, e a provável forma de contaminação foi através da ingestão dos insetos infectados, e posteriormente, o observou no sangue de um gato e de uma criança, e, em 1912, em um tatu e um triatomíneo (*Panstrongylus geniculatus*) que habitavam a mesma toca. O nome “cruzi” foi dado em homenagem à Oswaldo Cruz, mentor científico de Carlos Chagas (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2020).

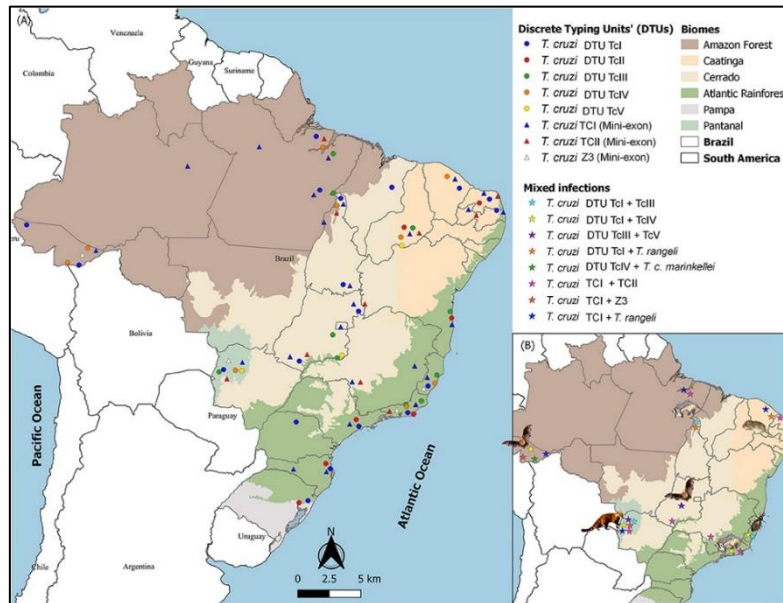
O *T. cruzi* é um protozoário flagelado (Fig. 6 A), classificado taxonomicamente dentro da classe Kinetoplastea, ordem Trypanosomatida, família Trypanosomatidae (KAUFER; STARK; ELLIS, 2020). Uma característica importante dessa classe de protozoários é a presença de uma organela mitocondrial denominada Cinetoplasto (Fig. 6 D e 6 E), a qual possui material genético próprio (kDNA), estruturalmente organizado em formatos circulares em redes, chamadas minicírculos e maxicírculo (LUKEŠ *et al.*, 2014). Os minicírculos contêm de 5000 a 20000 cópias que codificam RNA guias necessários para edição de RNA mitocondrial, e os maxicírculos possuem apenas algumas dezenas de cópias, que variam de acordo com cada espécie, e codificam proteínas respiratórias como ATPase e Citocromo oxidase (SHLOMAI, 2005).



**Figura 6.** Morfologia de *Trypanosoma cruzi*: A) forma Epimastigota em cultura, B) Tripomastigota infectiva, C) ninhos de Amastigotas em células do músculo cardíaco de paciente crônico de DC (BERN *et al.*, 2019). D) Representação da forma Epimastigota e sua ultraestrutura (arquivo pessoal), E) estrutura de um kDNA de um tripanossomatídeo formando redes (adaptado de LIU *et al.*, 2005).

Acredita-se que a origem desse protozoário se remonta à época de separação da América do Sul da Gondwana, há aproximadamente 40 milhões de anos, e que nessa época estava associado a marsupiais, e que a sua dispersão na natureza provavelmente tenha sido através de transmissão oral pela predação de insetos e animais infectados (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2020; SCHOFIELD, 2000).

O parasito é endêmico nas Américas, onde está amplamente distribuído, desde o sul dos Estados Unidos até a Patagônia (PRONOVOST *et al.*, 2020), apresenta diversidade no seu genoma, sendo dividido até agora em seis genótipos diferentes denominados Unidades de Tipificação Discretas (DTUs), nomeadas de TcI, TcII, TcII, TcIV, TcV e TcVI (Fig. 7). Todos os DTUs são infectivos para humanos, porém há diferenças quanto a distribuição geográfica, virulência e hospedeiros silvestres (ZINGALES *et al.*, 2012), e na Amazônia as linhagens mais circulantes são TcI, TcII, TcIII e TcIV (ZINGALES *et al.*, 2009).



**Figura 7.** Distribuição dos DTUs de *Trypanosoma cruzi* nos biomas brasileiros com infecção mista. Adaptado de Jansen *et al.* (2020).

O genótipo TcI é a subpopulação mais difundida na natureza, amplamente distribuída em toda área endêmica de *T. cruzi* na América Latina e frequentemente associado a gambás do gênero *Didelphis*. O TcII é a forma mais frequente encontrada em humanos e causa formas graves da doença, esse genótipo era constantemente detectado em pacientes de áreas antes endêmicas do Brasil Central, onde estava associado ao vetor *T. infestans* em ambientes domiciliares, embora também mantenha um ciclo bem estabelecido na natureza, mantido por primatas não humanos e várias outras espécies de mamíferos roedores, marsupiais, morcegos e carnívoros ao longo de toda América Latina (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2020).

O TcIII é uma linhagem ancestral que geralmente tem como reservatórios tatus, podendo ser associada a ciclos de transmissão terrestre. O TcIV está associado a primatas e triatomíneos selvagens (*Rhodnius* spp.) e também à via de transmissão oral na Amazônia juntamente com TcI (MARCILI *et al.*, 2009). Os genótipos TcV e TcVI são híbridos resultantes da fusão natural dos subtipos “TcII + TcIII”, presentes nos países do Cone Sul, não são relacionados primariamente a algum reservatório silvestre específico e causam formas gastrointestinais da DC (ABOLIS *et al.*, 2011; MONJE-RUMI *et al.*, 2020).

#### 4. Reservatórios

Animais reservatórios necessitam serem capazes de atuar na manutenção e dispersão do *T. cruzi* na natureza, o que vai depender de alguns fatores como o estado de saúde do hospedeiro, a via pela qual ocorre a transmissão, o subtipo do parasito, a co-infecção por outros parasitos, dentre outros. A transmissão do parasito para o inseto vetor irá depender dos níveis de parasitemia presentes no sangue dos animais vertebrados, nesse sentido, o hospedeiro necessita ser capaz de manter formas infectivas circulando em seu sangue periférico para que o vetor, ao realizar seu repasto sanguíneo, possa ingerir essas formas e assim se infectar. Altas parasitemias no sangue periférico aumentam as chances de um inseto vetor adquirir formas infectantes do parasita, e assim se infectar e transmitir o parasito adiante (NOIREAU; DIOSQUE; JANSEN, 2009).

Os mamíferos são considerados reservatórios importantes de *T. cruzi* (DE NOYA; GONZÁLEZ, 2015). Esses animais compõem um grupo extenso de organismos, no Brasil atualmente são reconhecidas 759 espécies pertencentes a 249 gêneros, 11 ordens e 51 famílias. Destas, as espécies de mamíferos das ordens Didelphimorphia, Rodentia, Chiroptera, Cingulata, Xenarthra, Artiodactyla, Pilosa, Lagomorpha e Primata participam na manutenção de ciclos silvestres e sinantrópicos do *T. cruzi* (COURA, 2015; JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018). As ordens Rodentia, Chiroptera, Primata e Didelphimorphia são as que possuem maior diversidade de espécies, com 263, 181, 126 e 66 espécies, respectivamente. Dessas espécies, 53% (399/759) ocorrem na região Amazônica (ABREU *et. al.*, 2020), onde 17 espécies de Didelphimorphia e 24 de Rodentia têm sido registradas infectadas com *T. cruzi* (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018).

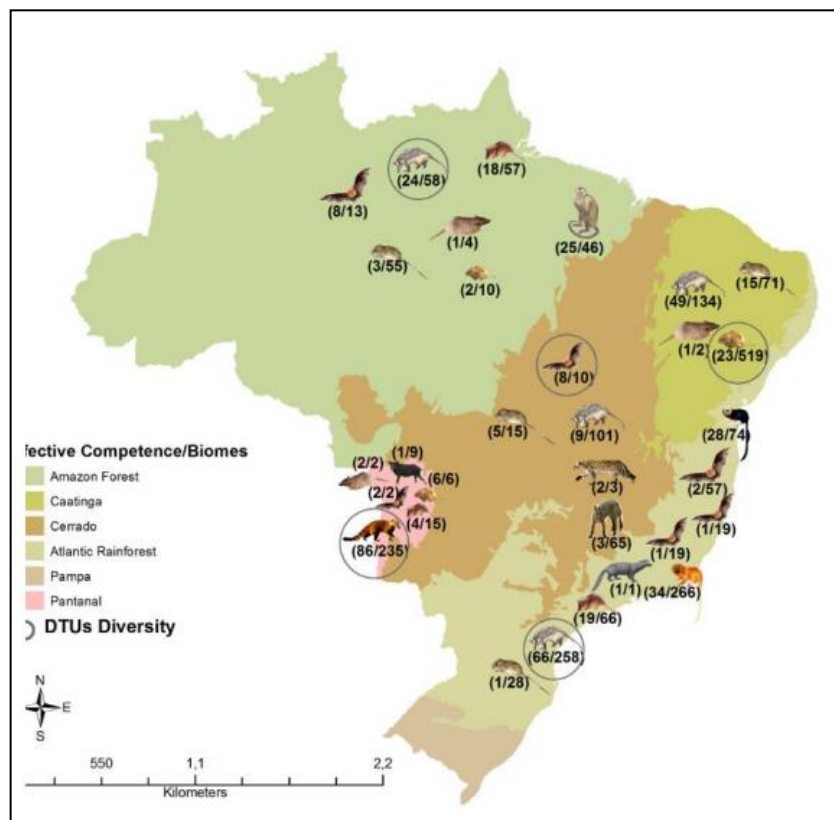
Jansen *et al.* (2018), apresentaram os dados de 20 anos de avaliação da infecção por *T. cruzi* em mamíferos coletados nos diferentes biomas do Brasil, e mostraram que: a maior proporção de mamíferos infectados foi observada no bioma amazônico, onde foram coletadas 31 espécies e 402 espécimes, dos quais 22% (90/402) foram positivos por hemocultura e 42% (168/398) por teste sorológico; o maior potencial de infectividade foi observado em Didelphimorphia e Primata; o menor potencial de infecção foi observado em Rodentia.

Em todo Brasil o ciclo biológico de *T. cruzi* é mantido por gambás (Didelphimorphia), tatus (Cingulata), tamanduás e bichos-preguiça (Pilosa), pequenos



roedores tais como *Thrichomys laurentius*, *Bolomys lasiurus*, *Calomys expulsus*, *C. callosus*, *Cavia* sp., grandes roedores como capivaras (Ferrer *et al.* 2021), também micos leões dourados (*Leontopithecus rosalia*) (LISBOA *et al.*, 2000), saguis (*C. penicillata*), quatis (*Nasua* sp.), morcegos (Chiroptera) dos gêneros *Carollia*, *Glossophaga*, *Artibeus* e *Molossus*, porcos e javalis (Artiodactyla) (JANSEN; ROQUE, 2010).

Na Amazônia, os principais mamíferos envolvidos na transmissão de *T. cruzi* são edentados (Ordem Pilosa - *Tamandua mirim*, Ordem Cingulata - *Euphractus sexcinctus*), marsupiais (Ordem Didelphimorphia - *Caluromys philander*, *Didelphis marsupialis*, *Gracilinanus* sp., *Marmosa cinérea*, *Marmosa murina*, *Metachirus* sp., *Micoureus demerarae*, *Monodelphis domestica*, *Philander opossum*, entre outros), pequenos roedores (Ordem Rodentia - *Coendou prehensilis*, *Hylaeamys megacephalus*, *Oryzomys* sp., *Proechimys roberti*), primatas não humanos (Ordem Primates - *Alouatta belzubul*, *Alouatta caraya*, *Sapajus libidinosus*), antas (Ordem Perissodactyla - *Tapirus terrestres*), javalis (Ordem Artiodactyla - *Sus scrofa*) e 38 espécies de Chiroptera (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018; JANSEN; XAVIER; ROQUE 2015) (Fig. 8).



**Figura 8.** Hospedeiros incriminados com competência infectiva para *Trypanosoma cruzi* determinada por hemocultura. Adaptado de JANSEN; XAVIER; ROQUE (2015).

Os pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia juntos formam o grupo mais diverso dentre os mamíferos neotropicais, estão distribuídos em todos os biomas brasileiros atuando como polinizadores e dispersores de sementes, além de possuírem importantes estratégias de sobrevivência e adaptação a mudanças ambientais (ROWE; TERRY, 2014) sendo, por isso, considerados importantes bioindicadores de grau de conservação do habitat.

