



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
FioCruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES
DE SAÚDE NA AMAZÔNIA

GENEVERE REIS ACHILLES

DIVERSIDADE DE PEQUENOS MAMÍFEROS, DAS ORDENS RODENTIA E
DIDELPHIMORPHIA, RESERVATÓRIOS DE TRIPANOSSOMATÍDEOS
(SARCOMASTIGOPHORA: KINETOPLASTIDA) EM UM ASSENTAMENTO
RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL

MANAUS – AM
2018



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ

INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONDIÇÕES DE VIDA E SITUAÇÕES
DE SAÚDE NA AMAZÔNIA**

GENEVERE REIS ACHILLES

**DIVERSIDADE DE PEQUENOS MAMÍFEROS, DAS ORDENS RODENTIA E
DIDELPHIMORPHIA, RESERVATÓRIOS DE TRIPANOSSOMATÍDEOS
(SARCOMASTIGOPHORA: KINETOPLASTIDA) EM UM ASSENTAMENTO
RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, área de concentração de fatores evolutivos, virulência e mecanismos imunológicos na interação parasita-hospedeiro.

ORIENTADORA: Dra. Claudia Maria Ríos Velásquez
COORIENTADORA: Dra. Alessandra Ferreira Dales Nava

MANAUS – AM
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

A178d

Achilles, Genevere Reis.

Diversidade de pequenos mamíferos, das ordens Rodentia e Didelphimorphia, reservatórios de Tripanossomatídeos (Sarcocystis) em um assentamento rural na Amazônia Central. / Genevere Reis Achilles. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2018.

77 f.

Dissertação (Mestrado em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2018.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Claudia Maria Ríos Velásquez.

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Alessandra Ferreira Dales Nava.

1. Parasitologia 2. Roedores – Amazônia 3. Marsupiais – Amazônia

I. Título

CDU 576.8(811) (043.3)

CDD 571.999109811

22. ed.

GENEVERE REIS ACHILLES

**DIVERSIDADE DE PEQUENOS MAMÍFEROS, DAS ORDENS RODENTIA E
DIDELPHIMORPHIA, RESERVATÓRIOS DE TRIPANOSSOMATÍDEOS
(SARCOMASTIGOPHORA: KINETOPLASTIDA) EM UM ASSENTAMENTO
RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Condições de Vida e Situações de Saúde na Amazônia, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, área de concentração fatores evolutivos, virulência e mecanismos imunológicos na interação parasita-hospedeiro.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Claudia Maria Ríos Velásquez - Orientadora
Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Dr. Felipe Arley Costa Pessoa - Membro
Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Dr. Fernando Ferreira - Membro
Universidade de São Paulo – USP

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por me carregar em seus braços dia após dia, por me consolar nos momentos mais difíceis me oferecendo força, persistência e fé, acima de tudo, por me presentear com anjos queridos, minha família e amigos.

À minha mãe, **Neuza dos Reis**, por ser inspiração, exemplo de amor, justiça e sabedoria. Devo absolutamente tudo a ela e não há dádiva maior nesse mundo que a companhia dela.

Ao meu pai, **Wellington Achilles**, por me ensinar a lutar cotidianamente contra os desafios da vida, a lidar com grandes diferenças e caminhar por trilhas difíceis sem perder a fé.

Ao meu irmão, **Icaro Achilles**, pelo companheirismo, pela motivação e pela torcida, mas principalmente, por alimentar a melhor das minhas nostalgias à infância.

Ao meu marido, **Alvaro Lourenço**, por me fazer sorrir, por cuidar de minhas feridas, por completar minha vida e engrandecer minha alma, mas principalmente por cativar em mim, dia após dia, uma sementinha chamada admiração. Nesses 15 anos, não há um único dia em que eu me arrependa de ter lhe escolhido.

Às minhas amigas e irmãs de coração, **Dani Oliveira** e **Renatinha Hyllege**, que incondicionalmente entenderam minha ausência e vibraram pelo meu sucesso todos os dias. Amo vocês. Nossa conexão é algo digno de ciência.

Ao aluno **Haile Chagas**, um jovem com alma de adulto, responsável, crítico e dedicado por ter sido braço direito, cúmplice e companheiro no sucesso e no fracasso. Sou imensamente grata pela tamanha atenção, disponibilidade, alegria e inteligência.

Às amigas maravilhosas que ganhei nesse mestrado, **Izabel Araújo** e **Maria Eduarda Grisolia**, que possamos continuar a compartilhar drinks, alegrias, dores e conhecimento, preferencialmente acompanhadas de sucesso e Moscow Mule.

À amiga **Thayana Cruz**, sou imensamente grata a solidariedade, companhia e carinho, que possamos evoluir e comemorar nossa amizade e afeto dia após dia. Muito obrigada por compartilhar comigo suas doces palavras.

À carinhosa e doce amiga **May Ikenaga**, um exemplo de companheirismo. Agora, posso comemorar ao seu modo dela e com você: salto paraquedas.

Ao **André Corado**, que me estendeu a mão em momentos difíceis, trazendo esperança e luz quando as coisas se tornaram escuras. Sua ajuda foi fundamental.

Ao saudoso amigo **Lenilson Filho** (*in memoriam*) que sempre me incentivou. Sua falta é inquestionável. Ferida se abre, a saudade apertada e a cicatriz sangra.

Aos meus **queridos alunos** que me enchem de alegria com frases carinhosas e vibrações positivas. Cada um de vocês foi motivação em meio a momentos tumultuados, em especial, Debora Jacob, Lucivan Santos, Bruno Maciel, Shayanne, Luana Saraiva, Vandressa e Camila Tosta. Às minhas monitoras de patologia da UNL por me acompanharem nesses dois anos de mestrado, estendendo a mão e tornando meus dias mais suaves: Amanda França, Gizely Oliveira, Esther Jane, Mayumi, Renata Quingua, Taísa Botinelly, Jaqueline Kerllen, vocês são anjinhos.

Aos Professores do Mestrado por compartilharem seus conhecimentos, em especial, **Profa. Dra. Maria Luiza Garnello**, que é uma pessoa inspiradora. Conhecê-la foi oportunidade de repensar, suas reflexões profundas em tantos aspectos (humanos, sociais, ambientais, políticos, tecnológicos, entre outros) motivam o conhecimento. “Abençoado aquele que compartilha o conhecimento”.

À minha orientadora **Dra. Claudia Ríos** e coorientadora **Dra. Alessandra Nava** pela oportunidade de entender os desafios da pesquisa, por chegar até aqui e sair maior do que entrei.

Agradeço ao **Dr. Felipe Arley** por contribuir com o desenvolvimento desse trabalho de forma singular serei eternamente grata por suas intervenções gentis e certeiras.

Ao Bibliotecário, **Dr. Ycaro Verçosa**, pela ajuda durante a revisão sistemática, pelas palavras e pelo tratamento gentil em todos os momentos que me refugiei na Biblioteca do ILMD para estudar.

Aos **colegas do Laboratório de Entomologia**, Alexandre Menezes, Amanda Picelli, Emmanuelle Farias, Jéssica Feijó, Jordam William, Erick Fabrício, Patrícia, Rebeca Guimarães, desejo sorte e sabedoria para lidar com os desafios. Em especial, a Emmanuelle pela colaboração com os mapas, Jordam pelo auxílio em bancada, Jéssica pela análise dos dados e Alexandre pelo apoio na UNL.

Às plataformas de sequenciamento do ILMD/FIOCRUZ e IOC/FIOCRUZ, em especial, ao Dr. Felipe Naveca e a Dra. Ana Carolina pelas preciosas colaborações e trocas de conhecimento.

A Raphael Kautzmamm (mestrando do curso de Zoologia da UFAM), Dra Maria Nazareth F. da Silva (pesquisadora do INPA) e Ronis da Silveira (professor da UFAM) pelo desenho amostral, coleta do material em campo e identificação dos mamíferos.

À equipe de campo, Gabi Peixoto, Lúcio, Renan Pinzon, Ricardo Mota e Moca, obrigada pelo acolhimento, dedicação e companhia.

À todos os **funcionários da Fiocruz** obrigada pela colaboração, especialmente, **Juracy Aquino** pelo carinho e auxílio no dia a dia do laboratório.

“A arma mais poderosa na mão do opressor é a mente dos oprimidos. Não sabe ele que não há força maior que a vontade de vencer. Nunca se cale diante de um erro. Seja o motivo da transformação”.

(Steve Biko Adaptação)

RESUMO

O processo de antropização promove redução na diversidade de fauna e flora, mudanças nos ciclos de desenvolvimento de vetores e parasitos, seleção de espécies generalistas, peridomiciliação de animais silvestres e sinantrópicos, todos fatores de risco para a emergência ou re-emergência de doenças que já estavam controladas. Dentre as doenças que aumentam a incidência em decorrência da pressão antrópica temos as causadas por protozoários da família Trypanosomatidae: leishmaniose tegumentar americana (LTA), leishmaniose visceral (LV) e doença de chagas (DC). A Amazonia é uma região endêmica para LTA e DC cujo ciclo de transmissão envolve animais silvestres e sinantrópicos como reservatórios dos parasitos. Nesse trabalho foram identificados mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia, comuns reservatórios para *Leishmania* e outros tripanossomatídeos, e foi analisada sua distribuição em quatro paisagens distintas da Amazônia Central: peridomicílio, plantio, floresta próxima a plantio e floresta contínua. Um total de 135 pequenos mamíferos terrestres foram coletados no assentamento rural de Rio Pardo (ARRP) - Presidente Figueiredo/AM, 81 das ordens Rodentia (7 gêneros e 8 espécies) e 54 Didelphimorphia (7 gêneros e 9 espécies). A maior diversidade de animais foi encontrada em floresta próxima a plantio e a menor diversidade no peridomicílio. Alta taxa de infecção (T.I.) por tripanossomatídeos (63,7%) foi detectada por PCR (Reação em cadeia da Polimerase), os roedores foram detectados com maiores taxas de infecção no peridomicílio (92,9%) e marsupiais em ambiente florestal (53,3%). Entre os roedores foram encontradas altas T.I. em *Rattus rattus* (91,67%) e *Hylaemys* sp. (100%). A espécie *Neacomys paracou* foi a espécie mais abundante, capturada em ambiente florestal com T.I. de 81,08%. As espécies de marsupiais com altas T.I. foram: *Philander opossum* (85,71%), *Monodelphis brevicaudata* (83,33%), *Metachirus nudicaudatus* (75%) e *Marmosa demerarae* (66,67%). A presença de pequenos roedores e marsupiais com altas taxas de infecção em ambientes sinantrópicos e de floresta indicam que os dois ambientes oferecem similar riscos para o ciclo de transmissão dos tripanossomatídeos no ARRP.

Palavras-chave: *Leishmania*, *Trypanosoma*, reservatórios, roedores, marsupiais, antropização.

ABSTRACT

The anthropization process causes diversity reduction in fauna and flora, changes in development cycles of vectors and parasites, selection of generalist species, peridomiciliation of wild and synanthropic animals, all these being risk factors for emerging and re-emerging diseases which were previously under control. American Tegumentary Leishmaniasis (ATL), Visceral Leishmaniasis (VL) and Chagas Disease (CD) are diseases caused by Trypanosomatidae Protozoan, which incidence increase due to anthropic pressure.: Brazilian Amazon is an endemic region for ATL and CD where wild and synanthropic animals have been demonstrated to be involved in the transmission cycles of these diseases. In this work were identified Rodentia and Didelphimorphia mammal species, common hosts for leishmania and other trypanosomatid parasites. Also, were analysed their distribution in 4 different landscapes peridomicile, planting, forest close to planting and continuous forest, in the Central Amazon rain forest. A total of 135 non-flying small mammals were collected in the rural settlement of Rio Pardo (RSRP) - Presidente Figueiredo/AM, 81 classified in Rodentia order with 7 genera and 8 species, and 54 in Didelphimorphia order with 7 genera and 9 species. The higher diversity was found in forests close to planting, and the less diversity was in peridomicile environment. High Trypanosomatid infection rates (IR) s (63.7%) were detected by PCR (polymerase chain reaction) higher IR were observed in rodents captured in peridomicile environments (92.9%). and in marsupials in forest environment (53.3%). Among marsupial's the highest IRs were found in *Rattus rattus* (91.67%) and *Hylaemys* sp. (100%). *Neacomys paracou* specimens were captured in higher abundance in forest environments, where the IR was 81.08%. The Marsupial species with higher IRs were *Philander opossum* (85.71%), *Monodelphis brevicaudata* (83.33%), *Metachirus nudicaudatus* (75%) e *Marmosa demerarae* (66.67%). The presence of small rodents and marsupials with high infection rates in synanthropic and forest landscapes indicates that these two different environments offered similar risks for the transmission cycle of Trypanosomatids in RSRP.

Keywords: *Leishmania*, *Trypanosoma*, reservoirs, rodent, marsupials, anthropization.

Lista de Siglas e Abreviaturas

ARRP – Assentamento Rural de Rio Pardo

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

DC – Doença de Chagas

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

kDNA – DNA do cinetoplasto

nDNA – DNA nuclear

rDNA – DNA ribossomal

DNDi – Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas

DEPTO – Departamento

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane

INCRA – Instituto Nacional da Colonização e Reforma Agrária

INPA – Instituto Nacional da Pesquisa da Amazônia

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza (International Union for Conservation of Nature)

Km² – Quilômetro quadrado

LC – Leishmaniose Cutânea

LM – Leishmaniose Mucocutânea

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

LV – Leishmaniose Visceral

OMS – Organização Mundial de Saúde

OIE – Organização Mundial da Saúde Animal (World Organisation for Animal Health)

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde

PCR – Reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction Assay)

PCR-RT – Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (Real Time – PCR Assay)

PRODES/INPE – Projeto de Monitoramento do Desmatamento na Amazônia Legal por Satélite (PRODES) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE)

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

UBS – Unidade Básica de Saúde

UFOPA – Universidade Federal do Oeste do Pará

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 LEISHMANIOSE NO CONTEXTO DE SAÚDE PÚBLICA.....	14
2.2 FORMAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.....	15
2.3 TRIPANOSSOMATÍDEOS	15
2.4 <i>LEISHMANIA</i>	16
2.5 VETORES.....	17
2.6 CICLO DE VIDA DA <i>LEISHMANIA</i>	18
2.7 CICLO DE TRANSMISSÃO	20
2.7.1 <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>	21
2.7.2 <i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>	22
2.7.3 <i>Leishmania (Viannia) guyanensis</i>	22
2.8 RESERVATÓRIOS.....	23
3 JUSTIFICATIVA	24
4 OBJETIVOS	26
4.1 OBJETIVO GERAL	26
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
5 MATERIAL E MÉTODOS	26
5.1 MODELO DE ESTUDO.....	26
5.2 ÁREA DE PESQUISA	26
5.3 COLETA DE ANIMAIS VERTEBRADOS SILVESTRES E SINANTRÓPICOS	28
5.4 EXTRAÇÃO DO DNA.....	28
5.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	29
5.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	30
5.7 REVISÃO SISTEMÁTICA	30
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1 ARTIGO 01 – DIVERSIDADE DE ROEDORES E MARSUPIAIS E INFECÇÃO POR TRIPANOSSOMATÍDEOS, COM ÊNFASE EM <i>LEISHMANIA</i> SP., EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL.....	32
6.2 ARTIGO 2 – INFECÇÃO NATURAL POR <i>LEISHMANIA</i> EM ESPÉCIES DE PEQUENOS MAMÍFEROS DAS ORDENS RODENTIA E DIDELPHIMORPHIA NAS AMÉRICAS POR FERRAMENTAS MOLECULARES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	50
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS GERAIS	68

1 INTRODUÇÃO

Processos de antropização tais como desmatamento, reflorestamento, mineração, expansão da agricultura, urbanização, construção de vias – como rodovias e ferrovias – causam modificações ambientais, ecológicas e climáticas que promovem mudanças nas populações de vetores, parasitos e hospedeiros. Estas transformações alteram os padrões ecoepidemiológicos da transmissão de doenças infecciosas e parasitárias, causando a emergência de novas doenças ou reemergência de doenças que já estavam controladas (VONESCH et al., 2016; CONFALONIERI; MARGONARI; QUINTÃO, 2014; PATZ et al., 2008; PATZ et al., 2000). Por exemplo, parasitos da família Trypanosomatidae são influenciados por ações antrópicas causando mudanças na transmissão e prevalência das tripanossomíases e leishmanioses (CONFALONIERI; MARGONARI; QUINTÃO, 2014).

O Amazonas é área endêmica para ambas as doenças com registros de infecção múltipla em animais silvestres e vetores (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). O caráter multi-hospedeiro dos tripanossomatídeos permite a adaptação dos agentes etiológicos a diversos reservatórios, conseqüentemente, em diversas paisagens. Na presença dos vetores, estes reservatórios potencializam a infecção para algumas espécies, em especial as sinantrópicas (MCFARLANE et al., 2012). Por exemplo, a espécie *Didelphis* sp. foi encontrada infectada por *Leishmania* sp. e *Trypanosoma cruzi* em Salvador, Bahia (TRUEB et al., 2018).

Na região Amazônica, no ano de 2016, foi registrado o maior número de desmatamento por km² (PRODES/INPE). Os assentamentos rurais contribuíram com aproximadamente um terço do desmatamento entre 2011 e 2014, principalmente devido à pecuária de subsistência, extração de madeira ilegal e agricultura de corte e queima. Todavia, médios fazendeiros não registrados no INCRA respondem por 72% das áreas desmatadas nos polígonos dos assentamentos evidenciando que o desmatamento não é gerado exclusivamente e nem na maioria das vezes por assentados (ALENCAR et al., 2016).

A maior incidência de LTA foi registrada no estado do Amazonas nos anos de 1985, 1992 e 2003, associada principalmente a processos de urbanização e/ou climáticos. Em 1985, pela construção de casas no bairro Cidade Nova; em 1992, por fatores climáticos e presença de grande número de assentamentos nas periferias das cidades; em 2003, apenas fatores climáticos (chuvas constantes e alta precipitação). Manaus possui 54,2% dos casos reportados de LTA no Amazonas e estes ocorrem ao longo das periferias de regiões metropolitanas e nos municípios próximos às estradas e veredas, devido ao crescimento desorganizado, agricultura, além da proximidade das casas dos assentados às bordas de florestas (GUERRA et al., 2015).

Desta forma, a disseminação da LTA ocorre de áreas florestadas para áreas periurbanas e/ou antropizadas pela adaptação do vetor, processo conhecido como sinantropização do vetor (GUERRA et al., 2015; REIS et al, 2013). Por exemplo, na comunidade de São João, na zona rural de Manaus, foram registrados 17 casos de LTA em humanos. Nesta comunidade, os vetores mais prevalentes foram *Lutzomyia (Nyssomyia) umbratilis* (32,3%) e *Lutzomyia (Nyssomyia) anduzei* (20%) capturados predominantemente em regiões de floresta e em peridomicílio. Fato que denotou o risco de transmissão tanto pela presença do vetor no ambiente intra e peridomiciliar, quanto pela entrada na mata, hábito comum para os moradores da região através de atividades como extrativismo, busca de água e lazer (GUERRA et al., 2006). No assentamento rural de Rio Pardo, área de estudo desta dissertação, Ramos et al. (2014) demonstraram que espécies vetorais tipicamente silvestres estavam em ambiente peridomiciliar.

Igualmente importante é a presença de animais reservatórios infectados que servem como fonte de repasto para o vetor e manutenção de ciclos de transmissão dos patógenos ao homem. Neste aspecto, roedores sinantrópicos assumem papel relevante como hospedeiros de doenças tanto pela facilidade de adaptação ao ambiente peridomiciliar (KHLIAP; WARSHAVSKY, 2010), quanto por serem reservatórios de importantes parasitos zoonóticos (HAN et al., 2015; 2016). Mais de 60 zoonoses mundialmente conhecidas já foram identificadas nesses pequenos mamíferos (HAN et al., 2015; MEERBURG; SINGLETON; KIJLSTRA, 2009). Estudo recente realizado por Caldart et al. (2017) em Londrina, no Sul do Brasil, demonstrou *Rattus rattus* infectados com *L. (Leishmania) amazonensis* e *L. (Le.) infantum*, alguns com infecção mista, evidenciando a complexidade do ciclo de transmissão das leishmanioses.

Em especial, o marsupial *Didelphis marsupialis*, conhecido popularmente por mucura ou gambá, se destaca pela adaptação a ambientes alterados e por transitar com frequência em ambientes peridomiciliar e silvestres (GUERRA et al., 2006, 2007a e 2015). Esta espécie tem sido encontrada infectada por *Leishmania* e *Trypanosoma cruzi*. Em Manaus, Arias et al. (1981) encontraram entre 20% e 25% dos *D. marsupialis* infectados com *Leishmania* e nos arredores de Manaus (Reserva Florestal Adolpho Ducke, Km 23 da rodovia AM – 010 e na base do Centro de Instrução de Guerra na Selva (CIGS), Km 55, AM - 010). Ademais, *D. marsupialis* é considerado reservatório natural para *Trypanosoma cruzi* e tem sido encontrado infectado em diversas localidades do Brasil como em Santa Catarina (GRISARD et al., 2000), em Teresópolis – Rio de Janeiro (LEGEY et al., 2003), e no Paraná (TOLEDO et al., 1997).

O objetivo deste trabalho é identificar reservatórios de tripanossomatídeos com ênfase à *Leishmania* sp. causadoras de LTA em um assentamento rural da Amazônia Central, visando elucidar riscos de transmissão para humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEISHMANIOSE NO CONTEXTO DE SAÚDE PÚBLICA

A leishmaniose é uma importante antropozoonose com impacto na saúde pública. De acordo com a OMS ocorrem cerca de 700 a um milhão de novos casos por ano, com aproximadamente 20.000 a 30.000 mortes. É uma doença endêmica em 97 países, dos quais 65 apresentam a forma visceral e cutânea; 10, a forma visceral; e 22, a forma cutânea. É considerada uma doença negligenciada, por afetar principalmente populações vulneráveis, em situação de desnutrição, com moradia precária e falta de recursos econômicos (WHO, 2018).

No Brasil, encontramos as três formas da doença: leishmaniose visceral (LV), leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (LM), nas Américas a LC e a LM juntas são denominadas de leishmaniose tegumentar americana (LTA). A LTA é uma doença endêmica nas regiões Norte e Nordeste do Brasil e aumenta sua incidência em decorrência dos processos de ocupação desordenada. O Norte brasileiro (desde 2011) tem se destacado pelo maior número de casos de LTA, com 8.939 casos em 2015, correspondentes a 46% do total de casos registrados no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A leishmaniose possui um caráter social por ocorrer principalmente na periferia de cidades, ambientes rurais, onde a população mais vulnerável, em geral, é pobre e sobrevive em condições socioeconômicas precárias e de difícil acesso ao sistema de saúde (PATZ et al., 2008). Além disso, a LTA é marcada por ser uma doença com aspecto psicológico e causa desde pequenas lesões a lesões deformantes. De acordo com Bennis (2017), adolescentes com cicatrizes da leishmaniose cutânea que moram em uma região endêmica de Marrocos apresentam efeitos psicossociais que variam desde vergonha a pensamentos de suicídio. Devido aos caracteres psicológico e socioeconômico marcantes, a doença não deveria ser negligenciada.

Intervenções básicas e convencionais de saúde pública auxiliariam na prevenção das patologias a um baixo custo. Estas ideias vão de encontro ao conceito da Saúde Única (One Health), no qual profissionais médicos e veterinários, aliados a profissionais de outras áreas, trabalham meio ambiente, saúde animal e saúde humana de forma multidisciplinar para combater as zoonoses, minimizando o ônus econômico que os patógenos acarretam na saúde

humana e/ou animal (DÓREA et al., 2014). Neste contexto, duas iniciativas são necessárias: primeira, pesquisas para conhecer sobre a diversidade de patógenos e suscetibilidade na vida silvestre; segunda, a junção de profissionais de diversas áreas para unir meio ambiente e saúde e trazer abordagens mais práticas para vigilância, controle e prevenção de doenças.

