



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS APLICADA A ANIMAIS
INTERESSE REGIONAL**

HYAN HENRIQUE ALMEIDA OLIVEIRA

**PRESENÇA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM MORCEGOS DE MUNICÍPIOS DA
REGIÃO NORDESTE DO BRASIL**

Orientador:

Prof. Dr. Vagner José Mendonça

Teresina – PI

2023

HYAN HENRIQUE ALMEIDA OLIVEIRA

**PRESENÇA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM MORCEGOS DE MUNICÍPIOS DA
REGIÃO NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional (PPGTAIR) da Universidade Federal do Piauí - UFPI, na área de Diagnósticos Avançados em Saúde Animal e linha de pesquisa Diagnóstico e terapêutica em medicina veterinária, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Vagner José Mendonça

Teresina – PI

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial CCA
Serviço de Representação Temática da Informação

O48p Oliveira, Hyan Henrique Almeida.
Presença de tripanossomatídeos em morcegos de municípios da
região nordeste do Brasil / Hyan Henrique Almeida Oliveira -- 2023.
67 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias
Aplicadas a Animais de Interesse Regional, 2023.

“Orientador: Prof. Dr. Vagner José Mendonça.”

1. Kinetoplastea. 2. Morcegos. 3. Reservatórios. 4. Animais
silvestres. I. Oliveira, Hyan Henrique Almeida Oliveira. II. Título.

CDD 599.4

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163

PRESENÇA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM MORCEGOS DE MUNICÍPIOS DA
REGIÃO NORDESTE DO BRASIL.

Hyan Henrique Almeida Oliveira

Banca examinadora:

Vagner José Mendonça

Prof. Dr. Vagner José Mendonça

(Presidente / Orientador) / DPM/ CCS / UFPI

Luanna Soares de Melo Evangelista

Profa. Dra. Luanna Soares de Melo Evangelista
(Examinadora interna) / DPM/ CCS / UFPI

Simone Mousinho Freire

Profa. Dra. Simone Mousinho Freire
(Examinadora externa) UESPI

AGRADECIMENTOS

Gostaria de externar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a execução deste trabalho de pesquisa. O apoio, orientação e incentivo foram fundamentais para o sucesso deste estudo.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Vagner José Mendonça por sua valiosa dedicação e paciência ao longo deste processo. Sua expertise e compromisso foram essenciais para conclusão deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos meus colegas de curso pela colaboração, discussões e troca de conhecimentos ao longo deste curso de mestrado. Suas contribuições enriqueceram minha experiência acadêmica.

Externo meus agradecimentos a minha amiga, mãe na ciência, Prof. Dra. Simone Mousinho Freire, que nunca mediu esforços para estender sua mão sempre que precisei. Sua história de vida serviu e sempre servirá como exemplo do profissional que almejo ser. Você sempre será uma pessoa de extrema importância na minha vida pessoal e acadêmica.

Expresso minha gratidão ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Aplicada a Animais de Interesse Regional – PPGTAIR, pelo suporte e pelos recursos disponibilizados, que tornaram possível a realização deste estudo.

Deixo meus agradecimentos em especial aos meus amigos e companheiros de coleta, Michael Anderson e Sarah Pires pelo suporte em todo o processo. Vocês são pessoas ímpares. Ao meu grande amigo Osmaikon Lobato, por disponibilizar sua ajuda e seus conhecimentos na etapa da biologia molecular. A minha amiga Ana Laura, por suas valiosas dicas, ensinamentos sempre que precisei. Ao meu grande amigo “modelagem” Everaldo Araújo pela ajuda nas análises estatísticas e por fim, a todos que acreditaram no meu trabalho.

Gostaria de externar a minha mãe, Elza Almeida pelo constante apoio emocional e encorajamento ao longo desta jornada. Seu amor, compreensão e paciência foram fundamentais para ser quem sou hoje.

RESUMO

A relação entre morcegos e tripanossomatídeos é de natureza complexa e variável, dependendo das espécies de morcegos, e dos parasitos envolvidos, abrigando-os em seus organismos sem sofrerem consequências negativas. Além disso, desempenham um papel crucial na disseminação desses parasitos em populações de vetores e outros hospedeiros. O objetivo desse estudo, foi investigar a presença de tripanossomatídeos em morcegos nos Estados do Piauí e Maranhão. Para a captura dos animais, foram utilizadas redes de neblinas (*mist nets*), em seguida, os animais foram removidos das redes e cuidadosamente alocados individualmente em sacos de pano devidamente numerados, com propósito subsequente de coletar amostras sanguíneas. Essas coletas foram realizadas em quatro localidades distintas: Teresina, Altos, Floriano e Povoado Campo Grande no município de Timon, no estado do Maranhão. As amostras foram mantidas a -20 °C para subseqüentes análises moleculares. Para as análises moleculares, foram empregados os iniciadores (*Primes*) S4 e S1, que amplificaram um fragmento de 520pb do DNA alvo. Posteriormente, esse fragmento de 520pb foi utilizado como molde para uma segunda amplificação (Nested PCR) com os *Primers* S17 e S1, amplificando um fragmento menor de 480pb. Ao total, foram capturados 46 morcegos, pertencentes a 09 espécies diferentes de morcegos. Em todas às áreas amostradas, foi constatada a presença de infecção para tripanossomatídeos. Dos morcegos analisados, 25 morcegos testaram positivos para diferentes tipos de tripanossomatídeos, embora os tipos específicos ainda necessitem de uma investigação mais aprofundada. Vale ressaltar que todos os morcegos analisados testaram negativo para *Leishmania* spp. Esse resultado foi obtido por meio de análise molecular utilizando PCR convencional utilizando DNA do parasito. Os resultados indicaram um nível mais elevado de infecção no município de Floriano, em comparação com a Floresta Nacional dos Palmares, por representar um ambiente silvestre. A presença de tripanossomatídeos em morcegos pode ter implicações significativas na ecologia desses animais, mas ainda há muito a ser compreendido sobre o papel dos morcegos na preservação dos ecossistemas relacionados a esses parasitos. Portanto, os resultados sugerem que os morcegos não devem ser descartados como possíveis portadores de tripanossomatídeos, e sua participação nos ciclos enzoóticos é relevante para futuras investigações e estudos.

Palavras-chave: Kinetoplastea, morcegos, reservatórios, animais silvestres.

ABSTRACT

The relationship between bats and trypanosomatids is of a complex and variable nature, depending on the species of bats, and the parasites involved, harboring them in their bodies without suffering negative consequences. Furthermore, they play a crucial role in the propagation of these parasites in populations of vectors and other hosts. The aim of this study was to investigate the presence of trypanosomatids in bats in the states of Piauí and Maranhão. To capture the animals, mist nets were used, then the animals were removed from the nets and carefully placed individually in duly numbered cloth bags, with the subsequent purpose of collecting blood samples. These collections were carried out in four different locations: Teresina, Altos, Floriano and Povoado Campo Grande in the municipality of Timon, in the state of Maranhão. Samples were kept at -20°C for subsequent molecular analyses. For the molecular analyses, primers (Primes) S4 and S1 were used, which amplified a 520pb fragment of the target DNA. Subsequently, this 520pb fragment was used as a template for a second amplification (Nested PCR) with Primers S17 and S1, amplifying a smaller fragment of 480pb. In total, 46 bats were captured, belonging to 09 different species of bats. In all areas sampled, the presence of trypanosomatid infection was found. Of the bats studied, 25 bats tested positive for different types of trypanosomatids, although the specific types are still in need of further investigation. It is noteworthy that all analyzed bats tested negative for *Leishmania* spp. This result was obtained through molecular analysis using conventional PCR using parasite DNA. The results indicated a higher level of infection in the municipality of Floriano, compared to the Floresta Nacional dos Palmares, as it represents a wild environment. The presence of trypanosomatids in bats may have significant implications for the ecology of these animals, but there is still much to be understood about the role of bats in preserving ecosystems related to these parasites. Therefore, the results suggest that bats should not be discarded as possible carriers of trypanosomatids, and their participation in enzootic cycles is relevant for future investigations and studies

Keywords: Kinetoplastea, bats, reservoirs, wild animals

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica aproximada das DTUs do <i>T. cruzi</i> nos ciclos de transmissão doméstica e silvestre.....	22
Figura 2 - Mapa das distribuições das DTUs nos biomas brasileiros.....	23
Figura 3 - Diversidade de espécies de <i>Leishmania</i> : Complexos reconhecidos taxonomicamente	25
Figura 4 - Árvore filogenética da ordem Chiroptera de acordo com genes mitocondriais e nucleares de morcegos.....	29
Figura 5 - Mapa dos locais de coletas nos estados do Piauí e Maranhão.	38
Figura 6 - Localidade dos pontos de coletas via satélite. A) UESPI; B) FlonPalmares; C) Povoado Campo Grande - Timon - MA; D) Município de Floriano.....	39
Figura 7 - A) Montagem das redes de neblina (mist nets). B) Materiais utilizados em campo	39
Figura 8 - Número de morcegos infectados para tripanossomatídeos positivos conforme a localidade.....	44
Figura 9 - Gel de agarose a 1% demonstrando resultado da PCR para tripanossomatídeos de quirópteros. MM: marcador de peso molecular; CP: controle positivo; CN: controle negativo.	45
Figura 10 - Número de morcegos positivos para tripanossomatídeos positivos conforme o hábito alimentar.....	45
Figura 11 - A taxa de contaminação de tripanossomatídeos em morcegos é influenciada pelo sexo.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de espécies de morcegos capturados por área.	42
Tabela 2 - Morcegos por espécie encontrada, total do amostrado geral, número de morcegos positivo para tripanossomatídeos e frequência relativa de cada espécie.	44

LISTA DE SIGLA

bp – Pares de base.

DTU - Unidades Discretas de Tipagem

FLONA – Floresta Nacional dos Palmares

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

MA - Maranhão

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase.

PI – Piauí

UESPI – Universidade Estadual do Piauí.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. Classe Kinetoplastea	15
2.2. Relação tripanossomatídeos e seus hospedeiros naturais	16
2.3. Gênero <i>Trypanosoma</i>	18
2.3.1. Diversidade genética encontradas em <i>T. cruzi</i> (DTU e TcBat).....	21
2.4. Gênero <i>Leishmania</i>	24
2.5. Morcegos.....	27
2.6. Morcegos como hospedeiros de <i>Trypanosoma</i> spp. e <i>Leishmania</i> spp.	30
3. JUSTIFICATIVA	35
4. OBJETIVOS	36
4.1. Objetivo Geral.....	36
4.2. Objetivos Específicos	36
5. MATERIAL E MÉTODOS	37
5.1. Área de estudo	37
5.2. Coleta e amostragem dos morcegos.....	39
5.3. Coleta do material biológico	40
5.4. Análise molecular do material biológico.....	40
5.5. Análises Estatísticas	41
5.6. Aspectos éticos e autorização de pesquisa	41
6. RESULTADOS	42
7. DISCUSSÃO	47
8. CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1. INTRODUÇÃO

A família Trypanosomatidae é composta por protozoários parasitas que pertencem à Classe Kinetoplastea, que por sua vez faz parte do Filo Euglenozoa, do supergrupo Excavata. Os membros desta família possuem um ciclo de vida complexo e envolve diferentes hospedeiros e formas evolutivas. Muitas espécies deste grupo estão associadas a hospedeiros invertebrados, principalmente insetos vetores, onde estes parasitos vivem pelo menos uma parte do seu ciclo de vida. Esses organismos são classificados como protozoários cinetoplastídeos devido à presença do cinetoplasto, uma organela especializada em DNA extracelular (Cavalier-Smith, 2016; Lukes *et al.*, 2014).

Alguns tipos de tripanossomatídeos podem infectar vários mamíferos, incluindo seres humanos. Exemplos notáveis são o *Trypanosoma cruzi* e a *Leishmania chagasi*, que podem causar graves efeitos na saúde humana (Stuart *et al.*, 2015).

Ao longo do processo evolutivo, os parasitos tripanossomatídeos desenvolveram adaptações para sobreviver e se reproduzir nos diferentes tipos de hospedeiros que fazem parte do seu ciclo de vida. Essas adaptações são essenciais para sua capacidade de persistência e transmissão. No caso dos tripanossomatídeos heteroxênicos, que possuem um ciclo de vida envolvendo múltiplos hospedeiros, muitos deles evoluíram em conjunto com insetos hematófagos, como vetores. Esses parasitos desenvolveram adaptações que lhes permitem sobreviver e se reproduzir em diferentes hospedeiros ao longo do ciclo (Deschamps *et al.*, 2011).

Essas adaptações incluem mecanismos para resistir às defesas do hospedeiro, como a capacidade de evadir do sistema imunológico ou estabelecer infecções crônicas. Além disso, esses parasitos podem apresentar modificações morfológicas ou bioquímicas em diferentes estágios do ciclo de vida para se adaptarem às condições de cada hospedeiro. Essas adaptações são resultado da pressão seletiva ao longo do tempo, impulsionada pela necessidade de sobrevivência e transmissão bem-sucedida do parasito. A evolução em conjunto com insetos vetores desempenhou um papel importante na diversificação e no sucesso dos tripanossomatídeos como parasitos (Garcia; Rodrigues, 2018).

Estudos, como os de Wheller *et al.* (2013) destacam a importância da morfologia na classificação desses organismos. Os tripanossomatídeos pertencem a um grupo diverso de protozoários flagelados, que inclui várias espécies de importância médica-veterinária, como *T. cruzi* e as espécies de *Leishmania* spp. Entretanto, a morfologia desempenha um papel

fundamental na diferenciação das espécies existentes. Eles apresentam uma ampla variedade de formas e estágios evolutivos, e essas características morfológicas podem variar significativamente entre as espécies. A análise morfológica é uma abordagem tradicionalmente utilizada para a identificação desses organismos. Os diferentes estágios de desenvolvimento, como promastigotas, amastigotas e tripomastigotas, possuem características distintas que permitem sua identificação. Características como a forma e o tamanho do corpo, a presença e a localização de flagelos, e a presença de estruturas como o cinetoplasto e o axonema, entre outros, são utilizados na análise morfológica para distinguir espécies.

A combinação de técnicas morfológicas, genéticas e bioquímicas é essencial para uma classificação mais precisa e uma compreensão mais aprofundada da diversidade e da evolução dos tripanossomatídeos. Cada uma dessas técnicas fornece informações complementares que ajudam a traçar um quadro mais completo da biologia desses parasitas e das doenças que eles causam. A análise genética, por meio de técnicas como sequenciamento de DNA e a análise filogenética, permite investigar as relações evolutivas entre diferentes espécies de tripanossomatídeos. Essas informações filogenéticas ajudam a entender a origem e a evolução desses parasitos, bem como a diversificação de suas linhagens ao longo do tempo. A análise bioquímica, por sua vez, permite estudar as vias metabólicas e as interações bioquímicas que ocorrem entre os tripanossomatídeos e seus hospedeiros. Isso inclui a identificação e a caracterização de enzimas e proteínas específicas envolvidas em processo metabólico, como a síntese de nutrientes essenciais e a interação com o sistema imunológico do hospedeiro (Moon *et al.*, 2018).

Um número significativo de tripanossomatídeos pode ser encontrado infectando morcegos, desde as espécies restritas a esses animais até outras espécies capazes de infectar outros hospedeiros. Além das espécies de *T. cruzi* e *Leishmania* spp., outros grupos de tripanossomatídeos, como *Blastocrithidia* sp., *Herpetomonas* sp. e *Crithidia* sp., foram registrados infectando morcegos. Esses parasitos estão associados a importantes problemas de saúde pública (Hodo *et al.*, 2016). O *T. cruzi* é transmitido principalmente por triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), conhecidos popularmente como “barbeiros”, que são artrópodes hematófagos. Os morcegos podem abrigar diferentes linhagens de *T. cruzi*, e que embora sua importância na transmissão para humanos seja discutida, eles desempenham um papel importante na manutenção do ciclo de transmissão do parasita. Quanto às leishmanioses, várias espécies são transmitidas por flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), pequenos dípteros do gênero *Lutzomyia* nas Américas.

Morcegos podem ser hospedeiros de diferentes espécies desses parasitos e, embora sua importância na transmissão para humanos seja menos conhecida, eles têm sido implicados como possíveis reservatórios desses patógenos. Embora o papel desses protozoários em relação à saúde desses animais e à transmissão de doenças ainda esteja sendo investigada, essas descobertas sugerem a diversidade e a capacidade de adaptação dos tripanossomatídeos em diferentes hospedeiros (Meira *et al.*, 2016 Palace-Berl *et al.*, 2018). Pesquisas científicas, incluindo os estudos mencionados de Marcili *et al.* (2013) e Lourenço *et al.* (2018), investigaram a presença e a diversidade de tripanossomatídeos em morcegos. Esses parasitos podem ser encontrados em diversos órgãos e tecidos desses animais, como o sangue, a pele e o trato digestivo.

Embora os morcegos possam ser infectados pelo os tripanossomatídeos, nem todos apresentam sintomas ou desenvolvem doenças. Alguns morcegos podem ser portadores assintomáticos, enquanto outros podem ser hospedeiros intermediários ou reservatórios, contribuindo para a transmissão para outros hospedeiros, como os humanos. O estudo de tripanossomatídeos em morcegos é de grande importância por várias razões, principalmente do ponto de vista de saúde pública, ecológico e preservação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Classe Kinetoplastida

A Classe Kinetoplastea é um grupo de protozoários pertencente ao reino Excavata e ao filo Euglenozoa (Honigberg, 1963). Esses organismos possuem um ou dois flagelos que emergem de uma bolsa flagelar. Podem ser encontrados tanto como formas de vida livre quanto como parasitos de vertebrados, invertebrados e plantas, Hoare; Wallace (1966).

Uma característica marcante dos Kinetoplastea é a presença do cinetoplasto, uma estrutura localizada próximo à base do flagelo, tornando-se responsável pela produção de RNAm. Essa estrutura desempenha um papel essencial no metabolismo celular desses organismos, abrangendo uma diversidade de gêneros e espécies, sendo os gêneros *Trypanosoma* sp. e *Leishmania* sp. conhecidos. Esses parasitos são responsáveis por ocasionar patologias em animais vertebrados, inclusive em humanos. Além disso, muitos membros dessa classe possuem papéis ecológicos importantes, atuando como predadores de bactérias ou como componentes do zooplâncton em ecossistemas aquáticos (Vickerman, 1976).

Os cinetoplastídeos, que incluem os tripanossomatídeos e outros organismos relacionados, apresentam diferentes padrões de organização do cinetoplasto. Esses padrões foram descritos por Luke *et al.* (2002):

I – Pancinetoplasto: nesse padrão, o cinetoplasto está distribuído por toda matriz mitocondrial. É observado em organismos com *Bodo caudatus* e em algumas espécies do gênero *Cryptobia*.

II – Policinetoplasto: o cinetoplasto é composto por grânulos separados que estão presentes dentro da mitocôndria. Esse padrão é encontrado principalmente em espécies do gênero *Dimastigella*.

III – Eucinetoplasto: esse é o padrão mais comum nos tripanossomatídeos e em outros organismos relacionados, como *Bodo saltans*. No eucinetoplasto, o cinetoplasto consiste em uma única massa condensada, estando localizada próximo à base do flagelo.

No entanto, a Classe Kinetoplastida era denominada como Ordem Kinetoplastida e estava subdivida em duas subordens: *Trypanosomatina* e *Bodonida*. Essas subordens eram definidas com bases em características morfológicas, presença do cinetoplasto e ciclo de vida dos protozoários pertencentes a esses grupos. Essa classificação foi proposta em estudos realizados por Simpson *et al.* (2006) e Stevens (2008). Mas, é importante ressaltar que a

classificação pode estar sujeita a revisões e atualizações à medida que novas informações são obtidas por meio de estudos filogenéticos e análises moleculares.