Um aspecto importante relacionado com esse grupo de animais é que algumas espécies são generalistas, podendo se adaptar a ambientes silvestres e sinantópicos, como é o caso de ratos, camundongos e gambás, que frequentemente são associados a ambientes com alto grau de sinantropização, e por serem reservatórios de *T. cruzi*, oferecem alto risco para a transmissão do parasito (PANTI-MAY *et al.*, 2017).

## **1. Ordem Didelphimorphia**

A ordem Didelphimorphia Gill 1872 (Mammalia: Marsupialia) é formada apenas pela família Didelphidae Gray 1821 e inclui 92 espécies de 18 gêneros, em sua maioria restritas às Américas Central e do Sul, e uma espécie (*Didelphis virginiana*) distribuída na América do Norte (NILSSON *et al.*, 2010). No Brasil ocorrem 66 espécies de 15 gêneros, das quais 27 tem sido registradas para a Amazônia, o bioma com maior diversidade para essa ordem (BRANDÃO *et al.*, 2021). A maioria dos animais dessa ordem apresenta hábitos preferencialmente arborícolas ou escansoriais, podendo ser encontrados habitando árvores desde o sub-bosque até o dossel, embora ainda haja espécies que sejam estritamente terrestres, como as do gênero *Monodelphis*, *Metachirus* e *Thylamys* ou mesmo semi-aquáticas como *Chironectes minimus* (MELO; SPONCHIADO, 2012).

Animais dessa ordem são considerados uns dos seus mais antigos hospedeiros de *T. cruzi*, juntamente com a ordem Xenarthra (YEO *et al.*, 2005). Esses marsupiais possivelmente ingeriram formas primitivas de um parasita monofilético que migrou para

suas glândulas de cheiro, passando a ser transmitido entre esses animais por secreções da glândula ou urina (SCHOFIELD, 2000). São animais capazes de manter formas replicativas extracelulares em seu par de glândulas anais, fato que aumenta as chances de transmissão do parasito (DEANE; LENZI; JANSEN, 1984). No lúmen das glândulas anais ocorre a diferenciação e multiplicação de formas epimastigotas e tripomastigotas infectivas, que serão excretadas e transmissão a novos hospedeiros através das excreções glandulares e da urina (FERNANDES *et al.*, 1989; STEINDEL *et al.*, 1988).

Marsupiais do gênero *Didelphis* são reconhecidos como reservatórios sinantrópicos de *T. cruzi* no Brasil e em outros lugares da América Latina e do Norte (DROZINO *et al.*, 2019; RUIZ-PIÑA; CRUZ-REYES, 2002) onde mediam ciclos de transmissão peridomésticos e silvestres (CANTILLO-BARRAZA *et al.*, 2015). O gênero *Didelphis* foi descrito como reservatório principal em ambientes urbanos e periurbanos de áreas endêmicas para Doença de Chagas, onde animais domésticos como cachorros e gatos atuavam como reservatórios sentinelas (DE SOUSA PEREIRA *et al.*, 2021). *Didelphis albiventris*, *Didelphis marsupialis* e *Didelphis aurita* são importantes reservatórios sinantópicos de *T. cruzi* em várias regiões do país, desde áreas abertas como Cerrado e Caatinga, até florestas como Amazônia e Mata Atlântica, outras espécies menos generalistas, como as do gênero *Monodelphis*, *Marmosa*, *Philander*, etc. atuam na transmissão silvestre de *T. cruzi* de várias formas em todos os biomas brasileiros, seja predando insetos que compõem sua dieta ou sendo predados por outros mamíferos maiores (JANSEN; ROQUE; XAVIER, 2017; ROCHA *et al.*, 2013).

Marsupiais capturados em diferentes biomas brasileiros foram encontrados infectados por subpopulações de *T. cruzi*, e em alguns casos incluíam coinfeções por outras espécies de *Trypanosoma* (RODRIGUES *et al.*, 2019). As espécies *Philander frenata* e *D. marsupialis* foram apontadas como principais reservatórios de *T. cruzi* no bioma da Mata Atlântica (PINHO *et al.*, 2000), e as espécies *Monodelphis domestica*, *Didelphis albiventris*, *Gralicinus agilis* e *Micoureus paraguayanus* foram relatadas infectadas com *T. cruzi* e outras espécies de *Trypanosoma* (p. ex. *Trypanosoma Gennarii* e *Trypanosoma janseni*) nas regiões da Mata Atlântica e Cerrado (FERREIRA *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2018).

Na Amazônia a espécie hospedeira *D. marsupialis* é frequentemente encontrada infectada por *T. cruzi* nessa região, onde chega a alcançar taxa de infecção de 61,1% em

áreas urbanas e rurais do Amazonas, junto com *P. opossum* que atua como reservatório em ambientes rurais, registrado com taxas de 40% de infecção (MAGALHÃES *et al.*, 2021). Outras espécies também encontradas infectadas são: *Metachirus* sp. e *Marmosa cinérea* (LAINSON *et al.*, 1979).

## 2. Ordem Rodentia

A ordem Rodentia é composta por pequenos e grandes mamíferos que representam 43% de todas as espécies de mamíferos do mundo, sendo considerada a ordem mais abundante e diversa. Os roedores possuem um par de dentes incisivos inferiores e superiores com crescimento contínuo, o que lhes dá a habilidade de roer (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). No Brasil há aproximadamente 74 gêneros e 236 espécies de roedores, podendo possuir hábitos arborícolas, terrestres, fossoriais e aquáticos, e hábito alimentar onívoro (ABREU *et al.*, 2021).

Roedores são conhecidos reservatórios de *T. cruzi* e diversos outros tripanossomatídeos ao redor do mundo (NAIFF; BARRETT, 2013; PUMHOM *et al.*, 2015; TATARD *et al.*, 2017). Uma ampla variedade de espécies de roedores tem sido encontrada infectadas com *T. cruzi* ao longo da América Latina, como *Galea spixii*, *M. musculus*, *Phyllotis darwinie*, *Octodon degus* e *Rattus rattus* (DA COSTA *et al.*, 2018; YEFI-QUINTEROS *et al.*, 2018) e América do Norte (GHERSI *et al.*, 2020), onde as espécies de roedores sinantrópicos *M. musculus*, *Peromyscus gossypinus* e *Neotoma floridana* foram descritos infectados com *T. cruzi* (PRONOVOST *et al.*, 2020).

Em trabalhos na Amazônia peruana, a ordem Rodentia apresentou maior prevalência de infecção 58,6% para *T. cruzi* entre os mamíferos das ordens Carnívora, Edentada e Rodentia capturados, sendo a espécie *Cuniculus paca* a que teve maior prevalência de do parasito (MORALES *et al.*, 2017).

(OROZCO *et al.*, 2016) mostraram roedores como reservatórios fundamentais de *T. cruzi* em áreas protegidas, em estudos analisando a infecção por *T. cruzi* em áreas perturbadas e protegidas (com muita ou pouca/nenhuma interferência antrópica), a prevalência de *T. cruzi* foi maior em animais capturados em áreas perturbadas, e em áreas

endêmicas para DC no Chile a espécie *Abrothrix olivácea* apresentou taxa de 6.06% de infecção natural por TcVI e TcII (CAMPOS-SOTO *et al.*, 2020).

Diversas espécies de roedores são descritas infectadas por *T. cruzi* no Brasil, RADEMAKER *et al.*, (2009) mencionaram infecções em pequenos roedores *Clyomys laticeps*, *Thrichomys pachyurus* e *Oecomys mamorae* (Famílias Echimydae e Cricetidae) no bioma do Pantanal. A espécie *R. rattus* tem sido encontrada com altas taxas de infecção por *T. cruzi* em áreas periurbanas do nordeste brasileiro (LIMA *et al.*, 2012) e em áreas suburbanas na região amazônica (LAINSON *et al.*, 1979). Um total de 24 espécies da ordem Rodentia foram registradas como reservatórios de *T. cruzi* no bioma amazônico (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018), dentre elas *M. musculus*, *R. rattus*, *Proechimys* sp., *Oxymycterus* spp. *Oryzomys* spp. *Oligoryzomys* spp. *Oecomys* spp. *Nectomys* spp.

## 5. Ciclo de transmissão do *Trypanosoma cruzi*

A doença de Chagas é caracterizada fundamentalmente como uma enzootia, cuja transmissão é mantida por animais silvestres (mamíferos, principalmente marsupiais), e insetos vetores (triatomíneos). O homem se infecta de forma acidental, quando entra em ecótopos silvestres ou quando mamíferos silvestres e os insetos vetores invadem as moradias humanas (antropozoonoses) (COURA; JUNQUEIRA, 2015; JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2020).

O ciclo silvestre é mantido há milhões de anos entre mamíferos e triatomíneos silvestres, pelo compartilhamento de refúgios como tocas, ocos de árvores, folhagens e ninhos. O ciclo doméstico/peridoméstico se iniciou com a expansão da agricultura, a qual causou o deslocamento/diminuição dos animais silvestres que serviam como fonte de repasto sanguíneo para os triatomíneos, tendo que se adaptar ao sangue de animais domésticos (galinhas, porcos, etc.) e, gradativamente, passar a invadir ambientes domiciliares (COURA *et al.*, 1994).

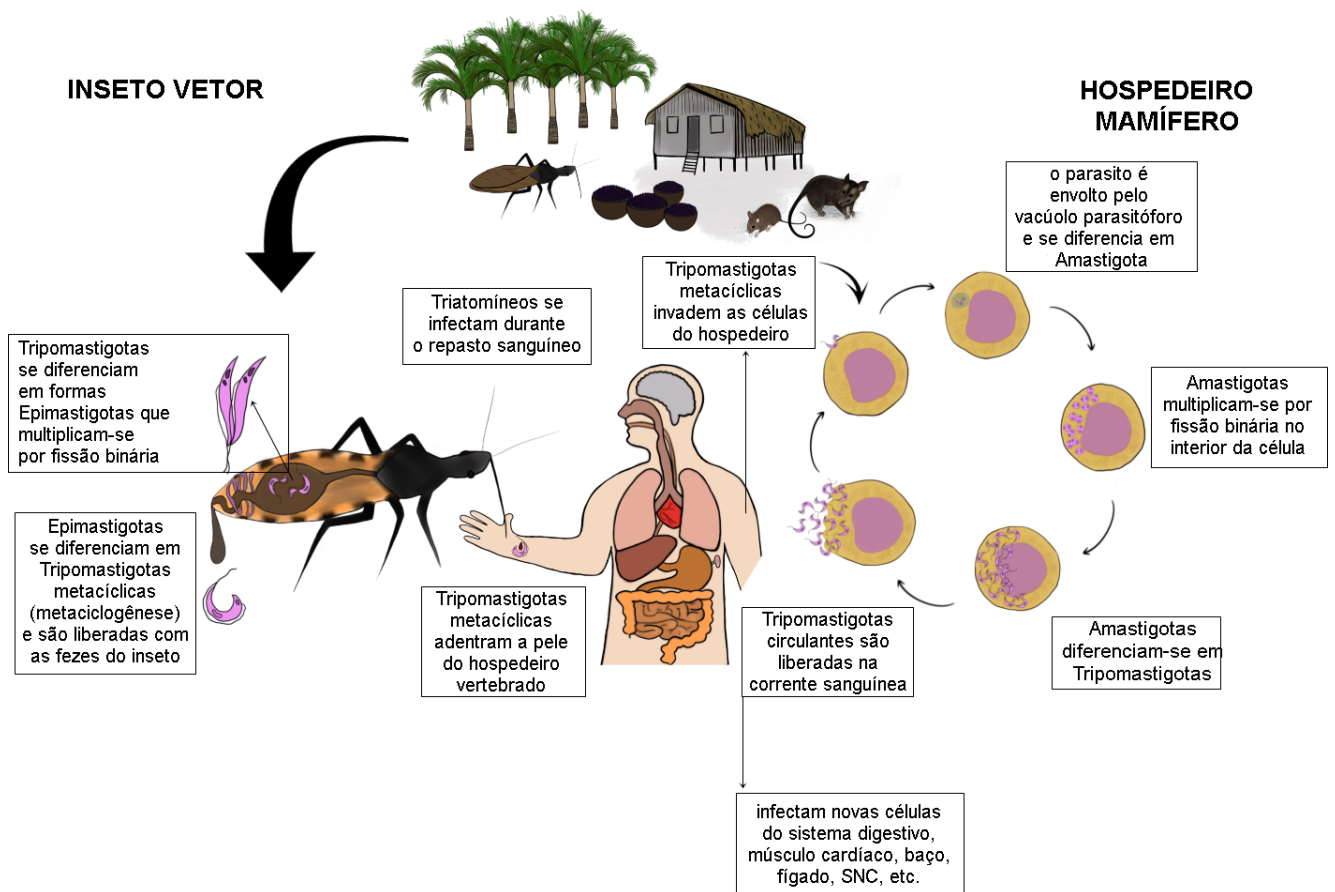
Tradicionalmente, a transmissão do *T. cruzi* se inicia quando um triatomíneo infectado, ao realizar seu repasto sanguíneo em um hospedeiro mamífero, excreta fezes contendo as formas tripomastigota metacíclica. O vertebrado, ao coçar a área da picada

do triatomíneo arrasta os parasitos para a lesão causada pela proboscide durante o repasto, e, dessa forma, se infecta com o parasito (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

Formas infectivas tripomastigotas metacíclicas infectam diferentes células do hospedeiro, dentre elas macrófagos e preferencialmente células perivasculares, e transformam-se em amastigotas esféricas não flageladas, as quais se multiplicam por divisão binária, se transformam em tripomastigotas flageladas que são liberadas na circulação, realizando tropismo para tecidos como cérebro, baço, coração, pele, músculo esquelético, fígado e músculos do sistema digestivo (AÑEZ; CRISANTE, 2021).