2.2 FORMAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

A LTA é uma doença que pode se apresentar sob diversas formas: cutânea localizada, exclusiva de pele, geralmente única e no local da picada do vetor, são frequentemente ulcerações com bordas elevadas e fundo de tecido de granulação com tendência a cura espontânea; mucocutâneo, a lesão da mucosa pode ocorrer com a lesão cutânea ou aparecer anos após a infecção, geralmente localizada nas cavidades nasal e/ou oral gerando degeneração das cartilagens e de tecidos moles; cutânea disseminada, caracterizada por múltiplas lesões de pele pápulo-eritematosas ou ulceradas, em casos de pacientes não tratados (evolução tardia); cutânea difusa, é uma forma clínica grave e rara, as lesões não cicatrizam espontaneamente e são resistentes ao tratamento (SILVEIRA; LAINSON; CORBETT, 2004) e recidiva cútis, caracterizada pela ativação das bordas após cicatrização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

2.3 TRIPANOSSOMATÍDEOS

Os tripanossomatídeos são eucariotas, unicelulares e uniflagelados. Apresentam ampla distribuição geográfica e infectam animais vertebrados (roedores, marsupiais, quirópteros, edentados, carnívoros, equídeos, primatas, reptéis, peixes e anfíbios), invertebrados (especialmente Diptera e Hemiptera) e plantas (BORGHESAN, 2013). São parasitos mono ou heteroxênicos, estes últimos necessitam de dois hospedeiros para completar seu desenvolvimento, um vertebrado e outro invertebrado, o último responsável pela transmissão do parasito a humanos e animais (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Em geral, os membros desta família não causam patologias em seus hospedeiros, porém alguns são importantes agentes etiológicos causadores de doenças de importância médica e veterinária, como é o caso das tripanossomíases (doença do sono e doença de Chagas - DC) e as leishmanioses (leishmaniose cutânea - LC e leishmaniose visceral - LV). Os gêneros pertencentes a esta família de destaque são *Leishmania*, *Trypanosoma*,

Endotrypanum (BORGHESAN, 2013) e dois novos gêneros *Porcisia* e *Zelonia* (STEVERDING, 2017; ESPINOSA et al., 2018).

2.4 LEISHMANIA

Parasitas do gênero *Leishmania* são protozoários pertencentes ao filo Sarcomastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Devido à grande semelhança morfológica, as espécies de *Leishmania*, inicialmente, foram classificadas quanto ao desenvolvimento no vetor e subdividas em três categorias: hipopilaria, peripilaria e suprapilaria. Hipopilaria, desenvolvimento e ancoragem no intestino posterior e transmissão ocorre por predação do inseto. Peripilaria, desenvolvimento ocorre no intestino posterior, migrando para intestino médio e anterior e transmissão por picada do flebotomíneo infectado. Suprapilaria, desenvolvimento no intestino médio e anterior e transmissão pela picada do flebotomíneo. Em 1977, Lainson et al. realizaram uma revisão da classificação incluindo todos os parasitos e estes foram divididos em dois subgêneros. As espécies com seu estágio de desenvolvimento no intestino posterior foram incluídas no subgênero *Viannia* e aquelas com desenvolvimento no intestino médio e anterior subgênero *Leishmania* (LAINSON, 2010).

Recentemente, foi criado mais um subgênero, *Mundinia*, descrito inicialmente na Tailândia e responsável por causar a leishmaniose cutânea localizada e a leishmaniose visceral em humanos (JARIYAPAN et al., 2018). Como membro integrante desse subgênero, temos *Leishmania martiniquensis* (STEVERDING 2017; JARIYAPAN et al., 2018) e *Leishmania orientalis*, ambos anteriormente classificados como *Leishmania (Le.) enriettii* (JARIYAPAN et al., 2018).

Existem aproximadamente 53 espécies de *Leishmania* (BARRAT et al., 2017), das quais 19 são causadoras de leishmanioses em humanos, dentro do subgênero *Viannia* temos *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. linderbergi*, *L. major*, *L. naiffi*, *L. panamensis*, *L. peruviana*, *L. shawi*; dentro do subgênero *Leishmania* temos: *L. aethiopica*, *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, *L. tropica*, *L. venezuelensis* e *L. waltonie*, e dentro do subgênero *Mundinia* temos *L. martiniquensis* e *L. orientalis* (STEVERDING, 2017; JARIYAPAN et al., 2018).

Com o avanço da biologia molecular algumas mudanças taxonômicas têm sido propostas por diversos autores. *Leishmania (V.) colombiensis*, *L. (Le.) equatoriensis*, *Leishmania (Le.) herreri* foram remanejadas para o gênero *Endotrypanum* (ESPINOSA et al., 2016, NOYES et al., 1996). Um novo gênero foi criado e denominado *Porcisia*, recebendo as

antigas classificações *Leishmania (Leishmania) hertigi* e *Leishmania (Leishmania) deanei* (STEVERDING, 2017; ESPINOSA et al., 2016).

No Brasil, existem sete espécies de *Leishmania* causadoras de doença no homem, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As mais prevalentes são: *Leishmania (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* distribuídas por todo o país, e *(V.) guyanensis* encontrada na região amazônica. Recentemente, nas regiões Norte e Nordeste do país, foram identificadas as espécies: *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

2.5 VETORES

Os Flebotomíneos são pertencentes à ordem Diptera, subfamília Phlebotominae e gêneros *Lutzomyia*, *Warileya*, *Brumptomyia* (Novo Mundo) e *Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Chinius* (Velho Mundo) (AKHOUNDI et al., 2016). Os flebotomíneos são holometábolos. Na fase larvária, crescem em ambientes terrestres com alta quantidade de matéria orgânica, sem luminosidade e úmidos. Na fase adulta, estão adaptados a diversos ambientes, alimentam-se de carboidratos, porém fêmeas necessitam de sangue para a maturação dos ovos. Os insetos adultos medem entre 1 e 3 mm, coloração castanho clara ou palha, corpo revestido por cerdas e apresentam voo caracterizado por saltos curtos (FORRATINI, 1973a). Geralmente, os flebotomíneos ocupam ambientes silvestres e algumas espécies ocupam ambientes antrópicos como: áreas de plantio, ambiente peridomiciliar próximo a animais domésticos, galinheiros, chiqueiros e paredes externas e internas às moradias (RANGEL; LAINSON, 2005).

Mundialmente, são conhecidas aproximadamente 900 espécies de flebotomíneos, cerca de 260 são encontradas no Brasil (SHIMABUKURO; GALATI, 2011), com maior diversidade na região amazônica (AGUIAR; MEDEIROS, 2003). No Brasil (Novo Mundo), várias espécies de flebotomíneos estão envolvidas na transmissão de LTA: *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata*, *Lu. (Ny.) whitmani*, *Lu. (Ny.) umbratilis*, *Lu. (Ny.) intermedia*, *Lu. (Psychodopygus) wellcomei* e *Lu. (Ny.) migonei* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017) e *Lu. (Trichophoromyia) auraensis* (TELES et al., 2017).

O principal vetor da LTA na Amazônia é *Lutzomyia (Ny.) umbratilis*, que transmite a *Leishmania guyanensis* (FREITAS, 2016), responsável por 95% dos casos da doença em humanos (ROMERO et al., 2002). Essa espécie vetora está limitada às regiões Norte (Acre, Amapá, Roraima, Rondônia, Amazonas e Pará) e Nordeste (Pernambuco, Alagoas) (SILVA; VASCONCELOS, 2005; FREITAS et al., 2017), estendendo-se às Guianas (BALBINO et al.,

2001; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Estudos mostram que populações de *Lutzomyia umbratilis* ao Norte da calha do Rio Amazonas se infectam com *Leishmania*, enquanto as do Sul não se infectam (SOARES et al., 2018).

A *Lutzomyia flaviscutellata* é uma espécie que apresenta ampla distribuição no país e está presente em 18 estados brasileiros. Esta espécie é pouco antropofílica, atraída principalmente por roedores e está incriminada na transmissão de *Leishmania amazonensis* a humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Diversas espécies de *Lutzomyia* têm sido encontradas infectadas com *L. braziliensis*. No Pará, *Lu. (Ps.) complexa* e *Lu. wellcomei*; na Bahia, Ceará, Mato Grosso do Sul e Paraná, *Lu. whitmani*; no Ceará, Pernambuco e Rio de Janeiro, *Lu. migonei*; no Sul do Brasil, *Lu. (Ny.) neivai*; no Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, *Lu. intermedia* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017); *Lu. (Tr.) auraensis* no Acre (TELES et al., 2016).

Estudo realizado em fragmento de floresta em Manaus demonstrou que *Lutzomyia umbratilis* e *L. (Lu.) spathotrichia* se alimentaram predominantemente de roedores (NERY, 2004). Sendo os roedores e marsupiais fonte de alimento para flebotomíneos e vastamente descritos como infectados, esses mamíferos se tornam importantes reservatórios que necessitam de estudo.

2.6 CICLO DE VIDA DA LEISHMANIA

No ciclo biológico da *Leishmania*, observam-se duas fases: promastigotas e amastigotas. As formas promastigotas são flageladas, móveis, encontradas aderidas ao intestino do inseto vetor. Essas formas produzem LPGs (Lipofosfolípidos) que auxiliam na interação com os macrófagos e epitélio intestinal do inseto (PIMENTA et al., 2018). As formas amastigotas são aflageladas, arredondadas e imóveis, que se multiplicam obrigatoriamente dentro das células do sistema monocítico fagocitário (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

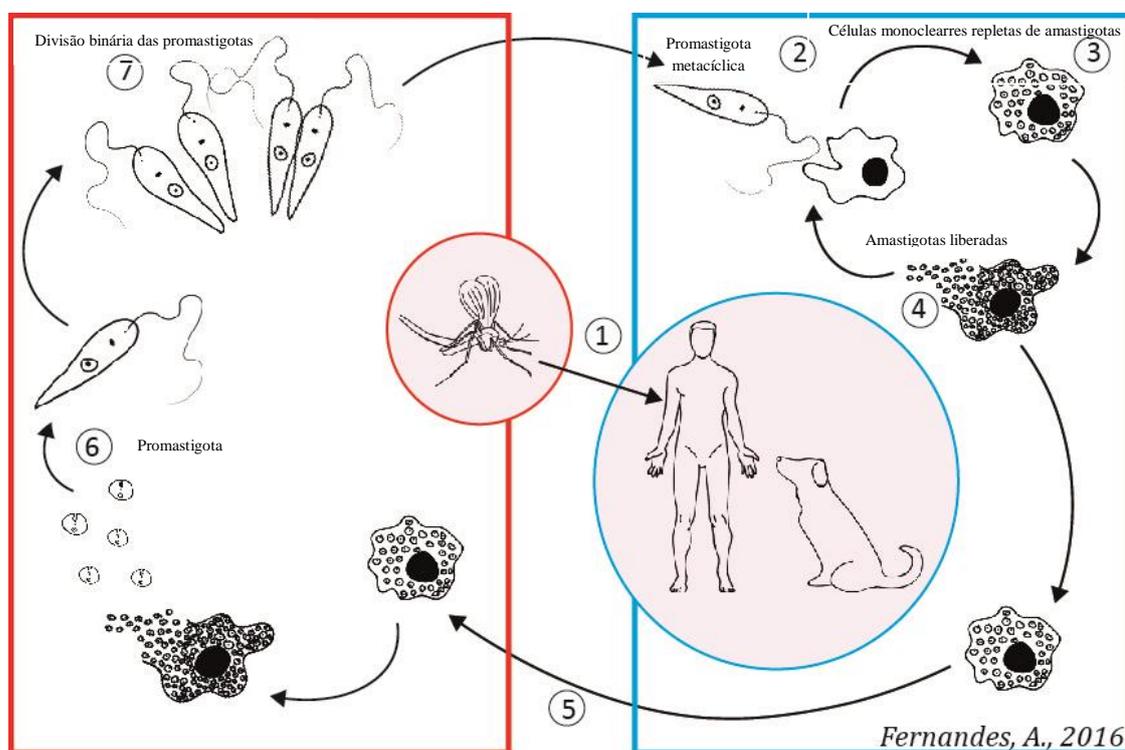
As fêmeas do vetor se infectam ao ingerir o sangue contendo células fagocíticas com *Leishmania*. No interior do intestino do inseto, as amastigotas rompem as células e se transformam em promastigotas, estas formas se aderem à parede do intestino do flebotomíneo, multiplicam-se intensamente por divisão binária, migram para esôfago e faringe, onde se transformam em paramastigotas. Duas modificações ocorrem de paramastigotas para promastigotas procíclica, e depois promastigota metacíclica, esta última

se dirige para o aparato bucal do inseto e são liberadas junto com a saliva, durante o repasto sanguíneo (ROCHA, 2012).

O hospedeiro se infecta pela picada da fêmea do vetor infectado. No Brasil, o flebótomo inocula as promastigotas metacíclicas, que são fagocitadas pelos macrófagos teciduais ou outras células fagocíticas. No interior dessas células, as promastigotas se transformam em amastigotas, por divisão binária as amastigotas se proliferam e rompem a célula liberando as amastigotas que serão fagocitadas por novos macrófagos. Este ciclo se repete sucessivas vezes (ROCHA, 2012).

Recente descoberta evidencia que o segundo repasto sanguíneo de flebátomos infectados com *Leishmania* potencializa a diferenciação das formas promastigotas metacíclicas e aumenta o potencial de infectividade do vetor, colocando a fonte de alimento disponível como fator preponderante para a propagação da doença (SERAFIM et al., 2018). Neste aspecto, animais sinantrópicos domésticos, galinhas e suínos podem estar contribuindo para o potencial de infectividade dos vetores no peridomicílio. Principalmente se somarmos a hipótese de que espécies vetores peridomiciliadas utilizam animais domésticos e de criação como fonte de repasto e seus dejetos como criadouros de formas imaturas (RAMOS et al., 2014).

Figura 1 – Ciclo de vida da *Leishmania*



Fonte: Disponível em: <<http://know.net/wp-content/uploads/2016/06/Leishmania-life-cycle.jpg>> Acesso em 15 nov. 2018.

2.7 CICLO DE TRANSMISSÃO

A epidemiologia das leishmanioses é complexa e envolve três ciclos de transmissão: o puramente silvestre, o silvestre modificado e o periurbano. No domicílio, encontram-se o homem, animais domésticos, animais sinantrópicos e vetores; no ambiente silvestre, encontram-se o animal silvestre e o vetor (BASANO; CAMARGO, 2004).

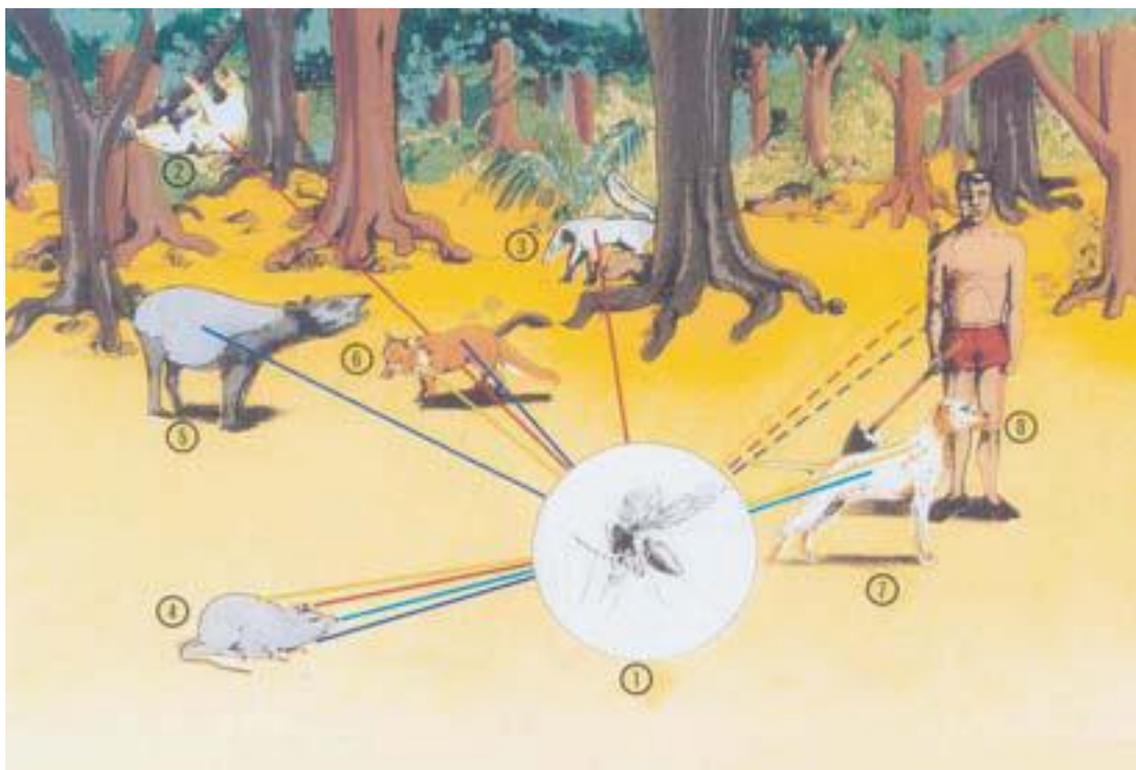
No ciclo domiciliar e periurbano, o vetor adaptado ao peridomicílio transmite o parasito aos moradores sem que estes precisem adentrar as matas, potencializando a propagação da doença. A presença de crianças menores de 10 anos infectadas pela *Leishmania* indica a ocorrência de transmissão intra e peridomiciliar (PAES et al., 1998). Basano e Camargo (2004) salientaram o caráter endêmico-epidêmico da doença no ciclo periurbano e frisaram a participação de animais domésticos (equinos e cães) e roedores como reservatórios peridomiciliares.

No ciclo domiciliar, o grau de exposição dos moradores ao parasito está relacionado com a ocupação desordenada de novas áreas e proximidade de áreas florestais, por exemplo, terras de assentamento rural e zonas rurais (PENNA et al., 2009). Fatores de risco tais como lixo, presença de animais sinantrópicos e animais domésticos, podem contribuir para o estabelecimento da LTA no peridomiciliar. No bairro Cidade de Deus, localizado às margens de uma área de mata primária em Manaus, verificou-se que o descarte de lixo atraía reservatórios silvestres da floresta, aumentando os riscos de transmissão dos agentes patogênicos ao homem (REIS et al., 2013). Guerra et al. (2006) identificaram, em Manaus no Conjunto Hileia, *Didelphis marsupialis* como espécie mais frequente e com taxa de infecção de 20%. Em outro estudo, os mesmos autores sugeriram que os animais domésticos serviram como atração para os flebotomíneos (GUERRA et al., 2007a).

No ciclo silvestre modificado, o homem se infecta ao adentrar em florestas para desenvolver atividades de lazer ou trabalho tais como extrativismo, pecuária, agricultura, ecoturismo (BASANO; CAMARGO, 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017) e treinamento militar na selva (GUERRA et al., 2003). Normalmente, a incidência da doença ocorre em surtos epidêmicos sazonais que se relacionam com a flutuação populacional dos flebotomíneos (BASANO, CAMARGO, 2004).

O ciclo puramente silvestre se caracteriza pela perturbação de florestas primárias pelo desmatamento (construção de assentamentos, estradas e rodovias) e exploração desordenada como madeira, mineração e agricultura. Neste caso, a LTA ocorre em surtos epidêmicos, geralmente em florestas de Mata Atlântica e Amazônica (BASANO, CAMARGO, 2004).

Figura 2 – Ciclo de transmissão da *Leishmania*



Fonte: Disponível em: <<http://knoow.net/wp-content/uploads/2016/06/Leishmania-life-cycle.jpg>> Acesso em 15 nov. 2018.

2.7.1 *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

O ciclo da *L. amazonensis* silvestre ocorre em áreas florestadas primárias e secundárias da Amazônia Legal e/ou florestas de outros estados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Esse ciclo silvestre envolve os reservatórios silvestres dos gêneros *Proechymis*, *Oryzomys* (BASANO, CAMARGO, 2004), *Necromys* (CARDOSO et al., 2015), *Neacomys*, *Nectomys* e *Dasyprocta*, marsupiais como *Micoureus* (QUINTAL et al., 2011), *Marmosa*, *Metachirus*, *Didelphis* e *Philander*, além do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (LAINSON, 2010).

Recentemente, o ciclo domiciliar foi evidenciado pela infecção por *L. amazonensis* de *Rattus rattus*, *Canis familiaris*, *Felis catus* (CALDART et al., 2017; HOFFMANN et al., 2012; DUARTE et al., 2010).

2.7.2 *Leishmania (Viannia) braziliensis*

A *Leishmania (V.) braziliensis* apresenta ampla distribuição geográfica no Brasil, tem sido incriminada no ciclo silvestre e domiciliar e isolada em casos humanos e animais em áreas domiciliares, plantações e áreas florestadas. Entre os roedores silvestres naturalmente infectados por esta espécie de *Leishmania* estão: *Akdon arvicuculoides* (BRANDÃO FILHO et al., 2003), *Akdon cursor* (TONELLI et al., 2017), *N. lasiurus* (BRANDÃO FILHO et al., 2003), *Cerradomys subflavus* (FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; TONELLI et al., 2017), *Holochilus scieurus* (BRANDÃO FILHO et al., 2003), *Nectomys squamipes* (BRANDÃO FILHO et al., 2003), *Oryzomys subflavus* (OLIVEIRA et al., 2005), *Rhipidomys macrumus* (CARDOSO et al., 2015) e *Trichomys apereoides* (QUARESMA et al., 2011). Entre os marsupiais silvestres: *Gracilinanus agilis* (QUARESMA et al., 2011), *Marmosa* sp. (BRANDÃO-FILHO et al., 2003), *Micoureus paraguayanus* (QUINTAL et al., 2011).

No ciclo domiciliar, têm sido encontrados naturalmente infectados roedores como *Mus musculus* (FERREIRA et al., 2015; DE FREITAS et al., 2012), *Rattus norvegicus* (FERREIRA et al., 2015; MARCELINO et al., 2011) e *Rattus rattus* (BRANDÃO FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017); além de marsupiais como *Didelphis albiventris* (QUARESMA et al., 2011; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017) e *D. marsupialis* (SCHALLING et al., 2007).

Além disso, animais domésticos que comumente são abundantes em ambientes urbanos, como cães (*Canis familiaris*) (MADEIRA et al., 2003; YOSHIDA et al., 1990; OLIVEIRA NETO et al., 1988) e gatos (*Felis catus*) têm sido incriminados como reservatórios, bem como equídeos: cavalos, jumento e mulas (*Equus caballus*, *Equus asinus* e *Equus caballus* X *Equus asinus*, respectivamente) (YOSHIDA et al., 1990; OLIVEIRA NETO et al., 1988; AGUILAR, RANGEL, 1986).

2.7.3 *Leishmania (Viannia) guyanensis*

Esta espécie é encontrada em florestas de terra firme, limitadas à região Norte (Acre, Amapá, Roraima, Amazonas e Pará), tem sido isolada de preguiça (*Choloepus didactylus*), tamanduá (*Tamandua tetradactyla*), roedores (*Proechimys*) e gambá (*Didelphis marsupials* e *D. albiventris*) (BASANO; CAMARGO, 2004; ARIAS et al., 1981).

2.8 RESERVATÓRIOS

Diversos mamíferos têm sido incriminados como reservatórios de *Leishmania*; desde domésticos, como canídeos, felídeos e equídeos; passando por sinantrópicos, como roedores e marsupiais, a silvestres, como roedores, marsupiais, edentados, canídeos, quirópteros e primatas. O caráter multi-hospedeiro da *Leishmania* contribui para a manutenção do ciclo da doença na natureza em diferentes paisagens desde as silvestres às peridomiciliares (ROQUE; JANSEN, 2014).

O conceito do efeito diluição aponta que a antropização causa redução da diversidade de hospedeiros e pode levar à seleção de espécies mais generalistas, que comumente são reservatórios mais competentes para alguns patógenos, um fenômeno conhecido por potencializar a emergência de patologias pela seleção de reservatórios competentes (FAUST, 2017). Mcfarlane (2012) hipotetizou que mudanças ambientais, como perda da biodiversidade, seleciona animais sinantrópicos e potencializa a exposição dos homens aos patógenos. O autor aponta que, na região da Australásia, os animais sinantrópicos de vida selvagem possuem 15 vezes mais chances de ser fonte de doenças infecciosas zoonóticas emergentes e reemergentes (EID - Emerging Infectious Diseases,) do que animais de vida selvagem, independente das espécies.

Desta forma, espécies como *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* e *Mus musculus* (sinantrópicas) (KHLIYAP; WARSHAVSKY, 2010) assumem importante papel na manutenção do ciclo de transmissão da *Leishmania* sp. pelo envolvimento no ciclo perodomiciliar.

