

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA –
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

TESE

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ALTITUDE NOS VALORES
HEMATOLÓGICOS E PESQUISA DE HEMOPARASITOS DO
GÊNERO *Trypanosoma* EM ROEDORES SILVESTRES DO PARQUE
NACIONAL DO ITATIAIA

Ágatha Ferreira Xavier de Oliveira

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA –
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**Avaliação dos efeitos da altitude nos valores hematológicos e pesquisa de
hemoparasitos do gênero *Trypanosoma* em roedores silvestres do
Parque Nacional do Itatiaia**

ÁGATHA FERREIRA XAVIER DE OLIVEIRA

Sob a Orientação da Professora
Cristiane Divan Baldani

e Coorientação do Pesquisador
Roberto do Val Vilela

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor** no
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências
Clínicas, Área de Concentração em
Patologia Animal

Seropédica, RJ
Março de 2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F263a Ferreira Xavier de Oliveira, Ágatha, 1993-
Avaliação dos efeitos da altitude nos valores
hematológicos e pesquisa de hemoparasitos do gênero
Trypanosoma em roedores silvestres do Parque
Nacional do Itatiaia / Ágatha Ferreira Xavier de
Oliveira. - Seropédica, 2024.
64 f.: il.

Orientadora: Cristiane Divan Baldani.
Coorientadora: Roberto do Val Vilela.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, 2024.

1. Ordem Rodentia. 2. Análise Hematológica. 3.
Gradiente altitudinal. 4. Tripanosomatídeos. 5.
Biologia molecular. I. Divan Baldani, Cristiane, 1978
, orient. II. do Val Vilela, Roberto, 1974-,
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-graduação em Medicina
Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA -
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

ÁGATHA FERREIRA XAVIER DE OLIVEIRA

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor** em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Área de Concentração em Patologia Animal.

TESE APROVADA EM 15/04/2024

Cristiane Divan Baldani. Dra.
UFRRJ(Orientadora)

Andresa Guimarães. Dra. UFRRJ

Daniel de Almeida Balthazar. Dr. UFRRJ

Juliana Macedo Raimundo. Dra. UFRRJ

Aline Moreira de Souza. Dra. UFF

Carina Franciscato. Dra. UFJF



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E CONTRATOS

FOLHA DE ASSINATURAS

TERMO N° 275/2024 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.00.51)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 24/04/2024 15:47)

ANDRESA GUIMARAES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.00.53)
Matrícula: ###244#9

(Assinado digitalmente em 24/04/2024 15:45)

CRISTIANE DIVAN BALDANI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.00.53)
Matrícula: ###724#0

(Assinado digitalmente em 25/04/2024 12:57)

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.00.53)
Matrícula: ###187#3

(Assinado digitalmente em 24/04/2024 16:34)

JULIANA MACEDO RAIMUNDO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.00.54)
Matrícula: ###591#0

(Assinado digitalmente em 24/04/2024 19:21)

CARINA FRANCISCATO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.410-##

(Assinado digitalmente em 25/04/2024 12:12)

ALINE MOREIRA DE SOUZA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.317-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 275,
ano: 2024, tipo: **TERMO**, data de emissão: 24/04/2024 e o código de verificação: **efd4748d85**

Dedico este trabalho à minha avó Marlene
Xavier (*in memoriam*), minha grande
inspiração de amor e dedicação ao ensino.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que, sobretudo me proporcionou o dom da vida, guiando-me e encorajando-me por todos os caminhos. A Ele seja toda honra, glória e louvor.

Aos meus pais, André Luís Ferreira Xavier de Oliveira e Lilian Ferreira Xavier de Oliveira, por todo amor dedicado à minha criação, pelos sonhos compartilhados, pelas abdições e pelos ensinamentos sobre o amor do Senhor Jesus. Hoje sou fruto de todo esforço de vocês, minha eterna gratidão.

Ao meu irmão, Guilherme Ferreira Xavier de Oliveira, pelos momentos de irmandade e companheirismo. Apesar de seguirmos nossas vidas atarefadas, sei que tenho um grande amigo que torce por mim.

Ao meu companheiro, Caio Junior Balduino Coutinho Rodrigues, que junto as nossas cachorras Nora e Dopinha, formam a nossa família. Obrigada por sempre me incentivar, pelo seu cuidado, amor e dedicação. Pelas longas horas de conversas, risadas e choros. Você é uma grande inspiração. Conte comigo sempre.

À minha orientadora, Dra. Cristiane Divan Baldani, que ao longo desses oito anos de orientação, entre iniciação científica, residência, mestrado e por fim doutorado, sempre esteve ao meu lado. A senhora sempre acreditou no meu potencial, até mesmo quando eu não acreditava. Os frutos de sua dedicação são notórios. Quero que saiba que sempre serei sua eterna orientada e obrigada por tudo e por tanto.

Ao meu coorientador, Dr. Roberto do Val Villela e ao Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), que me proporcionaram momentos em campo que foram extremamente marcantes em minha trajetória. Obrigada pela confiança em meu trabalho, pelas inúmeras explicações sobre trilhas, armadilhas, roedores e sua complexa taxonomia.

À toda equipe que compõe o Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LABVET) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e aos professores, Dra. Andresa Guimarães e Dr. Carlos Henrique Machado, por todo auxílio, pelas conversas e cafezinhos.

Aos meus companheiros de pós-graduação, Naiara Vidal Stocco, Elisabeth Neves Mureb, Alexandre Carvalho Costa, que sempre estiveram comigo. Pelos grandes momentos de parceria, de risada, de choro e sempre de muito trabalho (e amor ao trabalho). Tudo sempre foi mais leve com vocês, obrigada por sempre torcerem por mim. É recíproco. Contem comigo.

Aos meus amigos, Isabela Pessoa, Américo de Castro, Gabriela Almeida, Túlio Reis, Juliana Macedo, Gracy Marcello e Mariah Ceregatti, obrigada por sempre estarem comigo, vibrando e torcendo por minhas conquistas. A amizade é tudo, é porto seguro, é festa, é alívio.

Aos professores que compõem o Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV/UFRRJ), e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por todos esses anos, me proporcionando momentos e encontros que me tornaram a pessoa e profissional que sou hoje. “Uma vez Veterinária, Veterinária da Rural!”

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

BIOGRAFIA

Ágatha Ferreira Xavier de Oliveira, filha de André Luís Ferreira Xavier de Oliveira e Lilian Ferreira Xavier de Oliveira, nascida em 19 de julho de 1993, na cidade do Rio de Janeiro – RJ. Coursou o ensino fundamental na Escola Augusto Vasconcelos - RJ entre os anos de 2000 a 2004, no Ensino Fundamental Colônia Z8 – CE no ano de 2005, e no Colégio Magali - RJ no período de 2006 a 2008. Realizou o primeiro ano do segundo grau no CIEP Brizolão 225 Mário Quintana – RJ, segundo e terceiro ano no Colégio Santa Bárbara, entre os anos de 2010 a 2011.

No ano de 2012, ingressou no curso de Medicina Veterinária, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no Município de Seropédica – RJ. Durante a graduação, realizou projetos de iniciação científica e monitoria na área de Patologia Clínica Veterinária, entre os anos de 2016 e 2017, no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LABVET UFRRJ).

Graduou-se em Medicina Veterinária no ano de 2018 e ingressou, no mesmo ano, no Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária, na área de Patologia Clínica Veterinária da UFRRJ.

Em 2020, após conclusão de sua especialização e defesa do trabalho de conclusão, ingressou no Mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas da UFRRJ - Seropédica, RJ, sob orientação da professora Dra. Cristiane Divan Baldani, tendo defendido sua dissertação ao final do ano de 2021.

Ainda no ano de 2021, ingressou no Doutorado pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas da UFRRJ - Seropédica, RJ, também sob orientação da professora Dra. Cristiane Divan Baldani.

No ano de 2024 foi aprovada no concurso público para docente em Patologia Clínica Veterinária pela Universidade Estadual de Maringá (UEM) *campus* Umuarama.

RESUMO

OLIVEIRA, Ágatha Ferreira Xavier de. **Avaliação dos efeitos da altitude nos valores hematológicos e pesquisa de hemoparasitos do gênero *Trypanosoma* em roedores silvestres do Parque Nacional do Itatiaia**. 2024. 51 p. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária. Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

A diversidade de roedores é notável nos mais variados tipos de habitats, despertando considerável interesse nas pesquisas relacionadas aos mecanismos adaptativos além da propagação de doenças transmissíveis. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da altitude nos valores hematológicos e pesquisar hemoparasitos do gênero *Trypanosoma* em roedores silvestres do Parque Nacional do Itatiaia. Foram incluídos ao estudo 114 roedores, machos e fêmeas, advindos de regiões de baixa e elevada altitude, entre 800 a 1500m e 2000 a 2500m respectivamente, utilizando-se armadilhas iscadas (SISBIO 74498-7). Após a captura e imediatamente após a eutanásia amostras de sangue foram colhidas através de punção cardíaca (CEUA/IOC-035/2018). Análises hematológicas foram conduzidas em roedores pertencentes à Família Cricetidae (Subfamília Sigmodontinae) devido à maior representatividade do grupo além de sua estrita proximidade evolutiva. Uma investigação direta através da observação em esfregaço sanguíneo e detecção por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) visando o gene 18S rRNA de parasitas do gênero *Trypanosoma* também foi realizada neste trabalho em todos os indivíduos da região alta e em cinco roedores do gênero *Rhipidomys* {Tschudi, 1845} da região baixa. Sobre as análises hematológicas comparativas, os valores de hematócrito e eosinófilos foram superiores nos roedores machos da região baixa. Além disto, aumento na contagem total de leucócitos foi atribuído ao aumento nas contagens individuais de neutrófilos, linfócitos e monócitos em machos e fêmeas desta mesma região (parte baixa). Os animais pertencentes à parte alta demonstraram valores superiores apenas em relação à proteína plasmática total e à plaquetometria, sendo este último dado observado apenas em machos. A detecção de *Trypanosoma* sp. em roedores da região alta (N=74) demonstrou uma taxa de 18,92% (N=14), sendo 20% (N=7) em machos e 16,22% (N=6) em fêmeas pertencentes aos gêneros *Akodon* {Meyen, 1833}, *Bucepattersonius* {Hershkovitz, 1998}, *Castoria* {Pardiñas, Geise, Ventura, Lessa, 2016} e *Oligoryzomys* {Bangs, 1900}. Das amostras de roedores do gênero *Rhipidomys* {Tschudi, 1845} da parte baixa testadas na PCR, uma taxa de 20% (N=1) de positividade foi observada em um único indivíduo macho. Formas tripomastigotas foram identificadas em lâminas de esfregaço sanguíneo de cinco animais que também demonstraram-se positivos na PCR. Os dados deste estudo indicam a existência de variados padrões hematológicos entre sigmodontíneos ao longo dos gradientes de altitude, além de constatar a presença de *Trypanosoma* sp. em roedores silvestres de ambas as regiões do Parque Nacional do Itatiaia. Estes achados fomentam novos estudos epidemiológicos, que visam elucidar o papel desempenhado por esses roedores na propagação de enfermidades na fauna doméstica, silvestre e na saúde humana.

Palavras-chave: Rodentia; hematologia, tripanosomatídeos.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Ágatha Ferreira Xavier de. **Assessment of the effects of altitude on hematological values and research on *Trypanosoma* hemoparasites in wild rodents from Parque Nacional do Itatiaia.** 2024. 51 p. Thesis (Doctorate degree in Veterinary Medicine). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

The diversity of rodents is remarkable in various types of habitats, arousing considerable interest in research related to adaptive mechanisms beyond the spread of transmissible diseases. This study aimed to evaluate the effects of altitude on hematological values and to investigate hemoparasites of the genus *Trypanosoma* in wild rodents from Parque Nacional do Itatiaia. A total of 114 rodents, males and females, from low and high-altitude regions, between 800 to 1500m and 2000 to 2500m respectively, were included in the study, using baited traps (SISBIO 74498-7). After capture and immediately following euthanasia, blood samples were collected via cardiac puncture (CEUA/IOC-035/2018). Hematological analyses were conducted on rodents belonging to the Cricetidae Family (Subfamily Sigmodontinae) due to the group's greater representativeness and its close evolutionary proximity. A direct investigation through blood smear observation and detection via Polymerase Chain Reaction (PCR) targeting the 18S rRNA gene of *Trypanosoma* parasites was also conducted in all individuals from the high-altitude region and in five rodents of the genus *Rhipidomys* {Tschudi, 1845} from the low-altitude region. Regarding comparative hematological analyses, hematocrit and eosinophil values were higher in male rodents from the low-altitude region. Additionally, an increase in total leukocyte count was attributed to an increase in individual counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes in males and females from this same region (low part). Animals from the high part showed higher values only in relation to total plasma protein and platelet count, with the latter data observed only in males. The detection of *Trypanosoma* sp. in rodents from the high-altitude region (N=74) demonstrated a rate of 18.92% (N=14), with 20% (N=7) in males and 16.22% (N=6) in females belonging to the genera *Akodon* {Meyen, 1833}, *Brucepattersonius* {Hershkovitz, 1998}, *Castoria* {Pardiñas, Geise, Ventura, Lessa, 2016}, and *Oligoryzomys* {Bangs, 1900}. From the samples of rodents of the genus *Rhipidomys* {Tschudi, 1845} from the low part tested in PCR, a positivity rate of 20% (N=1) was observed in a single male individual. Trypomastigote forms were identified in blood smear slides from five animals that also tested positive in PCR. The data from this study indicate the existence of varied hematological patterns among sigmodontine rodents along altitude gradients, as well as the presence of *Trypanosoma* sp. in wild rodents from both regions of Parque Nacional do Itatiaia. These findings encourage further epidemiological studies aimed at elucidating the role played by these rodents in the spread of diseases in domestic, wild fauna, and human health.

Keywords: Rodentia; haematology; trypanosomatids.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores e das condições de termociclagem para as reações de PCR utilizadas para detecção molecular de <i>Trypanosoma</i> sp. baseadas no gene 18S rRNA.	18
Tabela 2. Lista de espécies de roedores capturados que obtiveram análises hematológicas nas partes alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia, RJ, 2024.....	19
Tabela 3. Parâmetros hematológicos identificados em roedores machos da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae, das regiões alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ. Determinação dos valores médios, desvio padrão, valores mínimo e máximo, erro padrão e diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$).....	20
Tabela 4. Parâmetros hematológicos identificados em roedores fêmeas da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae, das regiões alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ. Determinação dos valores médios, desvio padrão, valores mínimo e máximo, erro padrão e diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$).....	21
Tabela 5. Pesquisa da infecção por <i>Trypanosoma</i> sp. em roedores da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae: distribuição por sexo, número de animais, resultados moleculares e morfológicos e distribuição por gêneros no Parque Nacional do Itatiaia - RJ, 2024.	29
Tabela 6. Relação dos roedores da Família Cricetidae positivos para <i>Trypanosoma</i> : distribuição por gênero, local apreendido, trilha, ponto da trilha, tipo de armadilha e sexo no Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024.	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das principais formas evolutivas do parasito <i>Trypanosoma cruzi</i> . Adaptado por Soto e Cappa (2019). Chagas disease: a clinical approach. Birkhäuser advances in infectious diseases. Cham: Springer. p. 27.	8
Figura 2. Mapa do Parque Nacional do Itatiaia com destaque em azul para a área dos pontos de coleta de Pequenos Mamíferos durante os anos de 2022-2023, RJ. Fonte: Google Earth.....	15
Figura 3. Armadilhas do tipo Tomahawk® (A) e Sherman® (B) estrategicamente posicionadas nas margens das trilhas científicas, ao nível do solo e sub-bosque no Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2023. Fonte: OLIVEIRA, ÁFX (2024).....	16
Figura 4. Colheita sanguínea por meio de punção cardíaca em roedor (Rodentia, Cricetidae) do Parque Nacional do Itatiaia, posicionado em decúbito dorsal, com inserção da agulha na região torácica medial, abaixo do esterno (seta amarela) - RJ, 2023. Fonte: OLIVEIRA, ÁFX (2024).	17
Figura 5. Comparação dos valores de hematócrito (%) de roedores Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.	22
Figura 6. Comparação dos valores de Proteína Plasmática (g/dL) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.....	23
Figura 7. Comparação da Plaquetometria de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.	24
Figura 8. Comparação da Leucometria Total (cél/s/μl) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.....	26
Figura 9. Comparação da contagem diferencial de neutrófilos (cél/s/μl), linfócitos (cél/s/μl), monócitos (cél/s/μl) e eosinófilos (cél/s/μl) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.	27
Figura 10. Formas tripomastigotas de <i>Trypanosoma</i> sp. identificadas em esfregaço sanguíneo de roedor da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae da parte alta do Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024. Coloração hematológica Giemsa, aumento de 400x. Fonte: OLIVEIRA, ÁFX (2024).	31
Figura 11. Formas tripomastigotas de <i>Trypanosoma</i> sp. identificadas em esfregaço sanguíneo de roedor da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae da parte baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024. Coloração hematológica Giemsa, aumento de 1000x. Fonte: OLIVEIRA, ÁFX (2024).....	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Biodiversidade e a Saúde Única	2
2.2 Parque Nacional do Itatiaia - RJ	2
2.3 Ordem Rodentia.....	3
2.4 Classificação dos Roedores	4
2.4.1 Família Cricetidae Fischer, 1817	4
2.5 Hematologia dos Roedores.....	6
2.6 Gênero <i>Trypanosoma</i> e Espécies Identificadas em Roedores	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Área do Estudo	14
3.2 Comitê de Ética	15
3.3 Captura dos Animais	15
3.4 Colheita e Processamento de Amostras Sanguíneas	16
3.5 Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).....	17
3.5.1 Extração e quantificação de DNA	17
3.5.2 PCR <i>Trypanosoma</i> sp. baseada no gene 18s rRNA (SSU)	18
3.5.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose	18
3.6 Análise Estatística	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Espécies Amostradas	19
4.2 Comparação Hematológica entre Sigmodontíneos (Parte Baixa X Parte Baixa).....	20
4.3 Diagnóstico de <i>Trypanosoma</i> sp.	28
5. CONCLUSÃO.....	32
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS.....	50
ANEXO A – Autorização MMA/ ICMBio/ SISBIO	50
ANEXO B - Aprovação da CEUA IOC-Fiocruz	51

1. INTRODUÇÃO

Os roedores representam uma vasta e diversificada classe de mamíferos que desempenham papéis significativos nos ecossistemas naturais, sendo isto intimamente relacionado à capacidade adaptativa aos diferentes tipos de habitats além da alta taxa de reprodução, embora haja variações considerável entre as espécies. Na natureza, promovem a dispersão de sementes e esporos, polinização, modificações na composição da vegetação, além de servirem como fonte de alimento para muitos predadores. Além do contexto de importância ecológica, muitos roedores também recebem destaque em pesquisas médicas, servindo como modelos biológicos, pela facilidade de manuseio, rápido ciclo de vida e semelhanças genéticas com os seres humanos, permitindo grande avanços neste nicho ao longo os anos. Diante deste fato, grande parte dos estudos em roedores são direcionados a linhagens criadas em laboratório, principalmente quando se fala sobre padrões hematológicos de referência.

Compreender que os fatores ambientais podem afetar diretamente os dados hematológicos é crucial, sendo necessário se considerar ao interpretá-los em estudos sobre ecologia, conservação e bem-estar. Em resumo, quando se pensa em roedores de laboratório, por serem criados em ambientes controlados com dietas específicas, disponibilidade de água e muitos outros recursos, suas variáveis hematológicas podem não servir como modelo comparativo em espécies de vida livre, dificultando o monitoramento em saúde na ampla gama de espécies, indicando-se a necessidade de novas pesquisas de forma contínua.

A Mata Atlântica é uma das florestas tropicais mais importantes das Américas, abrigando muitas espécies selvagens, incluindo roedores, sendo um ecossistema complexo com biodiversidade única, que desperta uma grande preocupação quando se pensa em conservação.

O presente trabalho concentrou-se na pesquisa de mamíferos que compõem este cenário, mais precisamente no Parque Nacional do Itatiaia, localizado na região sudeste do Brasil. O local abrange parte dos municípios de Itatiaia e Resende, localizados no estado do Rio de Janeiro, além de uma pequena porção da Bocaina de Minas, localizada no estado de Minas Gerais. Neste contexto, destaca-se uma subfamília de roedores locais, Sigmodontinae, apresentando grande abundância de espécies. Além da compreensão acerca da diversidade desta subfamília, objetivou-se também indicar seus parâmetros hematológicos, além de identificar a influência das variações ambientais, como as mudanças no gradiente de altitude sobre eles. Tais informações fomentam a compreensão dos mecanismos adaptativos aos diferentes nichos ecológicos, bem como as pressões seletivas que as espécies locais enfrentam.

Somado à pesquisa hematológica, uma busca sobre a ocorrência de parasitos do gênero *Trypanosoma* também foi realizada nos roedores das áreas de elevada altitude, com o auxílio de técnicas moleculares e visualização de formas tripomastigotas por microscopia. Espécies potencialmente zoonóticas são descritas em roedores selvagens, destacando-se a importância de estudos epidemiológicos e ecológicos de forma contínua, que incluam a distribuição geográfica, prevalência, bem como fatores de risco associados a infecção.

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da altitude nos valores hematológicos e pesquisar hemoparasitos do gênero *Trypanosoma* em roedores silvestres do Parque Nacional do Itatiaia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biodiversidade e a Saúde Única

O conceito de "biodiversidade" em sua extensão completa "diversidade biológica", foi inicialmente utilizado por Lovejoy em 1980. De acordo com a Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB, 1992), essa nomenclatura abrange a variedade presente dentro das espécies, entre diferentes espécies e sua inserção nos diversos ecossistemas. No entanto, apesar da sua importância crucial para a sustentabilidade do planeta e para o bem-estar humano, a biodiversidade enfrenta uma série de desafios significativos. A degradação e destruição de ecossistemas e habitats, juntamente com a exploração direta de espécies, estão no topo da lista como principais impulsionadores do declínio da biodiversidade global (Cerdeira et al., 2023), com perda de aproximadamente 83% da biomassa de mamíferos selvagens segundo a Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos (IPBES, 2021).