Os triatomíneos durante o repasto sanguíneo adquirem os tripomastigotas que circulam no sangue do vertebrado. Dentro do intestino médio do inseto os parasitos se transformam em epimastigotas flageladas, sofrem replicação por divisão binária e migram para o intestino posterior onde se transformam em tripomastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes para o vertebrado, sendo excretadas nas fezes durante o próximo repasto sanguíneo (CARREA; DIAMBRA, 2016) (Fig. 9).

### CICLO BIOLÓGICO DO *Trypanosoma cruzi* na AMAZÔNIA



**Figura 9.** Representação do ciclo de transmissão do *Trypanosoma cruzi* na Amazônia. Parte superior: o inseto vetor Triatomíneo, vias de contaminação oral (frutos de palmeiras contaminados), presença de animais reservatórios nas proximidades de moradias humanas. Parte inferior: transmissão entre inseto vetor e hospedeiro humano (arquivo pessoal).

Outras formas do parasita podem ser encontradas no tubo digestivo do inseto, como formas extracelulares esferomastigotas, que apenas emergem em condições de estresse e baixa população do parasito, morfologicamente parecidos com amastigotas, porém com um flagelo (ALTCHEH; FREILIJ, 2019), e formas epimastigotas infectivas de transição (DE SOUZA; BARRIAS, 2020).

## **6. Ações antrópicas na Amazônia e seu impacto sobre as doenças transmitidas por vetores**

A Bacia Amazônica que se estende amplamente por cerca de 7.275.300 km<sup>2</sup> ao longo de nove países (Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela), ocupando no Brasil uma extensão de 4.871.500 km<sup>2</sup>, correspondente a 44% do território continental da América do Sul e 57,23% do território nacional, somado ao vasto território, essa região é detentora da maior biodiversidade do mundo (ANTONELLI *et al.*, 2018), contendo mais de um terço de todas as espécies conhecidas (HECKENBERGER *et al.*, 2007).

Contudo, os processos de antropização que ocorrem na região, tais como desmatamento, expansão de processos de urbanização em áreas de floresta, exploração do solo para garimpo e agropecuária, construção de estradas, construção de hidrelétricas, queimadas, etc. (FAHRIG *et al.*, 2019; MAGIOLI *et al.*, 2016), causam fragmentação da floresta, mudanças na paisagem, mudanças no uso da terra, e, conseqüentemente, mudanças no clima, nos ecossistemas e na biodiversidade e essas mudanças podem ocasionar alterações nos ciclos de vida de agentes infecciosos e no risco de transmissão de doenças a humanos, sendo as doenças transmitidas por insetos as mais sensíveis a essas alterações (AGUIRRE, 2017; PATZ *et al.*, 2000; PATZ; HAHN, 2012).

A transmissão de patógenos por insetos vetores é um processo complexo que envolve aspectos sociais, econômicos, ecológicos e epidemiológicos, cujo risco de transmissão é influenciado por fatores como cobertura vegetal, uso da terra, biologia e diversidade dos insetos, além da epidemiologia da doença e o comportamento humano. Doenças transmitidas por mosquitos (Diptera: Culicidae) como malária, febre amarela e dengue, por exemplo, apresentam períodos de transmissão diretamente relacionados com o regime de chuvas e a temperatura, uma vez que esses fatores influenciam as populações de vetores (GITHEKO *et al.*, 2000).

BAUCH *et al.*, (2015) encontraram que na região amazônica, a incidência de doenças como malária, infecção respiratória aguda e diarreia têm uma correlação negativa e significativa com áreas de proteção ambiental e podem ter sua incidência reduzida com a restrição de atividades de abertura de estrada e mineração.

Na década de 1970, o aumento do número de casos e dispersão da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) foi favorecido pelo desmatamento e a invasão de áreas de floresta na periferia da cidade de Manaus para a construção de bairros novos, tais como São José Operário e Cidade Nova (DE GUERRA *et al.*, 2015), neste último, a preguiça *Choloepus didactylus* e o marsupial *D. marsupialis* foram incriminados como os principais reservatórios de *Leishmania guyanensis*, e o vetor *Lutzomyia umbratilis*, o principal vetor de LTA (BARRETT; SENRA, 1989).

A temperatura e a umidade do ar são fatores determinantes para a sobrevivência, alimentação, crescimento e reprodução de triatomíneos e o aumento da temperatura é um fator que modula a fisiologia e desenvolvimento desses insetos, como mostrado no vetor *Rhodnius prolixus*, que teve o tempo de duração da sua metamorfose reduzido, desde a eclosão dos ovos até a fase adulta, em temperaturas de 30°C, o que favorece o aumento do número de insetos, além de aumentar no número de formas infectivas de *T. cruzi* na sua ampola retal e diminuição do tempo de metaciclologênese do parasita (ASIN; CATALÁ, 1995; TAMAYO *et al.*, 2018).

Ações antrópicas, tais como o desmatamento e fragmentação do habitat podem afetar o ciclo de transmissão de doenças de origem vetorial, por causar perda ou aumento na densidade populacional de algumas espécies, deslocamentos de espécies de



hospedeiros vertebrados e insetos vetores e mudanças nos riscos de transmissão das mesmas (GOTTDENKER *et al.*, 2012).

Na Região Amazônica, o número de casos agudos de DC têm se espalhado e aumentado, devido principalmente, ao desmatamento extensivo que causa o deslocamento de reservatórios vertebrados, adaptação de triatomíneos a ambientes domiciliares, além da migração de humanos e animais domésticos de áreas endêmicas para áreas não endêmicas (COURA; MOREIRA DE CARVALHO; JUNQUEIRA, 2012).

Trabalhos realizados em área de assentamento rural na Amazônia Central, tem mostrado o aumento da diversidade e abundância de espécies de mosquitos e flebotomíneos vetores em áreas peridomiciliares semelhantes às observadas em áreas de floresta contínua, indicando aumento do risco de transmissão de arbovírus e leishmanias nessas áreas (ALMEIDA *et al.*, 2020; PEREIRA-SILVA *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2014).

Pequenos mamíferos são importantes na manutenção da infecção por *T. cruzi* na natureza, entretanto, pouco se sabe sobre os reservatórios de *T. cruzi* na Região Amazônica e o risco que os mesmos podem oferecer para a transmissão da doença. Trabalhos sobre diversidade de pequenos mamíferos e sua relação com a manutenção de *Leishmania* spp. foram realizados em diferentes ambientes de Rio Pardo (ACHILLES, 2018). Neste trabalho, propomos avaliar a infecção por *T. cruzi* em pequenos mamíferos capturados em áreas silvestres e de peridomicílio na Amazônia Central.

## **2. OBJETIVOS**

### **1. Objetivo Geral**

Avaliar a prevalência de *T. cruzi* em pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia capturados em diferentes paisagens de um assentamento rural na Amazônia Central.

### **2. Objetivos específicos**

Avaliar a infecção por *T. cruzi* em amostras teciduais de pequenos mamíferos não voadores coletados no Assentamento Rural de Rio Pardo.

Avaliar a distribuição espacial de pequenos mamíferos infectados por *T. cruzi* no Assentamento Rural de Rio Pardo.

## **3. METODOLOGIA**

## **1. Aspectos éticos**

Este projeto possui autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO: N°54970-1) e do Comitê de ética no uso de animais (CEUA/ Universidade do Oeste do Pará - UFOPA N° 0120180002)

## **2. Área de Estudo**

As coletas dos animais foram realizadas no Assentamento Rural de Rio Pardo (ARRP) (S01°49'02.4" W060°19'03.6"), localizado a 65 km ao norte do município de Presidente Figueiredo, a 155 km de Manaus, Amazonas, com acesso pela rodovia BR-174.

O assentamento foi criado em 1996 pelo Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA) e conta com uma área de 27.980 hectares, caracterizado por áreas de Floresta Tropical densa; clima tropical chuvoso, úmido e quente (clima equatorial), com período chuvoso de dezembro a maio e período seco de junho a novembro; com variação de temperatura de 20°C a 38°C.

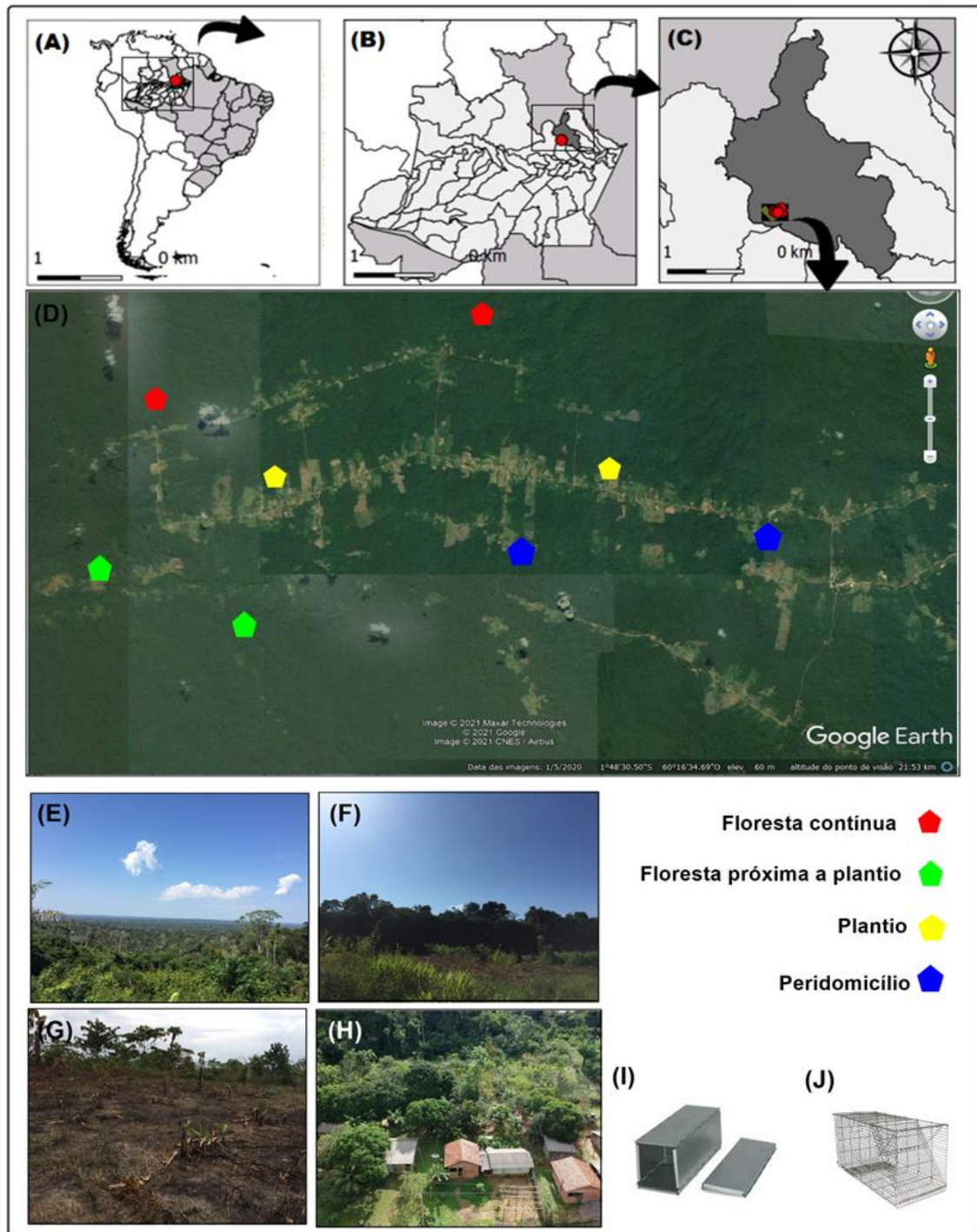
De acordo com o último censo realizado em 2015 pelo Instituto Leônidas e Maria Deane, no ARRP moram aproximadamente 584 pessoas, cujas principais atividades econômicas são a agricultura familiar caracterizada pelo cultivo de cupuaçu, coco, melancia, banana, macaxeira, pimentão, abóbora, pepino, quiabo etc.; e pesca, caça e criação de gado em pequena escala.