O roedor *Rattus rattus*, por exemplo, foi encontrado infectado com *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis* no Brasil (TRUEB et al., 2018; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; CALDART et al., 2017; VASCONCELOS et al., 1994; BRANDÃO FILHO et al., 2003) e em outros países: Venezuela, Argentina, Grécia, Itália, Egito, Irã e Senegal com *L. mexicana* e *L. major* (DE LIMA et al., 2003, LIMA et al., 2006; RUIZ et al., 2015; TSAKMAKIDIS et al., 2017; BETTINI; POZIO; GRADONI, 1980; SAMY; DOHA; KENAMY, 2014; DAVAMI et al., 2014; CASSAN et al., 2018). Infecção mista também foi descrita com *L. infantum*, agente causador da leishmaniose visceral (FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; CALDART et al., 2017).

A espécie *Rattus norvegicus* tem sido encontrada naturalmente infectada com *L. braziliensis* no Brasil (FERREIRA et al., 2015; MARCELINO et al., 2011), e com *L. major* no Irã e Egito (MOTAZEDIAN et al., 2010; SAMY; DOHA; KENAWY, 2014).

A espécie *Mus musculus* tem sido encontrada naturalmente infectada por *L. braziliensis* no Brasil (DE FREITAS et al., 2011; FERREIRA et al., 2015), com *L. major* e *L. tropica* no Irã e Marrocos (ECHCHAKERY et al., 2017; DAVAMI et al., 2014; PARHIZKARI et al., 2011).

Entre os marsupiais, *Didelphis marsupialis* se destaca por ser espécie sinantrópica. Esta foi encontrada infectada por *L. braziliensis*, *L. forattini* e *L. mexicana* no Brasil, Venezuela e Guiana Francesa (ARIAS et al., 1981; ARIAS; NAIFF, 1981; LAINSON et al., 1981; SCHALLIG et al., 2007; YOSHIDA et al., 1993; SCORZA; REZZANO; MARQUEZ, 1984; DEDET et al., 1985; DEDET; GAY; CHATENAY, 1989).

Didelphis albiventris foi encontrado naturalmente infectado por *L. braziliensis* no Brasil (QUARESMA et al., 2011; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; BRANDÃO FILHO et al., 2003; SILVA et al., 2016), e por *L. peruviana* no Peru (LLANOS-CUENTAS et al., 1999). A espécie *D. aurita* foi encontrada naturalmente infectada com *L. mexicana* em São Paulo (CARREIRA et al., 2012).

Ainda existem poucos estudos sobre a incriminação sobre mamíferos reservatórios de *Leishmania* sp. no Brasil; apenas 11 das 27 unidades federativas possuem registros sobre este assunto (AM, BA, CE, DF, ES, MG, MT, PA, PE, PR, SP) (ARIAS et al., 1981; TRUEB et al., 2018; VASCONCELOS et al., 1994; CARDOSO et al., 2015; FALQUETO et al., 1998; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; LAINSON; SHAW, 1970; LAINSON et al., 1981; LIMA et al., 2013; BRANDÃO FILHO et al., 2003; CALDART et al., 2017; FORATTINI et al., 1972). Portanto, é necessário realizar estudos para esclarecer o envolvimento desses mamíferos no ciclo epidemiológico de transmissão da leishmaniose. Neste trabalho, são estudados os pequenos mamíferos infectados por tripanossomatídeos em uma área de assentamento rural com transmissão de leishmaniose.

3 JUSTIFICATIVA

A região amazônica é conhecida pela grande diversidade de espécies de vertebrados e invertebrados e por apresentar mosaicos focais de diferentes tipos de LTA e surtos discretos de LV (CONFALONIERI, MARGONARI, QUINTÃO; 2014). Além disso, o Amazonas ocupa a 3º posição da região Norte do Brasil para doença de Chagas. Estes dados apontam para uma alta prevalência dos tripanossomatídeos. Apesar das fortes indicações da participação dos reservatórios silvestres e sinantrópicos no ciclo de transmissão aos homens,

não há estudos recentes que indicam quais são as espécies envolvidas na perspectiva da epidemiologia das paisagens.

O aumento populacional humano que ocorre na região amazônica implica em maior risco de transmissão de doenças infecciosas, especialmente as de origem vetorial, devido à perturbação do ambiente natural, geração de mais lixo e eliminação de dejetos que geram maior disponibilidade de alimento para animais sinantrópicos e matéria orgânica para a formação de criadouros de insetos, que podem se comportar como hospedeiros de parasitas e de doenças (REIS et al., 2013).

O assentamento rural de Rio Pardo está em constante pressão ambiental pelo desmatamento e pelas mudanças no uso da terra para pecuária e agricultura de subsistência, tornando-o um local favorável para o surgimento e ressurgimento de doenças zoonóticas. A abertura de novos ramais tem trazido como consequências o aumento do desmatamento, o aumento do número de casos de leishmaniose (comunicação pessoal dos agentes de saúde da região) e mudanças na ecologia e comportamento de parasitos, vetores e reservatórios (RAMOS et al., 2014; PEREIRA SILVA, 2017; FEIJÓ, 2018)

Trabalhos anteriores no ARRP demonstraram que diferentes graus de desmatamento afetaram as populações de flebotomíneos, onde no peridomicílio a abundância destes invertebrados foi maior que na floresta, sobretudo em locais com criadouros de animais, hipoteticamente, por servirem como fonte de alimento para os invertebrados (RAMOS et al., 2014). Igualmente, no município de Santarém, Pará, uma área endêmica para leishmaniose visceral (LV) e LTA, foi evidenciada a adaptação do flebotomíneo em bairros periféricos da cidade, principalmente quando presentes galinheiros e animais domésticos (FEITOSA et al., 2012).

Neste trabalho, levanta-se a hipótese de que a alteração da paisagem pela ação humana pode afetar os ciclos de transmissão de doenças vetoriais a partir de seu impacto na diversidade e na frequência de reservatórios silvestres (Rodentia e Didelphimorphia), potencializando a infecção por tripanossomatídeos para algumas espécies, em especial as sinantrópicas, apontando para a necessidade de monitoramento nestas regiões da Amazônia em crescente ocupação.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar pequenos mamíferos terrestres silvestres e sinantrópicos das ordens Rodentia e Didelphimorphia como potenciais reservatórios de tripanossomatídeos, em diferentes paisagens de um assentamento rural na Amazônia Central.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a prevalência de tripanossomatídeos com ênfase em *Leishmania* em reservatórios silvestres e sinantrópicos das ordens Rodentia e Didelphimorphia no Assentamento Rural de Rio Pardo (ARRP)
- Analisar a distribuição espacial de roedores e marsupiais silvestres infectados por tripanossomatídeos nas paisagens do ARRP.
- Revisar o estado da arte sobre infecções naturais por *Leishmania* em espécies de pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia nas Américas por ferramentas moleculares.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MODELO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal para detecção de tripanossomatídeos em roedores e marsupiais coletados no ARRP em quatro paisagens diversas do assentamento.

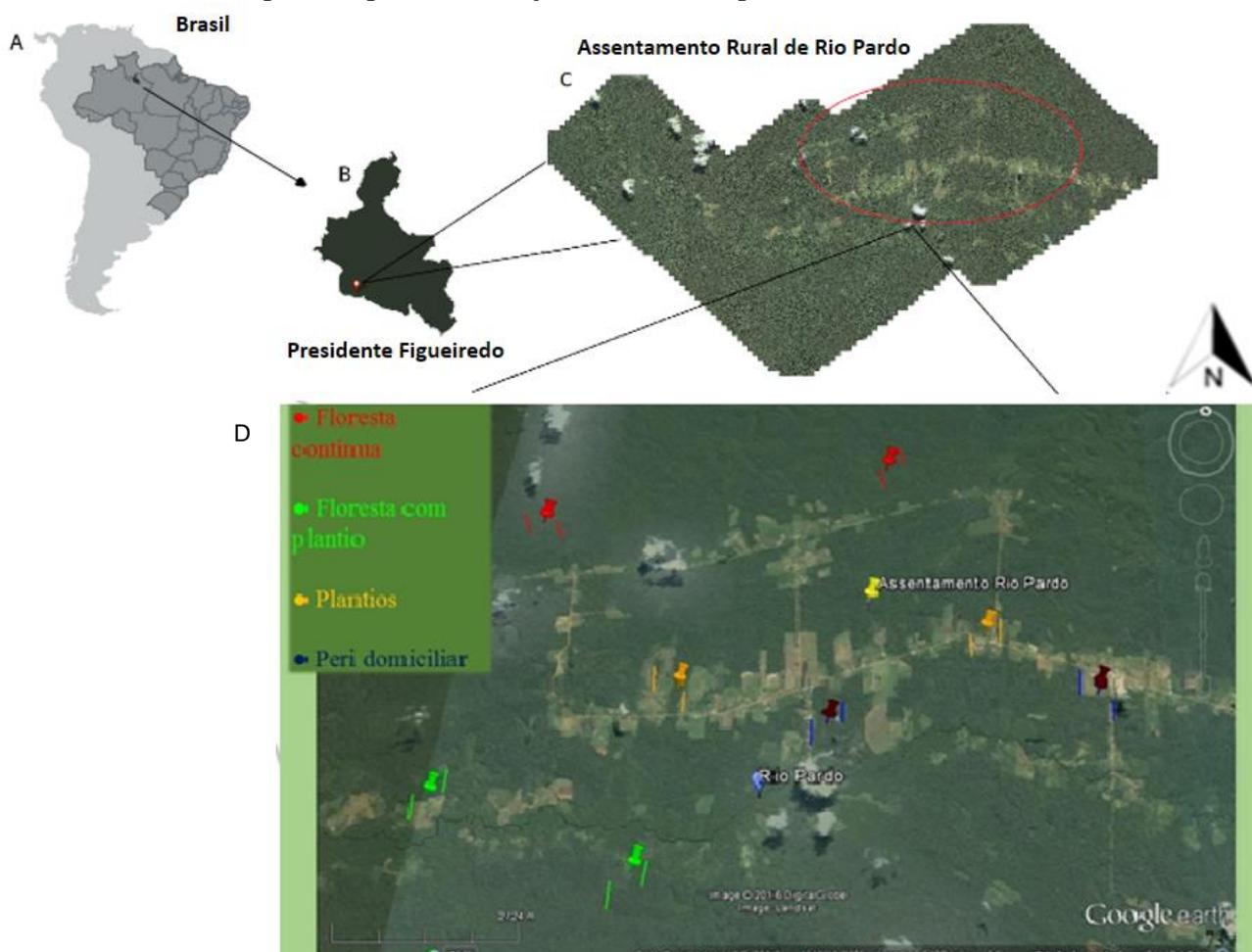
5.2 ÁREA DE PESQUISA

O estudo foi realizado no Assentamento rural de Rio Pardo (ARRP), Município de Presidente Figueiredo, Estado do Amazonas (AM), localizado a 160 Km de Manaus, com acesso por meio da BR-174 (Figura 3 A-C). O assentamento conta com uma área de 27.980 hectares, atualmente é ocupado por aproximadamente 600 habitantes, de acordo com o último censo realizado em 2015 pelo ILMD. O ARRP é subdividido em ramais, atualmente seis, todos não pavimentados: Principal, Maria Gusmão, Samuel, Terra Preta, Taxista e Novo Paraíso. Atualmente, novos ramais têm sido abertos para expansão da agricultura e construção de

casas. A principal atividade de sustento das famílias é a agricultura (principalmente, cultivo de banana e macaxeira) com venda do excedente, criação de subsistência (galinha, patos e suínos, sendo bovino inexpressivo), além da caça e pesca.

O ARRP (Figura 3 D) foi criado oficialmente pelo Instituto Nacional de Colonização da Reforma Agrária (INCRA) em 1996, em uma área de floresta tropical densa de terra firme. A região caracteriza-se por um clima tropical úmido, com temperatura média anual de 27 °C e dois períodos climáticos: um período chuvoso (de novembro a maio) e um período seco (de junho a outubro).

Figura 3. Mapa esquemático das áreas de coleta no assentamento rural de Rio Pardo, município de Presidente Figueiredo/AM. Pontos vermelhos: Floresta contínua, pontos verdes: Floresta com plantio, pontos alaranjados: Plantio e pontos azuis: Peridomicílio



Fonte: Foto de Google Earth, acesso em 13 dez. 2015 modificada por Kautzmann, R. P. e Feijó, J. A.

5.3 COLETA DE ANIMAIS VERTEBRADOS SILVESTRES E SINANTRÓPICOS

As coletas dos pequenos mamíferos não voadores (roedores e marsupiais) foram realizadas em diferentes ambientes/paisagens do assentamento rural: floresta contínua (com baixo efeito antrópico ou nenhuma ação antrópica); floresta próxima a plantio (floresta em regeneração); plantios (culturas de macaxeira, banana, pimenta, cana, mamão) e peridomicílio.

Para a captura dos animais silvestres e sinantrópicos foram empregadas armadilhas do tipo Sherman e Tomahawk, instaladas ao longo de trilhas nos diferentes ambientes. As armadilhas foram dispostas em 16 trilhas de 500 metros de longitude cada uma, e espaçamento entre trilhas de 100 metros. Em cada trilha, foram colocadas 13 estações de armadilhagem em pares, aproximadamente 30 metros de distância uma da outra, sendo instaladas 1 Sherman (8 x 8 x 23 cm) e 1 Tomahawk (14 x 14 x 40 cm) em cada estação, intercalando sua posição em bosque (chão) e sub-bosque (aproximadamente a 2m de altura do solo). Totalizando 416 armadilhas, metade Tomahawk e metade Sherman, sendo 104 armadilhas em cada um dos ambientes (floresta contínua, floresta com plantio, plantio e peridomicílio).

Para a iscagem das armadilhas, foram utilizados pedaços de banana pacovan, pasta de amendoim torrado e chumaços de algodão umedecidos com óleo de fígado de bacalhau que eram diariamente trocados.

Os animais silvestres e sinantrópicos coletados nas armadilhas foram avaliados quanto à presença de despigmentação, alopecia e pequenas lesões na pele, na cauda e nas orelhas, também foram sexados, pesados, medidos e pré-identificados no campo por características morfológicas, confirmados até o nível de espécie no Laboratório de Genética Animal do INPA (Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia) e depositados na coleção de mamíferos do INPA. O projeto foi aprovado pelo SISBIO: N°54970-1 e pelo CEUA da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA N° 0120180002. Após a eutanásia do animal, o fígado foi removido e armazenado em microtubos contendo álcool absoluto e mantidos a 4°C.

5.4 EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA do fígado dos animais foi extraído utilizando o Kit DNeasy Blood & Tissue seguindo as instruções do fabricante. Brevemente: um pequeno fragmento da amostra devidamente identificado foi seccionado em porções menores e depois armazenado em

microtubo. Posteriormente, foram adicionados 180 µl de ALT e 20 µl de proteinase K, agitado e aquecido em termobloco a 56°C (overnight) para lise completa das células. No dia seguinte, foram adicionados 200 µl de tampão AL e 200 µl álcool absoluto. Todo o conteúdo do microtubo foi transferido para uma coluna mini spin e centrifugado a 8000 rpm durante 1 minuto. Foram realizadas duas lavagens através da adição de 500 µl de tampão AW1 e AW2 com as respectivas centrifugações: 8000 rpm (1 minuto) e 16.000 (3 minutos). Por fim, nova transferência da coluna e adição de 70 µl do tampão AE com centrifugação a 8.000 rpm durante 1 minuto.

5.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Foi realizada a PCR para detectar *Leishmania* sp. no fígado dos animais usando o Kit Platinum (Invitrogen) seguindo orientações do fabricante. Dois primers foram utilizados: HSP70 (Hsp70sen: 5'GAC GGT GCC TGC CTA CTT CAA3' e Hsp70ant: 5'CCG CCC ATG CTC TGG TAC ATC3') que geram um amplicon de 1300 pb e kLEISH A e B (kLEISH A: 5'(C/G)(C/G)(G/C) CC(C/A) CTA T(T/A)T TAC ACC AAC CCC3', kLEISH B: 5'GGG GAG GGG CGT TCT GCG AA3') que geram um amplicon de 120 pb, ambos específicos para *Leishmania*. Brevemente: Ciclo da PCR para amplificação do DNA usando o primer HSP70: 94°C por 5 min / 33 ciclos de 94°C por 30 segundos, 61°C por 1 minuto e 72°C por 3 min / extensão final de 10 min a 72°C. O ciclo da PCR para amplificação do DNA usando o primer kLEISH: 94°C por 4 min / 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos / extensão final de 10 min a 72°C. Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% e corados com GelRed.

Também foi realizada PCR utilizando o primer LSPP para detectar tripanossomatídeos (Lspp-Fwd: 5'GGG AAT TCA ATA TAG TAC AGA AAC TG3'; Lspp-Rev: 5'GGG AAG CTT CTG TAC TTT ATT GGT A3'). Os ciclos da PCR foram: 94°C por 5 min/ 5 ciclos de 94°C por 30 segundos, 45°C por 2 minutos e 65°C por 30 segundos/25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 1 minutos e 72°C por 3 minutos/ extensão de 10 min a 72°C. Para ambos os ciclos volume total de 25 µM. Esse primer que gera amplicons de tamanhos variáveis de acordo com a espécie de *Leishmania*: para *Leishmania (V.) lainsoni* 164pb, para *Leishmania (V.) braziliensis* ou *Leishmania (V.) guyanensis* 200-264pb, para *Leishmania (L.) amazonensis* ou *Leishmania (V.) mexicana* 315-335pb e para *Leishmania (V.) major* ou *Leishmania (V.) tropica* 435-460 pb (FERNANDES et al., 1994). O DNA amplificado foi separado por eletroforese em gel de agarose 2% corado com GelRed.

5.6 ANÁLISE DOS DADOS

Para avaliar a diversidade e abundância das espécies de roedores e marsupiais nos quatro ambientes foi aplicado o Teste de Rényi. Para correlacionar a taxa de infecção por *Leishmania* com o tipo de paisagem foi aplicado o coeficiente de correlação de postos de Spearman. Análise Multivariada de Permutação (PERMANOVA) foi realizada para verificar diferenças significativas entre as características sexo, idade, ambiente, altura, armadilha e período. Todos os gráficos foram realizados em plataforma R studio, versão 3.5, e mapas feitos em QGIS versão 2.18.

5.7 REVISÃO SISTEMÁTICA

Foi realizada uma pesquisa metódica e sistemática utilizando as seguintes bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE/PubMed); Portal Regional da BVS (BVS); Scientific Electronic Library Online (SciELO.org) e Periodicos CAPES. A metodologia aplicada nessa revisão está de acordo com a base de dados da Colaboração Cochrane. Foram utilizados descritores específicos que combinados geraram um termo de busca para as quatro bases de dados: (leishmania) AND (rodent OR marsupial) AND (america OR argentina OR belize OR bolivia OR brazil OR chile OR colombia OR costa rica OR cuba OR ecuador OR el salvador OR guatemala OR haiti OR honduras OR nicaragua OR panamá OR paraguay OR peru OR republic dominic OR uruguay OR trinidad OR venezuela OR mexico OR united states).

Para a seleção dos artigos relevantes foi utilizado inicialmente o título dos mesmos. Foram incluídos os artigos cujo título aborda pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia (Theria: Marsupialia) marsupiais e Rodentia (Theria: Placentalia) roedores encontrados naturalmente infectados por *Leishmania* spp. nas Américas. Foram excluídos os artigos publicados antes do ano da descoberta da PCR (MULLIS, 1985); os que envolvem infecção através de modelos experimentais; artigos de revisão ou de opinião e *papers* que não utilizaram o método de PCR para detecção da infecção. Em seguida, procedeu-se à leitura dos resumos, certificando que os artigos eleitos tratavam do tema proposto e se enquadravam nos critérios de inclusão. Em todas as etapas, dois pesquisadores independentes (G. R. A. e H. D. C) participaram do processo de seleção dos artigos. As discordâncias foram solucionadas através de consenso.

Por último, os artigos eleitos pelo título e resumo foram lidos de forma completa. De cada artigo selecionado foram obtidas informações sobre ordem e espécie dos animais encontrados infectados, número de animais coletados, espécies de parasitos identificados, país do registro, autor e ano. Esses dados foram colocados em planilha Excel para posteriores análises.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do trabalho são apresentados em forma de artigos intitulados:

- O artigo 1 intitulado **“Diversidade de roedores e marsupiais e infecção por tripanossomatídeos, com ênfase em *Leishmania* sp., em um assentamento rural na Amazônia Central”** apresenta uma amostragem dos pequenos mamíferos não voadores das ordens Rodentia e Didelphimorphia presentes no ARRP e demonstra a taxa de infecção para os tripanossomatídeos sob uma perspectiva do risco de participação no ciclo de manutenção da doença.
- O artigo 2 intitulado **“Infecção natural por *Leishmania* em espécies de pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia nas Américas por ferramentas moleculares: uma revisão sistemática”** trata-se de uma revisão sistemática sobre espécies de *Leishmania* sp. encontradas nas Américas em roedores e marsupiais por diagnóstico molecular.

6.1 ARTIGO 01 – DIVERSIDADE DE ROEDORES E MARSUPIAIS E INFECÇÃO POR TRIPANOSSOMATÍDEOS, COM ÊNFASE EM *LEISHMANIA* SP., EM UM ASSENTAMENTO RURAL NA AMAZÔNIA CENTRAL

ACHILLES, G.R.; KAUTZMANN, R. P.; CHAGAS, H.D.; SILVA, J. W. P.; FEIJÓ, J. A.; PESSOA, F.A.P.; NAVA, A.F.D.; RÍOS-VELÁSQUEZ, C.M.

Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/Fiocruz)

Resumo

A leishmaniose é uma antropozoonose em ampla expansão em regiões rurais e urbanas, devido ao crescimento desordenado e desmatamento. Causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida por insetos flebotomíneos. A presença de reservatórios mamíferos silvestres e/ou sinantrópicos para diferentes espécies de *Leishmania* em áreas residenciais humanas é fator de risco para a LTA, ainda pouco compreendido. O presente estudo avaliou a diversidade de pequenos mamíferos roedores e marsupiais e a ocorrência de *Leishmania* em um assentamento rural em Presidente Figueiredo, Amazonas. Os animais foram coletados em 16 trilhas abertas em 4 paisagens: floresta contínua, floresta com plantio, plantio e peridomicílio utilizando armadilhas Sherman e Tomahawk. A presença de *Leishmania* foi detectada por PCR. A maior diversidade de animais foi encontrada na floresta próxima à plantio e a menor diversidade no peridomicílio. Foram capturados 135 mamíferos em 14 gêneros, sendo 81 roedores e 54 marsupiais. Os roedores apresentaram taxa de infecção (T.I.) de 74% e marsupiais 48%. Dentre os roedores, *Rattus rattus* (91,67%) *Hylaeamys* sp., (100%) e *Neacomys paracou* e (81,08%) apresentaram as maiores T.I. Dentre os marsupiais, as T.I. foram de 85,71% em *Philander opossum*, 83,33%, em *Monodelphis brevicaudata*, 75% em *Metachirus nudicaudatus*, 66,67% em *Marmosa demerarae*. *Didelphis marsupialis* teve baixa T.I. (16,67%), mas foi encontrada em todos os ambientes. Roedores em ambiente domiciliar apresentavam maior proporção de infecção com 92,9%, seguido de floresta 81,9%; os marsupiais mostraram maior taxa de infecção na floresta e floresta com plantio 53,3%. Os resultados sugerem altas prevalências de tripanossomatídeos em 12 gêneros de mamíferos possivelmente envolvidas como reservatórios na transmissão enzoótica de leishmanioses em ambientes rurais e peridomiciliares na Amazônia.

Palavras-chave: *Leishmania*, multi-hospedeiro, roedores, marsupiais, leishmaniose legumentar americana.

Abstract

Leishmaniasis are widespread anthrozoosis in rural and urban regions due to the unordered growth and deforestation. They are provoked by protozoans of *Leishmania* genera and transmitted by sandflies. The presence of wild mammal or synanthropic reservoirs for distinct *Leishmania* species in residential areas is a risk factor for the american tegumentary leishmaniasis (ATL), a matter that is still poorly comprehended. The present study evaluates the diversity of small rodent and marsupial mammals and the occurrence of *Leishmania* in the rural settlement of Rio Pardo (RSRP) - Presidente Figueiredo/AM. The animals were collected in 16 open tracks across 4 distinct landscapes: continuous forest, forest close to planting, planting and peridomicile, using Sherman and Tomahawk traps. The presence of *Leishmania* was detected by PCR. Bigger diversity of animals was found in forests close to

planting and smaller diversity within peridomiciles. 135 mammals were captured in 14 genera, with 81 rodents and 54 marsupials. Infection rates (IR) for rodents were 74% and 48% for marsupials. Bigger IRs among rodents were expressed by *Rattus rattus* (91.67%), *Hylaeamys* sp. (100%) and *Neacomys paracou* (81,08%). Highest IRs among marsupials varied between 85.71% in *Philander opossum*, 83.33% in *Monodelphis brevicaudata*, 75% in *Metachirus nudicaudatus*, and 66.67% in *Marmosa demerarae*. Although IRs obtained from *Didelphis marsupialis* were low (16.67%), they were found in all landscapes. Rodents expressed the highest IR with 92.9% in domiciliar environments, followed by forests with 81.9%; marsupials expressed bigger IRs in forests and forests with planting with 53.3%. Results suggest high prevalences of Trypanosomatidae across 12 mammal genera, which are potentially involved as reservoirs in the enzootic transmission of leishmaniasis in rural and peridomicile environments of the Amazon rainforest.