Foi proposta uma divisão da classe Kinetoplastea em duas subclasses: Prokinetoplastina e Metakinetoplastina. A subclasse Prokinetoplastina contém apenas a ordem Prokinetoplastida, que por sua vez, inclui os gêneros *Ichthyobodo* e *Perkinsela*. Por outro lado, a subclasse Metakinetoplastina é composta por quatro ordens: Eubodonida, Neobodonida, Parabodonida e Trypanosomatida. As três primeiras ordens são formadas por organismos bodonídeos, enquanto a ordem Trypanosomatida é representada por uma única família, a Trypanosomatidae, que inclui organismos parasitos obrigatórios.

2.2. Relação tripanossomatídeos e seus hospedeiros naturais

A expansão das fronteiras agrícolas e a destruição dos habitats naturais para a criação de áreas de cultivos têm levado o homem adentrar e modificar os ecossistemas naturais. Isso resulta em um maior contato com animais silvestres e, conseqüentemente, com os parasitos que eles carregam. O desmatamento e a fragmentação de florestas, por exemplo, podem levar ao deslocamento de animais e à alteração de suas interações com parasitos e vetores. Outro fator é o aquecimento global, que tem impactos significativos nos padrões climáticos e na distribuição geográfica de diferentes espécies. Isso pode afetar a ecologia dos parasitos e seus hospedeiros e na umidade pode influenciar a sobrevivência, reprodução e atividade de vetores, bem como a dinâmica do ciclo de vida dos parasitos (Borghesan, 2013).

Além disso, o ecoturismo tem se tornado cada vez mais popular, levando as pessoas a visitarem áreas naturais e a terem contato direto com a fauna local. Essa interação entre humanos e animais selvagens pode facilitar a transmissão de parasitos. É importante ressaltar que esses fatores não apenas aumentam o contato entre o homem e os ciclos de transmissão de parasitos, mas também podem ter impactos na saúde pública. A disseminação de doenças transmitidas por vetores, como a malária, doença de Chagas, leishmanioses e a febre amarela, pode ser facilitada por essas interações (Simpson; Rodrigues *et al.*; Smid *et al.*, 2006).

Várias mudanças ambientais, sejam elas naturais ou causadas pelo ser humano, tem contribuído para acelerar o processo de dispersão de parasitos para novas áreas e facilitar o contato desses parasitos com novos hospedeiros. Os tripanossomatídeos, por exemplo, são organismos eucariontes, unicelulares e uniflagelados que possuem uma ampla distribuição geográfica. Esses parasitos têm a capacidade de infectar uma variedade de animais, tanto

vertebrados quanto invertebrados, além de plantas. Entre os animais vertebrados, os tripanossomatídeos podem infectar uma diversidade de espécies, como roedores, marsupiais, quirópteros, carnívoros, endentados, primatas, equídeos, peixes, répteis e anfíbios. Isso demonstra sua habilidade de se adaptar a diferentes hospedeiros dentro desses grupos de animais (Sturt *et al.*, 2015).

De acordo com a classificação mais atual dos protistas, os tripanossomatídeos são divididos no Supergrupo Excavata, grupo Euglenozoa e no subgrupo Kinetoplastea (Redhead *et al.*, 2006). No entanto, é importante mencionar que a maioria das referências bibliográficas ainda utiliza a classificação tradicional, onde os tripanossomas são classificados no Filo Euglenozoa (Cavalier-Smith, 1981), na Classe Kinetoplastea (Konigberg, 1963; Vickerman, 1976), na Ordem Trypanosomatida (Kent, 1880), na Família Trypanosomatidae (Doflein, 1901) e no Gênero *Trypanosoma* (Gruby, 1843) e *Leishmania* (Ross, 1903).

A identificação de uma espécie como reservatório de *T. cruzi* ou *Leishmania* spp. baseia-se em uma série de critérios. Estes incluem: (i) a suscetibilidade do hospedeiro vertebrado ao parasita; (ii) a sobreposição geográfica e temporal entre a distribuição do hospedeiro, do parasita e dos vetores; (iii) a presença do mesmo parasita tanto o hospedeiro reservatório quanto no ser humano; (iv) uma alta prevalência de infecção em subpopulações específicas do hospedeiros, como diferentes taxas etárias, gêneros, entre outros; (v) a capacidade do hospedeiro reservatório natural infectado de transmitir a infecção; (vi) a sobrevivência do hospedeiro por tempo suficiente para garantir a transmissão do parasita (Monteiro; Carvalho, 2012; Villela; Loureiro, 2015).

O *T. cruzi* circula naturalmente no ambiente silvestre entre mamíferos de diversos grupos, como preguiças (*Bradypus* sp., *Choloepus* sp.), morcegos, marsupiais (*Didelphis* sp.), primatas, roedores, tatus e em triatomíneos, os quais atuam como seus hospedeiros invertebrados, principalmente os pertencentes aos gêneros *Rhodnius* sp., *Panstrongylus* sp. e *Triatoma* sp. (Smith *et al.*, 2018).

Os marsupiais, grupo de mamíferos que inclui espécies como os gambás, têm sido frequentemente relatados como hospedeiros infectados *T. cruzi* em diversos biomas (Barros *et al.*, 2017). Entre esses marsupiais, os gambás são reconhecidos como importantes reservatórios e desempenham um papel significativo no ciclo de transmissão da doença (Jansen *et al.*, 2018). Esses animais têm a capacidade de se infectar com *T. cruzi* por via oral, uma vez que são onívoros e se alimentam tanto de triatomíneos quanto de outros pequenos mamíferos que podem estar infectados (Jansen; Xavier; Roque, 2018).

Em relação à *Leishmania* sp., reconhecem-se cerca de 30 espécies diferentes em todo o mundo, sendo a maioria delas identificadas como parasitos de animais silvestres e, em menor frequência, de animais domésticos (Dantas-Torres *et al.*, 2012). Nas leishmanioses, considerando a complexidade da interação parasito-hospedeiro-vetor, que envolve diferentes espécies de parasitos, hospedeiros e vetores em diversas regiões geográficas, é importante destacar que um reservatório primário em determinada região pode atuar como secundário em outra região ou em diferentes períodos do ano (Oliveira *et al.*, 2017).

O papel de mamíferos silvestres como potenciais reservatórios de *Leishmania* sp. tem sido objeto de discussão, principalmente devido a relatos ocasionais de manifestações clínicas de leishmaniose em espécies silvestres de diferentes ordens (Días-Sáez *et al.*, 2014). Embora algumas dessas espécies ainda tenham sido pouco estudadas nesse contexto, evidências sugerem que o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), gambás (*Didelphis* spp. e *D. marsupialis*), morcegos (*Chiroptera*) podem desempenhar o papel de reservatórios de *Leishmania* sp. Essas espécies têm sido descritas como potenciais reservatórios em áreas endêmicas de transmissão da leishmaniose nas Américas (Achilles, 2018; Roque; Jansen, 2014).

Em relação ao ciclo de vida, os tripanossomatídeos são divididos em dois grupos: heteroxênicos e monoxênicos. Os tripanossomatídeos heteroxênicos são caracterizados por possuírem dois hospedeiros em seu ciclo biológico, um inseto vetor e um hospedeiro vertebrado ou planta. Esse grupo é atualmente reconhecido por abrigar espécies que são responsáveis por enfermidades importantes em humanos e em outros mamíferos. Algumas doenças incluem a leishmaniose, a doença de Chagas e a doença do sono, causadas respectivamente por espécies de protozoários já abordados anteriormente (Amaro *et al.*, 2008; Stoco *et al.*, 2014). Essas patologias têm impactos graves à saúde humana e exigem medidas eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento. Compreender o ciclo de vida dos tripanossomatídeos e sua interação com os hospedeiros é fundamental para combater essas enfermidades.

2.3. Gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* sp. abrange vários parasitos flagelados que podem causar doenças em humanos e animais. Esses parasitos são transmitidos por diferentes insetos hematófagos, como espécies de hemípteros da subfamília Triatominae (conhecidos como barbeiros) e da família Cimicidae (percevejos da cama), dípteros, pulgas (Siphonaptera), carrapatos (Parasitiforme) e sanguessugas (Clitellata) (Hamilton, 2008; Gibson; Pizarro, 2007).

Essa ampla gama de vetores e hospedeiros contribui para a disseminação dos tripanossomatídeos do gênero *Trypanosoma* e sua capacidade de causar doenças em uma variedade de organismos. As doenças mais conhecidas causadas por espécies de *Trypanosoma* incluem a doença de Chagas, transmitida por triatomíneos, e a doença do sono africana, transmitida por moscas Tsé-tsé. No entanto, existem também outras doenças causadas por diferentes espécies do gênero citado anteriormente, afetando diferentes animais (Barret; Vicent, 2019).

A classificação proposta por Hoare (1972) é amplamente reconhecida e utilizada na área da parasitologia para o gênero *Trypanosoma*. Essa classificação leva em consideração a forma de transmissão e o desenvolvimento do parasito no vetor. De acordo com essa classificação, os tripanossomatídeos que pertencem à seção Stercoraria são aqueles que se desenvolvem no tubo digestivo do vetor e são transmitidos por meio de fezes eliminadas durante o repasto sanguíneo. Esses tripanossomas são encontrados em diversas regiões geográficas e incluem várias espécies capazes de causar doenças em humanos e animais.

Conforme observado por Buscher *et al.* (2017), os tripanossomas que se desenvolvem o tubo digestivo do vetor apresentam um ciclo que envolve várias formas morfológicas, incluindo epimastigotas, promastigotas e tripomastigota metacíclica. Essas diferentes formas podem ser encontradas nas fezes do vetor e, quando ingeridas por um hospedeiro suscetível, podem resultar na infecção pelo parasita.

A seção salivaria dos tripanossomas, inclui diferentes subgêneros, como *Duttonella*, *Pycnomonas*, *Trypanozoon* e *Nannomonas*, os quais são encontrados no continente africano e transmitidos por insetos vetores através da inoculação das formas tripomastigotas metacíclicas presentes nas glândulas salivares desses insetos (Desquesnes *et al.*, 2003). As espécies de parasito dessa seção possuem a capacidade de permanecer no hospedeiro através da troca contínua de uma proteína de superfície chamada de VSG (*variant surface glycoprotein*). Essa estratégia permite que o parasito evite o sistema imunológico do hospedeiro e escape do reconhecimento e eliminação pelo sistema imunológico (Bautista-López *et al.*, 2017).

Conforme estudos filogenéticos, *Trypanosoma* sp. é considerado um grupo monofilético, ou seja, todas as suas espécies compartilham um ancestral comum. Esse gênero é dividido em três clados principais, conforme as seguintes referências: (I) o clado *T. cruzi* inclui espécies *T. cruzi*, *T. conorhini*, *T. rangeli*, *T. dionisii*, bem como aquelas encontradas exclusivamente em morcegos, como *T. c. marinkellei*, presente na América do Sul. Também fazem parte desse clado as espécies *T. livingstonei*, *T. vespertilionis* (Lima *et al.*, 2013), *T.*

wauwau (Lima *et al.*, 2015), *T. erney* (Lima *et al.*, 2012) e *T. noyesi* (Botero *et al.*, 2016), que foi recentemente incluída nesse clado, apesar de ter sido encontrado parasitando marsupiais; (II) o segundo clado *T. brucei*, que engloba os tripanossomatídeos que parasitam mamíferos e têm origem no continente africano; (III) o terceiro clado é formado por tripanossomatídeos aquáticos, presentes em peixes e anfíbios. Além desses três cladros principais, existem outros quatro cladros citados que foram propostos, mas necessitam de abordagem filogenéticas adicionais para serem confirmado com clareza. Esses cladros são os cladros de répteis, o clado de aves, o clado *T. theileri* e o clado *T. lewisi*, representado pelas espécies do subgênero *Herpetosoma* (Hamilton; Stevens, 2010; Rodrigues *et al.*, 2010; Fermino *et al.*, 2013; Yurchenko *et al.*, 2016).

O subgênero *Schyzotrypanum* é um grupo dentro do gênero *Trypanosoma* sp. que inclui espécies notáveis, como *T. cruzi*, responsável pela doença de Chagas, e o *T. rangeli*, um parasita comum de mamíferos da América do Sul. Acredita-se que as espécies do gênero *Trypanosoma* tenham evoluído a partir de ancestrais de vida livre, ao longo do tempo, tenham adquirido mudanças genéticas que lhes permitem se adaptar ao modo de vida parasitário. Essas mudanças genéticas conferiram-lhe a capacidade de invadir e colonizar células de seus hospedeiros, estabelecendo assim uma relação parasitária (Coura; Borges-Pereira, 2010). Acredita-se que o *T. cruzi* tenha estabelecido uma relação parasitária com morcegos e outros mamíferos há milhões de anos, e a infecção em humanos como hospedeiros adequados ocorreu recentemente, provavelmente há cerca de 9 mil anos (Stevens; Noyes, 2017).

Estudos recentes indicam que o clado *T. cruzi* pode ser dividido em três subclados distintos. O primeiro inclui isolados de espécies de *T. rangeli*. O segundo abrange o *T. conorhini*, que parasita *Rattus rattus*, além de tripanossomatídeos provenientes de morcegos do continente africano e europeu. O terceiro agrupa espécies como *T. cruzi*, *T. dionisii*, *T. c. marinkellei* e *T. emeyi*, assim como outras espécies do subgênero *Schyzotrypanum*. Essa classificação foi estabelecida como base em estudos realizados por Hamilton, Teixeira e Stevens (2012), Lima *et al.* (2012, 2013, 2015).

Trypanosoma c. marinkellei é uma subespécie de *T. cruzi* que está mais estreitamente relacionada evolutivamente com outras subespécies de *T. cruzi* do que com outras espécies do gênero *Trypanosoma*. É conhecido que os triatomíneos do gênero *Cavernicola* são vetores dessas subespécies e são encontrados em ambientes como cavernas e telhados de folhas de palmeiras. Os morcegos são frequentemente encontrados nesses mesmos ambientes, e estima-se que parte desses animais esteja infectado com *T. c. marinkelei*, atuando como reservatórios

da doença. A infecção em humanos causadas por *T. c. marinkelei* é relativamente rara e tem sido descrita principalmente em regiões da Amazônia brasileira (Ramirez *et al.*, 2014a).

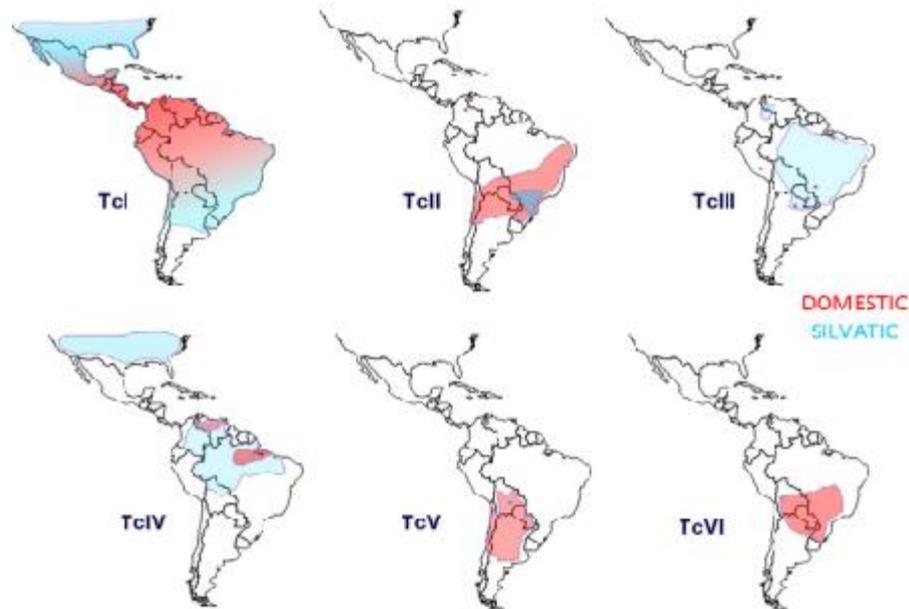
O *T. dionisii* é uma espécie de tripanossoma que está filogeneticamente próxima ao *T. cruzi*. Estudos recentes demonstraram que *T. dionisii* apresenta uma grande similaridade genômica com *T. cruzi* e compartilha muitas características bioquímicas e moleculares com essa espécie. Além disso, o *T. dionisii* possui estágios evolutivos semelhantes aos de *T. cruzi*, incluindo a capacidade de invadir células não fagocíticas de mamíferos e formar ninhos de formas amastigotas e pseudocistos. No entanto, ainda pouco se sabe sobre a patogenicidade do *T. dionisii* em humanos, e mais estudos são necessários para entender a melhor biologia e epidemiologia dessa espécie de *Trypanosoma* (Lima *et al.*, 2015).

2.3.1. Diversidade genética encontradas em *T. cruzi* (DTU e TcBat)

T. cruzi é constituído de uma grande diversidade genética, que é resultado da sua história evolutiva complexa e da sua enorme capacidade de adaptar-se a diferentes ambientes e hospedeiros. Essa variabilidade genética está agrupada em diferentes subpopulações ou DTUs, Unidades Discretas de Tipagem, do inglês *Discrete Typing Units*, que são caracterizadas com base nas diferenças genéticas. Até o momento, foram descritas sete DTUs em *T. cruzi*, sendo que cada uma delas apresenta características biológicas, genéticas e epidemiológicas específicas (Zingales *et al.*, 2014; Ramirez *et al.*, 2014b). A figura 1 apresenta a distribuição geográfica aproximada das DTUs do *T. cruzi* nos ciclos de transmissão doméstica e silvestre.

No momento são reconhecidas seis DTUs clássicas (TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV e TcVI), mas recentemente uma nova unidade genética foi descoberta, denominada TcBat, encontrada em morcegos hematófagos na América Central e do Sul. Essa cepa foi identificada como uma linhagem distinta de *T. cruzi*, que parece estar restrita aos morcegos (Ramirez *et al.*, 2014a). Mas, embora não seja ainda considerada uma DTU clássica, TcBat apresenta divergência genética significativa em relação às outras DTUs de *T. cruzi*.

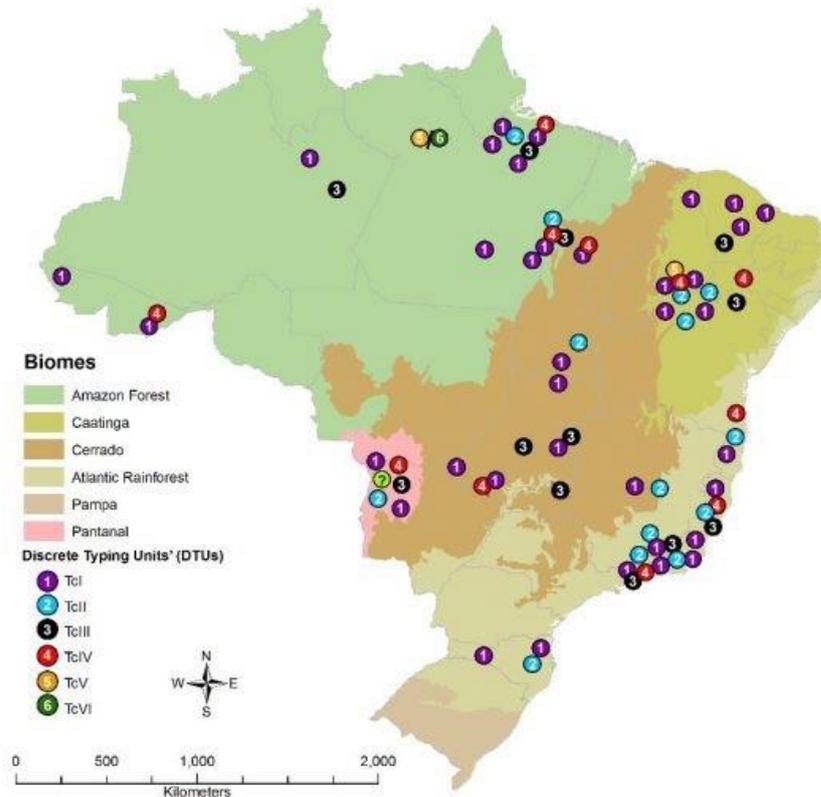
Figura 1 - Distribuição geográfica aproximada das DTUs do *T. cruzi* nos ciclos de transmissão doméstica e silvestre.



