



**Universidade de Brasília**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**Tripanossomatídeos em mamíferos silvestres e potenciais insetos  
vetores no Zoológico de Brasília, DF, Brasil.**

**Filipe Carneiro Reis**

**Brasília - DF, 2018.**



# Universidade de Brasília

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

## **Tripanossomatídeos em mamíferos silvestres e potenciais insetos vetores no Zoológico de Brasília, DF, Brasil**

**Filipe Carneiro Reis**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: **Prof. Dr. Rodrigo Gurgel  
Gonçalves**

**Brasília - DF, 2018.**



Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Zoologia

**Dissertação de Mestrado**

**FILIPE CARNEIRO REIS**

**Título:**

**Tripanossomatídeos em mamíferos silvestres e potenciais insetos vetores no Zoológico de Brasília, DF, Brasil.**

**Banca Examinadora:**

*Prof. Dr. Rodrigo Gurgel Gonçalves*  
*Presidente/Orientador*  
*FM/UnB*

*Profa. Dra. Elisa Neves Vianna*  
*Membro Titular*  
*FM/UnB*

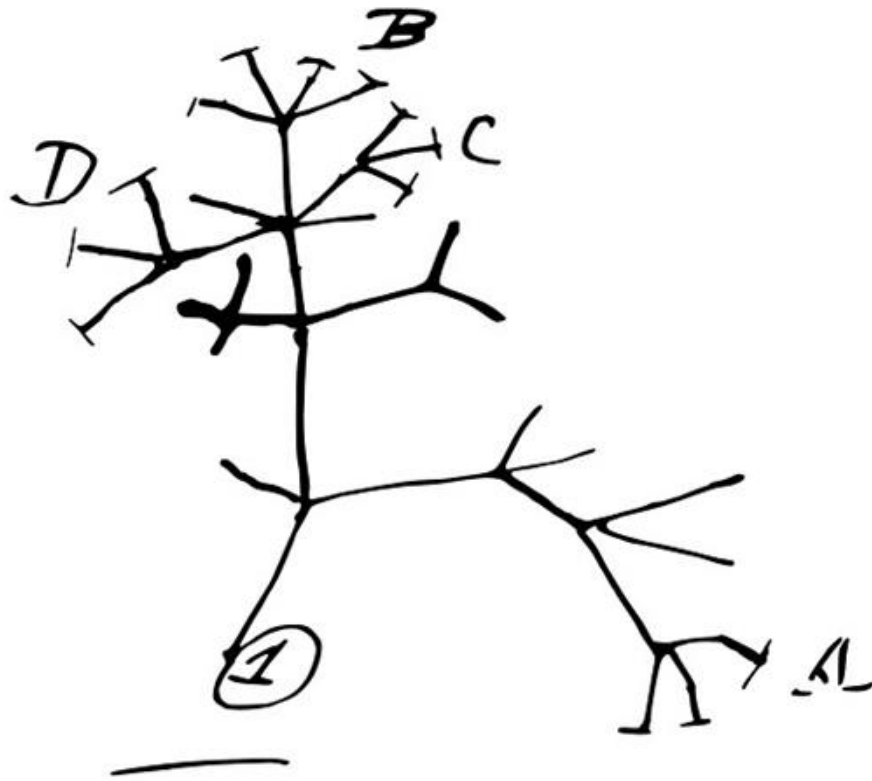
*Profa. Dra. Ludmila M. de S. Aguiar*  
*Membro Titular*  
*IB/UnB*

*Prof. Dr. Marcos Takashi Obara*  
*Membro suplente*  
*FCE/UnB*

Brasília, 28 de fevereiro de 2018

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Laboratório Interdisciplinar de Biociências da Faculdade de Medicina da UnB e no Zoológico de Brasília.

I think



*“Eu não quero acreditar, quero saber”*

*Carl Sagan*

*Dedicatória*

*A minha filha, Luna, razão maior de tudo.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha filha, Luna, que mesmo sem saber, me fez cada dia, desde 13/11/2016, acordar, dormir (mesmo que por poucas horas ou minutos por noite) e me dedicar não só a este projeto, como a todos os outros que estão em andamento, sabendo que todo esforço é pouco para o que ela merece. Seu sorriso e amor me faz ter força para nunca desistir.

Agradeço a minha esposa, amiga e companheira, Mariana, por sua paciência e por toda sua contribuição em cada etapa deste processo, tanto na parte intelectual quanto na emocional, sempre me encorajando a seguir em frente. Por ter entendido as lacunas que eu deixei em vários momentos por não poder estar presente física e psicologicamente. Sem seu apoio nada disto seria possível. Amo-te.

Agradeço minha mãe, Cristina, que sempre fez mais do que o possível para que eu tivesse todas as condições de seguir meus sonhos, me apoiando incondicionalmente em todos os momentos.

Agradeço ao meu pai, Marcelo, por me mostrar a beleza da Biologia e da Conservação, e por me orientar, não só em relação a este trabalho e a Biologia, mas em várias situações da vida.

Agradeço ao meu avô Oswaldo, por ter me ensinado o pensamento crítico e o valor da Ciência. Cada neto tem o avô que merece!

Agradeço a todos os amigos e funcionários do Zoológico, que tanto contribuíram para que eu pudesse coletar as amostras e analisar os dados, em especial ao Carlos Eduardo, Thiago Zuryp, Lucas Macário, Igor Moraes e Betânia Borges.

Agradeço a todos do Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores da UNB, que foram fundamentais tanto na orientação da dissertação quanto na coleta e análise dos dados. Em especial a Mariana Neiva e Renata Timbó, que me ensinaram e auxiliaram em grande parte dos métodos laboratoriais e também nas coletas dos insetos e análise dos dados.

Agradeço a Thaís Minuzzi por me orientar e auxiliar em todos os processos de PCR e sequenciamento, não só me ensinando as técnicas, mas também me dando dicas e sendo tão solícita sempre que foi preciso.

Agradeço a todos da minha família e amigos, que somados são o alicerce para que eu possa crescer como profissional, como pai e como homem, cada um com sua essencial contribuição.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Rodrigo Gurgel, por entender as vezes que estive ausente por estar trabalhando, dando aula ou cuidando da família, mas que sempre me apoiou, sendo essencial para o resultado deste trabalho.

Agradeço aos professores Ludmilla Aguiar, Elisa Vianna e Marcos Obara pela disponibilidade e por todas as orientações.

Enfim, agradeço a todos que de uma maneira ou de outra colaboraram e dedicaram parte de seu tempo para me ajudar nesta caminhada.



# ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIACOES.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	16
1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Conservação <i>ex-situ</i> e zoonoses.....	18
1.2 Tripanossomatídeos.....	20
1.3 <i>Trypanosoma cruzi</i> e doença de Chagas.....	20
1.4 Leishmanioses.....	23
1.5 Infecções por <i>T.cruzi</i> e <i>Leishmania</i> spp. em mamíferos silvestres.....	27
2. JUSTIFICATIVA.....	31
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivo geral.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 rea de estudo.....	33
4.2 Monitoramento de triatomíneos.....	33
4.3 Análise microscópica do conteúdo intestinal dos triatomíneos.....	34
4.4 Monitoramento, identificação e exame parasitológico de flebotomíneos.....	35
4.5 Coleta do sangue dos mamíferos.....	37
4.6 Extração de DNA das amostras biológicas.....	39
4.7 Detecção de <i>Leishmania</i> em flebotomíneos.....	39
4.8 Detecção de <i>Leishmania</i> nos mamíferos.....	40
4.9 Detecção de <i>T. cruzi</i> nos mamíferos e triatomíneos.....	40
4.10 Biossegurança.....	41
4.11 Autorização e aspectos ticos da pesquisa.....	42
5. RESULTADOS.....	43
5.1 Ocorrência de triatomíneos e taxas de infecção natural por <i>T. cruzi</i> .....	43
5.2 Ocorrência de flebotomíneos e taxas de infecção.....	43
5.3 Ocorrência de tripanossomatídeos em mamíferos.....	45

6. DISCUSSÃO .....	50
7. CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS.....	69

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** ① Um triatomíneo realiza hematofagia em um vertebrado e libera a forma tripomastigota metacíclica (TM) nas suas fezes próximo da onde ele se alimentou. Este TM entra no hospedeiro vertebrado pela picada e tem contato com sua mucosa. ② No hospedeiro, o tripomastigota invade as células próximas ao local de inoculação e se transforma em amastigotas. ③ Os amastigotas se multiplicam por fissão binária ④ e se diferenciam em tripomastigotas, sendo liberados na corrente sanguínea. Tripomastigotas infectam células de vários tecidos e se transformam em amastigotas intracelulares nestes novos pontos de infecção. ⑤ Os triatomíneos se infectam novamente se alimentando do vertebrado que tenha o parasito no sangue. ⑥ O tripomastigota ingerido se transforma em epimastigota na região média do intestino do inseto e depois se diferencia em TM no reto, dando início a um novo ciclo. Fonte: CDC Image Library. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>. Acessado em 31/12/2017. .... 22

**Figura 2:** ① O flebotomíneo injeta a forma infecciosa (promastigota) de sua probóscide durante a hematofagia. ② Promastigotas que atingem a mucosa são fagocitados pelos macrófagos ③ e por outros tipos de células mononucleares fagocíticas. Promastigotas se transformam na fase tecidual do parasito nestas células (amastigota), ④ que se multiplicam por divisão simples e prosseguem para infectar outra célula mononuclear fagocítica. ⑤ ⑥ A espécie de Leishmania, de hospedeiro e outros fatores afetam se a infecção será sintomática e se será cutânea ou visceral. Flebotomíneos se tornam infectados ingerindo células infectadas durante hematofagia. ⑦ Nos flebotomíneos as amastigotas se transformam em promastigotas e se desenvolvem no intestino ⑧ (no intestino posterior para organismos leishmaniais no subgênero de Viannia, no intestino médio para organismos no subgênero de Leishmania) e migram para a probóscide. Fonte: CDC Image Library. <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>. Acessado em 07/01/2018. .... 26

**Figura 3:** Mapa do Zoológico de Brasília - Brasília, DF - Brasil. Disponível em [www.google.com.br/maps](http://www.google.com.br/maps) Acessado em 04/01/2018 ..... 33

**Figura 4:** Busca ativa por triatomíneos dentro dos recintos com auxílio dos tratadores ..... 34

<b>Figura 5:</b> Área da FJZB com os pontos amostrados para flebotomíneos. Em amarelo os pontos na mata de galeria e em vermelho os pontos localizados nos recintos dos mamíferos .....	35
<b>Figura 6:</b> Instalação de armadilha HP no recinto das onças-pintadas ( <i>Panthera onca</i> )	36
<b>Figura 7:</b> Instalação de armadilha tipo Shannon para captura de flebotomíneos no setor dos mamíferos americanos. Ao lado esquerdo um exemplar de tamanduá-bandeira ( <i>Myrmecophaga tridactyla</i> ) e à frente três antas ( <i>Tapirus terrestris</i> ) em seu recinto ...	36
<b>Figura 8:</b> Contenção física e química para coleta de sangue em exemplar de cachorro-do-mato-vinagre ( <i>Speothos venaticus</i> ) .....	38
<b>Figura 9:</b> Contenção química de indivíduo de onça-pintada ( <i>Panthera onca</i> ) para coleta de sangue e outros exames paralelos .....	38
<b>Figura 10:</b> Máquina utilizada para realização da leitura dos exames de qPCR. Fabricante: ThermoFisher Scientific Modelo: Applied Biosystems QuantStudio 3 Real-Time PCR System.....	41
<b>Figura 11:</b> Colônia de <i>Panstrongylus megistus</i> identificada no recinto do ouriço-caixeiro ( <i>Coendou prehensilis</i> ). A - área interna do abrigo do ouriço-caixeiro com exúvias de ninfas de <i>P. megistus</i> . B - Aduto de <i>P. megistus</i> próximo da cauda do mamífero. C - Adultos de <i>P. megistus</i> encontrados atrás do abrigo de madeira do ouriço-caixeiro. ...	43
<b>Figura 12:</b> Número flebotomíneos capturados no Zoológico de Brasília entre 2016 e 2017. ....	45
<b>Figura 13:</b> qPCR TCZ <i>T. cruzi</i> : Em rosa <i>melt curve</i> do controle positivo de <i>T. cruzi</i> cepa Berenice 10 <sup>4</sup> parasito/mL. Em amarelo o <i>melt curve</i> de uma amostra de sangue de mamífero positiva para <i>T. cruzi</i> . ....	49
<b>Figura 14:</b> qPCR KDNA <i>Leishmania</i> : Em azul <i>melt curve</i> do controle positivo (cultura de <i>L. infantum</i> , cepa 6445 cedida pelo Instituto Oswaldo Cruz e disponibilizada pelo Laboratório de Leishmaniose do Dr. Gustavo Romeiro, pertencente ao Núcleo de Medicina Tropical). Em verde e vermelho o <i>melt curve</i> de amostras de sangue de mamífero positivas para <i>Leishmania</i> spp. ....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Lista de espécies de mamíferos silvestres hospedeiras e potenciais reservatórios de espécies de <i>Leishmania</i> segundo revisão de Roque e Jansen 2014 ....	29
<b>Tabela 2:</b> Número de machos e fêmeas das espécies de flebotomíneos capturados nos recintos dos animais do Zoológico de Brasília com armadilhas HP e Shannon entre setembro de 2016 e junho de 2017. ....	44
<b>Tabela 3:</b> Total de mamíferos do Zoológico de Brasília examinados e positivos para <i>Trypanosoma cruzi</i> e <i>Leishmania spp.</i> por qPCR.....	45
<b>Tabela 4:</b> Lista de mamíferos positivos para <i>Trypanosoma cruzi</i> e <i>Leishmania</i> em qPCR, de acordo com a origem e data de nascimento ou chegada ao Zoológico de Brasília. ...	47

## **LISTA DE ABREVIACÕES**

**ZOOS** – Zoológicos

**IUCN** – *International Union for Conservation of Nature*

**FJZB** – Fundação Jardim Zoológico de Brasília

**CPRJ** – Centro de Primatologia do Rio de Janeiro

**LV** – Leishmaniose Visceral

**LMC** – Leishmaniose Mucocutânea

**LCD** – Leishmaniose Cutânea Difusa

**LC** – Leishmaniose Cutânea

**LT** – Leishmaniose Tegumentar

**FZB** – Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte

**PCR** – *Polimerase Chain Reaction*

**DNA** – *Deoxyribonucleic Acid*

**IBAMA** – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis

**Cq** – *Quantification Cycle*

**qPCR** - *Quantitative Polymerase Chain Reaction*

**CEUA** – Comitê de Ética e de Uso Animal

**IB** – Instituto de Ciências Biológicas

**ICMBio** – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

**NASC FJZB** – Nascido na Fundação Jardim Zoológico de Brasília

**CT** - *Cycle Threshold*

## RESUMO

Os zoológicos exercem um importante papel nos programas conservacionistas. Para que estes projetos tenham êxito, é necessário que as populações cativas sejam geneticamente manejadas, sendo necessárias translocações entre instituições para evitar depressões endo e exogâmicas. Entretanto, estas movimentações de indivíduos podem acarretar no transporte de patógenos entre instituições como também com o ambiente natural, sendo que os indivíduos participantes podem tanto carregar parasitos quanto se infectar ao longo do processo. Dentre várias doenças que devem ser consideradas, podemos destacar aquelas causadas por tripanossomatídeos como *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas e *Leishmania spp.*, agente etiológico das leishmanioses. Este estudo teve como objetivo monitorar a ocorrência de insetos vetores (triatomíneos e flebotomíneos) e investigar a infecção por tripanossomatídeos nestes insetos e nos mamíferos silvestres cativos do Zoológico de Brasília, localizado no Distrito Federal. Para tanto, foram realizadas buscas ativas bimestrais por triatomíneos entre 2016 e 2017, com auxílio de lanternas e pinças, sendo encontrada uma colônia com 17 adultos, duas ninfas e 32 ovos de *Panstrongylus megistus* no recinto do ouriço-caixeiro. Testes de microscopia e qPCR confirmaram a infecção por *T. cruzi* em 25% desses insetos. Também foram instaladas armadilhas HP e Shannon com objetivo de capturar flebotomíneos. Após esforço amostral de 7.392 horas, foram capturados 17 flebotomíneos, sendo encontrado indivíduos de *Nyssomyia whitmani* (principal vetor de *L. brasiliensis*) e *Lutzomyia longipalpis* (vetor de *L. infantum*). Foi realizado qPCR nestes vetores, mas nenhum foi positivo para *Leishmania*. Foi realizada coleta de sangue de 74 mamíferos silvestres da instituição de cinco diferentes ordens. Testes de qPCR com utilização dos primers TCZ3 e TCZ4 identificaram 50 espécimes positivos para *T. cruzi* em 24 espécies, sendo possivelmente o primeiro relato para *Lagothrix cana*, *Ateles marginatus*, *Chiropotes satanas*, *Speothos venaticus*, *Lontra longicaudis*, *Tremarctos ornatus*, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus colocolo* e *Puma yagouaroundi*. Para *Leishmania*, qPCR com primers de kDNA identificou 15 espécies positivas, com um total de 23 indivíduos. No total, 18 indivíduos foram diagnosticados com dupla infecção, sendo positivos em ambos os exames. Esses resultados indicam ocorrência de transmissão vetorial de tripanossomatídeos no Zoológico de Brasília. Uma nova colônia de triatomíneos detectada no local indica que a infestação de recintos é um evento recorrente e a presença de espécimes infectados indica que o risco de transmissão de *T. cruzi* para os mamíferos cativos persiste. Os resultados ampliam a lista de espécies de primatas infectados por *T. cruzi* no Zoológico de Brasília e ainda mostram outros grupos de mamíferos infectados. O registro de espécies de flebotomíneos, entre elas *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani*, potenciais vetoras de *L. infantum* e *L. brasiliensis*, e de mamíferos infectados nascidos no local, indica que há transmissão autóctone de *Leishmania* no Zoológico de Brasília. Recomenda-se a aplicação de medidas preventivas com objetivo de evitar novas infecções por *T. cruzi* e *Leishmania*. As futuras movimentações de animais silvestres do Zoológico de Brasília devem levar em consideração a presença desses tripanossomatídeos, evitando a disseminação destas zoonoses.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma*, *Leishmania*, Conservação, Zoonose, Movimentação

## ABSTRACT

Zoos play a key role in conservation projects. For these projects to succeed, it is necessary the genetic management of the captive populations and the translocations between institutions to avoid both endo and exogamous depressions. However, these transits of individuals can lead to a transport of pathogens between institutions and the natural environment, and the individuals involved can both carry parasites or become infected throughout the process. Among several diseases that must be considered, we can highlight those caused by trypanosomatids like *Trypanosoma cruzi*, aetiological agent of Chagas disease and *Leishmania*, aetiological agent of leishmaniasis. The objective of this study was to monitor the occurrence of insect vectors (triatomines and sandflies) and to investigate trypanosomatid infection in these insects and in captive wild mammals of the Brasilia Zoo, located in Distrito Federal, Brasil. A bimonthly active search for triatomines was carried out using lanterns and tweezers between 2016 and 2017. A colony with 17 adults, 2 nymphs and 32 *Panstrongylus megistus* eggs was found in the hedgehog enclosure. Microscopy and qPCR tests confirmed *T. cruzi* infection in 25% of these insects. Twenty-two HP and two Shannon traps were installed to capture sandflies. After sampling effort of 7,392 hours, 17 sandflies were captured, and individuals of *Nyssomyia whitmani* (main vector of *L. brasiliensis*) and *Lutzomyia longipalpis* (vector of *L. infantum*) were found. qPCR was performed, but none were positive for *Leishmania*. Blood samples were collected from 74 wild mammals of six different orders from the institution. qPCR testing with use of primers TCZ4 and TCZ3 identified 50 specimens positive for *T. cruzi* in 24 species, possibly being the first report in *Lagothrix cana*, *Ateles marginatus*, *Chiropotes satanas*, *Speothos venaticus*, *Lontra longicaudis*, *Tremarctos ornatus*, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus colocolo* e *Puma yagouaroundi*. For *Leishmania*, qPCR with kDNA primers identified 15 positive species, being a total of 23 individuals. In total, 18 individuals were diagnosed with dual infection, being positive in both examinations. These results indicate the occurrence of vector transmission of trypanosomatids in the Brasília Zoo. The new colony of triatomines detected at the site indicates that infestation of enclosures is a recurrent event and the presence of infected specimens indicates that the risk of *T. cruzi* transmission to captive mammals persists. The results broaden the list of primate species infected by *T. cruzi* at the Brasilia Zoo and show other groups of infected mammals. The record of sandflies species, among them *Lu. longipalpis* and *Ny. whitmani*, that are the potential vectors of *L. infantum* and *L.*



*braziliensis*, and infected local mammals with *Leishmania*, indicate that transmission of *Leishmania* was autochthonous at the Brasilia Zoo. It is recommended the application of preventive measures to avoid new infections by *T. cruzi* and *Leishmania*. The future translocations of wild animals of the Brasilia Zoo should consider the movement of these trypanosomatids, avoiding the introduction of the zoonoses.