Keywords: *Leishmania*, *Trypanosoma*, reservoirs, rodent, marsupials, anthropization.

INTRODUÇÃO

Doença de Chagas (DC) e leishmaniose tegumentar americana (LTA) são doenças zoonóticas, negligenciadas, endêmicas no Brasil, particularmente, na região Norte do país, onde sua incidência aumenta em decorrência de processos de ocupação desordenada. No Brasil, nos anos de 2000 a 2013, foram confirmados 1.570 casos de DC, sendo 91,1% na região Norte (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015a). O maior número de casos de LTA tem sido registrado na região Norte brasileira com 8.939 casos em 2015, correspondentes ao 46% do total de casos registrados no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b).

Essas doenças caracterizam-se por afetar populações rurais e periféricas de cidades, em geral, em locais que apresentam precárias condições de moradia e saneamento, falta de acesso à saúde e baixas condições socioeconômicas (WHO, 2018a). Essas doenças apresentam ciclos silvestres e peridomiciliares e têm sido associadas a processos de ocupação desordenada (GUERRA, 2006). Surtos esporádicos em áreas periféricas da cidade de Manaus foram registrados por ocupação desorganizada na Comunidade São João, com 17 casos de LTA e nas comunidades do Ramal de Iporar (Rio Preto da Eva), assentamento Tarumã Mirim (Manaus) e zona leste de Manaus, 147 casos (GUERRA, 2006 e 2007b).

Durante a maioria desses surtos, os insetos vetores e as espécies de *Leishmania* são bem estudados, entretanto se sabe muito pouco sobre os reservatórios silvestres. Os reservatórios naturais da *Leishmania* são em geral pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia que circulam em ambientes silvestres e sinantrópicos (ROQUE E JANSEN, 2014; CALDART et al., 2017). Por exemplo, o primeiro caso de infecção por *Leishmania amazonensis* em *Rattus rattus* foi descrito por Caldart et al. (2017) no estado do Paraná, indicando possível urbanização da LTA nessa área. Arias et al. (1981) e Guerra et al. (2007a)

encontraram *Didelphis marsupialis* infectados em regiões periféricas de Manaus em processo de urbanização, tendo o primeiro reportado taxas de infecção por *Leishmania (V.) guyanensis* acima de 20%. Em gambás *D. marsupialis* também foram descritos com *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* sp. na Bahia, Salvador (TRUEB et al., 2018)

Apesar, de existir literatura que aponte a infecção natural de algumas espécies de roedores e marsupiais com *Leishmania*, poucos estudos com abordagem ecológica foram realizados. Estas informações são fundamentais para compreender o papel das espécies na manutenção do parasito e no ciclo de transmissão da doença. Que poderá ser usado como subsídios para desenhar estratégias de controle. O objetivo desse trabalho é identificar as espécies das Ordens Rodentia e Didelphimorphia potenciais reservatórios de *Leishmania* e entender os territórios (“home range”) dessas espécies em quatro paisagens distintas na Amazônia Central.

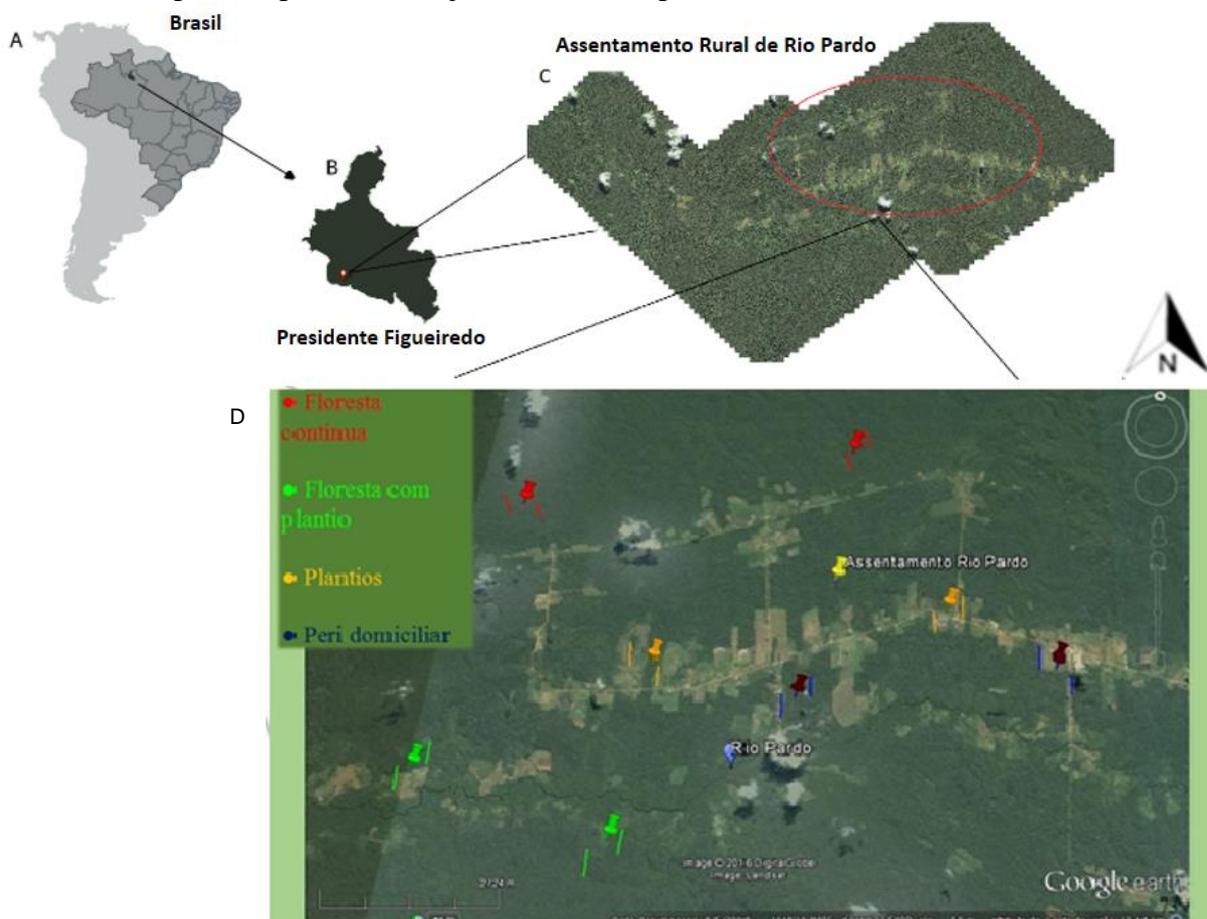
MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Assentamento Rural de Rio Pardo (ARRP), Município de Presidente Figueiredo, Estado do Amazonas (AM), localizado a 160 Km de Manaus, com acesso através da BR-174 (Figura 1 A-C). O assentamento conta com uma área de 27.980 hectares, atualmente é ocupado por aproximadamente 600 habitantes, de acordo com o último censo realizado em 2015 pelo ILMD.

O ARRP (Figura 1 D) foi criado oficialmente pelo Instituto Nacional de Colonização da Reforma Agrária (INCRA) em 1996, em uma área de floresta tropical densa de terra firme. A região caracteriza-se por um clima tropical úmido, com temperatura média anual de 27 °C e dois períodos climáticos: um período chuvoso (de novembro a maio) e um período seco (de junho a outubro).

Figura 1. Mapa esquemático das áreas de coleta no assentamento rural de Rio Pardo, município de Presidente Figueiredo/AM. Pontos vermelhos: Floresta contínua, pontos verdes: Floresta com plantio, pontos alaranjados: Plantio e pontos azuis: Peridomicílio



Fonte: Foto de Google Earth, acesso em 13 dez. 2015 modificada por Kautzmann, R. P. e Feijó, J. A.

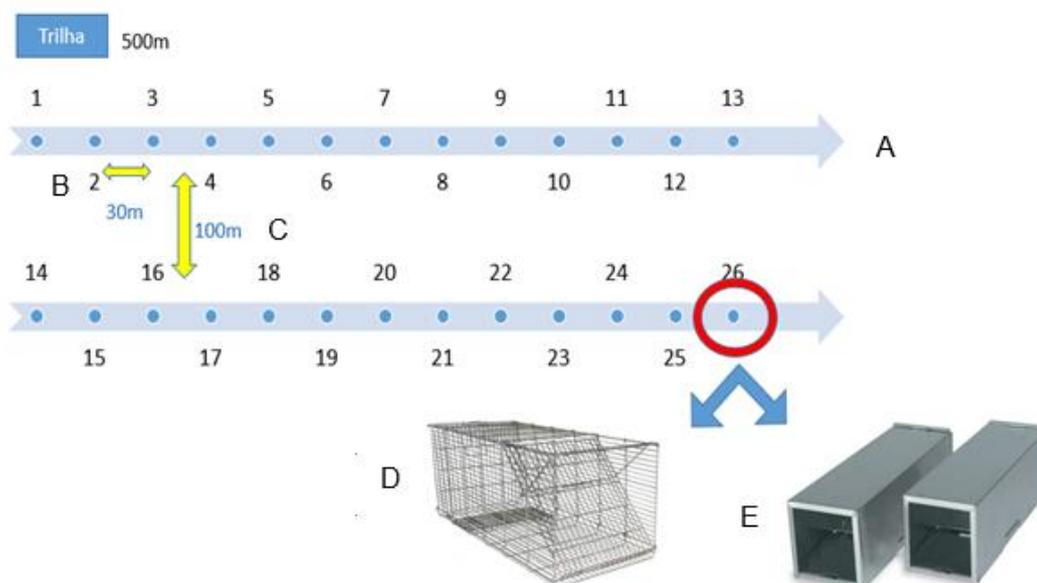
CAPTURA E IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

A captura dos pequenos mamíferos terrestres foi realizada em quatro ambientes com diferentes níveis de antropização: peridomicílio, plantio, floresta com plantio e floresta contínua, do ambiente mais antropizado para o menos antropizado, respectivamente. A floresta contínua é a paisagem que possui menor efeito antrópico ou nenhuma ação antrópica, sofrendo apenas com a entrada de moradores para extrativismo, pesca e caça; a floresta próxima a plantio, está em regeneração por ter sofrido com ações antrópicas dos moradores; a região com plantio é usada para agricultura de subsistência podendo ser monocultura ou policultura de macaxeira, banana, pimenta, cana e mamão e, por último, o peridomicílio é o ambiente com maior nível antrópico e caracterizado por aglomerações de moradias.

Para a captura dos mamíferos foram empregadas armadilhas do tipo Sherman e Tomahawk, instaladas ao longo das 16 trilhas, sendo 4 trilhas por tipo de paisagem. Elas medem aproximadamente 500 metros de comprimento e foram colocadas 13 estações de armadilhagem em pares com aproximadamente 30 metros de distância uma da outra, sendo instaladas 1 Sherman (8 x 8 x 23 cm) e 1 Tomahawk (14 x 14 x 40 cm) em cada estação, intercalando sua posição em bosque (chão) e sub-bosque (aproximadamente a 1,5 m de altura do solo). No total foram instaladas 416 armadilhas, metade Tomahawk e metade Sherman, sendo 104 armadilhas em cada uma das paisagens (Figuras 1 D e 2). Todos os pontos de coleta foram georreferenciados utilizando o GPS (Global Positioning System).

Para a iscação das armadilhas, foram utilizados pedaços de banana pacovan, pasta de amendoim torrado e chumaços de algodão umedecidos com óleo de fígado de bacalhau que eram diariamente trocados.

Figura 2. Esquema representando o desenho das coletas. (A) dimensão das trilhas de aproximadamente 500m, cada trilha contendo 13 estações, (B) espaçamento entre estações de 30m, (C) espaçamento entre trilhas de aproximadamente 100 metros. Estação circulado em vermelho representando que cada estação recebia duas armadilhagens: uma Sherman ilustrada por (D) e outra Tomahawk ilustrada por (E)



Os animais silvestres e sinantrópicos coletados nas armadilhas foram avaliados quanto à presença de despigmentação, alopecia e pequenas lesões na pele, na cauda e nas orelhas, também foram sexados, pesados, medidos e pré-identificados no campo por características morfológicas, confirmados até o nível de espécie no Laboratório de Genética Animal do

INPA (Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia) e depositados na coleção de mamíferos do INPA. O projeto foi aprovado pelo SISBIO: N°54970-1 e pelo CEUA da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA N° 0120180002. Após a eutanásia do animal, o fígado foi removido e armazenado em microtubos contendo álcool absoluto e mantidos a 4°C.

EXTRAÇÃO E PCR

O DNA das amostras de tecido foi extraído utilizando o Kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen®) seguindo às instruções do fabricante. O tecido foi lisado com Proteinase K e o DNA ligado a uma membrana em uma coluna onde é purificado e posteriormente eluído em solução tampão. Para detectar os tripanossomatídeos foi realizada uma Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando o Kits GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega®) com o primer LSPP. Para detectar as *Leishmania* sp., foi realizada PCR utilizando Kit Platinum (Invitrogen®) com o primer kLEISH, seguindo orientações dos fabricantes. As condições da PCR e os primers são mostrados na Tabela 1. O DNA do controle positivo foi extraído de cultura (doação da Fundação Medicina Tropical - FMT).

Tabela 1. Condições da PCR e primers utilizados para a identificação de tripanossomatídeos em amostras de fígado de pequenos roedores coletados no Assentamento Rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, Amazonas

Região amplificada	Sequência	Ciclos da PCR	Amplicones
Mincírculos de kDNA - Gene minixon de tripanossomatídeos [Fernandes et al. (1994) – LSPP]	F5'GGG AAT TCA ATA TAG TAC AGA AAC TG3'	94°C 5m/5x 94°C 30s, 45°C 2m, 65°C 30s/25x	<i>L. (V.) lainsoni</i> : 164pb, <i>L. (V.) braziliensis</i> ou <i>L. (V.) guyanensis</i> : 253-
	R5'GGG AAG CTT CTG TAC TTT ATT GGT A3'	94°C 30s, 50°C 1m, 72°C 3m/72°C 10m, volum final 25ul	264pb, <i>L. (L.) amazonensis</i> ou <i>L. (V.) mexicana</i> : 315- 332 pb e <i>L. (V.) major</i> ou <i>L. (V.) tropica</i> 435-460 pb
Mincírculos de kDNA [Tonelli et al. (2017) – kLEISH]	A5'(C/G)(C/G)(G/C) CC(C/A) CTA T(T/A)T TAC ACC AAC CCC3' B5'GGG GAG GGG CGT TCT GCG AA3'	94°C 4m/35x 94°C 30s, 60°C 30s, 72°C 30s/72°C 10m. Volume final 25ul	120 pb

O DNA amplificado foi separado por eletroforese em gel de agarose 2% e corado com GelRed.

ANÁLISE DOS DADOS

Para avaliar a diversidade e abundância das espécies de roedores e marsupiais nos quatro ambientes, foi aplicado o Teste de Rényi. Para correlacionar a taxa de infecção por *Leishmania* com o tipo de paisagem, foi aplicado o coeficiente de correlação de postos de Spearman. Análise Multivariada de Permutação (PERMANOVA) foi realizada para verificar diferenças significativas entre as características sexo, idade, ambiente, altura, armadilha e período. Todos os gráficos foram realizados em plataforma R studio, versão 3.5 e mapas feitos em QGIS versão 2.18.

RESULTADOS

Um total de 135 pequenos mamíferos silvestres foram capturados, pertencentes a 14 gêneros, sendo 81 (60%) da ordem Rodentia e 54 (40%) da ordem Didelphimorphia (Tabela 2). Na Tabela 2, é mostrada a abundância de roedores e marsupiais em cada uma das paisagens do ARRP.

A espécie mais abundante de roedor foi *Neacomys paracou* com 37 (45,67%), seguido por *Rattus rattus*, com 12 (14,81%) e *Hylaeamys megacephalus*, com 8 (9,87%). A espécie *Neacomys paracou* foi capturada em ambiente florestal (floresta contínua e floresta próxima a plantio). A espécie *Rattus Rattus* foi capturada somente em ambiente domiciliar e *Hylaeamys megacephalus* foi capturada nas quatro paisagens. A espécie *Hylaeamys megacephalus* foi a espécie de roedor supostamente com maior trânsito entre ambientes. A menor quantidade de espécies de roedores foi capturada em ambiente peridomiciliar (2) e a maior em ambiente de floresta próxima a plantio (7).

As espécies mais abundantes de marsupiais foram *Didelphis marsupialis* e *Marmosa demerarae* com 12 indivíduos cada (22,22%), seguido por *Philander opossum* 7 (12,96%) e *Monodelphis brevicaudata*, com 6 (11,11%). As espécies *D. marsupialis* e *Marmosa demerarae* foram capturadas nos quatro ambientes. A espécie *Philander opossum* foi coletada em ambiente de plantio e em floresta próxima a plantio, enquanto *Monodelphis brevicaudata* foi capturado em todos os ambientes, exceto domicílio. As espécies *D. marsupialis* e *Marmosa demerarae* supostamente são as espécies de marsupiais com maior trânsito entre ambientes. A menor quantidade de espécies de marsupiais foi capturada em ambiente peridomiciliar (2) e a maior em ambiente de floresta próxima a plantio (9).

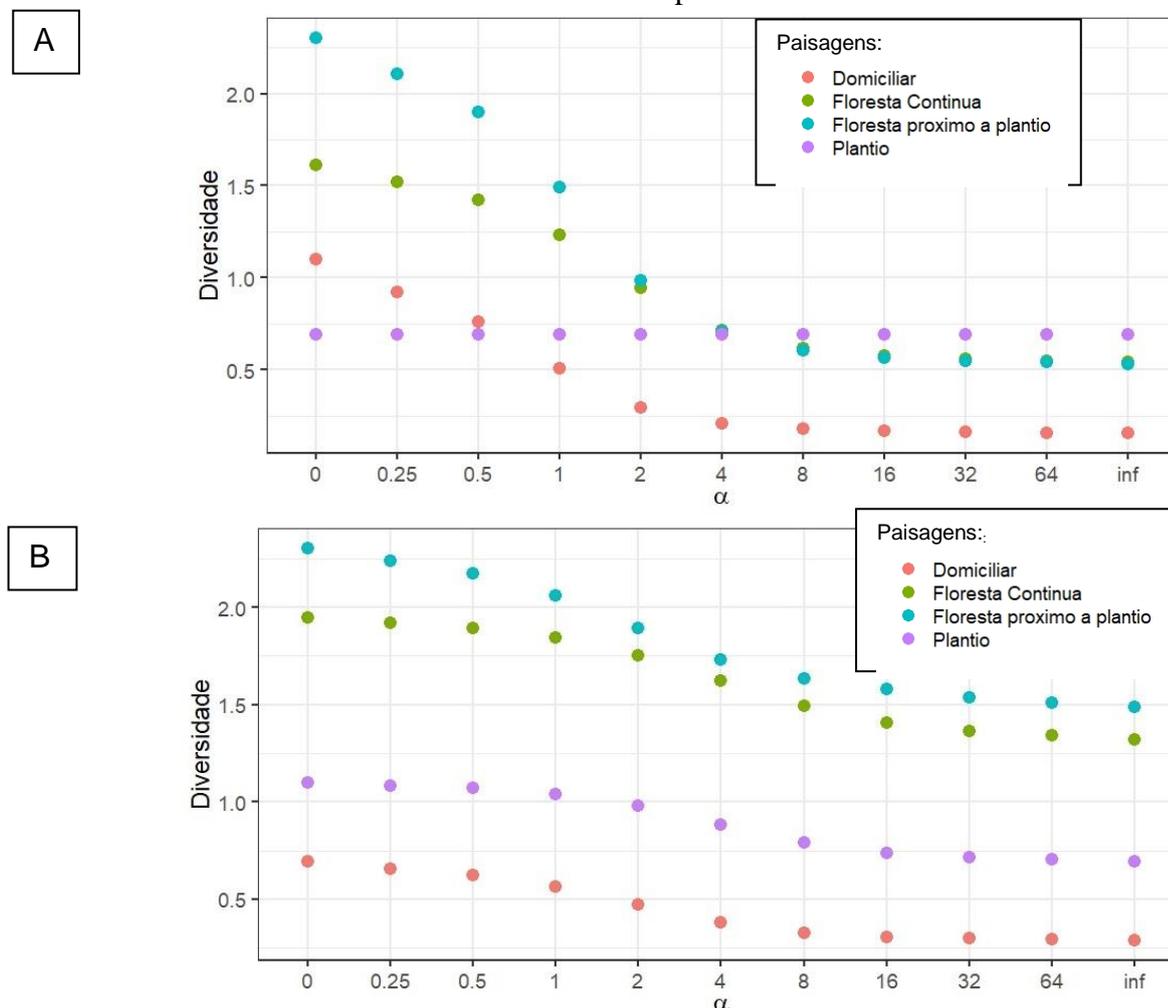
Tabela 2 – Espécies de mamíferos das ordens Rodentia e Didelphimorphia capturadas por armadilhas Sherman e Tomahawk no ARRP, Presidente Figueiredo, Amazonas em quatro tipos de paisagens distintas.

Espécies	Domiciliar	Plantio	Floresta com plantio	Floresta	N
Rodentia					
<i>Hylaeamys</i> sp	1	0	3	2	6
<i>Hylaeamys megacephalus</i>	1	2	4	1	8
<i>Isotrix pagurus</i>	0	0	1	0	1
<i>Neacomys paracou</i>	0	0	30	7	37
<i>Oecomys bicolor</i>	0	0	0	1	1
<i>Oecomys paricola</i>	0	0	1	0	1
<i>Oecomys</i> sp.	0	0	4	0	4
<i>Proechimys cuvieri</i>	0	0	2	0	2
<i>Proechimys guianensis</i>	0	0	1	0	1
<i>Proechimys</i> sp.	0	2	5	0	7
<i>Rattus rattus</i>	12	0	0	0	12
<i>Ripidomys</i> sp.	0	0	1	0	1
SUBTOTAL:	14	4	54	11	81
Didelphimorphia					
<i>Caluromys philander</i>	0	0	1	0	1
<i>Didelphis marsupialis</i>	3	2	6	1	12
<i>Marmosops parvidens</i>	0	0	1	2	3
<i>Marmosops pinheiroi</i>	0	0	2	1	3
<i>Marmosops</i> sp.	0	0	2	3	5
<i>Metachirus nudicaudatus</i>		0	2	2	4
<i>Marmosa demerarae</i>	1	1	6	4	12
<i>Monodelphis cunsi</i>		0	1	0	1
<i>Monodelphis brevicaudata</i>		1	3	2	6
<i>Philander opossum</i>		1	6	0	7
SUBTOTAL:	4	5	30	15	54
TOTAL::	17	9	78	24	135

A diversidade de Rényi para as ordens Rodentia e Didelphimorphia indica resultados semelhantes para o Índice de Shannon - Weaver (1) e Índice de Simpson (2), em que a maior abundância e riqueza foram encontradas em ambiente de floresta próxima a plantio e a menor em ambiente peridomiciliar. Todavia, o Índice de Simpson indica uma diversidade próxima da ordem Rodentia nos ambientes de floresta próxima a plantio e floresta contínua (Gráfico 1).

Não foi encontrada diferença significativa quanto à abundância de Didelphimorphia entre os diferentes ambientes estudados (PERMANOVA, $p = 0,12$). Entretanto, houve diferença significativa quanto à abundância de Rodentia entre os diferentes ambientes (PERMANOVA, $p = 0,0005$).

Figura 3. (A) Diversidade de espécies da ordem Rodentia em quatro ambientes diferentes no ARRП através do Teste de Rényi. 1 = Índice de Shannon-Weaver. 2 = Índice de Simpson. (B) Diversidade de espécies da ordem Didelphimorphia nas quatro paisagens do ARRП. 1 = Índice de Shannon-Weaver. 2 = Índice de Simpson



Das 14 espécies de roedores e marsupiais capturadas, nenhuma apresentou lesão, sendo todas aparentemente assintomáticas para a leishmaniose.