O extrativismo na região do ARRP caracteriza-se principalmente pela coleta de castanha, tucumã, dentre outras frutas nativas e pela extração de madeira nobre. O desmatamento para plantio e abertura de novos ramais tem sido a principal causa de desmatamento no ARRP ocasionando mudanças na paisagem (VILELA, 2003).

Até o momento têm sido abertos seis ramais: Ramal Principal, Maria Gusmão, Samuel, Terra Preta, Novo Paraíso e Taxista, onde existem pequenas vilas e pequenas fazendas. Atualmente está em processo de abertura de um novo ramal.

### **3. Coleta de animais**

Para a captura dos animais foi utilizada a metodologia de ACHILLES (2018) brevemente descrita: foram construídos 16 transectos, de aproximadamente 500 metros de comprimento cada um, localizados em quatro tipos de paisagens diferentes, sendo 4 transectos em paisagem de peridomicílio (composto por pequenas vilas em uma área com um alto grau de antropização), 4 em plantio (áreas com plantações pequenas para subsistência familiar ou comercialização em pequena escala), 4 em floresta próxima a plantio (áreas que foram usadas para agricultura mas que estavam em processo de recuperação) e 4 em floresta contínua (áreas de floresta primária conservada, que não sofreram efeito antrópico) (Fig. 10).



**Figura 10.** Mapa de coleta dos pequenos mamíferos não voadores das ordens Rodentia e Didelphimorphia em Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (A) América do Sul; (B) Amazonas; (C) Presidente Figueiredo; (D) Área de estudo e pontos de coleta; (E) Ambiente de Floresta contínua; (F) Ambiente de Floresta próxima a plantio; (G) Ambiente de Plantio; (H) Ambiente de Peridomicílio; (I) Armadilha Sherman; (J) Armadilha Tomahawk. (arquivo EDTA).

Em cada transecto foram selecionados 13 pontos para instalação de armadilhas, distantes aproximadamente 30 metros entre elas. Em cada ponto foram instaladas duas armadilhas, sendo uma do tipo Sherman e outra Tomahawk, instaladas de forma intercalada no chão e a uma altura de 1,5m do solo, totalizando assim 416 armadilhas, 208 de cada tipo e 104 em cada tipo de paisagem. Para atrair os animais, em cada armadilha foram colocadas iscas de banana, pasta de amendoim torrada e pedaços de algodão umedecidos com óleo de fígado de bacalhau.

Além das armadilhas tipo Sherman e Tomahawk, na metade de 8 dos transectos localizados em áreas de floresta foram instaladas 8 armadilhas Pitfall com cercas guia, estruturadas com linha de 50 m de extensão, e a cada 10m foi instalado um balde de 50 ou 100 litros de capacidade, totalizando 40 baldes.

Todos os pontos de coleta foram georreferenciados utilizando o GPS (*Global Positioning System*).

Ao todo foram realizadas cinco coletas de campo (agosto, setembro e novembro de 2016 e maio e setembro de 2017), em cada uma delas todos os pontos de coleta foram visitados.

Os animais capturados foram identificados por caracteres morfológicos a nível de espécie ou gênero. Cada animal foi avaliado pelo seu peso, medidas e pela presença de lesões na pele, cauda e orelhas, despigmentação e alopecia. De cada pequeno mamífero foi coletado sangue e, posteriormente, foi aplicada eutanásia para dissecação do seu fígado e baço e armazenados em álcool absoluto a 4°C. Para este projeto foi utilizado o fígado dos animais.

Todos os animais coleados foram depositados na Coleção de mamíferos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

#### **4. Distribuição espacial dos pequenos mamíferos**

Todos os pontos de coleta dos pequenos mamíferos foram georreferenciados e os dados foram plotados em um mapa temático para visualizar a distribuição espacial dos animais com base nas coordenadas geográficas utilizando a projeção EPSG: 4326 Datum WGS 84.

## 5. Extração de DNA

O DNA total do fígado foi extraído utilizando o método do Chelex® 100 Resin – BioRad, uma resina quelante bastante utilizada para extração e purificação de DNA.

Para o procedimento foi retirada uma pequena porção de mais ou menos 4mm<sup>2</sup> de tecido, e colocada em microtubo individual contendo 100 µL da solução de Chelex 5%.

As amostras foram maceradas e incubadas a 56°C por 1 hora e depois a 94°C por 30 minutos. Após a incubação, todas as amostras foram centrifugadas a 13000rpm por 6 minutos, tendo o sobrenadante sido transferido para um novo tubo, o DNA foi quantificado utilizando espectrofotômetro Biodrop (Biochrom) e armazenado a -20°C.

## 6. Reação em cadeia de Polimerase (*Polymerase chains reaction*) - PCR

Para detecção de *Trypanosoma cruzi* foi realizada a técnica de Reação em Cadeia de Polimerase, PCR, utilizando o kit GoTaq® G2 DNA Polymerase (Promega), seguindo as instruções do fabricante. O volume final da reação foi de 25µl, sendo utilizado 1µl do DNA extraído de cada amostra de fígado.

A PCR foi realizada utilizando os iniciadores TcS35 (Fw5' AAATAATGTACGGGGGAGATGCAT GA3') e TcS36 (Rev5'- GGG TTC GAT TGG GGT TGG TGT -3') que amplificam uma região do minicírculo do kDNA de *T. cruzi*. As condições da PCR foram: 1 ciclo (95°C x 5 minutos) / 30 ciclos (95°C x 1 minuto - 60°C x 1 minuto - 72°C x 1 minuto) / 1 ciclo (72°C x 5 minutos) (HERRERA *et al.*, 2015).

Para o controle positivo foi utilizado DNA de *T. cruzi*, cepa “Berenice”, cedido pelo Instituto René Rachou – Fiocruz MG.

## **7. Análise de dados**

Os dados sobre coleta e identificação dos pequenos mamíferos (local de coleta, coordenadas geográficas, infecção por *T. cruzi*) foram organizados numa base de dados usando o programa Microsoft Excel versão 1.5.

Para calcular a taxa de infecção por *T. cruzi* entre os pequenos mamíferos foi utilizada a fórmula:

$$\text{Taxa de infecção (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de amostras positivas}}{\text{Total de amostras processadas}} \times 100$$

Para avaliar a diversidade de espécies de pequenos mamíferos foram calculados o índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), que considera o número e equitabilidade de espécies, e o índice de Rényi, que agrega os índices de Shannon-Wiener ( $H'$ ) e índice de Simpson ( $D$ ).

Para avaliar a uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies foi calculado o índice de equitabilidade de Pielou ( $J'$ ).

Para avaliar a riqueza de espécies de mamíferos em cada ambiente foi utilizada a soma do número de espécies coletadas. A abundância foi considerada como o número total de espécimes coletados em cada ambiente. A similaridade da diversidade de espécies nos ambientes estudados foi avaliada utilizando análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS; do inglês Non Metric MultiDimensional Scaling).

Para avaliar a diversidade de espécies de pequenos mamíferos em função da frequência de indivíduos coletados foram realizadas curvas de rarefação.

Para avaliar a fidelidade e especificidade das espécies aos ambientes estudados foi utilizado o Valor de Indicação de Espécies (IndVal).

Para as análises foram utilizados os softwares Microsoft Excel® 2016, RStudio®, DiVES 3.0 e PAST 3.0.



## 4. RESULTADOS

### 1. Pequenos mamíferos coletados

Este trabalho faz parte de um projeto maior realizado no Assentamento Rural de Rio Pardo, que visa estudar o efeito dos processos de antropização na dinâmica de transmissão de doenças infecciosas. No âmbito deste macroprojeto, foi desenvolvida a dissertação de Achilles (2018) que avaliou a presença de *Leishmania* spp. no fígado de 135 pequenos mamíferos coletados no ARRP.

Neste trabalho foi avaliada a infecção por *T. cruzi* em pequenos mamíferos coletados em diferentes paisagens no ARRP. Devido à disponibilidade de tecido desses mamíferos, para a presente dissertação foram utilizadas amostras de fígado de 130 dos 135 animais coletados, deste número, haviam mamíferos das ordens Rodentia (n=80) e Didelphimorphia (n=50), distribuídos em 13 gêneros e 17 espécies (Tabela 1), além de ter sido realizadas novas análises ecológicas foram realizadas.

**Tabela 1.** Espécies de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no Assentamento Rural de Rio Pardo entre Agosto/ 2016 e Setembro/ 2017, utilizando armadilhas tipo Sherman, Tomahawk e Pitfall com cercas-guia.

Ordem	Espécie	Ambiente				Total
		Peridomicílio	Plantio	Floresta pró: plantio	Floresta contínua	
Didelphimorphia	<i>Caluromys philander</i>	0	0	1	0	1
	<i>Didelphis marsupialis</i>	3	3	2	5	13
	<i>Marmosops</i> sp.	0	0	2	2	4
	<i>Marmosops parvidens</i>	0	0	1	1	2
	<i>Marmosops pinheiroi</i>	0	0	3	0	3
	<i>Metachirus nudicaudatus</i>	0	0	2	1	3
	<i>Micoureus demerarae</i>	0	1	5	4	10
	<i>Monodelphis</i> sp.	0	0	1	0	1
	<i>Monodelphis brevicaudata</i>	0	1	3	2	6
	<i>Philander opossum</i>	0	1	6	0	7
Rodentia	<i>Hylaeamys</i> sp.	2	1	4	6	13
	<i>Isothrix pagurus</i>	0	0	1	0	1
	<i>Neacomys</i> sp.	0	0	28	7	35
	<i>Oecomys bicolor</i>	0	0	0	1	1
	<i>Oecomys</i> sp.	0	0	4	3	7
	<i>Proechimys</i> sp.	0	3	3	5	11
	<i>Rattus rattus</i>	12	0	0	0	12
	TOTAL	17	10	66	37	130
Riqueza	3	6	15	11		
Abundância	17	10	66	37		
H'	0,8037	1,643	2,144	2,203		
J	0,7316	0,9172	0,7734	0,9189		

H' = Diversidade de Shannon-Wiener, J = Equabilidade de Pielou

No total foram coletadas 17 espécies de pequenos mamíferos. Dentro da ordem Didelphimorphia foram coletadas 10 espécies, sendo as mais abundantes *Didelphis marsupialis* (26%), *Micoureus demerarae* (20%), *Philander opossum* (14%) e *Monodelphis brevicaudata* (12%). As espécies menos frequentes foram *Marmosops* sp. (8%), *Marmosops pinheiroi* e *Metachirus nudicaudatus* (6% cada uma), *Marmosops parvidens* (4%), *Monodelphis* sp. e *Caluromys philander* (2% cada uma).

A espécie *D. marsupialis* foi encontrada em todos os ambientes, e a única coletada no Peridomicílio. As espécies *M. brevicaudata* e *M. demerarae* foram coletadas em todos os ambientes exceto peridomicílio. *M. nudicaudatus*, *M. parvidens*, *Marmosops* sp. foram coletados somente em ambientes de Floresta próxima a Plantio e Floresta Contínua. *Monodelphis* sp., *M. pinheiroi* e *C. philander* foram encontradas exclusivamente em ambientes de Floresta próxima a Plantio, e *P. opossum* foi encontrada em Plantio (14,28%) e Floresta Próxima a Plantio (85,71%).