Um fator agravante quando se pensa em biodiversidade é que, somado as ações antrópicas diretas sobre a vida animal, como por exemplo caças, atropelamentos e descargas elétricas, também observa-se a intensificação de eventos climáticos e catástrofes naturais, contribuindo substancialmente à extinção de espécies (Tilman et al., 2017). Neste sentido, investigações sobre como estes animais respondem a fatores de estresse naturais e antropogênicos, principalmente quando se pensa em poluentes ambientais emergentes (Pal et al., 2010), tornam-se fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de conservação (Todgham; Stillman, 2013; Maceda-Veiga et al., 2014).

Com a crescente demanda, e pensando nos esforços sobre Saúde única ("One Health"), atividades de conservação da vida selvagem e da biodiversidade ofertam oportunidades a médicos veterinários, e promovem uma crescente ao desenvolvimento de pesquisa na área (Dhama et al., 2013; Cerdeira et al., 2023). Desde 2004, a Wildlife Conservation Society (WCS) segue encorajando estudos relacionados a zoonoses emergentes, bem como a integridade dos ecossistemas e da conservação da biodiversidade, sendo o diagnóstico de saúde na vida selvagem um ponto chave que contribui para a melhor compreensão sobre a dinâmica de diversas doenças, incluindo as de interesse humano, uma vez em que estes indivíduos albergam uma variedade de agentes infecciosos (Rodríguez-Luna et al., 2024).

2.2 Parque Nacional do Itatiaia - RJ

O Parque Nacional do Itatiaia (PNI) é uma unidade de conservação de grande importância para o Brasil, especialmente quando se pensa na biodiversidade da Mata Atlântica. A unidade é administrada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), e abrange aproximadamente 28.000 hectares. Está localizado no Maciço do Itatiaia na Serra da Mantiqueira, abrangendo os municípios de Resende e Itatiaia, no sudeste do Estado do Rio de Janeiro, e os municípios de Bocaina de Minas e Itamonte ao sul do Estado de Minas Gerais. Ele foi criado em 14 de junho de 1937, pelo Decreto Federal nº 1.713 (Barreto et al., 2013).

É uma área biogeograficamente interessante, com variadas formações vegetais e um clima subtropical que abriga diversas espécies de plantas e animais (Costa et al., 2018). Ao longo do gradiente de altitude, que varia de 400 a 2.790 metros, o parque é recoberto

principalmente por Mata Atlântica Montana e Floresta Estacional Semidecidual, compostas por quatro comunidades vegetais principais: Floresta Submontana (400 a 499 m), Floresta Ombrófila Mista Montana (500 a 1499 m), Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana (1500 a 1999 m) e Campos de Alta Altitude (acima 2.000 m) (IBAMA, 1994; Geise et al., 2004).

Possui grande importância geológica devido à ocorrência de um tipo de rocha eruptiva que é incomum no Brasil, além da diversidade dos relevos montanhosos que inclui as encostas e o topo do planalto do Itatiaia (Serra da Mantiqueira), com destaque ao Pico das Agulhas Negras, sendo o sétimo ponto mais alto do Brasil. Historicamente, a flora primitiva da região sofreu grande impacto no período de 1908 a 1918 com a implantação de culturas agrícolas, principalmente de café e laranja, e extração madeireira para a construção de estradas de ferro. Porém, a instauração do parque é um marco significativo na história das políticas ambientais brasileiras, e reflete o início para esforços de conservação no país (Pereira, 2022).

Sobre a composição da fauna local, o PNI tem atraído atenção especialmente pela grande variedade de mamíferos locais. Geise et al. (2004) destacam a Ordem Rodentia pela riqueza de espécies e pelo padrão de distribuição relacionado a variações na altitude. Um dado importante em relação aos roedores encontrados no parque é que se observa um domínio de membros da Subfamília Sigmodontinae (Silva et al., 2007), principalmente da Tribo Akodontini nos Campos de Altitude, assim como o observado no Parque Nacional do Caparaó (Bonvicino et al., 1997). Como exemplo, alguma diferenciação na altitude foi sugerida para o gênero *Akodon*, observando-se que as espécies *A. cursor* ocorrem desde o nível do mar até localidades acima de 800 m, e as espécies *A. montensis*, *A. reigi* e *A. serrensis* ocorrem em altitudes superiores (Geise et al., 2004). Essas e outras informações indicam a necessidade de novos estudos, na tentativa de se compreender a dinâmica das populacionais de roedores locais.

2.3 Ordem Rodentia

O Brasil, como o quinto maior país do mundo em extensão territorial, é reconhecido por abrigar uma das maiores diversidades de mamíferos, contando com mais de 770 espécies descritas (Abreu et al., 2023). Neste contexto, destaca-se a Ordem Rodentia, reconhecida como uma das mais numerosas e diversificadas, abrigando cerca de 267 espécies (Abreu et al., 2023). A palavra roedor é derivada do verbo latino *rodere*, que significa “roer”, referindo-se à dentição altamente especializada apresentada por indivíduos deste grupo (Keeble, 2009).

Apesar de sua diversidade morfológica e ecológica, todos os roedores partilham de tal característica, apresentando um único par de dentes incisivos superiores e um único par de incisivos inferiores hipertrofiados que, na verdade, são segundos incisivos decíduos retidos. Os incisivos não possuem raízes e crescem continuamente, e além disso, existe um intervalo desdentado denominado diastema (Donnelly et al., 2015).

Os músculos mastigatórios destes animais evoluíram para facilitar o roer com os incisivos e a mastigação com os molares, sendo o masseter altamente desenvolvido, estendendo-se anteriormente para originar o rosto. Todos os roedores vivos desenvolveram essa expansão do músculo masseter de uma das três maneiras, denominadas condições ciuromorfa, histicomorfa e miomorfa (Cox et al., 2012; Gomes Rodrigues et al., 2018).

Os roedores estão distribuídos globalmente, exceto na Antártica e em algumas ilhas oceânicas, e exibem uma notável diversidade ecológica, com espécies que passam suas vidas

inteiras na copa das florestas tropicais e outras que raramente deixam o subsolo (Donnelly et al., 2015). Por possuírem ampla distribuição nos mais variados ambientes, estes animais exibem diversos padrões corporais adaptados aos seus respectivos estilos de vida (Tumeleiro, 2011), incluindo roedores corredores, saltadores, escavadores, planadores, semiaquáticos, arborícolas e escaladores (Hafner, Hafner, 1988). Além disso, em relação aos hábitos alimentares, muitos roedores possuem uma dieta onívora, enquanto alguns alimentam-se exclusivamente de certas espécies de invertebrados ou fungos (Donnelly et al., 2015).

A história natural e a biologia dos membros desta ordem apresentam variações substanciais (Delaney et al., 2018), fazendo com que a descoberta de novas espécies em todo o mundo gere novos dados e interpretações, tornando o grupo dinâmico e em constantes mudanças taxonômicas (Keeble, 2009).

2.4 Classificação dos Roedores

Um dos sistemas mais antigos de classificação utilizada em roedores é a proposta por Brandt (1855), havendo a divisão em três subordens: Sciuromorpha, Myomorpha e Hystricomorpha, com base em características morfológicas como o arco zigomático, o forâmen infraorbital e a inserção do músculo masseter (Carleton; Musser, 2005). Neste tipo de classificação os esquilos e marmotas pertencem ao grupo dos sciuromorfos; ratos, hamsters e camundongos ao grupo dos miomorfos; e os roedores sul-americanos (cotias, ouriços, capivaras, preás, chinchilas, pacas, entre outros) ao grupo dos hystricomorfos, recebendo uma nomenclatura especial, *Caviomorpha* (Mckenna; Bell, 1997).

Um segundo tipo de classificação proposto por Tullberg (1899) separou os roedores em duas subordens: Sciurognathi e Hysticognathi, com base na posição dos incisivos e no ângulo da mandíbula (Carleton; Musser, 2005). Destes dois grandes grupos, apenas Hystricognathi forma um clado fortemente apoiado em filogenias a partir de dados moleculares, e também pela morfologia (Landry, 1999; Fabre et al. 2013).

As propostas mais usuais utilizadas nas delimitações taxonômicas são baseadas em filogenias moleculares, no ângulo do processo angular referente ao plano dos incisivos e no sistema zigomassetérico. A partir disto, a ordem foi dividida em cinco subordens: Anomaluromorpha Bugge, 1974, Castorimorpha Wood, 1955, Myomorpha Brandt, 1855, Sciuromorpha Brandt, 1855 e Hystricomorpha Brandt, 1855 (Wilson et al., 2016; D'Elía et al., 2019; Abreu et al., 2023).

2.4.1 Família Cricetidae Fischer, 1817

Dentro da Subordem Myomorpha Brandt, 1855, estão incluídos os ratos, camundongos, ratos-do-campo, gerbos, hamsters, lemingues alocados entre as Superfamílias Dipodoidea Fischer de Waldheim, 1817 e Muroidea, Illiger, 1811 (Integrated Taxonomic Information System, 2024).

Os roedores da Superfamília Muroidea alocados na Família Cricetidae, compreendem três principais subfamílias nas Américas: Neotominae, Tylomyinae e Sigmodontinae. Enquanto as duas primeiras subfamílias são originárias da América do Norte ou América Central, com algumas espécies se estendendo até a América do Sul, a última é altamente diversificada e predominantemente nativa do continente sul-americano. (Patton et al., 2015).

Com aproximadamente 87 gêneros e mais de 430 espécies (Gonçalves et al., 2020), a Subfamília Sigmodontinae compreende grande parte dos roedores cricetídeos da América do Sul (Pardiñas et al., 2017). A taxonomia dessa subfamília é complexa, sendo os gêneros classificados em dois clados formados ao todo por nove tribos: um clado contendo as tribos Abrothrichini, Akodontini, Oryzomyini, Phyllotini, Reithrodontini, Thomasomyini, Wiedomyini e um outro clado contendo a Sigmodontini e Ichthyomyini. (D'Elia et al., 2007). Alguns gêneros não estão alocados a nenhuma das tribos, sendo considerados como Incertae sedis, sendo eles *Abrawayaomys*, *Andinomys*, *Chinchillula*, *Delomys*, *Euneomys*, *Irenomy*, *Juliomys*, *Neotomys*, *Phaenomys*, *Punomys* e *Wilfredomys* (D'Elia et al., 2007).

A história evolutiva de muitas tribos, gêneros e espécies de sigmodontíneos está intrinsicamente ligada aos biomas sul-americanos e à sua história geológica (Parada et al., 2013). Por apresentarem diversas adaptações ecomorfológicas, seus representantes ocupam uma variedade de habitats que vão desde o nível do mar até grandes altitudes, e florestas tropicais úmidas da Amazônia até regiões mais secas ao longo da costa do Pacífico. Muitos gêneros e espécies se estendem por mais de um tipo de habitat, no entanto, muitos outros parecem estar restritos a habitats específicos como por exemplo, áreas florestadas tropicais com predominância de orizomíneos e tomazomíneos, terras baixas temperadas por akodontíneos, desertos do Piedmont Andino e áreas altas dos Andes por filotíneos, e terras áridas frias, planícies do sul e florestas temperadas e subantárticas por abrotriquíneos (Patton et al., 2015).

Sobre as características morfológicas, demonstram consideráveis variações em relação a massa corporal (Bonvicino et al., 2008), e muitos cricetídeos possuem aparência semelhante a camundongos/ratos, possuindo corpos pequenos e ligeiramente alongados, de coloração variando de cinza, castanho a marrom, com caudas longas (Patton et al., 2015). No entanto, as formas corporais neste grupo demonstram-se bem diversificadas, sendo as adaptações anatômicas intimamente relacionadas aos hábitos de vida de cada grupo de roedor, como por exemplo, os indivíduos fossoriais que apresentam olhos reduzidos, porém, um tato altamente desenvolvido (Johnston, 2003). De maneira geral, os cricetídeos comunicam-se por meio de junções de sinais químicos, táteis, visuais e auditivos (Smith, 1972).

A maior parte dos sigmodontíneos neotropicais são considerados onívoros, incluindo em sua dieta artrópodes, restos de folhas e fibras de plantas, frutos, sementes intactas e esporos micorrízicos (Sahley et al., 2015). A dieta destes indivíduos é influenciada por variações sazonais e disponibilidade de recursos ao longo do ano, principalmente quando se pensa em artrópodes e frutos (Pinotti et al. 2011). Apesar disto, informações sobre a história natural, comportamento alimentar e o papel ecológico desses pequenos roedores nas florestas neotropicais são limitadas, o que torna difícil entender completamente como contribuem para a estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Sahley et al., 2015).

Em relação aos hábitos reprodutivos, são altamente sensíveis, demonstrando picos de atividade reprodutiva e de abundância em resposta a mudanças ambientais (Bonvicino et al., 2002; Luza et al., 2013). A alta atividade reprodutiva é uma característica crucial da história de vida dos cricetídeos, uma vez em que possuem pequeno porte corpóreo e curta expectativa de vida, sendo uma das estratégias utilizadas a geração de grandes ninhadas e ciclos reprodutivos mais frequentes para manutenção dessas espécies (De Lima et al., 2022).

Um dos grandes apelos para estudos nesta subfamília no contexto de saúde única, é o fato de que quatro das nove tribos (Sigmodontini, Oryzomyini, Akodontini e Phyllotini), que incluem a maioria das espécies identificadas na América do Sul, albergam espécies de hantavírus de importância em saúde humana (Palma-Vásquez et al., 2012), além de parasitos como *Trypanosoma* sp., *Leishmania* sp. (Orduña-Mayares et al., 2022), *Schistosoma mansoni* (Miranda et al., 2023) e bactérias como *Leptospira* sp. (Vieira et al., 2019). Apesar de serem potenciais reservatórios, pouco se sabe sobre os parâmetros de saúde nos hospedeiros de vida livre, dados estes que poderiam contribuir para a compreensão das interfaces dos mecanismos de resistência e transmissão de patógenos, conservação de espécies e identificação de ameaças a saúde pública.

2.5 Hematologia dos Roedores

As análises hematológicas são potenciais ferramentas de estudo, aplicáveis ao diagnóstico e monitoramento de doenças, e indiretamente, avaliação da saúde dos ecossistemas (Maceda-Veiga et al., 2015). Apesar de determinadas regras estarem bem estabelecidas na hematologia humana e em animais domésticos, ainda existem lacunas nas análises da fauna silvestre, exigindo cada vez mais o aprimoramento nas técnicas diagnósticas (Cabarcas-Montalvo et al., 2012).

Um dos exemplos que destacam a hematologia como uma ferramenta útil para a avaliação dos impactos antrópicos sobre a biodiversidade é em relação aos efeitos dos poluentes sobre constituintes sanguíneos. A exposição à poluição pode predispor, por exemplo, a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo os eritrócitos as primeiras células a sofrerem efeitos oxidativos (Ruas et al., 2008).

Quando se refere ao hemograma, trata-se de um tipo de avaliação hematológica composta pelo eritrograma (avaliação dos eritrócitos), leucograma (avaliação dos leucócitos) e plaquetograma (avaliação das plaquetas) a partir de amostras sanguíneas não coaguladas (Thrall et al., 2012). Tal avaliação pode ser feita de forma manual, utilizando diluentes e contagens em câmara de Neubauer ou por meio de equipamentos hematológicos automatizados, que originalmente foram desenvolvidos para laboratórios humanos, mas posteriormente foram estabelecidos para espécies veterinárias (Bauer et al., 2012). Além disto, a confecção do esfregaço sanguíneo é uma das etapas cruciais para o hemograma, permitindo a determinação da contagem diferencial de leucócitos, além da observação da morfologia celular e pesquisa de hemoparasitos, ambos com o auxílio da microscopia de luz (Almosny; Monteiro, 2007).

Dentro do eritrograma estão incluídas: contagem total de eritrócitos, determinação do hematócrito e da concentração da hemoglobina. Determina-se o hematócrito pelo método de centrifugação do capilar sanguíneo, em rotação de 10.000 a 12.000 rotações por minuto durante 5 minutos (Thrall et al., 2012). Para a concentração de hemoglobina, utilizam-se kits comerciais e, para se obter os índices hematimétricos (volume corpuscular médio – VCM; concentração de hemoglobina corpuscular média - CHCM) são realizados cálculos considerando os valores do hematócrito, hemoglobina e de hemácias (Latimer et al., 2003). O cálculo manual de hemácias é realizado a partir de uma diluição de 1:200, utilizando-se Líquido de Gower ou solução fisiológica e amostra sanguínea com anticoagulante, contando-se cinco quadrantes centrais da câmara de Neubauer. Ao final, o resultado é multiplicado por 10000 (Jain, 1993).

A contagem manual de leucócitos totais em mamíferos é realizada em uma diluição 1:20, composta por sangue não coagulado e uma solução lisante de hemácias (Líquido de Turk), contando-se os quatro quadrantes laterais da câmara de Neubauer (retículos de leucócitos), multiplicando-se o resultado pelo fator de multiplicação 50 (Jain, 1993). Já para a contagem manual diferencial, realiza-se uma contagem em 100 leucócitos categorizados em neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e neutrófilos imaturos (bastonetes, mielócito e metamielócito). As porcentagens dos tipos celulares são então multiplicadas pela contagem total da leucometria, afim de se determinar a contagem absoluta para cada tipo (Thrall et al., 2012).

É importante destacar que a quantificação e a avaliação morfológica das células sanguíneas permitem identificar condições como anemia, doenças inflamatórias, parasitemias, disfunções hemostáticas e outros distúrbios hematopoiéticos (Almosny; Monteiro, 2007).

Intervalos de referência são uma parte importante de nas análises laboratoriais, sendo projetados como diretrizes durante a interpretação e determinação de um resultado “normal” ou “anormal” (Heatley, Russell, 2020). Porém, um dos principais desafios quanto à interpretação de dados laboratoriais em animais selvagens, incluindo os hematológicos, é a baixa disponibilidade de intervalos de referência para as mais variadas espécies (Etim et al., 2014). Além disso, dentro de uma mesma espécie, existem variáveis significativas que podem influenciá-los, tais como idade, sexo, estado reprodutivo, nutrição, estação do ano, entre outros (Onasanya et al, 2015).

Estes intervalos normalmente são obtidos através dos valores estatísticos média e desvio padrão dos dados que se ajustam a uma distribuição normal (Gaussiana), pressupondo que 95% da população saudável se enquadrará no intervalo de referência estabelecido (Heatley, Russell, 2020). Tal motivo certifica a dificuldade em se obter intervalos para espécies selvagens, dificultando a publicação dos dados e gerando um desafio adicional na interpretação dos resultados (Campbell, 2015).

Os estudos hematológicos de roedores são, em sua grande maioria, direcionados a análises realizadas em animais de laboratório (Percy; Barthold, 2016; Delaney et al., 2018). A dificuldade de acesso aos variados habitats dos roedores selvagens, bem como a obtenção amostral significativa para a determinação de intervalos de referência, torna a patologia clínica para esses animais um grande desafio (Miller; Fowler, 2014). Porém, o que se observa na prática é que há semelhanças entre os grupos domésticos com os de vida livre, possibilitando a realização de análises comparativas (Kleiman et al., 2010).

De maneira geral, quando comparado a outros mamíferos, com exceção do porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), o tamanho eritrocitário dos roedores é reduzido, assim como a meia vida dessas células na circulação periférica (Everds, 2007; Delaney et al., 2018). Nos roedores da Família Muridae (ratos e camundongos) e nos histricomorfos é possível observar intenso sinal de regeneração eritrocitária (O'Connell et al., 2015). Nos esfregaços sanguíneos, observa-se normalmente cerca de 6% de reticulócitos circulantes, o que cursa com anisocitose e policromasia proeminentes, além de pontilhado basofílico e Corpúsculos de Howell-Jolly (Delaney et al., 2018). Já nos indivíduos da Família Cricetidae, tomando como exemplo o hamster-comum (*Cricetus cricetus*), os níveis de policromasia são baixos e raramente se observa eritrócitos nucleados (metarrubricitos) na circulação (O'Connell et al., 2015).

A formação de Rouleaux Eritrocitário é rara nos roedores de maneira geral, e as contagens eritrocitárias tendem a ser maiores nos machos quando comparado a fêmeas (Heatley, Russell, 2020). As determinações de hemoglobina, eritrócitos e hematócrito são mais baixas nos recém-nascidos de ratos e camundongo, quando comparadas aos adultos (O'Connell et al., 2015). Além disso, os neonatos possuem eritrócitos maiores e mais reticulócitos circulantes, que atingem seus valores normais em cerca de três semanas (Smith, Jarecki, 2013).

Eritrocitose, apesar de incomum, pode ocorrer secundária à expansão plasmática assim como se é observado nos demais mamíferos, mas também pode ocorrer em processos patológicos e fisiológicos. O aumento relativo ocorre pela diminuição do volume plasmático por perda (secundária à doença) ou diminuição da ingestão de água (O'Connell et al., 2015). Devido à capacidade de hibernação, a privação de água é relativamente bem tolerada no hamster-comum em comparação aos ratos e camundongos, podendo ou não demonstrar um aumento no hematócrito (Madella et al., 2006). Já os aumentos absolutos podem ocorrer devido à diminuição da oxigenação tecidual, alterações na estrutura da hemoglobina (metemoglobinemia) ou ainda em patologias respiratórias (geralmente associada micoplasmoses respiratórias) (Heatley, Russell, 2020).

Anemias regenerativas estão associadas a perdas (hemorragia ou flebotomia repetida) ou aumento da destruição/hemólise, podendo ser secundária a processos imuno mediados, parasitários ou danos oxidativos (Siegel; Walton, 2020). Em camundongos, a hemólise é comumente extravascular e a anemia hemolítica imuno mediada em ratos é incomum, podendo ocorrer em porquinhos-da-índia de forma aguda em resposta ao excesso de colesterol dietético (Rettenmund; Heatley, 2020).