Utilizando primer kLEISH, não foi observada nenhuma banda de amplificação de DNA em nenhuma das amostras (Figura 1). Usando o primer LSPP, foi observado amplificação do DNA de 86 amostras (63,7%) com tamanhos de bandas variados, todos os padrões obtidos são compatíveis com *Leishmania* (FERNANDES et al., 1994; ROCHA et al., 2010); 48 das amostras (200 – 265 bp) são compatíveis com *L. braziliensis* ou *L. guyanensis*, 3 das amostras (160 – 190 bp) são compatíveis com *L. lainsoni*, 25 amostras (300 – 330 bp) são compatíveis com *L. amazonensis* ou *L. mexicana* e uma (1) amostra (430-470 bp) são compatíveis com *L. major* ou *L. tropica*, outras 9 amostras apresentaram amplicons de aproximadamente 800 bp e de 200-265 bp ou 300 - 330 bp (Figura 4).

Figura 4. Eletroforese realizada em gel de agarose 2%, produtos amplificados a partir de PCR convencional com primer kLEISH que amplifica gene mini-exon encontrados no mini círculo do kinetoplasto. 1,2,3,4,5,6,7,8,9: amostras, Lb: *L. braziliensis*, Lg: *L. guyanensis* e N controle negativo

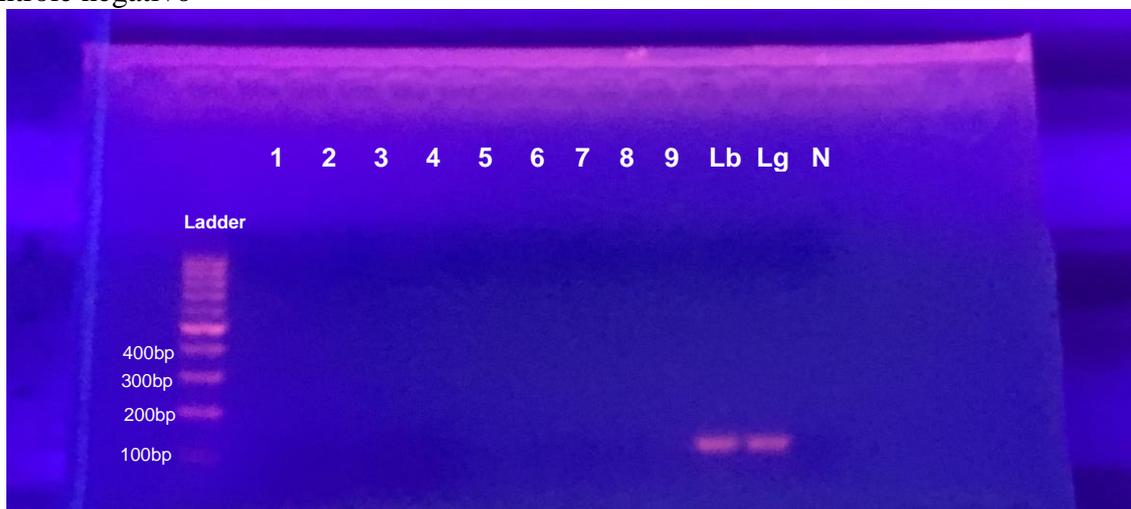
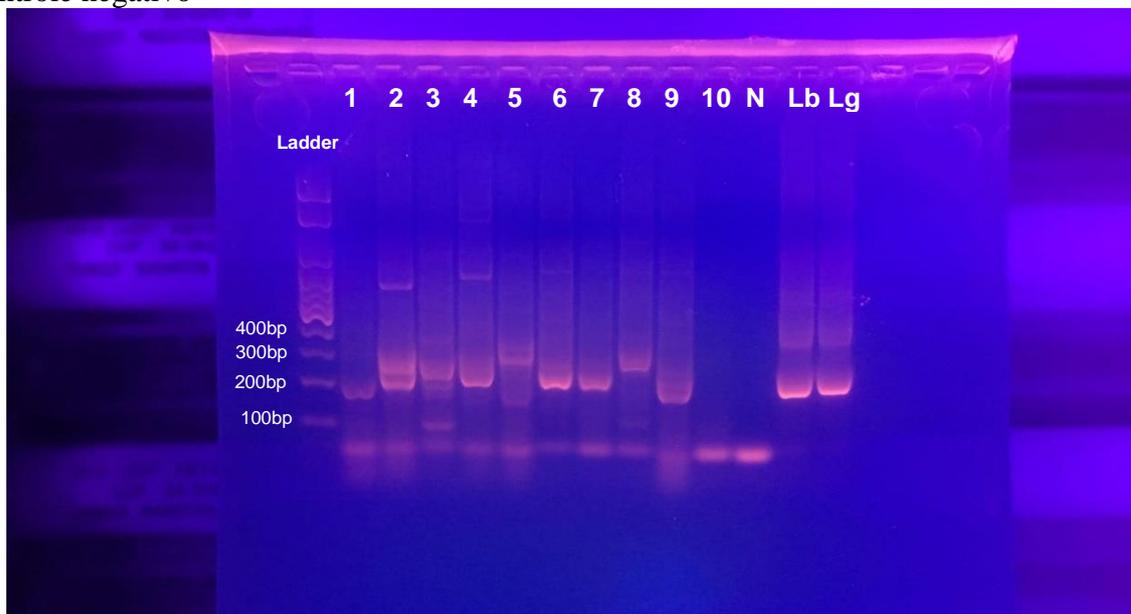


Figura 5. Eletroforese realizada em gel de agarose 2%, produtos amplificados a partir de PCR convencional com primer LSPP que amplifica gene mini-exon encontrados no mini círculo do kinetoplasto. 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10: amostras, Lb: *L. braziliensis*, Lg: *L. guyanensis* e N controle negativo

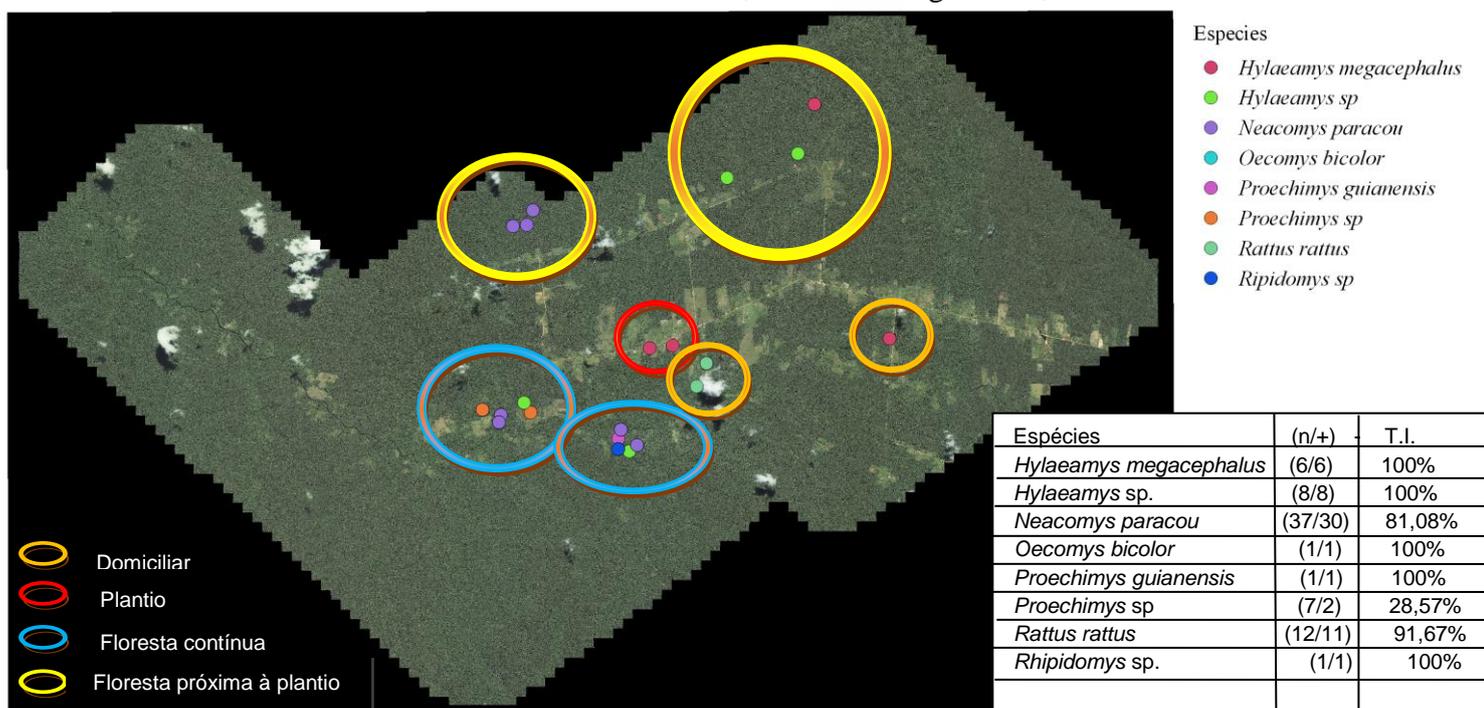


As taxas de infecção por *Leishmania* foram maiores nos ambientes de domicílio (92,9%), seguido por floresta contínua (81,8%), floresta com plantio (69,2%) e, por último, plantio (50%). Em marsupiais, a maior taxa de infecção foi de 53,3% em floresta contínua e floresta com plantio, seguido de domicílio com 25% e de plantio com 20%.

A espécie de roedor *Rattus rattus* encontrada apenas no ambiente domiciliar apresentou uma taxa de infecção de 91,67% (11/12). O gênero *Hylaeamys* capturado nas

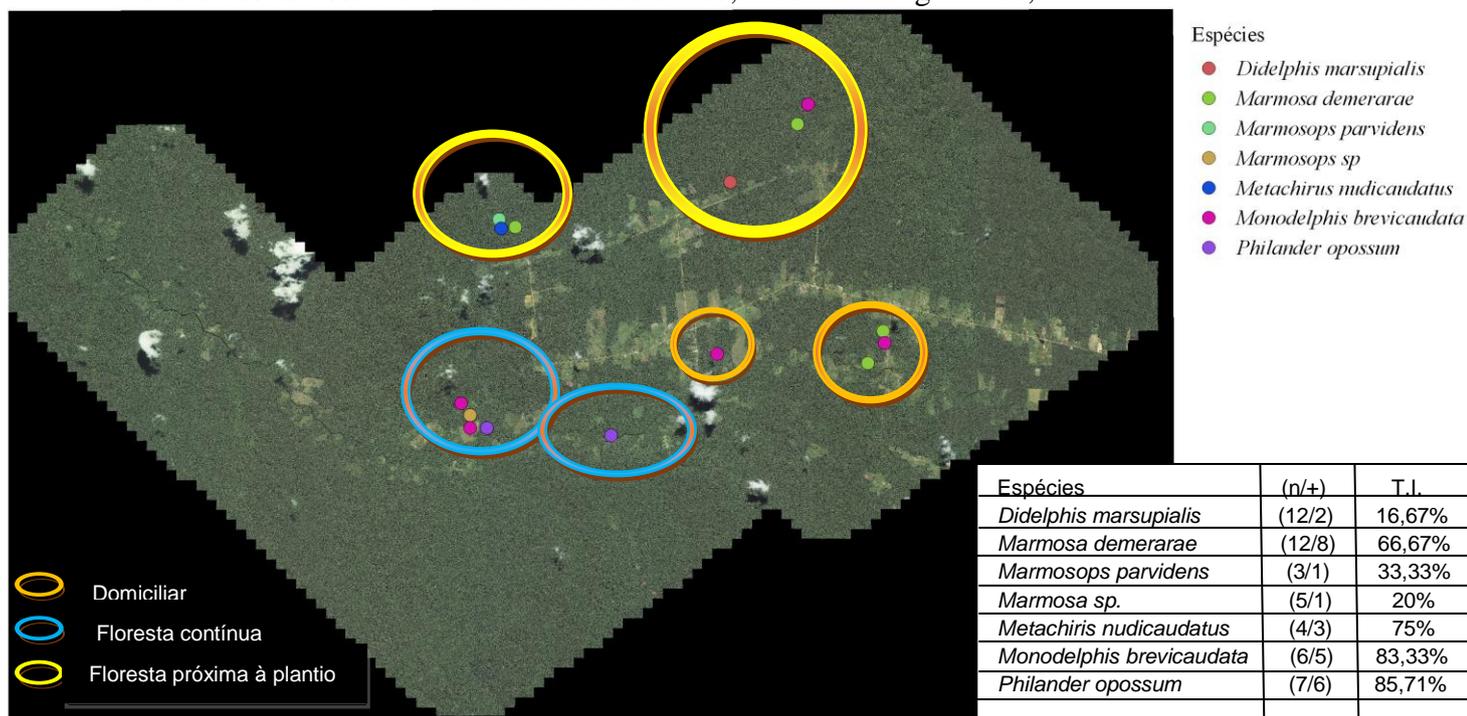
quatro paisagens teve uma taxa de infecção de 100% (13/13). *Neacomys* sp. coletado em ambiente florestal (floresta contínua ou floresta com plantio) apresentou taxa de infecção de 81,08% (30/37). A distribuição das espécies infectadas é mostrada na Figura 6.

Figura 06. Distribuição das espécies de roedores infectados por *Leishmania* em diferentes ambientes no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, AM



Dentre os marsupiais, a espécie *Philander opossum* apresentou a maior taxa de infecção (85,71%), sendo que todos os infectados foram capturados no ambiente de floresta com plantio. *Monodelphis brevicaudata* apresentou uma taxa de infecção de 83,33% (5/6) e *Marmosa demerarae* 66,66% (8/12), e foram coletados em todos os ambientes, exceto plantio. *Metachirus nudicaudatus* apresentaram uma taxa de infecção de 75% (3/4) e foram capturados em paisagens florestais. *Didelphis marsupialis*, presente em todos os ambientes, apresentou taxa de infecção 16,67% (2/12). A distribuição das espécies infectadas é mostrada na Figura 7.

Figura 07. Distribuição das espécies de marsupiais infectados por *Leishmania* em diferentes ambientes no assentamento rural de Rio Pardo, Presidente Figueiredo, AM



Foi observada uma correlação baixa entre o total de animais da ordem Didelphimorphia infectados por *Leishmania* e os diferentes ambientes estudados ($\rho = 0,344$; $p = 0,09212$). Para a ordem Rodentia, a correlação foi mais baixa entre os animais infectados e os ambientes estudados ($\rho = 0,267$; $p = 0,04224$). As espécies infectadas estão distribuídas em todos os ambientes estudados com o maior número encontrado em ambiente floresta próximo a plantio.

DISCUSSÃO

Esse trabalho é o primeiro estudo sobre ecologia das paisagens no estado do Amazonas que envolve a captura sistemática de 135 pequenos mamíferos terrestres das ordens Rodentia e Didelphimorphia. No total, foram capturados 7 gêneros e 8 espécies da ordem Rodentia e 7 gêneros e 9 espécies da ordem Didelphimorphia, apenas 1 gênero de cada ordem não foi detectado infectado (*Isotrix pagurus* e *Caluromys philander*).

Os resultados deste trabalho mostram que a maior abundância e riqueza de pequenos roedores ocorreu em ambiente de floresta próxima a plantio e a menor diversidade em ambiente de peridomicílio. No trabalho de Pardini et al. (2005) foi encontrada perda de diversidade em ambientes fragmentados. Hipotetizamos que os roedores e marsupiais estão

sendo atraídos para floresta próxima a plantio, pela maior oferta de alimento das plantações. Mais estudos são necessários para entender a maior diversidade na floresta próxima à plantio.

O processo de antropização acarreta a redução na diversidade, mas também promove a seleção de espécies mais generalistas, gerando um fenômeno conhecido como “efeito diluição” que potencializa a emergência e reemergência de doença, em geral, quando a espécie selecionada é competente (FAUST et al., 2017). Corroborando com essa informação, as maiores taxas de infecção (92,9%) ocorreram no peridomicílio para a ordem Rodentia, onde somente dois gêneros foram capturados *Rattus rattus* e *Hylaemys* sp., respectivamente 91,67% e 100%. A ordem Didelphimorphia mesmo sofrendo os mesmos efeitos antrópicos que a ordem Rodentia maiores taxas de infecção foram observadas em ambiente florestal. Não há correlação entre as taxas de infecção e os diferentes ambientes indicando que o risco de infecção por *Leishmania* é similar em todas as paisagens.

Os resultados da PCR usando o primer LSPP gerou amplicons que sugerem a presença de diferentes espécies de *Leishmania* circulantes entre esses roedores na região. Fernandes et al. (1994) utilizaram o primer LSPP para identificar a *Leishmania*, enquanto Murthy et al. (1992) diferenciaram *Trypanosoma cruzi* e *T. rangeli*. O LSPP trata-se de um primer que amplifica o gene mini-exon que está presente no minicírculo do Kinetoplasto, estrutura presente em diversos protozoários da classe Kinetoplastida (FERNANDES et al., 1994). Para diferenciar os protozoários, regiões altamente conservadas são utilizadas, no caso da *Leishmania* sp. 39 nucleótidos conservados (FERNANDES et al., 1994) e no caso do *Trypanosoma* sp. 22 nucleótidos conservados (MURTHY et al., 1992). Entre as regiões altamente conservadas existe um espaçador de tamanho variável, que permite diferenciar as espécies (FERNANDES et al., 1994 e MURPHY et al., 1992). Ambos os autores utilizaram a clonagem e sequenciamento para identificar as espécies, estas duas técnicas serão realizadas para identificar as espécies de *Leishmania* nos roedores e marsupiais.

Os resultados deste trabalho evidenciaram alta susceptibilidade dos roedores e marsupiais à infecção por *Leishmania*, dentre os quatorze gêneros de pequenos mamíferos encontrados, doze estavam infectados (TRUEB et al., 2018; ROQUE; JANSEN, 2014; IBARRA-CERDEÑA et al., 2016; CALDART, 2017; FERREIRA et al., 2015).

Mcfarlane (2012) defende que animais sinantrópicos têm mais chances de hospedar zoonoses que os animais silvestres. De acordo com os nossos resultados, *Rattus rattus* é a espécie mais frequente no domicílio (100%) com taxa de infecção (T.I.) de 91,67% corroborando os achados de Mcfarlane. Supostamente, esta espécie pode representar um maior risco ao homem por hospedar protozoários, por participar do ciclo de transmissão

peridomiciliar e, hipoteticamente, conseguir contribuir para a urbanização da doença quando na coocorrência do vetor em região urbana. Indivíduos da espécie *Rattus rattus* têm sido encontrados naturalmente infectados com *L. braziliensis* no Ceará e *L. amazonensis* no Paraná, em regiões urbanas e periurbanas (CALDART et al., 2017, VASCONCELOS et al., 1994).

Outro resultado importante é o fato de ter encontrado *Hylaemys* sp. e *Hylaemys megacephalus* com taxas de infecção de 100%. *Hylaemys megacephalus* está amplamente distribuída no Brasil e está adaptada a ambientes modificados e com degradação ambiental (IUCN). Neste estudo, essa espécie foi coletada nos quatro tipos de paisagens estudadas do ARRP corroborando os dados da IUCN. Devido à alta taxa de infecção por tripanossomatídeos e sua ocupação em diferentes ambientes, essa espécie possivelmente se envolve em dois ciclos: peridomiciliar e silvestre, oferecendo maior risco para a transmissão a humanos.

A espécie *Hylaemys* anteriormente era conhecida como *Oryzomys*. No Brasil, *Oryzomys capito*, *Oryzomys concolor*, (LAINSON; SHAW, 1970), *Oryzomys nigripes* (FORATTINI et al., 1972) e *Oryzomys subflavus* (OLIVEIRA et al., 2005) foram encontradas infectadas com *L. braziliensis*. *Oryzomys acritus* e *Oryzomys nigripes* foram encontrados infectados com *L. amazonensis* na Bolívia. *Oryzomys melatonis* e *Oryzomys capito*, foram encontradas infectadas com *L. mexicana*, no México e no Panamá, respectivamente (VAN WYNSBERGHE et al., 2009; HERRER; CHRISTENSEN; 1975).

Neacomys sp. foi a espécie de roedor mais abundante e capturada exclusivamente em ambiente florestal (floresta contínua e floresta com plantio) com T.I. de 81,08%. Dadas as características de localização da espécie no ARRP, seu envolvimento no ciclo de transmissão de *Leishmania* parece estar restrito ao ambiente silvestre.

Os marsupiais apresentaram menor taxa de infecção (48,1%) que os roedores, sendo observadas as maiores taxas de infecção em ambiente florestal. A espécie *Didelphis marsupialis* foi encontrada nos 4 tipos de ambientes estudados, confirmando sua alta adaptabilidade a diferentes nichos ecológicos (ROQUE; ANDRADE, 2014). Neste estudo, somente 2 exemplares estavam infectados, com T.I. de 16,67%. Percentual semelhante (20%) ao descrito por Arias et al. (1981) na Reserva Ducke.

Em um estudo realizado em um fragmento de floresta urbana em Salvador (BA), foram coletadas 22 amostras de *D. marsupialis*, 8 das quais estavam infectadas para *Trypanosoma cruzi* e 10 positivas para a *Leishmania* sp (TRUEB et al., 2018). *Didelphis marsupialis* é considerado reservatório natural para *Trypanosoma cruzi* e tem sido encontrado

em diversas localidades do Brasil (GRISARD et al, 2000; LEGEY et al., 2003; TOLEDO et al., 1997) e na Venezuela (HERRERA; URDANETA-MORALES, 1992).

Nossos achados indicam maior diversidade de roedores e marsupiais em ambiente de floresta próxima a plantio e menor em ambiente peridomiciliar. Entretanto, as altas taxas de infecção em todos os ambientes indicam que não há diferença no risco que esses ambientes oferecem para a circulação de tripanossomatídeos no ARR. A identificação das espécies de *Leishmania* deve ser acurada para estabelecer o risco real que esses roedores oferecem para a sinantropização da LTA na região amazônica.

REFERÊNCIAS

ARIAS J. R.; NAIFF R. D.; MILES M.A.; SOUZA A. A. The opossum *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae) as a reservoir host of *Leishmania brasiliensis guyanensis* in the Amazon Basin of Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 75, p. 537-541, 1981

BRANDÃO FILHO, S. P. Wild and synanthropic host of *Leishmania (Viannia) brasiliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco state, Brazil. **Transaction of the Royal society medicine and hygiene**, 97, p. 291-296, 2003

CALDART, E. T. et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-27, jan/mar, 2017.

CARDOSO, R. M. et al., Expanding the knowledge about *Leishmania* species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & Vectors**, 8:17, 2015.

FAUST C. L. et al. Null expectations for disease dynamics in shrinking habitat: dilution or amplification? **Phil. Trans. R. Soc. B**, 372: 20160173, 2017.

FERNANDES, O. et al. Mini-exon gene variation in human pathogenic *Leishmania* species. **Molecular and Biochemical Parasitology**, 66, p.261-271, 1994.

FERREIRA et al. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World, **BMC Veterinary Research**, 1:71, 2015

FORATTINI, O.P. et al. Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo. **Bras. Rev. Saude Publica** 6, 255–261, 1972.

GRISARD, E. C. et al. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, Southern Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 95(6): 795-800, Nov./Dec. 2000.

GUERRA J. A. O. et al., 2007 a. Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazonica**, V. 37(1), p. 133-138, 2007a.

GUERRA, J. A. O. et al. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22(11):2319-2327, nov, 2006.

GUERRA, J. A. O. et al., 2007 b. Leishmaniose tegumentar americana em crianças: aspectos epidemiológicos de casos atendidos em Manaus, Amazonas, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 23(9), 2215-2223, set, 2007b.

HERRER, A.; CHRISTENSEN, H. A. Infrequency of gross skin lesions among Panamanian forest mammals with cutaneous leishmaniasis. **Parasitology**, v. 71, n. 1, p. 87–92, 1975.

HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S.; *Didelphis marsupialis*: a primary reservoir of *Trypanosoma cruzi* in urban areas of Caracas, Venezuela. *Ann Trop Med Parasitol.*, 86(6), p. 607-612, dec., 1992.

IBARRA-CERDEÑA et al. *Trypanosoma cruzi* reservoir-triatomine vector co-occurrence networks reveal meta-community effects by synanthropic mammals on geographic dispersal. **Peer J**, 3152, 2017.