**Keywords:** *Trypanosoma*, *Leishmania*, Conservation, Zoonosis, Translocation

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Conservação *ex-situ* e zoonoses

Os zoológicos (zoos) e aquários modernos têm importante papel na conservação *ex-situ* sendo capazes de envolver e capacitar os visitantes, comunidade e funcionários na conservação (Barongi *et al.*, 2015). Estima-se que o público total dos zoos e aquários no mundo ultrapasse 700 milhões de pessoas por ano, superando, apenas nos Estados Unidos, a quantidade de pessoas que frequentam cinemas, shows musicais, teatros e eventos esportivos (Fa *et al.*, 2014). No Brasil os zoológicos possuem média de mais de 20 milhões de visitantes por ano (Szb, 2014). Pesquisa científica e reprodução de indivíduos de variadas espécies também são atividades fundamentais realizadas em zoológicos. Em caso de necessidade, programas de reintrodução de animais cativos são desenvolvidos para aumentar a população de vida livre e em muitos casos salvar espécies da extinção. O papel da reprodução em cativeiro e da reintrodução na conservação é análogo à arca de Noé (Bowkett, 2009), ou seja, espécies ameaçadas de extinção são mantidas em cativeiro até que os fatores que ameaçam sua existência sejam removidos até que possam retornar à natureza. Um exemplo emblemático deste trabalho é o do mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*), pois mais da metade da população que vive na Mata Atlântica do Rio de Janeiro descende de micos nascidos em mais de 140 zoológicos (Kleiman e Rylands, 2002).

Existem 33 espécies de animais consideradas extintas na natureza e 31 destas são reproduzidas em zoos sendo que seis já são reintroduzidas em seu habitat natural (Gusset *et al.*, 2012). A utilização de estratégias para a conservação diminui a perda de espécies em relação à ausência de ações e a reprodução em cativeiro para futura reintrodução é uma das ações mais citadas na *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) (Hoffmann *et al.*, 2010). Para atuar com a conservação de uma determinada espécie, é necessário a formação de uma metapopulação geneticamente viável que seja suporte às populações no ambiente natural. A viabilidade populacional em longo prazo muitas vezes requer transferência de animais para a reprodução, incluindo o intercâmbio de animais com esta função na população (Barongi *et al.*, 2015). Entretanto, o risco de transmissão de patógenos, pelo deslocamento de indivíduos infectados para outras instituições e ambientes naturais, deve ser levado em consideração para evitar novas infecções.

A disseminação de zoonoses está entre os potenciais efeitos negativos do aumento da movimentação entre as populações de animais (Hess, 1996). As doenças infecciosas são transmitidas entre hospedeiros por uma variedade de mecanismos, incluindo transmissão direta, por vias respiratórias e insetos vetores (Fèvre *et al.*, 2006). Os animais que são translocados podem carregar patógenos para o ambiente de destino, adquirir novos durante a translocação ou até mesmo se infectar com os que já estão presentes neste novo ambiente (Leighton, 2002). Existem vários exemplos, como a translocação de dois guaxinins positivos para raiva da Florida para Carolina do Norte nos Estados Unidos, pode ter disseminado a doença para outros indivíduos que estavam no mesmo transporte e que já haviam sido soltos em ambiente natural (Nettles *et al.*, 1979). Entre 1988 e 1994, 58 castores foram translocados da Alemanha para Holanda, destes 11 foram encontrados mortos com causas associadas a zoonoses que não eram comuns na região da introdução (Nolet *et al.*, 1997). Em 1966, a doença equina africana foi encontrada na Espanha e resultou na morte de pelo menos 1000 animais. Essa doença só foi controlada em 1990 após a vacinação nas regiões afetadas ser obrigatória. A hipótese mais aceita para a entrada do vírus no país foi a translocação de um grupo de zebras da Namíbia para o Safari Park, próximo à Madrid (Rodriguez *et al.*, 1992).

Preocupações com doenças afetam muitos aspectos da reprodução em cativeiro e programas de reintrodução, já que doenças aumentam os custos, complicam a logística e afetam a saúde e a demografia da população (Ballou, 1993). Com a diminuição das populações de várias espécies, a perda de indivíduos devido a doenças pode tornar-se econômica e ecologicamente irremediável (Cunningham, 1996). O controle de zoonoses também é importante para pesquisas científicas. Por exemplo, em um grupo de 358 macacos-da-noite (*Aotus spp.*) e micos-de-cheiro (*Saimiri spp.*) importados da América do Sul para a Agência Americana para o Desenvolvimento Internacional da Vacina para Malária, os parasitos *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli*, *Mansonella barbascalensis* e *Dipetalonema caudispina* foram encontrados nestes primatas o que poderia influenciar os resultados da pesquisa experimental (Sullivan *et al.*, 1993). O controle da transmissão animal-animal de agentes das doenças é um conceito-chave na epidemiologia das doenças infecciosas (Fèvre *et al.*, 2006). Dentre as várias doenças que podem estar relacionadas com o fluxo de indivíduos, podemos destacar aquelas produzidas por tripanossomatídeos.

## 1.2 Tripanossomatídeos

O filo Euglenozoa é subdividido em oito classes, 18 ordens e 31 famílias (Cavalier-Smith, 2016). Os protozoários do filo Euglenozoa, classe Kinetoplastea, possuem uma única mitocôndria organizada em torno de fibrilas concatenadas de DNA, conhecida por cinetoplasto e pela presença de um flagelo (Cavalier-Smith, 2016). Os gêneros da família Trypanosomatidae são: *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Leptomonas*, *Endotrypanum*, *Wallaceina*, *Sergeia*, *Kentomonas*, *Herpetomonas* e *Phytomonas* (Hoare, 1972; Svobodová *et al.*, 2007; Votýpka *et al.*, 2014).

Os tripanossomatídeos podem parasitar protozoários, plantas, anelídeos, artrópodes, peixes, répteis, anfíbios, aves e mamíferos (Maslov *et al.*, 2013). Os gêneros *Leptomonas*, *Blastocrithidia*, *Wallaceina*, *Sergeia*, *Kentomonas*, *Herpetomonas* e *Crithidia* incluem parasitos monoxênicos de insetos, enquanto que espécies do gênero *Phytomonas* são parasitos de insetos e plantas (Svobodová *et al.*, 2007; Maslov *et al.*, 2013). As espécies de tripanossomatídeos de mamíferos pertencem aos gêneros *Leishmania*, *Trypanosoma* e *Endotrypanum*. São parasitos heteroxenos, sendo transmitidos por insetos hematófagos, considerados vetores biológicos ou hospedeiros intermediários (Hoare, 1972).

Os tripanossomatídeos apresentam uma diversificação de formas celulares em seus ciclos biológicos que é evidente na transição entre hospedeiros vertebrados e invertebrados ou dentro de um mesmo hospedeiro. Para descrever as formas celulares há uma nomenclatura específica que faz referência à exteriorização e ponto de emergência do flagelo, à existência e extensão da membrana ondulante, à posição do cinetoplasto e ao formato geral da célula, sendo denominadas como: promastigota, opistomastigota, epimastigota, tripomastigota, coanomastigota, amastigota, paramastigota e esferomastigota (Wallace *et al.*, 1983). Algumas espécies pertencentes à esta família possuem importância médica como *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico da doença de Chagas e espécies pertencentes ao gênero *Leishmania*, responsáveis pelas diferentes formas de leishmaniose (Lainson, 2010).

## 1.3 *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas

A doença de Chagas foi descoberta, em 1909, por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas ao examinar, no interior de Minas Gerais, triatomíneos, animais silvestres e seres

humanos. Também conhecida por Tripanossomíase Americana, a doença de Chagas é primariamente uma antiga infecção enzoótica distribuída por toda a fauna de mamíferos das Américas, desde o sul dos EUA até o sul da Argentina (Jansen *et al.*, 2015). Essa doença é transmitida por insetos da subfamília Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) (Lent e Wygodzinsky, 1979) e já foi registrada em cinquenta gêneros e aproximadamente 200 espécies de nove ordens de mamíferos (Jansen *et al.*, 2015).

Devido ao desmatamento e o processo de domiciliação de triatomíneos nos últimos séculos *T. cruzi* é encontrado no ciclo doméstico em praticamente todas as regiões do Brasil (Forattini, 1980; Coura *et al.*, 1999). Animais como o gambá, o cachorro e o gato domésticos estão diretamente ligados à transmissão domiciliar do parasito devido ao hábito de forragearem em ambientes florestais e habitarem o peri e o intradomicílio dos seres humanos. Este contato com animais domésticos, junto com a ocupação do ambiente antropizado pelos triatomíneos, os principais fatores que favorecem a transmissão vetorial para humanos (Coura, 2007).

Um dos prováveis relatos de doença de Chagas mais antigos em humanos remete a Charles Darwin, que provavelmente se infectou com *T. cruzi* durante sua expedição para América do Sul, em 1835, como foi sugerido tanto por seu relato de contato com o vetor barbeiro, como pelos sintomas relatados mais tarde em sua vida (Bernstein, 1984).

O ciclo de vida de *T. cruzi* é do tipo heteroxênico, já que possui mais de um hospedeiro. Apresenta uma alternância de formas celulares em seus ciclos, podendo ser chamadas de tripomastigotas, amastigotas, epimastigotas e esferomastigotas (Hoare, 1972). No triatomíneo infectado, a forma tripomastigota se transforma em epimastigota quando alcança o intestino médio. As formas epimastigotas multiplicam-se e posteriormente seguem para o intestino posterior e reto do inseto onde transformam-se em tripomastigotas metacíclicos, as formas infectivas para o hospedeiro vertebrado quando este entra em contato com as fezes dos triatomíneos. Esses tripomastigotas invadem as células dos mamíferos e transformam-se em amastigotas que se multiplicam por divisão binária. Em seguida os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas novamente, lisam a célula hospedeira e caem na corrente sanguínea, infectando novas células ou sendo destruídos por mecanismos imunológicos. Podem também ser ingeridos por triatomíneos, reinfectando o vetor e iniciando novamente o ciclo (Figura 1).

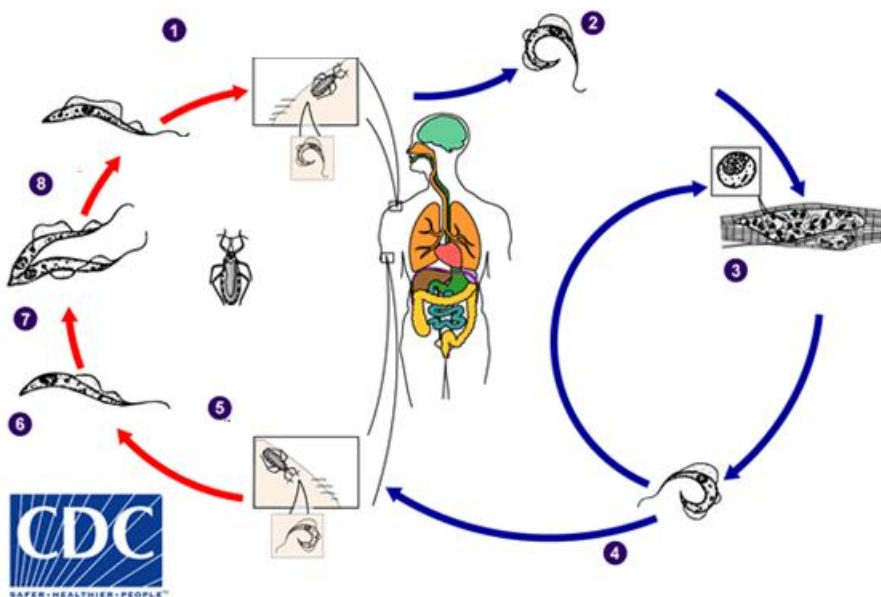


Figura 1: 1 Um triatomíneo realiza hematofagia em um vertebrado e libera a forma tripomastigota metacíclica (TM) nas suas fezes próximo de onde ele se alimentou. Este TM entra no hospedeiro vertebrado pela picada e tem contato com sua mucosa. 2 No hospedeiro, o tripomastigota invade as células próximas ao local de inoculação e se transforma em amastigotas. 3 Os amastigotas se multiplicam por fissão binária 4 e se diferenciam em tripomastigotas, sendo liberados na corrente sanguínea. Tripomastigotas infectam células de vários tecidos e se transformam em amastigotas intracelulares nestes novos pontos de infecção. 5 Os triatomíneos se infectam novamente se alimentando do vertebrado que tenha o parasito no sangue. 6 O tripomastigota ingerido se transforma em epimastigota na região média do intestino do inseto e depois se diferencia em TM no reto, dando início a um novo ciclo. Fonte: CDC Image Library. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>. Acessado em 31/12/2017.

Além da transmissão vetorial, o parasito pode ser transmitido por meio da ingestão de alimentos contaminados, transfusões sanguíneas, via transplacentária, aleitamento, transplantes de órgãos, manuseio de carcaças de animais infectados, acidentes de laboratório e contato com sangue, fezes e urina de reservatórios silvestres (Dias *et al.*, 2011; Galvão e Gurgel-Gonçalves, 2014; Jurberg *et al.*, 2014).

A doença apresenta uma fase inicial aguda de aproximadamente 2 meses, onde apesar da alta parasitemia, normalmente é assintomática, e uma posterior crônica, sendo a fase aguda passível de cura (Who, 2017). O tratamento acontece com a utilização de benznidazole e nifurtimox, com 100% de cura na fase aguda em casos de transmissão congênita e tendo sua efetividade diminuída com o passar do tempo da infecção (Who, 2017). Já na fase crônica, 30% dos indivíduos apresentam alterações cardíacas e 10% alterações digestórias, neurológicas ou ambas, podendo necessitar de tratamentos específicos. Na fase crônica tardia, quando os sintomas cardíacos são graves, a utilização de medicação antiparasitária não inibe o avanço da doença (Morillo *et al.*, 2015). Atualmente, a estimativa é de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas com *T. cruzi* no mundo,

principalmente na América Latina (Who, 2017). No Brasil, entre 2007 e 2016 foram em média 200 novos casos, sendo 95% na região Norte e 69% destes casos ocorreram por transmissão oral (Ms, 2018).

Os triatomíneos, conhecidos popularmente como barbeiros, são hemípteros hematófagos da família Reduviidae, subfamília Triatominae (Lent e Wygodzinsky, 1979), com hábito geralmente noturno. Atualmente existem 150 espécies da subfamília Triatominae (Justi e Galvão, 2017). Algumas das espécies que ocorrem no Brasil são consideradas domiciliadas, como *Triatoma infestans* e outras como *Panstrongylus megistus*, *T. sordida* e *T. pseudomaculata* ocorrem tanto no ambiente doméstico quanto no silvestre (Maeda *et al.*, 2012). Estimativas indicam altas taxas de infecção natural do triatomíneo *Panstrongylus megistus* por *T. cruzi* (Minuzzi-Souza *et al.*, 2018), o que pode estar relacionado com a intensa circulação enzoótica desse parasito em matas de galeria do Distrito Federal (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2004). Em área adjacente à Fundação Jardim Zoológico de Brasília (FJZB), 33% dos gambás (*Didelphis albiventris*) estavam infectados por *T. cruzi* (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2004). Recentemente, foi descrito pela primeira vez a transmissão vetorial de *T. cruzi* em primatas de cativeiro no Zoológico de Brasília, o que evidencia a invasão de triatomíneos e a transmissão do parasito em ambientes artificiais (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016). A colonização por triatomíneos de ambientes que manejam primatas também foi relatada no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ), onde foram achados quatro *P. megistus*, sendo três em uma área de habitação humana e um no depósito de alimentação dos primatas (Lisboa *et al.*, 2004).

#### **1.4 Leishmanioses**

As leishmanioses também eram doenças restritas ao ambiente silvestre e atividades como construções de rodovias e hidrelétricas estavam diretamente ligadas às infecções humanas (Killick-Kendrick *et al.*, 1988). Com a perda de habitat, os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae), vetores de *Leishmania*, começaram a ocupar a peri e o intradomicílio humano, levando a doença para o perímetro urbano e aumentando o número de humanos infectados. A doença é amplamente distribuída, sendo encontrada na maioria dos países tropicais e subtropicais da África, América, Índia e parte leste e central da Ásia, na bacia do Mediterrâneo e alguns países europeus (Killick-Kendrick *et al.*,

1988; Alvar *et al.*, 2012). Em 2014, mais de 90% dos novos casos reportados ocorreram em seis países: Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão-do-Sul e Sudão (Who, 2017).

As formas clínicas são diversas e representam a complexidade da doença: a Leishmaniose Visceral (LV) é normalmente fatal se não tratada, a Leishmaniose Mucocutânea (LMC) causa mutilações, Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) tem longa duração devido à dificuldade da resposta imunológica e a Leishmaniose Cutânea (LC) é incapacitante quando há múltiplas lesões (Desjeux, 2004).