Fonte: Adaptado de Zingales *et al.* (2012).

Sabe-se que essas DTUs apresentam uma distribuição ecológica e geográfica distinta no Brasil, ou seja, estão intimamente relacionadas aos seus hospedeiros vertebrados e invertebrados, bem como às condições ambientais em que se encontram. Neste sentido, a distribuição das DTUs de *T. cruzi* no Brasil é intimamente influenciada por vários fatores, que vai desde a biodiversidade, ecologia de seus respectivos hospedeiros, como os vetores envolvidos, não deixando também de enfatizar a participação das condições ambientais, topografia, cobertura vegetal e o clima. O conjunto desses fatores envolvidos é fundamental para o desenvolvimento de estratégias específicas de controle e a prevenção da doença de Chagas em diferentes regiões no país (Messenger; Miles; Bern, 2015). A figura 2 apresenta o mapa das distribuições das DTUs de *T. cruzi* no Brasil de acordo com os biomas do país.

Figura 2 - Mapa das distribuições das DTUs nos biomas brasileiros.



Fonte: Adaptado do Laboratório de Biologia dos tripanossomatídeos – IOC/FIOCRUZ.

A TcI é considerada um dos genótipos parentais da espécie *T. cruzi*. É amplamente distribuída e a mais encontrada no ambiente silvestre no Brasil como em outros países das Américas. Essa DTU caracteriza-se por uma alta diversidade genética e estudos indicam que teria divergido há pelo menos 3 milhões de anos (Zingales *et al.*, 2019). Mas, estudos apontam que com os eventos da recombinação genética, houve favorecimento da dispersão dessa DTU através dos seus vários hospedeiros, incluindo mamíferos silvestres e vetores de triatomíneos. Essa grande diversidade genética de TcI permitiu que essa DTU se adaptasse a diferentes ambientes e hospedeiros, permitindo sua ampla distribuição geográfica (Lima *et al.*, 2014).

É frequentemente associada aos ciclos silvestres de transmissão da doença de Chagas, envolvendo mamíferos marsupiais e roedores, bem como espécies de triatomíneos silvestres. No entanto, também pode ser encontrada em ciclos de transmissão domiciliar, envolvendo animais domésticos e humanos, especialmente em áreas rurais (Breniere *et al.*, 2016).

A DTU TcII, embora menos comum que a TcI, possui uma distribuição significativa em todo o país e foi detectada em vários tipos de animais, incluindo roedores, marsupiais, carnívoros, primatas e quirópteros. Estudos realizados indicam que esta DTU é menos

prevalente no meio silvestre em comparação com TcI e que esses dois genótipos podem usar diferentes mecanismos para sua transmissão (Ramírez *et al.*, 2014b).

No que tange aos genótipos TcIII e TcIV, a teoria atualmente mais aceita é que a origem dos genótipos aconteceu a partir de um processo de hibridação, entre as DTUs TcI e TcII, que resultou na formação da nova linhagem com características genéticas distintas. A evidência genética sugere que a DTU TcIII surgiu de um cruzamento entre a cepa TcI e uma cepa TcII, enquanto a DTU TcIV se originou de um cruzamento entre uma cepa de TcII e outra cepa TcI (Messenger; Miles; Bern, 2015). Essa teoria de hibridação entre as DTUs TcI e TcII foi proposta inicialmente com base em análises moleculares, incluindo estudos de sequenciamento do genoma do *T. cruzi*. No entanto, a natureza exata do processo de hibridação ainda não está completamente clara e é objetivo de investigação contínua (Breniere *et al.*, 2016).

Referente as linhagens TcV e TcVI, a hibridação entre TcII e TcIII deu origem às linhagens TcV e TcVI, que têm sido associadas predominantemente a casos humanos, especialmente na região Amazônica. Essas cepas são menos comuns do que as DTUs TcI, TcII, TcIII e TcIV, e sua distribuição tem sido pouco estudada no meio silvestre (Zingales, *et al.*, 2015).

O genótipo TcBat é muito próximo do genótipo TcI nas análises filogenéticas, o que traz inferências sobre a origem da espécie *T. cruzi*. Acredita-se que o *T. cruzi* tenha se originado de uma espécie ancestral que infectava morcegos, e que a maioria das linhagens evoluiu em um ciclo de transmissão exclusivamente entre morcegos. No entanto, a linhagem TcI foi capaz de se adaptar a outros hospedeiros, incluindo humanos e outros mamíferos silvestres, o que torna a única no subgênero *Schizotrypanum*. O genótipo TcBat, associado principalmente a morcegos, é uma variante do *T. cruzi*. Sua presença em vários biomas no Brasil e outros países da América Latina, incluindo Colômbia, é uma evidência de sua capacidade de infectar diferentes hospedeiros e se adaptar a diferentes ambientes. Isso tem implicações significativas para a saúde pública e para pesquisas científicas. A presença ocasional do TcBat em humanos é preocupante, uma vez que os morcegos são hospedeiros naturais. Isso levanta preocupações importantes voltado para a saúde pública, especialmente em áreas onde morcegos e seres humanos tem contato próximo. (Marcili *et al.*, 2014).

2.4. Gênero *Leishmania*

O gênero *Leishmania* engloba mais de 30 espécies de parasitas transmitidas por insetos flebotomíneos dos gêneros *Lutzomyia* (Américas) e *Phlebotomus* (Velho mundo), por meio de picadas. Esses parasitos possuem duas formas evolutivas: promastigotas, encontradas nos

insetos vetores, e amastigotas, presentes nos hospedeiros vertebrados. O ciclo de vida desses parasitos é heteroxênico, ou seja, ocorre em dois hospedeiros diferentes. Inicia-se quando as formas promastigotas metacíclicas são regurgitadas no hospedeiro vertebrado durante alimentação do mosquito fêmea. Dentro do hospedeiro vertebrado, essas formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear, como os macrófagos, onde se alojam em vacúolos parasitóforos (WHO, 2016).

Os insetos responsáveis pela transmissão das espécies do gênero *Leishmania* são conhecidos como flebotomíneos, também chamados popularmente de mosquitos-palha, birigui e tatuquira. Esses insetos pertencem a família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*. No Brasil, a espécie principal de flebotomíneo associado aos ciclos de transmissão da leishmaniose visceral é o *Lutzomia longipalpis*, que possui uma ampla distribuição geográfica, abrangendo todas as áreas onde a doença ocorre (Forattini *et al.*, 1970; Galvis-Ovallos *et al.*, 2017).

Além do *Lutzomia longipalpis*, outras espécies de flebotomíneos tem sido descrita como importantes vetores dos protozoários do gênero *Leishmania*. Essas espécies incluem *Bichromomyia flaviscutellata*, *B. olmeca nociva*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia anduzei*, *N. umbratillis*, *N. intermedia*, *N. whitmani* e *Psychodopygus wellcome* (Ready *et al.*, 1986; De Carvalho *et al.*, 2010; Malafaia *et al.*, 2009; Thies *et al.*, 2018). Esses flebotomíneos desempenham um papel importante na transmissão da leishmaniose, atuando como vetores entre humanos e outros animais hospedeiros, como cães, marsupiais, quirópteros e roedores, que podem ser reservatórios da doença.

Atualmente, o gênero *Leishmania* é dividido em três subgrupos: *Leishmania*, *Viannia* e *Sauroleishmania*. O subgênero *Sauroleishmania* engloba parasitos encontrados em répteis no Velho Mundo e, até o momento, não são reconhecidos como de importância médica-veterinária. Assim como no gênero *Trypanosoma*, os parasitos do gênero *Leishmania*, de acordo com Lainson e Shaw (1979) são classificados de acordo com seu desenvolvimento no hospedeiro intermediário. Temos as seguintes seções: i) seção hipopilária: reúne parasitos que se desenvolvem na porção posterior do intestino do vetor. Nesta seção estão os parasitos do subgênero *Sauroleishmania*; ii) seção suprapilaria que reúne parasitos que se desenvolvem na porção anterior e média do intestino do vetor. Nesta seção estão os parasitos do subgênero *Leishmania*; iii) seção peripilaria, agrupa parasitos com desenvolvimento no intestino posterior, mas que migram para o médio e anterior. Nesta seção os parasitos do subgênero *Viannia*, bem como alguns do subgênero *Sauroleishmania*.

A organização dos subgêneros e espécies do gênero *Leishmania* em “complexos” é uma abordagem taxonômica e epidemiológica que leva em consideração não apenas a classificação filogenética, mas também a relevância clínica e epidemiológica das diferentes espécies. Existem oito complexos distintos, onde algumas espécies são de particular importância médica devido à associação com a leishmaniose e às diversas formas clínicas dessa doença (Brandão, 2016). A seguir, apresento uma breve descrição desses complexos, conforme a figura 3.

- Complexo *Leishmania (Viannia)*: Este complexo é composto por várias espécies de *Leishmania* encontradas nas Américas, incluindo *Leishmania braziliensis*, *L. naiffi*, *L. lainsoni*, *L. guyanensis*. Essas espécies são de grande importância médica e estão associados a diferentes formas clínicas da leishmaniose cutânea e mucocutânea nas regiões tropicais e subtropicais.
- Complexo *Leishmania (Leishmania)*: Este complexo inclui espécies como *L. donovani*, que é responsável pela leishmaniose visceral, uma forma grave da doença que afeta órgãos internos, como baço, fígado. A leishmaniose visceral é uma condição potencialmente fatal se não tratada.

Figura 3. Diversidade de espécies de *Leishmania*: Complexos reconhecidos taxonomicamente

Subgêneros	<i>Leishmania (Leishmania)</i>				<i>Leishmania (Viannia)</i>			
Complexos	<i>L. donovani</i>	<i>L. tropica</i>	<i>L. major</i>	<i>L. mexicana</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. lainsoni</i>	<i>L. naiffi</i>
Espécies	<i>L. infantum</i> ; <i>L. archibaldi</i> ; <i>L. donovani</i>	<i>L. tropica</i> ; <i>L. aethiopica</i>	<i>L. major</i>	<i>L. amazonenses</i> ; <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoi</i> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. enrieti</i> <i>L. aristidesi</i> ; <i>L. garnhami</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. peruviana</i>	<i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i>	<i>L. lainsoni</i>	<i>L. naiffi</i>

Noyes, 1998; Cupolillo et al., 2000; Fraga et al., 2010; Lainson, 2010; Schonian et al., 2010

Fonte: Adaptado de Brandão (2016)

No Brasil, a leishmaniose tegumentar americana (LTA), que abrange tanto as leishmanioses cutânea quanto as mucocutâneas, é causada por seis diferentes espécies de *Leishmania*. Cada uma delas possui suas próprias características de transmissão e ciclo de vida. A espécie *L. braziliensis* por exemplo, é uma das mais importantes LTA no Brasil. Ela é transmitida por flebotomíneos como *Lu. whitmani*, *Lu. wellcome* e *Lu. intermedia*. Seu ciclo predominante ocorre em ambientes de mata, onde animais silvestres atuam como hospedeiros, mas, nos últimos anos também tem sido registrado em áreas urbanas, devido à degradação das áreas naturais. *L. amazonensis*, outra espécie presente no país, é associada principalmente à leishmaniose cutânea e tem como vetores *Lu. flaviscutellata* e *Lu. olmeca*, que estão ligados a

ambientes silvestres. *L. guyanensis*, por sua vez, é uma importante causadora da leishmaniose cutânea e tem como vetores *Lu. anduzei*, *Lu. umbratilis* e *Lu. whitmani*. *Lu. naiffi* é transmitida por flebotomíneos antropofílicos, como *Lu. squamiventris*, *Lu. paraenses* e *Lu. ayrozai*. *L. shawi*, cujo vetor é o *Lu. whitmani*, é encontrada na região norte do país, enquanto *L. lainsoni* é restrita à região amazônica e tem como vetor a espécie *Lu. ibiquitali* (Steindel *et al.*, 2013).

A leishmaniose tegumentar é uma doença caracterizada pela formação de lesões na pele, que podem ser únicas ou múltiplas, e geralmente se desenvolvem no local da picada do flebotomíneo, que é vetor responsável pela transmissão do parasito. Essas lesões cutâneas são uma manifestação comum da doença. Por outro lado, a leishmaniose mucocutânea é uma forma mais grave da doença, na qual as lesões iniciais, em vez de se limitarem à pele, podem se espalhar para as mucosas, frequentemente afetando a área nasal, especialmente o septo nasal. Essa forma da doença está quase sempre associada à espécie *L. braziliensis* (Rey, 2008).

2.5. Morcegos

Os morcegos é um grupo diversificado de mamíferos. Constituem a segunda maior Ordem de mamíferos, com um número significativo de famílias, gêneros e espécies. De acordo com dados recentes, existem aproximadamente 21 famílias, 236 gêneros e mais de 1400 espécies de morcegos em todo o mundo (Léger, 2020; Mammal Diversity, 2022; Simmons; Cirranello, 2020).

No Brasil, em particular, essa diversidade também é notável. Até o momento, foram descritas 181 espécies de morcegos distribuídas em 9 famílias e 68 gêneros (Garbino *et al.*, 2020). Isso destaca a importância do Brasil na conservação e pesquisas desses mamíferos voadores, que desempenham papéis ecológicos vitais em diversos ecossistemas, incluindo polinização de plantas, dispersão de sementes, controle de pragas de insetos e na cadeia alimentar como presa de outras espécies. Mas, esses animais também são associados a doenças, como a raiva, e o seu uso em algumas práticas culturais e culinárias, leva a degradação de populações locais e risco à saúde humana.

Paglia *et al.* (2012) relatam que atualmente, existem aproximadamente 701 espécies de mamíferos conhecidas no Brasil, sendo que 24,8% dessas espécies são morcegos. O Brasil possui uma das maiores diversidades de quiropterofauna, perdendo apenas para a Colômbia (Alberico *et al.*, 2000). Essa alta diversidade de morcegos no Brasil pode ser atribuída ao grande tamanho do país, topografia variada e diversos ecossistemas, incluindo florestas tropicais,

savanas e pântanos. Os morcegos também desempenham papéis ecológicos importantes e são frequentemente considerados indicadores de saúde ambiental.

Por estar situado dentro da região tropical, o Brasil dispõe de nove famílias de morcegos, sendo estas: Noctilionidae, Emballonuridae, Thyropteridae, Mormoopidae, Furipteridae, Vespertilionidae, Natalidae, Phyllostomidae e Molossidae (Nogueira *et al.*, 2014; Moratelli; Dias, 2015). Entretanto, a família Phyllostomidae apresenta a maior diversidade de espécies, com um total de 90 indivíduos descritos, logo após temos as famílias Molossidae (26 espécies), Vespertilionidae (24 espécies), Emballonuridae (15 espécies), Thyropteridae, Natalidae e Mormoopidae (4 espécies), Furipteridae (1 espécie) e Noctilionidae (2 espécies).

No entanto, como os morcegos também podem ser vetores de doenças, este grupo de animais sofre constantemente a destruição de seus habitats naturais, a caça e a perseguição devido a crenças populares. Por isso, é importante promover a conservação desses animais e a conscientização da população sobre a importância de sua preservação. Uma vez que, apesar de sua importância, muitas populações de morcegos no Brasil e no mundo estão ameaçadas pela perda de habitat, mudanças climáticas e doenças. Os esforços de conservação para proteger essas espécies valiosas e seus habitats são cruciais para manter o equilíbrio ecológico e garantir um ambiente saudável (Alberico *et al.*, 2000).

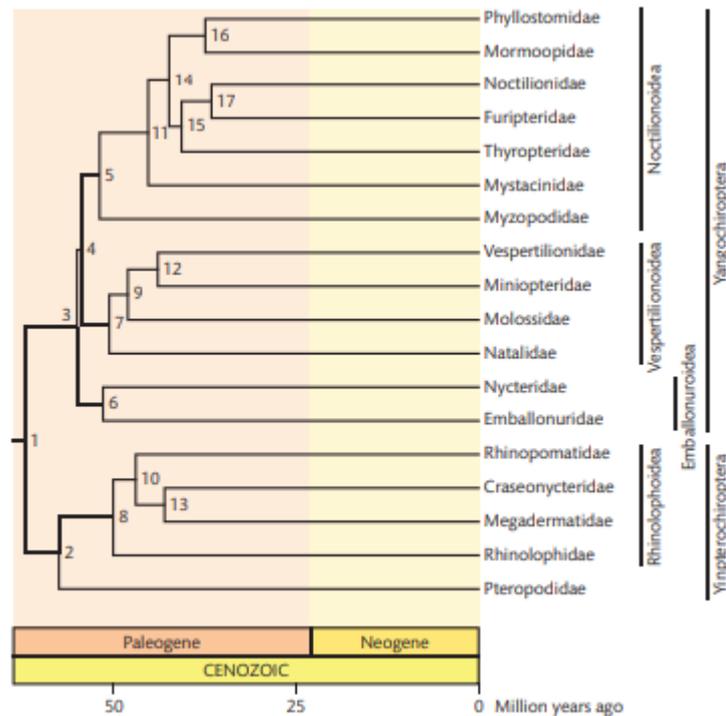
Com base nas características evolutivas, esses animais exibem peculiaridades que os diferenciam dos demais mamíferos, dentre essas características, podemos citar o voo ativo, conferindo-os como os únicos animais capazes de realizarem o voo verdadeiro, ou seja, voar batendo asas, em vez de planar ou deslizar pelo ar, como também o sistema de ecolocalização, que lhes permite localizar presas e navegar no escuro (Jones; Teeling, 2006).

Em contrapartida, sua monofilia foi um assunto discutido por muitos anos. Inicialmente, alguns estudos baseados em características morfológicas sugeriam que os megachiropteras estavam mais relacionados com primatas do que os microchiropteras (Pettigrew, 1986). No entanto, estudos mais recentes, utilizando técnicas moleculares, incluindo análises de sequência de DNA, demonstraram que a ordem Chiroptera é de fato monofilética, ou seja, todos os morcegos têm um ancestral em comum e estão mais estreitamente relacionados entre si do que com quaisquer outros grupos de mamíferos (Simmons, 1988; Teeling *et al.*, 2000, 2002, 2005).

Mediante as inferências da filogenia destes animais, a classificação da ordem dos morcegos não validou a separação em Macro e Microchiroptera. Isto se deve aos estudos paleontológicos e filogenéticos realizados com genes mitocôndrias e nucleares, demonstrando que a subordem Microchiroptera não é monofilética. A aceitação desta teoria se deu por meio

da ecolocalização que alguns morcegos possuem e, estes estão mais relacionados com a subordem Megachiroptera (Teeling *et al.*, 2002, 2005; Van Den Bussche, 2004). Com a confirmação deste achado, criou-se duas subordens: Yangochiroptera, compostas por as demais famílias de morcegos da antiga subordem Microchiroptera e Yinpterochiroptera, constituída pela família Pteropodidae (Megachiroptera), Rhinolophidae, Rhinopomatidae (Microchiroptera) e Megadermatidae (Teeling *et al.*, 2005; Teeling, 2009). A árvore filogenética da ordem Chiroptera está ilustrada na figura 3.