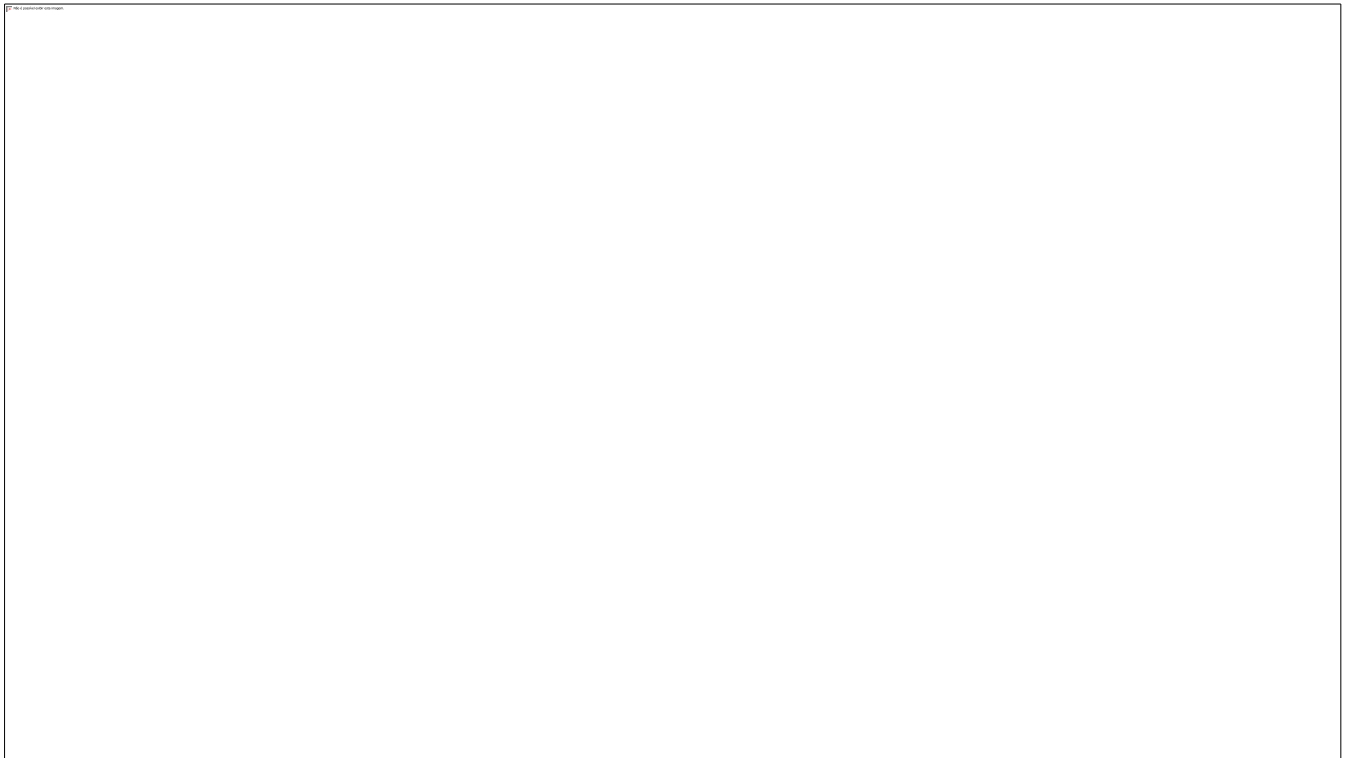
Dentro da ordem Rodentia foram coletadas sete espécies, sendo a mais abundante *Neacomys* sp. (43,75%), seguida de *Hylaeamys* sp. (16,25%), *Rattus rattus* (15,00%), *Proechimys* sp. (11,75%) e *Oecomys* sp. (8,75%). As espécies *Oecomys bicolor* e *Isothrix paguros* foram encontradas com uma frequência muito baixa (1,25% cada uma) em ambientes de Floresta Contínua e Floresta Próxima a Plantio. *Hylaeamys* sp. foi encontrada em todos os ambientes. *Proechimys* sp. foi coletada em todos os ambientes, exceto no peridomicílio. *Oecomys* sp. e *Neacomys* sp. só foram encontradas em ambientes mais silvestres (Floresta Contínua e Floresta Próxima a Plantio). *Oecomys bicolor* foi coletado unicamente em ambiente de floresta, por enquanto *I. paguros* só foi encontrado em ambiente de Floresta Próxima a Plantio e *R. rattus* somente em Peridomicílio (Tabela 1).

Os nossos resultados mostram que não há diferença significativa quando comparada a fauna coletada entre os ambientes analisados (PERMANOVA pseudo F=0 0.60352 p<1).

O ambiente de Floresta Próxima a Plantio foi o que apresentou maior diversidade de espécies (15/17; 88,23%) e maior abundância de indivíduos (66/130; 50,77%). E o ambiente com menor diversidade de espécies foi Peridomicílio (3/17; 17,65%), e com

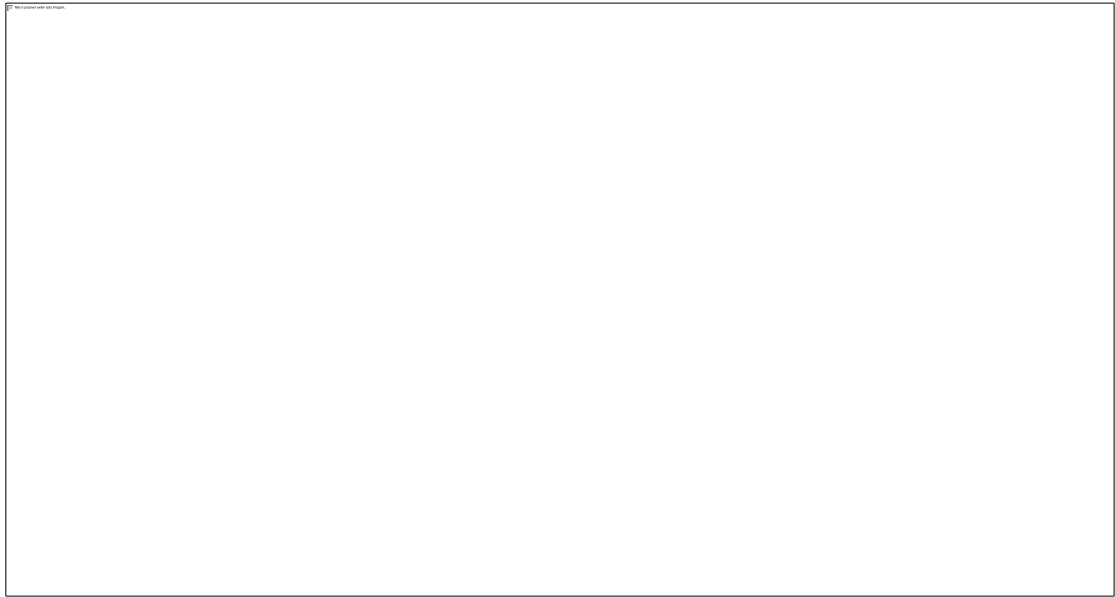
menor abundância de espécimes foi Plantio (10/130; 7,69%). Os dados indicam uma aparente diferença na da fauna de mamíferos entre os ambientes, porém essa diferença não foi significativa (PERMANOVA pseudo F=0 0.60352 p<1).

A representação gráfica do NMDS mostra a diversidade de espécies de mamíferos nos ambientes estudados, sendo os ambientes de Floresta Contínua e Floresta Próxima a Plantio os que apresentaram composição de espécies semelhantes (Fig. 11).



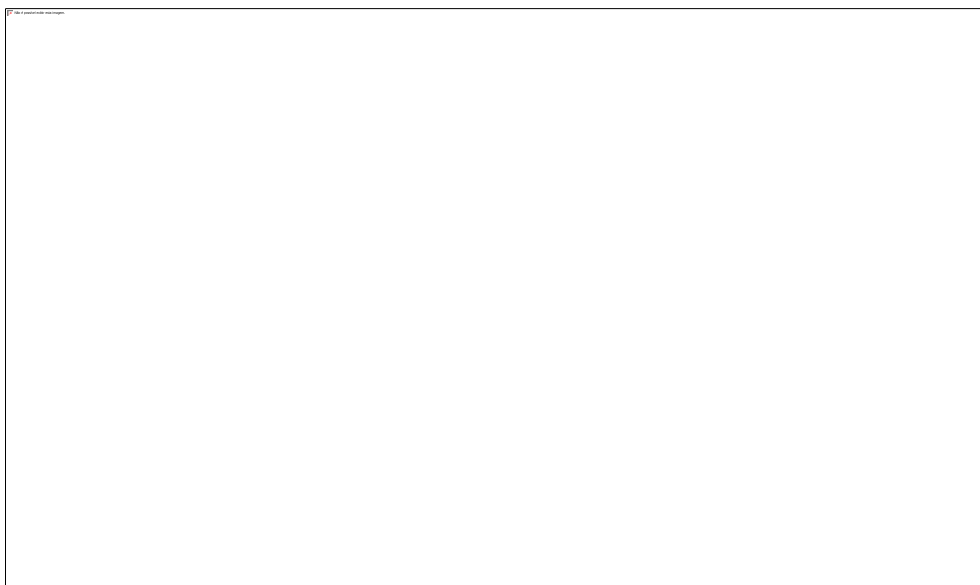
**Figura 11.** Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) para os ambientes de Peridomicílio, Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua, de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

As curvas referentes aos ambientes de Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua tendem ao crescimento, indicando que não foi obtida, com essa amostragem, toda a riqueza dessas áreas e que com um esforço amostral maior, provavelmente o número de espécies de mamíferos aumentaria. O que não é mostrado no Peridomicílio, onde a curva está estabilizada, o que indica que mesmo com mais coletas, o número de espécies provavelmente seria o mesmo ou próximo disso (Fig. 12).



**Figura 12.** Curvas de rarefação representando a riqueza acumulativa de espécies de mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil coletados no Peridomicílio, Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua. Com Intervalo de confiança de 95%.

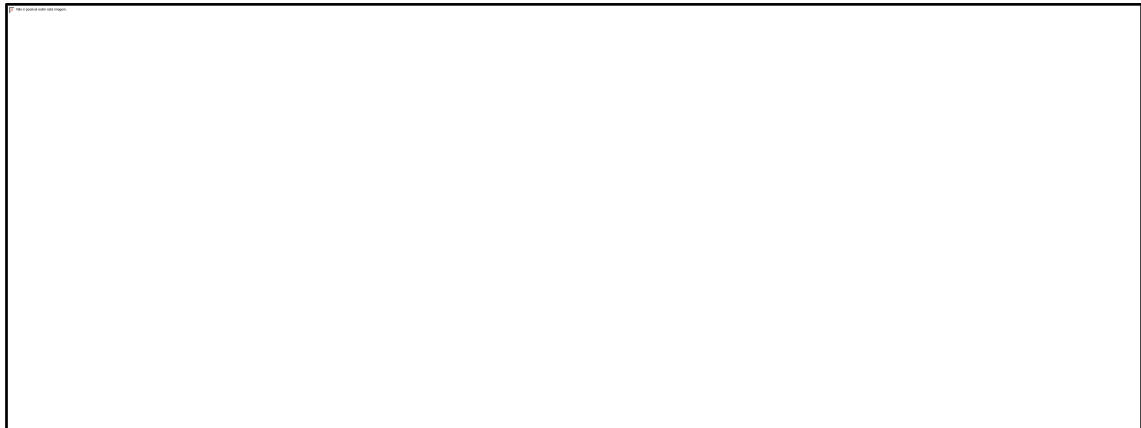
Corroborando o Índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ) (Tabela 1), o índice de Rényi mostra que o ambiente de Floresta Contínua apresenta maior diversidade, seguido por floresta próxima de plantio, plantio e peridomicílio (Fig. 13).



**Figura 13.** Diversidade de Rényi para os ambientes Peridomicílio, Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua amostrados no Assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. Os pontos mostram os valores para cada local, as linhas verdes tracejadas mostram os valores extremos e a linha rosa a mediana.

## 2. Detecção molecular de *Trypanosoma cruzi*

Para a detecção de *T. cruzi* foram utilizados fragmentos de fígado dos pequenos mamíferos e realizada a análise molecular por PCR. Das 130 amostras de DNA analisada, 4,6%, (6/130) foram positivas para *T. cruzi*, sendo obtido um amplicon de 330 pares de bases (Fig. 14).



**Figura 14:** Produto de PCR em gel de agarose 2% mostrando os fragmentos amplificados por PCR das seis amostras de fígado positivas para *T. cruzi*, obtidas de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. L = Ladder (marcador de peso molecular); C+ = controle positivo (Berenice); 1 e 3 = *Micoureus demerarae*; 2 e 4 = *Didelphis marsupialis*; 5 e 6 = *Neacomys* sp.; C- = controle negativo.

A taxa de infecção entre marsupiais foi de 8%, sendo as espécies infectadas *Micoureus demerarae* (n=2) e *Didelphis marsupialis* (n=2) (Fig. 15 A). Dentre os Rodentia, apenas o gênero *Neacomys* sp. (2/35 = 5,71%) foi positivo para *T. cruzi*. As

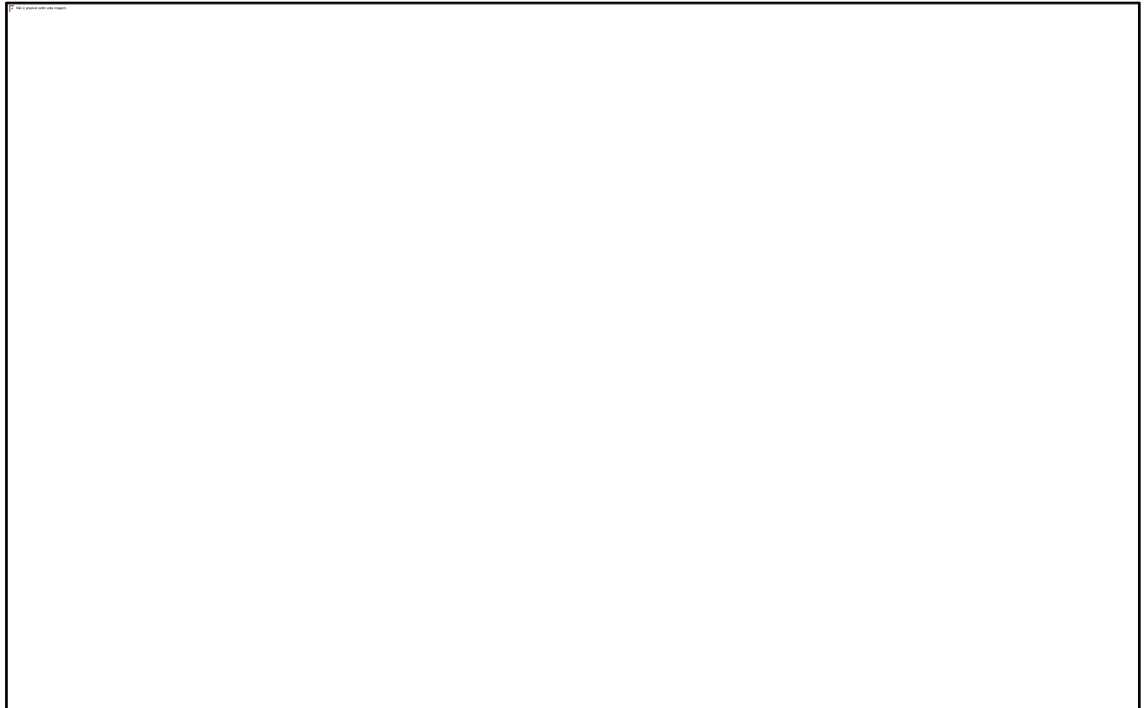
espécies positivas para *T. cruzi* são também as mais abundantes com 10 (*M. demerarae*), 13 (*D. marsupialis*) e 35 (*Neacomys* sp.) indivíduos capturados (Fig. 15 B).