Estima-se que a LV infecta cerca de 200 a 400 mil novas pessoas todos os anos em 98 países dos 5 continentes, mas sabe-se que este número pode estar subestimado devido à dificuldade de confirmação do diagnóstico e a falta de notificação em vários locais (Alvar *et al.*, 2012). É causada, nas Américas, por *Leishmania infantum* e apenas no Brasil, entre 1990 e 2016, foram 84.922 casos, sendo a média anual de casos nos últimos 10 anos de 3.464 casos (Ms, 2006). Surtos já ocorreram em áreas como Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Natal (RN), São Luís (MA), Fortaleza (CE), o que mostra a periurbanização e a urbanização da doença no país (Ms, 2006). Sua taxa de mortalidade é alta, chegando a 90% em algumas regiões, principalmente locais com pouco ou nenhum acesso à tratamentos (Who, 2017) Cães (*Canis familiaris*) no ambiente doméstico e espécies como raposa (*Lycalopex vetulus*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e gambás (*Didelphis albiventris*) no ambiente silvestre são os principais reservatórios de *L. infantum* (Ms, 2006).

A Leishmaniose Tegumentar (LT) é caracterizada por comprometimento cutâneo, mucoso e, em alguns casos, linfonodal, podendo ser subdividida em LMC, LCD e LC dependendo da espécie do agente etiológico e da resposta imunológica do hospedeiro. É descrita em quase todos os países do continente americano, desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, com exceção do Uruguai e do Chile e pode ser causada por 11 espécies do gênero *Leishmania* em seres humanos e oito exclusivas de animais (Ms, 2007). No Brasil, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyaniensis* e *L. (L.) amazonenses* são consideradas as principais responsáveis pela LT (Ms, 2007). Entre 1990 e 2016 foram 687.780 casos, sendo a média de 25.473 novos casos de LT no Brasil todo ano. No ano de 2016 foram apenas 12.690, sendo apenas um no Distrito Federal (Ms, 2017).

Os hospedeiros invertebrados de *Leishmania* são denominados flebotomíneos e são conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras e birigui, ligeirinho, péla-



égua, arrupiado, entre outros (Martins *et al.*, 1978). Pertencem a ordem Diptera, a família Psychodidae e subfamília Phlebotominae (Galati, 2017) têm hábito crepuscular e noturno. São insetos adaptados a diversos ambientes, com ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrados em áreas florestais, área urbana e rural, sob as diferentes condições ambientais existentes. São animais pequenos (até 0,5 cm de comprimento) de pernas longas, asas lanceoladas, coloração parda e com muitas cerdas. Possuem um voo típico saltitante, mantendo a postura das asas ereta mesmo em repouso. Apenas as fêmeas são hematófagas, por serem adaptadas com o aparelho bucal picador-sugador e necessitarem do sangue para a maturação de seus ovos, enquanto os machos alimentam-se de frutas, seiva de plantas entre outros (Killick-Kendrick, 1999).

No mundo, 1003 espécies de flebotomíneos foram descritas até 2017, sendo que 277 são encontradas no Brasil (Shimabukuro *et al.*, 2017) e apenas na região Centro-Oeste foram registradas 127 espécies (Almeida *et al.*, 2015). Há cerca de 53 espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão da leishmaniose nas Américas (Paho, 2017) e dezenove no Brasil (Basano e Camargo, 2004).

O flebotomíneo se infecta quando ingere sangue de um animal infectado com formas amastigotas de *Leishmania* (Basano e Camargo, 2004). No intestino médio e glândulas salivares os parasitos se modificam morfológicamente e bioquimicamente e se transformam em promastigotas (com flagelo livre) que se aderem ao epitélio do tubo digestório, onde se dividem assexuadamente por divisões binárias. A população resultante migra para a parte anterior do tubo digestório do inseto e posteriormente para sua faringe, diferenciando-se para formas promastigotas infectantes por volta de 3-4 dias, sendo então encontradas na buco-faringe destes insetos (Figura 2). Na fase infectante os parasitos tornam-se esguios e fusiformes.

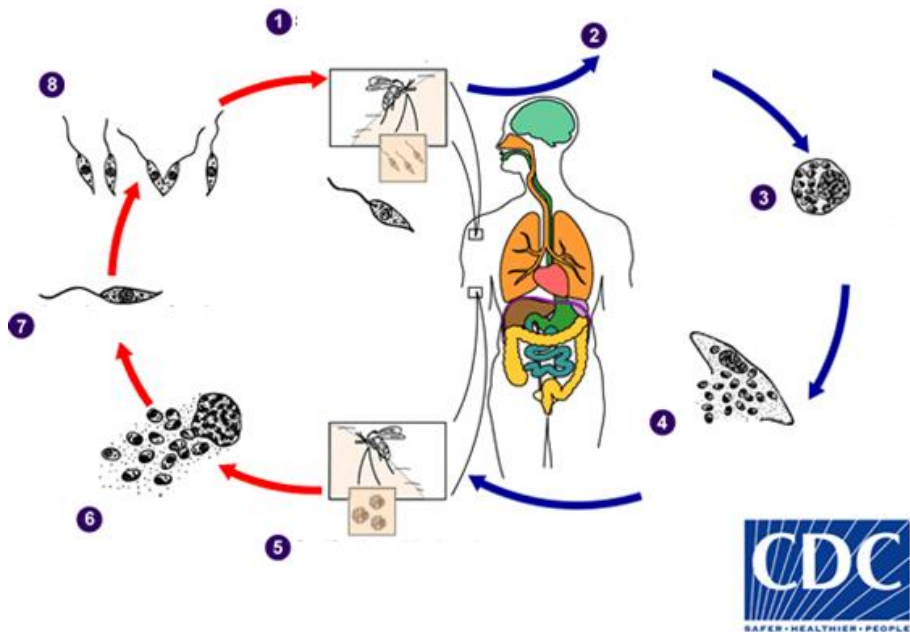


Figura 2: **1** O flebotomíneo injeta a forma infecciosa (promastigota) de sua probóscide durante a hematofagia. **2** Promastigotas que atingem a mucosa são fagocitados pelos macrófagos **3** e por outros tipos de células mononucleares fagocíticas. Promastigotas se transformam na fase tecidual do parasito nestas células (amastigota), **4** que se multiplicam por divisão simples e prosseguem para infectar outra célula mononuclear fagocítica. **5** **6** A espécie de *Leishmania*, de hospedeiro e outros fatores afetam se a infecção será sintomática e se será cutânea ou visceral. Flebotomíneos se tornam infectados ingerindo células infectadas durante hematofagia. **7** Nos flebotomíneos as amastigotas se transformam em promastigotas e se desenvolvem no intestino **8** (no intestino posterior para organismos leishmaniais no subgênero de *Viannia*, no intestino médio para organismos no subgênero de *Leishmania*) e migram para a probóscide. Fonte: CDC Image Library. <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>. Acessado em 07/01/2018.

Durante a hematofagia, o inseto infectado com formas promastigotas metacíclicas (formas infectantes) pica o hospedeiro e transmite o parasito presente em sua saliva. Essa saliva tem propriedades como o efeito anticoagulante, antiagregador de plaquetas e vasodilatador. Também pode interagir com macrófagos, impedindo a ação destas células no combate ao parasito. Ao entrar em contato com a forma infectante, o hospedeiro poderá desenvolver as formas clínicas conhecidas ou não apresentar sintomas, dependendo da relação parasito-hospedeiro (Fukutani *et al.*, 2014).

As principais espécies conhecidas de mosquitos transmissores da leishmaniose visceral no Brasil são a *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, sendo a primeira considerada a principal transmissora de *L. infantum* (Ms, 2006). *Lutzomyia longipalpis* pode ser encontrada nas regiões Nordeste, Norte, Sudeste e Centro-Oeste brasileiras (Ms, 2006). As fêmeas são de hábitos ecléticos, podendo fazer o repasto sanguíneo em vários vertebrados e no ser humano. O cão parece ser a principal reservatório de *Leishmania infantum* em áreas urbanas. De acordo com dados coletados, infere-se que o período de

maior incidência da LV ocorra durante e logo após a estação chuvosa, quando sua população aumenta (Ms, 2006). Na LT a transmissão está associada as seguintes espécies: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Nyssomyia whitmani*, *N. umbratilis*, *N. intermedia*, *Psychodopygus wellcomei* e *Migonemyia migonei* (Barbosa *et al.*, 2008; De Souza Leal *et al.*, 2014).

No DF, ciclos zoonóticos podem ocorrer com as espécies de *Leishmania* considerando que já foi confirmada a presença de *L. infantum* em cães na periferia de unidades de conservação da região (Cardoso *et al.*, 2015). Adicionalmente, flebotomíneos têm sido capturados em matas de galeria (Rapello *et al.*, 2018) e casas (Carvalho *et al.*, 2010) do Distrito Federal, principalmente nas localizadas próximas às áreas florestadas. Dessa forma, a ocorrência de vetores e reservatórios de *Leishmania* no Zoológico de Brasília seria esperada. As capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), por exemplo, encontradas em grande número na área da FJZB, são possíveis disseminadores de doenças relacionadas aos parasitos estudados (Valadas *et al.*, 2010).

### **1.5 Infecções por *T. cruzi* e *Leishmania* spp. em mamíferos silvestres**

A prevalência de *T. cruzi* em diferentes grupos de mamíferos silvestres foi revisada por Jansen *et al.* (2015). Segundo esses autores, de 7.285 mamíferos de 9 ordens investigados nos diferentes biomas brasileiros, 20% foram positivos em testes sorológicos e animais com dieta generalista estão mais propensos a infecção via oral e animais herbívoros e granívoros tendem a ser infectados pelo contato com as fezes do triatomíneo após o processo de hematofagia.

A infecção de primatas de vida livre e cativos por *T. cruzi* é bastante conhecida e já foi registrada em vários primatas como *Allouatta seniculus*, *Cebus apella*, *C. capucinus*; *Saimiri boliviensis*; *S. sciureus*; *Callithrix jacchus*; *Chiropotes satanas*, *Pithecia pithecia*, *Callicebus torquatus*; *Lagothrix lagotricha*, *Leontopithecus chrysomelas*, *Ateles fusciceps*, *Cebuella pygmaea*, *Saguinus mystax* e *S. oedipus* (Lisboa *et al.*, 2000). Na região Norte, mais especificamente nos estados do Amazonas e Rondônia, de 165 indivíduos de *Saimiri sciureus* e *S. ustus* investigados para *T. cruzi*, 10,3% estavam positivos (Ziccardi e Lourenço-De-Oliveira, 1997). Pesquisa que investigou a taxa de infecção de 193 primatas da Amazônia e Mata Atlântica, sendo alguns destes animais de cativeiro, mostrou 46% dos indivíduos positivos para *T. cruzi*, ressaltando que gêneros

como *Ateles*, *Lagothrix* e *Saguinus* apresentaram 83, 66 e 66% de taxa de infecção respectivamente (Lisboa *et al.*, 2006). Recentemente, Bahia *et al* (2017) pesquisaram a taxa de infecção por *T. cruzi* em 112 primatas cativos da região amazônica, resultando em 12,5% de positividade.

Da Paz e colaboradores (2010) relataram a infecção de seis cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) e um cachorro vinagre (*Speothos venaticus*), para *L. infantum* mantidos em zoo da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Outro *C. thous* foi identificado positivo para LV em um zoológico da região de São Paulo – SP após sua morte (Da Silva Tenório *et al.*, 2011). Neste mesmo zoológico, cinco pumas (*Puma concolor*) e uma onça-pintada (*Panthera onca*) foram positivas para *L. infantum* (Dahroug *et al.*, 2010). Após óbito de um *Speothos venaticus* com LV na Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (FZB), 14 outros canídeos mantidos em cativeiro nesta instituição foram examinados e quatro foram positivos para *Leishmania infantum*, sendo um *Cerdocyon thous*, um *Chrysocyon brachyurus* e dois *Lycalopex vetulus* (Luppi *et al.*, 2008).

Roque e Jansen (2014) realizaram uma revisão na qual identificaram várias espécies de mamíferos divididas nas ordens Didelphimorphia, Pilosa, Cingulata, Rodentia, Carnivora, Primata e Chiroptera como hospedeiros ou potenciais reservatórios de *Leishmania* spp (Tabela 1). Canídeos como o *Cerdocyon thous* e o *Speothos venaticus* são conhecidos por serem reservatórios de *L. infantum* (Lainson *et al.*, 1969; Figueiredo *et al.*, 2008). Estudo realizado no Parque Nacional Serra da Canastra – MG, confirmou a presença de *T. cruzi* em alguns marsupiais, roedores, *Cerdocyon thous*, *Chrysocyon brachyurus* e *Leopardus pardalis*, este último podendo sua infecção estar relacionada com a alimentação de pequenos roedores infectados da região (Rocha *et al.*, 2013). O primeiro caso confirmado de mamífero silvestre (exceto canídeos) infectado por *L. infantum* nas Américas, foi observado em *Didelphis albiventris* (Sherlock *et al.*, 1984).

**Tabela 1** Lista de espécies de mamíferos silvestres hospedeiras e potenciais reservatórios de diversas espécies de *Leishmania* segundo revisão de Roque e Jansen 2014

Order	Host species	<i>Leishmania</i> species	Infection pattern	Country	References
<b>Didelphimorphia</b>	<i>Didelphis marsupialis</i>	<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	CO, VE	Corredor et al., 1989; apud Quinell and Courtenay, 1991
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Grimaldi et al., 1991
	<i>D. albiventris</i>	<i>L. guyanensis</i>	Potential reservoir	BR; FG	Arias et al., 1981; Dedet et al., 1989
		<i>L. forattinii</i>	Parasite host	BR	IOCL 0067
		<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	BR	Sherlock et al., 1984; Sherlock, 1996
		<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011
	<i>D. aurita</i>	<i>L. peruviana</i>	Potential reservoir	PE	Llanos-Cuentas et al., 1999
		<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Carreira et al., 2012
	<i>Phalanger opossum</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1981a
	<i>Marmosa cinerea</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Arias et al., 1981
	<i>Marmosa</i> sp.	<i>L. (Viviania)</i> sp.	Parasite host	BR	Brandão-Filho et al., 2003
	<i>Micoureus paraguayanus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Quintal et al., 2011
		<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Quintal et al., 2011
	<i>Gracilinanus agilis</i>	<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011
	<i>Marmosops incanus</i>	<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011
	<i>Metachirus nudicaudatus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1981a
	<i>Monodelphis domestica</i>	<i>L. (Viviania)</i> sp.	Parasite host	BR	Lima et al., 2013
	<i>Choloepus didactylus</i>	<i>L. guyanensis</i>	Potential reservoir	FG; BR	Gentile et al., 1981; Lainson et al., 1981a
		<i>L. shawi</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1989
	<i>C. hoffmanni</i>	<i>L. colombiensis</i>	Parasite host	PN	Kreutzer et al., 1991
<i>L. equatoriensis</i>		Parasite host	EC	Grimaldi et al., 1992	
<i>L. panamensis</i>		Parasite host	PN	apud Ashford, 2000	
<i>L. shawi</i>		Parasite host	BR	Lainson et al., 1989	
<i>Bradypus tridactylus</i>	<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1981a	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	EC	Mimori et al., 1989	
	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Araújo et al., 2013	
<b>Cingulata</b>	<i>Dasybus novemcinctus</i>	<i>L. naiffi</i>	Potential reservoir	BR	Lainson and Shaw, 1989; Naiff et al., 1991
		<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1979
<b>Rodentia</b>	<i>Proechimys</i> species	<i>L. amazonensis</i>	Potential reservoir	BR; FG	Arias et al., 1981; Dedet et al., 1989
		<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	BR; FG	Dedet et al., 1989; Lainson et al., 1981b
	<i>P. canicollis</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	CO	Travi et al., 1998a
	<i>P. semispinosus</i>	<i>L. panamensis</i>	Potential reservoir	CO	Travi et al., 2002
		<i>L. infantum</i>	Parasite host	CO	Travi et al., 2002
	<i>Thrichomys apereoides</i>	<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011
		<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011
		<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Oliveira et al., 2005; Quaresma et al., 2011
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Oliveira et al., 2005
	<i>T. laurentius</i>	<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	BR	Roque et al., 2010
		<i>L. braziliensis</i>	Potential reservoir	BR	Roque et al., 2010
		<i>L. naiffi</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data
		<i>L. shawi</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data
	<i>T. inermis</i>	<i>L. shawi</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data
	<i>T. pachyurus</i>	<i>L. naiffi</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data
	<i>Nectomys squamipes</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Dantas-Torres and Brandão-Filho, 2006
		<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Peterson et al., 1988
	<i>Rattus rattus</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR; VE	apud Quinell and Courtenay, 2009
		<i>L. braziliensis</i>	Potential reservoir	BR; VE	Vasconcelos et al., 1994; De Lima et al., 2002
		<i>L. mexicana</i>	Parasite host	VE	De Lima et al., 2002
<i>Cyomys laticeps</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data	
<i>Dasyprocta azarae</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Cássia-Pires, unpublished data	
<i>Dasyprocta</i> sp.	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1981b	
<i>Rhipidomys mastacalis</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Quaresma et al., 2011	
<i>Coendou</i> sp.	<i>L. lainsoni</i>	Parasite host	BR	IOCL 1058	
	<i>L. hertigi/L. deamei</i>	Parasite host	PN; BR	Herrer, 1971; Silva et al., 2013	
<i>Coendou prehensilis</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BO	Le Pont et al., 1989	
<i>Akodon arviculoides</i>	<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Forattini et al., 1972; Rocha et al., 1988	
<i>Akodon</i> sp.	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BO	Telleria et al., 1999	
<i>Necomys lasiurus</i>	<i>L. braziliensis</i>	Potential reservoir	BR	Brandão-Filho et al., 2003; de Freitas et al., 2012	
<i>Sigmodon hispidus</i>	<i>L. braziliensis</i>	Potential reservoir	VE	De Lima et al., 2002	
	<i>L. mexicana</i>	Potential reservoir	MX, VE	Van Wynsberghe et al., 2000; De Lima et al., 2002	
<i>Holochilus sciurus</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Lima et al., 2013	
<i>H. sciurus</i>	<i>L. (Viviania)</i> sp.	Parasite host	BR	Brandão-Filho et al., 2003	
<i>Cerradomys subflavus</i>	<i>L. (Viviania)</i> sp.	Parasite host	BR	Lima et al., 2013	
<i>Mus musculus</i>	<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	de Freitas et al., 2012	
<i>Oryzomys</i> species	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BO	Kerr et al., 2006	
<i>O. melanotis</i>	<i>L. amazonensis</i>	Potential reservoir	MX	Van Wynsberghe et al., 2000	
<i>O. nigripes</i>	<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BR	Forattini et al., 1972	
<i>Oligoryzomys</i> sp.	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BO	Telleria et al., 1999	
<i>Sciurus vulgaris</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	EC	Mimori et al., 1989	
<i>S. granatensis</i>	<i>L. equatoriensis</i>	Parasite host	EC	Grimaldi et al., 1992	
<i>Neotoma</i> species	<i>L. mexicana</i>	Potential reservoir	US	Kerr et al., 1995; Raymond et al., 2003	
<i>Otodylomys phyllotis</i>	<i>L. mexicana</i>	Potential reservoir	BE; MX	Ashford, 1996; Van Wynsberghe et al., 2000	
<i>Heteromys</i> species	<i>L. mexicana</i>	Parasite host	BE; MX	Ashford, 1996; Van Wynsberghe et al., 2009	
<i>H. dermarestianus</i>	<i>L. panamensis</i>	Parasite host	CR	Zeledon et al., 1977	