Figura 4 - Árvore filogenética da ordem Chiroptera de acordo com genes mitocondriais e nucleares de morcegos.



Fonte: Adaptado de Teeling (2009).

Existem diversas teorias sobre a origem desses animais, e ainda há muito a ser descoberto sobre a evolução e diversificação. Alguns estudos sugerem que os quirópteros podem ter surgido na África no período Cretáceo, enquanto outros indicam que sua origem pode estar relacionada na América do Norte. De fato, o endemismo é um fenômeno bastante comum em muitos grupos de animais, incluindo os morcegos. Isso significa que certas espécies de morcegos evoluíram em uma determinada região geográfica e não são encontradas em outras partes do mundo. A separação dos continentes do Velho e Novo Mundo, que ocorreu há 65 milhões de anos atrás, pode ter sido a barreira para a dispersão desses animais entre essas regiões, e, portanto, ter contribuído para o surgimento de espécies endêmicas em cada um dos continentes. No entanto, é importante destacar que a dispersão dos morcegos entre os

continentes também ocorreu em algumas ocasiões ao longo da história evolutiva desses animais, como indicam evidências fósseis e genéticas (Stadelman *et al.*, 2007).

Dentro do seu nicho ecológico, suas atividades são influenciadas por um emaranhado de fatores intrínsecos e extrínsecos. A luz e os ventos são dois fatores ambientais que podem afetar a sobrevivência e o desenvolvimento das espécies. A fotofobia ocasionada pela intensidade da luz lunar, pode afetar a capacidade de algumas espécies de forragear à noite, uma vez que este fator poderá dificultar as espécies de encontrar alimentos e evitar predadores (Thies; Kalko; Schnitzler, 2006).

Por outro lado, o vento também pode afetar a sobrevivência das espécies, principalmente em ambiente que há espécies piscívoras, onde dependem da ecolocalização para detectar presas e se comunicar. É importante entender como esses e outros fatores ambientais afetam as espécies e seus ecossistemas, a fim de promover a conservação e a biodiversidade e, mitigar os impactos negativos das atividades humanas sobre o meio ambiente (Ayuso-Oliva, 2005).

De fato, o processo reprodutivo é influenciado por uma série de fatores que podem variar entre as espécies. A disponibilidade de alimentos, por exemplo, é um fator chave que pode afetar o sucesso reprodutivo de uma espécie (Pirlot, 1967; Dweyr, 1970). Além disso, a localização geográfica e o tipo de habitat também podem desempenhar um papel importante na reprodução, já que diferentes espécies podem ter necessidades diferentes em termos de recursos e condições ambientais para se reproduzir com sucesso. Quando se reproduzem, estes animais possuem apenas uma prole por ano, porém pode haver gestações com dois ou três filhotes. O período gestacional dura em média 44 dias para morcegos frugívoros e 11 meses para morcegos hematófagos, no entanto, geralmente o nascimento de ambos sempre ocorre no período em que a maior disponibilidade de alimentos. Esses animais possuem o hábito de formarem colônias-berçários, com várias fêmeas dando à luz, seja esse local em um oco de árvore, cavernas ou construção.

2.6. Morcegos como hospedeiros de *Trypanosoma* spp. e *Leishmania* spp.

Os tripanossomas são parasitas microscópicos unicelulares que podem infectar uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo humanos, animais domésticos e selvagens. Entre os hospedeiros vertebrados, os morcegos são especialmente os mais importantes reservatórios de tripanossomas. (Lima *et al.*, 2012; 2013). De fato, estima-se que mais de 70 espécies de tripanossomas ocasionem infecções em morcegos no mundo. São transmitidos por vetores, moscas e outros artrópodes como os triatomíneos que se alimentam exclusivamente de sangue. A maioria desses protozoários pertencentes a classe Kinetoplastida e é específica para os

hospedeiros, o que então significa que eles só podem infectar certos tipos de animais. Porém, alguns tripanossomas têm a capacidade de infectar várias espécies de animais (Teixeira *et al.*, 2011).

Algumas das espécies mais comuns incluem o *T. cruzi*, que são encontrados em morcegos na América do Sul e Central, e *T. brucei*, que infectam morcegos na África. Podem infectar morcegos em infecções simples ou mistas, o que significa que um morcego pode ser infectado com mais de uma espécie ao mesmo tempo. Embora a diversidade de espécies de tripanossomas infectando morcegos seja alta, porém ainda há muito a ser aprendido sobre esses parasitos e sua relação com os hospedeiros (Silva-Iturriza *et al.*, 2013; Ramírez *et al.*, 2014a).

Certos estudos já documentaram a infecção de morcegos por várias espécies *Trypanosoma* spp., especialmente os subgêneros *Herpetosoma*, *Schizotrypanum*, *Megatrypanum* e *Trypanozoon* (Cavazzana *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2012; Ramírez *et al.*, 2014a). Estudos realizados por Martins (2008) investigou a ocorrência de tripanossomas em amostras de sangue de 63 espécies de morcegos no Brasil e identificou tripanossomatídeos similares ao *T. cruzi*. Esses parasitos foram identificados como *T. cruzi*, *T. dionisii* e *T.c. marinkellei*. A variante genética DTU TcBat, relacionada ao *T. cruzi*, também foi identificada em morcegos no Brasil (Marcili, 2008; Lima *et al.*, 2015).

Mesmo o conhecimento sobre o desenvolvimento de tripanossomas em morcegos ainda sendo limitado (Lima, 2012), já foram descritos casos de parasitismo em morcegos por espécies do subgênero *Megatrypanum* em diferentes continentes. Nas Américas, foram registradas as seguintes espécies de tripanossomas em morcegos: *T. megaderma like* na espécie de morcego *Myotis nigricans*, *T. pessoai* em *Carollia perspicillata* e *Desmodus rotundus*, *T. pifanoi* em *Artibeus lituratus* e *Phyllostomus hastatus* e *T. leonidasdeanei* em *Saccopteryx bilineata*, de acordo com Hoare (1972). Os tripanossomas *T. lewisi* e *T. lineatum*, pertencentes ao subgênero *Herpetosoma* foram descritos em morcegos, conforme os estudos de Fox e Thillet (1962), Hoare (1972) e Da Silva *et al.* (2009).

Também é válido mencionar que o subgênero *Trypanozoon* foi identificado infectando morcegos. Em um estudo conduzido por Herrera *et al.* (2004), constatou-se a presença da infecção por *T. evansi* em morcegos frugívoros e insetívoros no Pantanal. É imprescindível ressaltar a importância epidemiológica das espécies de morcegos hematofágicos quando estão infectados por *T. evansi*, uma vez que desempenham um papel significativo como vetores desse parasito. A transmissão ocorre por meio da saliva do morcego durante o repasto sanguíneo. Essas descobertas destacam a importância e relevância da compreensão dos mecanismos de

transmissão e interação de morcegos e tripanossomas. A infecção em morcegos e seu potencial como vetores de doenças representam um desafio significativo para a saúde pública e vigilância epidemiológica.

A infecção em morcegos pelas espécies do subgênero *Schizotrypanum* é um fenômeno observado tanto no Velho Mundo quanto no Novo Mundo. Esse subgênero abriga, entre outros parasitos, o agente causador da doença de Chagas nas Américas. Estudos conduzidos por Hamilton *et al.* (2012) indicam que essa distribuição geográfica global destes agentes infecciosos é resultado de processos de migração desses animais entre continentes há cerca de 5 milhões de anos.

É importante destacar que, com exceção de *T. cruzi*, o subgênero *Schizotrypanum* engloba espécies de *Trypanosoma* encontradas em morcegos que também são capazes de infectar células de mamíferos e formar pseudocistos em ambiente de laboratório. Recentemente, a espécie *T. dionisii* foi identificada em tecido cardíaco humano (Dario *et al.*, 2016). Essas espécies apresentam morfologia bastante similar entre si, o que torna essencial a aplicação de abordagens moleculares para sua identificação taxonômica precisa. É válido ressaltar que, em decorrência dessa similaridade morfológica, várias descrições de tripanossomas encontrados nesses hospedeiros foram por muitos anos classificadas em apenas isolados “semelhantes ao *T. cruzi*”, denominado (*T. cruzi-like*).

A subespécie *T. c. marinkellei*, uma variante do parasita *T. cruzi*, foi documentada em morcegos de várias regiões, como Panamá, Bolívia, Colômbia, Brasil e Equador. É importante salientar que, em estudos experimentais, não foi possível infectar células de camundongos com essa subespécie específica de *T. cruzi*. Surpreendentemente, mesmo sendo uma subespécie do parasito *T. cruzi*, a presença de *T. c. marinkellei* não proporciona imunidade contra a infecção *T. cruzi* convencional (Cavazzana *et al.*, 2010; Pinto *et al.*, 2015).

A transmissão do *T. c. marinkellei* está associada às espécies de triatomíneos do gênero *Cavernicola*. Em particular, a espécie *C. pilosa* que é encontrada preferencialmente em ambientes compartilhados por morcegos, como cavernas e cavidades de árvores, proporcionando um ciclo propício para a disseminação desse parasita na natureza (Pinto *et al.*, 2015). Essas descobertas ressaltam a complexidade da interação entre diferentes subespécies de *T. cruzi* e sua capacidade de infectar uma variedade de hospedeiros, incluindo morcegos. Além disso, evidenciam a importância dos vetores específicos, como espécie *C. pilosa*, na transmissão desse parasito entre morcegos.

O subgênero *Herpetosoma* inclui espécies de *Trypanosoma* que infectam morcegos, e alguns estudos já registraram a presença desses parasitos em diferentes espécies ao redor do mundo. O subgênero *Schizotrypanum* também inclui espécies que podem infectar morcegos e uma delas é a responsável pela doença de Chagas em humanos. O subgênero *Megatrypanum* e *Trypanozoon* também é responsável por infecções, embora seja menos frequente (Brisse; Verhoef; Tibayrenc, 2001; Tibayrenc, 2003; Lisboa *et al.*, 2008).

A espécie *T. vespertilionis* tem sido encontrada em diversas regiões do mundo, incluindo Ásia, América, Europa e África. Já as espécies *T. hedricki* e *T. myoti* são predominantes na América do Norte. Recentemente, a espécie *T. hedricki* foi descoberta em morcegos africanos do gênero *Tadarida* sp. e *Mops*, pertencentes a família Molossidae. Recentemente foi descrito a espécie *T. livingstonei* em morcegos africanos. Mais recentemente, um morcego da espécie *Pteronotus parnellii* capturado no estado de Rondônia – BR, foi diagnosticado com uma nova espécie de tripanossoma: *T. wauwau* (Lima *et al.*, 2013).

Essas descobertas revelam a diversidade de espécies de tripanossomas que infectam morcegos ao redor do mundo. A presença desses parasitos em diferentes continentes e em várias espécies de morcegos ressalta a importância desses animais como hospedeiros e a complexidade dos ciclos de transmissão dessas doenças.

Torna-se importante enfatizar que nem todas as espécies de *Trypanosoma* que infectam morcegos são patogênicas para esses animais. Algumas espécies podem ser consideradas oportunistas e não causar doenças graves nesses animais, enquanto outras podem ocasionar doenças graves e até mesmo levar à morte do hospedeiro. Além disso, a transmissão desses parasitos pode ocorrer por meio de diferentes mecanismo e vetores, como flebotomíneos e triatomíneos, o que pode influenciar a epidemiologia dessas doenças em diferentes regiões do mundo.

Estudos pioneiros forneceram evidências sobre a circulação do parasito do gênero *Leishmania* entre morcegos, conforme relatado por Morsy *et al.* (1988). Essas pesquisas revelaram a possibilidade de infecção desses animais por *Leishmania*, contribuindo para o entendimento da epidemiologia dessas doenças.

Além disso, estudos realizados em laboratório por Lampo *et al.* (2000) demonstraram que flebotomíneos, se alimentam de sangue de morcegos. Isso sugere que esses insetos utilizam sangue dos morcegos como fonte de alimentação, podendo desempenhar um papel de transmissão do parasito entre morcegos, e potencialmente, para outros hospedeiros.

Outras pesquisas conduzidas por Tesh *et al.* (1971) e Fernandes *et al.* (2008), detectaram a presença de flebotomíneos em abrigos de morcegos. Essa observação reforça a hipótese de que insetos podem se alimentar do sangue dos morcegos como parte de sua dieta, o que pode ter implicações na transmissão de agentes patogênicos, como o parasito *Leishmania*.

No Brasil, ainda são escassos os registros de infecção de *Leishmania* spp. em morcegos, e esses diagnósticos têm sido realizados em tecidos e sangue de algumas espécies de quirópteros, em estados como Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Maranhão, São Paulo, Distrito Federal e Paraíba. Savani *et al.* (2010) constataram a presença de *L. amazonensis* e *L. infantum* em morcegos no estado de São Paulo. De maneira similar, De Oliveira *et al.* (2015) identificaram uma infecção mista por essas duas espécies em fragmento de pele, baço e fígado de *Molossus rufus*. Já foi relatada a infecção por *L. infantum* em espécies, como *Artibeus planirostris*, *A. lituratus* e *Carollia perspicillata* (De Rezende *et al.*, 2017). Nunes (2013) identificou *Leishmania* spp. em fragmentos de pele de *Sturnira lilium* e *Chiroderma villosum*, sugerindo o possível papel dessas espécies como hospedeiros reservatórios. Mas recentemente, Santana *et al.* (2020) detectaram *L. infantum* em fragmentos de fígado de *Molossus pretiosus*, *M. molossus* e *Glossophaga soricina*.

Esses relatos destacam a importância da investigação da infecção por *Leishmania* em morcegos no Brasil, indicando uma possibilidade do seu envolvimento no ciclo da transmissão dessas doenças. As espécies de morcegos mencionadas apresentam potencial como hospedeiros reservatórios, o que ressalta a necessidade de estudos mais abrangentes para compreender o papel desses animais na epidemiologia das leishmanioses. O monitoramento contínuo e a realização de pesquisas adicionais são cruciais para fornecer informações relevantes para o controle e prevenção dessas doenças, bem como para o desenvolvimento de estratégia de saúde pública eficazes.

3. JUSTIFICATIVA

Os tripanossomatídeos são parasitos de diversos grupos de hospedeiros, animais e plantas, capazes de causar graves problemas de saúde e grandes perdas econômicas. A compreensão dos aspectos biológicos acerca desse grupo de parasitos é de extrema importância para o conhecimento de sua distribuição e relevância para a agricultura, pecuária e saúde humana.

Investigações sobre morcegos como potenciais hospedeiros de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma* spp. em distintas regiões geográficas do Piauí e Maranhão são fundamentais, especialmente objetivando o desenvolvimento de planos de monitoramento de saúde pública e gestão de doenças zoonóticas. Ao identificar a infecção em morcegos, torna-se possível compreender melhor o papel desempenhado por esses mamíferos na preservação do ciclo epidemiológico desses parasitos.

Os estudos epidemiológicos envolvendo a interação desses parasitos com seus hospedeiros são escassos na literatura, o que reforça a necessidade da compreensão desses processos, de modo a identificar quais espécies de animais atuam como reservatórios para que as medidas estratégicas sejam direcionadas para interromper a transmissão dos parasitos, reduzindo sua incidência e seu impacto na saúde pública.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Realizar um levantamento da ocorrência de tripanossomatídeos em morcegos capturados em municípios da região Nordeste do Brasil.

4.2. Objetivos Específicos

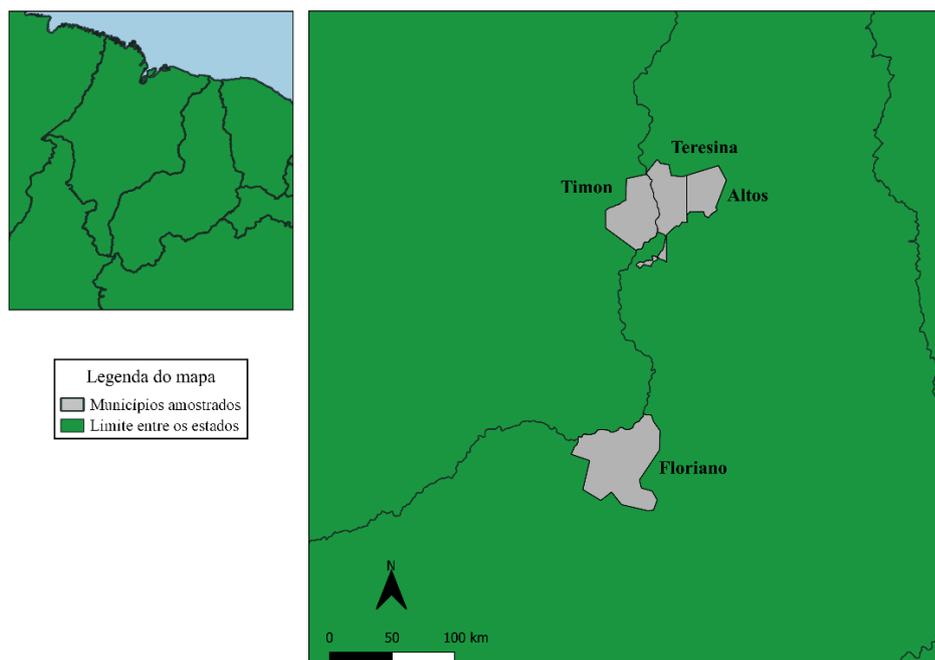
- a) Identificar as espécies de morcegos capturadas nos municípios de Teresina, Floriano, Altos (PI) e na zona rural de Timon – MA;
- b) Verificar a presença de tripanossomatídeos nas espécies de morcegos capturadas;
- c) Identificar os locais com maior taxa de infecção de tripanossomatídeos em morcegos;
- d) Comparar a taxa de infecção com os hábitos alimentares dos morcegos;

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área de estudo

O estudo foi realizado em quatro localidades: i) nas dependências da Universidade Estadual do Piauí – UESPI, campus Poeta Torquato Neto, em Teresina – PI; ii) na Floresta Nacional dos Palmares – FLONA PALMARES, situado na BR-343, pertencente ao município de Altos – PI, a 23km da capital de Teresina – PI; iii) no município de Floriano e; iv) no Povoado Campo Grande, zona rural do município de Timon – MA (Figura 4).

Figura 5 - Mapa dos locais de coletas nos estados do Piauí e Maranhão.



Fonte: Autoria própria.

O Campus Poeta Torquato Neto da Universidade Estadual do Piauí – UESPI é caracterizado por uma vegetação tropical exuberante, como muitas árvores, arbustos e plantas ornamentais. Há uma variedade de espécies de árvores, como mangueiras, palmeiras e árvores nativas que proporcionam bem-estar e estética para o campus. A Floresta Nacional dos Palmares – FLONA PALMARES foi criada pelo Decreto Federal s/nº em 21 de fevereiro de 2005. Essa criação ocorreu com o objetivo de atender os propósitos estabelecidos pela Lei Federal nº 9.985 para a categoria de Unidade de Conservação de Florestas Nacionais. Com uma área de 170 hectares, a FLONA PALMARES é caracterizada por uma área de transição entre o Cerrado e a Caatinga, apresentando uma tipologia vegetal com composição de uma Floresta Estacional Semidecidual (Mineiro, 2012). No entanto, essa UC é resguardada sob a jurisdição do IBAMA, mas é gerenciada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade (ICMBio) (Lopes, 2007, Mineiro, 2012).

Esta UC possui um papel importante na conservação da biodiversidade que a constitui, buscando manter um reservatório de germoplasma *in situ* de espécies nativas, ou seja, preservar as populações de plantas e sementes de espécies locais em seu ambiente natural. Isto significa que esse banco de dados serve para garantir a disponibilidade dessas espécies para futuras recuperações de áreas então degradadas, mediante danos ambientais. As espécies então preservadas dentro do perímetro da FLONA PALMARES podem ser utilizadas para a recuperação e restauração dessas áreas danificadas.