**Figura 15.** Infecção por *Trypanosoma cruzi* em pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. (A) infecção em animais da ordem Didelphimorphia; (B) infecção em animais da ordem Rodentia.

### 3. Distribuição de *Trypanosoma cruzi* por ambiente

Todos os animais positivos para *T. cruzi* foram capturados em áreas de floresta sendo 60% deles capturados no ambiente de Floresta Contínua e 40% e em ambiente de Floresta próxima a Plantio (Fig. 16).



**Figura 16.** Distribuição de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia infectados por *T. cruzi* entre os diferentes ambientes de captura: Peridomicílio, Plantio, Floresta Próxima a Plantio e Floresta Contínua, coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

As taxas de infecção por *T. cruzi* foram de 4,5% em animais de Floresta Próxima a Plantio (3/66) e 8,1% em animais coletados em Floresta Contínua (3/37). Não foi observada infecção em animais capturados nos ambientes de Plantio e Peridomicílio.

Analisando as espécies infectadas, os dois indivíduos da espécie *M. demerarae* foram capturados somente em ambiente de Floresta Contínua, enquanto a espécie *D. marsupialis* foi capturada tanto em ambiente de Floresta Contínua (n=1) como em Floresta Próximo a Plantio (n=1). Já os dois espécimes positivos do gênero *Neacomys* sp. foram capturados em ambiente de Floresta Próximo a Plantio (Fig. 17).





**Figura 17.** Distribuição espacial de pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia e Rodentia infectados por *Trypanosoma cruzi* coletados no período de Agosto/ 2016 a Setembro/ 2017 no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.

## 5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, no Assentamento Rural de Rio Pardo, localizado na Amazônia Central, foram coletadas 7 de 93 (7,5%) espécies da ordem Rodentia e 11 de 65 (16,92%) espécies de Didelphimorphia registradas para a região amazônica. Apesar da diversidade observada neste trabalho parecer baixa, nossos dados concordam com os obtidos por vários autores que tem trabalhado na região amazônica e que tem coletado em média 12 espécies dentro da ordem Rodentia (Min = 8, Max = 18) e 8 de Didelphimorphia (Min = 5, Max = 11), principalmente nos Estados do Pará (ARDENTE *et al.*, 2017; LAINSON *et al.*, 1979; LAMBERT; MALCOLM; ZIMMERMAN, 2006; RIBEIRO-JÚNIOR *et al.*, 2011), Amazonas (PALMEIRIM *et al.*, 2019), Acre (DE ABREU-JÚNIOR *et al.*, 2016), Amapá (DA SILVA *et al.*, 2013), e Mato Grosso (MENDES-OLIVEIRA *et al.*, 2015) e na Amazônia Peruana (HICE; VELAZCO, 2013). CALAÇA *et al.*, (2018) encontraram 10 espécies de Didelphimorpha e 16 de Rodentia durante 15 anos de coleta na Floresta Nacional Saracá-Taquera, no noroeste Paraense.

Neste trabalho só foram realizadas coletas no nível do solo em uma única localidade, sendo necessário realizar um esforço de coleta maior, em diferentes estratos (dossel e solo) e em um maior número de áreas para atingir uma diversidade de espécies maior (Figura 11). Além disso, a coleta destes pequenos mamíferos, principalmente os pertencentes da ordem Didelphimorphia, é bastante dependente de períodos de reprodução, clima, disponibilidade de recursos, etc., ao longo do ano, uma limitação em relação ao período de coleta realizado.

A combinação de diferentes técnicas de coleta, tais como armadilhas do tipo pitfall, Sherman, Tamahawk e armadilhas câmara, usadas com iscas diferentes, instaladas no solo e a diferentes alturas do solo, tem ajudado a otimizar as coletas e, em consequência, a melhorar o conhecimento da biodiversidade local, que ainda precisa ser melhor estudada (ARDENTE *et al.*, 2017; GARDNER *et al.*, 2008; PALMEIRIM *et al.*, 2019; UMETSU; NAXARA; PARDINI, 2006; VIEIRA; MONTEIRO-FILHO, 2003).

O ARRPP está sempre sofrendo processos de desmatamento devido à construção de estradas, pastagens e plantios (VILELA, 2003). Essas mudanças na paisagem e no uso da terra tem efeitos sobre as diferentes populações de organismos, tais como insetos (ALMEIDA *et al.*, 2020; PEREIRA-SILVA *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2014). As espécies de pequenos mamíferos não voadores também são influenciadas por mudanças na paisagem e no habitat. Nossos dados mostram que a maior diversidade de espécies e abundância de indivíduos foi encontrada no ambiente de Floresta Próxima a Plantio, caracterizado por ser uma área que foi desmatada, usada para agricultura, e que atualmente está em processo de recuperação. Em áreas em processo de desmatamento ou em fases iniciais de regeneração, a abundância e riqueza desses animais que habitam o dossel e o solo tendem a diminuir, enquanto os que habitam o sub-bosque tendem a ser mais abundantes (LAMBERT; MALCOLM; ZIMMERMAN, 2006; PARDINI, 2004; VIEIRA; MONTEIRO-FILHO, 2003). LAMBERT *et al.*, (2006) e OROZCO *et al.*, (2016) mostraram que espécies de roedores e marsupiais são mais abundantes em áreas perturbadas, florestas secundárias e bordas de floresta, caracterizadas por ter sub-bosques densos, poucas árvores pequenas, emaranhados de videiras grossas, e abundante madeira derrubada. Provavelmente o aumento das populações de mamíferos neste tipo de áreas esteja relacionado com aumento de recursos disponíveis, diminuição da pressão de predação e aumento da atividade humana.

Por outro lado, nossos resultados mostraram menor diversidade de espécies e menor abundância de indivíduos em áreas de Peridomicílio. Estas áreas são transformadas devido a atividades agropecuárias tais como criação de gado e diversidade de cultivos, que favorecem a presença de espécies de animais especialmente generalistas e oportunistas (OLIFIERS; GENTILE; FISZON, 2005). Essas espécies poderão se tornar sinantrópicas e constituir um elo de contato entre o homem e a natureza (SCHMIDT; OSTFELD, 2001). Estudos conduzidos no bioma da Mata Atlântica apontam a vulnerabilidade de pequenos roedores e marsupiais aos efeitos da fragmentação da floresta, indicando a baixa tolerância desses animais a habitats extremamente modificados como áreas mais desmatadas e de pastagem (PAISE; VIEIRA; PRADO, 2020; PARDINI, 2004).

Outras espécies como *R. rattus*, estão fortemente associadas a assentamentos humanos (OLIFIERS *at al.*, 2005), concordando com nossos resultados que mostram essa espécie somente em ambiente de Peridomicílio.

As espécies *D. marsupialis* e *Neacomys* sp. são mais generalistas, sendo encontradas em todos os ambientes avaliados no ARRP, o que sugere que as características do ambiente não são determinantes para sua distribuição.

O ciclo de transmissão de *T. cruzi* é complexo e envolve animais silvestres e sinantrópicos que atuam como reservatórios. Neste trabalho avaliamos a infecção por *T. cruzi* em pequenos mamíferos não voadores coletados em ambientes com diferentes graus de antropização. A taxa de infecção por *T. cruzi* entre os 130 mamíferos analisados foi de 4,6%. PINTO *et al.*, (2006) encontraram *D. marsupialis* e *R. rattus* infectados com uma taxa de infecção de 4,12% em ambientes sinantrópicos do Equador. Entretanto, *R. rattus* não foi encontrado infectado neste trabalho, apesar de ser um reconhecido reservatório de *T. cruzi*, com taxas de infecção arredor de 6,2% (GALUPPO *et al.*, 2009; LAINSON *et al.*, 1979; PANTI-MAY *et al.*, 2017).

Encontramos uma maior prevalência de infecção por *T. cruzi* em mamíferos da ordem Didelphimorphia, com 66,6% dos indivíduos infectados, comparados com a ordem Rodentia que apresentou 33,4% de infecção. Outros autores também encontraram maior prevalência de *T. cruzi* em Didelphimorphia (variando de 7,1% a 18%) do que em Rodentia – 1,4% (BARROS *et al.*, 2017; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2004; ROCHA *et al.*, 2013).

Entre os animais da ordem Rodentia, apenas indivíduos do gênero *Neacomys* sp. estiveram infectados com *T. cruzi*. Dentro dessa ordem 17 espécies têm sido registradas como reservatórios de *T. cruzi* no bioma amazônico (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018), entretanto, *Neacomys* sp. que no Brasil alberga 5 espécies (*Neacomys dubosti*, *Neacomys minutus*, *Neacomys musseri*, *Neacomys paracou* e *Neacomys spinosus*) não possui registro de infecção por *T. cruzi* na literatura.

Outras espécies da ordem Rodentia capturadas no nosso trabalho, tais como *Oecomys* sp., *Hylaeamys* sp., *O. bicolor*, *Proechimys* sp. e *R. rattus* não foram encontradas infectadas com *T. cruzi*, mas têm sido registradas como reservatórios desse parasito em diferentes biomas do Brasil (BRANDÃO *et al.*, 2019; JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2018; LAINSON *et al.*, 1979). As principais espécies que ocorrem no Brasil são *Neacomys dubosti*, *Neacomys minutus*, *Neacomys musseri*, *Neacomys paracou* e *Neacomys spinosus*, possuem hábitos terrestres e podem ser encontrados na Amazonia e

em áreas de transição entre a Amazônia e o Cerrado (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008).

Dentre as espécies de marsupiais coletadas somente *D. marsupialis* e *M. demerarae* estavam infectados com *T. cruzi*, embora, se acordo com JANSEN; XAVIER; ROQUE, (2018), há 17 espécies registradas como reservatórios de *T. cruzi* para o bioma amazônico. *Marmosa* sp., *M. demerarae*, *Marmosa paraguayana*, *Marmosa murina*, *Marmosa domestica*, *Marmosops incanus*, *M. parvidens*, *Thylamys macrurus*, *G. agilis*, *M. cf. touan* são conhecidos reservatórios de tripanossomatídeos (POVIL; LAZAR; BONVICINO, 2017). Desses, *M. parvidens*, *M. brevicaudata* e *M. demerarae*, foram capturados neste trabalho, porém, a ocorrência de infecção por *T. cruzi* foi registrada apenas para *M. demerarae*. espécie também registrada infectada com *T. cruzi* (TcI) por JANSEN *et al.*, (2018) no bioma Amazônico. RODRIGUES *et al.*, (2019) detectaram *M. demerarae* infectada om *Trypanosoma cascavelli* no bioma da Mata Atlântica.

O *D. marsupialis*, espécie de marsupial encontrado infectado, é um dos mais antigos hospedeiros de *T. cruzi* nas Américas (SCHOFIELD, 2000). Observamos que os indivíduos infectados desta espécie se limitavam ao ambiente de floresta, porém vários trabalhos apontam esse marsupial como reservatório sinantrópico de *T. cruzi* (CANTILLO-BARRAZA *et al.*, 2015, 2020). É importante enfatizar que *D. marsupialis* é uma espécie bastante adaptada a ambientes antropizados e que desempenha um importante papel como reservatório e transmissor de patógenos entre os ambientes de floresta e peridomicílio (BEZERRA-SANTOS *et al.*, 2021; ZECCA *et al.*, 2020), sendo incriminado como principal reservatório de *Leishmania braziliensis guyanensis* causadora de Leishmaniose Tegumentar Americana na cidade de Manaus, Amazonas por ARIAS; NAIFF, (1981).