Continuação tabela 1

	<i>Peromyscus yucatanicus</i>	<i>L. mexicana</i>	Potential reservoir	MX	Van Wynsberghe et al., 2000	
	<i>Nyctomys sumichrasti</i>	<i>L. mexicana</i>	Parasite host	HN	Lainson and Strangways-Dixon, 1964	
	<i>Reithrodontomys gracilis</i>	<i>L. mexicana</i>	Parasite host	HN	Disney, 1968	
	<i>Agouti paca</i>	<i>L. lainsoni</i>	Potential reservoir	BR	Silveira et al., 1991	
	<i>Phyllotis andinum</i>	<i>L. peruviana</i>	Parasite host	PE	Llanos-Cuentas et al., 1999	
<b>Carnivora</b>	<i>Cavia porcellus</i>	<i>L. enrietti</i>	Parasite host	BR	Machado et al., 1994	
	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	BR	Deane and Deane, 1955; Courtenay et al., 1996	
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	apud Rotureau, 2006	
	<i>Speothos venaticus</i>	<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	BR	Figueiredo et al., 2008; Lima et al., 2009	
	<i>Pseudalopex vetulus</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Curi et al., 2006; Luppi et al., 2008	
	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Curi et al., 2006; Luppi et al., 2008	
	<i>Puma concolor</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Dahroug et al., 2010	
	<i>Panthera onca</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Dahroug et al., 2010	
	<i>Nasua nasua</i>	<i>L. shawi</i>	Parasite host	BR	Lainson et al., 1989	
	<i>Potos flavus</i>	<i>L. guyanensis</i>	Parasite host	FG	Pajot et al., 1982	
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	EC	Kreutzer et al., 1991	
		<i>Conepatus chinga</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BO	Telleria et al., 1999
			<i>L. braziliensis</i>	Parasite host	BO	Buitrago et al., 2011
<b>Primata</b>	<i>Cebus apella</i>	<i>L. shawi</i>	Potential reservoir	BR	Lainson et al., 1989	
	<i>Cebus xanthosternos</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Chiropotes satanas</i>	<i>L. shawi</i>	Potential reservoir	BR	Lainson et al., 1989	
	<i>Saguinus geoffroyi</i>	<i>L. amazonensis</i>	Potential reservoir	PN	Herrer et al., 1973	
	<i>Aotus trivirgatus</i>	<i>L. braziliensis</i>	Potential reservoir	PN	Herrer and Christensen, 1976	
	<i>Aotus azarai</i>	<i>L. (Viannia) sp.</i>	Parasite host	AR	Acardi et al., 2013	
	<i>Aotus nigriceps</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Callicebus nigrifrons</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Alouatta guariba</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Leontopithecus crysomelas</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Pithecia irrorata</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Saguinus imperator</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Malta et al., 2010	
	<i>Ateles paniscus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Lima et al., 2012a	
<b>Chiroptera</b>	<i>Carollia perspicillata</i>	<i>L. infantum</i>	Potential reservoir	VE	De Lima et al., 2008	
	<i>Molossus molossus</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
		<i>L. (Viannia) sp.</i>	Parasite host	BR	Shapiro et al., 2013	
	<i>M. rufus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
	<i>Glossophaga soricina</i>	<i>L. infantum</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
		<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
		<i>L. (Viannia) sp.</i>	Parasite host	BR	Shapiro et al., 2013	
	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
	<i>Eumops glaucinus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
	<i>E. auripendulus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
	<i>Sturmia lilium</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010	
<i>Myotis nigricans</i>	<i>L. amazonensis</i>	Parasite host	BR	Savani et al., 2010		

Infecções mistas também são citadas na literatura, como é o caso de um tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) de vida livre capturado na região da Abaetetuba, Pará, que foi positivo para *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* e *Leishmania infantum* por meio de exames de *Polimerase Chain Reaction* (PCR) (De Araújo et al., 2013).

## 2. JUSTIFICATIVA

Considerando a recente ocorrência de triatomíneos e primatas não humanos infectados por *T. cruzi* e ainda a ocorrência de flebotomíneos em áreas próximas, confirmar a presença e verificar novos casos de animais infectados por tripanossomatídeos, assim como de vetores (triatomíneos e flebotomíneos) no Zoológico de Brasília é importante para o estabelecimento de medidas de vigilância e controle. Este trabalho é fundamental para investigar as infecções de vetores sinantrópicos (triatomíneos e flebotomíneos) e dos mamíferos sob cuidados humanos da FJZB, pois esses animais podem ser translocados e podem, em alguns casos, apresentar manifestações clínicas e até mesmo morrerem devido a essas infecções. Por se tratarem de zoonoses, o risco para os funcionários, visitantes do Zoológico e também para residentes da região de Brasília é igualmente considerado. Dessa forma, o presente trabalho tem importante aplicação na área de conservação, saúde animal e saúde pública.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Monitorar a ocorrência de insetos vetores (triatomíneos e flebotomíneos) e investigar a infecção por tripanossomatídeos nestes insetos e nos mamíferos silvestres cativos do Zoológico de Brasília.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- 1- Identificar e monitorar as espécies de insetos vetores de tripanossomatídeos na área de estudo e suas taxas de infecção, avaliando o risco de transmissão neste ambiente;
- 2- Determinar as taxas de infecção dos mamíferos silvestres cativos do Zoológico de Brasília por *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp.;
- 3- Verificar se há transmissão autóctone desses tripanossomatídeos no Zoológico de Brasília.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

No Brasil existem 123 instituições zoológicas, sendo seis na região centro-oeste (Szb, 2014), onde está localizada a Fundação Jardim Zoológico de Brasília. A FJZB, localizada em Brasília-DF (Figura 3), é uma fundação pública que tem como objetivo a conservação, a educação ambiental, a pesquisa científica e o lazer. É a primeira instituição ambiental criada no Distrito Federal, inaugurada no dia 6 de dezembro de 1957 (Fjzb, 2018). Possui uma área de 139,7 hectares com aproximadamente 900 animais, divididos entre aves, répteis e mamíferos, além de artrópodes.

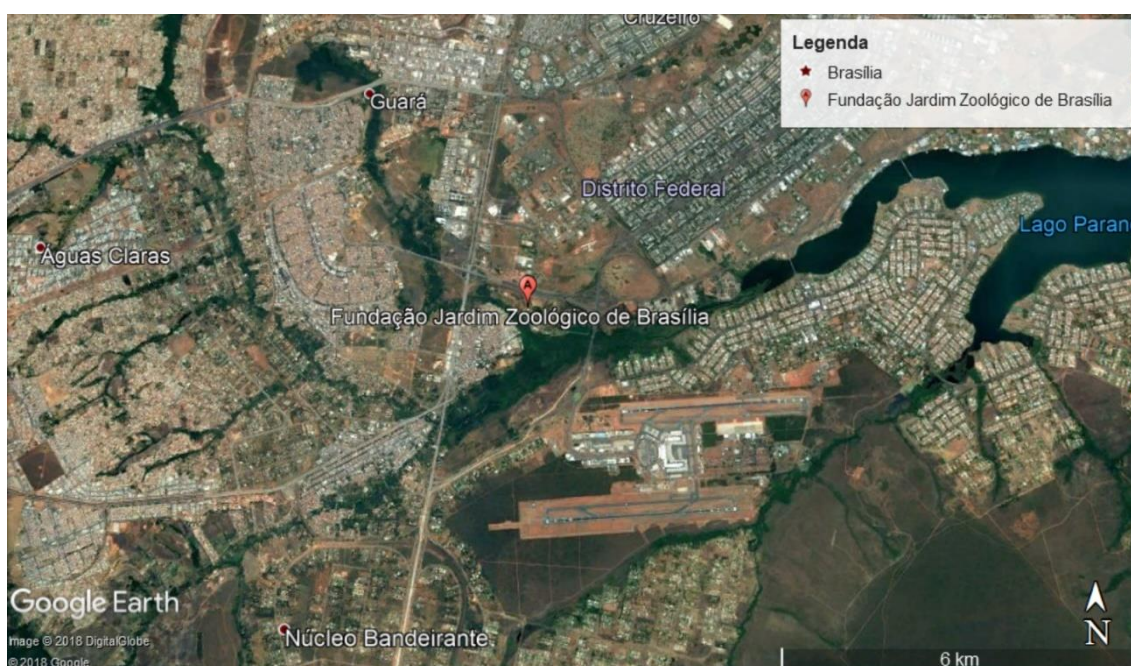


Figura 3: Localização do Zoológico de Brasília - Brasília, DF - Brasil. Disponível em [www.google.com.br/maps](http://www.google.com.br/maps) Acessado em 04/01/2018

### 4.2 Monitoramento de triatomíneos

A busca de triatomíneos no Zoológico foi realizada por meio de captura manual com auxílio de lanternas e pinças (Figura 4). As capturas foram realizadas por dois pesquisadores, por quinze minutos, bimestralmente durante 4 dias consecutivos, entre setembro de 2016 e setembro de 2017. Além disso, houve um trabalho diário de vigilância pelos tratadores de animais que foram instruídos a capturar insetos morfologicamente semelhantes aos triatomíneos. Os triatomíneos capturados foram identificados por meio de um aplicativo móvel de identificação, Triatodex

(<https://play.google.com/store/apps/details?id=max.com.triatodex>). No total, 63 locais foram pesquisados com um esforço de captura ativa de 96 horas.



**Figura 4:** Busca ativa por triatomíneos dentro dos recintos com auxílio dos tratadores

#### **4.3 Análise microscópica do conteúdo intestinal dos triatomíneos.**

As fezes dos triatomíneos coletados foram examinadas por meio de compressão abdominal com auxílio de pinças. Uma gota de solução salina 0,9% foi adicionada à amostra de fezes, e posteriormente, homogeneizada para observação microscópica

(aumento de 400x, Microscópio Olympus BX43) de formas flageladas do parasito. Cada lâmina foi avaliada por aproximadamente 50 campos durante cinco minutos. Após o exame a fresco, as lâminas foram coradas usando Giemsa 10% (DOLES) conforme o fabricante, e analisadas novamente por microscopia óptica no aumento de 1000x para determinar o diagnóstico parasitológico específico (Cuba Cuba, 1998).

#### 4.4 Monitoramento, identificação e exame parasitológico de flebotomíneos

Foram distribuídas armadilhas luminosas HP (Pugedo *et al.*, 2005) em 22 pontos (Figura 5), sendo 11 na mata de galeria e 11 em recintos do Zoológico (primatas, anta, cachorro-do-mato, lobo-guará, ariranha, tamanduá-bandeira, puma, onça-pintada e ouriço) entre setembro de 2016 e setembro de 2017. Em cada ponto, uma armadilha luminosa HP (Pugedo *et al.*, 2005) foi instalada diariamente às 17:00 e recolhida no dia seguinte às 7:00 da manhã por quatro dias consecutivos, bimestralmente, totalizando um esforço de captura de 7.392 horas (Figura 6). Além das armadilhas HP, no último mês de coleta foram realizadas capturas com armadilhas tipo Shannon (Figura 7), onde há a busca ativa por flebotomíneos com uma barraca branca, lanternas e capturadores manuais de castro em todos os pontos de captura onde se encontravam as armadilhas do tipo HP.

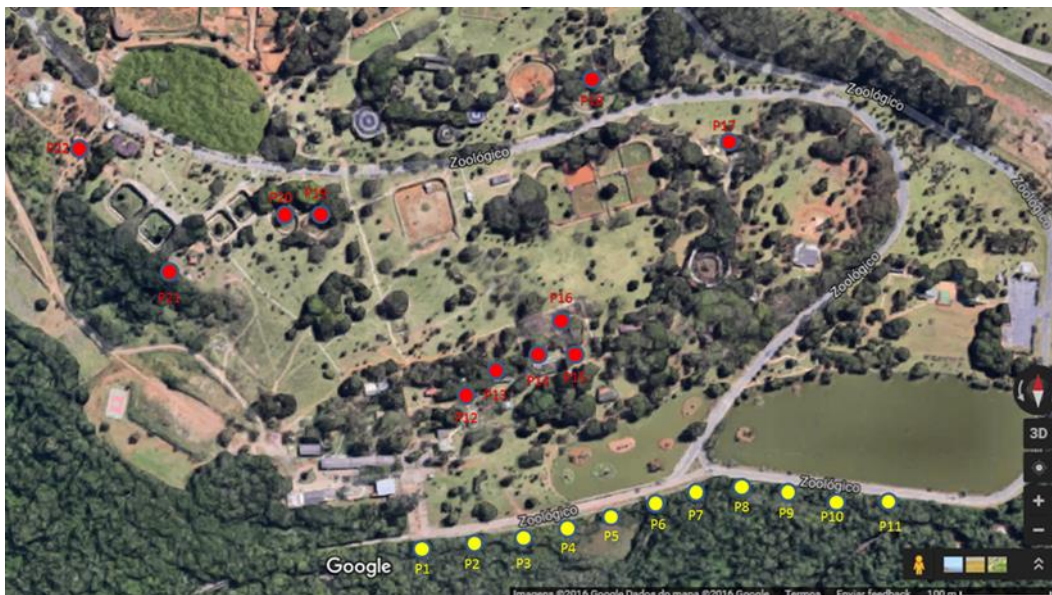


Figura 5: Área da FJZB com os pontos amostrados para flebotomíneos. Em amarelo os pontos na mata de galeria e em vermelho os pontos localizados nos recintos dos mamíferos





Figura 6: Instalação de armadilha HP no recinto das onças-pintadas (*Panthera onca*)



Figura 7: Instalação de armadilha tipo Shannon para captura de flebotomíneos no setor dos mamíferos americanos. Ao lado esquerdo um exemplar de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e à frente três antas (*Tapirus terrestris*) em seu recinto

Os flebotomíneos capturados foram separados por sexo, data e local. As fêmeas foram dissecadas, a cabeça e a porção final do abdômen (últimos três segmentos) foram clarificadas e montadas de acordo com Forattini (1973). Para clarificação, essas amostras foram deixadas 24h em hidróxido de potássio a 10%, lavadas com ácido acético a 10%, 10 min em ácido acético 100%, 10 min em álcool 70%, 80% e 95% e 24h em eugenol e posteriormente montadas em Bálsamo do Canadá, entre lâmina e lamínula. Os flebotomíneos machos foram clarificados e montados da mesma forma e todos foram identificados de acordo com (Galati, 2017) e a abreviação dos gêneros seguiu a proposta de Marcondes (2007). A outra parte do abdômen das fêmeas foi colocada em microtubos com 50 µL de solução tampão de fosfatase alcalina - PBS 1x pH 7,4 (3,2 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,3mM KCl e 1,35mM NaCl) estéril e armazenados a -20° C para extração de DNA.

#### **4.5 Coleta do sangue dos mamíferos**

Foram estudados os mamíferos silvestres mantidos sob cuidados humanos na FJZB. As exceções foram aqueles indivíduos ou grupos taxonômicos de difícil contenção, como cervídeos, indivíduos debilitados devido à problemas de saúde, prenhes ou aleitamento e idade avançada, considerando assim o risco de captura pela equipe técnica da instituição.

O sangue dos mamíferos cativos da FJZB foi coletado após contenção física, química ou físico-química, variando o volume de acordo com o peso do indivíduo e suas características fisiológicas e clínicas (Figuras 8 e 9). A maior parte das coletas aproveitou contenções de rotina seguindo o cronograma da instituição e contenções de emergência, diminuindo o número de contenções que visaram especificamente o projeto, minimizando o estresse e o risco para os animais estudados. Todo material coletado foi armazenado no freezer a -20°C até a análise.

Todas as condições pré e pós-coleta foram determinadas pelos protocolos de manejo e pelos técnicos do Zoológico. Os mamíferos cativos que foram sedados só foram manejados de volta para o recinto após total recuperação de sua condição inicial. Todos os recintos utilizados possuíam área e a estrutura necessária para a manutenção da espécie como consta na Instrução Normativa N° 07/2015 do Instituto Brasileiro do Meio

Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA). Água e alimentação foram ofertadas assim que autorizado pela veterinária responsável.