Vários tipos de doenças e distúrbios dos sistemas orgânicos são reconhecidos como causadores de anemias não regenerativas, decorrentes de eritropoiese diminuída ou ineficaz (Grimes; Fry, 2015). Os principais processos patológicos que afetam diretamente a medula óssea são ocasionados via intoxicações, radiações, agentes supressivos das células-tronco hematopoiéticas, mielofitose secundária a neoplasia ou inflamação (Siegel, Walton, 2020). Em roedores, as causas extramedulares são as mais comuns, e incluem a doença renal resultando em diminuição da liberação de eritropoetina e anemias da doença crônica (O'Connell et al., 2015). A redução da produção eritrocitária em camundongos afeta drasticamente as contagens, uma vez em que números elevados de reticulócitos compõem o total de células circulantes normalmente (Delaney et al., 2018).

Com relação aos leucócitos, a célula predominante nos roedores de maneira geral é o linfócito, representando em média 75% do total (Nemzek et al., 2001), conferindo quadros de linfocitose frente a respostas inflamatórias. À medida em que os animais envelhecem, a proporção de linfócitos tende a diminuir, enquanto a de neutrófilos aumenta (Siegel, Walton, 2020). Com relação a morfologia, os linfócitos podem variar em tamanho, principalmente em ratos e camundongos, mas sempre demonstram alta relação núcleo citoplasma. Além disso, podem estar reativos demonstrando uma basofilia citoplasmática (Nemzek et al., 2001).

Monócitos são células incomuns nas contagens diferenciais de leucócitos em ratos e camundongos, sendo morfologicamente e funcionalmente semelhantes aos dos mamíferos em geral (O'Connell et al., 2015). Essas células desempenham papéis importantes na resposta imune inata e na patogênese de doenças inflamatórias (Mildner et al., 2016). Além disso, os

monócitos podem se diferenciar em macrófagos e células dendríticas, a depender do tipo de resposta a lesões e infecções (Geissmann et al., 2008).

Os neutrófilos de roedores são frequentemente hipersegmentados, com múltiplos lobulações nucleares, o que lhes confere uma aparência característica. A morfologia nuclear em formato anelar (“núcleo em rosca”) é uma característica normal de neutrófilos, eosinófilos e monócitos de camundongos (Delaney et al., 2018), diferente do que se observa em mamíferos de modo geral. Apesar disso, a presença deste tipo nuclear em neutrófilos de determinadas espécies de roedores pode estar associada à uma granulopoiese acelerada frente a uma demanda periférica (Bolliger, 2004). O citoplasma dos neutrófilos é geralmente pálido com granulação rosada fraca, porém em algumas espécies como os hamsters, os neutrófilos também podem ser chamados de heterófilos, apresentando grânulos citoplasmáticos rosados mais densos (Thrall et al., 2012; Lindstrom et al., 2015).

A neutrofilia em roedores pode ocorrer em resposta ao estresse, mas geralmente se observa de maneira mais intensa nos roedores idosos com inflamações, uma vez em que estes indivíduos possuem maiores contagens deste tipo celular (Nemzek et al., 2001). A resposta inflamatória pode estar associada ao aumento absoluto de neutrófilos, mas é geralmente em menor grau do que o observado em cães e primatas (Bollinger et al., 2010). Neutropenia geralmente ocorre em associação à leucopenias, por danos diretos à medula óssea, e são precocemente detectáveis pela curta meia vida deste tipo celular (O’Connell et al., 2015).

Eosinófilos representam até 7% do diferencial de leucócitos em roedores. Em relação a morfologia, são semelhantes aos demais mamíferos, possuindo numerosos grânulos intracitoplasmáticos eosinofílicos (laranja-avermelhados), arredondados, de tamanho uniforme e que encobrem o núcleo. Este pode apresentar-se menos segmentado que os neutrófilos, ou em formato bastonete à ocasionalmente anelar (Lindstrom et al., 2015). A eosinofilia, assim como nos demais mamíferos pode ser associada a reações de hipersensibilidade, alergias ou a quadros de parasitismo, quando ocasionados principalmente por helmintos. Já nas infecções por protozoários como *Trypanosoma* sp. e em situação de estresse mediado por corticosteróides, alguns roedores podem exibir eosinopenia (O’Connell et al., 2015).

Em relação aos basófilos, embora excepcionalmente raros em ratos e camundongos, podem estar aumentados em amostras obtidas por alta manipulação no momento da coleta, decorrente do aumento na expressão tecidual. Isso ocorre especialmente nas coletas da cauda ou por punção cardíaca (Smith; Jarecki, 2013). Nesses roedores, esse tipo celular apresenta relativamente poucos grânulos, frouxamente compactados e de tamanhos desiguais, intensamente basofílicos e caracteristicamente metacromáticos nos esfregaços sanguíneos (Urbina et al, 1981). A basofilia já foi documentada em porquinhos-da-índia infestados experimentalmente com *Taxorchis caviae*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma americanum*, geralmente associada à eosinofilia (Campbell, 2015). Morfologicamente, é importante diferenciar os basófilos de mastócitos em amostras sanguíneas nesses animais, já que ambos podem aparecer frente à técnica de coleta utilizada (Lindstrom et al., 2015).

Uma característica hematológica diferenciada em alguns roedores, principalmente os caviomorfos, é a presença da “célula de Kurloff” (“ou “corpúsculo de Kurloff”), sendo uma célula mononuclear que contém propriedades linfocíticas e monocíticas, porém, sua total função ainda não é completamente elucidada (Eremin et al., 1980).

Nos porquinhos-da-índia, espécie na qual se tem mais estudos sobre o assunto, as atividades imunológicas e citotóxicas deste tipo celular já são bem documentadas. Em relação à morfologia, essas células são ovóides e contêm um grande corpo de inclusão citoplasmática oval, homogêneo, alongado ou arredondado (Kortelainen, Korhonen, 1976). O corpo de inclusão empurra o núcleo em forma de foice em direção à periferia da célula, e sua margem frequentemente apresenta pequenos vacúolos (Eremin et al., 1980). Observa-se maiores contagens das células de Kurloff nas fêmeas quando comparadas aos machos, além disto, observa-se um aumento na contagem durante a gravidez, no cio e após administração de estrogênio (em fêmeas e machos) (Revell, 1974).

A plaquetometria em roedores é conhecida por ser alta e multivariável em comparação a outros animais domésticos. No entanto, a ativação e agregação podem levar a falsas diminuições nas contagens, além de um falso aumento na contagem de eosinófilos por analisadores automatizados, podendo resultar em medições imprecisas e má interpretações (Gordy et al., 2022). Trombocitoses são, em geral, associadas a aumentos na produção secundário a condições inflamatórias, aumento da eritropoiese ou deficiência de ferro (Bollinger et al., 2010).

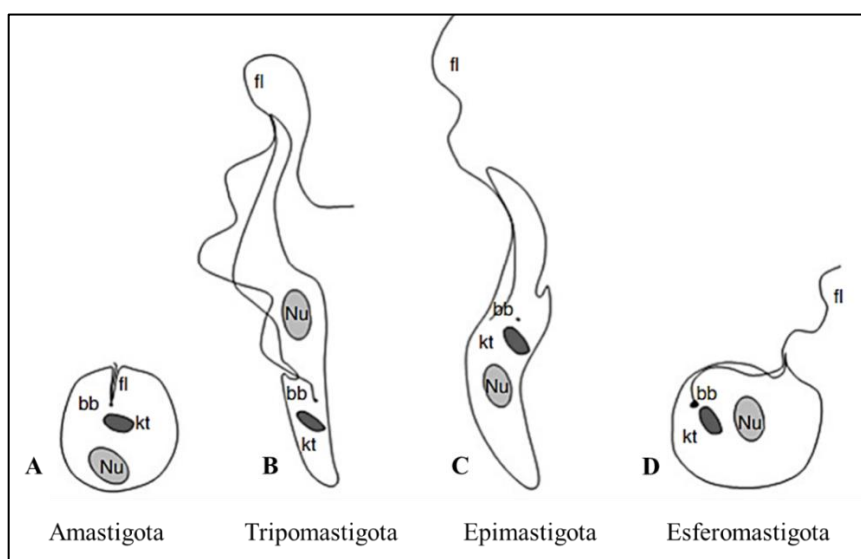
2.6 Gênero *Trypanosoma* e Espécies Identificadas em Roedores

Kinetoplastida (Protozoa: Kinetoplastida) é a classe que engloba uma variedade de protozoários que possuem uma estrutura celular única denominada cinetoplasto, consistindo numa rede de DNA situada dentro de uma única mitocôndria (Katan et al., 2023). Dentro desta classe, existe uma subdivisão em cinco ordens distintas: Eubodonida, Parabodonida, Neobodonida, Prokinetoplastida e Trypanosomatida (Yazaki et al., 2017).

Dentro da Ordem Trypanosomatida, destaca-se a Família Trypanosomatidae, constituída por um grupo único de protozoários flagelados, com ampla variação morfológica entre suas espécies (Vickerman, 1976). Características fundamentais para diferenciação dos estágios evolutivos estão ligadas à localização e à maneira como o flagelo emerge em relação ao núcleo e ao final da célula. Além disso, também se considera para a diferenciação a organização do conjunto formado pelo cinetoplasto, corpo basal e bolsa flagelar (Neves, 2016). Baseada nestas características, as principais formas evolutivas dos tripanosomatídeos podem ser classificadas em (Monteiro, 2017) (**Figura 1**):

- a) **Forma Amastigota (Figura 1A)** – estrutura de formato arredondado, contendo um cinetoplasto em forma de bastonete localizado na região anterior ao núcleo, presença de um curto flagelo não visível ao microscópio óptico, que emerge da bolsa flagelar. Essa forma evolutiva pode ser encontrada no interior das células de seus hospedeiros.
- b) **Forma Tripomastigota (Figura 1B)** – estrutura de formato alongado (fina ou larga), contendo um cinetoplasto de forma arredondada localizado na região posterior ao núcleo, presença de um flagelo que emerge da bolsa flagelar e se adere ao longo do corpo do parasito, tornando-se livre na região anterior. Essa forma evolutiva é consideravelmente infectante, sendo encontrada em insetos vetores (porção posterior do intestino, no reto) e em hospedeiros vertebrados (sangue e espaço intercelular).

- c) **Forma Epimastigota (Figura 1C)** – estrutura de formato alongado, contendo um cinetoplasto em forma de bastonete localizado na região anterior ao núcleo, presença de um flagelo que emerge da bolsa flagelar com abertura lateral, e se adere ao longo do corpo do parasito, tornando-se livre na região anterior. Essa forma evolutiva é encontrada no tubo digestivo do inseto vetor.
- d) **Forma Esferomastigota (Figura 1D)** - estrutura de formato arredondado, semelhante à amastigota, mas contendo um flagelo livre. É um estágio extracelular, que se diferencia no intestino médio do vetor inseto e se divide por fissão binária.



Nu: núcleo; Kt: cinetoplasto; Bb: corpúsculo basal; Fl: flagelo.

Figura 1. Representação esquemática das principais formas evolutivas do parasito *Trypanosoma cruzi*. Adaptado por Soto e Cappa (2019). **Chagas disease: a clinical approach.** Birkhäuser advances in infectious diseases. Cham: Springer. p. 27.

Ao longo dos anos, a identificação dos tripanossomos baseava-se exclusivamente na morfologia (Hoare, 1972; Kaufer et al., 2017), porém, devido à alta variabilidade e ao baixo número de caracteres morfológicos confiáveis, as classificações de espécies baseiam-se em dados moleculares específicos (Votýpka et al., 2022). Para tal, a determinação não se baseia no local onde estão (hospedeiros vertebrados ou vetores invertebrados e insetos) e sim, nas sequências de genes conservados, como os genes do 18S rRNA e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Hamilton; Stevens, 2017).

Em relação ao número de hospedeiros envolvidos em seu ciclo biológico, os tripanosomatídeos são categorizados como monoxênicos ou heteroxênicos. Os indivíduos monoxênicos completam seu ciclo evolutivo em um único hospedeiro, geralmente um invertebrado (Frolov et al., 2021). Este grupo inclui gêneros como *Crithidia*, *Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Angomonas* e *Strigomonas* cosmopolitas de insetos (Maslov et al., 2013). Embora não sejam geralmente patogênicos para humanos e animais, em algumas ocasiões estão associados a infecções oportunistas em indivíduos imunocomprometidos, justificando, assim, o interesse em saúde pública (Boucinha et al., 2022).

Em contraste, espécies heteroxênicas alternam entre um hospedeiro vertebrado e um invertebrado (que muitas vezes atua como vetor) durante seu ciclo biológico. Neste grupo estão incluídos dois principais gêneros de importância: *Trypanosoma* e *Leishmania*, responsáveis por cursarem com doenças significativas em humanos e animais (Bartholomeu et al., 2021).

Para o gênero *Trypanosoma*, incluído na Família Trypanosomatidae, foram estabelecidos dois grupamentos em duas seções distintas (seção salivaria e seção stercoraria), baseadas nos dois métodos de desenvolvimento do parasita dentro de seu hospedeiro invertebrado, além da via de eliminação de suas formas infectantes (Kreier, 1995). Na seção salivaria, os parasitos vão se desenvolver inicialmente na porção anterior do tubo digestivo e posteriormente vão atravessar o epitélio, atingindo as glândulas salivares do vetor e serão inoculadas tripomastigotas metacíclicas durante o repasto sanguíneo (Hoare, 1972). Para os tripanossomas patogênicos salivares, estão incluídos os subgêneros *Trypanozoon*, *Duttonella*, *Nannomonas* e *Pycnomonas*, dos quais os três primeiros são responsáveis por grande parte das infecções em humanos e animais (Cortez et al., 2006). Quando se refere à seção stercoraria, o parasito vai se desenvolver exclusivamente na região posterior do intestino, sendo tripomastigotas metacíclicos eliminados pelas fezes. Para os subgêneros pertencentes à esta seção destacam-se *Schizotrypanum*, *Herpetosoma* e *Megatrypanum* (Hoare, 1972).

O ciclo de vida dos tripanossomas da seção salivaria, baseado no modelo de *T. brucei*, se inicia quando formas tripomastigotas sanguíneas presentes no hospedeiro vertebrado são adquiridas durante o repasto sanguíneo do vetor invertebrado, migrando para o seu intestino médio e se transformando em formas pró-cíclicas. Posteriormente, essas formas migram para o proventrículo e se dividem em epimastigotas longas e curtas. As formas curtas migram para as glândulas salivares e se fixam às células epiteliais, dando origem aos metacíclicos infecciosos. No hospedeiro vertebrado, os parasitos metacíclicos se transformam em formas delgadas e se dividem por fissão binária, representando a forma ativa nas infecções em mamíferos (Radwanska et al., 2018).

Em relação ao ciclo dos tripanossomas da seção stercoraria segundo Soto e Cappa (2019), tomando como exemplo *T. cruzi*, o vetor invertebrado ingere os tripomastigotas circulantes quando se alimenta de um hospedeiro infectado. Estes vão se diferenciar em epimastigotas no intestino médio anterior (estômago) do vetor. Alguns esferomastigotas também podem ser encontrados neste local (De Souza, 2020). Os epimastigotas progridem para o intestino posterior e, ao nível do reto, diferenciam-se em tripomastigotas metacíclicos. Esse processo é conhecido como metaciclogênese (Soto; Cappa, 2019). Os tripomastigotas metacíclicos são eliminados junto as fezes do vetor durante o repasto sanguíneo no hospedeiro definitivo, e penetram através da picada deste vetor, lesões cutâneas ou por meio das membranas mucosas (Kollien et al., 2000). Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil recebem grande destaque principalmente quanto à transmissão oral, mas também via transfusão sanguínea, transplacentária e sexual (Araujo et al., 2017).

Infectivos para mamíferos, os tripomastigotas metacíclicos vão penetrar nas células fagocíticas e não fagocíticas próximas ao local de entrada, e serão cercados por um vacúolo parasitóforo no interior do citoplasma dessas células (De Souza et al., 2010). Após ocorrer ruptura da membrana do vacúolo, o processo de diferenciação para o estágio de amastigota se inicia (Soto; Cappa, 2019). As amastigotas livres no citoplasma iniciam o processo de divisão

celular binária, dando início ao processo de diferenciação para as formas tripomastigotas. Nessa transição, o parasito adquire um flagelo longo e livre, sendo a atividade da forma parasitária móvel aparentemente responsável pela ruptura celular e sua liberação no espaço intercelular (Bonfim-Melo et al., 2018). O ciclo recomeça quando um novo vetor se alimenta do mamífero infectado.

Os roedores exibem uma alta riqueza de espécies e genótipos de tripanossomas, incluindo *T. cruzi*, *T. rangeli* e *T. lainsoni* (Dario et al 2021; Dario et al., 2022). Infecções foram detectadas em roedores selvagens no norte do Novo México, Estados Unidos, com taxas mais elevadas em *Neotoma micropus* (Cricetidae: Neotominae) e *Peromyscus leucopus* (Cricetidae: Neotominae) (Goodrich et al., 2020).

Sobre a relação entre roedores e *T. cruzi*, diversos estudos documentaram a presença da do parasito em indivíduos da América Latina (Charles et al., 2013; Dusan Orozco et al., 2014; Herrera et al., 2015; Jansen et al., 2015; Morales et al., 2017) e demonstraram uma elevada suscetibilidade à infecção se tratando de estudos experimentais, exibindo parasitemias significativas e persistentes (Roque et al., 2005). Jansen e colaboradores (2018) ao estudarem roedores como *Akodon*, *Brucepattersonius*, *Calomis*, *Cerradomys*, *Oximicterus*, *Oligorizomys*, entre outros presentes no Cerrado Brasileiro, sugeriram que estes animais desempenham um papel periférico como reservatório de *T. cruzi* no ambiente, por apresentarem baixa parasitemia quando comparados a outros grupos de mamíferos. Em contraste, Solis-Franco et al. (1997) enfatizaram a importância dos roedores na manutenção do ciclo selvagem da doença.

T. lewisi e outros semelhantes (*T. lewisi* -like) são encontrados em roedores por serem transmitido por diversas espécies de pulgas comumente encontradas nestes animais, tais como *Ceratophyllus fasciatus*, *Nosopsyllus fasciatus* e *Xenopsylla cheopis* (Lee et al., 2008). Embora a presença deste parasito seja comum em ratos urbanos e selvagens em todo o mundo, com destaque especial para a Ásia, relatos indicam o potencial zoonótico da espécie, ao atuarem como patógenos oportunistas capazes de causar infecções fatais em seres humanos (Sarataphan et al., 2005; Charles et al., 2013; Desquesnes et al., 2020). Este tripanossoma é considerado apatogênico para a maioria dos seus hospedeiros, porém, sua introdução por roedores sinantrópicos na Ilha Christmas provavelmente contribuiu para a extinção de duas espécies nativas endêmicas, representando um dos únicos casos reportados de um tripanossomatídeo causando a extinção de hospedeiros vertebrados (Wyatt et al., 2008).

T. musculi é um outro tripanossomatídeo encontrado em roedores, mais comumente em camundongos, sendo também transmitido por pulgas assim como *T. lewisi* (Monroy; Dusanic, 2000). *T. lewisi* e *T. musculi* são pertencentes a seção stercoraria, sendo transmitidos pelas fezes do inseto vetor durante o grooming de seus hospedeiros (ingestão de pulgas infectadas e/ou suas fezes) (Lee et al., 2008).

Apesar dos dados serem inconsistentes, acredita-se que as pulgas se infectam durante o repasto sanguíneo no roedor, ocorrendo no trato alimentar do inseto o desenvolvimento de formas metacíclicas infectivas, que vão se acumular no reto (Albright; Albright, 1991). Após a ingestão de pulgas infectadas e/ou suas fezes, as formas metacíclicas adentram a corrente sanguínea do roedor através das membranas mucosas bucais e se convertem em epimastigotas, sendo a forma reprodutivamente competente do parasita no hospedeiro vertebrado (Zhang et al., 2019). Durante um período de incubação de aproximadamente cinco dias, ocorre uma rápida

multiplicação com crescimento exponencial do parasito na corrente sanguínea e o espaço peritoneal, que atinge um platô entre sete a dez dias, observando consequente baixa parasitemia depois deste período (Albright; Albright, 1991).

O curso de uma infecção por tripanossoma pode variar de agudo, crônico e assintomático a depender da patogenicidade do parasita, da susceptibilidade, competência imunológica e histórico de saúde do hospedeiro (Desquesnes et al., 2022). De maneira geral, a parasitemia demonstra-se elevada em infecções mais precoces e baixas, ou pouco frequentes nos quadros cronificados e subclínicos, afetando diretamente a eficácia do método de diagnóstico empregado. Inúmeros testes estão disponíveis, com testes direcionados a detecção de parasitas/antígenos, testes de detecção do DNA e ou técnicas que detectam anticorpos frente à exposição ao agente infeccioso (Desquesnes et al., 2022).

Técnicas de detecção baseada na avaliação microscópica do parasito incluem o exame a fresco (gota espessa), a visualização em esfregaço sanguíneo corado, técnica de concentração de hematócrito ou método de Woo e avaliação do concentrado leucocitário, sendo as três últimas as que exibem uma sensibilidade mais alta em comparação as demais (Franco et al., 2014). Outra técnica de detecção do parasito é o isolamento *in vivo* através da inoculação de amostras suspeitas em roedores de laboratório imunossuprimidos, porém por demandar tempo, alto custo, além de preocupações éticas sobre o bem-estar dos animais testados, não é amplamente utilizada (Esperandim et al., 2013).