*D. marsupialis* é a espécie hospedeira de *T. cruzi* predominante em áreas Urbana, Peri-urbana e Rural das cidades de Manaus e Coari, Amazonas, apresentando 96.5% de indivíduos infectados (MAGALHÃES *et al.*, 2021)

Encontramos *T. cruzi* infectando pequenos mamíferos que circulam apenas em ambientes de Floresta Contínua e Floresta Próxima a Plantio. *D. marsupialis*, que estava distribuído em todos os ambientes estudados, só estava infectado nos ambientes de floresta. Estes resultados divergem com os de ROQUE *et al.*, (2013) que encontrou *D.*

*marsupialis* apenas em áreas de maior perturbação ambiental porém não foi detectada infecção por *T. cruzi*

Não observamos infecção por *T. cruzi* em animais capturados em áreas mais antropizadas como peridomicílio e Plantio, diferente de VAZ *et al.*, (2007), que analisando os efeitos da fragmentação da floresta sobre o ciclo de transmissão de *T. cruzi*, encontrou maior prevalência de infecção entre pequenos mamíferos capturados em ambientes fragmentados, do que em floresta contínua. Essa divergência pode ser explicada pelo fato de o ciclo do *T. cruzi* ser complexo e envolver diversos fatores para que haja a transmissão do parasito em determinado ambiente, sendo alguns destes fatores a fragmentação da floresta, alterações no clima e alterações na ecologia de reservatórios e vetores.

O desmatamento, a redução dos reservatórios silvestres, a proliferação de mamíferos oportunistas e generalistas (roedores e marsupiais) nos ambientes antropizados, a introdução da luz elétrica, a procura por alimentos por animais que saem das florestas para os ambientes próximos aos domicílios, são fatores que contribuem para o aumento do risco de transmissão de *T. cruzi* aos humanos.

Nossos resultados mostram que *D. marsupiais*, *M. demerarae* e *Neacomys* sp. atuam como reservatórios silvestres de *T. cruzi* em Rio Pardo e que o risco de transmissão envolvendo essas espécies está em áreas florestais. Embora não tenhamos encontrado mamíferos infectados nos ambientes peridomiciliares, a circulação de espécies generalistas ou oportunistas, reconhecidas como reservatórios em outras regiões, pode oferecer risco para a transmissão do parasito nas áreas antropizadas.

## 6. CONCLUSÕES

- A composição de espécies de pequenos mamíferos não voadores presentes no ARRP é semelhante à encontrada em outras regiões da Amazônia.
- O desmatamento afeta a composição de espécies de pequenos mamíferos no ARRP, diminuindo a diversidade e espécies que circulam em ambientes sinantrópicos.
- A presença de mamíferos infectados somente em ambientes de floresta indica que esses animais oferecem risco de transmissão em ciclos silvestres.
- Marsupiais desempenham um papel fundamental na manutenção do ciclo silvestre de *T. cruzi* no ARRP e apresentam maior prevalência de infecção do que Rodentia.
- As espécies *D. marsupiais*, *M. demerarae* e *Neacomys* sp. possivelmente atuam como reservatórios silvestres de *T. cruzi* em Rio Pardo e o risco de transmissão envolvendo essas espécies está em áreas florestais.
- Embora não tenhamos encontrado mamíferos infectados, a circulação em ambientes peridomiciliares de espécies generalistas ou oportunistas, reconhecidas como reservatórios de *T. cruzi* em outras regiões, pode oferecer risco para a transmissão do parasito nas áreas antropizadas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E.F. *et al.* **Lista de Mamíferos do Brasil. Comitê de Taxonomia da Sociedade Brasileira de Mastozoologia (CT-SBMz).** 2020. Disponível em: <<https://www.sbmz.org/mamiferos-do-brasil/>>. Acessado em: 02/04/2021.

ABAD-FRANCH, F. *et al.* *Rhodnius barretti*, a new species of triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 92–99, 2013.

ABOLIS, N. G. *et al.* *Trypanosoma cruzi* I-III in southern Brazil causing individual and mixed infections in humans, sylvatic reservoirs and triatomines. **Acta Tropica**, v. 120, n. 3, p. 167–172, 2011.

ACHILLES, G. R. **DIVERSIDADE DE PEQUENOS MAMÍFEROS, DAS ORDENS RODENTIA E DIDELPHIMORPHIA, RESERVATÓRIOS DE TRIPANOSSOMATÍDEOS (SARCOMASTIGOPHORA: KINETOPLASTIDA) EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL.** [s.l: s.n.].

AGUIRRE, A. A. Changing patterns of emerging zoonotic diseases in wildlife, domestic animals, and humans linked to biodiversity loss and globalization. **ILAR Journal**, v. 58, n. 3, p. 315–318, 2017.

ALMEIDA, J. F. Evidências de Sinantropização de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em um Assentamento Rural na Amazônia Brasileira. p. 1–124, 2018.

ALMEIDA, J. F. *et al.* Diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in different types of larvitrap in an Amazon rural settlement. **PLoS ONE**, v. 15, n. 10 October, p. 1–15, 2020.

ALTCHEH, J. M.; FREILIJ, H. **Chagas Disease. A Clinical Approach.** [s.l: s.n.].

AÑEZ, N.; CRISANTE, G. The tissue specific tropism in *Trypanosoma cruzi*. Is it true? **Acta Tropica**, v. 213, p. 105736, 2021.

ANTONELLI, A. *et al.* Amazonia is the primary source of Neotropical biodiversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 23, p. 6034–6039, 2018.



ARDENTE, N. C. et al. Differential efficiency of two sampling methods in capturing non-volant small mammals in an area in eastern Amazonia. **Acta Amazonica**, v. 47, n. 2, p. 123–132, 2017.

ARIAS, J. R.; NAIFF, R. D. **The principal reservoir host of cutaneous leishmaniasis in the urban areas of Manaus, Central Amazon of Brazil** Rio de Janeiro, 1981.

ASIN, S.; CATALÁ, S. S. Development of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans*: Influence of Temperature and Blood Consumption. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 1–7, 1995.

BARRETT, T. V.; SENRA, M. S. Leishmaniasis in Manaus, Brazil. **Parasitology Today**, v. 5, n. 8, p. 255–256, 1989.

BARROS, J. H. S. et al. Identification of novel mammalian hosts and Brazilian biogeographic distribution of *Trypanosoma cruzi* TcIII and TcIV. **Acta Tropica**, v. 172, n. April, p. 173–179, 2017.

BAUCH, S. C. et al. Public health impacts of ecosystem change in the Brazilian Amazon. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 24, p. 7414–7419, 2015.

BERN, C. et al. Chagas disease in the united states: A public health approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 1, 2019.

BEZERRA-SANTOS, M. A. et al. *Didelphis* spp. opossums and their parasites in the Americas: A One Health perspective. **Parasitology Research**, 2021.

BONVICINO, C.; OLIVEIRA, J.; D'ANDREA, O. Guia dos Roedores do Brasil. **Rio de Janeiro: Or**, p. 120, 2008.

BRANDÃO, E. M. V. et al. Trypanosomatids in small mammals of an agroecosystem in central brazil: Another piece in the puzzle of parasite transmission in an anthropogenic landscape. **Pathogens**, v. 8, n. 4, p. 1–15, 2019.

BRANDÃO, M. V. et al. CAPÍTULO 4 DIAGNOSE E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS MARSUPIAIS DA. In: [s.l: s.n.].

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE V. EM S. Panorama da vigilância de doenças crônicas não transmissíveis no Brasil, 2018. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 40, p. 15, 2020.

BUSTOS, P. L. et al. Trypanosoma cruzi infection at the maternal-fetal interface: Implications of parasite load in the congenital transmission and challenges in the diagnosis of infected newborns. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. JUN, 2019.

CALAÇA, A. et al. Mammals of the saracá-taquera national forest, northwestern Pará, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 4, 2018.

CAMPOS-SOTO, R. et al. Trypanosoma cruzi-infected triatomines and rodents co-occur in a coastal island of northern Chile. **PeerJ**, v. 8, p. 1–16, 2020.

CANTILLO-BARRAZA, O. et al. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of Triatoma maculata (Hemiptera: Reduviidae), dogs and Didelphis marsupialis in Trypanosoma cruzi maintenance. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2015.

CANTILLO-BARRAZA, O. et al. Trypanosoma cruzi infection in domestic and synanthropic mammals such as potential risk of sylvatic transmission in a rural area from north of Antioquia, Colombia. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 11, n. 52, p. e00171, 2020.

CARREA, A.; DIAMBRA, L. Systems biology approach to model the life cycle of Trypanosoma cruzi. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–20, 2016.

COURA, J. R. et al. **Chagas' Disease in the Brazilian Amazon** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 1994.

COURA, J. R. The main sceneries of chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 277–282, 2015.

COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. C. V. Ecological diversity of Trypanosoma cruzi transmission in the Amazon basin. The main scenarios in the Brazilian Amazon. **Acta Tropica**, v. 151, n. 1, p. 51–57, 2015.

COURA, J. R.; MOREIRA DE CARVALHO, C. J.; JUNQUEIRA, A. C. V. A doença de Chagas na região Amazonica. 2012.

COUTINHO, M.; DIAS, C. J. P. A descoberta da doença de Chagas. **Cadernos de Ciências e Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 11–51, 1999.

DA COSTA, A. P. et al. Trypanosoma cruzi in Triatomines and wild mammals in the National Park of Serra das Confusões, Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 4, p. 445–451, 2018.

DA SILVA, C. R. et al. Mammals of Amapá State, Eastern Brazilian Amazonia: A revised taxonomic list with comments on species distributions. **Mammalia**, v. 77, n. 4, p. 409–424, 2013.

DE ABREU-JÚNIOR, E. F. et al. Marsupials and rodents (Didelphimorphia and rodentia) of upper Rio Acre, with new data on Oxymycterus inca Thomas, 1900 from Brazil. **Check List**, v. 12, n. 5, 2016.

DE GUERRA, J. A. O. et al. Tegumentary leishmaniasis in the state of Amazonas: What have we learned and what do we need? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. December 2013, p. 12–19, 2015.

DE NOYA, B. A.; GONZÁLEZ, O. N. An ecological overview on the factors that drive to Trypanosoma cruzi oral transmission. **Acta Tropica**, v. 151, n. 1, p. 94–102, 2015.

DE SOUSA PEREIRA, H. et al. Chagas disease in urban and peri-urban environment in the Amazon: Sentinel hosts, vectors, and the environment. **Acta Tropica**, v. 217, n. February, 2021.

DE SOUZA, W.; BARRIAS, E. S. May the epimastigote form of Trypanosoma cruzi be infective? **Acta Tropica**, v. 212, n. June, p. 105688, 2020.

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

DROZINO, R. N. et al. Trypanosoma Found in Synanthropic Mammals from Urban Forests of Paraná, Southern Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 19, n. 11,

p. 828–834, 2019.

FAHRIG, L. et al. Is habitat fragmentation bad for biodiversity? **Biological Conservation**, v. 230, n. October 2018, p. 179–186, 2019.

FERNANDES, A. J. et al. Infecção natural das glândulas anais de gambás (*Didelphis albiventris*) pelo *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí - MG. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 1, p. 87–93, 1989.

FERREIRA, J. I. G. S. et al. New *Trypanosoma* species, *Trypanosoma gennarii* sp. nov., from South American marsupial in Brazilian Cerrado. **Acta Tropica**, v. 176, p. 249–255, 2017.

GALUPPO, S. et al. *Acta Tropica* Predominance of *Trypanosoma cruzi* genotypes in two reservoirs infected by sylvatic *Triatoma infestans* of an endemic area of Chile. v. 111, p. 90–93, 2009.

GALVÃO, C.; JUSTI, S. A. An overview on the ecology of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). **Acta Tropica**, v. 151, n. 1, p. 116–125, 2015.

GARDNER, T. A. et al. The cost-effectiveness of biodiversity surveys in tropical forests. **Ecology Letters**, v. 11, n. 2, p. 139–150, 2008.

GHERSI, B. M. et al. In the heart of the city: *Trypanosoma cruzi* infection prevalence in rodents across New Orleans. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2020.

GITHEKO, A. K. et al. Climate change and vector-borne diseases: A regional analysis. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 78, n. 9, p. 1136–1147, 2000.

GÓMEZ, L. A.; GUTIERREZ, F. R. S.; PEÑUELA, O. A. *Trypanosoma cruzi* infection in transfusion medicine. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 41, n. 3, p. 262–267, 2019.

GOTTDENKER, N. L. et al. Host Life History Strategy, Species Diversity, and Habitat Influence *Trypanosoma cruzi* Vector Infection in Changing Landscapes. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 11, p. 5–7, 2012.

GUHL, F. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. **Revista Biomédica**, v. 20, n. 3, p. 228–234, 2009.

GURGEL-GONÇALVES, R. et al. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 46, n. 6, p. 323–330, 2004.