Figura 8: Contenção física e química para coleta de sangue em exemplar de cachorro-do-mato-vinagre (*Speothos venaticus*)

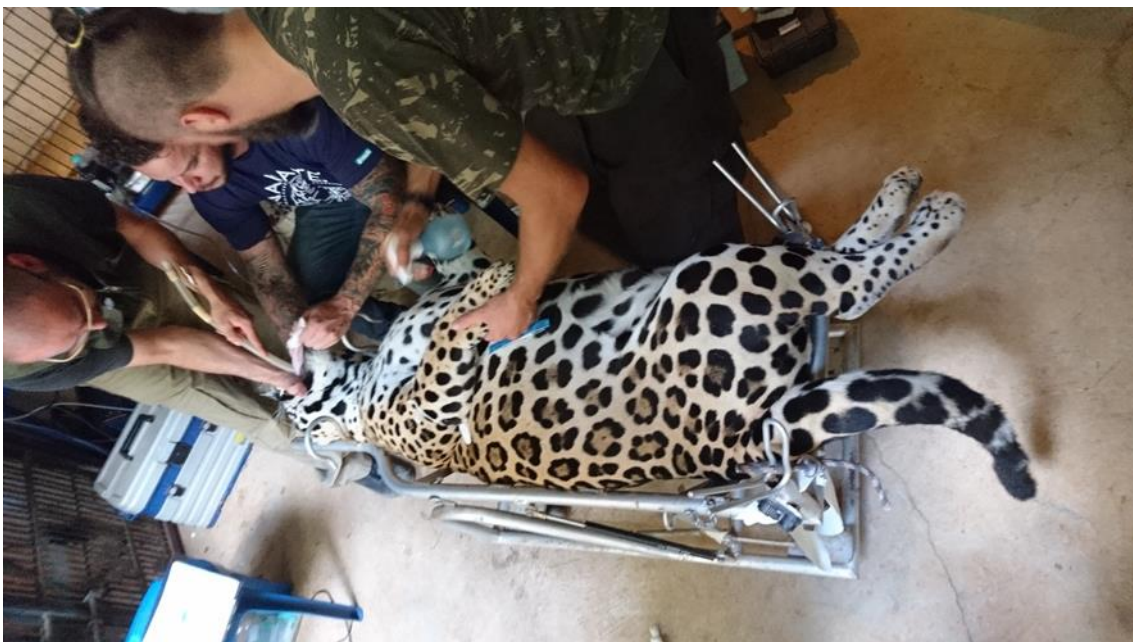


Figura 9: Contenção química de indivíduo de onça-pintada (*Panthera onca*) para coleta de sangue e outros exames paralelos

#### **4.6 Extração de DNA das amostras biológicas**

As amostras biológicas de mamíferos (300µl de sangue em papel de filtro) foram submetidas à extração de DNA conforme a recomendação do kit de Extração de DNA da BIOPUR (BIOMETRIX). Os triatomíneos foram encaminhados para extração do intestino com auxílio de pinças e em capela de fluxo laminar. Em seguida, os insetos foram colocados em lâminas de vidro esterilizadas. Com ajuda de pinças de relojoeiro, o intestino do inseto foi removido, macerado e adicionado a 1mL de solução tampão de fosfatase alcalina - PBS 1X pH 7,4 (3,2 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,3mM KCl e 1,35 mM NaCl) estéril sendo que cada amostra foi armazenada em microtubos de 1,5mL. Para não haver contaminação, as pinças foram colocadas em 0,1M HCl e depois foram transportadas para álcool 70% e flambadas após cada extração intestinal. O material extraído foi congelado a -20°C. Para a extração de DNA as amostras das fêmeas de flebotomíneos foram maceradas a seco com ponteiros p1000 (kasvi, Brasil), queimadas e abauladas. O material macerado foi processado utilizando o kit de extração Illustra Tissue and Cells Genomic Prep Mini Spin (GE Healthcare) de acordo com os padrões recomendados pelo fabricante com a inclusão da etapa de incubação com proteinase K a 37°C “overnight”. As amostras de DNA foram então quantificadas no NanoVue™ Plus Spectrophotometer (GE Healthcare) usando o comprimento de onda de 220 a 330nm e os dados foram expressos em ng/µL. A pureza da amostra foi avaliada por meio da absorbância (A<sub>260/280</sub>), cujos valores deveriam constar entre 1,8 a 2,0 e posteriormente acondicionadas a -20°C até a realização das PCRs.

#### **4.7 Detecção de *Leishmania* em flebotomíneos**

A detecção de *Leishmania* foi realizada por PCR em tempo real (qPCR) usando os primers da região ITS1, 219 F (5'-AGC TGG ATC ATT TTC CGA TG-3') e 219R (5'-ATC GCG ACA CGT TAT GTG AG-3') (Talmi-Frank *et al.*, 2010) que amplificam um fragmento de 265–288pb. A reação foi realizada em um volume final de 20µL, com 1X de Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, CA, USA), 0,4µM de cada primer e 5 µL de cada amostra de DNA (15 ng). As qPCRs foram realizadas em placas de 96 poços (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmpR), em duplicada, no termociclador QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, CA, USA), com as seguintes condições: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos e 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos, 53°C durante 40 segundos e 72°C durante 08 segundos. Os resultados foram analisados com o QuantStudio™ Design and Analysis Software v1.4.1

(Applied Biosystems). Foram incluídos controles negativos (DNA de camundongo), positivos (DNA de cultura de *L. infantum*, cepa 6445 cedida pelo Instituto Oswaldo Cruz e disponibilizada pelo Laboratório de Leishmaniose do Dr. Gustavo Romeiro, pertencente ao Núcleo de Medicina Tropical e brancos (amostra sem DNA). As amostras foram consideradas positivas quando apresentaram *Cycle Threshold* (CT) menor e igual a 35 ciclos. Vale salientar que durante a padronização da ITS – qPCR foi possível amplificar amostras de cultura de *Leishmania infantum* com até 10<sup>0</sup> parasitos/mL. O exame foi realizado em cada fêmea capturada individualmente.

#### **4.8 Detecção de *Leishmania* nos mamíferos**

A detecção do DNA de *Leishmania* nas amostras foi realizada por kDNA-qPCR com primers direcionados a sequências conservadas de minicírculos do DNA do cinetoplasto [5'-GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC-3' e 5'-GGG GTA GGG GCG TTC TGC GAA-3'] (Pita-Pereira *et al.*, 2012) com as seguintes condições: 1 × Power SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), 0,2 µM de cada iniciador, 40 ng de DNA modelo e água ultrapura destilada para um volume de reação final de 20 µL. As qPCRs foram realizadas em placas de 96 poços (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmpR), em duplicada, no termociclador QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, CA, USA), com as seguintes condições: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos e 40 ciclos a 94°C durante 15 segundos, 53°C durante 40 segundos e 72°C durante 08 segundos. Os resultados foram analisados com o QuantStudio™ Design and Analysis Software v1.4.1 (Applied Biosystems). Foram incluídos controles negativos, positivos e brancos (como descrito acima). As amostras foram consideradas positivas quando apresentaram CT menor e igual a 35 ciclos. Durante a padronização da kDNA- qPCR foi possível amplificar amostras de cultura de *Leishmania infantum* com até 5pg.

#### **4.9 Detecção de *T. cruzi* nos mamíferos e triatomíneos**

Para a identificação do DNA de *T. cruzi*, foi realizada uma TCZ-qPCR utilizando-se os primers TCZ3, que amplificam um fragmento de 150pb correspondente a região repetitiva de microssatélite do DNA nuclear do parasito (Figura 10). A reação foi realizada em um volume final de 20µL, com 1X de Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, CA, USA), 0,2µM de cada primer e 5 uL de cada amostra de



DNA (50ng). As qPCRs foram realizadas em placas de 96 poços (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmpR), em duplicada, no termociclador StepOnePlus Real Time PCR System (Applied Biosystems, CA, USA), com as seguintes condições: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos a 60 °C durante 45 segundos e 72°C durante 10 segundos. Os resultados foram analisados com o StepOne Software v2.3 (Applied Biosystems). Foram incluídos controles negativos (DNA de camudongo), positivos (DNA de cultura de *T. cruzi*, conforme curva padrão) e brancos (amostra sem DNA).

Uma curva padrão foi realizada para quantificação absoluta das amostras. A curva foi baseada em valores de C<sub>q</sub> de diferentes concentrações de DNA de cultura de *T. cruzi* (cepa Berenice). Para tanto, foi realizada uma diluição seriada de DNA do parasito em 1:10, sendo que a quantidade de parasito inicialmente utilizada para a extração do DNA foi de 5X10<sup>5</sup>. Desta forma, para a geração da curva, diluições seriadas de DNA do parasito (1: 10) foram realizadas para obtenção de amostras contendo 10<sup>4</sup> a 10<sup>-2</sup> parasitos/mL. A curva padrão foi usada para a quantificação de todas as reações.



**Figura 10:** Máquina utilizada para realização da leitura dos exames de qPCR. Fabricante: ThermoFisher Scientific Modelo: Applied Biosystems QuantStudio 3 Real-Time PCR System

#### **4.10 Biossegurança**

Para diminuir os riscos de transmissão de doenças aos pesquisadores, seja por contato direto (mordidas e arranhaduras) ou por contato indireto (urina, fezes, secreções, sangue, fômites ou aerossóis), medidas de segurança foram adotadas por meio da utilização de equipamentos de contenção e de proteção individual (puçás, luvas,

máscaras, etc.), de hábitos higiênicos, como a desinfecção dos equipamentos de trabalho e a partir da imunização prévia dos integrantes com vacinas antirrábica, antitetânica e contra febre amarela.

#### **4.11 Autorização e aspectos éticos da pesquisa**

O estudo em questão foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas (IB) da Universidade de Brasília (UnBDOC nº66711/2016) (Anexo 1).

As coletas dos insetos vetores foram realizadas mediante autorização para atividades de finalidade científica, Sisbio número 33156 emitida pelo órgão responsável, Instituto Chico Medes de Biodiversidade (ICMBio). A coleta do sangue dos mamíferos foi autorizada mediante autorização Sisbio número 54912-1 ICMBio (Anexo 2) e também de autorização no processo 196000132/2016 do Zoológico de Brasília (Anexo 3).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Ocorrência de triatomíneos e taxas de infecção natural por *T. cruzi*

Em 27 de setembro de 2016, uma colônia de *Panstrongylus megistus* foi encontrada no recinto do ouriço-caixeiro (*Coendou prehensilis*), atrás da caixa usada como dormitório pelo animal (Figura 11). No total, 13 fêmeas, quatro machos, duas ninfas e 32 ovos de *P. megistus* foram capturados. Dos 16 triatomíneos examinados, uma fêmea foi positiva por microscopia para flagelados (tripomastigotas e epimastigotas) de *T. cruzi* (taxa de infecção natural = 6,2%) e quatro indivíduos positivos por qPCR (25%). Apesar de terem sido achados indivíduos positivos para *T. cruzi* dentro do abrigo do ouriço-caixeiro, a qPCR não detectou DNA de *T. cruzi* na amostra sanguínea desse mamífero.

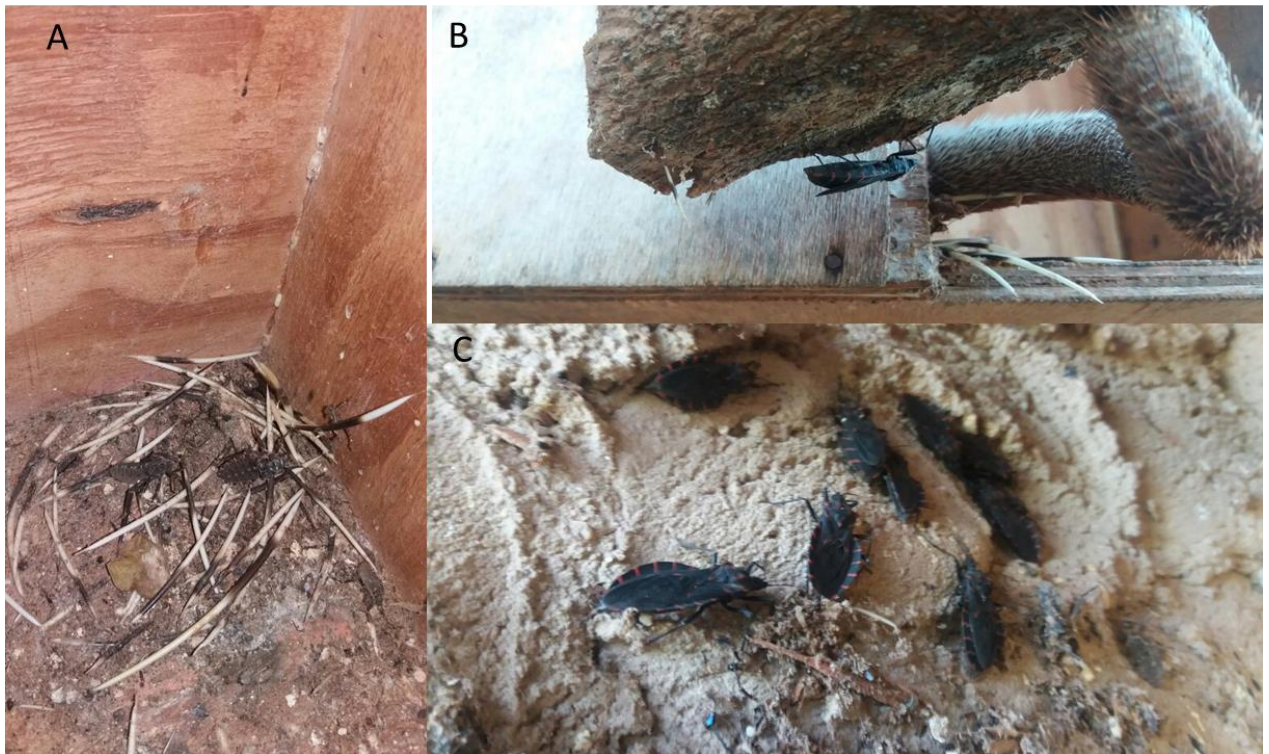


Figura 11: Colônia de *Panstrongylus megistus* identificada no recinto do ouriço-caixeiro (*Coendou prehensilis*). A - área interna do abrigo do ouriço-caixeiro com exúvias de ninfas de *P. megistus*. B - Aduto de *P. megistus* próximo da cauda do mamífero. C - Adultos de *P. megistus* encontrados atrás do abrigo de madeira do ouriço-caixeiro.

### 5.2 Ocorrência de flebotomíneos e taxas de infecção

No total foram capturados 17 flebotomíneos (figura 12), nos recintos dos primatas (n=2), lobo-guará (n=2), anta (n=2), cachorro-do-mato (n=3), puma (n=4), tamanduá-bandeira (n=1) e ouriço-cacheiro (n=3) (Tabela 2). Nenhum flebotomíneo foi capturado

na mata da galeria. As espécies capturadas foram *Evandromyia sallesi* (n=3♀), *Lutzomyia longipalpis* (n=4♂ e 2♀), *Nyssomyia whitmani* (n= 3♂ e 4♀) e *Pintomyia* sp. (n=1♀). No total, 13 espécimes foram capturados com armadilha HP (nove em recintos) e quatro com armadilha Shannon (dois em recintos). O maior número de capturas foi feito em setembro, no período do final da seca, e a menor em janeiro, período chuvoso. Não foi detectado DNA de *Leishmania* nas amostras de flebotomíneos por meio da PCR utilizando o alvo ITS.

**Tabela 2** Número de machos e fêmeas das espécies de flebotomíneos capturados nos recintos dos animais do Zoológico de Brasília com armadilhas HP e Shannon entre setembro de 2016 e junho de 2017.

Local (recinto)	Macho	Fêmea	Espécie	Total	
				HP	Shannon
Micário I		1	<i>Evandromyia sallesi</i>	1	
Micário II	1		<i>Nyssomyia whitmani</i>	1	
Lobo Guará	1	1	<i>Nyssomyia whitmani</i>	2	
Anta		2	<i>Nyssomyia whitmani</i>	1	
			<i>Evandromyia sallesi</i>	1	
Cachorro do mato		2	<i>Nyssomyia whitmani</i>	1	1
	1		<i>Lutzomyia longipalpis</i>		1
Puma	4		<i>Lutzomyia longipalpis</i>	4	
Tamanduá		1	<i>Lutzomyia longipalpis</i>	1	
Ouriço		1	<i>Evandromyia sallesi</i>	1	
	1		<i>Nyssomyia whitmani</i>		1
		1	<i>Pintomyia</i> sp.		1
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>9</b>		<b>13</b>	<b>4</b>

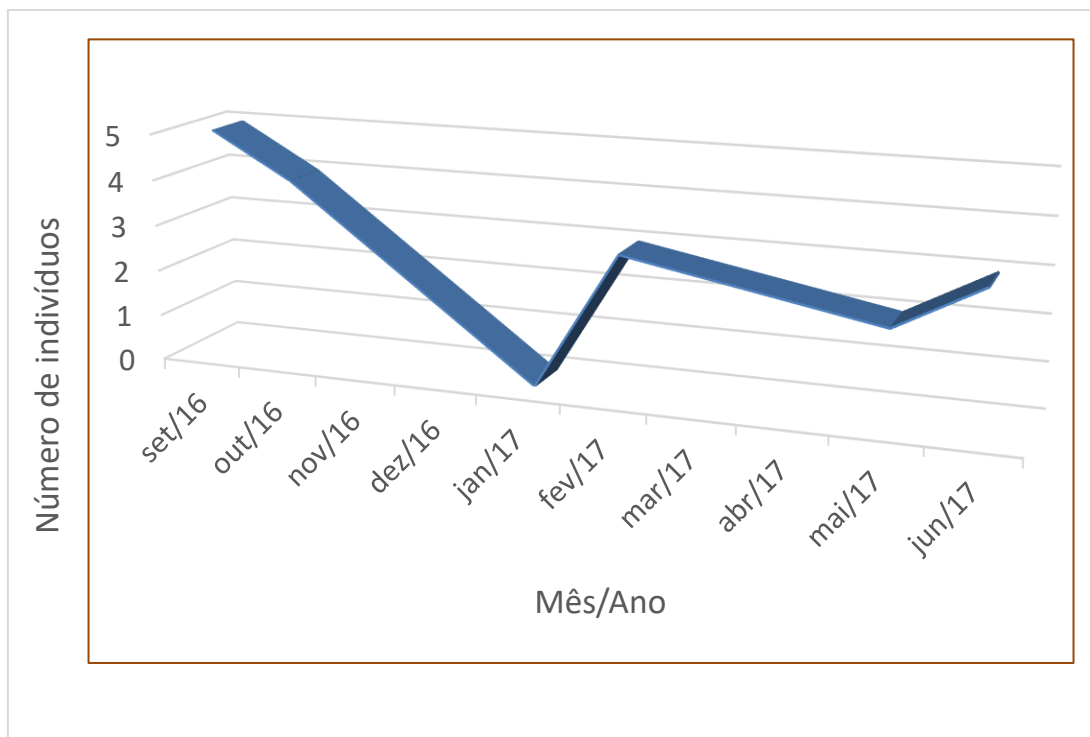


Figura 12: Número flebotomíneos capturados no Zoológico de Brasília entre 2016 e 2017.

### 5.3 Ocorrência de tripanossomatídeos em mamíferos

No total foram coletadas amostras de sangue de 74 mamíferos da FJZB, pertencentes a seis ordens, 15 famílias e 31 espécies. Do total de espécies, 14 pertencem a ordem Carnivora, 11 Primates, duas Pilosa, uma Cetartiodactyla, uma Perissodactyla e duas Rodentia. Do total de indivíduos, 28 pertencem a ordem Carnivora, oito Primates, 14 Pilosa, um Cetartiodactyla, um Perissodactyla e dois Rodentia.

Tabela 3 Total de mamíferos do Zoológico de Brasília examinados e positivos para *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania spp.* por qPCR.