Técnicas moleculares podem ser aplicadas em hospedeiros e vetores e, embora sejam altamente sensíveis, requerem uma quantidade mínima de DNA intacto do parasito na amostra biológica para o diagnóstico, o que aumenta o risco de resultados falso-negativos (Tatard et al., 2017; Desquesnes et al., 2022). Atualmente, existem diversos marcadores moleculares utilizados na detecção de *Trypanosoma*, sendo os mais utilizados o de fragmentos do gene que codifica a subunidade menor do ribossomo (SSU rRNA ou 18S rRNA) e do gene que codifica a enzima glicossomal gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (gGAPDH) (Tenório et al., 2014; Hong et al., 2017). Regiões variáveis presentes no gene ribossômico 18S rRNA geralmente apresentam uma taxa de evolução mais lenta quando comparados aos genes glicossômicos, sendo considerada uma região bem conservada em tripanossomatídeos (Lukeš et al., 2014). Essa menor mutação é atribuída à primordial função deste gene quanto à tradução de proteínas, bem como a manutenção da estrutura e da função do ribossomo. Em contraste, os genes glicossômicos estão envolvidos em funções metabólicas específicas, estando sujeitos a diferentes pressões seletivas que geram taxas de mutação mais elevadas nessas regiões genômicas (Abad-Franch, 2022).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área do Estudo

A amostragem ocorreu como parte de um estudo de fauna de pequenos mamíferos realizado no Parque Nacional do Itatiaia (PNI – Parque Nacional do Itatiaia) em colaboração entre o Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), Setor de Mastozoologia do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e laboratórios da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e UFRJ.

A área é composta por vegetações de Floresta Ombrófila Densa Montana, Floresta Ombrófila Densa Alto Montana, Floresta Ombrófila Mista Montana com a presença de *Araucaria angustifolia*, Floresta Estacional Semidecidual Montana na vertente continental do parque e Campos de Altitude (IBGE, 2012). A região do parque está inserida em três domínios climáticos: subquente úmido, o clima predominante, mesotérmico brando-superúmido e mesotérmico brando-úmido. Foram amostradas áreas de Floresta Montana (500-1500m) e áreas de Refúgio Ecológico Alto-Montano (Campos de Altitude acima de 1500m).

As capturas ocorreram entre os meses de maio e junho de 2022 na Parte Baixa (pBaixa) do PNI (**Figura 2**), que compreendiam áreas com altitude entre ~800 e 1500m, e durante o mês de agosto de 2023 na Parte Alta (pAlta) do PNI (**Figura 2**), que compreendiam áreas com altitude entre ~2000 e 2500m, em diferentes fitofisionomias.



Figura 2. Mapa do Parque Nacional do Itatiaia com destaque em azul para a área dos pontos de coleta de Pequenos Mamíferos durante os anos de 2022-2023, RJ. Fonte: Google Earth.

3.2 Comitê de Ética

O estudo foi realizado sob aprovação do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, licença nº 74498-7) (**Anexo 1**) para coleta de pequenos mamíferos e do Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ RJ (CEUA/IOC-035/2018) (**Anexo 2**).

3.3 Captura dos Animais

Roedores cricetídeos foram capturados utilizando-se armadilhas do tipo Tomahawk® (**Figura 3a**) (Modelo 201, 16 pol x 5 pol x 5 polegadas, Wisconsin, EUA) e Sherman® (**Figura 3b**) (Modelo XLK, 3 pol x 3,75 pol x 12 pol, Flórida, EUA). As armadilhas foram dispostas alternadamente ao nível do solo e sub-bosque (a uma altura de pelo menos 1,5 m do solo). A isca era composta por uma mistura de banana, manteiga de amendoim, fubá, sardinha e aroma de baunilha.

Os animais capturados eram retirados das armadilhas e transferidos para sacos de pano, para que fossem contidos e pesados. Em seguida, eram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (dose de 100mg/ml) associado com Acepromazina (dose de 10mg/ml) numa

proporção de 9:1, medidos e sexados. Uma inspeção e coleta de espécimes de ectoparasitas bem como uma análise necroscópica e coleta de endoparasitas foi realizada, sendo direcionados a outros estudos dos demais colaboradores do projeto. Todos os roedores foram submetidos à taxidermia e depositados na Coleção Zoológica do Museu Nacional da UFRJ.



Figura 3. Armadilhas do tipo Tomahawk® (A) e Sherman® (B) estrategicamente posicionadas nas margens das trilhas científicas, ao nível do solo e sub-bosque no Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2023. **Fonte:** OLIVEIRA, ÁFX (2024).

3.4 Colheita e Processamento de Amostras Sanguíneas

O método de eutanásia utilizado foi a exsanguinação, retirando-se o máximo de volume sanguíneo dos roedores cricetídeos através de punção cardíaca (**Figura 4**), utilizando-se agulhas hipodérmicas (13mm x 0,45mm) e seringas estéreis de 1ml. As amostras foram posteriormente depositadas em microtubos de 0,5mL contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Nos indivíduos mais robustos, foram utilizadas seringas de 3ml.

No laboratório montado a campo, foram preenchidos por sangue anticoagulado capilares de microhematócrito para a obtenção do valor do hematócrito pelo método de centrifugação, em rotação de 12.000 rpm durante 5 minutos (Thrall et al., 2012). A concentração de proteínas plasmáticas foi determinada pela técnica de refratometria e a contagem total de leucócitos foi realizada na câmara de Neubauer espelhada, através da diluição do sangue em Líquido de Turk na proporção 1:20 (Jain, 1993). Com alíquotas de sangue a fresco foram confeccionados esfregaços sanguíneos em duplicata, que após secagem ao ar foram fixados com metanol por 10 segundos.



Figura 4. Colheita sanguínea por meio de punção cardíaca em roedor (Rodentia, Cricetidae) do Parque Nacional do Itatiaia, posicionado em decúbito dorsal, com inserção da agulha na região torácica medial, abaixo do esterno (seta amarela) - RJ, 2023. **Fonte:** OLIVEIRA, ÁFX (2024).

Para a determinação da morfologia das células sanguíneas, leucometria específica (eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, monócitos e basófilos) e pesquisa de hemoparasitos, os esfregaços foram corados com coloração permante (Giemsa) e observados com auxílio de microscópio óptico, objetiva de imersão com aumento de 1000x (Jain, 1993). Para a contagem plaquetária, foi realizada uma estimativa em lâmina, contando-se dez campos, e após obtenção do valor médio, este foi multiplicado por 15000. Esta etapa da análise foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LABVET) da UFRRJ assim como as fotografias das amostras, realizadas com o auxílio do microscópio Binocular Nikon Eclipse E200 Led, 400X e da Prime Cam Intervisio 12 MP, em aumento de 1000X.

3.5 Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)

3.5.1 Extração e quantificação de DNA

As extrações de DNA do sangue foram realizadas utilizando-se o kit ReliaPrep Blood gDNA Miniprep System (Promega®) de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando-se 200µL de cada amostra. Para monitoramento de contaminação durante o processo de extração de DNA total, utilizou-se como controle negativo 200µL de água ultra-pura esterilizada.

Todas as amostras de DNA total tiveram suas concentrações determinadas pelo espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific®), separadas em alíquotas e armazenadas até a realização dos ensaios moleculares. A partir disto, as amostras foram submetidas aos ensaios de PCR específicos para *Trypanosoma* sp.

3.5.2 PCR *Trypanosoma* sp. baseada no gene 18S rRNA (SSU)

A detecção molecular baseada num fragmento do gene 18S rRNA para o gênero *Trypanosoma* foi realizada em duas etapas de acordo com o proposto por Smith et al. (2008). Os oligonucleotídeos iniciadores e as condições de termociclagem utilizados nas duas reações estão representados na tabela 1. As reações de amplificação foram realizadas no termociclador Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems) com as seguintes especificações: 1,25U/μL Xtra Platus Taq DNA Polimerase (Sinapse®) que contém 2mM de Cloreto de Magnésio, Tampão 1X, 0,5 mM de deoxinucleotídeos (dATP, dTTP, dCTP e dGTP), 10pmol de cada oligonucleotídeo iniciador (TRY927F e TRY927R) (**Tabela 1**) e água ultra-pura esterilizada (Life Technologies®) e 3μL de DNA para um volume final de 25μL.

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores e das condições de termociclagem para as reações de PCR utilizadas para detecção molecular de *Trypanosoma* sp. baseadas no gene 18S rRNA.

Agente	Sequência do oligonucleotídeo	Condições de Termociclagem
<i>Trypanosoma</i> sp. (1ª reação)	TRY927F (5'- GAAACAAGAAACACGGGAG-3')	3 min à 94°C, 30 ciclos a 94°C por 30 s, 55°C por 60 s, e 72°C for 90 s e 72° por 10 minutos
	TRY927R (5'-CTACTGGGCAGCTTGGA-3')	
<i>Trypanosoma</i> sp. (2ª reação)	SSU561F (5' TGGGATAACAAAGGAGCA-3')	3 min à 94°C, 30 ciclos a 94°C por 30 s, 55°C por 60 s, e 72°C for 90 s e 72° por 10 minutos.
	SSU561R (5'-CTGAGACTGTAACCTCAAAGC-3')	

Nas reações de nested-PCR, foram utilizados 1μL do produto amplificado da primeira reação de PCR, em um mix contendo os reagentes nas mesmas concentrações e condições de termociclagem da primeira reação, e os primers SSU561F e SSU561R para obtenção de um produto final de 600pb. A reação de PCR específica foi realizada em termociclador Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems). Como amostra de DNA controle positivo foi utilizada uma amostra positiva para *Trypanosoma cruzi*, previamente identificada, amplificada por PCR e sequenciada (Guimarães et al., 2022).

3.5.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose

A visualização dos produtos da PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão TAE 1X (tampão Tris-Acetato-EDTA), corados com Brometo de etídio. A eletroforese foi efetuada a 100V por 40 minutos utilizando o padrão de tamanho molecular de 100pb DNA Ladder (Invitrogen). Os resultados foram visualizados através de transiluminador de luz ultravioleta acoplado ao analisador de imagem (L-pixtouch da Loccus Biotecnologia).

3.6 Análise Estatística

Os dados foram submetidos, inicialmente, ao teste de normalidade de distribuição de *Shapiro-Wilk*. Quando a normalidade era identificada, as médias observadas dos dois grupos (pBaixa e pAlta) eram comparados pelo teste *T de Student*. Quando esse pressuposto não era atingido, as medianas dos grupos testados eram comparadas pelo teste não-paramétrico de *Mann-Whitney*. As análises foram realizadas com o auxílio do software Prism Graph Pad 9.5.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espécies Amostradas

Análises hematológicas comparativas foram realizadas nos roedores pertencentes à Família Cricetidae, pela maior representatividade estatística do grupo (N=114) (pbaixa N = 43; pAlto N = 71) (**Tabela 2**). Diversos estudos sugerem que a estrutura populacional de roedores é altamente influenciada por alterações sazonais, disponibilidade de alimentos, taxas de reprodução e predação, fragmentação de habitats, entre outros (Ricklefs, 2003). Em regiões de Mata Atlântica, observa-se comumente uma abundante população de sigmodontíneos, com destaque as áreas de altitude, havendo grande representatividade de espécies generalistas tais como as da tribo Akodontini (Gonçalves, 2006; Pardini; Umetsu, 2006), assim como no presente estudo.

Tabela 2. Lista de espécies de roedores capturados que obtiveram análises hematológicas nas partes alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia, RJ, 2024.

	Família Cricetidae	Família Echimyidae	Família Caviidae
Roedores Parte Baixa (800 à 1500m)	<i>Akodon cursor</i> (N=2)		
	<i>Akodon montensis</i> (N=6)		
	<i>Akodon paranaenses</i> (N=8)		
	<i>Brucepattersonius nebulosus</i> (N=2)		
	<i>Brucepattersonius</i> sp. (N=3)		
	<i>Castoria angustidens</i> (N=3)	<i>Trinomys</i> sp. (N=7)	
	<i>Delomys cf. dorsalis</i> (N=1)		
	<i>Delomys dorsalis</i> (N=2)		
	<i>Delomys</i> sp. (N=5)		
	<i>Oxymycterus dasytrichus</i> (N=1)		
	<i>Rhipidomys tribei</i> (N=5)		
	<i>Thaptomys nigrita</i> (N=5)		
Roedores Parte Alta (2000 à 2500m)	<i>Akodon</i> sp. (N=3)	<i>Phyllomys</i> sp. (N=1)	<i>Cavia</i> sp. (N=2)
	<i>Akodon montensis</i> (N=5)		
	<i>Akodon paranaenses</i> (N=7)		
	<i>Brucepattersonius</i> sp. (N=8)		
	<i>Castoria</i> sp. (N=27)		
	<i>Delomys altimontanus</i> (N=3)		
	<i>Delomys dorsalis</i> (N=11)		
	<i>Delomys</i> sp. (N=5)		
	<i>Oxymycterus</i> sp. (N=2)		

4.2 Comparação Hematológica entre Sigmodontíneos (Parte Baixa X Parte Baixa)

Grande parte dos estudos utilizados como base comparativa para o presente trabalho empregaram grupos de roedores criados para fins experimentais, além de simularem os ambientes de baixa oxigenação utilizando cabines de baixa pressão e hipóxia, o que pode não ter reproduzido de forma objetiva e verdadeira os ambientes naturais (Ahmad et al, 2014; Yan et al., 2023). Apesar disso, muitos dados demonstram-se semelhantes, indicando padrões hematológicos adaptativos que podem exercer grande influência na dispersão dos roedores da Subfamília Sigmodontinae ao longo dos diferentes gradientes de altitude e habitats. Os valores médios do hemograma obtidos nos grupos de machos e fêmeas de roedores sigmodontíneos de ambas as regiões do estudo estão demonstrados nas tabelas abaixo (**Tabela 3** e **Tabela 4**).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos identificados em roedores machos da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae, das regiões alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ. Determinação dos valores médios, desvio padrão, valores mínimo e máximo, erro padrão e diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$).

Parâmetro	Gênero/ Local	N	Média \pm DP	Min - Máx	Erro padrão	<i>p</i> valor
Hematócrito (%)	♂ PB	20	50,45 \pm 9,83	37 - 68	2,20	$p = 0,033^*$
	♂ PA	36	46,22 \pm 4,62	37 - 55	0,77	
Proteína Plasmática (g/dL)	♂ PB	20	6,96 \pm 0,8	5,6 - 8,2	0,18	$p = 0,040^*$
	♂ PA	36	7,37 \pm 0,6	6,2 - 8,8	0,11	
Leucometria Total (cél/s/ μ l)	♂ PB	20	15597,5 \pm 7402,5	4150 - 32200	1655,3	$p < 0,001^*$
	♂ PA	36	5169,4 \pm 2174,9	2000 - 11600	362,5	
Neutrófilos (cél/s/ μ l)	♂ PB	20	4367,3 \pm 3026,8	415 - 10304	676,8	$P < 0,001^*$
	♂ PA	36	1405,1 \pm 933,1	168 - 4950	155,5	
Linfócitos (cél/s/ μ l)	♂ PB	20	10441,4 \pm 4954,3	3735 - 20286	1107,8	$p < 0,001^*$
	♂ PA	36	3513,6 \pm 1785,9	620 - 7424	297,6	
Monócitos (cél/s/ μ l)	♂ PB	20	103,9 \pm 64,6	37 - 344	10,8	$p = 0,0014^*$
	♂ PA	36	156 \pm 74	41,5 - 322	16,5	
Eosinófilos (cél/s/ μ l)	♂ PB	20	310,6 \pm 299	0 - 1160	66,9	$p = 0,021^*$
	♂ PA	36	146,8 \pm 129,1	0 - 696	21,5	
Plaquetas (10^3 / μ l)	♂ PB	20	208,1 \pm 168,3	50 - 702	37,6	$p = 0,011^*$ ($p \leq 0,05$)
	♂ PA	36	263,4 \pm 103,6	200 - 700	17,3	

*diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$); PB = Parte baixa; PA = Parte alta; N = Número de indivíduos; DP = Desvio Padrão.

No presente estudo, a decisão de agrupar e comparar à nível de subfamília se deu em virtude de diversas razões. Uma delas é que, apesar da diversidade taxonômica, o número de indivíduos dentro de cada gênero disponível foi limitado, resultando em um tamanho amostral

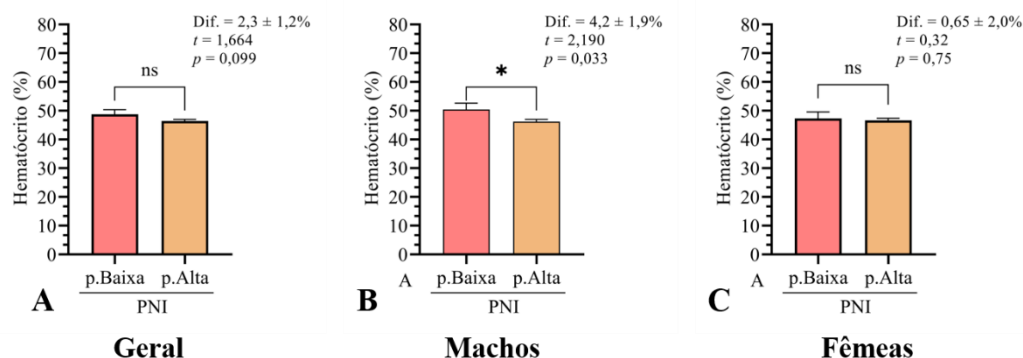
pequeno para as análises estatísticas. Porém, os roedores sigmodontíneos compartilham de características morfológicas, fisiológicas e ecológicas muito semelhantes (Sahley et al., 2015), devido à sua estrita proximidade evolutiva, o que poderia lhes proporcionar respostas associadas a fatores filogenéticos comuns. Além disto, também se observou um perfil bem semelhante de distribuição dos valores hematológicos entre os grupos, possibilitando uma base mais ampla de comparação.

Tabela 4. Parâmetros hematológicos identificados em roedores fêmeas da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae, das regiões alta e baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ. Determinação dos valores médios, desvio padrão, valores mínimo e máximo, erro padrão e diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$).

Parâmetro	Gênero/ Local	N	Média \pm DP	Min - Máx	Erro padrão	<i>p</i> valor
<i>Hematócrito</i> (%)	♀ PB	23	47.30 \pm 2.25	18 - 60	2.25	$p = 0,75$
	♀ PA	35	46.66 \pm 4.30	37 - 56	0.73	
<i>Proteína Plasmática</i> (g/dL)	♀ PB	23	6.85 \pm 0.72	5.8 - 8	0.15	$p = 0,015^*$
	♀ PA	35	7.31 \pm 0.41	6.6 - 8	0.07	
<i>Leucometria Total</i> (/μl)	♀ PB	23	13454.1 \pm 9579.3	3500 - 41400	1997.4	$p < 0,0001^*$
	♀ PA	35	5322.9 \pm 3491.6	2000 - 15000	590.2	
<i>Neutrófilos</i> (cél/μl)	♀ PB	23	3463.4 \pm 4193.8	258 - 18216	874.5	$p < 0,0001^*$
	♀ PA	35	1183.9 \pm 802.9	174 - 3564	135.7	
<i>Linfócitos</i> (cél/μl)	♀ PB	23	9328.5 \pm 6158.0	2100 - 21942	1284.0	$p < 0,0001^*$
	♀ PA	35	3918.8 \pm 2956.6	720 - 13050	499.8	
<i>Monócitos</i> (cél/μl)	♀ PB	23	452.5 \pm 319.9	60.5 - 1242	66.7	$p < 0,0001^*$
	♀ PA	35	100.7 \pm 74.7	0 - 336	12.6	
<i>Eosinófilos</i> (cél/μl)	♀ PB	23	188.6 \pm 223.9	0 - 858	46.7	$p = 0,74$
	♀ PA	35	119.4 \pm 103.3	0 - 450	17.5	
<i>Plaquetas</i> ($10^3/\mu\text{l}$)	♀ PB	23	245 \pm 173.5	50 - 645	36.2	$p = 0,163$
	♀ PA	35	274.6 \pm 83.3	200 - 500	14.1	

*diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$); PB = Parte baixa; PA = Parte alta; N = Número de indivíduos; DP = Desvio Padrão.

Sobre a comparação entre dados hematológicos, observou-se que na análise do grupo geral (Machos N=56 / Fêmeas N=58) não houve diferença estatística nas comparações dos valores de hematócrito (**Figura 5A**) de ambas as regiões do PNI, assim como na análise realizada apenas entre fêmeas (**Figura 5C**). O mesmo não ocorreu quando se realizou a análise comparativa apenas entre os machos de ambas as regiões, tendo os animais da região baixa os maiores valores de hematócritos (**Figura 5B**).



*: diferença significativa a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$); ns: diferença não significativa ($p > 0,05$); Dif.: diferença entre os grupos comparados; t: valor do teste de Student; U: valor do teste de Mann-Whitney; PNI: Parque Nacional do Itatiaia.

Figura 5. Comparação dos valores de hematócrito (%) de roedores Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.

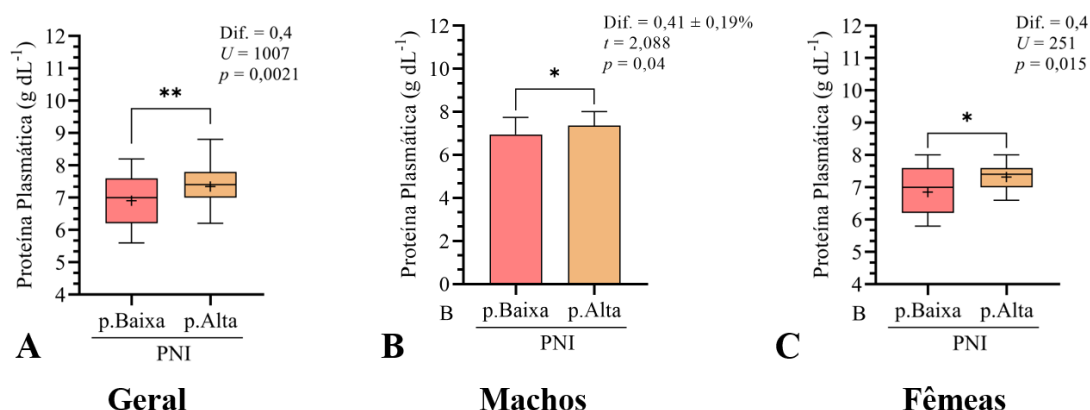
Em ambientes de elevada altitude com pressão atmosférica baixa, espera-se que a oxigenação arterial diminua e que como resultado ocorra um aumento na expressão de eritropoietina à nível renal (Feng et al., 2019). Apesar disto, são descritos resultados por vezes contraditórios ao longo dos gradientes de elevação em diferentes espécies de roedores (Lövy et al., 2020; Yan et al., 2023). Stein et al. (2010) em seu estudo com o roedor fossorial *Ctenomys lami*, não identificou um aumento significativo nos valores de hematócrito, mesmo a espécie estando constantemente exposta à hipóxia, dentro das galerias subterrâneas que habitam.