INCRA, 2016 Relação de beneficiários da Superintendência Regional do Amazonas. Disponível em: <http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/reforma-agraria/rela-o-de-benefici-rios-rb-da-reforma-agr-ria/sr-15_am_0.pdf> Acesso em 16 mar. 2016.

IUCN Red List of Threatened Species, 2018. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/2147/0>> Acesso em 17 jun. 2018.

KERR, S.F., M., et al. *Leishmania amazonensis* infections in *Oryzomys acritus* and *Oryzomys nitidus* from Bolivia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 75, 1069–1073, 2006.

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

LAINSON, R. A.; SHAW, J. J. Leishmaniasis in Brazil: V. studies in the epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in Mato Grosso state, and observations on two distinct strains of *Leishmania* isolated from man and forest animals. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, n. 5, p. 654–667, 1970.

LAINSON, R. et al. Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of *Leishmania* species from sandflies, wild mammals and man in north Para State, with particular reference to *L. braziliensis guyanensis* causative agent of “pian-bois. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 75, 530–536, 1981.

LEGEY, A. P. et al. *Trypanosoma cruzi* in marsupial didelphids (*Philander frenata* and *Didelphis marsupialis*): differences in the humoral immune response in natural and experimental infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36, p. 241-248, mar/abr, 2003.

MCFARLANE, R.; SLEIGH, A.; MCMICHAEL, T. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian–Australasian Region. **Eco Health**, n.9, p. 24–35, april, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015a Boletim epidemiológico: Doença de Chagas aguda no Brasil: série Histórica de 2000 a 2013. v. 46, n° 21, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b. Casos de leishmaniose tegumentar: Brasil, grandes regiões e unidades federativas, 1990 a 2015. Disponível em:<<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/07/LT-Casos.pdf>>Acesso em 03 de janeiro de 2015b.

MURTHY, V. K. et al. PCR amplification of mini-exon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. **Molecular and Cellular Probes**, 6, p. 237-243, 1992

OLIVEIRA, F. S. et al. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 219–227, 2005.

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

PEREIRA, A. A. S. et al. Detection of *Leishmania* spp in silvatic mammals and isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from *Rattus rattus* in an endemic area for leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **Plos One**, Nov 27;12(11), 2017.

ROCHA, M. N. et al. Evaluation of 4 polymerase chain reaction protocols for cultured *Leishmania* spp. typing. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 68, p. 401–409, 2010.

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

SOARES, L.; ABAD-FRANCH, F. ; FERRAZ, G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence among rural settlers and field biologists. **Tropical Medicine and International Health**, v. 19 n. 8, 988–995, 2014.

TOLEDO, M. J. O. et al. Estudo sobre triatomíneos e reservatórios silvestres de *Trypanosoma cruzi* no estado do Paraná, Sul do Brasil. Resultados preliminares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 30(3):197-203, mai-jun, 1997.

TRÜEB, I. et al. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. infection in wildlife from urban rainforest fragments in northeast Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, p. 76–84, 2018.

VAN WYNSBERGHE, N. R. V et al. Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous Leishmaniasis in the satete of Campeche, Mexico. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, 51(2), p. 87-94, march-april, 2009.

VASCONCELOS, I. A. et al. The identity of *Leishmania* isolated from sand flies and vertebrate hosts in a major focus of cutaneous leishmaniasis in Baturite, northeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 50, n. 2, p. 158–64, fev. 1994.

WHO, 2018. Disponível em:< <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>> Acesso em 10 jun. 2018

6.2 ARTIGO 2 – INFECÇÃO NATURAL POR *LEISHMANIA* EM ESPÉCIES DE PEQUENOS MAMÍFEROS DAS ORDENS RODENTIA E DIDELPHIMORPHIA NAS AMÉRICAS POR FERRAMENTAS MOLECULARES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

ACHILLES, G.R.; CHAGAS, H.D.; PESSOA, F.A.P.; NAVA, A.F.D.; RÍOS-VELÁSQUEZ, C.M.

Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/Fiocruz).

Resumo

A leishmaniose é uma antropozoonose negligenciada que afeta, em geral, o homem que vive em condições precárias. Devido ao caráter multi-hospedeiro do parasito, animais sinantrópicos e silvestres são alvos de investigação, principalmente em situações de emergência ou re-emergência da doença. Roedores e marsupiais se destacam pela alta habilidade de adaptação ao domicílio e por participarem do ciclo de transmissão da doença peridominciliar. Neste estudo uma revisão sistemática será realizada para indicar possíveis espécies reservatórias disseminadoras.

Objetivos: Agregar conhecimento sobre as principais espécies de roedores e marsupiais incriminados como reservatórios nas Américas que utilizaram em seus estudos o diagnóstico por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

Conclusão: Vinte e quatro gêneros e 31 espécies da ordem Rodentia e 8 gêneros e 9 espécies da ordem Didelphimorphia foram encontrados naturalmente infectados nas Américas e são potencialmente competentes como reservatórios da *Leishmania*. Este dado deve chamar a atenção das autoridades em vigilância em saúde para incluir programas de manejo de roedores e marsupiais sinantrópicos como uma forma de contribuir para a diminuição da incidência de leishmaniose e outros tripanossomatídeos.

Palavras-chave: roedores, marsupiais, reservatórios e *Leishmania* sp

Background: Leishmaniasis are neglected anthroponosis that generally affects people living in poor conditions. Wild and synanthropic animals are often targets of investigation due to the multi-host behavior of the parasite, specially in situations of emerging or re-emerging diseases. Rodents and marsupials commonly demonstrates a high ability do adapt in these scenarios, and are targeted in this systematic review, which indicates possible reservoir species.

Objectives: aggregate knowledge about the main rodent and marsupial species accused of being reservoirs in the Americas using as diagnose method the PCR (polymerase chain reaction).

Conclusion: 24 genera and 31 species of the order Rodentia, plus 8 genera and 9 species of the order Didelphimorphia were found naturally infected in the Americas and are potentially competent reservoirs of *Leishmania*. The information should draw the attention from authorities of health monitoring centers, helping them to originate programs to control rodents and marsupials, in order to help lowering incidence of leishmaniasis and other trypanosomatids.

Keywords: rodent, marsupials, reservoirs and *Leishmania* sp.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose mundialmente distribuída que se expande, principalmente em regiões rurais e periferias de cidades, devido ao crescimento desordenado e desmatamento. A doença é se manifesta de duas formas: a forma tegumentar e a forma visceral (LV). A LV possui menor prevalência nas Américas, porém alta relevância no contexto da saúde pública devido à alta letalidade entre os acometidos não tratados, em torno de 90% (WHO, 2018). A leishmaniose tegumentar nas Américas é denominada de leishmaniose tegumentar americana (LTA), sendo endêmica em 18 países das Américas e no período de 2001-2016 foram notificados 892.846, destacando-se que os maiores registros se concentram no Brasil, Colômbia, Nicaraguá e Peru (OPAS/OMS, 2018).

A LTA é a forma mais comum, menos grave, responsável por causar lesões de pele e mucosas que vão desde pequenas feridas até feridas deformantes (WHO, 2018b). Neste contexto, a LTA apresenta um caráter psicossocial importante que não deve ser ignorado, em especial por afetar uma fatia mais vulnerável da população, geralmente, com dificuldade de acesso ao sistema de saúde (WHO, 2018; BENNIS, 2017).

A leishmaniose é causada pelos parasitos do gênero *Leishmania* pertencentes ao filo Sarcomastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Existem aproximadamente 53 espécies de *Leishmania* (BARRAT et al., 2017), das quais 19 são causadoras de leishmanioses em humanos (STEVERDING, 2017; JARIYAPAN et al., 2018). Estes protozoários são transmitidos ao homem e a outros reservatórios silvestres e sinantrópicos através da picada do flebotomíneo. Dentre os reservatórios, temos roedores, marsupiais, quirópteros, edentados, carnívoros e primatas (ROQUE; JANSEN, 2014).

Os reservatórios silvestres, sinantrópicos e domésticos, quando infectados, contribuem no ciclo de transmissão da leishmaniose (BORGES, 2009; CALDART, 2017; FERREIRA, 2015; GUERRA, 2007). A presença de animais soropositivos potencializa o risco de transmissão, principalmente, quando o vetor se encontra adaptado próximo ao peridomicílio. Todavia, a presença de animais reservatórios positivos não significa que naquele momento ele participa do ciclo de transmissão da doença. Para um animal ser reservatório disseminador, ou seja, participar ativamente no ciclo, este deve ter alta carga parasitária sanguínea ou lesão em pele (ROQUE; JANSEN, 2014).

Não há estudos recentes que indiquem quais são as espécies envolvidas na manutenção do ciclo da *Leishmania* sp. nas Américas, especialmente na região Amazônica. Essa revisão sistemática tem como objetivos contribuir para o conhecimento sobre as principais espécies

de roedores e marsupiais incriminados como reservatórios nas Américas através do diagnóstico por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa metódica e sistemática utilizando as seguintes bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE/PubMed); Portal Regional da BVS (BVS); Scientific Electronic Library Online (SciELO.org) e Periodicos CAPES. A metodologia aplicada nesta revisão está de acordo com a base de dados da Colaboração Cochrane. Foram utilizados descritores específicos que combinados geraram um termo de busca para as quatro bases de dados: (leishmania) AND (rodent OR marsupial) AND (america OR argentina OR belize OR bolivia OR brazil OR chile OR colombia OR costa rica OR cuba OR ecuador OR el salvador OR guatemala OR haiti OR honduras OR nicaragua OR panamá OR paraguay OR peru OR republic dominic OR uruguay OR trinidad OR venezuela OR mexico OR united states).

Para a seleção dos artigos relevantes, foram utilizados inicialmente seus títulos. Foram incluídos os artigos cujo título aborda pequenos mamíferos das ordens Didelphimorphia (Theria: Marsupialia) marsupiais e Rodentia (Theria: Placentalia) roedores encontrados naturalmente infectados por *Leishmania* spp. nas Américas. Foram excluídos os artigos publicados antes do ano da descoberta da PCR (MULLIS, 1985); os que envolvem infecção através de modelos experimentais; artigos de revisão ou de opinião e *papers* que não utilizaram o método de PCR para detecção da infecção. Em seguida, procedeu-se à leitura dos resumos, certificando que os artigos eleitos tratavam o tema proposto e se enquadravam nos critérios de inclusão. Em todas as etapas dois pesquisadores independentes (G. R. A. e H. D. C) participaram do processo de seleção dos artigos. As discordâncias foram solucionadas através de consenso.

Por último, os artigos eleitos pelo título e resumo foram lidos de forma completa. De cada artigo selecionado foram obtidas informações sobre ordem e espécie dos animais encontrados infectados, número de animais coletados, espécies de parasitos identificados, país do registro, autor e ano. Esses dados foram colocados em planilha Microsoft Excel para posteriores análises.

RESULTADOS

Através da pesquisa nas diferentes bases de dados (Tabela 1) foram localizados 2698 artigos únicos, destes 81 foram selecionados por avaliação de título. Após a leitura do resumo, 29 foram selecionados para a leitura completa.

Tabela 1 – Número de artigos encontrados por base de dados através de um único termo de busca: (leishmania) AND (rodent OR marsupial) AND (america OR argentina OR belize OR bolivia OR brazil OR chile OR colombia OR costa rica OR cuba OR ecuador OR el salvador OR guatemala OR haiti OR honduras OR nicaraguá OR panamá OR paraguay OR peru OR republic dominic OR uruguay OR trinidad OR venezuela OR mexico OR united states).

Base de dados	Número de artigos
Medical Literature Analysis and Retrieval System Online	2635
Portal Regional BVS	83
Scientific Electronic Library Online	1
Periódicos CAPES	1888
Total	4.607

Na revisão foram identificados 24 gêneros e 31 espécies de pequenos mamíferos da ordem Rodentia e 8 gêneros e 9 espécies da ordem Didelphimorphia (Tabelas 2 e 3) infectados naturalmente com *Leishmania* spp. Os roedores infectados foram registrados na Argentina, Brasil, Bolívia, México, Venezuela, Estados Unidos da América, enquanto marsupiais apenas no Brasil e Colômbia (Figuras 1 e 2).

Tabela 2 – Reservatórios silvestres e sinantrópicos da ordem Rodentia encontrados naturalmente infectados com *Leishmania* sp. em países das Américas diagnosticados por PCR (Reação em cadeia da Polimerase).

Espécie	<i>Leishmania</i>	País – Cidade ou Estado	TI	(P/n)	IC 95% Percentual		Técnicas utilizadas	ID Autor
<i>Akodon arviculoides</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – PE	4%	(2/50)	0,70	14,86	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
<i>Akodon cursor</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	9,67%	(3/31)	2,53	26,90	PCR, Cultura	Tonelli, G. B. et al., 2017
<i>Akodon spp</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Argentina – Puerto Iguazú	1,47%	(1/68)	0,08	9,01	PCR-RFLP	Fernandez, M. S. et al., 2017
<i>Baiomys taylori</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México - *	23,08%	(3/13)	6,16	54,02	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016
<i>Bolomys lasiurus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – PE	14,56%	(15/103)	8,65	23,20	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
<i>Cavia aperea</i>	<i>Leishmania</i> spp.	Brasil – SP	25%	(1/4)	1,32	78,06	PCR	Richini-Pereira, V. B. et al., 2014
			20%	(1/5)	1,05	70,12	PCR, Cultura	Pereira, A. A. S. et al., 2017
			16,66%	(1/6)	0,88	63,52	PCR, Cultura	Tonelli, G. B. et al., 2017
<i>Cerradomys subflavus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	50%	(2/4)	15,00	85,00	PCR, Sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015
	<i>L. (Viannia) spp.</i>	Brasil – PE	10%	(1/10)	0,52	45,88	PCR, Cultura, Sorologia	Lima, B. S. et al., 2013
<i>Clyomys laticeps</i>	<i>L. (L.) braziliensis</i>	Brasil – DF	50%	(1/2)	9,45	90,55	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015
<i>Euryoryzomys russatus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Argentina – Puerto Iguazú	100%	(1/1)			PCR-RFLP	Fernandez, M. S. et al., 2017
<i>Holochilus sciurus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – PE	7,14%	(1/14)	0,37	35,83	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
	<i>L. (Viannia) spp.</i>		15%	(3/20)	3,96	38,86	PCR, Cultura, Sorologia	Lima, B. S. et al., 2013
<i>Liomys pictus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México - *	2,08%	(1/48)	0,11	12,47	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016
<i>Mus musculus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	55%	(11/20)	9,45	90,55	PCR, Sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015
		Brasil – MT	100%	(4/4)			PCR	De Freitas, T. P. T. et al., 2011
	<i>Leishmania</i> spp.	Brasil – BA	50%	(1/2)	9,45	90,55	PCR, Cultura	Trueb, I. et al., 2018
<i>Necromys lasiurus</i>		Brasil – DF	18%	(18/90)	12,59	30,03	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015
			100%	(3/3)			PCR, Sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015
			50%	(2/4)	15,00	85,00	PCR	De Freitas, T. P. T. et al., 2011
<i>Nectomys squamipes</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – PE	28,10%	(43/153)	21,29	36,04	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
	<i>L. (Viannia)</i>		25,42%	(15/59)	15,37	38,70	PCR, Cultura, Sorológico	Lima, B. S. et al., 2013
<i>Nectomys rattus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – DF	20%	(2/10)	3,54	55,78	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015
<i>Neotoma albigula</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	E.U.A – Arizona	14,28%	(4/28)	4,68	33,56	PCR, Cultura	Kerr, S. F. et al., 1999
<i>Neotoma floridana</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	E.U.A – Grimes, Texas	100%	(1/1)			PCR, M.O., Histológico	McHugh, C. P. et al., 2003
<i>Neotoma micropus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	E.U.A – Bexar, Texas	14,69%	(31/211)	10,35	20,36	PCR, Cultura	Raymond, R. W. et al., 2003
<i>Oryzomys acritus</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	Bolívia – Santa Cruz	23,07%	(3/13)	6,16	54,02	PCR, Cultura, Sequenciamento	Kerr, S. F. et al., 2006
<i>Oryzomys nitidus</i>	<i>L. (L.) amazonenses</i>	Bolívia – Santa Cruz	17,64%	(3/17)	4,67	44,20	PCR, Cultura, Sequenciamento	Kerr, S. F. et al., 2006
<i>Oryzomys rostratus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México - *	4,35%	(1/23)	0,23	23,97	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016
<i>Oryzomys subflavus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	7,68%	(1/13)	0,40	37,91	PCR, Hibridização	Oliveira, F. S. et al., 2005
<i>Otodylomys phyllotis</i>	<i>L. mexicana</i>	México - *	10%	(1/10)	0,52	45,88	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016

<i>Oxymycterus dasytrichus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	33,33%	(1/3)	1,77	87,47	PCR, Cultura	Tonelli, G. B. et al., 2017	
<i>Peromyscus attwateri</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	E.U.A – Texas	50%	(1/2)	9,45	90,55	PCR, Sequenciamento	Kipp, E. J. et al., 2016	
<i>Peromyscus eremicus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México – Nuevo León	100%	(1/1)			PCR	Rodríguez-Rojas, J. J. et al., 2017	
		México- *	100%	(1/1)			PCR	Stephens, C. R. et al., 2016	
<i>Peromyscus leucopus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México – Nuevo León	21,05%	(4/19)	6,97	46,1	PCR	Rodríguez-Rojas, J. J. et al., 2017	
		México - *	15,38%	(4/26)	5,05	35,73	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016	
<i>Peromyscus maniculatus</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México – Nuevo León	5,88%	(2/34)	1,03	21,06	PCR	Rodríguez-Rojas, J. J. et al., 2017	
		México - *	3,33%	(2/60)	0,58	12,55	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016	
<i>Rattus norvegicus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	66,66%	(4/6)	24,11	94,00	PCR, Sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015	
		Brasil – PR	36,25%	(29/80)	26,01	47,82	PCR	Marcelino, A. P. et al., 2011	
<i>Rattus rattus</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	Brasil – PR	7,10%	(9/127)	3,50	13,41	PCR, ELISA, IFAT	Caldart, E. T. et al., 2017	
			20%	(2/10)	3,54	55,78	PCR, Cultura	Pereira, A. A. S. et al., 2017	
		Brasil – MG		44,44%	(4/9)	15,34	77,35	PCR, Sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015
				28,57%	(6/21)	12,19	52,31	PCR, Hibridização	Oliveira, F. S. et al., 2005
		Brasil – PE		16,04%	(13/81)	9,15	26,25	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
				7,10%	(9/127)	3,50	13,41	PCR, ELISA, IFAT	Caldart, E. T. et al., 2017
	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Venezuela – Lara	2,94%	(2/68)	0,51	11,16	PCR, Cultura, M.O.	De Lima, H. et al., 2002	
		Brasil - MG;	28,57%	(6/21)	12,19	52,31	PCR, Hibridização	Oliveira, F. S. et al., 2005	
	<i>L. (L.) mexicana</i>	Venezuela – Lara	4,41%	(6/68)	1,15	13,19	PCR, Cultura, M.O.	De Lima, H. et al., 2002	
		Argentina – Corrientes	64,80%	(30/64)	34,35	59,67	PCR, M.O.	Ruiz, R. M. et al., 2015	
<i>Leishmania</i> spp.	Brasil – BA	25%	(1/4)	1,32	78,06	PCR, Cultura	Trueb, I. et al., 2018		
<i>L. (Viannia)</i> spp.	Brasil – PE	26,82%	(11/41)	14,75	43,21	PCR, Cultura, Sorologia	Lima, B. S. et al., 2013		
<i>Rhipidomys macrumus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – DF	26,92%	(7/26)	12,35	48,05	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015	
<i>Sigmodon hispidus</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Venezuela – Lara	0,2%	(1/391)	0,01	1,64	PCR, Cultura, M.O.	De Lima, H. et al., 2002	
		México – Nuevo León	12,5%	(3/24)	3,29	33,46	PCR	Rodríguez-Rojas, J. J. et al., 2017	
	<i>L. (L.) mexicana</i>	México	10%	(4/40)	3,25	24,60	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016	
			20,31%	(13/64)	11,67	32,58	PCR	Quaresma, P. F. et al., 2011	
<i>Thrichomys apereoides</i>	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Brasil – MG	20,31%	(13/64)	11,67	32,58	PCR	Quaresma, P. F. et al., 2011	
			27,77%	(5/18)	10,71	53,59	PCR, Hibridização	Oliveira, F. S. et al., 2005	
<i>Trinomys</i> sp	<i>Leishmania</i> spp.	Brasil – BA	33,33%	(1/3)	1,77	87,47	PCR, Cultura	Trueb, I. et al., 2018	

Nota 01: TI – Taxa de infecção, P/n – Positivos/número total, IC 95% Percentual – Intervalo de confiabilidade com intervalo percentual de 95, PCR – Reação em Cadeia da Polimerase, PCR-RFLP – Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição, ELISA – Teste imunoenzimático, IFAT – Imunofluorescência indireta e M.O. – Microscopia eletrônica.

Nota 02. * No México as coletas foram realizadas em 52 pontos randômicos. Estados do Brasil: BA – Bahia, DF – Distrito Federal, MG – Minas Gerais, MT – Mato Grosso, PE – Pernambuco, PR – Paraná, SP – São Paulo. A espécie *Bolomys lasiurus* hoje é conhecida como *Necromys lasiurus*.

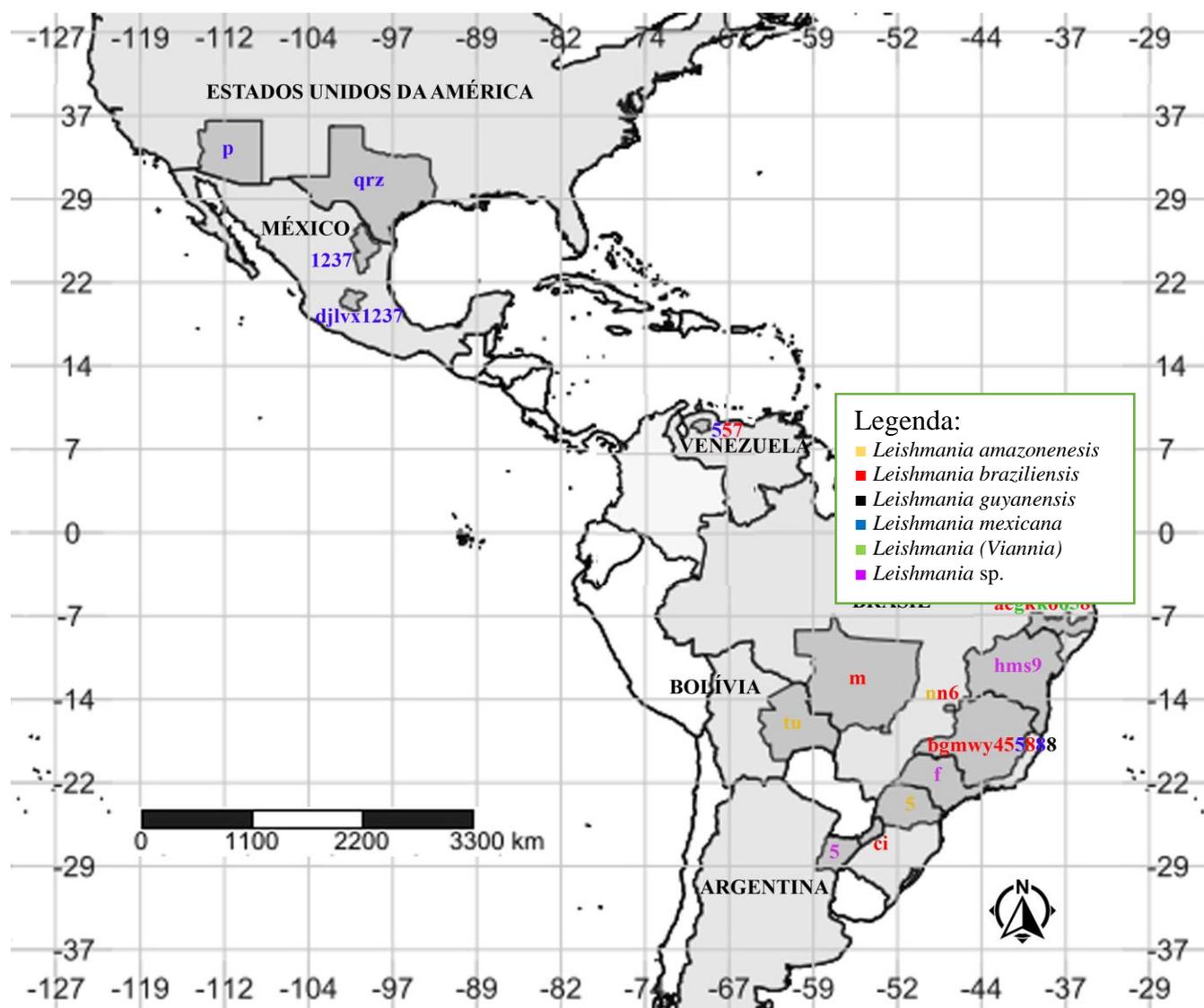


Figura 1. Mapa das Américas destacando localização dos roedores encontrados naturalmente infectados por *Leishmania*. a: *Akodon arviculoides*, b: *Akodon cursor*, c: *Akodon* sp., d: *Baiomys taylori* e: *Bolomys lasiurus*, f: *Cavia aperea*, g: *Cerradomys subflavus*, h: *Clyomys laticeps*, i: *Euryoryzomys russatus*, j: *Heteromys gaumeri*, k: *Holochilus scieurus*, l: *Liomys pictus*, m: *Mus musculus*, n: *Necomys lasiurus*, o: *Nectomys squamipes*, p: *Neotoma albigula*, q: *Neotoma floridana*, r: *Neotoma micropus*, s: *Clyomys laticeps*, t: *Oryzomys acritus*, u: *Oryzomys nitidus*, v: *Oryzomys rostratus*, w: *Oryzomys subflavus*, x: *Otodylomys phyllotis*, y: *Oxymycterus dasytrichus*, z: *Peromyscus attwateri*, 1: *Peromyscus eremicus*, 2: *Peromyscus leucopus*, 3: *Peromyscus maniculatus*, 4: *Rattus norvegicus* 5: *Rattus rattus*, 6: *Rhipidomys macrumus*, 7: *Sigmodon hispidus*, 8: *Thrichomys apereoides* e 9: *Trinomys* sp

Tabela 3 – Reservatórios silvestres e sinantrópicos da ordem Didelphimorphia encontrados naturalmente infectados com *Leishmania* sp. em países das Américas diagnosticadas por PCR (Reação em cadeia da Polimerase).