Ordem/Família (número de espécies)	Espécie	Espécimes		
		Examinados	Positivos qPCR	
			<i>T. cruzi</i>	<i>Leishmania spp</i>
<b>Primates (11)</b>				
Callithrichidae (04)	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	6	5	1
	<i>Leontopithecus rosalia</i>	1	0	0
	<i>Saguinus bicolor</i>	2	1	0
	<i>Saguinus niger</i>	2	2	0
Aotidae (01)	<i>Aotus nigriceps</i>	5	3	1
Cebidae (01)	<i>Cebus albifrons</i>	1	1	0
Atelidae (03)	<i>Alouatta caraya</i>	4	0	0
	<i>Ateles marginatus</i>	1	1	0

Continuação tabela 03

	<i>Lagothrix cana</i>	3	3	1
Pitheciidae (02)	<i>Chiropotes satanas</i>	2	1	1
	<i>Callicebus cupreus</i>	1	0	0
<b>Carnivora (14)</b>				
Canidae (04)	<i>Cerdocyon thous</i>	1	1	1
	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	7	6	3
	<i>Lycalopex vetulus</i>	2	2	1
	<i>Speothos venaticus</i>	1	1	0
Felidae (06)	<i>Leopardus colocolo</i>	2	2	2
	<i>Leopardus pardalis</i>	1	0	1
	<i>Leopardus tigrinus</i>	1	1	1
	<i>Panthera onca</i>	1	1	0
	<i>Puma concolor</i>	1	1	1
	<i>Puma yagouaroundi</i>	1	1	0
	<i>Lontra longicaudis</i>	2	2	1
Mustelidae (01)				
Procyonidae (02)	<i>Nasua nasua</i>	6	5	3
	<i>Procyon cancrivorus</i>	1	1	0
Ursidae (01)	<i>Tremarctos ornatus</i>	1	1	0
<b>Pilosa (02)</b>				
Myrmecophagidae (02)	<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	11	6	4
	<i>Tamandua tetradactyla</i>	3	1	1
<b>Cetartiodactyla (01)</b>				
Cervidae (01)	<i>Odocoileus virginianus</i>	1	0	0
<b>Perissodactyla (01)</b>				
Tapiridae (01)	<i>Tapirus terrestris</i>	1	1	0
<b>Rodentia (02)</b>				
Erethizontidae (01)	<i>Coendou prehensilis</i>	1	0	0
Dasyproctidae (01)	<i>Dasyprocta agouti</i>	1	0	0
	Total	74	50 (67,6%)	23(31,1%)

A qPCR-kDNA para detecção de *Trypanosoma cruzi* (Figura 13) revelou 50 indivíduos de 24 espécies infectados, o que significou uma taxa de infecção para mamíferos de 67,6%, (Tabela 3). As maiores taxas de infecção para *T. cruzi* foram observadas para carnívoros (89,3%) e primatas (60,7%). Entre os primatas, a maior frequência de *T. cruzi* foi nos mico-leões-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) e entre os carnívoros nos lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*). Dos animais positivos, apenas 20% nasceram na FJZB, os outros 40 indivíduos vieram de outras instituições zoológicas ou foram destinados pelo IBAMA. Onze mamíferos nascidos no Zoológico de Brasília foram positivos para *T. cruzi* e/ou *Leishmania*, sugerindo transmissão vetorial autóctone ou congênita.

Em relação a *Leishmania*, 23 indivíduos de 15 espécies foram positivos (Figura 14), resultando em uma taxa de infecção de 31,1%. Destes, 14 indivíduos pertencem à ordem Carnivora, cinco Pilosa, quatro Primates, com destaque para as famílias Canidae e Felidae que corresponderam a quase 50% dos infectados. Apenas dois indivíduos nasceram na FJZB.

**Tabela 4** Lista de mamíferos positivos para *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* em qPCR, de acordo com a origem e data de nascimento ou chegada ao Zoológico de Brasília.

Espécie	Origem	Data	<i>T. cruzi</i>	<i>Leishmania</i>
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	NASC FJZB	18/07/2013	+	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	NASC FJZB	18/07/2013	+	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	NASC FJZB	01/07/2015	+	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	IBAMA – DF		+	+
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	IBAMA – DF	01/03/2012	+	-
<i>Tremarctos ornatus</i>	ZOO SAPUCAIA DO SUL – RS	07/09/2017	+	-
<i>Procyon cancrivorus</i>	IBAMA – DF	03/07/2014	+	-
<i>Puma concolor</i>	IBAMA – GO	09/10/2013	+	-
<i>Lontra longicaudis</i>	IBAMA – DF	11/09/2015	+	-
<i>Speothos venaticus</i>	IBAMA – PA	17/08/2017	+	-
<i>Leopardus colocolo</i>	IBAMA	17/06/2009	+	+
<i>Leopardus colocolo</i>	IBAMA – DF	07/11/2014	+	+
<i>Nasua nasua</i>	NASC FJZB	05/09/2009	+	+
<i>Leopardus tigrinus</i>	IBAMA – DF	10/07/2014	+	+
<i>Nasua nasua</i>	IBAMA – DF	24/09/2008	+	+
<i>Lycalopex vetulus</i>	IBAMA – DF	12/11/2009	+	+
<i>Nasua nasua</i>	IBAMA – DF	24/09/2008	+	-
<i>Panthera onca</i>	ZOO SALVADOR	05/07/2012	+	-
<i>Cerdocyon thous</i>	IBAMA – DF	03/06/2014	+	+
<i>Nasua nasua</i>	IBAMA – DF	24/09/2008	+	+
<i>Nasua nasua</i>	NASC FJZB	02/09/2009	+	-
<i>Lycalopex vetulus</i>	NASC FJZB	27/08/2009	+	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	IBAMA – DF		+	+
<i>Puma yagouaroundi</i>	ZOO BAURU	13/11/2007	+	+
<i>Lontra longicaudis</i>	IBAMA – DF		+	+
<i>Tapirus terrestris</i>	IBAMA – DF	10/01/2016	+	-
<i>Tamandua tetradactyla</i>	IBAMA – DF	25/12/2012	+	+
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	NASC FJZB	04/01/2006	+	-
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	ZOO SP	07/01/2013	+	-
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	NASC FJZB	26/07/2011	+	-
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	IBAMA – DF	27/04/2010	+	-
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	ZOO – GO	29/09/2001	+	+
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	NASC FJZB	02/09/2010	+	-

<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	IBAMA – AM	24/05/2017	+	+
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	ZOO SP	07/11/2013	+	-
<b>Continuação tabela 04</b>				
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	ZOO SP	07/11/2013	+	-
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	ZOO SP	07/11/2013	+	-
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	ZOO SP	07/11/2013	+	+
<i>Saguinus niger</i>	Ararajuba Ipê – MA	05/10/2007	+	-
<i>Aotus nigriceps</i>	NASC FJZB	16/01/2012	+	-
<i>Cebus albifrons</i>	IBAMA – AC	10/07/2006	+	-
<i>Lagothrix cana</i>	Ararajuba Ipê – MA	09/07/2006	+	+
<i>Ateles marginatus</i>	IBAMA	28/06/1996	+	-
<i>Saguinus niger</i>	IBAMA – PA	25/09/2008	+	-
<i>Aotus nigriceps</i>	IBAMA - AC	30/09/2006	+	-
<i>Aotus nigriceps</i>	IBAMA – DF	05/10/2007	+	-
<i>Lagothrix cana</i>	IBAMA – AM	24/05/2017	+	-
<i>Lagothrix cana</i>	IBAMA – AM	24/05/2017	+	-
<i>Saguinus bicolor</i>	IBAMA – AM	17/08/2017	+	-
<i>Chiropotes satanas</i>	IBAMA – PA	19/08/2006	+	+
<i>Aotus nigriceps</i>	NASC FJZB	16/11/2010	-	+
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	IBAMA – DF	28/04/2009	-	+
<i>Leopardus pardalis</i>	IBAMA – AM	24/05/2017	-	+
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	IBAMA – DF		-	+
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	IBAMA – MS	18/12/2000	-	+



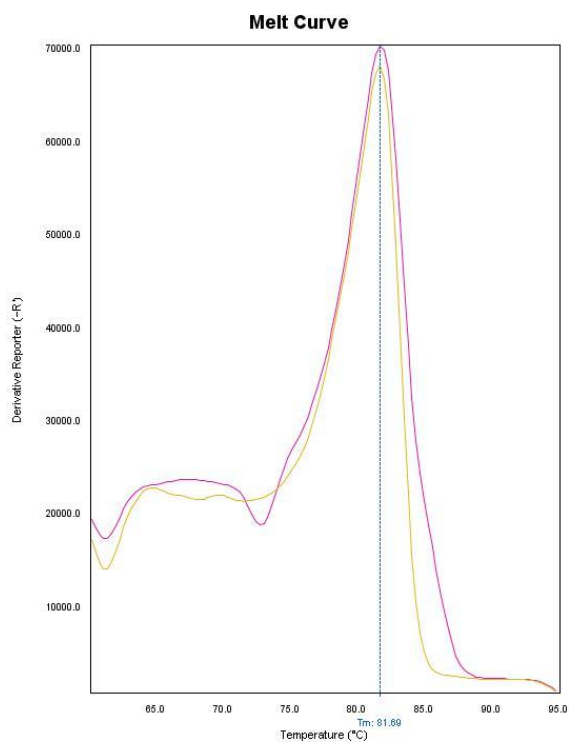


Figura 13: qPCR TCZ *T. cruzi*: Em rosa *melt curve* do controle positivo de *T. cruzi* cepa Berenice  $10^4$  parasito/mL. Em amarelo o *melt curve* de uma amostra de sangue de mamífero positiva para *T. cruzi*.

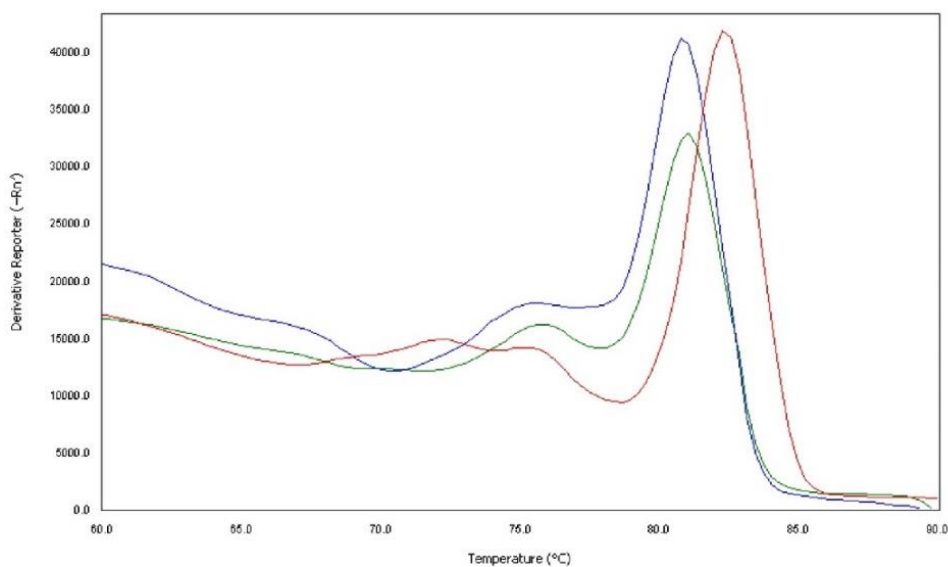


Figura 14: qPCR KDNA *Leishmania*: Em azul *melt curve* do controle positivo (cultura de *L. infantum*, cepa 6445 cedida pelo Instituto Oswaldo Cruz e disponibilizada pelo Laboratório de Leishmaniose do Dr. Gustavo Romeiro, pertencente ao Núcleo de Medicina Tropical). Em verde e vermelho o *melt curve* de amostras de sangue de mamífero positivas para *Leishmania* spp.

## 6. DISCUSSÃO

O estudo revelou uma nova colônia de triatomíneos da espécie *P. megistus* no Zoológico de Brasília, a presença inédita de pelo menos quatro espécies de flebotomíneos nos recintos dos mamíferos, a ocorrência de *T. cruzi* e *Leishmania* spp. em 50 e 23 espécimes de mamíferos respectivamente, incluindo indivíduos nascidos no local. Esses resultados sugerem ocorrência de transmissão vetorial de tripanossomatídeos no Zoológico de Brasília. As implicações ecológicas, epidemiológicas e veterinárias dos resultados são descritas a seguir.

Esta foi a segunda colônia de *P. megistus* detectada na FJZB. A primeira colônia foi detectada na unidade dos pequenos primatas, onde a transmissão vetorial de *T. cruzi* foi confirmada por Minuzzi et al. (2016). A colonização de ambiente artificial que mantém animais silvestres cativos por esta espécie de triatomíneo foi também detectada no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (Lisboa et al., 2004), onde quatro indivíduos foram capturados e a transmissão de *T. cruzi* foi comprovada. A presença de *P. megistus* infectados na FJZB é um fator de risco para a transmissão de *T. cruzi* no Zoológico de Brasília, tanto para os mamíferos que são mantidos cativos quanto para os funcionários e visitantes, mesmo que nestes dois últimos casos em menor grau. Entretanto, apesar do esforço amostral, somado com a observação diária dos tratadores, apenas uma colônia foi encontrada no período de um ano, demonstrando uma baixa presença desses animais na Instituição. Estudo anterior de Gugel-Gonçalves e colaboradores (2004) mostrou que 33% dos gambás (*Didelphis albiventris*) da área de mata adjacente ao Zoológico estavam infectados com *T. cruzi*, mas não evidenciou triatomíneos nesta mata. Entretanto, a hipótese é que a origem de *P. megistus* no Zoo seria a partir das matas de galeria adjacentes, de onde já poderiam chegar infectados considerando a existência de um ciclo enzoótico de *T. cruzi*.

No DF foram capturados 894 triatomíneos entre 2012 e 2014 em 12 regiões administrativas, sendo que 828 espécimes eram da espécie *P. megistus* (Minuzzi-Souza et al., 2017). Estudo realizado em Goiás e no DF encontrou uma taxa de infecção estimada de *P. megistus* de cerca de 50% (Minuzzi-Souza et al., 2018). No Centro-Oeste de Minas Gerais, de 1390 triatomíneos coletados, 99,3% eram *P. megistus*, com uma taxa de infecção por *T. cruzi* de 8,3% (Villela et al., 2010). Vale ressaltar que *P. megistus* tem

uma área de distribuição ampla e uma grande capacidade de colonizar ambientes artificiais (Patterson *et al.*, 2009).

Além do risco da infecção pelo contato da mucosa com as fezes do vetor após a picada, deve-se levar em consideração a probabilidade da infecção via oral (Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012; Rassi e Marin-Neto, 2015), tendo em vista que a alimentação dos animais é mantida e preparada no próprio zoológico e que existe a possibilidade de predação dos triatomíneos ou até de outros animais infectados que eventualmente entrem em algum recinto por parte dos animais.

Apesar de haver uma tentativa de criação de uma vacina para a doença de Chagas, ela ainda não está disponível (Dumonteil *et al.*, 2012) e o principal método de evitar novos casos da doença continua sendo o controle dos triatomíneos, principalmente com a utilização de inseticidas, e cuidado ao estocar e manipular alimentos.

Este estudo mostrou também pela primeira vez a ocorrência de flebotomíneos no Zoológico de Brasília, sendo o primeiro a analisar a infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania* e o terceiro registro em zoológicos brasileiros. A presença de *Lu. longipalpis* é um fator de risco para a transmissão de *Leishmania* no Zoológico de Brasília, pois é o principal vetor de leishmaniose visceral. Duas importantes espécies vetoras foram detectadas: *Ny whitmani* (principal vetor de *L. brasiliensis*) e *Lu longipalpis* (vetor de *L. infantum*) confirmando o risco de infecção na área estudada. Apesar de um esforço de captura de 7.392 horas com armadilhas HP e 32 horas com armadilhas Shannon, um baixo número de flebotomíneos foi capturado (n=17) quando comparado com outros trabalhos como Teodoro *et al.* (1998) que capturaram 3.532 flebotomíneos usando armadilhas de falcão durante quatro meses no Zoo de Maringá com um esforço de 408 horas. A baixa densidade de flebotomíneos no Zoo de Brasília pode ter sido influenciada por vieses de amostragem como o local em que as armadilhas eram instaladas, algumas vezes distantes dos animais (e.g. recinto dos felinos), dificultando o acesso do flebotomíneo à armadilha luminosa, pois esses insetos geralmente dispersam menos que 200 metros (Alexander e Young, 1992; Casanova *et al.*, 2005) e ficam próximo das fontes alimentares e o uso de apenas dois métodos de amostragem (Hp e Shannon); a amostragem poderia ter sido complementada por outras armadilhas como Disney, Cartões com Óleo de Rícino e Falcão. Além disso, sabe-se que não existe um método de detecção de vetores perfeito (Padilla-Torres *et al.*, 2013; Valença-Barbosa *et al.*, 2014) e futuras

amostragens devem considerar outros métodos de detecção além das armadilhas luminosas na captura de flebotomíneos.

Nenhum flebotomíneo foi capturado na mata de galeria adjacente ao Zoológico. Era esperada a captura destes animais nesta área considerando que os flebotomíneos são frequentes em matas de galeria do Distrito Federal (Ferreira, 2015; Rapello *et al.*, 2018). A baixa ocorrência de flebotomíneos no Zoológico de Brasília poderia ser explicada pelo fato das populações da mata de galeria adjacente não estarem bem estabelecidas, porém para confirmar essa hipótese há necessidade de ampliar a amostragem ao longo do ano. Outra possibilidade é que as luzes da cidade tenham influenciado na atração, já que as duas metodologias utilizadas usam a luz como atrativo. São descritas 35 espécies de flebotomíneos para o DF, sendo *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942) e *Psathyromyia pradobarrientosi* os mais encontrados (Rapello *et al.*, 2018).

A ausência de vetores positivos para *Leishmania* pode estar diretamente relacionada com o baixo número de flebotomíneos capturados, e com a baixa taxa de infecção dos flebotomíneos por tripanossomatídeos na área estudada (Ferreira *et al.*, 2015) não refutando a hipótese de haverem insetos infectados circulantes. Estudo realizado em áreas endêmicas do Distrito Federal não detectou *Leishmania* em flebotomíneos por meio do PCR. Devido a maior sensibilidade, foi escolhido a técnica de qPCR nas análises de infecção por *Leishmania* (Paiva-Cavalcanti *et al.*, 2010), mas o resultado reiterou a afirmação de ausência de infecção nos flebotomíneos.

A infecção de um grande número de mamíferos estudados por *T. cruzi* (n=50) evidencia a alta taxa de infecção dos mamíferos na FJZB. A taxa de 58,6% de primatas positivos está de acordo com o anteriormente obtido por Minuzzi-Souza *et al.* (2016), confirmados alguns resultados e somando outros indivíduos que não haviam sido estudados. Na reserva Poço das Antas no Rio de Janeiro, onde reside naturalmente o maior grupo de vida livre de mico-leão-dourado (MLD), 52% dos *Leontopithecus rosalia* examinados foram positivos para *T. cruzi*, indicando a presença natural deste parasito na população de vida livre (Lisboa *et al.*, 2000). Resultado semelhante em pesquisa realizada no estado do Amazonas, na qual examinaram para *T. cruzi* 112 indivíduos de duas espécies do gênero *Saimiri* e identificaram uma taxa de 10,3% dos animais infectados (Ziccardi e Lourenço-De-Oliveira, 1997). De 72 primatas examinados para *T. cruzi* por cultura sanguínea na região da Colômbia, 30,6% foram considerados positivos (Marinkelle, 1982). Mais recente, estudo de Bahia *et al.* (2017) pesquisou a taxa de

infecção por *T. cruzi* em 112 primatas cativos da região amazônica, mostrando 12,5% de positividade. Na Amazônia também, mais especificamente na região de Manaus, de 96 *Saguinus bicolor* estudados, espécie seriamente ameaçada de extinção, três foram positivos para hemocultura de *T. cruzi* (Da Silva *et al.*, 2008). Estudos realizados em outras instituições que mantêm animais sob cuidados humanos no Brasil identificaram animais infectados por estes tripanossomatídeos (Bahia *et al.*, 2017). Lisboa *et al.* (2004), investigou 198 primatas de 18 espécies do CPRJ, onde encontrou 26,5% de indivíduos infectados. A infecção por *T. cruzi* também foi confirmada em *Saguinus midas niger* (Miles *et al.*, 1981) e em *Cebus albifrons* (Marinkelle, 1982). Outras espécies de primatas como *Ateles fuscipes*, *A. geoffroyi*, *A. belzebuth*, *Saguinus mystax*, *S. oedipus*, *L. lagotricha* também são consideradas hospedeiras (Marinkelle, 1982). Não foram encontrados estudos anteriores confirmando a infecção em *Lagotrrix cana*, *Ateles marginatus* e *Chiropotes satanas*, sendo possivelmente este o primeiro estudo a identificar essas espécies como hospedeiras.