A hematopoiese é o processo de formação, maturação e diferenciação das células sanguíneas que é dependente de diversos hormônios que atuam como promotores ou inibidores, além da disponibilidade de ferro, vitaminas e outros nutrientes (Thrall et al., 2012; Santos et al., 2017). Uma das hipóteses para a ocorrência de valores celulares mais baixos em machos da parte alta poderia ser atribuída à baixa hormonal. Alsufyani (2010) demonstrou que roedores machos transferidos para uma área de elevada altitude apresentaram reduções significativas nos níveis séricos de testosterona e hormônio estimulador da tireoide (TSH), com consequente diminuição nos valores hematológicos (Guo et al., 2020). Além da baixa hormonal, a menor oferta de alimentos nas regiões de maior altitude também poderia exercer influência sobre os valores celulares observadas no grupo do presente trabalho, uma vez em que o grau de nutrição atua diretamente sobre as unidades formadoras de colônia eritroide (CFU-E) presentes na medula óssea (Santos et al., 2017).

Morrison e colaboradores (1963) ao compararem os níveis de hematócrito em roedores selvagens chilenos, incluindo os gêneros *Akodon* e *Oryzomys*, não observaram diferenças relacionadas à altitude, e sim, relacionadas a variações comportamentais, sendo as espécies mais vigorosas as com maiores percentuais de eritrócitos. Este fato pode ser atribuído à maior demanda energética nessas espécies, com consequente resposta metabólica adaptativa (Austad, 2010). Seguindo este pensamento, uma outra hipótese para os resultados do presente trabalho poderia ser atribuída a uma maior atividade comportamental dos machos da região baixa, ocasionado pela maior oferta de alimentos, com consequente aumento populacional, disputas

por território e fêmeas, e aumentos nos níveis de testosterona circulante pelo comportamento de dominância (Moser-Purdy et al., 2017).

O plasma é a fração líquida do sangue, sendo composta principalmente por água, eletrólitos e proteínas (Benjamin et al., 2012). A composição das proteínas plasmáticas em roedores varia em função da espécie e das condições fisiológicas, sendo as mais abundantes: albumina, imunoglobulinas e transferrina (Webb et al., 2003; Yang et al., 2020). Em relação aos dados de proteína plasmática total deste estudo, observou-se que na análise geral, os maiores valores foram observados nos animais pertencentes à parte alta do PNI (p.Alta) (**Figura 6A**), pelos aumentos expressivos observados nos machos (**Figura 6B**) e nas fêmeas (**Figura 6C**) do local. Uma hipótese para este aumento pode ser atribuída à um certo grau de desidratação com consequente hemoconcentração observado em animais expostos à elevadas altitudes (Picon-Reategui et al., 1953). Outra possibilidade pode ser o desenvolvimento de respostas adaptativas de proteção, ocorridas ao longo do tempo frente ao estresse oxidativo sofrido pelas células no ambiente hostil (Chantal et al., 2022). Linhagens laboratoriais de roedores quando submetidas à hipóxia, demonstram alterações em seus perfis proteico-plasmáticos, expressando mais proteínas na tentativa de estabelecer principalmente o equilíbrio osmótico, o equilíbrio na viscosidade sanguínea, bem como o desenvolvimento de respostas à inflamação, e respostas frente ao metabolismo lipídico, entre outros (Ahmad et al., 2014).



*: diferença significativa a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$); **: diferença significativa a 1% de probabilidade de erro ($p \leq 0,01$); Dif.: diferença entre os grupos comparados; t: valor do teste de Student; U: valor do teste de Mann-Whitney; PNI: Parque Nacional do Itatiaia.

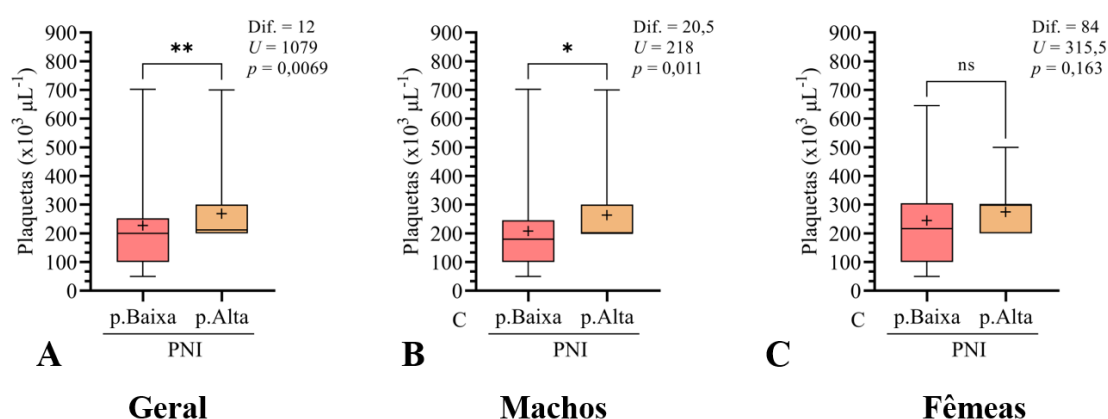
Figura 6. Comparação dos valores de Proteína Plasmática (g/dL) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos oriundos dos megacariócitos presentes na medula óssea, possuindo como principal função a formação de um tampão hemostático primário para interromper lesões vasculares (Smyth et al., 2009). Além disso, ajudam na reparação tecidual e participam de diversos mecanismos como defesa contra agentes infecciosos, modulação da apresentação de antígenos, aumento das respostas imunes adaptativas, entre outros (Ali et al., 2015).

Contagens plaquetárias da análise geral (**Figura 7A**) e entre machos (**Figura 7B**) foram superiores nos animais da região alta, não havendo diferença significativa nas análises

realizadas somente entre fêmeas (**Figura 7C**) deste estudo. Aumentos nas contagens de plaquetas em indivíduos expostos a elevadas altitudes podem ser atribuídas a uma maior produção de trombopoietina à nível hepático ou à ação de citocinas liberadas pela hipóxia tecidual (Hartmann et al., 2005).

Em algumas espécies que demonstram uma forte estimulação à eritropoiese por essa exposição, pode haver diminuição nessas contagens pela competição entre células-tronco na medula óssea (McDonald et al., 1992), o que não se observou no presente estudo. A diferença observada entre machos e fêmeas da mesma região pode ser atribuída à ação estimulante de hormônios masculinos sobre a hematopoiese, assim como o mencionado em relação aos valores de hematócrito citados acima (Moser-Purdy et al., 2017).



ns: diferença não significativa ($p > 0,05$); *: diferença significativa a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$); **: diferença significativa a 1% de probabilidade de erro ($p \leq 0,01$) Dif.: diferença entre os grupos comparados; t: valor do teste de Student; U: valor do teste de Mann-Whitney; PNI: Parque Nacional do Itatiaia.

Figura 7. Comparação da Plaquetometria de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.

É importante destacar que a contagem de plaquetas em roedores é significativamente influenciada pelo pequeno tamanho destas, bem como pela propensão à agregação (Everds, 2007). Quando ocorre agregação, as contagens tendem a ser subestimadas, resultando em uma considerável variabilidade de valores demonstrados em diversos estudos hematológicos e hemostáticos em roedores (O'Connell et al., 2015). Uma diminuição nos valores e aumentos na distribuição do tamanho das plaquetas no sangue de roedores de linhagens laboratoriais mantidos em ambiente de elevada altitude foi identificado por Yan e colaboradores (2023), este fato poderia estar relacionado à presença de agregação plaquetária, a saber que a aferição foi completamente automatizada, com ausência de análise microscópica de esfregaços sanguíneos.

O leucograma é parte da avaliação hematológica destinada a contagens totais e diferenciais de leucócitos, além de suas descrições morfológicas. Essas células participam de inúmeras respostas imunológicas, sendo as mudanças em seus valores e o tipo celular predominante rotineiramente utilizados para identificar desordens e caracterizá-las quanto à gravidade (Tvedten; Raskin, 2012).

Em roedores, a célula predominante de maneira geral é o linfócito seguido dos neutrófilos, havendo uma inversão nos valores a medida em que os animais tornam-se mais

velhos (Nemzek et al., 2001). Sobre a função celular, os linfócitos atuam no sistema imune através da produção de imunoglobulinas, atuação citotóxica, apresentação de antígenos, entre outros (Tvedten; Raskin, 2012). Neutrófilos atuam principalmente através da fagocitose de microrganismos, modulando a resposta inflamatória para posterior resolução (Thrall et al., 2012). Os monócitos são células que pertencem ao sistema fagocitário mononuclear, possuindo a capacidade de diferenciação em macrófagos e células dendríticas (Chiu; Bharat, 2016). Essas células são recrutadas posteriormente para fagocitarem, apresentarem antígenos, secretarem quimiocinas e se proliferarem para resolução da lesão.

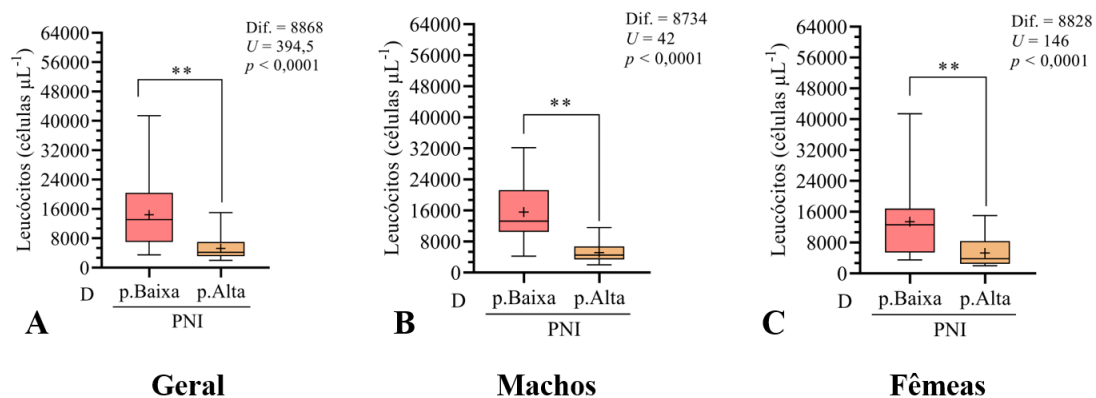
Para a interpretação das alterações leucocitárias é importante ter em mente que não apenas quadros patológicos podem promover mudanças quantitativas circulatórias, mas também mecanismos fisiológicos, principalmente quando se pensa em hormônios como corticosteroides e catecolaminas envolvidas nos mecanismos de luta e fuga (Thrall et al., 2012). Tais hormônios vão agir sobre os compartimentos denominados: *pool marginal*, *pool circulante* e de reserva medular leucocitária, gerando aumento nos valores, e, no caso dos linfócitos frente a ação do cortisol, uma diminuição expressiva (Macneill, 2022). Outro fator que também pode influenciar as concentrações periféricas dessas células seria o ritmo circadiano, havendo aumento durante a fase clara e diminuição durante na fase escura (Pilny, 2008).

Sobre a quantificação total de leucócitos deste estudo, em todos os grupos analisados os animais da região baixa foram os que apresentam os maiores valores (**Figura 8**), em decorrência dos aumentos nas contagens diferenciais de neutrófilos (**Figura 9A, 9B e 9C**), linfócitos (**Figura 9D, 9E, 9F**) e monócitos (**Figura 9G, 9H, 9I**).

Pelo método de captura utilizado, era esperado que a leucometria de ambas as populações deste estudo sofresse forte influência hormonal, principalmente adrenérgica, com aumento expressivo nas populações de neutrófilos e linfócitos (Davis et al., 2008). Porém, o que se observou foram valores bem inferiores nos indivíduos da região mais alta. Estudos reportam quedas nas contagens em animais submetidos a elevadas altitudes devido a alterações induzidas pelo cortisol sobre redistribuição leucocitária sanguínea à longo prazo (Yan et al., 2023). Além das baixas contagens nos roedores da parte alta, fatores ambientais como aumentos por disputas territoriais e oferta de alimentos, podem contribuir para o aumento expressivo da leucometria nos indivíduos das regiões mais baixas, corroborando com outros achados mencionados anteriormente neste trabalho.

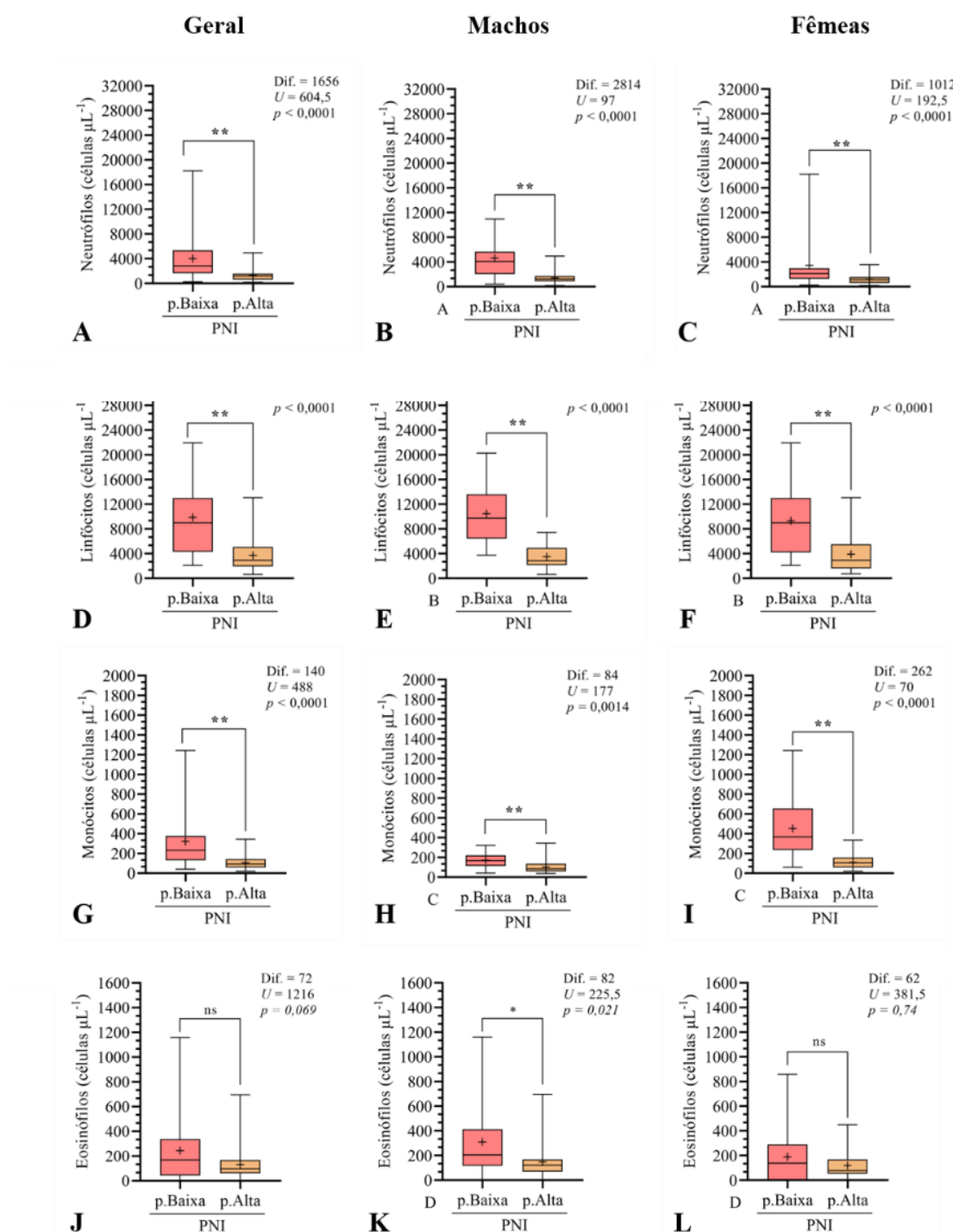
Os eosinófilos são células granulocíticas, encontrados principalmente nos tecidos do trato gastrointestinal (do estômago ao reto), timo, tecidos linfoides secundários, útero e tecido adiposo (Lee et al., 2012). O papel específico dessas células nos tecidos é objeto de investigação contínua, indo muito além da defesa contra infecções parasitárias e mediação de processos alérgicos (Jabobsen et al., 2012).

Durante a análise comparativa entre machos, a contagem de eosinófilos (**Figura 9K**) demonstrou valores superiores em indivíduos da parte baixa, não havendo diferença estatística nos demais grupos (**Figura 9J e 9L**). Uma das hipóteses para tal achado pode estar associada a um maior grau de parasitismo por endoparasitos e ectoparasitos que foi observado durante a manipulação destes (Linardi et al., 1985). Porém, como mencionado acima, a participação dessas células em outros mecanismos ainda não é totalmente elucidada, necessitando de maiores estudos para compreensão.



**: diferença significativa a 1% de probabilidade de erro ($p \leq 0,01$) Dif.: diferença entre os grupos comparados; t: valor do teste de Student; U: valor do teste de Mann-Whitney; PNI: Parque Nacional do Itatiaia.

Figura 8. Comparação da Leucometria Total (cél/ μl) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.



ns: diferença não significativa ($p > 0,05$); *: diferença significativa a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$); **: diferença significativa a 1% de probabilidade de erro ($p \leq 0,01$). Dif.: diferença entre os grupos comparados; t: valor do teste de Student; U: valor do teste de Mann-Whitney; PNI: Parque Nacional do Itatiaia.

Figura 9. Comparação da contagem diferencial de neutrófilos (cél/s/ μL), linfócitos (cél/s/ μL), monócitos (cél/s/ μL) e eosinófilos (cél/s/ μL) de roedores da Subfamília Sigmodontinae entre o grupo geral, grupo de apenas machos e grupo de apenas fêmeas de duas regiões do Parque Nacional do Itatiaia (pBaixa e pAlta) - RJ, 2024.

4.3 Diagnóstico de *Trypanosoma* sp.

Pesquisas realizadas destacam a ampla distribuição bem como a diversidade do gênero *Trypanosoma* identificado em roedores selvagens e sinantrópicos ao redor do mundo (Kocher et al., 2015; Mafie et al., 2018; Goodrich et al., 2020; Berbigier et al., 2021). Tais descobertas recebem ainda maior relevância no contexto de saúde única, pelo potencial zoonótico de determinadas espécies encontradas como *T. cruzi* (Yefi-Quinteros et al., 2018), *T. lewisi* (Milocco et al., 2013) e *T. brucei* (Morrison et al., 2023). Além disso, já se sabe que a presença desses agentes pode influenciar na suscetibilidade a coinfeções por outros de importância em saúde, como por exemplo *Toxoplasma gondii* (Gao et al., 2021), despertando maiores preocupações na dinâmica das doenças reemergente e emergentes.

No presente trabalho, 74 amostras sanguíneas de animais pertencentes a parte alta no PNI foram analisadas através da reação em cadeia da polimerase direcionada para o gene 18SSU do gênero *Trypanosoma*, das quais 35 eram pertencentes a machos, 37 a fêmeas e dois eram de animais cujo sexo não foi definido até o momento (**Tabela 5**). Deste total, 18,92% (N=14) dos animais demonstraram-se positivos, dado semelhante ao encontrado por Tanthanathipchai et al. (2023) ao investigar a presença de *Trypanosoma lewisi* no sangue de *Rattus rattus* residentes de assentamentos humanos na Tailândia, e também ao encontrado por Linardi et al. (2002) ao investigar o agente infeccioso em Minas Gerais (Brasil), através da visualização das formas tripomastigotas em esfregaço sanguíneo de roedores sinantrópicos.

Uma taxa de 74,7% de positividade para tripanosomatídeos, incluindo os gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania*, foi observada em pequenos mamíferos como os exemplares de marsupiais *Didelphis aurita*, *Marmosa paraguayana*, *Monodelphis americana*, *Metachirus myosurus* e de roedores como *Akodon cursor*, *Rattus rattus* e *Oligoryzomys nigripes*, na Estação Biológica FIOCRUZ Mata Atlântica (EFMA) no Rio de Janeiro (Berbigier et al., 2021). A alta prevalência pode estar associada à diversidade de marsupiais incluídas ao estudo, uma vez em que estes desempenham um papel importante como possíveis reservatórios (Jansen et al., 2018).

Estudos realizados no Centro Abu Alnomros - Gizé, indicaram uma maior prevalência da infecção em *Rattus* spp. (24,7%) em comparação com *Rattus norvegicus*, atribuindo tal fato à uma sólida imunidade adquirida deste segundo grupo, composto majoritariamente por indivíduos mais velhos (Dahesh et al., 2016). Este achado reforça que além da susceptibilidade variável entre as espécies, determinados grupos quando expostos, desenvolvem mecanismos imunes que reduzem a carga parasitária ao ponto de não serem detectadas (Albright; Albright, 1991). Uma das hipóteses que podem ser atribuídas a menor taxa de positividade no presente trabalho pode estar correlacionada a exposições prévias nos indivíduos analisados, fato que fomenta investigações sorológicas futuras.