Espécie	<i>Leishmania</i>	País - Cidade ou Estado	TI	(P/n)	IC 95% Percentual	Técnicas utilizadas	Autor	
<i>Didelphis albiventris</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	22%	(2/9)	3,95	59,81	PCR, Cultura	Pereira, A. A. S. et al., 2017
			47,6%	(10/21)	26,39	69,66	PCR, sequenciamento	Ferreira, E. C. C. et al., 2015
			21,05%	(4/19)	6,97	46,10	PCR	Quaresma, P. F. et al., 2011
	Brasil - DF	16,66%	(1/6)	5,08	29,57	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015	
		Brasil – PE	15,31%	(5/37)	0,88	63,52	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
	<i>L. (Viannia) spp.</i>	Brasil – PE	37,50%	(6/16)	16,28	64,13	PCR, Cultura, Sorológico	Lima, B. S. et al., 2013
			4,65%	(2/43)	0,81	17,06	PCR	Paiz, L. M. et al., 2016
			1,60%	(3/191)	0,41	4,89	PCR, PCR-RT	Quintal, A. P. N. et al., 2011
	<i>Leishmania spp.</i>	Brasil – SP	22,22%	(2/9)	3,95	59,81	PCR	Richini-Pereira, V. B. et al., 2014
	<i>Didelphis marsupialis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	25%	(5/20)	9,59	49,41	PCR, PCR-RFLP, IFAT, DAT
Brasil – BA			45,45%	(10/22)	25,07	67,33	PCR, Cultura	Trueb, I. et al., 2018
<i>Didelphis spp.</i>	<i>Leishmania sp</i>	Brasil - PE	16%	(4/25)	5,25	36,92	PCR	Silva, E. M. et al., 2016
		Brasil – SP	91,60%	(103/112)	84,88	96,03	PCR, ELISA	Santiago, M. E. B. et al., 2007
		Brasil - DF	28%	(7/25)	12,87	49,60	PCR, Sequenciamento	Cardoso, R. M. et al., 2015
<i>Gracilinanus agilis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – MG	75%	(3/4)	21,94	98,68	PCR	Quaresma, P. F. et al., 2011
<i>Marmosa sp.</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Brasil – PE	16,66%	(2/12)	2,94	49,12	PCR, Cultura	Brandão-Filho, S. P. et al., 2003
	<i>L. (Viannia) spp.</i>	Brasil – PE	25%	(1/4)	1,32	78,06	PCR, Cultura, Sorológico	Lima, B. S. et al., 2013
<i>Marmosops incanus</i>	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Brasil – MG	50%	(1/2)	9,45	90,55	PCR	Quaresma, P. F. et al., 2011
<i>Micoureus demerarae</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Colombia – Jiguales	33,33%	(2,6)	6,00	75,89	PCR, Hibridização	Alexander, B. et al., 1998
<i>Micoureus paraguayanus</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	Brasil – SP	11,6%	(11/95)	6,20	20,18	PCR, PCR-RT	Quintal, A. P. N. et al., 2011
	<i>L. (V.) braziliensis</i>		11,6%	(11/95)	6,20	20,18	PCR, PCR-RT	
<i>Micoureus sp.</i>	<i>Leishmania spp.</i>	Brasil – BA	56,25%	(9/16)	30,55	79,25	PCR, Cultura	Trueb, I. et al., 2018
<i>Monodelphis domestica</i>	<i>L. (Viannia) spp.</i>	Brasil – PE	25%	(1/4)	1,32	78,06	PCR, Cultura, Sorológico	Lima, B. S. et al., 2013
<i>Philander opossum</i>	<i>L. (L.) mexicana</i>	México - *	14,29%	(1/7)	0,75	57,99	PCR	Stephens, C. R. et al., 2016

Nota 01: TI – Taxa de infecção, P/n – Positivos/número total, IC 95% Percentual – Intervalo de confiabilidade com intervalo percentual de 95, PCR – Reação em Cadeia da Polimerase, PCR-RT – PCR em Tempo Real, PCR-RFLP - Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição, ELISA – Ensaio imunoenzimático e DAT – Teste de Aglutinação Direta.

Nota 02: * No México as coletas foram realizadas em 52 pontos randômicos. Estados do Brasil: BA – Bahia, MG – Minas Gerais, PE – Pernambuco, SP – São Paulo.

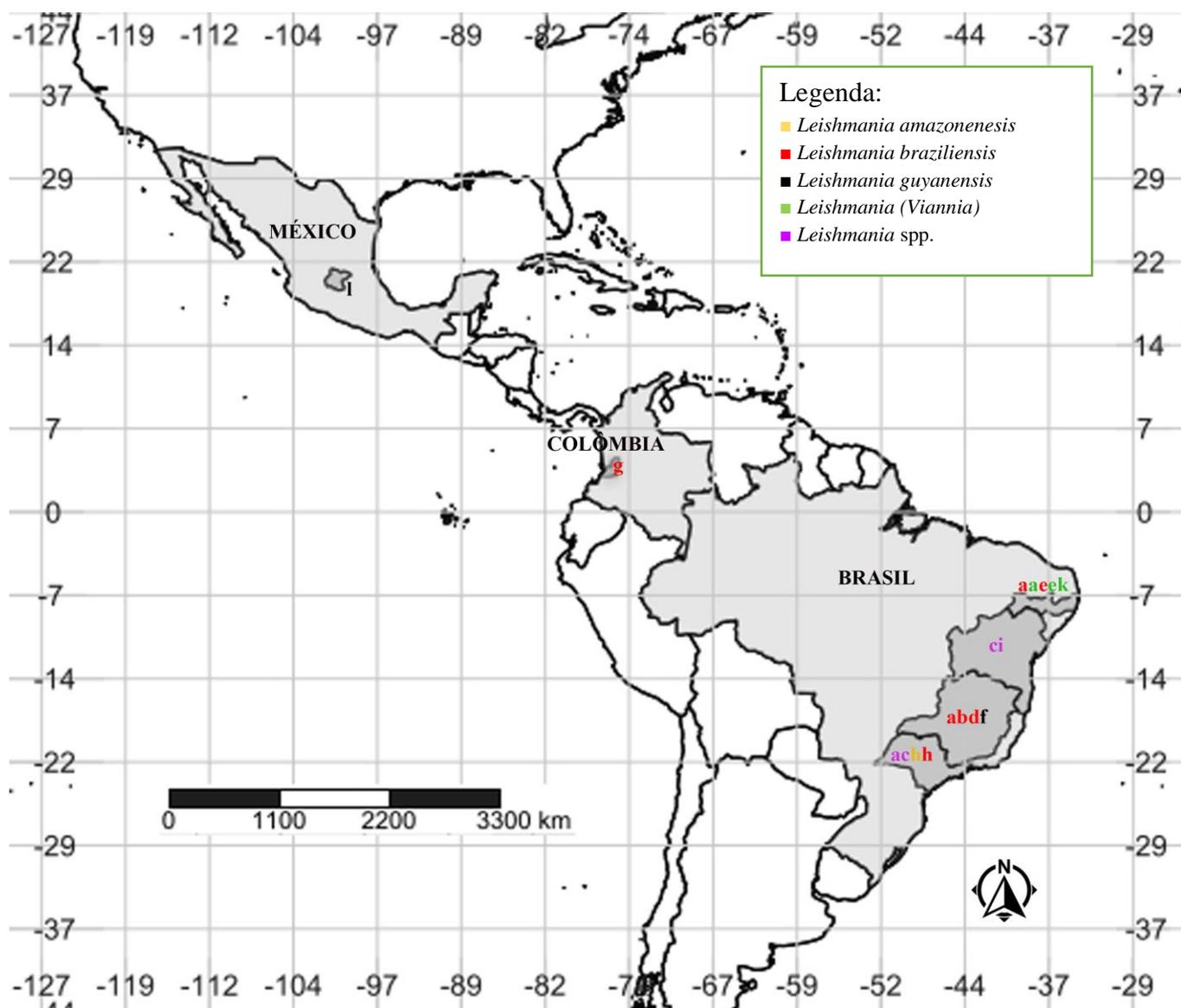


Figura 2. Mapa das Américas destacando localização dos marsupiais encontrados naturalmente infectados por *Leishmania*. a: *Didelphis albiventris*, b: *Didelphis marsupialis*, c: *Didelphis* spp., d: *Gracilinanus agilis*, e: *Marmosa* sp., f: *Marmosops incanus*, g: *Micoureus demerarae*, h: *Micoureus paraguayanus*, i: *Micoureus* sp., j: *Microrhizomys minutus*, k: *Monodelphis domestica*, l: *Philander opossum*.

DISCUSSÃO

Os roedores e marsupiais têm um papel importante na dispersão da leishmaniose nas Américas, 24 gêneros e 31 espécies de roedores e 8 gêneros e 9 espécies de marsupiais foram encontrados infectados com *Leishmania*. Países como Peru, Equador, Guiana, Suriname, Panamá, Costa Rica, Honduras, Nicaraguá, El Salvador e Guatemala, conhecidos por serem endêmicos para leishmaniose, não apresentaram registros, provavelmente por não existirem grupos de pesquisa que trabalhem com detecção molecular de *Leishmania* sp. em roedores.

A disseminação da leishmaniose não é acidental, pois as ordens Rodentia e Didelphimorphia se adaptam a diversos ambientes: desertos, paisagens aquáticas, escavação e/ou túneis e copas das florestas (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). No Brasil, são conhecidos aproximadamente 74 gêneros e 23 espécies de roedores e 16 gêneros e 55 espécies de marsupiais (PAGLIA et al., 2012); destes, 17 gêneros de roedores e 8 gêneros de marsupiais foram detectados infectados com *Leishmania* (22,9%, 50%, respectivamente). Na região Norte do Brasil, onde se relata 8.939 casos de *Leishmania* (2015), não há registro de *Leishmania* detectadas por PCR em roedores silvestres e sinantrópicos. Estes tipos de registros só foram realizados nos estados da Bahia, Distrito Federal, Mato Grosso, Minas Gerais, Pernambuco, Paraná e São Paulo.

Rattus rattus, por exemplo, é comumente encontrado vivendo próximo ao peridomicílio ou no intradomicílio (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). A espécie foi encontrada infectada com *L. braziliensis* no Brasil, na Venezuela e na Argentina. No Brasil, achamos registros nos estados da Bahia, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco e Mato Grosso. Este roedor tem sido relatado hospedando várias espécies de *Leishmania*, como: *L. amazonensis* (CALDART et al., 2017), *L. braziliensis* (BRANDÃO-FILHO et al., 2003; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017) e *L. mexicana* (OLIVEIRA et al., 2005). Infecção mista também foi descrita com *L. infantum*, agente causador da leishmaniose visceral (FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; CALDART et al., 2017). Todos estes dados somados apontam para a participação do roedor na manutenção do ciclo da *Leishmania* no peridomicílio e possível urbanização da LTA na presença do vetor (CALDART et al., 2017).

Rattus norvegicus é uma espécie semiaquática, nada e mergulha bem, por causa dessa característica no Brasil é mais frequente no litoral. Todavia, a espécie também é encontrada no campo próximo a estrebrias, aviários e outras instalações construídas pelo homem, como casas de animais domésticos. Esta espécie também é bem adaptada a esgotos e tubulações e

cava longas galerias, mas dificilmente habita dentro do domicílio. (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). Como espécie sinantrópica, aproxima o ciclo da leishmaniose do homem quando há presença do vetor. A espécie tem sido encontrada naturalmente infectada com *L. braziliensis* no Brasil (FERREIRA et al., 2015; MARCELINO et al., 2011).

Mus musculus é um pequeno roedor altamente antropofílico, também com registro em todos os estados brasileiros. Vive em ambiente intradomiciliar, essencialmente despensas, quartos e bibliotecas (REIS et al., 2006). Apesar da distribuição desse roedor em todas as unidades federativas do Brasil, somente na Bahia, no Mato e em Minas Gerais foram encontrados naturalmente infectados por *L. braziliensis* (TRÜEB et al., 2018; DE FREITAS et al., 2012; FERREIRA et al., 2015).

Roedores sinantrópicos, por apresentarem alta abundância, por serem reservatórios de *Leishmania* e por estar em maior contato com o homem, oferecem maior risco para transmissão desse agente etiológico ao homem

Oryzomys é um gênero que possui algumas espécies com ampla distribuição geográfica e hábito terrestre. Alguns membros sobrevivem apenas em ambientes altamente conservados, enquanto outros conseguem se adaptar a ambientes alterados, mesmo quando comuns não são abundantes (REIS et al., 2006). Várias espécies de *Oryzomys* têm sido encontradas infectadas por *L. braziliensis*, sendo a infecção em *O. subflavus* diagnosticada por PCR e as espécies *O. capito*, *O. concolor* e *O. nigripes* diagnosticada por outros métodos (OLIVEIRA et al., 2005; LAINSON, SHAW, 1970; FORATTINI et al., 1972). Na Bolívia, *O. acritus* e *O. nigripes* foram encontrados infectados com *L. amazonensis* (KERR et al., 2006) e no México *O. rostratus* com *L. mexicana* (STEPHENS et al., 2016).

Holochilus scieurus e *Nectomys squamipes* são espécies semiaquáticas, ambas habitam regiões florestais da Mata Atlântica e Amazônica, além de matas de galeria da Caatinga e do Cerrado. A espécie *Nectomys* sp. é encontrada no Pantanal (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008). Ambas as espécies de roedores foram encontradas infectadas com *L. braziliensis* em Pernambuco utilizando técnica de PCR (LIMA et al., 2013). Na Bahia, *Nectomys squamipes* foi encontrada infectada por *Leishmania* sp. através de imunofluorescência indireta (PETERSON et al., 1988).

L. braziliensis foi detectada em *Akodon arviculoides*, *Akodon cursor*, *Cerradomys subflavus*, *Necromys lasiurus* e *Trinomys* sp. no Brasil e *Akodon* sp na Argentina, (BRANDÃO FILHO et al., 2003; CARDOSO et al., 2015; FERREIRA et al., 2015;

PEREIRA et al., 2017; TONELLI et al., 2017; TRÜEB et al., 2018). *Necromys lasiurus* também foi encontrada infectada por *L. amazonensis* (CARDOSO et al., 2015).

Thrichomys é um gênero de hábito misto, terrestre e semiaquático, que pode apresentar atividade diurna ou noturna, mas comumente crepuscular (BONVICINO, OLIVEIRA, D'ANDREA, 2008). *Thrichomys apereoides* foi encontrado em Minas Gerais (Brasil) infectada com: *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. infantum* (QUARESMA et al., 2011) e *L. mexicana* (OLIVEIRA et al., 2005).

De hábito arborícola, *Oecomys* sp. (TRÜEB et al., 2018) e *Rhipidomys macrurus* (CARDOSO et al., 2015) foram encontrados infectados com *Leishmania*.

O maior número de mamíferos infectados com *L. mexicana* foi da ordem Rodentia e ocorreram no México e nos Estados Unidos (E.U.A), totalizando 8 gêneros e 14 espécies, alguns de hábitos urbanos ou agrícolas. *Sigmodon hispidus* e *Liomys irroratus* são espécies sinantrópicas encontradas no México e Estados Unidos (RAMSEY et al., 2012). *Sigmodon hispidus*, *Liomys pictus*, *Peromyscus attwateri*, *P. Eremicus*, *P. Leucopus* e *P. maniculatus*, todos encontrados infectados com *L. Mexicana*. Nas áreas onde estas espécies foram encontradas, também circulavam espécies vetoras (RODRIGUES-ROJAS et al., 2017).

Na ordem Didelphimorphia, o gênero *Didelphis* sp. possui ampla distribuição nas Américas e é representado por 6 espécies no Novo Mundo: *D. virginiana*, *D. pernigra*, *D. imperfecta*, *D. aurita*, *D. albiventris* e *D. marsupialis*, das quais *D. aurita* e *D. marsupialis* têm sido registradas infectadas com *Leishmania* (Tabela 2). Ambas são espécies frugívora-onívoras, que se alimentam de pequenos animais (insetos, vermes, pequenos vertebrados). Este marsupial possui baixo risco de extinção pela alta capacidade de adaptação a habitats diversos incluindo ambientes urbanizados (REIS et al., 2006), potencializando o contato do parasito com o homem.

Didelphis albiventris, no Brasil, foi encontrado naturalmente infectado com *L. braziliensis* em Minas Gerais, Pernambuco e São Paulo (QUARESMA et al., 2011; FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2017; BRANDÃO FILHO et al., 2003; LIMA et al., 2013; SILVA et al., 2016; PAIZ et al., 2016). Na Bahia, o gênero *Didelphis* foi encontrado infectado com a *Leishmania* sp.

Gracilinanus agilis, *Marmosa* sp., *Marmosops incanus*, *Micoureus paraguayanus* e *Monodelphis domestica* foram encontrados infectados no Brasil com *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. guyanensis* (BRANDÃO FILHO et al., 2003; QUARESMA et al., 2011; QUINTAL et al., 2011; LIMA et al., 2013), *Micoureus demerarae* e *Microroryzomys minutus* infectados por *L. braziliensis* na Colômbia (ALEXANDER, et al., 1998).

A participação dos roedores e marsupiais como reservatórios da LTA é vastamente evidenciada na literatura por muitos autores (Tabela 1 e 2). De fato, este conhecimento é ferramenta importante para mensurar o risco de transmissão da doença ao homem tanto por conhecer os envolvidos quanto para sugerir estratégias de controle e prevenção. No entanto, este conhecimento de forma pontual permite afirmar apenas que o animal é reservatório, mas na maioria das vezes, não responde se é reservatório de manutenção ou disseminador (ROQUE; JANSEN, 2014).

Os dados das tabelas 1 e 2 sugerem que roedores e marsupiais sinantrópicos como *Rattus rattus*, *rattus norvegicus*, *Mus musculus* e *Didelphis albiventris* pela ampla distribuição geográfica e abundância estão atuando como reservatórios disseminadores de *Leishmania*. ACHILLES, G. R. (2018) encontrou algumas dessas espécies infectadas com *Leishmania* em ambientes peridomiciliares de áreas com transmissão de leishmaniose. Nesses mesmos ambientes, Ramos et al. (2014) encontraram espécies de flebotomíneos vetores das principais espécies de *Leishmania*.

Esta revisão mostra alta distribuição e frequência de roedores e marsupiais infectados por *Leishmania* nas Américas. Este dado deve chamar a atenção das autoridades em vigilância em saúde para incluir programas de manejo de roedores e marsupiais sinantrópicos como uma forma de contribuir para a diminuição da incidência de leishmaniose e outros tripanossomatídeos. Atenção especial deve ser dada a regiões onde não há dados sobre infecções naturais por tripanossomatídeos, mas que há circulação de várias espécies de leishmania e várias espécies de vetores.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, B. et al. Detection of *Leishmania (Viannia) braziliensis* complex in wild mammals from Colombian coffee plantations by PCR and DNA hybridization. **Acta Tropica**, 69, 41–50, 1998.

ARIAS, J. R. AND NAIFF, R. D. The principal reservoir host of cutaneous leishmaniasis in the urban areas of Manaus central Amazon of Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 76(3), p.279-286, 1981.

ARIAS, J. R. et al. The opossum, *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae), reservoir host of *Leishmania braziliensis guyanensis* in the Amazon basin of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 4, p. 537–541, 1981.

BARRAT, J. et al. Isolation of novel trypanosomatid, *Zelonia australiensis* sp. Nov. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) provides support for a Gondwanan origin of dioxenous parasitism in Leishmaniinae. **Plos Neglected Tropical Disease**, 11(1), e5215, 2017.

BENNIS et al. Psychosocial impact of scars due to cutaneous leishmaniasis on high school students in Errachidia province, Morocco. **Infectious Diseases of Poverty**, 6:46, 2017.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 2008

BORGES, et al. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.5, p.1035-1043, 2009.

BRANDÃO FILHO, S. P. et al. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p. 291–296, 2003.

CALDART, E. T. et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-27, jan/mar, 2017

CARDOSO, R. M. et al. Expanding the knowledge about *Leishmania* species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & Vectors**, p. 1–8, 2015.

DE FREITAS, T. P. T. et al. Natural Infection of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in *Mus musculus* captured in Mato Grosso, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 81–83, 2011.

DE LIMA, H. et al. Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) and Black rats (*Rattus rattus*) as possible reservoir of *Leishmania* spp, in Lara state, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97(2), p, 169-174, march, 2002.

FERNÁNDEZ, M. S. Assessment of the role of small mammals in the transmission cycle of tegumentary leishmaniasis and first report of natural infection with *Leishmania braziliensis* in two sigmodontines in northeastern Argentina. **Parasitology research**, v.118, n. 2, p. 405-412, 2018.

FERREIRA, E. D. C. et al. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World. **BMC Veterinary Research**, p. 1–7, 2015.

FORATTINI, O. P. et al. Infecções naturais de mamíferos silvestres em area endêmica de leishmaniose tegumentar do estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saude Publica**, v. 6, n. 3, p. 255–261, 1972.

GUERRA, J. A. O. et al., 2007 a. Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazonica**, V. 37(1), p. 133-138, 2007.

JARIYAPAN, N. et al. *Leishmania (Mundinia) orientalis* n. sp. (Trypanosomatidae), a parasite from Thailand responsible for localised cutaneous leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, 11:351, 2018.

KERR, S. F. et al. Short report: a focus of *Leishmania mexicana* near Tucson, Arizona. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 61 (3), p. 378-379, 1999.

KERR, S, F. et al. *Leishmania amazonensis* infections in *Oryzomys acritus* and *Oryzomys nitidus* From Bolivia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 75 (6), p. 1069-1073, 2006.

KIPP, E. J. et al. Genetic evidence of enzootic leishmaniasis in a stray canine and Texas mouse from sites in west and central Texas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 111(10): 652-654, October 2016.

LAINSON, R. A.; SHAW, J. J. Leishmaniasis in Brazil: V. studies in the epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in Mato Grosso state, and observations on two distinct strains of *Leishmania* isolated from man and forest animals. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, n. 5, p. 654–667, 1970.

LIMA, H. DE et al. Trypanosomatidae de importancia en salud pública en animales silvestres y sinantrópicos en un area rural del municipio Tovar del estado Mérida, Venezuela. **Biomédica**, v. 26, n. March 2016, p. 42–50, 2006.

LIMA, B. S. et al. Small mammals as hosts of *Leishmania* spp. in a highly endemic area for zoonotic leishmaniasis in north-eastern Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 107, n. 9, p. 592-597, 2013.

MARCELINO, A. P. et al. Molecular detection of *Leishmania braziliensis* in *Rattus norvegicus* in an area endemic for cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 1–2, p. 54–58, 2011.