O Povoado Campo Grande está situado na zona rural do município de Timon – MA, com as seguintes coordenadas geográficas são 5°1'40.465" N e 43°0'9.274" E. Apresenta uma vegetação com carnaubais, buritizeiros e babaquais, vegetação típicas do Estado do Piauí e Maranhão. O último ponto de coleta foi realizado no município de Floriano, que está situado na Zona Fisiográfica do Médio Parnaíba, às margens do rio Parnaíba. Possui as seguintes coordenadas geográficas: 06°46'01" de latitude sul, e 43°01'22" de longitude oeste. As amostras vieram provenientes de florestas fragmentadas, próximo à área antropizadas. Os pontos de coleta do estudo estão apresentados na figura 5.

Figura 6 - Localidade dos pontos de coletas via satélite. A) UESPI; B) Flona Palmares; C) Povoado Campo Grande - Timon - MA; D) Município de Floriano.



Fonte: Google Earth, 2023.

5.2. Coleta e amostragem dos morcegos

Durante o período da pandemia da COVID – 19, enfrentamos desafios significativos na realização das coletas de campo. Isso resultou em um número reduzido de indivíduos amostrados. É importante ressaltar que a dificuldade de coletas durante esse período foi a principal razão para a baixa amostragem.

Os morcegos foram capturados no período de agosto a dezembro de 2021, nas localidades citadas anteriormente. A captura foi realizada conforme os protocolos de Kunz e Kurta (1988) e de Nagorsen e Peterson (1980). O mecanismo de coleta utilizado foram as redes de neblinas (*mist nets*), com dimensões de 12x03m e malha de 25mm.

As redes foram dispostas ao solo, ao entardecer e recolhida após a finalização das coletas, estando expostas em um período de 6h em possíveis rotas de voo e com a presença de vegetação frutífera, curso de água, verificado por um período de seis horas e checadas com um intervalo de 20-30 minutos. Após a captura dos animais, os morcegos foram retirados das redes e submetidos a exame clínico corporal e logo após foram realizados os procedimentos de identificação e coleta de material biológico. A identificação das espécies foi realizada seguindo a chave taxonômica específica para o grupo, de Reis *et al.* (2017). Todos os procedimentos necessários para a coleta do material biológico foram feitos em campo, em local de apoio específico.

Figura 7 - A) Montagem das redes de neblina (*mist nets*). B) Materiais utilizados em campo



Fonte: Autoria própria

Foram realizadas três coletas no perímetro urbano da Universidade Estadual do Piauí (UESPI), duas coletas na Floresta Nacional dos Palmares (FLONA) e uma coleta no Povoado Campo Grande, localizado no estado município de Timon – MA. O material biológico dos

morcegos provenientes do município de Floriano faz parte de um projeto de arbovirose no estado do Piauí.

5.3. Coleta do material biológico

Após a captura, os animais foram individualmente acomodados em sacos de pano com numeração específica para a coleta de material biológico. É fundamental destacar que apenas morcegos machos e fêmeas não grávidas e não lactantes foram capturados; as amostras que não se encaixavam nos critérios reportado acima, foram imediatamente soltas e não fazem parte da amostragem.

Posteriormente, os animais foram sedados e identificados até nível de gênero e espécies, utilizando chaves específicas para essa finalidade. As amostras foram categorizadas quanto ao sexo (macho e fêmea), idade estimada, peso, medidas e hábito alimentares. Após a identificação, realizou-se a assepsia da região do tórax com álcool a 70% para subsequente coleta de sangue.

A coleta de sangue foi feita através da via intracardíaca, utilizando seringas descartáveis de 3mL e agulhas de 25x7mm, coletando 0,3mL de sangue. O material coletado foi então separado em tubos contendo EDTA e devidamente identificados. Para garantir a preservação das amostras, estas foram mantidas refrigeradas durante a coleta em campo.

Após a conclusão das coletas, os materiais foram enviados para o Laboratório de Parasitologia – LabioPar, da Universidade Federal do Piauí – UFPI e armazenados a uma temperatura de -20 °C até a realização das análises moleculares.

5.4. Análise molecular do material biológico

A extração do material genético foi realizada utilizando o kit comercial *Blood & Tissue DNA Mini Kit* da Ludwig®, seguindo as recomendações do fabricante. As amostras coletadas foram processadas de acordo as instruções fornecidas no kit para obter o DNA das amostras.

Para a detecção de tripanossomatídeos, foram realizadas duas reações de Nested PCR. Na primeira reação foi utilizado os *Primers* S4 (5'-GAT CCA GCT GCA GGT TCA CC-3') e S12 (5'-GGT TGA TTC CGT CAA CGG AC-3'), que apresenta um produto amplificado de 520 pares de base. A reação consistiu em 12,5µL de Master Mix (GoTaq® G2 Hot Star Colorless Master Mix da Promega), 0,75µL de cada primer, 5µL de DNA extraído e água livre de nucleases para ajustar o volume final da reação em um total de 25µL.

Na segunda reação, foi utilizado os *Primers* S17 (5'-CCA AGC TGC CCA GTA GAAT-3') e S18 (5'-TCG GGC GGA TAA AAC CC-3'). A reação consistiu em 12,5µL de Master Mix (GoTaq® G2 Hot Star Colorless Master Mix da Promega), 0,75µL de cada primer, 3µL do

produto da amplificação da primeira reação. O volume final foi reajustado com água livre de nucleases em volume total de 25µL. Para ambas as reações foram utilizadas como controle negativo água livre de nucleases, enquanto o controle positivo consistiu em uma amostra de DNA de *Leishmania* sp.

Ambas as reações de Nested PCR foram realizadas em um termociclador da marca Bioer®. Os seguintes parâmetros de ciclagem foram seguidos: 94°C por 3 minutos para desnaturação inicial, seguido por 35 ciclos de 94°C por 60 segundos, 58°C por 60 segundos e 72°C por 60 segundos. Em seguida, ocorreu uma extensão final a 72°C por 7 minutos (Lourenço *et al.*, 2018).

Os resultados da amplificação foram observados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídeo. Através da eletroforese, foi possível analisar os produtos amplificados e determinar se a presença de tripanossomatídeos foi detectada nas amostras.

5.5. Análises Estatísticas

Para calcular a frequência de morcegos positivos e negativos para tripanossomatídeos, foi realizado uma comparação por área, sexo, espécie e hábitos alimentares usando o teste exato de Fisher, com um nível de significância de 5%.

5.6. Aspectos éticos e autorização de pesquisa

Por se tratar uma pesquisa com animais silvestres, todos os envolvidos foram prontamente encaminhados para a realização de imunização contra o vírus da raiva. Toda a equipe utilizou equipamentos de segurança (EPI's) durante todo o procedimento de manuseio dos animais e se realizou a higienização dos materiais utilizados durante a coleta do material biológico.

Todos os animais foram acomodados em sacos de panos, anestesiados para diminuir a dor e o estresse causados. Após a realização dos procedimentos necessários, os animais foram identificados e destinado para o Laboratório de Zoologia e Biologia Parasitária - ZOOBP. O presente estudo, foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da UESPI (CEUA/UESPI n° 015085/2021-31).

As capturas dos morcegos nos locais definidos foram efetuadas perante autorização para atividades com finalidade de pesquisa científica, pelo órgão de Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade (SISBio) sob o parecer n° 79971-1, para as coletas em Teresina – PI; parecer n° 632225 para as amostras de Floriano e parecer n° 78117-1 para as coletas no município de Timon – MA.

6. RESULTADOS

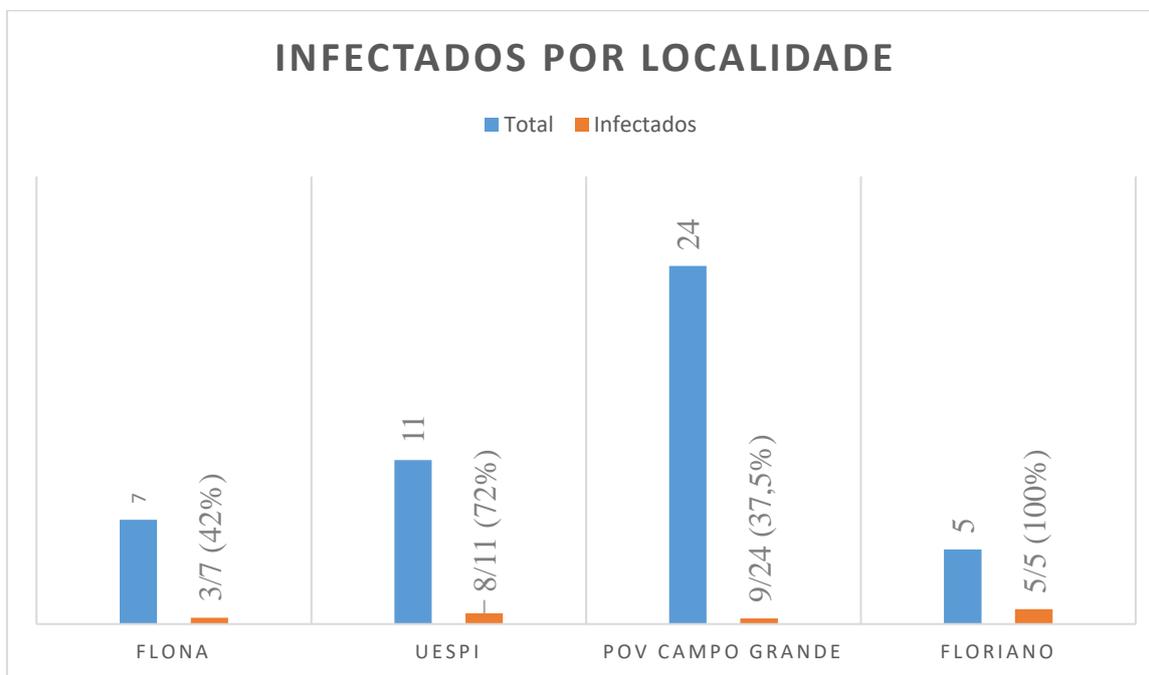
Nas áreas pesquisadas, foram capturados e inspecionados 46 morcegos, pertencentes a duas famílias e nove espécies. Dos indivíduos coletados, 30 (65%) eram machos e 16 (35%) fêmeas. Dentro do perímetro urbano (UESPI) a espécie mais frequente foi *Artibeus lituratus*. Na zona rural, a espécie mais capturada no perímetro peridomiciliar (Povoado Campo Grande – Timon – MA) foi *Phyllostomus discolor*. Já no ambiente silvestre (Flona Palmares) a espécie menos frequente foi *Phyllostomus discolor* (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de espécies de morcegos capturados por área.

Local	Família	Espécie	Macho	Fêmea
UESPI	Phyllostomidae	<i>Artibeus lituratus</i>	05	01
		<i>Artibeus planirostis</i>	04	01
Flona Palmares		<i>Carollia perspicillata</i>	01	01
		<i>Artibeus lituratus</i>	01	01
		<i>Phyllostomus discolor</i>	-	01
		<i>Sturnira lilium</i>	-	02
Povoado Campo Grande	Vespertilionidae	<i>Myotis</i> sp.	-	03
		<i>Sturnira lilium</i>	01	01
		<i>Artibeus lituratus</i>	02	02
		<i>Artibeus planirostis</i>	01	-
		<i>Phyllostomus discolor</i>	07	-
		<i>Uroderma</i> sp.	-	01
		<i>Platyrrhinus</i> sp.	-	01
		<i>Phyllostomus</i> sp.	03	01
Florianópolis		<i>Phyllostomus hastatus</i>	05	-
Total			30	16

Fonte: Autoria própria.

Figura 8 - Número de morcegos infectados para tripanossomatídeos positivos conforme a localidade.

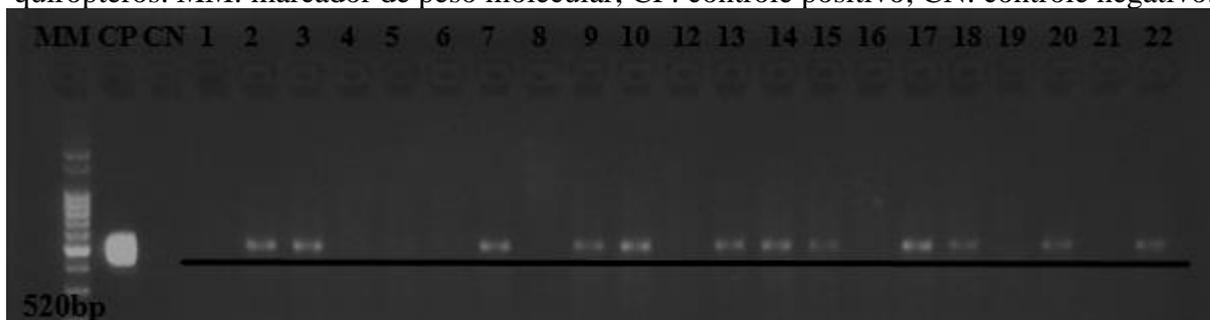


Fonte: Autoria própria.

Um total de 25 morcegos foram positivos para a infecção por tripanossomatídeos, resultando em uma taxa de infecção de 54%. As amostras foram coletadas em diferentes áreas, incluindo perímetro urbano, como as dependências da UESPI e no município de Florianópolis, bem como em áreas peridomiciliares do povoado Campo Grande e na Flona Palmares, representando o ambiente silvestre.

Observou-se que as taxas de infecção variaram consideravelmente entre diferentes áreas. Nos morcegos coletados no perímetro urbano da UESPI, a taxa de infecção foi de 72%, indicando uma maior taxa de infecção nessa região. No município de Florianópolis, todas as amostras analisadas apresentaram infecção, resultando em uma taxa de infecção de 100%. Por outro lado, nas amostras coletadas em perímetro peridomiciliar do povoado Campo Grande, foi observada uma menor porcentagem de infecção, totalizando 37,5%. Quanto ao ambiente silvestre da Flona Palmares, verificou-se que 42% das amostras analisadas estavam infectadas, conforme demonstrado na Figura 8 .

Figura 9 - Gel de agarose a 1% demonstrando resultado da PCR para tripanossomatídeos de quirópteros. MM: marcador de peso molecular; CP: controle positivo; CN: controle negativo.



Fonte: Autoria própria.

A tabela 2 mostra o número total de morcegos encontrados, organizados por espécie, e a taxa de positividade para infecção por tripanossomatídeos.

Tabela 2 - Morcegos por espécie encontrada, total do amostrado geral, número de morcegos positivo para tripanossomatídeos e frequência relativa de cada espécie.

Espécie	Total	Positividade	Fr%
<i>Carollia perspicillata</i>	2	1	50
<i>Artibeus lituratus</i>	12	6	50
<i>Phyllostomus discolor</i>	8	4	30
<i>Sturnira lilium</i>	4	1	25
<i>Artibeus planirostis</i>	6	5	83
<i>Myotis</i> sp.	3	1	33
<i>Uroderma</i> sp.	1	1	100
<i>Phyllostomus hastatus</i>	5	5	100
<i>Phyllostomus</i> sp.	5	1	20
Total	46	25	

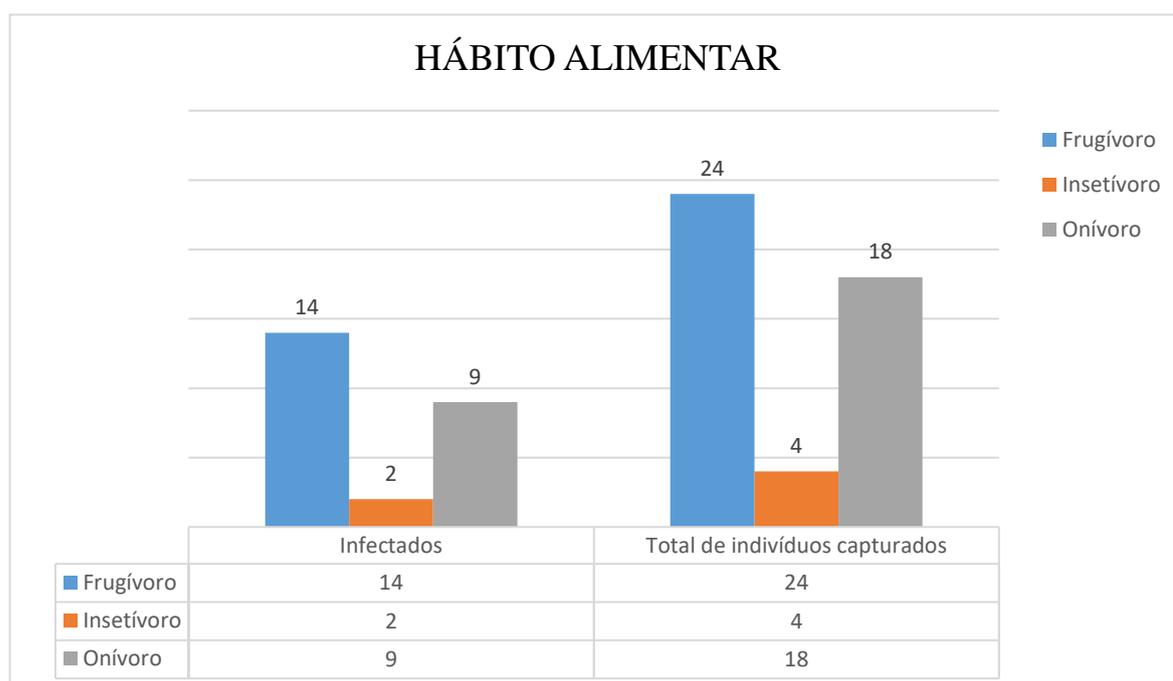
Fonte: Autoria própria.

Com base nos dados obtidos, é importante notar que o gênero *Uroderma* sp e a espécie *Phyllostomus hastatus* apresentaram uma maior taxa de positividade para a infecção por tripanossomatídeos, atingido 100% de positividade nas amostras analisadas. No entanto, é crucial observar que as espécies *Sturnira lilium* e o gênero *Phyllostomus* sp exibiram taxas de infecções relativamente mais baixas, 25% e 20% das amostras analisadas. Essas taxas de infecção é consequência da limitada quantidade de indivíduos coletados das espécies citadas acima, levando em consideração a baixa amostragem ao interpretar essas estatísticas.

Ao comparar as taxas de infecção entre as nove espécies capturadas, não foi observada diferença significativa ($p > 0,04$). Isso sugere que, no contexto do presente estudo, não houve uma associação estatisticamente significativa entre as espécies de morcegos e a taxa de infecção por tripanossomatídeos.

As análises realizadas revelaram que 52% dos morcegos frugívoros apresentaram infecções por tripanossomatídeos, enquanto a taxa de infecção em morcegos onívoros foi de 39%. Os morcegos insetívoros apresentaram a menor taxa de infecção, com apenas 8% das amostras analisadas, demonstrando infecção. No entanto, ao comparar os hábitos alimentares dos morcegos, não foram encontradas diferenças significativas entre as espécies com infecção ($p=0,05$).