Em roedores capturados na cidade de Belo Horizonte (Brasil), as taxas de detecção da espécie *T. lewisi* diferiu entre os sexos, com 24,9% (68/273) em machos e 16% (25/156) em fêmeas (Linardi et al., 2002). Dados semelhantes foram observados no presente trabalho, tendo machos 20% (N = 7) e fêmeas 16,22% (N=6) de positividade. Machos podem apresentar maiores taxas de infecção por *Trypanosoma* sp. devido ao comportamento inerente a explorações de áreas, disputas territoriais e pelas maiores taxas de infestações por pulgas, sendo elas potenciais vetores de determinadas espécies do agente infeccioso em questão (Linardi et al., 1985). Camundongos e ratos podem se infectar por *T. evansi* através da via subcutânea, fato

que reforça estes achados em machos, os quais demonstram um temperamento mais agressivo quando comparados as fêmeas (Jansen, 1942).

Tabela 5. Pesquisa da infecção por *Trypanosoma* sp. em roedores da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae: distribuição por sexo, número de animais, resultados moleculares e morfológicos e distribuição por gêneros no Parque Nacional do Itatiaia - RJ, 2024.

Sexo	N geral	PCR positivo (Tripanosomatídeo)	Lâmina + PCR	Gêneros
Macho pAlta	35	≈ 20% (N=7)	≈ 2,86% (N=1)	<i>Akodon</i> (Meyen, 1833)
				<i>Bucepattersonius</i> (Herskovitz, 1998)
				<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)
Fêmea pAlta	37	≈16,22% (N=6)	≈ 50% (N=3)	<i>Bucepattersonius</i> (Herskovitz, 1998)
				<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)
				<i>Oligoryzomys</i> (Bangs, 1900)
Não definido pAlta	2	≈ 50% (N=1)	-	<i>Bucepattersonius.</i> (Herskovitz, 1998)
Macho pBaixa	4	≈ 20% (N=1)	≈ 20% (N=1)	<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)
Fêmea pBaixa	1	-	-	<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)

pAlta: Parte Alta do Parque Nacional do Itatiaia; pBaixa: Parte Baixa do Parque Nacional do Itatiaia.

Cinco amostras sanguíneas de indivíduos do gênero *Rhipidomys* (Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae) da parte baixa deste estudo foram analisadas através da PCR para *Trypanosoma* sp. e destes, 20% (N = 1) demonstraram-se positivos. A saber que as infecções por *Trypanosoma* sp. em roedores muitas vezes são atribuídas principalmente a pulgas dos gêneros *Xenopsylla*, *Ctenocephalides* e *Pulex* e carrapatos das ordens Ixodida e Argasidaea e triatomíneos, a temperatura ambiental terá uma forte influência na dinâmica de transmissão (Garcia et al., 2019). Estudos realizados em altitudes mais elevadas demonstram que a prevalência e a abundância desses vetores são menores pelas baixas temperaturas, o que limita sua reprodução e desenvolvimento (Gebrezgiher et al., 2023). Este dado pode ser correlacionado as condições do presente estudo, uma vez em que a altitude média local é de aproximadamente 2.010m.

Tabela 6. Relação dos roedores da Família Cricetidae positivos para *Trypanosoma*: distribuição por gênero, local apreendido, trilha, ponto da trilha, tipo de armadilha e sexo no Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024.

Gênero	Local	Trilha	Ponto	Armadilha	Sexo
<i>Oligoryzomys</i> (Bangs, 1900)	PNI, alto, Casa de Pedra	J	7	Sh	Fêmea
<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)	PNI, alto, Casa de Pedra	J	3	Sh	Macho
<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)	PNI, alto	G	5	Sh	Macho
<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)	PNI, alto	G	13	Sh	Fêmea
<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)	PNI, alto	G	23	Sh	Fêmea
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	G	23	Sh	Fêmea
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	G	26	Sh	Macho
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	H	3	Sh	Fêmea
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	H	8	Sh	Macho
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	G	19	Sh	Macho
<i>Akodon</i> (Meyen, 1833)	PNI, alto, Casa de Pedra	J	6	Sh	Macho
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto, Casa de Pedra	J	13	Sh	Macho
<i>Brucepattersonius</i> (Hershkovitz, 1998)	PNI, alto	G	27	Sh	-
<i>Castoria</i> (Pardiñas, Geise, Ventura & Lessa, 2016)	PNI, alto	H	43	Sh	Fêmea
<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)	PNI, baixo, Abrigo Lamego	B	1	Sh	Macho
<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)	PNI, baixo, Abrigo Lamego	B	8	Sh	Fêmea
<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)	PNI, baixo, Abrigo Lamego	B	3	Sh	Macho
<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)	PNI, baixo, Abrigo Lamego	B	8	Sh	Macho
<i>Rhipidomys</i> (Tschudi, 1845)	PNI, baixo, Abrigo Lamego	B	3	TK	Macho

PNI: Parque Nacional do Itatiaia; Sh: Armadilha tipo Sherman; Tk: Armadilha tipo Tomahawk.

Dos catorze animais positivos da parte alta, dez roedores foram capturados no mesmo local (PNI, alto) em duas diferentes trilhas G (7 animais) e H (3 animais) e quatro foram capturados em outro local (PNI, Casa de Pedra) na mesma trilha J (**Tabela 6**). Em relação aos

cinco indivíduos da parte baixa testados, todos eram advindos da mesma trilha B. A positividade encontrada em indivíduos que partilham do mesmo ambiente pode ter forte relação, considerando que o gradiente de altitude encontrado na Mata Atlântica pode contribuir para o estabelecimento de áreas de simpatria entre espécies de roedores como as deste estudo, favorecendo a circulação de parasitos entre eles (Delciellos et al., 2020).

Formas tripomastigotas foram identificadas em todas as lâminas de esfregaço sanguíneo de animais também positivos na biologia molecular, sendo quatro animais advindos da parte alta do PNI: machos 2,86% (N=1) e fêmeas 50% (N=3) e no único roedor macho (20%) da parte baixa. Morfologicamente, os parasitos possuíam formas alongadas e fusiformes, com membrana ondulante, cinetoplasto em forma de bastão localizado na extremidade subterminal, núcleo oval e um único flagelo livre e ondulante que se estende ao longo de sua margem livre (**Figura 10 e Figura 11**). As múltiplas espécies de *Trypanosoma* possuem formas tripomastigotas semelhantes, tornando a identificação baseada na morfologia difícil e muitas vezes imprecisa (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, [2024]). No presente estudo não foi possível identificar à nível de espécie, sendo necessário a realização do sequenciamento, para posterior posicionamento filogenético e compreensão acerca das espécies encontradas.

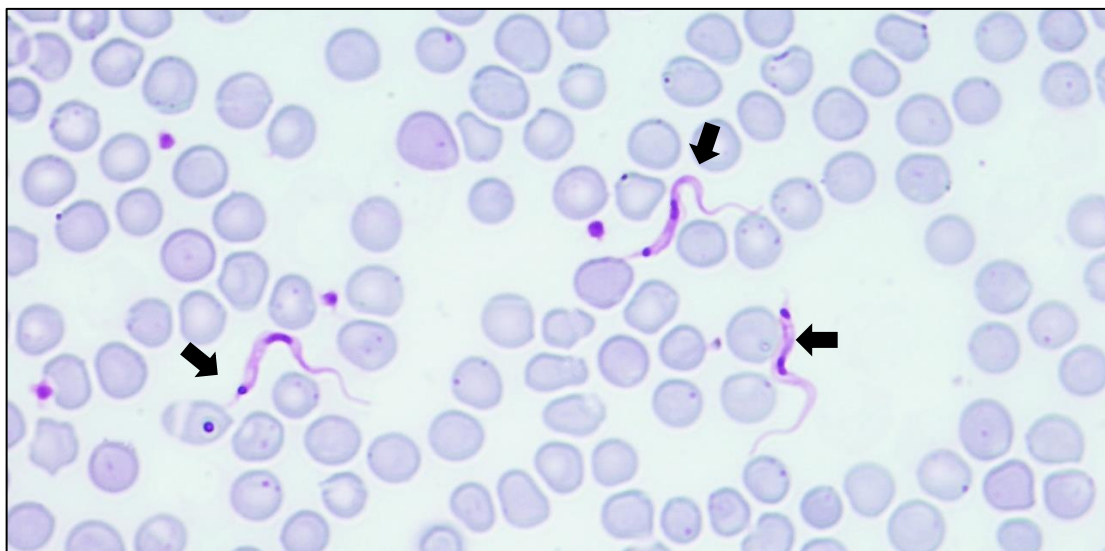


Figura 10. Formas tripomastigotas de *Trypanosoma* sp. identificadas em esfregaço sanguíneo de roedor da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae da parte alta do Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024. Coloração hematológica Giemsa, aumento de 400x. **Fonte:** OLIVEIRA, ÁFX (2024).

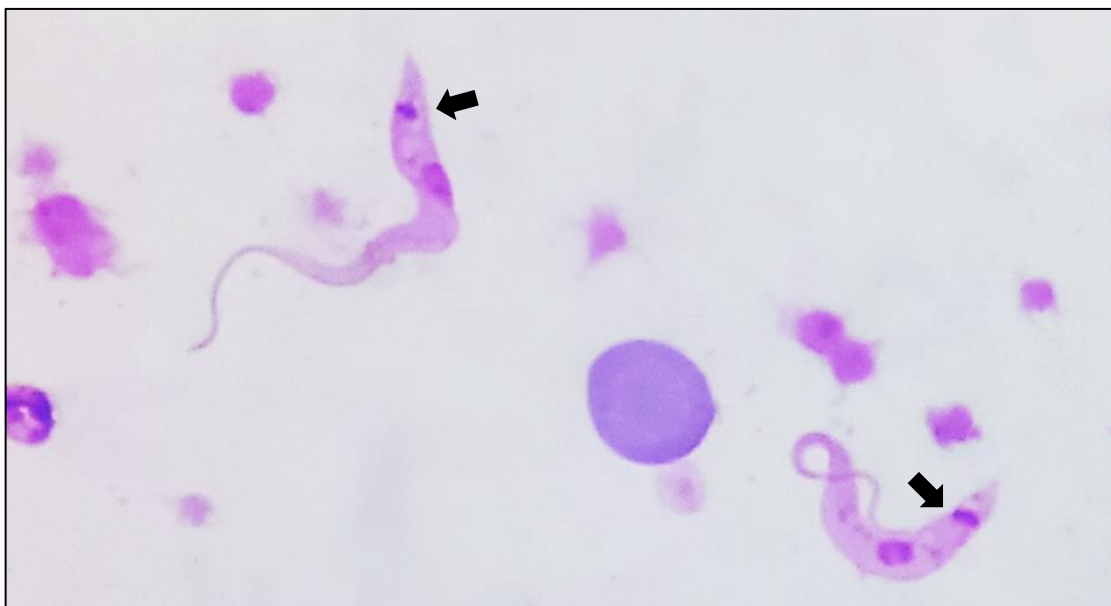


Figura 11. Formas tripomastigotas de *Trypanosoma* sp. identificadas em esfregaço sanguíneo de roedor da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae da parte baixa do Parque Nacional do Itatiaia – RJ, 2024. Coloração hematológica Giemsa, aumento de 1000x. **Fonte:** OLIVEIRA, ÁFX (2024).

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho identificou mudanças nos parâmetros hematológicos de roedores da Família Cricetidae, Subfamília Sigmodontinae ao longo do gradiente de altitude, principalmente quando correlacionados a variáveis como o sexo entre os grupos. De maneira geral, os indivíduos da parte baixa apresentaram os maiores valores de hematócrito e leucócitos quando comparados aos da parte de alta. Em contrapartida, os roedores das regiões mais elevadas demonstraram valores plaquetários e de proteína plasmática total superiores.

Além disso, também foi identificado a ocorrência de *Trypanosoma* sp. em amostras sanguíneas de roedores advindos de ambientes de baixa e elevada altitude no Parque Nacional do Itatiaia, através de técnicas moleculares e observação em esfregaço sanguíneo, indicando uma distribuição das espécies deste parasito na área. Este achado desperta novos interesses em pesquisas filogenéticas adicionais, necessárias para o esclarecimento à nível de espécie, bem como o potencial impacto na saúde humana e fauna local destes parasitos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-FRANCH, F. *Trypanosoma cruzi* parasitemia in chronic Chagas disease: insights from hierarchical modeling. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 8, p. e0010612, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010612>
- ABREU, E. F.; CASALI, D.; COSTA-ARAÚJO, R.; GARBINO, G.S.T.; LIBARDI, G.S., LORETTO, D., LOSS, A.C., MARMONTEL, M., MORAS, L.M., NASCIMENTO, M.C., OLIVEIRA, M.L., PAVAN, S.E.; TIRELLI, F.P. (2023). **Lista de Mamíferos do Brasil (2023-1)**. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10428436>
- AHMAD, Y.; SHARMA, N.K.; AHMAD, M.F.; SHARMA, M.; GARG, I.; BHARGAVA, K. Proteomic identification of novel differentiation plasma protein markers in hypobaric hypoxia-induced rat model. **PLoS One**, v. 9, e98027, 2014. <https://doi.org/10.1177/0300985814529315>
- ALBRIGHT, J.W.; ALBRIGHT, J.F. Rodent trypanosomes: their conflict with the immune system of the host. **Parasitology today**, v. 7, p. 137-140, 1991. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(91\)90277-U](https://doi.org/10.1016/0169-4758(91)90277-U)
- AL-HASHEM, F. H. The effect of high altitude on blood hormones in male Westar rats in South Western Saudi Arabia. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 6, p. 268-274, 2010. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2010.268.274>
- ALMOSNY N.R.P.; MONTEIRO A.M. 2007. Patologia clínica. In: CUBAS Z.S., SILVA J.C.S.; CATÃO-DIAS J.L. **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. (Eds). São Paulo, Roca, 2007, p.939-966.
- ALSUFYANI, D. Evidence of zoonotic pathogens through biophysically induced genomic variance. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 57, e2, 2024. <https://doi.org/10.1017/S0033583524000039>
- ARAÚJO, P. F.; ALMEIDA, A. B.; PIMENTEL, C. F.; SILVA, A. R.; SOUSA, A.; VALENTE, S. A.; VALENTE, V. C.; BRITTO, M. M.; ROSA, A. C.; ALVES, R. M.; HAGSTRÖM, L.; TEIXEIRA, A. R. Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 437–446, 2017. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160538>
- AUSTAD, S.N. **Animal Size, Metabolic Rate, and Survival, Among and Within Species**. In: WOLF, N. **The Comparative Biology of Aging**. Springer, Dordrecht, 2010. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3465-6_2
- BARRETO, C.G.; CAMPOS, J.B.; ROBERTO, D.M.; TEIXEIRA, N.; ALVES, G.S.G.; COELHO, W. **Plano de Manejo do Parque Nacional do Itatiaia: aspectos gerais**. 29 p. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia/Normas_UP/Aspectos_Gerais.pdf
- BARTHOLD, S. W.; GRIFFEY, S. M.; PERCY, D. H. **Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits**. 4th ed. Wiley-Blackwell, January 1991. ISBN: 978-1-118-82424-5.

BARTHOLOMEU, D. C.; TEIXEIRA, S. M. R.; CRUZ, A. K. Genomics and functional genomics in *Leishmania* and *Trypanosoma cruzi*: statuses, challenges and perspectives. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 116, p. e200634, 2021. <https://doi.org/10.1590%2F0074-02760200634>

BASAK, N.; NORBOO, T.; MUSTAK, M.S.; THANGARAJ, K. Heterogeneity in Hematological Parameters of High and Low Altitude Tibetan Populations. **Journal of Blood Medicine**, v. 2, p. 287-298, 2021. <https://doi.org/10.2147%2FJBM.S294564>

BAUER, N.; NAKAGAWA, J.; DUNKER, C.; FAILING, K.; MORITZ, A. Evaluation of the automated hematology analyzer Sysmex XT-2000iV compared to the ADVIA (R) 2120 for its use in dogs, cats, and horses. Part II: Accuracy of leukocyte differential and reticulocyte count, impact of anticoagulant and sample aging. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, p. 74–89, 2012. <https://doi.org/10.1177/1040638711436243>

BEALL, C. M. Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, p. 8655–8660, 2007. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701985104>

BENJAMIN, R. J.; MCLAUGHLIN, L. S. Plasma components: properties, differences, and uses. **Transfusion**, v. 52, p. 9S-19S, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03622.x>

BERBIGIER, A.P.; BARROS, J.H.D.S.; PONTES, E.S.; LISBOA, C.V.; GENTILE, R.; XAVIER, S.C.D.C.; JANSEN, A.M.; ROQUE, A.L.R. Trypanosomatid Richness in Wild and Synanthropic Small Mammals from a Biological Station in Rio de Janeiro, Brazil. **Pathogens**, v. 5, p. 1442, 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111442>

BOLLIGER, A. P. Cytologic evaluation of bone marrow in rats: indications, methods, and normal morphology. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 33, n. 2, p. 58-67, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00351.x>

BOLLINGER, A.; EVERDS, N. E.; ZIMMERMAN, K. L. **Hematology of Lab Animals**. In: WEISS, D. J.; WALDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2010, p. 852–887.

BONFIM-MELO, A.; FERREIRA, E. R.; FLORENTINO, P. T. V.; MORTARA, R. A. Amastigote synapse: the tricks of *Trypanosoma cruzi* extracellular amastigotes. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 382183, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01341>

BONVICINO, C. R., OLIVEIRA, J. A., D'ANDREA, P. S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos** Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 20 p.: 2008 (Série de Manuais Técnicos, 1). Rio de Janeiro.

BONVICINO, C. R.; LANGGUTH, A.; LINDBERGH, S. M; DE PAULA, A. C. An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, Southeastern Brazil. **Mammalia**, v. 6, p. 547-560, 1997. <https://doi.org/10.1515/mammalia-1997-610407>

BONVICINO, C.; LINDBERGH, S.; MAROJA, L. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic Forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring

environment. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 765–774, 2002. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000500005>

BOUCINHA, C.; ANDRADE-NETO, V. V.; ENNES-VIDAL, V.; BRANQUINHA, M. H.; SANTOS, A. L. S. D.; TORRES-SANTOS, E. C.; D'AVILA-LEVY, C. M. A stroll through the history of monoxenous trypanosomatids infection in vertebrate hosts. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 804707, 2022. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.804707>

CABARCAS-MONTALVO, M.; OLIVERO-VERBEL, J.; CORRALES-ALDANA, H. Genotoxic effects in blood cells of *Mus musculus* and *Iguana iguana* living near coal mining areas in Colombia. **Science of The Total Environment**, v. 416, p. 208–214, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.080>

CAMPBELL, T.W. **Exotic animal hematology and cytology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 402 p. 2015. <https://doi.org/10.1002/978111899370>

CARLETON, M. D.; MUSSER, G. G. **Order Rodentia**. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World, A., Taxonomic, Geographic Reference**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2005. pp. 745–752.

CERDA, J. R.; WEBB, T. L. Wildlife conservation and preserving biodiversity: impactful opportunities for veterinarians? **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 261, n. 7, p. 1077-1085, 2023. <https://doi.org/10.2460/javma.23.02.0094>

CHANTAL, L. R.; PUN, M.; MAWHINNEY, J.A.; MOUNSEY, C. A.; MURA, M.; MARTIN, A.; PIALOUX, V.; HARTMANN, S. E.; FURIAN, M.; RAWLING, J.M.; LOPEZ, I.; SOZA, D.; MORAGA, F.A.; LICHTBLAU, M.; BADER, P.R.; ULRICH, S.; BLOCH, K. E.; C. FRISE, M. C.; POULIN, M. J. Differential effects of high-altitude exposure on markers of oxidative stress, antioxidant capacity, and iron profiles. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 323, n. 4, p. R445-R456, 2022. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00321.2021>

CHARLES, R. A.; KJOS, S.; ELLIS, A. E.; BARNES, J. C.; YABSLEY, M. J. Southern Plains Woodrats (*Neotoma micropus*) From Southern Texas are Important Reservoirs of Two Genotypes of *Trypanosoma cruzi* and Host of a Putative Novel Trypanosoma Species. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, p. 22–30, 2013. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0817>

CHIN-HONG, P.V.; SCHWARTZ, B.S.; BERN, C.; MONTGOMERY, S.P.; KONTAK, S.; KUBAK, B.; MORRIS, M. I.; NOWICKI, M.; WRIGHT, C.; ISON, M. G. Screening and treatment of Chagas disease in organ transplant recipients in the United States: recommendations from the Chagas in Transplant Working Group. **American Journal of Transplantation**, v. 11, p. 672–80, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03444.x>

CHIU, S.; BHARAT, A. Role of monocytes and macrophages in regulating immune response following lung transplantation. **Current Opinion in Organ Transplantation**, v. 21, p. 239-245, 2016. <https://doi.org/10.1097%2FMOT.0000000000000313>

COMAR, S. R.; DANCHURA, H. S. M.; SILVA, P. H. Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 431–436, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000087>

Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB). 1992. Convention on Biological Diversity. **Artigo 2: Uso de termos**. Rio de Janeiro: United Nations. Available at: <https://www.cbd.int/convention/text> . Accessed on [25 de março de 2024].

CORTEZ, A. P.; VENTURA, R. M.; RODRIGUES, A. C.; BATISTA, J. S.; PAIVA, F.; AÑEZ, N.; MACHADO, R. Z.; GIBSON, W. C.; TEIXEIRA, M. M. G. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. **Parasitology**, v. 133, 2006. <https://doi.org/10.1017/s0031182006000254>

COSTA, D. P.; COUTO, G. P.; SIQUEIRA, M. F.; CHURCHILL, S. P. Bryofloristic affinities between Itatiaia National Park and tropical Andean countries. **Phytotaxa**, v. 346, n. 3, p. 203–220, 2018. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.346.3.1>

COX, P. G.; RAYFIELD, E. J.; FAGAN, M. J.; HERREL, A.; PATAKY, T. C.; JEFFERY, N. Functional evolution of the feeding system in rodents. **PLoS One**, v. 7, e36299, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036299>

D'ELÍA, G.; PARDIÑAS, U. F. J.; TETA, P.; PATTON J. L. Definition and diagnosis of a new Tribe of Sigmodontinae Rodents (Cricetidae: Sigmodontinae), and a revised classification of the Subfamily. **Gayana (concepción)**, v. 71, p. 187–194, 2007.