HECKENBERGER, M. J. et al. The legacy of cultural landscapes in the Brazilian Amazon: Implications for biodiversity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 362, n. 1478, p. 197–208, 2007.

HERRERA, C. P. et al. Genotype diversity of *Trypanosoma cruzi* in small rodents and *Triatoma sanguisuga* from a rural area in New Orleans, Louisiana. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2015.

HICE, C. L.; VELAZCO, P. M. Relative effectiveness of several bait and trap types for assessing terrestrial small mammal communities in neotropical rainforest. **Occasional Papers**, n. 316, p. 1–15, 2013.

JANSEN, A. M.; ROQUE, A. L. R. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. **American Trypanosomiasis**, p. 249–276, 2010.

JANSEN, A. M.; ROQUE, A. L. R.; XAVIER, S. C. C. **Trypanosoma cruzi enzootic cycle: General aspects, domestic and synanthropic hosts and reservoirs**. Second Edition. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

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

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–25, 2018.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. Landmarks of the Knowledge and *Trypanosoma cruzi* Biology in the Wild Environment. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. February, p. 1–15, 2020.

JURBERG, J. et al. Atlas Iconográfico dos Triatomíneos do Brasil (Vetores da Doença de Chagas). p. 58, 2014.

KAUFER, A.; STARK, D.; ELLIS, J. A review of the systematics, species identification and diagnostics of the Trypanosomatidae using the maxicircle kinetoplast DNA: from past to present. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 6–7, p. 449–460, 2020.

LABELLO BARBOSA, R. et al. Virulence of *Trypanosoma cruzi* from vector and reservoir in in natura açai pulp resulting in food-borne acute Chagas disease at Pará State, Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 197, p. 68–75, 2019.

LAINSON, R. et al. Chagas's disease in the amazon basin: I. *Trypanosoma cruzi* infections in silvatic mammals, triatomine bugs and man in the state of North Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 2, p. 193–204, 1979.

LAMBERT, T. D.; MALCOLM, J. R.; ZIMMERMAN, B. L. Amazonian small mammal abundances in relation to habitat structure and resource abundance. **Journal of Mammalogy**, v. 87, n. 4, p. 766–776, 2006.

LIMA, M. M. et al. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: Epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 3, p. 143–149, 2012.

LISBOA, C. V. et al. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 445–452, 2000.

LIU, B. et al. Fellowship of the rings: The replication of kinetoplast DNA. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 8, p. 363–369, 2005.

LOPES, C. M. T. et al. *Trypanosoma janseni* n. Sp. (trypanosomatida: Trypanosomatidae) isolated from *Didelphis aurita* (mammalia: Didelphidae) in the atlantic rainforest of rio de janeiro, brazil: Integrative taxonomy and phylogeography within the *trypanosoma cruzi* clade. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 1, p. 45–55, 2018.

LUKEŠ, J. et al. Evolution of parasitism in kinetoplastid flagellates. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 2, p. 115–122, 2014.

MAGALHÃES, L. et al. Bioecological aspects of triatomines and marsupials as wild *Trypanosoma cruzi* reservoirs in urban, peri-urban and rural areas in the Western Brazilian Amazon. **Medical and Veterinary Entomology**, n. January, 2021.

MAGIOLI, M. et al. Connectivity maintain mammal assemblages functional diversity within agricultural and fragmented landscapes. **European Journal of Wildlife Research**, v. 62, n. 4, p. 431–446, 2016.

MARCILI, A. et al. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCIIc: New hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 1265–1274, 2009.

MEIS, J.; CASTRO, R. S. S. Manual para Diagnóstico em Doença de Chagas. **Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca de Ciências Biomédicas/ICICT/FIOCRUZ-RJ**, v. 1, p. 110, 2017.

MELLO, D. A.; BORGES, M. M. Neonatal transmission of *t. cruzi* in *Calomys callosus* (Rodentia). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 5, p. 754–755, 1981.

MELO, G.; SPONCHIADO, J. Distribuição geográfica dos marsupiais no Brasil. **Os Marsupiais do Brasil: Biologia Ecologia e Evolução**, p. 95–112, 2012.

MENDES-OLIVEIRA, A. C. et al. Estrutura de comunidades de pequenos mamíferos não-voadores na Amazônia. **Os Pequenos Mamíferos Não Voadores da Amazônia Brasileira**, n. January, p. 213–256, 2015.

MONJE-RUMI, M. M. et al. Potential association of *Trypanosoma cruzi* DTUs TcV and TcVI with the digestive form of Chagas disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 84, n. April, p. 104329, 2020.

MONTEIRO, F. A. et al. Evolution, Systematics, and Biogeography of the Triatominae, Vectors of Chagas Disease. **Advances in Parasitology**, v. 99, p. 265–344, 2018.

MONTGOMERY, S. P. et al. Perspective piece what do we know about chagas disease

in the United States? **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 6, p. 1225–1227, 2016.

MORALES, E. A. et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and other trypanosomatids in frequently-hunted wild mammals from the Peruvian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 5, p. 1482–1485, 2017.

NAIFF, R. D.; BARRETT, T. V. *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) *lainsoni* n. sp. from *Mesomys hispidus* (Rodentia: Echimyidae) in BRA: Trypomastigotes described from experimentally infected laboratory mice. **Parasite**, v. 20, n. 1, p. 0–4, 2013.

NILSSON, M. A. et al. Tracking marsupial evolution using archaic genomic retroposon insertions. **PLoS Biology**, v. 8, n. 7, 2010.

NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: Adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, v. 40, n. 2, 2009.

NUNES, M. C. P. et al. Chagas disease: An overview of clinical and epidemiological aspects. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 9, p. 767–776, 2013.

OLIFIERS, N.; GENTILE, R.; FISZON, J. T. Relation between small-mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 65, n. 3, p. 495–501, 2005.

OROZCO, M. M. et al. A comparative study of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals from a protected and a disturbed area in the Argentine Chaco. **Acta Tropica**, v. 155, p. 34–42, 2016.

PAISE, G.; VIEIRA, E. M.; PRADO, P. I. Small mammals respond to extreme habitat fragmentation in the Brazilian Atlantic Forest according to the landscape continuum model. **Mammal Research**, v. 65, n. 2, p. 309–322, 2020.

PALMEIRIM, A. F. et al. Moving forward on the sampling efficiency of neotropical small mammals: insights from pitfall and camera trapping over traditional live trapping. **Mammal Research**, v. 64, n. 3, p. 445–454, 2019.

PANTI-MAY, J. A. et al. A survey of zoonotic pathogens carried by house mouse and black rat populations in Yucatan, Mexico. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 11, p.



2287–2295, 2017.

PARDINI, R. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscap. **Biodiversity and Conservation**, v. 13, p. 2567–2586, 2004.

PATZ, J. A. et al. Environmental Changes & Parasitic Diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12–13, p. 1395–1405, 2000.

PATZ, J. A.; HAHN, M. B. Climate Change and Human Health: A One Health Approach. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 366, n. november, p. 141–171, 2012.

PEREIRA-SILVA, J. W. et al. Distribution and diversity of mosquitoes and Oropouche-like virus infection rates in an Amazonian rural settlement. **PLoS ONE**, v. 16, n. 2 February, p. 1–18, 2021.

PÉREZ-LAZO, J. G.; MAYOR, P.; LESCANO, A. G. Amazonian Reservoir Hosts of *Trypanosoma cruzi*. In: **Biology of Trypanosoma cruzi**. [s.l: s.n.].

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82–94, 2018.

PINHO, A. P. et al. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: Distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 5, p. 509–514, 2000.

PINTO, C. M. et al. Infection by trypanosomes in marsupials and rodents associated with human dwellings in Ecuador. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 6, p. 1251–1255, 2006.

POVIL, C.; LAZAR, A.; BONVICINO, CIBELE R. Levantamento de agentes zoonóticos encontrados em pequenos marsupiais da américa do sul issn 1983-6996. **Heringeriana**, v. 11, n. 2, p. 13–32, 2017.

PRONOVOST, H. et al. Deep sequencing reveals multiclonality and new discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* in rodents from the southern United States. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 4, p. 622–633, 2020.

PUMHOM, P. et al. *Trypanosoma* from rodents as potential source of infection in human-

shaped landscapes of South-East Asia. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 3–4, p. 174–180, 2015.

RADEMAKER, V. et al. 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. **Acta Tropica**, v. 111, n. 2, p. 102–107, 2009.

RAMOS, W. R. et al. Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. **Acta Tropica**, v. 139, p. 44–52, 2014.

RIBEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Influence of pitfall trap size and design on herpetofauna and small mammal studies in a Neotropical Forest. **Zoologia**, v. 28, n. 1, p. 80–91, 2011.

RIBEIRO, M. et al. Sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. **Experimental Parasitology**, v. 162, p. 1–6, 2016.

RIERA, C. et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): A case report. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 6, p. 1078–1081, 2006.

RIOS, A. et al. Can sexual transmission support the enzootic cycle of *trypanosoma cruzi*? **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 1, p. 3–8, 2018.

ROCHA, F. L. et al. *Trypanosoma cruzi* TcI and TcII transmission among wild carnivores, small mammals and dogs in a conservation unit and surrounding areas, Brazil. **Parasitology**, v. 140, n. 2, p. 160–170, 2013.

RODRIGUES, M. S. et al. Uncovering *Trypanosoma* spp. diversity of wild mammals by the use of DNA from blood clots. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 8, n. February, p. 171–181, 2019.

ROQUE, A. L. R. et al. *Trypanosoma cruzi* among wild and domestic mammals in different areas of the Abaetetuba municipality (Pará State, Brazil), an endemic Chagas disease transmission area. **Veterinary Parasitology**, v. 193, n. 1–3, p. 71–77, 2013.

ROWE, R. J.; TERRY, R. C. Small mammal responses to environmental change: Integrating past and present dynamics. **Journal of Mammalogy**, v. 95, n. 6, p. 1157–

1174, 2014.

RUIZ-PIÑA, H. A.; CRUZ-REYES, A. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilché, Yucatán, México. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 613–620, 2002.

SCHMIDT, K. A.; OSTFELD, R. S. BIODIVERSITY AND THE DILUTION EFFECT IN DISEASE ECOLOGY. **Ecological Society of America**, v. 82, n. 3, p. 609–619, 2001.

SCHOFIELD, C. J. Schofield. 2000. *Trypanosoma cruzi* The Vector-parasite Paradox.pdf. v. 95, n. 4, p. 535–544, 2000.

SHLOMAI, J. The Structure and Replication of Kinetoplast DNA. **Current Molecular Medicine**, v. 4, n. 6, p. 623–647, 2005.

STEINDEL, M. et al. Presence of *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of naturally infected opossum (*didelphis marsupialis*) in the State of Santa Catarina, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, n. 1, p. 135–137, 1988.

TAMAYO, L. D. et al. The effect of temperature increase on the development of *Rhodnius prolixus* and the course of *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 8, p. 1–13, 2018.

TATARD, C. et al. Rodent-borne *Trypanosoma* from cities and villages of Niger and Nigeria: A special role for the invasive genus *Rattus*? **Acta Tropica**, v. 171, n. December 2016, p. 151–158, 2017.

UMETSU, F.; NAXARA, L.; PARDINI, R. Evaluating the efficiency of pitfall traps for sampling small mammals in the neotropics. **Journal of Mammalogy**, v. 87, n. 4, p. 757–765, 2006.

VAZ, V. C.; D'ANDREA, P. S.; JANSEN, A. M. Effects of habitat fragmentation on wild mammal infection by *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology**, v. 134, n. 12, p. 1785–1793, 2007.

VELÁSQUEZ-ORTIZ, N.; RAMÍREZ, J. D. Understanding the oral transmission of *Trypanosoma cruzi* as a veterinary and medical foodborne zoonosis. **Research in Veterinary Science**, v. 132, n. May, p. 448–461, 2020.

VIEIRA, E. M.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Vertical stratification of small mammals in the Atlantic rain forest of south-eastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 19, n. 5, p. 501–507, 2003.

VILELA, D. R. **Análise SócioAmbiental do Assentamento Rio Pardo, Município de Presidente Figueiredo, AM.** [s.l: s.n.].

YEFI-QUINTEROS, E. et al. Trypanosoma cruzi load in synanthropic rodents from rural areas in Chile. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2018.

YEO, M. et al. Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of Trypanosoma cruzi I and armadillos hosts of Trypanosoma cruzi II, including hybrids. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 2, p. 225–233, 2005.

ZECCA, I. B. et al. Trypanosoma cruzi infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums (Didelphis virginiana). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 11, n. March, p. 287–293, 2020.

ZINGALES, B. et al. A new consensus for Trypanosoma cruzi intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 1051–1054, 2009.

ZINGALES, B. et al. The revised Trypanosoma cruzi subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 240–253, 2012.

World Health Organization <https://www.who.int/campaigns/world-chagas-disease-day/2021>.

Brasil, Ministério da Saúde. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/d/doenca-de-chagas>.