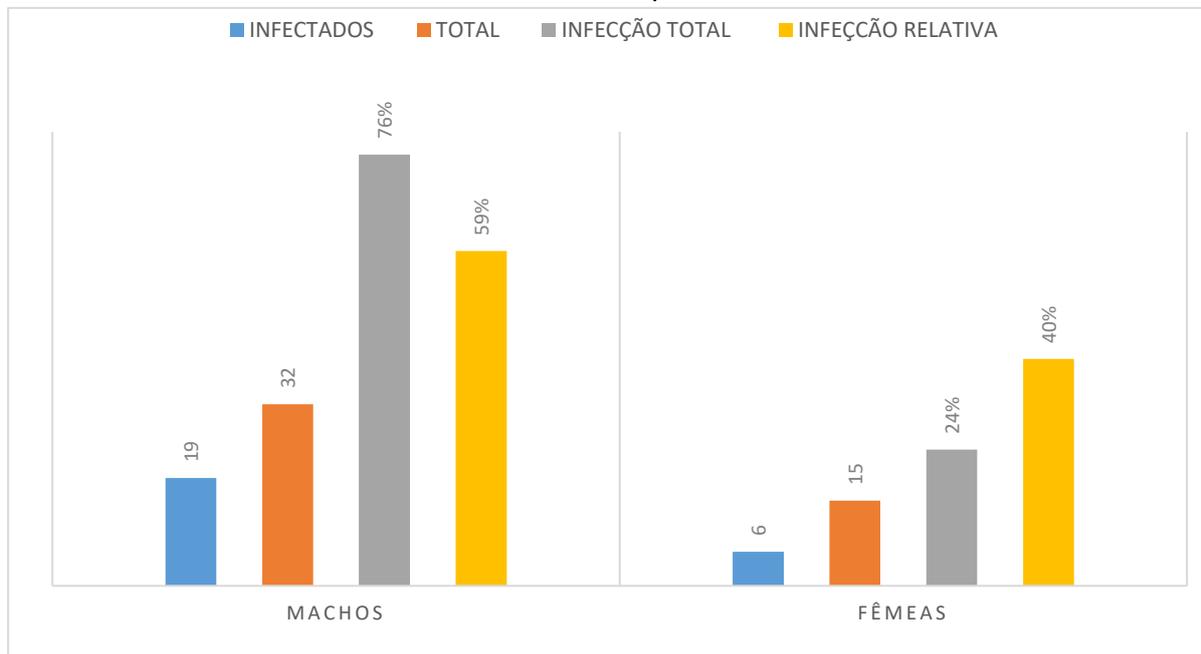
Figura 10 - Número de morcegos positivos para tripanossomatídeos positivos conforme o hábito alimentar.



Fonte: Autoria própria.

Dos morcegos coletados e identificados como portadores de tripanossomatídeos, constatou-se que 19 eram machos (representando 76% total), enquanto 6 eram fêmeas (compondo 24% do total). Os dados revelam uma tendência de maior frequência relativa de infecção por morcegos do sexo masculino, alcançando um percentual de 59% em comparação com as fêmeas, que apresentaram uma taxa de infecção de 40%.

Figura 11. A taxa de contaminação de tripanossomatídeos em morcegos é influenciada pelo sexo.



Fonte: Autoria própria

7. DISCUSSÃO

Os dados obtidos revelam que a maioria dos morcegos analisados neste estudo apresentou positividade para a presença de tripanossomatídeos, com um percentual de médio de 54%, revelando taxas elevadas de infecção. É relevante ressaltar que essas infecções foram encontradas em quatro áreas geográficas distintas, abrangendo várias espécies de morcegos com diferentes hábitos alimentares. Essas descobertas são de grande importância, uma vez que indicam que os morcegos estão frequentemente expostos aos vetores responsáveis pela transmissão dos tripanossomatídeos.

Conforme mencionado anteriormente, os tripanossomatídeos são transmitidos principalmente por vetores específicos, tais como os triatomíneos e os flebotomíneos (Romero Calderon, 2014). A elevada taxa de infecção observada nos morcegos pode refletir a presença desses vetores nas áreas estudadas, o que aumenta a probabilidade de contato entre morcegos e esses parasitos. Esses estudos retificam a hipótese de que os morcegos desempenham um papel crucial na manutenção e disseminação dos tripanossomatídeos, atuando como possíveis reservatórios desses organismos (Souza *et al.*, 2015). Além disso, a presença dessas infecções em diferentes espécies de morcegos com distintos hábitos alimentares sugere que a transmissão desses parasitos pode ocorrer amplamente entre as populações de quirópteros (Reis *et al.*, 2017).

A diversificação da dieta dos morcegos da família Phyllostomidae ocorreu há aproximadamente 23-26 milhões anos atrás, onde os morcegos evoluíram em um período de diversificação das plantas com flores (Rojas *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2007). Com o surgimento e a diversificação das plantas com flores, houve um aumento significativo na quantidade de insetos disponíveis, pois muitos deles passaram a atuar como polinizadores dessas plantas. Nesse cenário, os morcegos insetívoros, que têm uma dieta predominantemente baseada em insetos, provavelmente se beneficiaram dessa abundância de alimento. Assim, é plausível sugerir que a diversificação alimentar dos morcegos insetívoros, pode estar relacionada a esse contexto evolutivo, onde a disponibilidade de alimentos proporcionou uma base sólida para sua expansão e diversificação em diferentes nichos e hábitos alimentares (Reis *et al.*, 2007).

No Brasil, existem vários estudos que investigam a presença dos tripanossomatídeos em morcegos. Lima *et al.* (2015), Da Costa *et al.* (2015) e Lourenço *et al.* (2018) são alguns exemplos dessas pesquisas que fornecem evidências da infecção por tripanossomatídeos em morcegos em diferentes regiões do país. Esses estudos, desempenham um papel importante ao contribuir para a compreensão da epidemiologia das doenças causadas por esses parasitos em

diferentes organismos, incluindo os morcegos. Esses animais podem atuar como reservatórios de tripanossomatídeos, ou seja, abrigam o parasito em seu organismo sem apresentar sintomas graves da doença.

É interessante destacar que as folhas de palmeiras são frequentemente utilizadas pelos morcegos como habitat. Essas folhas são um local clássico para a presença de espécimes de *Rhodnius* sp., que é um vetor altamente eficiente do parasito *T. cruzi*. Essa associação entre morcegos e os triatomíneos já foi relatado como comum em várias regiões do Brasil, especialmente na região amazônica (Coura; Junqueira, 2015). A taxa de infecção por tripanossomatídeos em morcegos não está associado ao seu hábito alimentar, incluindo aqueles que se alimentam de frutas, insetos e aqueles com hábitos generalistas. Essa descoberta sugere que outros fatores, além do hábito alimentar, podem influenciar a taxa de infecção em morcegos.

Na natureza, a transmissão dos tripanossomatídeos pode ocorrer de várias maneiras, sendo a via oral uma das formas mais antigas e eficientes de disseminação do parasito. Por exemplo, mamíferos insetívoros podem ingerir triatomíneos contaminados durante a alimentação. Além disso, a contaminação pode ocorrer quando esses morcegos coçam o local da picada ou entram em contato com fezes contaminadas de triatomíneos. Outra forma de transmissão é por meio do contato com material proveniente da glândula de odor de espécies pertencentes ao gênero *Didelphis* sp, que também podem ser reservatórios desses parasitos (Jansen *et al.*, 2018). Logo, essas informações destacam a complexidade da transmissão dos tripanossomatídeos na natureza e na importância de considerar diferentes via de infecção.

As descobertas destacam a possibilidade de morcegos adquirirem tripanossomatídeos por meio de ingestão de vetores contaminados, como flebotomíneos e triatomíneos. No entanto, é importante ressaltar que as interações entre morcegos e vetores podem variar em diferentes regiões geográficas e contextos ambientais. A positividade da PCR, indicando a presença de tripanossomatídeos, demonstrou uma prevalência semelhante àquela observada em outros estudos realizados no Brasil (Pegorari *et al.*, 2018). Essa concordância com estudos anteriores sugere uma consistência nos resultados e fornece suporte para a validade dos achados. A realização de estudos comparativos é crucial para entender a distribuição e a prevalência dos tripanossomatídeos em diferentes áreas geográficas. Essa abordagem permite identificar possíveis variações regionais e fatores ambientais que possam influenciar a infecção e a disseminação de parasitas.

Roque *et al.* (2010) relatam que marsupiais e morcegos podem fazer parte do que eles denominaram “sistema de reservatórios” de *T. cruzi*. Essas descobertas sugerem que, em cada sistema de reservatório, as espécies envolvidas desempenham papéis distintos na perpetuação do parasita. Isso destaca a complexidade das interações entre os diferentes hospedeiros e a importância de compreender essas dinâmicas para o controle e a prevenção das doenças causadas por tripanossomatídeos.

É amplamente reconhecido que os morcegos são excelentes reservatórios de tripanossomatídeos, onde de fato, os morcegos são considerados os hospedeiros mais antigos desses parasitos (Molyneux, 1991; Hamilton *et al.*, 2012). Com o avanço das ferramentas moleculares, tem havido um aumento significativo no poder analítico para identificar e descrever novas espécies de *Trypanosoma* spp. encontradas em morcegos. Nos últimos anos, tem sido descritas várias espécies de *Trypanosoma* spp. associados a quirópteros.

Nas análises das taxas de infecção por tripanossomatídeos em morcegos, observou-se uma variação significativa dependendo da região e dos gêneros dos morcegos estudados. Em particular, os resultados revelaram as taxas mais altas de infecção em locais específicos. No Povoado Campo Grande – MA, por exemplo, o gênero *Uroderma* sp apresentou uma taxa notável de infecção. Nas dependências da UESPI, a espécie *A. planirostris* também registrou uma taxa elevada de indivíduos infectados. Além disso, no município de Floriano, a espécie *Phyllostomus hastatus* se destacou com maior taxa de infecção. É importante notar que, devido ao número limitado de indivíduos amostrados, o índice de infectividade foi significativamente elevado. Como exemplo concreto, na espécie *P. hastatus*, dos cinco indivíduos capturados, todos estavam positivos para tripanossomatídeos.

A observação que os morcegos da família Phyllostomidae foram os mais abundantes entre os quirópteros coletados é de grande relevância. Essa predominância pode ser explicada pelo fato de que a família Phyllostomidae é conhecida por ser a mais diversa na região neotropical, englobando uma ampla variedade de espécies. Esse dado é respaldado por estudos anteriores conduzidos por Feijó e Langguth (2011) e Vargas-Mena *et al.* (2018), que corroboram a maior diversidade de morcegos na família Phyllostomidae na região em questão.

Essas descobertas de morcegos da família Phyllostomidae na área de pesquisa pode ter implicações importantes para a ecologia local, como a polinização de plantas, dispersão de sementes e controle de populações de insetos (Garcia *et al.*, 2000; Barros *et al.*, 2006). Além disso, a presença marcante desses morcegos na região pode influenciar a dinâmica das infecções

por tripanossomatídeos, considerando a possível participação dessas espécies como reservatórios dos parasitos.

A família Phyllostomidae é notável por abrigar uma ampla diversidade de morcegos, cada um com hábitos alimentares distintos. De acordo com Carrillo-Araújo *et al* (2015), essa família engloba tanto morcegos generalistas, como o *Phyllostomus* spp., quanto morcegos especializados em determinados tipos de alimentos. Entre os especialistas, encontramos o morcego hematófago *Desmodus rotundus*, bem como os frugívoros *Carollia perspicillata*, *A. lituratus* e *A. planirostris*.

Os resultados obtidos neste estudo sobre os hábitos alimentares dos morcegos capturados nas áreas urbanas, rural e silvestre, revelam informações valiosas sobre a diversidade e a distribuição desses animais em diferentes ambientes. A presença de três hábitos alimentares – frugívoros, insetívoros e onívoros – indicam a adaptação dessas espécies a diferentes fontes de alimento disponíveis em seus respectivos hábitos. Os morcegos frugívoros se destacaram como o grupo mais prevalente. Esse padrão pode ser atribuído ao período de coleta, tornando-se provável que nessa época do ano tenha ocorrido frutificação de algumas árvores nos locais de coleta, o que atraiu esses morcegos frugívoros em busca de alimento. No entanto, é interessante notar que o número de morcegos insetívoros não superou o dos frugívoros. Isso pode sugerir que a disponibilidade de alimento variou ao longo do ano, influenciando as preferências alimentares dos morcegos presentes nas áreas geográficas estudadas. (Reis; Peracchi, 2011).

Primeiramente, os dados revelam que os morcegos frugívoros exibem uma taxa de infecção consideravelmente maior para tripanossomatídeos, em comparação com outros morcegos de diferentes hábitos alimentares. Isso implica que o tipo de dieta dos morcegos desempenha um papel significativo na sua susceptibilidade à infecção por tripanossomatídeos. Além disso, um estudo anterior conduzido por Vieira (2016), que também observou uma mesma tendência semelhante. No entanto, é crucial notar que, nesse estudo anterior, a diferença na taxa de infecção entre morcegos frugívoros e morcegos insetívoros não foi estatisticamente confirmada. Isso sugere, que embora haja uma aparente tendência de morcegos frugívoros apresentarem uma taxa de infecção mais alta, essa diferença não pode ser conclusivamente significativa em todos os casos.

De forma intrigante, outros estudos independentes, conduzidos por De Oliveira *et al* (2015) e Gomez-Hernandez *et al* (2017), não conseguiram encontrar uma associação estatisticamente significativa entre a infecção por *Leishmania* spp. e o hábito alimentar dos

morcegos. Isso adiciona uma camada adicional de complexidade ao tema, sugerindo que os resultados podem variar consideravelmente entre diferentes estudos e que outros fatores, além do hábito alimentar, podem estar em jogo com suscetibilidade dos morcegos à infecção por tripanossomatídeos.

Os dados apresentados demonstram uma taxa significativamente elevada de positividade para tripanossomatídeos nos morcegos analisados nestes estudos, em comparação com pesquisas anteriores que utilizaram a mesma técnica de detecção. A positividade total obtida a partir das amostras coletadas em ambiente urbano e silvestre foi de 54%. Já o estudo de Pinto *et al.* (2015) empregou a PCR direcionada ao kDNA para diagnosticar *T. cruzi* em morcegos, e obteve uma positividade de 36,5%. Embora a taxa seja menor do que a encontrada no presente estudo, é importante notar que o uso de diferentes alvos moleculares na PCR pode afetar a taxa de detecção.

Nossos resultados revelaram taxas significativas de infecção para tripanossomatídeos em ambiente silvestre (Flona Palmares) quanto em ambiente urbano. Esse cenário sugere a possibilidade de os morcegos desempenharem um papel crucial na conexão entre os ciclos de vida silvestre e domésticos desses parasitos. É importante ressaltar, que embora a taxa de infecção, por si só, não seja o único indicador da importância animal como reservatório, nossos achados indicam que esses morcegos estão intrigados ao ciclo enzoótico de *T. cruzi* e *Leishmania* spp.

Para uma compreensão mais completa do papel dos morcegos como reservatórios, é fundamental conduzir pesquisas adicionais. Isso inclui a realização de coletas direcionadas a essas espécies específicas, a incorporação de outras metodologias de diagnóstico, como testes parasitológicos, a investigação entomológica para mapear a fauna de flebotomíneos e triatomíneos, a avaliação da infecção experimental de morcegos por *T. cruzi* e *Leishmania* spp. e a determinação da capacidade desses morcegos de transmitir os parasitos a flebotomíneos e triatomíneos. Além disso, estudos sobre a fonte alimentar de alimentação desses vetores também são necessários para entender completamente as dinâmicas de transmissão (Viera, 2016).

É importante destacar que as espécies *A. planirostris*, *Phyllostomus hastatus*, *Uroderma* sp., *Carollia perspicillata* e *A. lituratus* apresentaram taxa de infecções significativas. A espécie *A. planirostris* já havia sido identificada como infectada para *T. cruzi* em vários trabalhos anteriores, como referências específicas aos estudos de Lima *et al.* (2015), Silva-Dos-Santos (2017) e Jansen *et al.* (2018). Da mesma forma, outras espécies de morcegos, do gênero *Myotis*

sp., que neste trabalho apresentou baixa positividade para tripanossomatídeos, também foram previamente registrados com infecção para *T. cruzi* em estudos de Marcili *et al.* (2009), Lima *et al.* (2015) e Cavazzana *et al.* (2010).

Registra-se também que outras espécies de morcegos que foram testadas já haviam sido anteriormente identificadas como positivas para a infecção por *T. cruzi*, como *A. lituratus* (Dario *et al.*, 2017) e *Carollia perspicillata* (Da Costa *et al.*, 2016). Neste estudo, foi constatado que a taxa de infecção relativa para tripanossomatídeos nos morcegos não foi afetada pelo sexo dos animais. Tanto os machos quanto as fêmeas apresentaram taxas de infecção aproximadas. Os machos apresentaram um percentual de 59% e as fêmeas de 40%. Os dados mostram uma tendência de uma taxa de infecção maior em morcegos machos em comparação com fêmeas, mas a diferença não foi considerada estatisticamente significativa com base no valor de p de 0,06. Isso sugere que, embora a diferença exista, é necessário um tamanho de amostra maior ou análise estatística mais sensível para confirmar se essa diferença é estatisticamente significativa. Essa descoberta também é baseada nos trabalhos anteriores na literatura que também demonstraram taxa de infecção relativa para tripanossomatídeos em morcegos, tanto fêmeas (79%) quanto machos (73%) (Vieira, 2016; Lourenço *et al.*, 2018).

A espécie *Phyllostomus hastatus*, dados do estudo evidenciaram um índice elevado de infectividade para tripanossomatídeos. Esses resultados corroboram com os achados de (Patiño *et al.*, 2021) realizado na Colômbia e Venezuela, que identificaram a presença de DNA de *T. cruzi* e *Leishmania brasiliensis* por meio de sequenciamento genético. Essas descobertas fortalecem a evidência de que a espécie *Phyllostomus hastatus* podem atuar como reservatórios desses parasitos portanto, a presença do DNA de *T. cruzi* e *L. brasiliensis* em *P. hastatus* indicando que essa espécie desempenha um papel importante na manutenção e disseminação desses tripanossomatídeos.

Adicionalmente, é importante ressaltar que dentre as espécies de morcegos coletadas, *A. lituratus* foi a que apresentou o maior número de indivíduos capturados. Esse resultado sugere que essa espécie em particular pode ser mais abundante na região estudada ou mais acessível aos métodos de captura. A presença dominante de *A. lituratus* pode ser influenciada por diversos fatores, como sua dieta, habilidade de adaptação a diferentes habitats ou preferências por abrigos específicos (Nogueira; Peracchi; Monteiro, 2010).

Estudos anteriores, como de o Gardner (1977), já relataram que apesar de pertencerem ao gênero *Artibeus* e apresentarem hábitos frugívoros, esses animais podem complementar sua dieta com artrópodes, o que facilita a contaminação por tripanossomatídeos. A espécie citada

acima, pode possuir características que favorecem sua maior representatividade nas amostras, como dieta mais ampla que lhe permite explorar diferentes recursos alimentares disponíveis, corroborando com os estudos de (Vieira; Oliveira, 2016). Além disso, essa espécie pode ser adaptada a diferentes tipos de hábitat, o que lhe confere uma vantagem em relação a outras espécies de morcegos nas regiões. É importante ressaltar que a dominância de *A. lituratus* na amostragem não implica necessariamente em sua maior importância ecológica ou epidemiológica em relação aos tripanossomatídeos. A presença desses parasitos em morcegos pode ocorrer em diferentes espécies. Os morcegos *Carollia perspicillata* e *Artibeus lituratus* e *Artibeus planirostris*, se alimentam principalmente de frutas, enquanto *Desmodus rotundus* é conhecido por se alimentar de sangue de mamíferos, incluindo animais selvagens e domésticos.

Savani *et al.* (2010) realizaram diagnóstico de infecção por *Leishmania amazonensis* em cinco indivíduos de *A. lituratus* coletados pelo Centro de Zoonose de São Paulo – CCZSP. Além disso, em áreas urbanas de São Paulo, Oliveira *et al.* (2015) encontraram infecção por *L. amazonensis* em fragmentos de baço e pele de *A. lituratus* e *A. planirostris*. Esses estudos reforçam papel dessas espécies de morcegos como reservatórios de *Leishmania* sp. no Brasil. A presença de tripanossomatídeos em morcegos das espécies de *A. lituratus* e *A. planirostris* destaca a importância desses animais como potenciais reservatórios para a transmissão das leishmanioses.

Outros estudos realizados mostraram uma alta taxa de infecção por *Leishmania* spp. em várias espécies examinadas. Especificamente, foi observada uma alta taxa de positividade para o parasito em *A. planirostris*, o que foi consistente com outros trabalhos anteriores realizados por Oliveira *et al.* (2015), Ferreira *et al.* (2017), Gomez-Hernandes *et al.* (2017), Rezende *et al.* (2017) e Lourenço *et al.* (2018). Esses estudos anteriores já haviam documentado uma prevalência significativa de *Leishmania* spp. em *A. planirostris*, o que sugere que essa espécie pode ser um potencial hospedeiro reservatório para este parasito.

Além disso, um número considerável de outras espécies de morcegos também foram encontrados parasitados por *Leishmania* spp. em outros estudos. Essas espécies já haviam sido previamente descritas infectadas em trabalhos anteriores. Especificamente, os estudos mencionados mostraram a presença de *Leishmania* spp. em *A. lituratus* (Savani *et al.*, 2010), *Carollia perspicillata* (Lima *et al.*, 2008), *Myotis* sp. (Oliveira *et al.*, 2015), *Sturnira lilium* (Nunes, 2008). Essas informações sugerem que várias espécies de morcegos podem ser envolvidas na transmissão e manutenção do parasito *Leishmania* spp.

A espécie *S. liliium* é amplamente distribuída e é comumente encontrada em áreas de florestas úmidas, assim como em ambientes abertos, incluindo bordas de florestas, clareiras, e vegetação secundária (Giannini, 1999). Esses morcegos possuem o hábito alimentar predominantemente frugívoro, mas também podem complementar sua dieta consumindo insetos e pólen (Tavoloni, 2005). É relevante destacar que no Brasil foi registrado um caso de infecção por *L. amazonensis* em um indivíduo *S. liliium* em uma área urbana da cidade de São Paulo (Savani *et al.*, 2010). Essa descoberta é consistente e corrobora com os resultados obtidos neste estudo, onde também foi observado a infecção por tripanossomatídeos em *S. liliium* coletado no Povoado Campo Grande.

O estudo da diversidade de tripanossomatídeos de morcegos no Estado do Piauí e Maranhão é de extrema importância tanto para a saúde pública quanto para a pesquisa acadêmica. Os estados em questão são regiões de grande relevância devido à sua vasta extensão territorial e alta biodiversidade, e o conhecimento sobre os tripanossomatídeos em morcegos é fundamental para compreender a ecologia desses parasitos nas regiões. Do ponto de vista de saúde pública, a identificação dos tripanossomatídeos presentes os morcegos são cruciais para entender a melhor transmissão de zoonoses zoonóticas, como a doença de Chagas. Sabendo que morcegos podem atuar como reservatórios de *T. cruzi* e das leishmanioses, é fundamental monitorar a ocorrência desses parasitos em diferentes espécies de morcegos.

8. CONCLUSÕES

A constatação da elevada taxa de infecção por tripanossomatídeos em quirópteros capturados no Piauí e Maranhão é um achado preocupante e de grande relevância para a saúde pública. Esses resultados sugerem que os morcegos podem estar desempenhando um papel importante no ciclo de transmissão epidemiológica desses parasitos na região.

As espécies *Phyllostomus hastatus*, *Artibeus planirostris* e o gênero *Uroderma* sp. apresentaram-se como os mais prevalentes entre os morcegos capturados nas quatro regiões geográficas, essa é uma informação crucial para compreensão da dinâmica desses animais nessas regiões.

A taxa de infecção relativa para tripanossomatídeos não é influenciada pelo sexo dos morcegos, visto que machos e fêmeas apresentaram taxas de infecções semelhantes, tornando-se uma informação relevante e pode ter implicações importantes para epidemiologia das doenças.

Já o fato de o hábito alimentar não estar relacionado à taxa de infecção relativa por tripanossomatídeos nos morcegos é uma observação interessante. Isso pode indicar que morcegos de diferentes hábitos alimentares têm probabilidade semelhantes de serem infectados por tripanossomatídeos, independentemente de sua dieta (frugívora, insetívora, hematófaga etc.). Nesse caso, outros fatores, como a presença de vetores e as interações entre morcegos de diferentes espécies, podem ser mais relevantes na transmissão dos parasitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHILLES, Genevere Reis et al. **Diversidade de pequenos mamíferos, das ordens Rodentia e Didelphimorphia, reservatórios de Tripanossomatídeos (Sarcostigophora: Kinetoplastida) em um assentamento rural na Amazônia Central.** 2018. Tese de Doutorado.
- ADL, M. S.; GUPTA, VV SR. Protists in soil ecology and forest nutrient cycling. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 36, n. 7, p. 1805-1817, 2006.
- ALBERICO, M.; CADENA, A.; HERNÁNDEZ-CAMACHO, J.; MUNÓZ-SABA, Y. Mamíferos (Synapsida: Theria) de Colombia. **Biota Colombiana**, v. 1, n. 1, p. 43-75, 2000.
- AMARO, Rommie E. et al. Discovery of drug-like inhibitors of an essential RNA-editing ligase in *Trypanosoma brucei*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 45, p. 17278-17283, 2008.
- AYUSO OLIVA, Aída María et al. Uso del hábitat en quirópteros en un área alterada por la construcción de la línea de tren de alta velocidad en el sur de la península ibérica. Implicaciones para su conservación y estudio de los registros sonoros del género *Pipistrellus*. 2005.
- BARRET, M. P.; VINCENT, I. M. Bats, beg bugs, cats, and cows: lessons in the ecology of *T. brucei gambiense* from factors affecting human African trypanosomiasis prevalence. **PLoS Pathogens**, v. 15, n 9, p. e1008006, 2019.
- BARROS, Juliana Helena S. et al. Identification of novel mammalian hosts and Brazilian biome geographic distribution of *Trypanosoma cruzi* TcIII and TcIV. **Acta Tropica**, v. 172, p. 173-179, 2017.
- BARROS, Ronald Souza Monteiro de; BISAGGIO, Eduardo Lage; BORGES, Roberto Cabral. Morcegos (Mammalia, Chiroptera) em fragmentos florestais urbanos no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 6, 2006
- BAUTISTA-LÓPEZ, Norma L. et al. Characterization and diagnostic application of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote excreted-secreted antigens shed in extracellular vesicles released from infected mammalian cells. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 744-758, 2017.
- BERNARD, E.; TAVARES, V. C.; SAMPAIO, E. Compilação atualizada das espécies de morcegos (Chiroptera) para a Amazônia Brasileira. **Biota neotropica**, v. 11, p. 35-46, 2011.
- BORGHESAN, Tarcilla C. et al. Molecular phylogenetic redefinition of *Herpetomonas* (Kinetoplastea, Trypanosomatidae), a genus of insect parasites associated with flies. **Protist**, v. 164, n. 1, p. 129-152, 2013.
- BOTERO, A.; COOPER, C.; THOMPSON, C. K.; CLODE, P. L.; ROSE, K.; THOMPSON, R. C. A. Morphological and Phylogenetic Description of *Trypanosoma noyesi* sp. nov.: An Australian Wildlife Trypanosome within the *T. cruzi* Clade. **Protist**, v. 167, n. 8, p. 425-439, 2016.

BRENIÈRE, S. F; WALECKX, E.; BARNABÉ, C. Over Six Thousand *Trypanosoma cruzi* Strains Classified into Discrete Typing Units (DTUs): Attempt at na Inventory. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 8, p. e0004782, 29 ago. 2016.

BRISSE, S.; VERHOEF, J.; TIBAYRENC, M. Characterization of large and small subunit rRNA and miniexon genes further suporta The distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. **Int. J. Parasitol.**, v. 31, n. 11, 1218-26, 2001.

BÜSCHER, P.; CECCHI, G.; JAMONNEAU, V.; PRIOTTO, G. Human African trypanosomiasis. **The Lancet**, v. 390, n. 10110, p. 2397-2409, 2017. doi: 10.1016/S0140-7636(17)31510-6.

CARNES, Jason et al. Genome and phylogenetic analyses of *Trypanosoma evansi* reveal extensive similarity to *T. brucei* and multiple independent origins for dyskinetoplasty. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 1, p. e3404, 2015.

CARRILLO-ARAÚJO, Mario et al. Phyllostomid bat microbiome composition is associated to host phylogeny and feeding strategies. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 447, 2015. 6, 447.

CARVALHO, Samir A. et al. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 54, p. 512-521, 2012.

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

CAVALIER-SMITH, Thomas. Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. **European Journal of Protistology**, v. 56, p. 250-276, 2016.

CAVALIER-SMITH, Thomas. Only six kingdoms of life. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 271, n. 1545, p. 1251-1262, 2004.

CAVAZZANA, J. R. M.; MARCILI, A.; LIMA, L.; DA SILVA, F. M.; JUNQUEIRA, A. C.; VELUDO, H. H.; VIOLA, L. B.; CAMPANER, M.; NUNES, V. L.; PAIVA, F.; COURA, J. R.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. Phylogeographical, ecological and biological patterns shown by nuclear (ssrRNA and gGAPDH) and mitochondrial (Cyt b) genes of trypanosomes of the subgenus *Schizotrypanum* parasitic in Brazilian bats. **International Journal Parasitology Research**, v. 40, p. 345-355, 2010.

COURA, J. R; BORGES-PEREIRA, J. Chagas disease: 100 years after its Discovery. A systemic review. **Acta tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 5-13, 2010.

COURA, José Rodrigues; JUNQUEIRA, A. C. V. Ecological diversity of *Trypanosoma cruzi* transmission in the Amazon basin. The main scenaries in the Brazilian Amazon. **Acta tropica**, v. 151, p. 51-57, 2015.

DA COSTA, A. P.; COSTA, F. B.; SOARES, H. S.; RAMIREZ, D. G.; MESQUITA, E. T. K. C.; GENNARI, S. M.; MARCILI, A. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum chagasi*

infection in wild mammals from Maranhão State, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 15, n. 11, p. 656-66, 2015.

DA SILVA, F. Maia et al. Trypanosoma rangeli isolates of bats from Central Brazil: genotyping and phylogenetic analysis enable description of a new lineage using spliced-leader gene sequences. **Acta Tropica**, v. 109, n. 3, p. 199-207, 2009.

DANTAS-TORRES, Filipe et al. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. **Trends in parasitology**, v. 28, n. 12, p. 531-538, 2012.

DARIO, Maria Augusta et al. Ecological scenario and Trypanosoma cruzi DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 1-14, 2016.

DARIO, Maria Augusta et al. High Trypanosoma spp. diversity is maintained by bats and triatomines in Espírito Santo state, Brazil. **Plos one**, v. 12, n. 11, p. e0188412, 2017.

DE ARAÚJO SANTOS, Francisco Glauco. Ectoparasitismo em uma assembleia de morcegos em um fragmento florestal no estado do Acre, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 3, p. 211-218, 2012.

DE CARVALHO, Maria Rosimery et al. Natural Leishmania infantum infection in Migonemyia migonei (França, 1920)(Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. **Acta tropica**, v. 116, n. 1, p. 108-110, 2010.

de Oliveira FM, Costa LH, de Barros TL, Ito PK, Colombo FA, et al. First detection of Leishmania spp. DNA in Brazilian bats captured strictly in urban area. **Acta Trop.** 150:176-81, 2015.

de Rezende MB, Herrera HM, Carvalho CM, Carvalho Anjos EA, Ramos CA, et al. Detection of Leishmania spp. in Bats from an Area of Brazil Endemic for Visceral Leishmaniasis. **Transbound Emerg Dis.** doi: 10.1111/tbed.12597, 2017.

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

DESQUESNES, M.; DIA, M. L. Trypanosoma vicax; Mechanical transmission in cattle by one of the most common African tabanids, Atylotus agrestis. **Experimental Parasitology**, v. 103, n. 1-2, p. 35-43, 2003.

Diaz-Saez V, Merino-Espinosa G, MoralesYuste M, Corpas-Lopez V, Pratlong F, Morillas-Marquez F et al. High rates of Leishmania infantum and Trypanosoma nabiasi infection in wild rabbits (Oryctolagus cuniculus) in sympatric and syntrophic conditions in an endemic canine leishmaniasis area : epidemiological consequences. **Vet. Parasitol.**; 202: 119-27, 2014.

DOFLEIN, F: **Lehrbuch der Protozoenkunde**. II Teil. Gustav Fischer Verlag, Jena. 529-533, 1928.

DWEYR, P. D. Latitude and breeding season in a polyestrus species of *Myotis*. **Journal of Mammalia**, v. 51, n. 2, p. 405-410, 1970.

FEIJÓ, J. A.; LANGGUTH, A. Lista de Quirópteros da Paraíba, Brasil com 25 novos registros. **Chiroptera Neotropical**, v. 17, n. 2, p. 1055-1062, 2011.

FERNANDES, Alexandre et al. Pre-Columbian Chagas disease in Brazil: *Trypanosoma cruzi* I in the archaeological remains of a human in Peruaçu Valley, Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 514-516, 2008.

FERREIRA, L. F. *et al.* Perfil epidemiológico dos idosos chagásicos da Unidade de Saúde da Família do bairro Nossa Senhora de Fátima, USF-Nossa Senhora de Fátima, da cidade de Paracatu–MG. **Revista de Medicina**, v. 94, n. 2, p. 120-125, 2015.

FORATTINI, Oswaldo Paulo et al. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana: I-observações sobre o *Panstrongylus megistus* e suas relações com focos naturais da infecção, em área urbana da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 4, p. 19-30, 1970.

FOX, Irving et al. Incidence of *Trypanosoma lewisi* in Puerto Rican Rats. **Journal of Parasitology**, v. 48, n. 1, 1962.

GALVIS-OVALLOS, Fredy et al. Ecological parameters of the (S)-9-methylgermacrene-B population of the *Lutzomyia longipalpis* complex in a visceral leishmaniasis area in São Paulo state, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2017.

GARCIA, Q. S.; REZENDE, J. L. P.; AGUIAR, L. M. S. Seed dispersal by bats in a disturbed area of southeastern Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 48, p. 125-128, 2000

GARDNER, A. Feeding Habits. In: **Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae**. Texas Tech University Press. p. 293–350. 1977.

GIANNINI, Claudio D. et al. Enzymatic and antisense effects of a specific anti-Ki-ras ribozyme in vitro and in cell culture. **Nucleic acids research**, v. 27, n. 13, p. 2737-2744, 1999.

GIBSON, W. Resolution of the species problem in African trypanosomes. **International journal for parasitology**, v. 37, n. 8-9, p. 829-838, 2007.

GOMEZ-HERNÁNDEZ, C. *et al.* Leishmania infection in bats from a non-endemic region of Leishmaniasis in Brazil. **Parasitology**, v. 144, n. 14, p. 1980–1985, 2017.

HAMILTON, P. B. et al. A novel, high-throughput technique for species identification reveals a new species of tsetse-transmitted trypanosome related to the *Trypanosoma brucei* subgenus, *Trypanozoon*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 8, n. 1, p. 26-33, 2008.

HAMILTON, P. B.; STEVENS, J. R. Classification and Phylogeny of *Trypanosoma cruzi*. In: **American Trypanosomiasis: Chagas Disease One Hundred Years of Research**. Exeter, UK: School of Biosciences, 87 University of Exeter, 2010. p. 17.

- HAMILTON, Patrick B.; TEIXEIRA, Marta MG; STEVENS, Jamie R. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'bat seeding' hypothesis. **Trends in parasitology**, v. 28, n. 4, p. 136-141, 2012.
- HERRERA, H. M. et al. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3-4, p. 263-275, 2004.
- HOARE, C. A. The Trypanosomes of Mammals: A zoological monograph. Part 2 Systematic. Oxford: **Blackwell Scientific Publications**, 1972. P. 123-625.
- HOARE, Cecil A.; WALLACE, Franklin G. Developmental stages of trypanosomatid flagellates: a new terminology. **Nature**, v. 212, n. 5068, p. 1385-1386, 1966.
- HODO, CAROLYN L. et al. Trypanosome species, including *Trypanosoma cruzi*, in sylvatic and peridomestic bats of Texas, USA. **Acta Tropica**, v. 164, p. 259-266, 2016.
- HONIGBERG, B. M. Evolutionary and systematic relationships in the flagellate order Trichomonadida Kirby. **The Journal of Protozoology**, v. 10, n. 1, p. 20-63, 1963.
- JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. C. ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 1-25, 2018.
- JONES, G.; TEELING, E. C. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 3, p. 149-156, 2006.
- KENT, WS. **A manual of the infusaria**. 432 pp." Londres, 1880.
- KUNZ, T. H.; KURTA, A. Capture methods and holding devices. In Kunz, TH (Eds.). Ecological and behavior methods for the study of bats. Washington: **Smithsonian Institution Press**. p. 1-29, 1988.
- Lainson R Shaw JJ. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In WHR Lumsden, DA Evans (eds), **Biology of the Kinetoplastida**, Academic Press, London, New York, San Francisco, vol. 2, p. 1-116, 1979.
- LAMPO, Margarita et al. A possible role of bats as a blood source for the *Leishmania* vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 62, n. 6, p. 718-719, 2000.
- LIMA, I. D. *Leishmania infantum chagasi* in Northeastern Brazil: Asymptomatic infection at the urban perimeter. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 1, p. 99-107, 2012.
- LIMA, Luciana et al. *Trypanosoma livingstonei*: a new species from African bats supports the bat seeding hypothesis for the *Trypanosoma cruzi* clade. **Parasites & vectors**, v. 6, p. 1-17, 2013.
- LIMA, L.; ESPINOSA-ÁLVAREZ, O.; HAMILTON, P. B.; NEVES, L.; TAKATA, C. S.; CAMPANER, M.; ATTÍAS, M.; DE SOUZA, W.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G.

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

LIMA, Valdirene dos Santos *et al.* Expanding the knowledge of the geographic distribution of *Trypanosoma cruzi* TcII and TcV/TcVI genotypes in the Brazilian Amazon. **PLoS One**, v. 9, n. 12, p. e116137, 2014.

LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; HERRERA, H. M.; GERHARD, M.; CUPOLILLO, E.; JANSEN, A.M. *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) genotypes in neotropical bats in Brazil. **Vet Parasitolol.** 156, 314-138, 2008.

LOPES, J. C. R. **Floresta Nacional: Implantação, gestão e estudo de caso –FLONA de Palmares.** 2007. Dissertação: Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente. Teresina: UFPI, P. 91, 2007.

LOUREIRO, Ines *et al.* Ribose 5-phosphate isomerase B knockdown compromises *Trypanosoma brucei* bloodstream form infectivity. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 1, p. e3430, 2015.

LOURENÇO, J. L. M.; MINUZZI-SOUZA, T. T. C.; SILVA, L. R.; OLIVEIRA, A. C.; MENDONÇA, V. J.; NITZ, N.; AGUIAR, L. M. S.; GURGEL-GONÇALVES, R. High frequency of trypanosomatids in gallery forest bats of a Neotropical savanna. **Acta Tropica**, v. 177, n. March 2017, p. 200–206, 2018.

LUKES J, GUILBRIDE DL, VOTYPKA J, ZIKOVA A, BENNE R, ENGLUND PT. Kinetoplast DNA network: evolution of an improbable structure. **Eukaryot Cell.** 2002;1;495-502.

LUKES, J.; SKALICKÝ, T.; TÝC, T.; VOTÝPKA, J.; YURCHENKO, V., Evolution of parasitism in kinetoplastid flagellates. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, p. 115-122, 2014. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2014.05.007.

MALAFIA, Guilherme *et al.* Protein-energy malnutrition decreases immune response to *Leishmania chagasi* vaccine in BALB/c mice. **Parasite immunology**, v. 31, n. 1, p. 41-49, 2009.

MARCILI, A. *et al.* A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, v. 136, n. 6, p. 641-655, 2009.

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

- MARCILI, ARLEI et al. Isolation and phylogenetic relationships of bat trypanosomes from different biomes in Mato Grosso, Brazil. **The Journal of Parasitology**, v. 99, n. 6, p. 1071-1076, 2013.
- MARTINS, Luciamáre PA et al. Rural *Triatoma rubrovaria* from southern Brazil harbors *Trypanosoma cruzi* of lineage IIc. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 79, n. 3, p. 427-434, 2008.
- MEIRA, CÁSSIO SANTANA et al. Antiparasitic evaluation of betulinic acid derivatives reveals effective and selective anti-*Trypanosoma cruzi* inhibitors., **Parasitologia Experimental**, v. 166, p. 108-115, 2016.
- MESSENGER, L.A.; MILES, M. A.; BERN, C. Between a bug and hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 13, n. 8, p. 995-1029, ago. 2015.
- MINEIRO, I. G. B. **Inventário da Fauna de Escorpiões (arachnida scorpiones) da Floresta Nacional de Palmares**, município de Altos-Piauí, 2012.
- MOLYNEUX, D. H. Trypanosomes of bats. **Parasitic protozoa**, v. 1, p. 195-223, 1991.
- MONTEIRO, Leandro R.; NOGUEIRA, Marcelo R. Adaptive radiations, ecological specialization, and the evolutionary integration of complex morphological structures. **Evolution**, v. 64, n. 3, p. 724-744, 2010.
- MONTEIRO, Wuelton Marcelo et al. *Trypanosoma cruzi* IV causing outbreaks of acute Chagas disease and infections by different haplotypes in the Western Brazilian Amazonia. 2012.
- MOON, S.; SIQUEIRA-NETO, J. L.; MORAES, C. B.; YANG, G.; KANG, M.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; HANSEN, M. A. E. An image-Based Algorithm for Automated Screening of *Trypanosoma cruzi* flagellar Beatin. **PloS Neglected Tropical Diseases**, n. 12, n. 8, p. e0006697, 2018.
- MORATELLI, R.; DIAS, D. A new species of nectar-feeding bat, genus *Lonchophylla*, from the Caatinga of Brazil (Chiroptera, Phyllostomidae). **ZooKeys**, n. 514, p. 73-91, 2015.
- MORSY, T. A. et al. The discovery and preliminary characterization of a novel trypanosomatid parasite from *Rattus norvegicus* and stray dogs from Alexandria, Egypt. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 82, n. 5, p. 437-444, 1988.
- NAGORSEN, D. W; PETERSON, R. L. **Mammal collectors manual**. Toronto: Life Sciences Miscellaneous Publications Royal Ontario Museum 79p, 1980.
- NOGUEIRA, M. R.; LIMA, I. P.; MORATELLI, R.; TAVARES, V. C.; GREGORIN, R.; PERACCHI, A. L. Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. **Check List**, v. 10, n. 4. p. 808-821, 2014.
- NOGUEIRA, MARCELO RODRIGUES; MAZUREC, ALEX PURY; PERACCHI, ADRIANO LÚCIO. Morcegos em restingas: lista anotada e dados adicionais para o norte

fluminense, sudeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Mamíferos de restinga e manguezais do Brasil** (Pessôa, LM, Tavares, WC, Siciliano, S. Eds). **Sociedade Brasileira de Mastozoologia Série Livros**, v. 1, p. 75-93, 2010.

Nunes HLFL, Feijó JA, Beltrão M, Lopez LCS, Fracasso MPA. First and easternmost record of *Molossops temminckii* (Burmeister, 1854) (Chiroptera: Molossidae) for the state of Paraíba, northeastern Brazil. **Check List**. 9 (2):436-439, 2013.

NUNES, S. L.; SILVA, M. N.; IENNE, S.; MACHADO, C. R.; BRANDÃO, A. A novel ABGG-like transpoter of *Trypanosoma cruzi* s involved in natural resistance to benzimidazole. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n.3, p. 433-444, 2015.

OLIVEIRA, Camila et al. RNA-binding proteins and their role in the regulation of gene expression in *Trypanosoma cruzi* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Genetics and molecular biology**, v. 40, p. 22-30, 2017.

OLIVEIRA, S. R. D. DE *et al.* Análise Geoambiental Da Trilha Ubaia Doce - Parque Estadual Dunas Do Natal “Jornalista Luiz Maria Alves”. **revista de geologia**, v. 29, p. 39–54, 2016.

PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.A.B.; DA RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. C.; MITTERMEIER, R. A.; PATTON J. L. **Annotated Checklist of Brazilian Mammals**. 2ª Edição / 2nd Edition. Occasional Papers in Conservation Biology, No. 6. Conservation International, Arlington, VA, 2012. 76pp.

PAIVA, F.; TEIXEIRA, M. M. G. Characterization of spliced leader genes of *Trypanosoma* (Megatrypanum) *theileri*: phylogeographical analysis of Brazilian isolates from cattle supports spatial clustering of genotypes and parity with ribosomal markers. **Parasitology**, v. 137, n. 1, p. 111, 21 jan. 2010.

PALACE-BERL, Fanny et al. Investigating the structure-activity relationships of N'-[(5-nitrofuranyl) methylene] substituted hydrazides against *Trypanosoma cruzi* to design novel active compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 144, p. 29-40, 2018.

PATIÑO, L. H.; CASTILLO-CASTAÑEDA, A. C.; MUÑOZ, M.; JAIMES, J. E.; LUNA-NIÑO, N.; HERNÁNDEZ, C.; AYALA, M. S.; FUYA, P.; MENDEZ, C.; HERNÁNDEZ-PEREIRA, C. E.; DELGADO, L.; SANDOVAL-RAMÍREZ, C. M.; URBANO, P.; PANIZ-MONDOLFI, A.; RAMÍREZ, J. D. Development of an amplicon-based next-generation sequencing protocol to identify *Leishmania* species and other trypanosomatids in leishmaniasis endemic areas. **Microbiology spectrum**, v. 9, n. 2, p. e00652-21, 2021.

PEGORARI, P. DE O.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, C.; BARBOSA, C. G.; REZENDE-OLIVEIRA, K.; PEDROSA, A. L.; RAMIREZ, J. D.; RAMIREZ, L. E. Tripanosomatídeos de morcego (primeiro relato de *T. wauwau*) no Triângulo Mineiro, Brasil. **bioRxiv**, p. 347146, 2018.

PERACCHI, A.L., LIMA, I.P., REIS, N.R., NOGUEIRA, M.R. & ORTÊNCIO-FILHO, H. Ordem Chiroptera. **In Mamíferos do Brasil** (N.R. Reis, A.L. Peracchi, W.A. Pedro & I.P. Lima, eds.). 2. ed. N.R. Reis, Londrina, p.155-234, 2011.

PERACCHI, Adriano L.; NOGUEIRA, Marcelo R. Lista anotada dos morcegos do Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 1, p. 508-519, 2010.

PETTIGREW, J. Flying primates? Megabats have the advanced pathway from eye to midbrain. **Science**, v. 231, p. 1304-1306, 1986. DOI: 10.1126/Science.3945827.

PINTO, C. Miguel et al. Bats, trypanosomes, and triatomines in Ecuador: new insights into the diversity, transmission, and origins of *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease. **PLoS One**, v. 10, n. 10, p. e0139999, 2015.

PIRLLOT, P. Periodicite de la reproduction chez les chiropteres neotropicaux. **Mammalia**, v. 31, n. 3, p. 361-366, 1967.

PIZARRO, Juan Carlos; LUCERO, David E.; STEVENS, Lori. PCR reveals significantly higher rates of *Trypanosoma cruzi* infection than microscopy in the Chagas vector, *Triatoma infestans*: high rates found in Chuquisaca, Bolivia. **BMC infectious diseases**, v. 7, p. 1-8, 2007.

RAMÍREZ-TOLOZA, Galia; FERREIRA, Arturo. *Trypanosoma cruzi* evades the complement system as an efficient strategy to survive in the mammalian host: the specific roles of host/parasite molecules and *Trypanosoma cruzi* calreticulin. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1667, 2017.

RAMÍREZ, J. D.; HERNÁNDEZ, C.; MONTILLA, M.; ZAMBRANO, P.; FLÓREZ, A. C.; PARRA, E.; CUCUNUBÁ, Z. M. First Report of Human *Trypanosoma cruzi* Infection Attributed to TcBat Genotype. **Zoonoses and Public Health**, v. 61, n. 7, p. 477–479, 2014b.

RAMÍREZ, J. D.; TAPIA-CALLE, G.; MUÑOZ-CRUZ, G.; POVEDA, C.; RENDÓN, L. M.; HINCAPIÉ, E.; GUHL, F. Trypanosome species in neo-tropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. **Infections, Genetics and Evolution**, v. 22, p. 250-256, 2014. DOI: 10.1016/j.meegid. 2013.06.022.

READY, P. D. et al. The ecology of *Lutzomyia umbratilis* Ward & Fraiha (Diptera: Psychodidae), the major vector to man of *Leishmania braziliensis guyanensis* in north-eastern Amazonian Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 76, n. 1, p. 21-40, 1986.

REDHEAD, Scott A. et al. Pneumocystis and *Trypanosoma cruzi*: nomenclature and typifications. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 2-11, 2006.

Reis, N, Peracchi, A, Pedro, W., LIMA, I. Morcegos do Brasil. Londrina: 2007.

REIS, N. R. et al. Mamíferos do Brasil, 2ª. edição. **Nelio R. dos Reis, Londrina, Brazil**, 2011.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; BATISTA, C. B.; LIMA, I. P. de; PEREIRA, A. D. **História Natural dos Morcegos Brasileiros Chave de Identificação de Espécies**. 1. ed. Rio de Janeiro: Technical Books Editora Ltda, 2017. v. 1. 416p

REIS, N. R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I. P. (Eds.). **Mamíferos do Brasil. 2. ed.** Londrina: N. R. REIS, 2011. 439 p.

RODRIGUES, A. C. et al. Phylogeny of *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) *theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 215-224, 2006.

ROJAS, Danny et al. When did plants become important to leaf-nosed bats? Diversification of feeding habits in the family Phyllostomidae. **Molecular ecology**, v. 20, n. 10, p. 2217-2228, 2011.

ROMERO CALDERON, Ibeth Cristina et al. Estudo do papel funcional da cisteína sintase e da cistationina B-sintase na resposta ao estresse oxidativo e nitrosativo em *leishmania (viannia) braziliensis*, *trypanosoma rangeli* e *trypanosoma cruzi*. 2014.

ROQUE, A. L. R.; CUPOLILLO, E.; MARCHEVSKY, R. S.; JANSEN, A. M. *Thrichomys laurentius* (rodentia; echimyidae) as a putative reservoir of *Leishmania infantum* and *L. braziliensis*: Patterns of experimental infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 2, p. e589, 2010.

SANTANA, Kaio Henrique et al. Epidemiology of Chagas disease in pregnant women and congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Americas: Systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 25, n. 7, p. 752-763, 2020.

SAVANI, Elisa San Martin Mouriz et al. Detection of *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* and *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* chagasi in Brazilian bats. **Veterinary parasitology**, v. 168, n. 1-2, p. 5-10, 2010.

SILVA-DOS-SANTOS, Danielle et al. Unraveling Chagas disease transmission through the oral route: Gateways to *Trypanosoma cruzi* infection and target tissues. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. e0005507, 2017.

SILVA-ITURRIZA, A.; NASSAR, J. M.; GARCÍA-RAWLINS, A. M.; ROSALES, R.; MIJARES, A. *Trypanosoma evansi* kDNA minicircle found in the Venezuelan nectarfeeding bat *Leptonycteris curasoae* (Glossophaginae), supports the hypothesis of multiple origins of that parasite in South America. **Parasitol Int.**, v. 62, p. 95–9, 2013.

SILVA-NUNES, Mônica da et al. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, p. 241-251, 2008.

SIMMONS, N.B. Order Chiroptera, p. 312-529. *In*: D.E. WILSON & D.M. REEDER (Eds). **Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference**. Baltimore, Maryland, Johns Hopkins University Press, 3rd ed., 2142p, 2005.

SIMMONS, Nancy B.; GEISLER, Jonathan H. Phylogenetic relationships of *Icaronycteris*, *Archaeonycteris*, *Hassianycteris*, and *Palaeochiropteryx* to extant bat lineages, with comments on the evolution of echolocation and foraging strategies in Microchiroptera. *Bulletin of the AMNH*; no. 235. 1998.

SIMPSON, Alastair GB; STEVENS, Jamie R.; LUKEŠ, Julius. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends in parasitology**, v. 22, n. 4, p. 168-174, 2006.

SMÍD, Ondrej et al. Knock-downs of iron-sulfur cluster assembly proteins IscS and IscU down-regulate the active mitochondrion of procyclic *Trypanosoma brucei*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 39, p. 28679-28686, 2006.

SMITH JR, Joseph T. et al. Divergent small tim homologues are associated with TbTim17 and critical for the biogenesis of TbTim17 protein complexes in *Trypanosoma brucei*. **Mosphere**, v. 3, n. 3, p. 10.1128/msphere.00204-18, 2018.

SOUZA, Nataly Araujo de et al. Studies on Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) in the campus Fiocruz mata Atlântica, Jacarepaguá, in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 26-32, 2015.

STADELMAN, B.; LIN, L. K.; KUNZ, T. H.; RUEDI, M. Molecular phylogeny of New World (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 43, p. 32-48, 2007.

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

STEVENS, J. R.; NOYES, H. A. The evolution of trypanosomes infecting humans and primates. In: DOVER, G. A.; WARREN, W. C. (Eds.). **Trypanosomes and Trypanosomiasis**. Springer, p. 55-79, 2017.

STOCO, Patricia Hermes et al. Genome of the avirulent human-infective trypanosome *Trypanosoma rangeli*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3176, 2014.

STUART, K. D.; BRUN, R.; CROFT, S.; FAIRLAMB, A.; GÜRTLER, R. E.; MCKERROW, J.; REED, S.; TARLETON, R. Kinetoplastida. In: CARPI, A.; GRUSZCZYNSKI, P.P. (eds). **Encyclopedia of Parasitology**. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, p. 1-5, 2015.

TAVOLONI, P.; ALMEIDA, Álvaro Fernando de. Riqueza de morcegos (Chiroptera, Mammalia) na Estação Experimental de Ciências Florestais-Anhembi, SP. **Resumos**, 2005.

TEELING, E. C., SPRINGER, M. S., MADSEN, O., BATES., O' BRIEN, S. J.; MURPHY, W. J. A Molecular Phylogeny for Bats Illuminates Biogeography and Fossil Record. **Science**, v. 307, p. 580-584, 2005.

TEELING, E. C.; SCALLY, M.; KAO, D. J. Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats. **Nature**, v. 403, p. 188-192, 2000.

TEELING, E. G. Chiroptera. In: HEDGES, S. B.; KUMAR, S. (eds.). **The Time Tree of Life**. Oxford University Press, 2009. P. 499-503.

TEELING, Emma C. et al. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science**, v. 307, n. 5709, p. 580-584, 2005.

TEELING, Emma C. et al. Microbat paraphyly and the convergent evolution of a key innovation in Old World rhinolophoid microbats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 3, p. 1431-1436, 2002.

TEIXEIRA, M. M.; BORGHESAN, T. C.; FERREIRA, R. C.; SANTOS, M. A.; TAKATA, C. S.; CAMPANER, M.; NUNES, V. L.; MILDNER, R. V.; DE SOUZA, W.; CAMARGO, E. P. Phylogenetic validation of the genera *Angomonas* and *Strigomonas* of trypanosomatids harboring bacterial endosymbionts with the description of new species of trypanosomatids and of proteobacterial symbionts. **Protist**, v. 162, n. 3, p. 503–524, 2011.

TESH, R. B. *et al.* Natural host preferences of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 20, n. 1, p. 150–156, 1971.

THIES, Sirlei Franck et al. Aspects on the ecology of phlebotomine sand flies and natural infection by *Leishmania hertigi* in the Southeastern Amazon Basin of Brazil. **Acta tropica**, v. 177, p. 37-43, 2018.

THIES, W.; KALKO, E. K. V.; SCHNITZLER, H. U. Influence of environment and resource availability on activity patterns of *Carollia castânea* (Phyllostomidae) in Panama. **Journal of Mammalogy**, v. 87, n. 2, p. 331-338, 2006.

TIBAYRENC, Michel. Genetic subdivisions within *Trypanosoma cruzi* (Discrete Typing Units) and their relevance for molecular epidemiology and experimental evolution. **Kinetoplastid biology and disease**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2003.

Van Den Bussche, R.A. & S.R. Hooper. Phylogenetic relationships among recent chiropteran families and the importance of choosing appropriate out-group taxa. **Journal of Mammalogy** 85: 321– 330, 2004.

VARGAS-MENA, J. C.; ALVES-PEREIRA, K.; BARROS, M. A. S.; BARBIER, E.; CORDERO-SCHMIDT, E.; LIMA, S. M. Q.; RODRÍGUEZ-HERRERA, B.; VENTICINQUE, E. M. The bats of Rio Grande do Norte state, northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 2, 2018.

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

VIEIRA, T. M. **Ocorrência natural de tripanossomatídeos em morcegos coletados no município de Monte Carlos, Minas Gerais, Brasil**. 2016. 153p. Tese (Doutorado em Parasitologia). Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2016.

VILLELA, Marcos Marreiro et al. Análise da fonte alimentar de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) e sua atual importância como vetor do *Trypanosoma cruzi*, no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 125-128, 2010.

WHELLER, R. J.; GLUENZ, E.; GULL, K. The Limits of Trypanosomatid Morphological Diversity. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e79581, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0079581.

World Health Organization (WHO), March 2016. Chagas Disease (American Trypanosomiasis). Fact Sheet N340.

XAVIER, Samanta Cristina das Chagas et al. Distantiae transmission of *Trypanosoma cruzi*: a new epidemiological feature of acute Chagas disease in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2878, 2014.

YURCHENKO, V.; KOSTYGOV, A.; HAVLOVÁ, J.; GRYBCHUK-IEREMENKO, A.; ŠEVČÍKOVÁ, T.; LUKEŠ, J.; ŠEVČÍK, J.; VOTÝPKA, J. Diversity of Trypanosomatids in Cockroaches and the Description of *Herpetomonas tarakana* sp. n. **The Journal of eukaryotic microbiology**, v. 63, n. 2, p. 198–209, 2016.

ZINGALES B.; ANDRADE, S. G.; BRIONES, M. R. S.; CAMPBELL, D. A.; CHIARI, E.; FERNANDES, O.; GUHL, F.; LAGES-SILVA, E.; MACEDO, A. M.; MACHADO, C. R.; MILES, M. A.; ROMANHA, A. J.; STURM, N. R.; TIBAYRENC, M.; SCHIJMAN, A. G. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2019.

ZINGALES, B.; ARAÚJO, R. G. A.; MORENO, M.; FRANCO, J.; AGUIAR, P. H. N.; ZINGALES, B.; MILES, M. A.; MORAES, C. B.; LUQUETTI, A.; GUHL, F.; SCHIJMAN, A. G.; RIBEIRO, I. Drug Discovery for Chagas disease should consider *Trypanosoma cruzi* strain diversity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 6, p.828-833, 2014.

ZINGALES, Bianca 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.