DAHESH, S. M.; MIKHAIL, M. W. Surveillance of *Trypanosoma* spp of rodents and studies in their transmission probability by fleas in some rural Egyptian areas. **Journal of Egypt Society of Parasitology**, v. 46, p. 157–166, 2016. <https://doi.org/10.12816/0026161>

DARIO, M. A.; FURTADO, C.; LISBOA, C. V.; OLIVEIRA, F.; SANTOS, F. M.; D'ANDREA, P. S.; ROQUE, A. L. R.; XAVIER, S. C. C.; JANSEN, A. M. Trypanosomatid Richness Among Rats, Opossums, and Dogs in the Caatinga Biome, Northeast Brazil, a Former Endemic Area of Chagas Disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 851903, 2022. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.851903>

DARIO, M. A.; PAVAN, M. G.; RODRIGUES, M. S.; LISBOA, C. V.; KLUYBER, D.; DESBIEZ, A. L. J.; HERRERA, H. M.; ROQUE, A. L. R.; LIMA, L.; TEIXEIRA, M. M. G.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma rangeli* Genetic, Mammalian Hosts, and Geographical Diversity from Five Brazilian Biomes. **Pathogens**, v. 10, p. 736, 2021. <https://doi.org/10.3390%2Fpathogens10060736>

DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. C. The Use of Leukocyte Profiles to Measure Stress in Vertebrates: A Review for Ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, p. 760–772, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

DE LIMA, D. O.; SAUSEN, J. O.; SKUPIEN, F. L.; RODRIGUES, D. P. Abundância e reprodução de *Oligoryzomys nigripes* (Rodentia, Cricetidae) em dois fragmentos no Sul da Mata Atlântica, Cerro Largo, RS. **Oecologia Australis**, v. 26, n. 1, p. 95–101, 2022. <https://doi.org/10.4257/oeco.2022.2601.11>

DE LIMA, D. O.; SAUSEN, J. O.; SKUPIEN, F. L.; RODRIGUES, D. P. Abundância e reprodução de *Oligoryzomys nigripes* (rodentia, cricetidae) em dois fragmentos no sul da Mata Atlântica, Cerro Largo, RS. **Oecologia Australis**, v. 26, n. 1, p. 95-101, 2022. <https://doi.org/10.4257/oeco.2022.2601.11>

DE SOUZA, W.; BARRIAS, E. S. May the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi* be infective? **Acta tropica**, v. 212, p. 105688, 2020. <http://10.1016/j.actatropica.2020.105688>

DE SOUZA, W.; DE CARVALHO, T. M. U.; BARRIAS, E. S. Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. **International journal of cell biology**, v. 2010, p. 295394, 2010. <https://doi.org/10.1155%2F2010%2F295394>

DELANEY, M. A.; TREUTING, P. M.; ROTHENBURGER, J. L. **Rodentia**. In: **Patologia da vida selvagem e animais de zoológico**. 2018, p. 499–515. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805306-5.00020-1>

DELICIELLOS, A. C.; AGUIEIRAS, M.; MENDONÇA, G. C. DE; LOSS, A. C.; ROCHA-BARBOSA, O.; GEISE, L. Sympatry between species of *Juliomys* (Rodentia: Sigmodontinae) along an altitudinal gradient in the Serra da Bocaina National Park. **Biota Neotropical**, v. 20, n. 3, 2020. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2020-0958>

D'ELÍA, G.; FABRE, P.-H.; LESSA, E. P. Rodent systematics in an age of discovery: recent advances and prospects. **Journal of Mammalogy**, v. 100, p. 852–871, 2019. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy179>

DESQUESNES, M.; GONZATTI, M.; SAZMAND, A.; THÉVENON, S.; BOSSARD, G.; BOULANGÉ A.; GIMONNEAU, G.; TRUC, P.; HERDER, S.; RAVEL, S.; SERENO, D.; JAMONNEAU, V.; JITTAPALAPONG, S.; JACQUIET, P.; SOLANO, P.; BERTHIER, D. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. *Parasit Vectors*, v. 15, n. 1, p. 64, 2022. <http://doi:0.1186/s13071-022-05190-1>

DESQUESNES, M.; RAVEL, S.; CUNY, G. PCR identification of *Trypanosoma lewisi*, a common parasite of laboratory rats. **Kinetoplastid Biology and Disease**, v. 1, p. 2, 2002. <https://doi.org/10.1186/1475-9292-1-2>

DHAMA, K.; CHAKRABORTY, S.; KAPOOR, S.; TIWARI, R.; KUMAR, A.; DEB, R.; RAJAGUNALAN, S.; SINGH, R.; VORA, K.; NATESAN, S. One world, one health - veterinary perspectives. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 1, p. 5-13, 2013.

DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V.; LUNA, E. J. DE A. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 375–379, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000032>

DONNELLY, T. M.; BERGIN, I.; IHRIG, M. **Biologia e doenças de outros roedores**. In: **Medicina de animais de laboratório**. Imprensa Acadêmica, 2015. p. 285-349.

EREMIN, O.; WILSON, A. B.; COOMBS, R. R. A.; PLUMB, D.; ASHBY, J. Antibody-dependent cellular cytotoxicity in the guinea pig: The role of the Kurloff cells. **Cellular Immunology**, v. 55, p. 312–327, 1980. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(80\)90164-1](https://doi.org/10.1016/0008-8749(80)90164-1)

ESPERANDIM, V. R.; DA SILVA FERREIRA, D.; SOUSA REZENDE, K. C.; CUNHA, W. R.; SARAIVA, J.; BASTOS, J.K.; ANDRADE, M.L.; DE ALBUQUERQUE, S. In vivo infection by *Trypanosoma cruzi*: a morphometric study of tissue changes in mice. *Parasitology research*, v. 112, p. 431-436, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3048-x>

ETIM, N. N.; WILLIAMS, M. E.; AKPABIO, U.; OFFIONG, E. E. Haematological parameters and factors affecting their values. *Agricultural Science*, v. 2, p. 37-47, 2014. <http://dx.doi.org/10.12735/as.v2i1p37>

EVERDS, N. **Hematology of the laboratory mouse**. In: FOX, J. **The Mouse in Biomedical Research**. 2007. Waltham: Academic Press, p. 135–163. <https://doi.org/10.1016/B978-012369454-6%2F50059-5>

FABRE, P. H.; GALEWSKI, T.; TILAK, M.; DOUZERY, E. J. P. Diversification of South American spiny rats (Echimyidae): a multigene phylogenetic approach. *Zoologica Scripta*, v. 42, p. 117–134, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2012.00572.x>

FRANCO, J.R.; SIMARRO, P.P.; DIARRA, A.; JANNIN, J.G. Epidemiology of human African trypanosomiasis. *Clinical Epidemiology*, v. 6, p. 257-275, 2014. <http://doi:10.2147/CLEP.S39728>

FROLOV, A. O.; KOSTYGOV, A. Y.; YURCHENKO, V. Development of monoxenous trypanosomatids and phytomonads in insects. *Trends in Parasitology*, v. 37, p. 538-551, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.02.004>

GAO, J.-M.; YI, S.-Q.; GENG, G.-Q.; XU, Z.-S.; HIDE, G.; LUN, Z.-R.; LAI, D.-H. Infection with *Trypanosoma lewisi* or *Trypanosoma musculi* may promote the spread of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*, v. 148, p. 703-711, 2021. <https://doi.org/10.1017/s0031182021000196>

GARCIA, H. A.; RANGEL, C. J.; ORTÍZ, P. A.; CALZADILLA, C. O.; CORONADO, R. A.; SILVA, A. J.; PÉREZ, A. M.; LECUNA, J. C.; GARCÍA, M. E.; AGUIRRE, A. M.; TEIXEIRA, M. M. G. Zoonotic trypanosomes in rats and fleas of Venezuelan slums. *Ecohealth*, v. 16, p. 523-533, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01440-4>

GEBREZGIHER, G. B.; MAKUNDI, R. H.; KATAKWEBA, A. A.; BELMAIN, S. R.; LYIMO, C. M.; MEHERETU, Y. Arthropod ectoparasites of two rodent species occurring in varied elevations on Tanzania's second highest mountain. *Biology*, v. 12, n. 3, p. 394, 2023. <https://doi.org/10.3390/biology12030394>

GEISE, L.; WEKSLER, M.; BONVICINO, C. R. Presence or absence of gall bladder in some Akodontini rodents (Muridae, Sigmodontinae). *Mammalian Biology*, v. 69, n. 3, p. 1-5, 2004. <https://doi.org/10.1078/1616-5047-00136>

GEISSMANN, F.; AUFFRAY, C.; PALFRAMAN, R.; WIRRIK, C.; CIOCCA, A.; CAMPISI, L.; NARNI-MANCINELLI, E.; LAUVAU, G. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunology and Cell Biology*, v. 86, p. 398–408, 2008. <https://doi.org/10.1038/icb.2008.19>

GOMES RODRIGUES, H.; CORNETTE, R.; CLAVEL, J.; CASSINI, G.; BHULLAR, B. S. A.; FERNÁNDEZ-MONESCILLO, M.; MORENO, K.; HERREL, A.; BILLET, G.

Differential influences of allometry, phylogeny and environment on the rostral shape diversity of extinct South American notoungulates. **Royal Society Open Science**, v. 5, p. 171816, 2018. <https://doi.org/10.1098/rsos.171816>

GONÇALVES, P. R. **Diversificação dos roedores sigmodontíneos em formações alto-montanas da Mata Atlântica**. 2006. Tese de Doutorado. Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

GONÇALVES, P. R.; CHRISTOFF, A. U.; MACHADO, L. F.; BONVICINO, C. R.; PETERS, F. B.; PERCEQUILLO, A. R. Unraveling Deep Branches of the Sigmodontinae Tree (Rodentia: Cricetidae) in Eastern South America. **Journal of Mammalian Evolution**, v. 27, p. 139–160, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10914-018-9444-y>

GOODRICH, I.; MCKEE, C.; KOSOY, M. *Trypanosoma (Herpetosoma)* diversity in rodents and lagomorphs of New Mexico with a focus on epizootological aspects of infection in Southern Plains woodrats (*Neotoma micropus*). **PLoS One**, v. 15, e0244803, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244803>

GORDY, D.; STONE, E. Mouse Model for Platelet Aggregation using Flow Cytometry. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 158, p. S8-S9, 2022. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqac126.014>

GRIMES, C.N.; FRY, M. M. Nonregenerative anemia: mechanisms of decreased or ineffective erythropoiesis. **Patologia Veterinária**, v. 52, p. 298-311, 2015. <https://doi.org/10.1177/0300985814529315>

GRISARD, E. C. Salivaria or Stercoraria? The *Trypanosoma rangeli* dilemma. **Kinetoplastid Biology and Disease**, v. 1, p. 5, 2002. <https://doi.org/10.1186/1475-9292-1-5>

GUIMARÃES, A.; SANTOS, H. A.; BALTHAZAR, D. A.; KIERULFF, M. C. M.; BAPTISTA, M. N. M.; OLIVEIRA, Á. F. X.; STOCCO, N. V.; MUREB, E. N.; COSTA, A. C.; RAIMUNDO, J. M.; BALDANI, C. D. Molecular detection and phylogenetic analysis of *Trypanosoma* spp. in Neotropical primates from Rio de Janeiro State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2022, v. 42, p. e07059. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7059>

GUO, W.; ABOU GHAYDA, R.; SCHMIDT, P. J.; FLEMING, M. D.; BHASIN, S. The role of iron in mediating testosterone's effects on erythropoiesis in mice. **The FASEB Journal**, v. 34, p. 11672-11684, 2020. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqac126.014>

HAFNER, C. H.; HAFNER, M. S. **Heterochrony in Rodents**. In: MCKNNEY, M. L. **Heterochrony in evolution: a multidisciplinary approach**. New York: Plenum Press, 1988. p. 217-235. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0795-0>

HAMILTON, P. B.; STEVENS, J. R. **Classification and phylogeny of *Trypanosoma cruzi***. In: **American Trypanosomiasis Chagas Disease (Second Edition): One Hundred Years of Research**, p. 321-344, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00015-0>

HARTMANN, S.; KRAFFT, A.; HUCH, R.; BREYMAN, C. Effect of altitude on thrombopoietin and the platelet count in healthy volunteers. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 93, p. 115-117, 2005. <https://doi.org/10.1160/th04-02-0086>

HE, P.; KATAN, A. J.; TUBIANA, L.; DEKKER, C.; MICHIELETTO, D. Single-Molecule Structure and Topology of Kinetoplast DNA Networks. **Physical Review X**, v. 13, p. 021010, 2023. <https://doi.org/10.1103/PhysRevX.13.021010>

HEATLEY, J. J.; RUSSELL, K. E. **Exotic animal laboratory diagnosis**. John Wiley & Sons, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026>

HERRERA, C. P.; LICON, M. H.; NATION, C. S.; JAMESON, S. B.; WESSON, D. M. Genotype Diversity of *Trypanosoma cruzi* in Small Rodents and *Triatoma sanguisuga* From a Rural Area in New Orleans, Louisiana. **Parasitology and Vectors**, v. 8, p. 123, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0730-8>

HOARE, C. A. **The trypanosomes of mammals: a zoological monograph**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972. 749 p.

HONG, X. K.; ZHANG, X.; FUSCO, O. A.; LAN, Y. G.; LUN, Z. R.; LAI, D. H. PCR-based identification of *Trypanosoma lewisi* and *Trypanosoma musculi* using maxicircle kinetoplast DNA. **Acta tropica**, 171, 207-212, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.04.007>

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Plano Emergencial para o Parque Nacional do Itatiaia**. Diretoria de Ecossistemas, Departamento de Unidades de Conservação. Brasília, DF, 1994. 83p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Brasil em Síntese: Dados Geográficos**. Disponível em: <https://brasilemsintese.ibge.gov.br/territorio/dados-geograficos.html> Acesso em: 27 mar. 2024.

INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM (ITIS). Taxonomic Serial Number (TSN) 180274. Disponível em: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180274#null Acesso em: 27 mar. 2024.

IPBES. (2021). Mudanças Climáticas 2021: A Base da Ciência Física. Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-i/> Acessado em: 5 de abril de 2024.

JACOB-FILHO, W.; LIMA, C. C.; PAUNKSNIS, M. R. R.; SILVA, A. A.; PERILHÃO, M. S.; CALDEIRA, M.; BOCALINI, D.; DE SOUZA, R. R. Reference database of hematological parameters for growing and aging rats. **The Aging Male**, v. 21, p. 145-148, 2018. <https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1350156>

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Lea & Febiger. Philadelphia, 1993.

JAMIE, R.; STEVENS, W.; GIBSON, C. The evolution of salivarian trypanosomes. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 225–228, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761999000200019>

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 11, p. 502, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3067-2>

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. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.018>

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* Transmission in the Wild and Its Most Important Reservoir Hosts in Brazil. **Parasitology and Vectors**, v. 11, p. 502, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3067-2>

JANSEN, G. R. Nota sobre o comportamento do *Trypanossoma equinum* em animais de laboratório. **Revista Brasileira de Biologia**, v.2, p.247-253, 1942.

JOHNSTON, R. Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. **Jornal de Mammalogia**, v. 84, n. 4, p. 1141-1162, 2003. <https://www.jstor.org/stable/1384005>

KAUFER, A.; ELLIS, J.; STARK, D.; BARRATT, J. The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 287, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2204-7>

KEEBLE, E. **Rodents: biology and husbandry**. In: **BSAVA Manual of Rodents and ferrets**. BSAVA Library, 2009. p. 1-17.

KLEIMAN, D. G.; THOMPSON, K. V.; BAER, C. K. **Wild mammals in captivity: principles and techniques for zoo management**. University of Chicago Press, 2010. 592 p.

KOCHER, A.; DESQUESNES, M.; YANGTARA, S.; MORAND, S.; JITTAPALAPONG, S. Is the Oriental House Rat (*Rattus tanezumi*) a Potential Reservoir for *Trypanosoma evansi* in Thailand? **Journal of Wildlife Diseases**, v. 51, p. 719-723, 2015. <https://doi.org/10.7589/2014-06-155>

KOLLIEN, A. H.; SCHAUB, G. A. The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. **Parasitology Today**, v. 16, p. 381–387, 2000. [https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(00\)01724-5](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(00)01724-5)

KORTELAJINEN, L.; KORHONEN, L. K. Kurloff cells. 2. Histochemical and morphological characteristics of the Kurloff cells. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section A, Pathology**, v. 84, p. 154-164, 1976.

KREIER, J. P. **Parasitic Protozoa: Volume 10** (2^a ed.). Elsevier Science, 1995. ISBN: 9780124260207

LANDRY, S. O. A Proposal for a new classification and nomenclature for the Glires (Lagomorpha and Rodentia). **Zoosystematics and Evolution**, v. 75, p. 283–316, 1999.

LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Pathology**. 4th ed. Iowa State Press, 2003.

LEE, C. M.; ARMSTRONG, E. **Tripanossomíase de roedores: uma comparação entre *Trypanosoma lewisi* e *Trypanosoma musculi***. In: **Encyclopedia of Entomology**. Springer, Dordrecht. 2008. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41714-6_180410

LEE, J. J.; JACOBSEN, E. A.; OCHKUR, S. I.; MCGARRY, M. P.; CONDJELLA, R. M.; DOYLE, A. D.; LUO, H.; ZELLNER, K. R.; PROTHEROE, C. A.; WILLETTS, L.; LESUER, W. E.; COLBERT, D. C.; HELMERS, R. A.; LACY, P.; MOQBEL, R.; LEE, N. A. Human versus mouse eosinophils: "that which we call an eosinophil, by any other name would stain as red". **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, p. 572-584, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.07.025>

LINARDI, P. M.; BOTELHO, J. R. Prevalence of *Trypanosoma lewisi* in *Rattus norvegicus* from Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 411–414, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000300024>

LINARDI, P. M.; BOTELHO, J. R.; CUNHA, H. C. Ectoparasitos de roedores da região urbana de Belo Horizonte, MG. II. Oscilações dos índices de infestação em *Rattus norvegicus norvegicus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, p. 227-232, 1985.

LINDSTROM, N. M.; MOORE, D. M.; ZIMMERMAN, K.; SMITH, S. A. Hematologic assessment in pet rats, mice, hamsters, and gerbils: blood sample collection and blood cell identification. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 35, n. 3, p. 629-640, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.05.011>

LOVEJOY, T. E. **The Global 2000 Report to the President** (G. O. Barney, ed.), Vol. 2, The Technical Report, pp. 327–332. Penguin, New York, 1980.

LUKEŠ, J.; SKALICKÝ, T.; TÝČ, J.; VOTÝPKA, J.; YURCHENKO, V. Evolution of parasitism in kinetoplastid flagellates. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 2, p. 115-122, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2014.05.007>

LUU, L.; BOWN, K. J.; PALOMAR, A. M.; KAZIMÍROVÁ, M.; BELL-SAKYI, L. Isolation and partial characterisation of a novel *Trypanosoma* from the tick *Ixodes ricinus*. **Ticks Tick Borne Diseases**, v. 11, p. 101501, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101501>

LUZA, A.; ZANELLA, N.; CHRISTOFF, A.; BARRETO-LIMA, A.; GRANDO, J. Relação entre fatores exógenos e a abundância de roedores em remanescente de Floresta Ombrófila Mista, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, p. 263–268, 2013.

MACEDA-VEIGA, A.; FIGUEROLA, J.; MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; VISCOR, G.; FERRARI, N.; PACHECO, M. Inside the Redbox: applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 322-332, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.004>

MACEDA-VEIGA, A.; GREEN, A. J.; DE SOSTOA, A. Scaled mass index shows how habitat quality influences the condition of four fish taxa in north-eastern Spain, and provides a novel

indicator of ecosystem health. **Freshwater Biology**. v. 59, p. 1145–1160, 2014. <https://doi.org/10.1111/fwb.12336>

MACNEILL, A. L. **Hematology of Rodentia**. In: BROOKS, M. B.; HARR, K. E.; SEELIG, D. M.; WARDROP, K. J.; WEISS, D. J. **Schalm's Veterinary Hematology** (eds), 7 ed. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell, 2022. p. 1026–1033. <https://doi.org/10.1002/9781119500537.ch114>

MADELLA, D. A.; RODRIGUES NETO, E. J.; FELISBERTO, M. E.; SOUZA, C. E. D. Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre na região de Campinas-SP. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1321-1324, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000400046>

MAFIE, E.; SAITO-ITO, A.; KASAI, M.; HATTA, M.; RIVERA, P. T.; MA, X.-H.; CHEN, E.-R.; SATO, H.; TAKADA, N. Integrative taxonomic approach of trypanosomes in the blood of rodents and soricids in Asian countries, with the description of three new species. **Parasitology Research**, v. 118, p. 97-109, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6120-3>

MASLOV, D. A.; VOTÝPKA, J.; YURCHENKO, V.; LUKEŠ, J. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. **Trends in Parasitology**, v. 29, p. 43–52, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.11.001>

MCDONALD, T. P.; COTTRELL, M. B.; STEWARD, S. A.; CLIFT, R. E.; SWEARINGEN, C. J.; JACKSON, C. W. Comparison of platelet production in two strains of mice with different modal megakaryocyte DNA ploidies after exposure to hypoxia. **Experimental Hematology**, v. 20, p. 51-56, 1992. <https://europepmc.org/article/med/1577094>

MCKENNA, M. C.; BELL, S. K. **Classification of the Mammals Above the Species Level**. Columbia University Press, New York, 1997. 631p.