Dentre os carnívoros, infecções de canídeos e felídeos por *T. cruzi* foram detectadas no presente trabalho. Zetun e colaboradores, (2014) identificaram cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) positivos para *T. cruzi* no Zoológico Quinzinho de Barros – Sorocaba – São Paulo. Jaguaritica (*Leopardus pardalis*), lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) foram positivos para *T. cruzi* em área próxima ao Parque Nacional Serra da Canastra (Rocha *et al.*, 2013). Albuquerque e Barreto (1968) identificaram *T. cruzi* em uma *Lycalopex vetulus* capturada na região de Franca, São Paulo. Dos canídeos, é possivelmente o primeiro a comprovar a infecção de *Speothos venaticus*, canídeo pouco conhecido e ameaçado de extinção. Segundo Jansen e colaboradores (2015) canídeos são reservatórios competentes em apenas um curto período. Também foram positivos quatis (*Nasua nasua*), lontras (*Lontra longicaudis*), guaxinim (*Procyon cancrivorus*) e urso-de-óculos (*Tremarctos ornatus*). *Trypanosoma cruzi* foi isolado de quatis na região do Pantanal (Herrera *et al.*, 2008) e de um guaxinim capturado em Penápolis, São Paulo (Barretto e Ferriolli Filho, 1970). Revisão realizada por Rocha e colaboradores, (2013) mostrou que há 15 espécies de carnívoros neotropicais que já foram confirmados como hospedeiros de *T. cruzi* e que o quati apresenta uma alta parasitemia.

Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a evidenciar a presença de *T. cruzi* em *Lontra longicaudis* espécie de mustelídeo que tem uma ampla ocorrência no

Brasil e em outros países da América do Sul, sendo que os dois indivíduos investigados foram encontrados na região do Distrito Federal. Também é o primeiro estudo a identificar *T. cruzi* em *Tremarctos ornatus*, único membro da família Ursidae da América do Sul. Como o indivíduo em questão é nascido em cativeiro na região Sul do Brasil, deve-se investigar se existe a infecção de indivíduos de vida livre ou se foi um fato isolado por o animal estar em um ambiente diferente do natural, devendo-se levar em consideração o risco de futuras reintrodução destes animais em sua área de ocorrência natural.

Em relação aos felinos é o primeiro relato de infecção em *Leopardus tigrinus*, *Leopardus colocolo* e *Puma yagouaroundi*, sendo que Wisnivesky- Colli *et al.*, (1992) buscou a infecção em cinco *Leopardus colocolo* e três *Puma yagouaroundi*, tendo todos os resultados negativos.

Com relação a patogenicidade do protozoário, Monteiro *et al.*,(2010) identificaram que *Leontopithecus rosalia* positivos para infecção por *T. cruzi* tiveram hipergamaglobulinemia, o que aumentou os níveis de proteína total e baixou as taxas de albumina e globulina, além de alterações cardíacas em 45% dos indivíduos (Monteiro *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2010). Apesar destes resultados, Monteiro *et al.*,(2010) consideraram que a infecção por este tripanosomatídeo não é altamente decisiva para a saúde dos animais estudados, e teve uma correlação com a resistência a alguns helmintos patogênicos. Lisboa *et al.*, (2015), depois de uma pesquisa de 11 anos realizadas com *Leontopithecus rosalia* e *L. chrysomelas*, concluíram que estas espécies, na área estudada, mantém a infecção por longo período e são excelentes reservatórios para *T. cruzi* e que os micos-leões-dourados possuem um pico de positividade para exames sorológicos e parasitológicos a cada três anos.

O fato de alguns indivíduos como o urso-de-óculos, um cachorro-do-mato-vinagre, uma jaguatirica e dois macacos-barrigudos terem chegado ao Zoológico pouco tempo antes da coleta de sangue, indicam que estes animais podem ter chegado à instituição já com o protozoário o que indica tanto a infecção em outras instituições mantedoras quanto em vida livre e que outros indivíduos investigados podem também ter chegado à FJZB já com os parasitos.

Dos indivíduos infectados nascidos no Zoológico, dois lobos-guarás tiveram a mãe negativa para *T. cruzi*, confirmando a transmissão vetorial autóctone do parasito. Dois

macacos-da-noite que foram positivos tiveram a mãe também positiva, podendo tanto ter sido tanto transmissão vertical quanto vetorial. A segunda hipótese é a mais provável, tanto neste quanto nos outros indivíduos nascidos na FJZB, já que foram encontrados vetores infectados no local, o que pode ter ocorrido tanto pelo contato com as fezes e urina após o processo de hematofagia do vetor, quanto pela ingestão do próprio barbeiro pelo mamífero. Esta suspeita é corroborada pelo número de *P. megistus* infectados neste estudo e por Minuzzi-Souza *et al.*, (2016). Estudo de Lisboa *et al.*, (2015) com micossleões-dourados não encontrou transmissão vertical em 11 filhotes de fêmeas infectadas. Já com morcegos, estudo realizado na Venezuela com a espécie *Molossus molossus* identificou 100% dos fetos examinados de fêmeas prenhas positivos para *T. cruzi* (Añez *et al.*, 2009). Em seres humanos, a transmissão congênita ocorre em cerca de 5% das crianças nascidas de mães infectadas em áreas endêmicas (Carlier *et al.*, 2015).

Apesar de terem sido encontrados indivíduos positivos para *T. cruzi* nesta Fundação, este resultado não deve ser impeditivo nas ações conservacionistas da instituição, já que vários periódicos mostram tanto uma infecção natural de várias das espécies investigadas quanto à existência da infecção em outros cativeiros no Brasil e no mundo. As taxas encontradas podem estar dentro da normalidade esperada para cada espécie, sendo importante uma medida interinstitucional e com pesquisadores de vida livre para determinar quando um indivíduo deve ou não ser reintroduzido mesmo que seja positivo para *T. cruzi*. Porém, deve-se levar em consideração que o *T. cruzi* é um protozoário com uma alta taxa de diversidade, podendo translocações introduzirem novas linhagens em áreas ausentes (Messenger *et al.*, 2015).

Para *Leishmania*, os indivíduos encontrados positivos evidenciam a presença do protozoário na área de estudo e o risco de transmissão entre animais e para o ser humano. Outros estudos foram realizados com animais de cativeiro no Brasil, como é o caso de Malta *et al.*, (2010) que identificaram, no zoológico de Belo Horizonte, um zogue-zogue (*Callicebus nigrifrons*) positivo para *Leishmania infantum* que apresentou os sinais clínicos da LV o levando a morte e também outros 17 primatas não humanos que foram positivos para *Leishmania*, mas que não tiveram sintomatologia. Luppi *et al.* (2008) neste mesmo zoológico identificaram um cachorro-do-mato-vinagre (*Speothos venaticus*) e uma raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) positivos para *Leishmania* e apresentando sintomas de LV e outros indivíduos destas duas espécies e de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) sem sinais da doença. Um *Ateles paniscus* foi positivo para *Leishmania*

*amazonensis* no zoo de Bauru, São Paulo (Guiraldi, 2016). Seis cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) um cachorro-do-mato-vinagre (*Speothos venaticus*), cinco suçuaranas (*Puma concolor*) e uma onça-pintada (*Panthera onca*) investigados no zoológico da Universidade Federal de Mato Grosso foram positivos para *Leishmania infantum* (Da Paz et al., 2010; Dahroug et al., 2010).

Em cativeiros de outros países também existem estudos que confirmam a presença de *Leishmania*, como Sastre et al., (2008) que identificaram três lobos (*Canis lupus*) positivos para *Leishmania infantum* em Portugal e Espanha e Montoya et al., (2016) que, após a morte de um Wallaby (*Macropus rufogriseus rufogriseus*) positivo para *Leishmania infantum* e com sintomatologia da doença, investigou a presença deste parasito em outros 12 indivíduos desta mesma espécie, encontrando quatro positivos.

A pesquisa teve baixo sucesso na captura de flebotomíneos, o que pode estar relacionado tanto a uma população não bem estabelecida na área de estudo quanto a um problema na amostragem, sendo sugerido um acompanhamento a longo prazo com diferentes metodologias para um diagnóstico mais preciso. Armadilhas de emergência (Casanova et al., 2013) também podem ser instaladas para identificar se estes flebotomíneos completam seu ciclo na área interna do Zoológico ou se utilizam esta área apenas para hematofagia.

Apesar de ter sido encontrada apenas uma colônia de triatomíneos, a busca por estes insetos na área de mata adjacente é importante para entender melhor o processo de colonização nos recintos dos animais. Deve-se manter a busca ativa na instituição, a fim de identificar novas colônias que possam se estabelecer e transmitir a doença de Chagas para outros animais.

A realização de exames diagnósticos de *Leishmania* e *T. cruzi* nos outros animais do plantel, tanto silvestres quanto exóticos, é essencial para ter uma visão mais ampla da complexidade do ciclo desses parasitos no ambiente estudado. Esses exames devem ser repetidos em intervalos de tempo com objetivo de verificar se novas infecções estão ocorrendo. Deve-se também realizar diagnóstico nos animais antes de chegarem ao Zoológico, ou no momento da chegada, levando em consideração que este trabalho identificou vetores de doença de Chagas e leishmaniose na área de estudo.

O transporte de animais infectados para soltura ou para outras instituições também deve levar em consideração o risco para saúde do animal e para o ecossistema do local de



destino, ponderando a presença de insetos vetores na área e a possível taxa natural de infecção da espécie na região, além das possíveis variações do parasito. O controle dos parasitos e dos vetores na área deve ser prioridade para a gestão do zoológico, tendo em vista minimizar o risco de novas infecções. Sugere-se então a realização de alterações nos recintos de forma que locais que possam ser utilizados como abrigo para triatomíneos sejam evitados e também a instalação de telas que impeçam a entrada de flebotomíneos, principalmente nos recintos dos animais que foram positivos para *Leishmania*. Também deve ser verificada a possibilidade de aplicação de coleiras que repelem os flebotomíneos nos animais, mesmo aqueles não infectados.

A presença destes parasitos tanto em outros zoológicos quanto em ambiente natural pode estar subestimada devido ao baixo número de pesquisas realizadas, sendo que a taxa de infecção encontrada neste estudo pode ser semelhante em ambos os casos. A identificação da patogenicidade de cada protozoário nas diversas espécies também é fundamental para que se possa realizar diagnósticos mais completos e identificar os reais impactos nas translocações de animais infectados.

Para a FJZB, é importante considerar o risco de transmissão destes parasitos não só para os outros animais do plantel, mas também para os visitantes e profissionais que atuam na instituição. Deve-se realizar diagnóstico das infecções por estes parasitos tanto antes de receber quanto de enviar um animal. Deve-se também considerar a possibilidade da realização de exames nos funcionários, com objetivo de entender por completo o ciclo do parasito na região e também para que medidas preventivas e possíveis tratamentos sejam iniciados.

## 7. CONCLUSÕES

1. A nova colônia de triatomíneos detectada no Zoológico de Brasília indica que a infestação de recintos é um evento recorrente e a presença de espécimes da fauna mantida pelo Zoo infectados comprova que o risco de transmissão de *T. cruzi* para os mamíferos cativos persiste.
2. Pelo menos quatro espécies de flebotomíneos ocorrem no Zoológico de Brasília, entre elas *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani*, potenciais vetoras de *L. infantum* e *L. braziliensis*.
3. Apesar da presença de *T. cruzi* em primatas já ter sido previamente relatada no Zoológico de Brasília, os resultados ampliam não só a lista de espécies de primatas infectados por este parasito, mas também outros grupos de mamíferos infectados (Carnivora, Cetartiodactyla, Perissodactyla e Pilosa).
4. Possivelmente este é o primeiro relato de infecção por *T. cruzi* em *Lagothrix cana*, *Ateles marginatus*, *Chiropotes satanas*, *Speothos venaticus*, *Lontra longicaudis*, *Tremarctos ornatus*, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus colocolo* e *Puma yagouaroundi*.
5. Foi confirmada a infecção autóctone por *T. cruzi* de dois lobos-guarás no Zoo de Brasília, evidenciando que medidas preventivas devem ser tomadas com objetivo de evitar novas infecções.
6. A presença de mamíferos infectados por *Leishmania* no Zoológico de Brasília é descrita pela primeira vez. Apesar de não ter sido observada infecção dos flebotomíneos capturados por *Leishmania*, o fato de existirem animais positivos que nasceram no Zoológico indica que a transmissão foi autóctone.
7. As translocações de animais silvestres devem levar em consideração a movimentação de agentes patogênicos como o *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp, evitando a introdução de novas doenças em áreas não endêmicas daquele parasito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, R.; BARRETTO, M. Studies on wild reservoirs and vectors of "Trypanosoma cruzi." XXX: natural infection of the bush dog, "Cerdocyon thous azarae"(Wied, 1824) by "T. cruzi". **Revista brasileira de biologia**, v. 28, n. 4, p. 457, 1968. ISSN 0034-7108.
- ALEXANDER, B.; YOUNG, D. G. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian focus of Leishmania (Viannia) brasiliensis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 3, p. 397-403, 1992. ISSN 0074-0276.
- ALMEIDA, P. S. D. et al. Geographic distribution of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 551-559, 2015. ISSN 0074-0276.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012. ISSN 1932-6203.
- AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; SORIANO, P. J. Trypanosoma cruzi congenital transmission in wild bats. **Acta tropica**, v. 109, n. 1, p. 78-80, 2009. ISSN 0001-706X.
- BAHIA, M. et al. Trypanosoma cruzi infection in captive Neotropical primates in the Brazilian Amazon. **American journal of primatology**, v. 79, n. 2, p. 1-6, 2017. ISSN 1098-2345.
- BALLOU, J. D. Assessing the risks of infectious diseases in captive breeding and reintroduction programs. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, p. 327-335, 1993. ISSN 1042-7260.
- BARBOSA, M. D. G. V. et al. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em um foco de leishmaniose tegumentar americana na área periurbana de Manaus, Estado do Amazonas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, n. 5, p. 485-491, 2008. ISSN 0037-8682.
- BARONGI, R. et al. **Committing to Conservation: The World Zoo and Aquarium Conservation Strategy** 2015.
- BARRETTO, M.; FERRIOLLI FILHO, F. Studies on sylvan reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi XXXIX: natural infection of Procyon cancrivorus nigripes Mivart, 1885 by T. cruzi. **Revista brasileira de biologia**, v. 30, n. 3, p. 431-438, 1970. ISSN 0034-7108.
- BASANO, S. D. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 328-337, 2004. ISSN 1415-790X.

BERNSTEIN, R. E. Darwin's illness: Chagas' disease resurgens. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 77, n. 7, p. 608, 1984.

BOWKETT, A. E. Recent captive-breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. **Conservation Biology**, v. 23, n. 3, p. 773-776, 2009. ISSN 1523-1739.

CARDOSO, R. M. et al. Expanding the knowledge about Leishmania species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 171, 2015. ISSN 1756-3305.

CARLIER, Y. et al. Congenital Chagas disease: an update. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 363-368, 2015. ISSN 0074-0276.

CARVALHO, M. D. S. L. D. et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 19, n. 3, p. 227-237, 2010. ISSN 1679-4974.

CASANOVA, C. et al. Larval breeding sites of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in southeastern Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 9, p. e2443, 2013. ISSN 1935-2735.

CASANOVA, C.; COSTA, A. I.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sand fly Lutzomyia neivai (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 719-724, 2005. ISSN 0074-0276.

CAVALIER-SMITH, T. Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. **Eur J Protistol**, v. 56, p. 250-276, Oct 2016. ISSN 1618-0429. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27889663> >.

COURA, J. R. Chagas disease: what is known and what is needed-A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 113-122, 2007. ISSN 0074-0276.

COURA, J. R. et al. Chagas disease: from bush to huts and houses. Is it the case of the Brazilian Amazon? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 379-384, 1999. ISSN 0074-0276.

CUBA CUBA, C. A. Review of biological and diagnostic aspects of Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 2, p. 207-220, 1998. ISSN 0037-8682.

CUNNINGHAM, A. A. Disease risks of wildlife translocations. **Conservation biology**, v. 10, n. 2, p. 349-353, 1996. ISSN 1523-1739.

DA PAZ, R. C. R. et al. Leishmania (Leishmania) infantum chagasi em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 3, p. 333-335, 2010.

DA SILVA, F. M. et al. Infection rates and genotypes of Trypanosoma rangeli and T. cruzi infecting free-ranging Saguinus bicolor (Callitrichidae), a critically endangered primate of the Amazon Rainforest. **Acta tropica**, v. 107, n. 2, p. 168-173, 2008. ISSN 0001-706X.

DA SILVA TENÓRIO, M. et al. Visceral leishmaniasis in a captive crab-eating fox Cerdocyon thous. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 42, n. 4, p. 608-616, 2011. ISSN 1042-7260.

DAHROUG, M. A. et al. Leishmania (Leishmania) chagasi in captive wild felids in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 1, p. 73-74, 2010. ISSN 0035-9203.

DE ARAÚJO, V. A. L. et al. Mixed infection in the anteater Tamandua tetradactyla (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: Trypanosoma cruzi, T. rangeli and Leishmania infantum. **Parasitology**, v. 140, n. 4, p. 455-460, 2013. ISSN 0031-1820.

DE SOUZA LEAL, M. M. C. et al. Host-biting rate and susceptibility of some suspected vectors to Leishmania braziliensis. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 139, 2014. ISSN 1756-3305.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004. ISSN 0147-9571.

DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V.; LUNA, E. D. A. Mecanismos alternativos de transmissão do Trypanosoma cruzi no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. 3, p. 375-379, 2011. ISSN 0037-8682.

DUMONTEIL, E. et al. Accelerating the development of a therapeutic vaccine for human Chagas disease: rationale and prospects. **Expert Rev Vaccines**, v. 11, n. 9, p. 1043-55, Sep 2012. ISSN 1744-8395. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23151163> >.

FA, J. E. et al. Zoos have yet to unveil their full conservation potential. **Animal Conservation**, v. 17, n. 2, p. 97-100, 2014. ISSN 1469-1795.

FERREIRA, J. B. C. Ocorrência de flebotomíneos (diptera: psychididae) em matas de galeria no Distrito Federal, Brasil. 2015.

FIGUEIREDO, F. et al. First report of natural infection of a bush dog (Speothos venaticus) with Leishmania (Leishmania) chagasi in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 2, p. 200-201, 2008. ISSN 0035-9203.

FJZB, F. J. Z. D. B., 2018. Disponível em: < <http://www.zoo.df.gov.br/> >. Acesso em: 2 de janeiro.

FORATTINI, O. P. Biogeography, origin, and distribution of triatominae domiciliarity in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 14, n. 3, p. 265-299, 1980. ISSN 0034-8910.

FUKUTANI, K. F. et al. Serological survey of Leishmania infection in blood donors in Salvador, Northeastern Brazil. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 422, 2014. ISSN 1471-2334.

FÈVRE, E. M. et al. Animal movements and the spread of infectious diseases. **Trends in microbiology**, v. 14, n. 3, p. 125-131, 2006. ISSN 0966-842X.

GALATI, E. A. B. **Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, morfologia, terminologia e identificação de Adultos** Apostila Disciplina do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública (PSP 5127-1) Bioecologia e Identificação de Phlebotominae Vol. I 2017.

GALVÃO, C.; GURGEL-GONÇALVES, R. **Vetores conhecidos no Brasil**. Curitiba Sociedade Brasileira de Zoologia: 88-170 p. 2014.

GUIRALDI, L. M. Pesquisa de tripanosomatídeos em primatas de cativeiro do Parque Zoológico Municipal de Bauru, São Paulo. 2016.

GURGEL-GONÇALVES, R. et al. Enzootic transmission of Trypanosoma cruzi and T. rangeli in the Federal District of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 6, p. 323-330, 2004. ISSN 0036-4665.

HERRERA, H. et al. The coati (Nasua nasua, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of Trypanosoma cruzi in the Pantanal region, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 11, p. 1133-1139, 2008. ISSN 0035-9203.

HESS, G. Disease in metapopulation models: implications for conservation. **Ecology**, v. 77, n. 5, p. 1617-1632, 1996. ISSN 1939-9170.

HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. **The trypanosomes of mammals. A zoological monograph.**, 1972.

HOFFMANN, M. et al. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. **science**, p. 1194442, 2010. ISSN 0036-8075.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C.; ROQUE, A. L. R. The multiple and complex and changeable scenarios of the Trypanosoma cruzi transmission cycle in the sylvatic environment. **Acta tropica**, v. 151, p. 1-15, 2015. ISSN 0001-706X.

JURBERG, J. et al. **Atlas Iconográfico dos triatomíneos do Brasil (Vetores da doença de Chagas):** Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz 2014.

JUSTI, S. A.; GALVÃO, C. The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. **Trends in parasitology**, v. 33, n. 1, p. 42-52, 2017. ISSN 1471-4922.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of phlebotomine sand flies. **Clinics in dermatology**, v. 17, n. 3, p. 279-289, 1999. ISSN 0738-081X.

KILLICK-KENDRICK, R.; LAINSON, R.; FLISSER, A. Ecological Interactions in the Transmission of the Leishmaniasis: Discussion. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B**, v. 321, p. 403-404, 1988. ISSN 0962-8436.

KLEIMAN, D. G.; RYLANDS, A. B. **Lion Tamarins: Biology and Conservation (Zoo and Aquarium Biology and Conservation Series)**. Smithsonian Institution Scholarly Press, 2002. 446 ISBN 978-1588340726.

LAINSON, R. The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista pan-Amazônica de saúde**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010. ISSN 2176-6223.

LAINSON, R.; SHAW, J.; LINS, Z. Leishmaniasis in Brazil: IV. The fox, *Cerdocyon thous* (L) as a reservoir of *Leishmania donovani* in Pará State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 63, n. 6, p. 741-745, 1969. ISSN 1878-3503.

LEIGHTON, F. Health risk assessment of the translocation of wild animals. **Revue scientifique et technique-Office international des épizooties**, v. 21, n. 1, p. 187-216, 2002. ISSN 0253-1933.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. **Bull. Am. Mus. Nat. Hist.**, v. 163, p. 125-520, 1979. Disponível em: < <http://digitallibrary.amnh.org/handle/2246/1282> >.

LISBOA, C. et al. Stable infection of primates with *Trypanosoma cruzi* I and II. **Parasitology**, v. 133, n. 5, p. 603-611, 2006. ISSN 1469-8161.

LISBOA, C. V. et al. *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biológica de Poco das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 445-452, 2000. ISSN 0074-0276.

\_\_\_\_\_. *Trypanosoma cruzi* transmission in a captive primate unit, Rio de Janeiro, Brazil. **Acta tropica**, v. 90, n. 1, p. 97-106, 2004. ISSN 0001-706X.

\_\_\_\_\_. Infection with *Trypanosoma cruzi* TcII and TcI in free-ranging population of lion tamarins (*Leontopithecus* spp): an 11-year follow-up. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 394-402, 2015. ISSN 0074-0276.

LUPPI, M. M. et al. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 155, n. 1-2, p. 146-151, 2008. ISSN 0304-4017.

MAEDA, M. H.; KNOX, M. B.; GURGEL-GONÇALVES, R. Occurrence of synanthropic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the Federal District of Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 45, n. 1, p. 71-6, Feb 2012. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22370832> >.

MALTA, M. C. C. et al. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 169, n. 1-2, p. 193-197, 2010. ISSN 0304-4017.

MARCONDES, C. B. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. **Entomological News**, v. 118, n. 4, p. 351-356, 2007. ISSN 0013-872X.

MARINKELLE, C. The prevalence of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* *cruzi* infection in Colombian monkeys and marmosets. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 76, n. 2, p. 121-124, 1982. ISSN 0003-4983.

MARTINS, A. V.; WILLIAMS, P.; LIMA, F. American sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). **American sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**. 1978.

MASLOV, D. A. et al. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. **Trends in parasitology**, v. 29, n. 1, p. 43-52, 2013. ISSN 1471-4922.

MESSENGER, L. A.; MILES, M. A.; BERN, C. Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 13, n. 8, p. 995-1029, 2015. ISSN 1744-8336.

MILES, M. et al. Chagas's disease in the Amazon Basin: II. The distribution of *Trypanosoma cruzi* zymodemes 1 and 3 in Pará State, north Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 5, p. 667-674, 1981. ISSN 1878-3503.

MINUZZI-SOUZA, T. T. et al. Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. **Parasit Vectors**, v. 9, p. 39, Jan 2016. ISSN 1756-3305. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26813657> >.



MINUZZI-SOUZA, T. T. C. et al. Surveillance of vector-borne pathogens under imperfect detection: lessons from Chagas disease risk (mis) measurement. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 151, 2018. ISSN 2045-2322.

\_\_\_\_\_. Synanthropic triatomines as potential vectors of *Trypanosoma cruzi* in Central Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 50, n. 6, p. 824-828, 2017 Nov-Dec 2017. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29340461> >.

\_\_\_\_\_. Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 39, 2016. ISSN 1756-3305.

MONTEIRO, R. V. et al. Clinical, biochemical, and electrocardiographic aspects of *Trypanosoma cruzi* infection in free-ranging golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **Journal of medical primatology**, v. 35, n. 1, p. 48-55, 2006. ISSN 1600-0684.

MONTEIRO, R. V.; DIETZ, J. M.; JANSEN, A. M. The impact of concomitant infections by *Trypanosoma cruzi* and intestinal helminths on the health of wild golden and golden-headed lion tamarins. **Research in veterinary science**, v. 89, n. 1, p. 27-35, 2010. ISSN 0034-5288.

MONTOYA, A. et al. *Leishmania infantum* infection in bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus rufogriseus*) in a Spanish wildlife park. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47, n. 2, p. 586-593, 2016. ISSN 1042-7260.

MORILLO, C. A. et al. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 14, p. 1295-1306, 2015. ISSN 0028-4793.

MS, M. D. S. D. B. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 2006. Disponível em: < [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_viscerai.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscerai.pdf) >. Acesso em: 2 de janeiro.

\_\_\_\_\_. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2007. Disponível em: < [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_2ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_2ed.pdf) >. Acesso em: 2 de janeiro.

\_\_\_\_\_. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). 2017. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-tegumentar-americana-lta> >. Acesso em: 30 de dezembro.

\_\_\_\_\_. Doença de Chagas. 2018. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/vigidesastres/930-saude-de-a-a-z/doenca-de-chagas> >. Acesso em: 4 de janeiro.

NETTLES, V. F. et al. Rabies in translocated raccoons. **American Journal of Public Health**, v. 69, n. 6, p. 601-602, 1979. ISSN 0090-0036.

NOLET, B. et al. Infectious diseases as main causes of mortality to beavers *Castor fiber* after translocation to the Netherlands. **Journal of Zoology**, v. 241, n. 1, p. 35-42, 1997. ISSN 1469-7998.

PADILLA-TORRES, S. D. et al. Modeling dengue vector dynamics under imperfect detection: three years of site-occupancy by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban Amazonia. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e58420, 2013. ISSN 1932-6203.

PAHO, O. P.-A. D. S. Leishmaniasis. 2017. Disponível em: <  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=article&id=29&Itemid=40754](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=29&Itemid=40754)<=en >. Acesso em: 2 de janeiro.

PAIVA-CAVALCANTI, M.; REGIS-DA-SILVA, C.; GOMES, Y. Comparison of real-time PCR and conventional PCR for detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* infection: a mini-review. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, n. 4, p. 537-542, 2010. ISSN 1678-9199.

PATTERSON, J. S.; BARBOSA, S. E.; FELICIANGELI, M. D. On the genus *Panstrongylus* Berg 1879: evolution, ecology and epidemiological significance. **Acta tropica**, v. 110, n. 2-3, p. 187-199, 2009. ISSN 0001-706X.

PITA-PEREIRA, D. et al. SYBR Green-based real-time PCR targeting kinetoplast DNA can be used to discriminate between the main etiologic agents of Brazilian cutaneous and visceral leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 15, 2012. ISSN 1756-3305.

PUGEDO, H. et al. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 1, p. 70-72, 2005. ISSN 0037-8682.

RAPELLO, A. et al. An updated list of sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the Federal District of Brazil. **Check List**, v. 14, n. 1, p. 213-224, 2018.

RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. In: (Ed.). **Neglected Tropical Diseases-Latin America and the Caribbean**: Springer, 2015. p.45-71.

ROCHA, F. L. et al. *Trypanosoma cruzi* infection in neotropical wild carnivores (Mammalia: Carnivora): at the top of the *T. cruzi* transmission chain. **Plos one**, v. 8, n. 7, p. e67463, 2013. ISSN 1932-6203.

RODRIGUEZ, M.; HOOGHUIS, H.; CASTAÑO, M. African horse sickness in Spain. **Veterinary microbiology**, v. 33, n. 1-4, p. 129-142, 1992. ISSN 0378-1135.

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. ISSN 2213-2244.

SASTRE, N. et al. Detection of Leishmania infantum in captive wolves from Southwestern Europe. **Veterinary parasitology**, v. 158, n. 1-2, p. 117-120, 2008. ISSN 0304-4017.

SHERLOCK, Í. A. et al. Natural infection of the opossum Didelphis albiventris (Marsupialia, Didelphidae) with Leishmania donovani, in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 4, p. 511-511, 1984. ISSN 0074-0276.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; CARVALHO, N. B. Oral transmission of Chagas disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 6, p. 845-852, 2012. ISSN 1537-6591.

SHIMABUKURO, P. H. F.; DE ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, n. 660, p. 67, 2017.

SULLIVAN, J. J. et al. Trypanosomes and microfilariae in feral owl and squirrel monkeys maintained in research colonies. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 49, n. 2, p. 254-259, 1993. ISSN 0002-9637.

SVOBODOVÁ, M. et al. Sergeia podlipaevi gen. nov., sp. nov. (Trypanosomatidae, Kinetoplastida), a parasite of biting midges (Ceratopogonidae, Diptera). **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 57, n. 2, p. 423-432, 2007. ISSN 1466-5034.

SZB, S. D. Z. E. A. D. B. **Relatório Anual de Gestão** 2014.

TALMI-FRANK, D. et al. Detection and identification of old world Leishmania by high resolution melt analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 1, p. e581, 2010. ISSN 1935-2735.

VALADAS, S. et al. Prevalence of antibodies to Trypanosoma cruzi, Leishmania infantum, Encephalitozoon cuniculi, Sarcocystis neurona, and Neospora caninum in Capybara, Hydrochoerus hydrochaeris, from São Paulo State, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 3, p. 521-524, 2010. ISSN 0022-3395.

VALENÇA-BARBOSA, C. et al. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect II: drivers of site-occupancy by synanthropic Triatoma brasiliensis in the Brazilian northeast. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2861, 2014. ISSN 1935-2735.

VILLELA, M. M. et al. Analysis on the food source of Panstrongylus megistus (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) and its present importance as a vector for Trypanosoma cruzi, in the State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 125-128, 2010. ISSN 0037-8682.

VOTÝPKA, J. et al. Kentomonas gen. n., a New Genus of Endosymbiont-containing Trypanosomatids of Strigomonadinae subfam. n. **Protist**, v. 165, n. 6, p. 825-838, 2014. ISSN 1434-4610.

WALLACE, F. G. et al. Guidelines for the description of new species of lower trypanosomatids. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 30, n. 2, p. 308-313, 1983. ISSN 1550-7408.

**WHO, W. H. O.** Chagas disease (American trypanosomiasis). 2017. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/> >. Acesso em: 23 dezembro.

WISNIVESKY-COLLI, C. et al. Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. Trypanosoma cruzi infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 1, p. 38-41, 1992. ISSN 0035-9203.

ZETUN, C. B. et al. INFECÇÃO POR Trypanosoma cruzi EM ANIMAIS SILVESTRES PROCEDENTES DE ZOOLOGICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 1, p. 139-147, 2014. ISSN 2178-3764.

ZICCARDI, M.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. The infection rates of trypanosomes in squirrel monkeys at two sites in the Brazilian Amazon. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 465-470, 1997. ISSN 0074-0276.



**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 11 de outubro de 2016.

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "TRIPANOSSOMATÍDEOS EM MAMÍFEROS SILVESTRES E POTENCIAIS INSETOS VETORES NO ZOOLOGICO DE BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL, BRASIL.", UnBDoC n.º 66711/2016, sob responsabilidade do Professor Rodrigo Gurgel Gonçalves foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Espécies silvestres (162)*. A presente aprovação é válida pelo período de 08/10/2016 a 1º/07/2018.



*Paula Diniz Galera*

Profa. Dra. Paula Diniz Galera  
Coordenadora da CEUA – UnB



\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54912-1	Data da Emissão: 16/08/2016 10:30	Data para Revalidação*: 15/09/2017
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

\* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

#### Dados do titular

Nome: FILIPE CARNEIRO REIS	CPF: 003.471.171-63
Título do Projeto: Tripanossomatídeos em Mamíferos Silvestres e Potenciais Insetos Vetores no Zoológico de Brasília, Distrito Federal, Brasil.	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA	CNPJ: 00.038.174/0001-43

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material biológico	10/2016	12/2018

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que específica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	BRASILIA	DF	FUNDAÇÃO JARDIM ZOOLOGICO DE BRASILIA	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Rodentia
2	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Cingulata, Perissodactyla, Primates, Canidae, Procyonidae, Myrmecophagidae, Rodentia, Mustelidae, Felidae
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Rodentia

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Carnívoros)	Outras amostras biológicas(saliva), Sangue
---	----------------------------------	--

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 99915379



Página 1/3





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54912-1	Data da Emissão: 16/08/2016 10:30	Data para Revalidação*: 15/09/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: FILIPE CARNEIRO REIS	CPF: 003.471.171-63
Título do Projeto: Tripanossomatídeos em Mamíferos Silvestres e Potenciais Insetos Vetores no Zoológico de Brasília, Distrito Federal, Brasil.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA	CNPJ: 00.038.174/0001-43

2	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue, Outras amostras biológicas(saliva)
3	Amostras biológicas (Primatas)	Outras amostras biológicas(saliva), Sangue
4	Amostras biológicas (Tamanduás)	Outras amostras biológicas(saliva), Sangue
5	Amostras biológicas (Tatus)	Sangue, Outras amostras biológicas(saliva)
6	Método de captura/coleta (Carnívoros)	Outros métodos de captura/coleta(PUAÇA E CAMBIAMENTO DE CONTENÇA/O)
7	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Captura manual, Puçá, Outros métodos de captura/coleta(BRETE), Laço de Lutz
8	Método de captura/coleta (Primatas)	Puçá, Captura manual
9	Método de captura/coleta (Tamanduás)	Puçá, Captura manual, Laço de Lutz
10	Método de captura/coleta (Tatus)	Captura manual, Puçá

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 99915379



Página 2/3





Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 54912-1	<b>Data da Emissão:</b> 16/08/2016 10:30	<b>Data para Revalidação*:</b> 15/09/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: FILIPE CARNEIRO REIS	CPF: 003.471.171-63
Título do Projeto: Tripanossomatídeos em Mamíferos Silvestres e Potenciais Insetos Vetores no Zoológico de Brasília, Distrito Federal, Brasil.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA	CNPJ: 00.038.174/0001-43

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 99915379**



Página 3/3



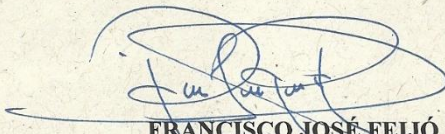


## CARTA DE ANUÊNCIA

Aceito que o (a) (s) pesquisador (a) (s) Filipe Carneiro Reis (s) pertencente à (ao) Universidade de Brasília UNB desenvolva sua pesquisa intitulada "*Tripanossomatídeos em mamíferos silvestres e potenciais insetos vetores no zoológico de Brasília, Distrito Federal, Brasil*", sob orientação do (a) professor (a) Rodrigo Gurgel Gonçalves, tal como foi apresentada a esta Fundação.

Ciente dos objetivos, métodos e técnicas que serão usados nesta pesquisa, concordamos em fornecer todos os subsídios para seu desenvolvimento, desde que sejam cumpridas todas as obrigações estabelecidas nas normas e diretrizes para a realização de projetos de pesquisa nas dependências da Fundação Jardim Zoológico de Brasília – FJZB. Salientamos que no caso do não cumprimento das referidas obrigações a FJZB tem a liberdade de retirar a anuência a qualquer momento da pesquisa sem penalização alguma.

Brasília, 21 de setembro de 2016.

  
**FRANCISCO JOSÉ FEIJÓ PAIVA**  
Diretor de Pesquisa da FJZB