MCHUGH, C. P. et al. Short report: a disseminated infection of *Leishmania mexicana* in an eastern woodrat, *Neotoma floridana*, collected in Texas. **Am. J. trop. Med. Hyg**, v. 69 (5), p. 470-472, 2003.

OLIVEIRA, F. S. et al. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 219–227, 2005.

OPAS/OMS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE: Informe epidemiológico das Américas, 2018. disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34857/LeishReport6_por.pdf?sequence=5> Acesso em 10 de agosto de 2018.

PAIZ, L. M. Infection by *Leishmania* spp. in Free-Ranging Opossums (*Didelphis albiventris*) in an Environmentally Protected Area Inhabited by Humans in Southeastern Brazil. **Vector borne and zoonotic diseases**, v. 16, n. 11, p. 728-730, 2016.

- PEREIRA, A. A. S. et al. Detection Detection of *Leishmania* spp in silvatic mammals and isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from *Rattus rattus* in an endemic area for leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **Plos One**, Nov 27;12(11), 2017.
- PETERSON, N.E., VEXEMAT, J.A., ROSA, A.C.O.C., LAGO, P.R.L., 1988. Isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from the rodent *Nectomys squamipes* captured in Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 83 (S1), 28, 1988.
- PLAGIA, A. P. et al. Lista anotada dos mamíferos do Brasil (Annotated Checklist of Brazilian Mamals, 2º Edição/2nd Edition. Occasional Papers in Conservation Biology, nº6. Conservation International, Arlington, VA, 76pp, 2012.
- QUARESMA, P. F. et al. Wild , synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State , Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. February, p. 579–585, 2011.
- QUINTAL, A. P. N. et al. *Leishmania* spp. in *Didelphis albiventris* and *Micoureus paraguayanus* (Didelphimorphia: Didelphidae) of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 176, p. 112–119, 2011.
- RAYMOND, R. W. Temporal and spatial distribution of *Leishmania mexicana* infections in a population of *Neotoma micropus*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 98(2): 171-180, march, 2003.
- RAMSEY, J. M. et al. Ecological connectivity of *trypanosoma cruzi* reservoirs and triatoma pallidipennis hosts in an anthropogenic landscape with endemic chagas disease. **Plos One**, 7(9), 2012.
- REIS, N. R. et al. Mamíferos do Brasil. 1 ed, Londrina, 437p., 2006.
- RICHINI-PEREIRA, V. B. et al. Molecular detection of *Leishmania* spp. in road-killed wild mammals in the Central Western area of the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 20:27, 2014.
- RODRÍGUEZ-ROJAS, J. et al. Ecology of phlebotomine sandflies and putative reservoir hosts of leishmaniasis in a border area in Northeastern Mexico: implications for the risk of transmission of *Leishmania mexicana* in Mexico and the USA. **Parasite**, v. 24, n. 33, 2017.
- ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, 2014.
- RUIZ, R. M. et al. etección de *Leishmania* sp em *Rattus rattus* de la ciudad de Corrientes, Argentina. **Arch Med Vet**, v. 47, p. 401-407, 2015.
- SANTIAGO, M. E. B. An investigation of *Leishmania* spp . in *Didelphis* spp . from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brasil). **Veterinary Parasitology**, 150, p. 283–290, 2007.
- SCHALLIG, H. D. F. H. et al. *Didelphis marsupialis* (Common opossum): A potential

reservoir host for zoonotic Leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 3, p. 387–393, 2007.

SILVA, E. M. et al. *Leishmania* spp. in *Didelphis marsupials* spp. from northeastern Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47(3), p. 942-944, 2016.

STEPHENS, C. R. et al. Can You Judge a Disease Host by the Company It Keeps? Predicting Disease Hosts and Their Relative Importance: A Case Study for Leishmaniasis. **PLoS ONE**, october 7, 2016.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, 10:82, 2017

TONELLI, G. B. et al., Aspects of the ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the Private Natural Heritage Reserve Sanctuary Caraça, **PLoS ONE**, 12 (6): e0178628., june, 2017.

TRÜEB, I. et al. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. infection in wildlife from urban rainforest fragments in northeast Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, p. 76–84, 2018.

YOSHIDA, E. L. et al. *Leishmania mexicana* in *Didelphis marsupialis aurita* in Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 27, n. 1, p. 172, 1985.

WHO, 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>> Acesso em 10 jun. 2018.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, foram encontradas altas taxas de tripanossomatídeos circulantes em roedores e marsupiais no ARRPP (63,7% de 135 amostras). Além disso, a abundância e diversidade desses pequenos mamíferos foi maior em ambiente de floresta próxima a plantio e menor em ambiente peridomiciliar. Entretanto, em todos os ambientes estudados foram encontradas altas taxas de infecção por *Leishmania* sp. Ambientes sinantropizados e de floresta oferecem o mesmo fator de risco para manutenção do ciclo de transmissão da LTA no ARRPP.

Resultados da revisão sistemática mostram que há alta distribuição e frequência de roedores e marsupiais infectados por *Leishmania* nas Américas. Atenção especial deve ser dada a regiões onde não há dados sobre infecções naturais por tripanossomatídeos, mas que há circulação de várias espécies de *Leishmania* e várias espécies de vetores.

Os dados dessa dissertação são importantes para chamar atenção das autoridades em vigilância em saúde para incluir programas de manejo de roedores e marsupiais sinantrópicos, como uma forma de contribuir para a diminuição da incidência de leishmaniose e outros tripanossomatídeos.

REFERÊNCIAS GERAIS

- AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. M. Distribuição regional de habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: Rangel E. F. & R. Lainson (Org.) *Flebotomíneos do Brasil*, Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 207-256. 367, 2003.
- AGUILAR, C. M.; RANGEL, E. F. Leishmaniose tegumentar em uma mula (*Equus caballus* x *Equus asinus*) em área endêmica no estado do Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 81(2): 239-240, Abr./Jun., 1986.
- AKHOUNDI, M. et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. **PLoS Negl Trop Dis**, 10(3): e0004349, March 3, 2016
- ALENCAR, A. et al. Desmatamento nos Assentamentos da Amazônia: Histórico, Tendências e Oportunidades. IPAM, Brasília, DF, 93.p, 2016
- ARIAS J. R. et al. A. The opossum *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae) as a reservoir host of *Leishmania brasiliensis guyanensis* in the Amazon Basin of Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 75, p. 537-541, 1981.
- BALBINO, V. Q. et al. First Report of *Lutzomyia (Nyssomyia) umbratilis* Ward & Frahia, 1977 outside of Amazonian Region, in Recife, State of Pernambuco, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 96(3): 315-317, April 2001.
- BARRAT, J. et al. Isolation of novel trypanosomatid, *Zelonia australiensis* sp. Nov. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) provides support for a gondwanan origin of dixenous parasitism in Leishmaniinae. **Plos Neglected Tropical Disease**, 11(1), e5215, 2017.
- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Rev. Bras. Epidemiol.** vol. 7, nº 3, 2004
- BENNIS et al. Psychosocial impact of scars due to cutaneous leishmaniasis on high school students in Errachidia province, Morocco. **Infectious Diseases of Poverty**, 6:46, 2017.
- BETTINI, S., POZIO, E., GRADONI, L. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): (II) *Leishmania* from wild Rodentia and carnivora in a human and canine leishmaniasis focus. **Transactions of the Royal Society of Tropical and Hygiene**, v. 74, n. 1, 1980.
- BORGHESAN, T. C. Diversidade e filogenia de tripanossomatídeos parasitas de dípteros. São Paulo, 2013. 51 p. **Tese** (Doutor em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro. Universidade de São Paulo, 2013.
- BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p. 291–296, 2003.

- CALDART, E. T. et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-27, jan/mar, 2017.
- CARDOSO, R. M. et al., Expanding the knowledge about *Leishmania* species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & Vectors**, 8:17, 2015
- CARREIRA, J. C. A. et al. Natural infection of *Didelphis aurita* (Mammalia : Marsupialia) with *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 111, p. 1–6, 2012.
- CASSAN, C. et al., *Leishmania major* and *Trypanosoma lewisi* infection in invasive and native rodents in Senegal. **Plos Neglected Tropica Disease**, 12 (6): e 0006615, 2018.
- CONFALONIERI, U. E. C.; MARGONARI, C.; QUINTÃO, A. F. Environmental change and the dynamics of parasitic diseases in the Amazon. **Acta Tropical**, v.129, p.33-41, 2014.
- DAVAMI, M. H. et al. Molecular survey on detection of *leishmania* infection in rodent reservoirs in Jahrom District, Southern Iran. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 8, n. 2, p. 139–146, 2014.
- DEDET, J. P. et al. Natural hosts of *Leishmania mexicana amazonensis* Lainson and Shaw, 1972 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in French Guiana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 302–305, 1985.
- DEDET, J. P.; GAY, F.; CHATENAY, G. Isolation of *Leishmania* species from wild mammals in French Guiana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 5, p. 613–615, 1989.
- DE FREITAS, T. P. T. et al. Natural Infection of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in *Mus musculus* captured in Mato Grosso, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 81–83, 2011.
- DE LIMA, H. et al. Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) and Black rats (*Rattus rattus*) as possible reservoir of *Leishmania* spp, in Lara state, Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 97(2), p, 169-174, march, 2002.
- DÓREA, F. C. et al. Toward One Health: are public health stakeholders aware of the field of animal health? **Infection Ecology and Epidemiology** 4: 24267, 2014.
- DUARTE, I. R. M. et al. Comportamento biológico de *Leishmania (L.) amazonensis* isolada de um gato doméstico (*Felis catus*) de Mato Grosso do sul, Brasil. Revista de Patologia Tropical, Vol. 39 (1), p. 33-40. jan.-mar., 2010.
- ECHCHAKERY, M. et al. Molecular detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania tropica* in rodent species from endemic cutaneous leishmaniasis areas in Morocco. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 454, 2017.
- ESPINOSA, O. A. et al. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**, 2016.

FALQUETO, A. et al. A new enzymatic variant of *Leishmania (Leishmania) forattinii* isolated from *Proechimys iheringi* (Rodentia, Echimyidae) in Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 6, p. 795–798, 1998.

FAUST C. L. et al. Null expectations for disease dynamics in shrinking habitat: dilution or amplification? **Phil. Trans. R. Soc. B**, 372: 20160173, 2017.

FEITOSA, M. A. C. et al. Diversity of sand flies in domiciliary environment of Santarém, state of Pará, Brazil: species composition and abundance patterns in rural and urban áreas. **Acta Amazonica**, vol. 42 (4), p. 507 – 514, 2012.

FERNANDES, O. et al. Mini-exon gene variation in human pathogenic *Leishmania* species. **Molecular and Biochemical Parasitology**, 66, p.261-271, 1994.

FERREIRA et al. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World, **BMC Veterinary Research**, 1:71, 2015.

FORATTINI, O. P. et al. Infecções naturais de mamíferos silvestres em area endêmica de leishmaniose tegumentar do estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saude Publica**, v. 6, n. 3, p. 255–261, 1972.

FORATTINI, O. P. Subfamília Phlebotominae. 1973. In: Capítulo 4, p. 119-205. 4ª edição. Editora Edgard Blucher, 1973a.

FORATTINI, P. O. et al. Nota sobre a infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco encoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 7, p. 181–184, 1973b.

FREITAS, M. T. S. et al. Analysis of the genetic structure of allopatric populations of *Lutzomyia umbratilis* using the period clock gene. **Acta Tropica**, 154, p. 149-154, 2016

FREITAS, M. T. S. et al. New records of Phlebotomine Sand flies (Diptera: Psychodidae) from state of Alagoas, Northeast of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, 2017.

GONTIJO, B. E CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36(1):71-80, jan-fev, 2003.

GRIMALDI JR, G. Leishmanioses tegumentares: Aspectos clínicos e imunopatológicos. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 77 (2), p. 195-215, abr./jun., 1982.

GRISARD, E. C. et al. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, Southern Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 95(6): 795-800, Nov./Dec. 2000.

GUERRA, J. A. O. et al. Tegumentary leishmaniasis in the State of Amazonas: what have we learned and what do we need? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 48(Suppl I):12-19, 2015.

GUERRA, J. A. O. et al. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22(11):2319-2327, nov, 2006

GUERRA, J. A. O. et al., 2007 a. Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazonica**, V. 37(1), p. 133-138, 2007a.

GUERRA, J. A. O. et al., 2007 b. Leishmaniose tegumentar americana em crianças: aspectos epidemiológicos de casos atendidos em Manaus, Amazonas, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 23(9), 2215-2223, set, 2007b

GUERRA, J. A. O. et al., 2003. Aspectos clínicos e diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana em militares simultaneamente expostos à infecção na Amazônia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.36, n.5, Uberaba, Sept./Oct, 2003.

GUIMARÃES, R. R. et al. Caracterização agrossocioeconômica de agricultores em assentamentos da Reforma Agrária: Um estudo de caso em Presidente Figueiredo – AM **Comunicado Técnico** n° 21, Embrapa Amazônia Ocidental, dezembro, 2003.

HAN, B. A. et al. Global patterns of zoonotic disease in mammals. **Trends in Parasitology**. April, 2016.

HAN, B. A. et al. Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. **PNAS Early Edition**. April 20, 2015.

HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S.; CARRASCO, H. J. *Trypanosoma cruzi*: behavior of metatrypomastigotes from *Didelphis marsupialis* and *Panstrongylus geniculatus*. **Revista Científica de veterinária**, FCV-LUZ 1, Vol. XIII, N° 4, 307-311, 2003.

HOFFMANN et al. *Leishmania amazonensis* em cão com quadro clínico de leishmaniose visceral no Estado do Paraná, Brasil – relato de caso. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3265-3270, 2012.

INCRA, 2016 Relação de beneficiários da Superintendência Regional do Amazonas. Disponível em: <http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/reforma-agraria/rela-o-de-benefici-rios-rb-da-reforma-agr-ria/sr-15_am_0.pdf> Acesso em 16 de março de 2016.

INPE – INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS 2018. **PRODES**. Disponível em:<<http://www.obt.inpe.br/OBT/assuntos/programas/amazonia/prodes>>. Acesso em: 30 de abr. de 2018.

JARIYAPAN, N. et al. *Leishmania (Mundinia) orientalis* n. sp. (Trypanosomatidae), a parasite from Thailand responsible for localised cutaneous leishmaniasis. **Parasites & Vectors**,11:351, 2018.

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

LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Rev Pan-Amaz Saude**, 1(2):13-32, 2010.

LAINSON, R. et al. Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of, *Leishmania* species from sandflies, wild mammals and man in north Para State, with particular reference to *L. braziliensis* guyanensis causative agent of “pian-bois”. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 4, p. 530–536, 1981.

LAINSON, R. A.; SHAW, J. J. Leishmaniasis in Brazil: V. studies in the epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in Mato Grosso state, and observations on two distinct strains of *Leishmania* isolated from man and forest animals. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, n. 5, p. 654–667, 1970.

LEGEY, A. P. et al. *Trypanosoma cruzi* in marsupial didelphids (*Philander frenata* and *Didelphis marsupialis*): differences in the humoral immune response in natural and experimental infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36, p. 241-248, mar/abr, 2003.

LIMA, H. DE et al. Trypanosomatidae de importancia en salud pública en animales silvestres y sinantrópicos en un area rural del municipio Tovar del estado Mérida, Venezuela. **Biomédica**, v. 26, n. March 2016, p. 42–50, 2006.

LLANOS-CUENTAS, E. A. et al. Natural infections of *Leishmania peruviana* in animals in the Peruvian Andes. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 93, p. 15-20, 1999.

LOH, E. H. et al. Evaluating the links between biodiversity, land-use change, and infectious disease emergence in tropical fragmented landscapes. In: **Tropical Conservation**, Oxford, 1^o Ed, 2016.

MADEIRA, M. F. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36(5), p. 551-555, set-out, 2003.

MARCELINO, A. P. et al. Molecular detection of *Leishmania braziliensis* in *Rattus norvegicus* in an area endemic for cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 1–2, p. 54–58, 2011.

MCFARLANE, R.; SLEIGH, A.; MCMICHAEL, T. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian–Australasian Region. **Eco Health**, n.9, p. 24–35, april, 2012

MEERBURG, B. G.; SINGLETON, G. R.; KIJLSTRA, A. Rodent-borne disease and their risks for public health. **Critical Reviews in Microbiology**, 35(3), p.221-270, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015. Casos de leishmaniose tegumentar: Brasil, grandes regiões e unidades federativas, 1990 a 2015. Disponível em <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/07/LT-Casos.pdf>> . Acesso em 03 de janeiro de 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 189 p., 2017.

MOTAZEDIAN, M. H. et al. First detection of *Leishmania major* in *Rattus norvegicus* from Fars Province, Southern Iran. **Vector Borne Zoonotic Dis**, v. 10, n. 10, p. 969–975, 2010.

NERY, L.C.R., LOROSA, E.S., FRANCO, A.M.R. Feeding preference of sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99, 571–574, 2004.

NOYES, H. A.; CAMPS, A. P.; CHANCE, M. L. *Leishmania herreri* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) is more closely related to *Endotrypanum* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) than to *Leishmania*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, 80, 119–123, 1996.

OLIVEIRA, F. S. et al. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 219–227, 2005.

OLIVEIRA, D. M. et al. Comparison of different primers for PCR-based diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Braz J Infect Dis**, 15 (3), p. 204–210, 2011.

OLIVEIRA-NETO et al. An outbreak of American cutaneous Leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brasil: clinical and epidemiological studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83(4), p. 427–435, out./dez., 1988.

PAES, M.G. et al. Sobre a ocorrência de leishmaniose tegumentar em rua de bairro de implantação antiga na Cidade de Manaus (AM). **Rev Soc Bras Med Trop.**, 31:75, 1998.

PARANAIBA, L. F. An overview on *Leishmania (Mundinia) enriettii*: biology, immunopathology, LRV and extracellular vesicles during the host–parasite interaction. **RMIT University Library**, 11:58:05, 2017.

PARHIZKARI, M. et al. The PCR-based detection of *Leishmania major* in *Mus musculus* and other rodents caught in southern Iran: a guide to sample selection. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 105, n. 4, p. 319–323, 2011.

PATZ, J. A. et al. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **Internacional Journal for Parasitology**, 30, p.1395–1405, 2000.

PATZ, J. A. et al., Disease emergence from global climate and land use change. **Med Clin N Am**, V. 92, p. 1473–1491, 2008.

PENNA, G. et al., High incidence of disease endemic to the Amazon region of Brazil, 2001 – 2006. **Emerging Infectious Diseases**, Vol. 15, n° 4, April, 2009.

PEREIRA, A. A. S. et al. Detection Detection of *Leishmania* spp in silvatic mammals and isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from *Rattus rattus* in an endemic area for leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **Plos One**, Nov 27;12(11), 2017.

PETERSON, N.E., VEXEMAT, J.A., ROSA, A.C.O.C., LAGO, P.R.L., 1988. Isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from the rodent *Nectomys squamipes* captured in Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 83 (S1), 28, 1988.

PIMENTA, P. F. P et al. Biology of the *Leishmania* - Sand Fly Interaction, Capítulo 6. Em: RANGEL, E. F.; SHAW, J. J. Brazilian Sand Flies Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control. Springer International Publishing, p. 319-339, 2018.

QUARESMA, P. F. et al. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 105, p. 579–585, 2011.

QUINTAL, A. P. N. et al. *Leishmania* spp. in *Didelphis albiventris* and *Micoureus paraguayanus* (Didelphimorphia: Didelphidae) of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 176, p. 112–119, 2011.

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

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, p. 937-954. 2009.

RANGEL, E.; LAINSON, R. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 100(8), p. 811-827, december 2005.

REIS, S. R. et al. Ocorrência de flebotomíneos (Diptera: *Psychodidae: Phlebotominae*) no ambiente peridomiciliar em área de foco de transmissão de leishmaniose tegumentar no município de Manaus, Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 43 (1), p.121–124, 2013.

RICHINI-PEREIRA, V. B. et al. Molecular detection of *Leishmania* spp. in road-killed wild mammals in the Central Western area of the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 20:27, 2014.

ROCHA, A. G. Leishmaniose visceral canina no Rio Grande do Sul Revisão Bibliográfica. Porto Alegre, 2012. 47 p. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, 2012.

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

ROMERO, G. A. S.; Guerra, M. V. F.; Paes, M. G.; Macêdo, V. O. Comparison of Cutaneous Leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L (V.) guyanensis* in Brazil: clinical findings and diagnostic approach. **Clinical Infectious Diseases**, 32: 1304-1312, 2002.

RUIZ, R. M. et al. etecção de *Leishmania* sp em *Rattus rattus* de la ciudad de Corrientes, Argentina. **Arch Med Vet**, v. 47, p. 401-407, 2015.

SAMY, A. M.; DOHA, S. A.; KENAWY, M. A. Ecology of cutaneous leishmaniasis in Sinai: Linking parasites, vectors and hosts. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 3, p. 299–306, 2014.

SCHALLIG, H. D. F. H. et al. *Didelphis marsupialis* (Common opossum): A potential reservoir host for zoonotic Leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 3, p. 387–393, 2007.

SERAFIM, T. D. Sequential blood meals promote *Leishmania* replication and reverse metacyclogenesis augmenting vector infectivity. **Nature microbiology**, 2018.

SILVA, D. F.; VASCONCELOS, S. D. Flebotomíneo em fragmentos de Mata Atlântica na Região Metropolitana do Recife, PE. **Rev. Soc. Bras. Med.Trop.**, v. 38, n.3, Uberaba, May/June, 2005

SILVA, E. M. et al. *Leishmania* spp. in *Didelphis marsupials* spp. from northeastern Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47(3), p. 942-944, 2016

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; CORBETT, C.E.P. Clinical and Immunopathological Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with Especial Reference to the Disease in Amazonian Brazil – A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.99, n.3, p.239- 251, 2004

SHIMABUKURO, P.H.F. & Galati, E.A.B. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica, 2011. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/abstract?inventory+bn0361101a2011>>. Acesso em 01 de junho de 2018.

SOARES, R. P. et al. *Lutzomyia umbratilis* from na area south of the Negro River is refractory to in vitro interaction with *Leishmania guyanensis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 113(3): p. 202-205, March, 2018.

SOUZA, C. F. Estudo da urbanização de flebotomíneos e aspectos epidemiológicos de Leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil. Minas Gerais, 2011. 123 p. **Dissertação** (Mestrado em Magister Scientiae) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Viçosa, 2011.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, 10:82, 2017.

TELES, C. B. G. et al. *Trichophoromyia auraensis* is a putative vector. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 112(7): 517-519, July, 2017.

TELES, C. B. G. et al. Phlebotomine sandfly (Diptera: Psychodidae) diversity and their *Leishmania* DNA in a hot spot of American Cutaneous Leishmaniasis human cases along the Brazilian border with Peru and Bolivia. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 111(7), p. 423-432, July, 2016.

TOLEDO, M. J. O. et al. Estudo sobre triatomíneos e reservatórios silvestres de *Trypanossoma cruzi* no estado do paraná, sul do Brasil. Resultados preliminares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 30(3):197-203, mai-jun, 1997.

TONELLI, G. B. et al., Aspects of the ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the Private Natural Heritage Reserve Sanctuary Caraça, **PLoS ONE**, 12 (6): e0178628, june, 2017.

TR EB, I. et al. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. infection in wildlife from urban rainforest fragments in northeast Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, p. 76–84, 2018.

TSAKMAKIDIS, I. et al. Leishmania infection in rodents in Greece. **Tropical Medicine and International Health**, v. 22, n. 12, p. 1523–1532, 2017.

VASCONCELOS, I. A. et al. The identity of *Leishmania* isolated from sand flies and vertebrate hosts in a major focus of cutaneous leishmaniasis in Baturite, northeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 50, n. 2, p. 158–64, fev. 1994.

VONESCH, N. et al., Climate change, vector-borne disease and working population. **Ann Ist Super Sanit **, Vol. 52, n. 3, p. 397-405, 2016.

YOSHIDA, E. L. A. et al. *Leishmania mexicana* in *Didelphis marsupialis aurita* in Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 27, n. 1, p. 172, 1985.

YOSHIDA, E. L. A. et al. Human, canine and equine (*Equus caballus*) Leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis brasiliensis*) in the south –west region of São Paulo state, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 85(1), p. 133-134, jan./mar., 1990.

YOSHIDA, E. L. A. et al. Description of *Leishmania (Leishmania) forattinii* sp. n., a new parasite infecting opossums and rodents in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1993.

WHO, 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>> Acesso em 10 jun. 2018.