MILDNER, A.; MARINKOVIC, G.; JUNG, S. Murine monocytes: origins, subsets, fates, and functions. **Microbiology Spectrum**, v. 4, p. 10.1128, 2016.

MILLER, R.E.; FOWLER, M. E. **Fowler's Zoo and wild animal medicine**, vol. 8. St. Louis: Elsevier Health Sciences; 2014. e-book.

MILOCCO, C.; KAMYINGKIRD, K.; DESQUESNES, M.; JITTAPALAPONG, S.; HERBRETEAU, V.; CHAVAL, Y.; DOUANGBOUPHA, B.; MORAND, S. Molecular demonstration of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma lewisi* DNA in wild rodents from Cambodia, Lao PDR and Thailand. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 60, p. 17-26, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01314.x>

MIRANDA, G. S.; RODRIGUES, J. G. M.; RESENDE, S. D.; CAMELO, G. M. A.; SILVA, J. K. A. O.; DOS SANTOS, J. C. R.; SILVA-SOUZA, N.; PEREIRA, F. B.; FURTADO, L. F. V.; RABELO, É. M. L.; NEGRÃO-CORRÊA, D. From field to laboratory: isolation, genetic assessment, and parasitological behavior of *Schistosoma mansoni* obtained from naturally infected wild rodent *Holochilus sciureus* (Rodentia, Cricetidae), collected in Northeastern Brazil. **Parasitology Research**, v. 122, p. 395-411, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07710-5>

MONROY, F. P.; DUSANIC, D. G. The Kidney Form of *Trypanosoma musculi*: A Distinct Stage in the Life Cycle? *Parasitology Today*, v. 16, n. 3, p. 107-110, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(99\)01599-9](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(99)01599-9)

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370p.

MORALES, E. A.; MAYOR, P.; BOWLER, M.; AYSANO, E.; PÉREZ-VELEZ, E. S.; PÉREZ, J.; VENTOCILLA, J. A.; BALDEVIANO, G. C.; LESCANO, A. G. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and Other Trypanosomatids in Frequently-Hunted Wild Mammals from the Peruvian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p. 1482-1485, 2017. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0028>

MORRISON, L. J.; STEKETEE, P. C.; TETTEY, M. D.; MATTHEWS, K. R. Pathogenicity and virulence of African trypanosomes: From laboratory models to clinically relevant hosts. **Virulence**, v. 14, p. 2150445, 2023. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2150445>

MORRISON, P. R.; KERST, K.; ROSENMAN, M. Hematocrit and hemoglobin levels in some Chilean rodents from high and low altitude. **International Journal of Biometeorology**, v. 7, p. 45-50, 1963. <https://doi.org/10.1007/BF02189181>

MOSER-PURDY, C.; MACDOUGALL-SHACKLETON, S. A.; BONIER, F.; GRAHAM, B. A.; BOYER, A. C.; MENNILL, D. J. Male song sparrows have elevated testosterone in response to neighbors versus strangers. **Hormones and Behavior**, v. 93, p. 47-52, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.04.006>

MUSSER, G.G.; CARLETON, M.M. **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**, 3^a ed., DE Wilson, DM Reeder, Eds. (Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 2005), pp. 745-752. <http://dx.doi.org/10.1644/06-MAMM-R-422.1>

NEMZEK, J. A.; BOLGOS, G. L.; WILLIAMS, B. A.; REMICK, D. G. Differences in normal values for murine white blood cell counts and other hematological parameters based on sampling site. **Inflammation Research**, v. 50, p. 523-527, 2001. <https://doi.org/10.1007/pl00000229>

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 13. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016. 588 p.

O'CONNELL, K. E.; MIKKOLA, A. M.; STEPANEK, A. M.; VERNET, A.; HALL, C. D.; SUN, C. C.; YILDIRIM, E.; STAROPOLI, J. F.; LEE, J. T.; BROWN, D. E. Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research. **Comparative Medicine**, v. 65, p. 96-113, 2015.

ONASANYA, G. O.; OKE, F. O.; SANI, T. M.; MUHAMMAD, A. I. Parameters influencing haematological, serum and biochemical references in livestock animals under different management systems. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 5, p. 181-188, 2015. <http://dx.doi.org/10.4236/ojvm.2015.58025>

ORDUÑA-MAYARES, D.; HERNÁNDEZ-CAMACHO, N.; ESCOBEDO-ORTEGÓN, F. J.; CANCHÉ-POOL, E. B.; SOSA-GALLEGOS, S. L.; ZAMORA-LEDESMA, S.; VILLAGRÁN-HERRERA, M. E.; JONES, R. W.; CAMACHO-MACÍAS, B. *Trypanosoma*

cruzi and *Leishmania* spp. in rodents in a peri-urban area of Central Mexico, **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 35, e. 100779, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100779>

OROZCO, M. M.; PICCINALI, R. V.; MORA, M. S.; ENRIQUEZ, G. F.; CARDINAL, M. V.; GÜRTLER, R. E. The Role of Sigmodontine Rodents as Sylvatic Hosts of *Trypanosoma cruzi* in the Argentinean Chaco. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 22, p. 12–22, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.12.020>

PAL, A.; GIN, K. Y. H.; LIN, A. Y. C.; REINHARD, M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of The Total Environment**, v. 408, p. 6062–6069, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026>

PALMA VÁSQUEZ, R. E., POLOP, J. J., OWEN, R. D., MILLS, J. N. Ecology of rodent-associated hantaviruses in the Southern Cone of South America: Argentina, Chile, Paraguay, and Uruguay. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, p. 267–281, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026>

PARADA, A.; PARDIÑAS, U.F.J.; SALAZAR-BRAVO, J.; D'ELÍA, G.; PALMA, R.E. Dating an impressive Neotropical radiation: molecular time estimates for the Sigmodontinae (Rodentia) provide insights into its historical biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 66, p. 960–968, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.12.001>

PARDIÑAS, U.F.J.; MYERS, P.; LEÓN-PANIAGUA, L.; ORDÓÑEZ GARZA, N.; COOK, J.A.; KRYŠTUFK, B.; HASLAUER, R.; BRADLEY, R.D.; SHENBROT, G.I.; PATTON, J.L. **Family Cricetidae (true hamsters, voles, lemmings and new world rats and mice)**. In: Wilson, D.E.; Lacher Jr., T.E.; Mittermeier, R.A. **Handbook of the Mammals of the World**. Vol. 7 Rodents II. Barcelona: Lynx Edicions; 2017a. pp. 204–279.

PARDINI, R.; UMETSU, F. Non-volant small mammals from the Morro Grande Forest Reserve – distribution of species and diversity in an Atlantic Forest area. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 2, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032006000200007>

PATTON, J. L.; PARDIÑAS, U. F. J.; D'ELÍA, G. **Mammals of South America volume 2, Rodents**. Chicago and London: The University of Chicago Press, 2015. 1336 p.

PEREIRA, M. M. **O Parque Nacional do Itatiaia e a História Ambiental no Brasil**. Campo Grande: Editora Inovar, 2022. 136p.

PICON-REATEGUI, E.; FRYERS, G. R.; BERLIN, N. L.; LAWRENCE, J. H. Effect of reducing the atmospheric pressure on body water content of rats. **American Journal of Physiology**, v. 172, p. 33–36, 1953. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1952.172.1.33>

PINOTTI, B. T.; NAXARA, L.; PARDINI, R. Diet and food selection by small mammals in an old-growth Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, p. 46, n. 1, 2011. <http://dx.doi.org/10.1080/01650521.2010.535250>

RADWANSKA, M.; VEREECKE, N.; DELEEUW, V.; PINTO, J.; MAGEZ, S. Salivarian Trypanosomosis: A Review of Parasites Involved, Their Global Distribution and Their

Interaction with the Innate and Adaptive Mammalian Host Immune System. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2253-2253, 2018. <http://doi:10.3389/FIMMU.2018.02253>

RETTENMUND, C. L.; HEATLEY, J. J. **Hystricomorph Rodents: Guinea Pigs, Chinchillas, Degus, and Viscachas**. In: HEATLEY, J.; RUSSELL, K. E. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, 2020. p. 129-144.

REVELL, P. A. Kurloff cell levels in the peripheral blood of normal and oestrogen treated guinea-pigs. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 55, p. 525-532, 1974. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2072728/pdf/brjexppathol00408-0003.pdf>

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. 503p.

ROBEL, G. L.; LOCHMILLER, R. L.; MCMURRY, S. T.; QUALLS, C. W. Environmental, Age, and Sex Effects on Cotton Rat (*Sigmodon Hispidus*) Hematology. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, p. 390-394, 1996. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-32.2.390>

RODRÍGUEZ-LUNA, C. R.; PALOMO-ARJONA, E. E.; IBARRA-CERDEÑA, C. N. Roedores y zoonosis en Calakmul. **Therya ixmana**, v. 3, n. 1, p. 1-3, 2024. http://dx.doi.org/10.12933/therya_ixmana-24-405

ROQUE, A. L.; D'ANDREA, P. S.; DE ANDRADE, G. B.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: Distinct Patterns of Infection in the Sibling Caviomorph Rodent Species *Thrichomys apereoides laurentius* and *Thrichomys pachyurus* (Rodentia, Echimyidae). **Experimental Parasitology**, v. 111, p. 37–46, 2005. <http://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.05.003>

RUAS, C.; CARVALHO, C.; DE ARAÚJO, H.; ESPÍNDOLA, E.; FERNANDES, M. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 86-93, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.08.018>

SAHLEY, C. T.; CERVANTES, K.; PACHECO, V.; SALAS, E.; PAREDES, D.; ALONSO, A. Diet of a sigmodontinae rodent assemblage in a Peruvian montane forest. **Journal of Mammalogy**, v. 96, p. 1071–1080, 2015. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv112>

SANTOS, E. W.; OLIVEIRA, D. C.; SILVA, G. B.; TSUJITA, M.; BELTRAN, J. O.; HASTREITER, A.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Hematological alterations in protein malnutrition, **Nutrition Reviews**, v. 75, p. 909–919, 2017. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nux04>

SARATAPHAN, N., VONGPAKORN, M., NUANSRICHAY, B., AUTARKOOL, N., KEOWKARNKAH, T., RODTIAN, P., STICH, R. W., JITRAPALAPONG, S. Diagnosis of a *Trypanosoma lewisi*-like (*Herpetosoma*) infection in a sick infant from Thailand. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, p. 1118–1121, 2005. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47222-0>

SIEGEL, A.; WALTON, R. M. **Hematology and Biochemistry of Small Mammals**. In: **Ferrets, Rabbits, and Rodents**, p. 569-582, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48435-0.00039-3>

SILVA, M. A. M. L.; RONCONI, A.; CORDEIRO, N.; BOSSI, D. E. P.; BERGALLO, H. G.; COSTA, M. C. C.; BALIEIRO, J. C. C.; VARZIM, F. L. S. B. Blood parasites, total plasma protein and packed cell volume of small wild mammals trapped in three mountain ranges of the Atlantic Forest in Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842007000300019>

SIMPSON, L.; SIMPSON, A. M.; KIDANE, G.; LIVINGSTON, L.; SPITHILL, T. W. The kinetoplast DNA of the hemoflagellate protozoa. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 29, p. 1053–1063, 1980. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.1053>

SMITH, A.; CLARK, P.; AVERIS, S.; LYMBERY, A. J.; WAYNE, A. F.; MORRIS, K. D.; THOMPSON, R. C. A.; 2008. Trypanosomes in a declining species of threatened Australian marsupial, the brush-tailed bettong *Bettongia penicillata* (Marsupialia: Potoroidae). **Parasitology**, v. 135, p. 1329–1335, 2008. <https://doi.org/10.1017/s0031182008004824>

SMITH, C.; JARECKI, A. **Atlas of Comparative Diagnostic and Experimental Hematology**, 2nd ed.; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 2013.

SMITH, J. C. Sound production by infant *Peromyscus maniculatus* (Rodentia: Myomorpha). **Journal of Zoology**, v. 168, n. 3, p. 369–379, 1972. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1972.tb01352.x>

SOLIS-FRANCO, R.; ROMO-ZAPATA, J.A.; MARTINEZ-IBARRA, J.A. Reservatórios Selvagens Infectados por *Trypanosoma cruzi* no Parque Ecológico "El Zapotal", Tuxtla Gutierrez, Chiapas, México. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 163–164, 1997. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761997000200006>

SOTO, C. D. A.; CAPPA, S. M. G. *Trypanosoma cruzi* journey from the insect vector to the host cell. **Chagas Disease: A Clinical Approach**, p. 25–59, 2019. Birkhäuser Advances in Infectious Diseases. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-00054-7_2

STEIN, G. G.; LACERDA, L. A.; HLAVAC, N.; STOLZ, J. F. B.; STEIN, I. V.; FREITAS, T. R. O.; CARISSIMI, A. S. Parâmetros hematológicos do roedor fossorial *Ctenomys lami* (Rodentia, Ctenomideia) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 670–675, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000800011>

TANTHANATHIPCHAI, N.; MITSUWAN, W.; CHAISIRI, K.; THAIKOED, S.; PEREIRA, M. de L.; PAUL, A. K.; SAENGAEWANG, P. *Trypanosoma lewisi* in blood of *Rattus rattus* complex residing in human settlements, Nakhon Si Thammarat, Thailand: Microscopic and molecular investigations. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 98, e. 102010, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.102010>

TATARD, C.; GARBA, M.; GAUTHIER, P.; HIMA, K.; ARTIGE, E.; DOSSOU, D. K. H. J.; GAGARÉ, S.; GENSON, G.; TRUC, P.; DOBIGNY, G. Rodent-borne *Trypanosoma* from cities and villages of Niger and Nigeria: A special role for the invasive genus *Rattus*? **Acta Tropica**, v. 171, p. 151–158, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.03.027>

TENÓRIO, M.S.; OLIVEIRA E SOUSA, L.; ALVES-MARTIN, M.F.; PAIXÃO, M.S.; RODRIGUES, M.V.; STARKE-BUZETTI, W.A.; LUCHEIS, S.B. Molecular identification of

trypanosomatids in wild animals. *Veterinary Parasitology*, v. 203, p. 203–206, 2014. <http://doi:10.1016/j.vetpar.2014.02.010>

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**, 2. ed. Ames: John Wiley & Sons, 2012.

TILMAN, D.; CLARK, M.; WILLIAMS, D. R.; KIMMEL, K.; POLASKY, S.; PACKER, C. Future threats to biodiversity and pathways to their prevention. *Nature*, v. 546, p. 73–81, 2017. <https://doi.org/10.1038/nature22900>

TODGHAM, A. E.; STILLMAN, J. H. Physiological responses to shifts in multiple environmental stressors: relevance in a changing world. **Integrative and Comparative Biology**, v. 53, p. 539–544, 2013. <https://doi.org/10.1093/icb/ict086>

TUMELEIRO, L. R. K. **Os roedores *Caviomorpha* (Mammalia, Rodentia, Hystricognathi) do Pleistoceno do Rio Grande do Sul, Brasil. 2011.** 196 f. Dissertação (Mestrado em Geociências) - Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

TVEDTEN, H.; RASKIN, R. E. **Leukocyte Disorders**. In: **Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods**, 2012. p. 63–91. <https://doi.org/10.1016%2FB978-1-4377-0657-4.00004-1>

URBINA, C.; ORTIZ, C.; HURTADO, I. A New Look at Basophils in Mice. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 66, p. 158-160, 1981. <https://doi.org/10.1159/000232814>

VICKERMAN, K. **Comparative cell biology of the kinetoplastid flagellates**. In: VICKERMAN, K.; PRESTON, T. M. **Biology of Kinetoplastida**, vol. 1. London: Academic Press, 1976. p. 35–130.

VIEIRA, A.S.; DI AZEVEDO, M.I.N.; D'ANDREA, P.S.; DO VAL VILELA, R.; LILENBAUM, W. Neotropical wild rodents *Akodon* and *Oligoryzomys* (Cricetidae: Sigmodontinae) as important carriers of pathogenic renal *Leptospira* in the Atlantic Forest, in Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 124, p. 280-283, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.04.001>

VOTÝPKA, J.; STRÍBRNÁ, E.; MODRÝ, D.; BRYJA, J.; BRYJOVÁ, A.; LUKEŠ, J. Unexpectedly high diversity of trypanosomes in small sub-Saharan mammals. **International Journal for Parasitology**, v. 52, p. 647-658, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2022.06.002>

WEBB, R. E.; LESLIE JR., D.M.; LOCHMILLER, R. L.; MASTERS, R. E. Immune function and hematology of male cotton rats (*Sigmodon hispidus*) in response to food supplementation and methionine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 136, n. 3, p. 577-589, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00209-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00209-5)

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference**. 3^a ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. 2142 p. ISBN 0-8018-8221-4.

WYATT, K. B.; CAMPOS, P. F.; GILBERT, M. T. P.; KOLOKOTRONIS, S. O.; HYNES, W. H.; DESALLE, R.; DASZAK, P.; MACPHEE, R. D.; FLORESTA VERDE, A. D. Correction: Historical Mammal Extinction on Christmas Island (Indian Ocean) Correlates with Introduced Infectious Disease. **PLOS ONE**, v. 4, n. 1, 2009. <https://doi.org/10.1371/annotation/9fbe9687-682e-4010-97e4-139b33343d34>

YAN, C.; TIAN, D.; ZHANG, C.; ZHANG, Q.; SUN, Y. Evaluation of blood cellular and biochemical parameters in rats under a chronic hypoxic environment at high altitude. **Annals of Medicine**, v. 55, n. 1, p. 898-907, 2023. <https://doi.org/10.1080/07853890.2023.2184859>

YANG, Y.R.; KABIR, M.H.; PARK, J.H.; PARK, J.I.; KANG, J.S.; JU, S.; SHIN, Y.J.; LEE, S.M.; LEE, J.; KIM, S.; LEE, K.P.; LEE, S.Y.; LEE, C.; KWON, K.S. Plasma proteomic profiling of young and old mice reveals cadherin-13 prevents age-related bone loss. **Aging**, v. 12, n. 9, p. 8652-8668, 2020. <http://doi:10.18632/aging.103184>

YAZAKI, E.; ISHIKAWA, S. A.; KUME, K.; KUMAGAI, A.; KAMAISHI, T.; TANIFUJI, G.; HASHIMOTO, T.; INAGAKI, Y. Global Kinetoplastea phylogeny inferred from a large-scale multigene alignment including parasitic species for better understanding transitions from a free-living to a parasitic lifestyle. **Genes & Genetic Systems**, v. 92, p. 35-42, 2017. <https://doi.org/10.1266/ggs.16-00056>

YEFI-QUINTEROS, E.; MUÑOZ-SAN MARTÍN, C.; BACIGALUPO, A.; CORREA, J. P.; CATTAN, P. E. *Trypanosoma cruzi* load in synanthropic rodents from rural areas in Chile. **Parasites & Vectors**, v. 11, p. 171, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2771-2>

ZHANG, X.; LI, S. J.; LI, Z.; HE, C. Y.; HIDE, G.; LAI, D. H.; LUN, Z. R. Cell cycle and cleavage events during in vitro cultivation of bloodstream forms of *Trypanosoma lewisi*, a zoonotic pathogen. **Cell Cycle**, v. 18, p. 552-567, 2019. <https://doi.org/10.1080%2F15384101.2019.1577651>

ANEXOS

ANEXO A – Autorização MMA/ ICMBio/ SISBIO



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: 74498-7	Data da Emissão: 12/05/2022 09:36:04	Data da Revalidação*: 01/03/2023
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: Roberto do Val Vilela	CPF: 165.927.918-61
Título do Projeto: Agentes zoonóticos em animais silvestres e vetores associados no sul do estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição: Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ	CNPJ: 33.781.055/0012-98

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Insetos)	Secreção
2	Amostras biológicas (Invertebrados)	Secreção
3	Amostras biológicas (Invertebrados Terrestres)	Secreção
4	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Ectoparasita, Fezes, Sangue, Regurgitação/conteúdo estomacal, Sêmen, Outras amostras biológicas (Endoparasitos), Fragmento de tecido/órgão
5	Método de captura/coleta (Insetos)	Captura manual, Coleta manual
6	Método de captura/coleta (Invertebrados)	Coleta manual
7	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Captura manual, Coleta manual, Outros métodos de captura/coleta (Armadilha de gelo seco)
8	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Armadilha de queda pit fall, Armadilha tipo gaiola com atração por iscas (L Box Trap/Tomahawk/Sherman/L), Rede de neblina
9	Método de marcação (Outros mamíferos)	Brinco, Tatuagem (tinta)

Destino do material biológico coletado

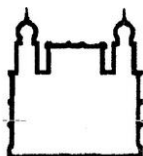
#	Nome local destino	Tipo destino
1	Museu Nacional (UFRJ)	Coleção

Este documento 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).

Código de autenticação: 0744980720220512

Página 5/6

ANEXO B - Aprovação da CEUA IOC-Fiocruz



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/IOC



LICENÇA ADITIVA

L-036/2018- A1

A Comissão CEUA/IOC, em atenção ao pesquisador Paulo Sérgio D'Andrea, responsável pela licença (L-036/2018) do protocolo (CEUA/IOC-035/2018), intitulado **"Estudos taxonômicos e eco-epidemiológicos sobre pequenos mamíferos silvestres do Brasil"**, que atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), autoriza o presente aditivo. A referida licença aditiva não exime a observância das Leis e demais exigências legais na legislação nacional.

Esta licença aditiva somente altera a validade de 30/09/2022 para 30/09/2023.

Observações:

- Esta licença aditiva foi emitida em razão do plano de contingenciamento devido à pandemia de SARS-CoV-2 que alterou o cronograma dos projetos em desenvolvimento.
- Esta licença não substitui outras licenças necessárias, como Certificado de Qualidade em Biossegurança para animais geneticamente modificados, certificado do IBAMA para captura de animais silvestres ou outros.

Rio de Janeiro, 21 de dezembro de 2020

Tânia Zaverucha de Valle
Matrícula SIAPE 1362665
Coordenadora da CEUA/Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz