Juliana Gaboardi Vultão

**Diversidade genética de tripanossomatídeos de
mamíferos da Magnaordem Xenarthra no bioma
Amazônico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro

Orientadora: Profa. Dra. Marta Maria
Geraldes Teixeira

Versão original

**São Paulo
2017**

RESUMO

Vultão, JG. Diversidade genética de tripanossomatídeos de mamíferos da Magnaordem Xenarthra no bioma Amazônico. [Dissertação (Mestrado em Parasitologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2017.

A magnaordem Xenarthra compreende um grupo de animais que divergiu há ~65 m.a. geograficamente isolado no hemisfério sul, atual América do Sul até o fechamento do Istmo do Panamá (~3 m.a), quando ocorreu um grande intercâmbio de animais entre as Américas do Norte e do Sul e uma variedade de Xenarthra migrou para o norte. Atualmente, Xenarthra das ordens Cingulata (tatus) e Pilosa (preguiças e tamanduás) são amplamente distribuídas na América do Sul e Central, enquanto na América do Norte, apenas tatus são encontrados. A história evolutiva desse grupo de animais, que é um dos mais antigos e endêmico da América do Sul, e a presença de diferentes espécies habitando uma diversidade de estratos e nichos ecológicos, fazem desse grupo um dos mais interessantes e menos explorados para estudos de diversidade, filogenia e aspectos biogeográficos de tripanossomatídeos. Esse estudo é de grande importância para o entendimento da diversidade e evolução dessa família. Estudos filogeográficos têm permitido inferir cenários que refletem as interações entre esses parasitas e seus hospedeiros vertebrados e vetores ao longo de suas histórias evolutivas.

Nesse trabalho, foram analisadas 407 amostras de sangue e tecidos de Xenarthra da Amazônia brasileira (Rondônia, Pará e Mato Grosso), sendo 361 de preguiças, 32 de tamanduás e 14 de tatus. A fim de comparar o repertório de tripanossomatídeos encontrados nesses animais, com parasitas detectados em outras ordens de mamíferos, que compartilham o mesmo bioma, analisamos 57 amostras de porco-espinho (roedor do gênero *Coendou*). As amostras obtidas foram caracterizadas por *DNA barcoding* e análises filogenéticas foram realizadas baseadas nos genes SSU rRNA e gGAPDH, que permitem classificar os tripanossomatídeos em gêneros, subgêneros, espécies e genótipos conhecidos, assim como identificar novas espécies e genótipos.

Os resultados obtidos revelaram uma grande diversidade de parasitas. Foram encontradas preguiças infectadas (34,35%) com os seguintes parasitas: *Endotrypanum* (N=54), duas novas espécies de *Trypanosoma* identificadas nesse estudo [*T. sp1* (N=9) e *T. sp2* (N=53)], *T. rangeli* das linhagens A (N=4), B (N=9) e E (N=3) e *T. cruzi* da DTU TcIII (N=2). As duas novas espécies de *Trypanosoma* foram detectadas em 86 animais: *T. sp1*, até o momento exclusivo de preguiças (9 animais), e *T. sp2*, detectado em todas as espécies de Xenarthra analisadas e também em espécies de *Coendou*. Nos tamanduás (65,63% infectados), foram detectados *T. sp2* (N=18), *T. rangeli* das linhagens A (N=1), B (N=2) e E (N=1). Nos tatus (42,86% infectados), foram identificados *T. sp2* (N=3) e *T. cruzi* III (N=4).

Nossos resultados corroboraram estudos anteriores indicando uma forte associação do gênero *Endotrypanum* com preguiças, os únicos animais encontrados infectados por espécies desse gênero no nosso estudo. O encontro de *T. cruzi* TcIII em tatus também corrobora estudos prévios sugerindo uma forte associação desses animais com essa DTU. Além disso, pela primeira vez, TcIII foi identificado em preguiças, expandindo o número de reservatórios silvestres, e confirmando que animais de diversas ordens, biomas e estratos ecológicos albergam TcIII. Infecções mistas foram detectadas em 14 preguiças, um tamanduá e um tatu. Nas preguiças, foram encontradas infecções mistas com diferentes espécies do gênero *Trypanosoma*, diferentes espécies de *Endotrypanum* e espécies desses dois gêneros. Tatus e tamanduás também apresentaram infecções mistas com diferentes espécies de tripanossomas. Preguiças, tamanduás e tatus foram encontrados infectados com *T. rangeli* das linhagens A, B e E.

As espécies de tripanossomas encontrados nos Xenarthra são compartilhadas por animais de diferentes ordens, exceto a nova espécie *T. sp. 1*. A associação do gênero *Porcisia*

com porco-espinho (*Coendou*) foi corroborada com o encontro de animais infectados na Amazônia e Caatinga. Nenhuma espécie de *Xenarthra* foi encontrada infectada por espécies de *Porcisia*, embora esse gênero seja muito relacionado filogeneticamente com *Endotrypanum*.

Os resultados aqui apresentados demonstram que os *Xenarthra*, especialmente as preguiças, albergam um dos maiores repertórios descritos em um determinado hospedeiro, composto por tripanossomatídeos de gêneros, espécies e genótipos distintos.

Palavras-chave: Preguiça. *Xenarthra*. *Coendou*. *Trypanosoma*. *Endotrypanum*. *Porcisia*. Diversidade genética. Amazônia.

ABSTRACT

Vultão, JG. Genetic diversity of mammalian trypanosomatids from Magnorder Xenarthra in the Amazonian biome. [Masters Thesis (Parasitology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2017.

The magnorder Xenarthra comprises a group of animals that diverged ~ 65 mya and evolved isolated when the Southern hemisphere was an island, until the complete emergence of the Isthmus of Panama during the Pliocene (~3 mya) allowed for dispersal of Xenarthra toward Central and North America. Xenarthra of the orders Cingulata (armadillos) and Pilosa (anteaters and sloths) are widely distributed in South and Central America, whereas only armadillos are found at present day in North America. They are the only group of mammals to evolve exclusively in the New World, and one of the oldest mammals in South America. Taken in account the evolutionary history of this group, and the presence of Xenarthra in a range of biomas and ecological niches, this group is one of the most interesting, but rarely addressed, to investigate diversity, phylogeny and biogeographical patterns of trypanosomatids.

Comparative studies of trypanosomatids infecting different species and genera of Xenarthra are important to the understanding of diversity and evolution of trypanosomatids in general, and may reflect past and recent interactions between these unique vertebrate hosts and their parasites. Here, 407 blood and tissue samples obtained from Xenarthra captured in Brazilian Amazonia (states of Rondônia, Pará and Mato Grosso) from: 361 sloths, 32 anteaters and 14 armadillos. In order to compare the trypanosomatids found in Xenarthra with those of other mammalian orders sharing the same biome and ecological niches, 57 samples of porcupine (rodent of the genus *Coendou*) were included in this study.

All samples obtained were characterized by DNA barcoding and phylogenetic analyses based on sequences of SSU rRNA, and for some groups we also analyzed gGAPDH sequences. These approaches permit the detection and classification of trypanosomatids in known genera, subgenera, species and genotypes, as well as can disclose new species and genotypes. Results obtained revealed a great diversity of parasites. Sloths have been found infected (34.35%) with *Endotrypanum* spp. (N = 54), two new species of *Trypanosoma*, *T. sp1* (N = 9) and *T. sp2* (N = 53), *T. rangeli* of lineages A (N = 4), B (N = 9) and E (N = 3), and *T. cruzi* of DTU TcIII (N = 2).

The new species of *Trypanosoma* were detected in 86 animals: *Trypanosoma sp1*, exclusively in sloths (9 animals) and *Trypanosoma sp2* detected in all species of Xenarthra and, in addition, in *Coendou*. Anteaters (65.63% infected) were found infected with *T. sp2* (N = 18), *T. rangeli* of lineages A (N = 1), B (N = 2) and E (N = 1). In armadillos (42.86%), we identified *T. sp2* (N = 3) and *T. cruzi* TcIII (N = 4). Our results corroborate previous studies indicating a strong association of the genus *Endotrypanum* with sloths, the only animals found infected by species of this genus in our study. In addition, for the first time, TcIII was identified in sloths. Our findings on *T. cruzi* TcIII corroborates previous studies suggesting a strong association of TcIII with armadillos, although also infecting other Xenarthra and animals of other orders, in a wide range of biomes and ecological niches. Mixed infections were detected in 14 sloths, one anteater and one armadillo. Mixed infections with different species of *Endotrypanum* and *Trypanosoma*, as well as the lineages A, B and E of *T. rangeli* were detected in sloths. Armadillos and anteaters showed mixed infections with different species of trypanosomes, and different lineages of *T. rangeli*.

Therefore, excepting for *T. sp. 1*, species of trypanosomes infecting sloths are shared by other Xenarthra, as well as by range of other mammalian orders as reported in previous studies. The association between *Porcisia* and porcupine (*Coendou* spp.) was strongly supported. In this study, we identified species of this genus in porcupines from Amazonia and Caatinga biomes. However, not a single Xenarthra was found infected with species of *Porcisia*, although this genus is very closely related to *Endotrypanum*.

Altogether, results presented here demonstrated that Xenarthra, especially sloths, harbor one of the largest repertoires already described, comprising trypanosomatids of different genera, species and genotypes.

Keywords: Sloth. Xenarthra. Coendou. *Trypanosoma*. *Endotrypanum*. *Porcisia*. Genetical diversity. Amazon.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Magnaordem Xenarthra

A magnaordem Xenarthra corresponde a um dos quatro grupos de mamíferos placentários identificados pelos taxonomistas: Afrotheria e Xenarthra, com origem no hemisfério sul (Gondwana), e Euarchontoglires e Laurasiatherias, originários do hemisfério norte (Laurasia) (Springer et al., 2004). O surgimento dos Xenarthra e Afrotheria coincide com a separação da América do Sul (origem dos Xenarthras) da África (origem dos Afrotheria) há cerca de 100 m.a. (Eizirik et al., 2001; Delsuc et al., 2004). A maior diversificação do grupo Xenarthra ocorreu na América do Sul, quando ainda estava separada da América do Norte e Antártica. A ampliação da distribuição geográfica dos Xenarthra por todo o continente Americano, do Alasca à Patagônia, deu-se com a formação do istmo do Panamá, por volta de 3 m.a., que uniu todo o continente americano (Stock, 1942; Borrero et al., 1998; Simpson, 1980; Benton, 2000; McDonald, 2005).

Há cerca de 10.000 anos, final do Pleistoceno, os Xenarthra formavam um grupo numeroso, representado por mais de 200 gêneros fósseis descritos (Patterson, Pascual, 1972). Entretanto, esse período foi marcado por um evento drástico de extinção em massa, que diminuiu a diversidade do grupo e extinguiu, principalmente, as espécies de grande porte (Simpson, 1980; Koch, Barnsky, 2006; Barnsky, Lindsey, 2010). Considera-se como possíveis causas da extinção em massa o aumento das florestas úmidas no Holoceno (De Vivo, Carmignotto, 2004), a predação ou competição por espécies norte-americanas (Marshall et al., 1982) e o impacto humano (Lyons et al., 2004).

A magnaordem Xenarthra foi dividida em duas ordens, de acordo com as características superficiais do corpo: Cingulata (corpo recoberto por osteodermos) e Pilosa (corpo recoberto por pelos) (Gardner, 2005a, 2005b, 2007). A ordem Cingulata é representada por uma única família, Dasypodidae, que abriga 21 espécies de tatus. A ordem Pilosa é representada por quatro famílias e 10 espécies: Cyclopedidae e Myrmecophagidae, representadas por quatro espécies de tamanduás; e Bradypodidae e Megalonychidae, que abrigam seis espécies de preguiças (Wilson, Reeder, 2005).

Os Xenarthra formam um grupo monofilético, apoiado por dados moleculares e morfológicos (Engelman, 1985; Murphy et al., 2001a,b; Delsuc et al., 2001, 2002; Moller-Krull et al., 2007). A sinapomorfia morfológica do grupo é a presença de articulações adicionais entre as vértebras dorsais e lombares, denominadas vértebras xenárticas (Glass, 1985). Recentemente, uma análise baseada no genoma mitocondrial de todos os representantes atuais da magnaordem Xenarthra (31 espécies) mostrou que a divisão entre as ordens Pilosa e Cingulata ocorreu há cerca de 67,7 m.a. e que esta última, representada pelos tatus, é a linhagem mais antiga e atualmente mais diversificada. As

linhagens de preguiças e tamanduás foram separadas há aproximadamente 58,5 m.a. (Figura 1) (Gibb et al., 2016).

Figura 1 – Análise Bayesiana com relógio molecular dos Xenarthra atuais. Linhas verticais delimitam os períodos geológicos do Cenozóico, baseados na escala de tempo geológico da Sociedade Americana de Geologia. Barras pretas indicam nós usados como restrições de calibração a priori. E = early; M = middle; L = late; Pli. = Pliocene; P. = Pleistocene. Fonte: modificada de Gibb et al., 2016.

Das 31 espécies que compõe a magnaordem Xenarthra, 19 ocorrem no Brasil, sendo: *Cabassous chacoensis*, *C. tatouay*, *C. unicinctus*, *Dasypus hybridus*, *D. kappleri*, *D. novemcinctus*, *D. septemcinctus*, *Euphractus sexcinctus*, *Priodontes maximus*, *Tolypeutes tricinctus* e *T. matacus* da Ordem Cingulata e *Bradypus torquatus*, *B. tridactylus*, *B. variegatus*, *Cyclopes didactylus*, *Choloepus didactylus*, *C. hoffmanni*, *Tamandua tetradactyla* e *Myrmecophaga tridactyla* da ordem Pilosa. As espécies *B. torquatus* e *T. tricinctus* são consideradas endêmicas do Brasil, dos Biomas Mata Atlântica e Cerrado e Caatinga, respectivamente (Paglia et al., 2012). Em relação aos hábitos locomotores, todos os representantes da ordem Cingulata são semi-fossoriais. Já a ordem Pilosa inclui animais arborícolas (preguiças: *Bradypus* spp. e *Choloepus* spp. e tamanduá: *Cyclopes didactylus*), escansoriais (tamanduá-mirim: *Tamandua tetradactyla*) e terrestres (tamanduá-bandeira:

Myrmecophaga tridactyla). No que se refere a dieta, a ordem Cingulata possui gêneros mirmecófagos (*Cabassous* e *Priodontes*) e insetívoros/onívoros (*Dasypus*, *Euphractus* e *Tolypeutes*). A ordem Pilosa apresenta animais também mirmecófagos (todos os tamanduás) e espécies folívoras, representadas pelas preguiças (Paglia et al., 2012). A dieta da preguiça do gênero *Choloepus* também é composta por frutas (Chiarello, 2008).

De acordo com as listas de espécies ameaçadas no âmbito nacional (Brasil, 2014) e internacional (IUCN, 2016), quatro espécies (*B. torquatus*, *M. tridactyla*, *T. tricinctus*, *P. maximus*) foram avaliadas com algum grau de ameaça, sendo que três delas (*B. torquatus*, *M. tridactyla* e *P. maximus*) aparecem como “vulneráveis” nas duas listas. *Tolypeutes tricinctus* foi considerada “Vulnerável” pela *International Union for Conservation of Nature* e “Em Perigo” pelo Ministério do Meio Ambiente.

Neste estudo, voltado a analisar a diversidade de tripanosomatídeos presentes em preguiças, tatus e tamanduás, amostras de sangue e tecido foram obtidas de *Bradypus variegatus* (preguiça-de-bentinho), *Choloepus didactylus* (preguiça-real), *Tamandua tetradactyla* (tamanduá-mirim), *Cyclopes didactylus* (tamanduá), *Cabassous unicinctus* (Tatu-de-rabo-mole), *Dasypus novemcinctus* (tatu-galinha), espécies cuja distribuição geográfica é apresentada na Figura 2, e também de animais identificados como pertencentes aos gêneros *Bradypus* sp., *Choloepus* sp. e *Dasypus* sp..

Figura 2 - Distribuição geográfica das espécies de Xenarthra identificadas até nível específico. Modificada da Fonte IUCN, 2016.

1.2 A Família Trypanosomatidae

Os protozoários flagelados da família Trypanosomatidae formam um grupo monofilético, que pertence ao reino Excavata, filo Euglenozoa, subfilo Glycomonada, classe Kinetoplastea (Cavalier-Smith, 1998, 2004, 2016). A família alberga protozoários flagelados classificados tradicionalmente na classe Kinetoplastea, cuja principal característica é a presença do cinetoplasto, uma região especializada da sua única mitocôndria, que é constituída por moléculas concatenadas de DNA e localizada na base do flagelo (Vickerman, 1976; Cavalier-Smith, 2016). A classe Kinetoplastea é subdividida em duas subclasses, Prokinetoplastina e Metakinetoplastina, esta última dividida em duas ordens: Bodonida, que apresenta três subordens, Eubodonida, Parabodonida e Neobodonida (Moreira et al., 2004), e Trypanosomatida. A ordem Trypanosomatida alberga parasitas monoxênicos ou heteroxênicos de plantas e animais invertebrados e vertebrados; já a ordem Bodonida, atualmente um grupo parafilético, compreende parasitas de peixes e organismos de vida livre adaptados a diversos ambientes aquáticos e terrestres (Simpson et al., 2006; Stevens, 2008; Deschamps et al., 2011).

A família Trypanosomatidae apresenta uma grande diversidade de hospedeiros, desde plantas a animais invertebrados e vertebrados de praticamente todas as ordens, com ampla distribuição nos diferentes continentes. De acordo com parâmetros morfológicos, hospedeiro de origem e ciclo de vida, e dados moleculares, os tripanossomatídeos foram distribuídos em 21 gêneros. Destes, 16 são parasitas monoxênicos de insetos (*Angomonas*, *Blastocrithidia*, *Blechnomonas*, *Crithidia*, *Herpetomonas*, *Kentomonas*, *Jaenimonas*, *Lafontella*, *Leptomonas*, *Lotmaria*, *Novymonas*, *Paratrypanosoma*, *Sergeia*, *Strigomonas*, *Zelonia* e *Wallacemonas*) e cinco são heteroxênicos, com ciclo de vida alternado entre os insetos fitófagos e plantas (*Phytomonas*) ou entre invertebrados, geralmente insetos hematófagos, e vertebrados (*Leishmania*, *Trypanosoma*, *Endotrypanum* e *Porcisia*) (Wallace, 1966; Vickerman, 1976; 1979; 1983; Camargo, 1999; Merzlyak et al., 2001; Podlipaev, 2001; Svobodova et al., 2007; Teixeira et al., 2011; Borghesan et al., 2013; Flegontov et al., 2013; Maslov et al., 2013; Votypka et al., 2013, 2014; Kostygov et al., 2014; Lukes et al., 2014; Schwarz et al., 2015; Espinosa et al., 2016; Kostygov et al., 2016).

Considerando a morfologia dos tripanossomatídeos, nota-se diferenças acentuadas quanto à forma, espessura, comprimento do corpo e flagelo, tamanho e posição do núcleo e cinetoplasto, etc. No ciclo de vida, a localização do cinetoplasto em relação ao núcleo e a presença ou não de membrana ondulante são características determinantes das diferenças apresentadas por esses flagelados: tripomastigota, promastigota, amastigota, opistomastigota, epimastigota e coanomastigota (Wallace, 1966, Wallace et al., 1983).

Diversos estudos filogenéticos buscam entender a origem dos tripanossomatídeos e o modo de vida dos parasitas com ciclos heteroxênicos. A hipótese levantada é que um bodonídeo de vida livre tenha sido ingerido por insetos e, então, se adaptado ao trato intestinal, dando origem aos tripanossomatídeos monoxênicos. Com o início da hematofagia, os insetos podem ter inoculado esses parasitas nos vertebrados e os que se adaptaram a este modo de parasitismo passaram a circular em invertebrados e vertebrados (Hamilton et al., 2004, 2007). Recentemente, a descrição de um novo gênero, *Paratrypanosoma*, posicionado na base da irradiação da família Trypanosomatidae em análises filogenéticas com os genes gGAPDH e SSU rRNA, apoia essa hipótese (Flegontov et al., 2013).

1.3 Parasitas da família Trypanosomatidae em Mamíferos Xenarthra

1.3.1 Gênero *Trypanosoma*

Várias espécies de tripanossomatídeos são conhecidas como agentes de doenças em humanos e animais de interesse veterinário, especialmente nas regiões tropicais: *Trypanosoma brucei gambiense* causa tripanossomíase humana africana; *T. cruzi* causa doença de Chagas na América Latina; *T. vivax* infecta ungulados na África e América do Sul; e as espécies do gênero *Leishmania* causam diferentes formas de leishmanioses no homem no mundo todo.

As espécies do gênero *Trypanosoma* infectam diversas espécies de vertebrados de todas as classes (mamíferos, peixes, anfíbios, répteis e aves) e são transmitidas por diversos invertebrados hematófagos. Esses parasitas apresentam ciclos de vida com alternância entre vertebrados e invertebrados, com várias formas presentes, em diferentes combinações, no sangue e/ou tecidos dos hospedeiros. Das centenas de espécies de tripanossomas já descritas em mamíferos de praticamente todas as ordens, em todos os continentes, apenas *T. brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*, na África, e *T. cruzi* e *T. rangeli*, nas Américas Central e do Sul, infectam o homem e são considerados patogênicos, com exceção de *T. rangeli* (Hoare, 1972; Stevens et al., 1999a,b, 2001; Hamilton et al., 2004, 2007, 2009; Maia da Silva et al., 2004a, 2010).

As espécies de *Trypanosoma* parasitas de mamíferos foram separadas em duas Secções, Salivaria e Stercoraria, com base no desenvolvimento no hospedeiro invertebrado e, consequentemente, na via de eliminação das formas infectantes pelo vetor (Hoare, 1964; 1972). A Secção Salivaria compreende apenas tripanossomas de origem africana, que se desenvolvem ciclicamente em moscas tsétsé (*Glossina*) e são transmitidos mediante inoculação de formas metacíclicas presentes nas glândulas salivares, com exceção de *T. equiperdum* e *T. evansi* que se adaptaram a transmissão mecânica. A Secção Salivaria compreende os subgêneros *Duttonella*,

Trypanozoon, *Pycnomonas* e *Nannomonas*, que abrangem todos os tripanossomas africanos geralmente patogênicos para seus hospedeiros (Hoare, 1972; Stevens et al., 2001; Hamilton et al., 2007; Stevens, 2008).

A Secção Stercoraria compreende os subgêneros *Schizotrypanum* (espécie-tipo: *T. cruzi*), *Herpetosoma* (*T. lewisi*) e *Megatrypanum* (*T. theileri*) (Hoare, 1972). Nesses subgêneros estão classificadas as espécies que se desenvolvem exclusivamente no tubo digestório do inseto vetor, sendo transmitidas pela eliminação de formas tripomastigotas metacíclicas com as fezes dos vetores, permitindo a transmissão contaminativa através da solução de continuidade da pele.

Hoare (1972), na última revisão taxonômica do gênero *Trypanosoma*, criou subgêneros, identificou inúmeras sinonímias e propôs a identificação de espécies parasitas de mamíferos com base em parâmetros tradicionais como morfometria e morfologia das formas presentes no sangue. Porém, as formas encontradas no sangue de diversas espécies de hospedeiros geralmente não apresentam características que permitam identificar espécies ou mesmo subgêneros de tripanossomas. Esses organismos apresentam grande pleomorfismo e formas diferentes podem corresponder a espécies diferentes ou a estágios de diferenciação de uma mesma espécie. Além da morfologia, os vetores, a origem geográfica e o hospedeiro de origem são outros parâmetros taxonômicos utilizados. Esses parâmetros partiram do pressuposto de que cada espécie de hospedeiro albergaria uma só espécie e que a separação geográfica originaria espécies diferentes de tripanossomas. Porém, apesar de associações entre algumas espécies e seus hospedeiros vertebrados e vetores, são raras as espécies restritas a um só hospedeiro. A distribuição da maioria das espécies não é conhecida, algumas espécies são cosmopolitas e outras restritas às Américas ou à África. Portanto, esses parâmetros foram totalmente invalidados durante os últimos anos (Stevens et al., 1999a,b, 2001; Maia da Silva et al., 2004a, 2010; Hamilton et al., 2004, 2007, 2009; Rodrigues et al., 2006, 2008; Ferreira et al., 2007, 2008; Viola et al., 2008, 2009).

Inicialmente, os estudos baseados em sequências de SSU rRNA sugeriram a polifilia do gênero *Trypanosoma* (Maslov et al., 1996). Ademais, a monofilia e a possibilidade de compartilhamento de um único ancestral comum para tripanossomas de mamíferos, répteis, anfíbios e peixes foi verificada, com um número maior de representantes do gênero, em análises filogenéticas, isoladas ou combinadas, baseadas em sequências de SSU rRNA e gGAPDH (Stevens et al., 2001; Hamilton et al., 2004, Simpson et al., 2006; Lukes et al., 2014).

Trypanosoma cruzi compreende populações bastante heterogêneas que diferem em características morfológicas, biológicas, patológicas, clínicas, imunológicas, bioquímicas e moleculares (Miles et al., 2009; Zingales et al., 2009; 2012). Essa espécie apresenta uma estrutura populacional complexa, com isolados distribuídos em seis grupos infragenéricos (DTUs - *discrete typing units*),

denominados TcI-TcVI, além de Tcbat, recentemente classificado como uma nova DTU (Zingales et al., 2009; 2012; Lima et al., 2015; Barnabé et al., 2016; Brenière et al., 2016). Os isolados pertencentes às DTUs TcI, III e IV predominam no ciclo silvestre, enquanto isolados das DTUs II, V e VI estão associados principalmente com o ciclo doméstico e peridoméstico de transmissão (Gaunt e Miles, 2000; Yeo et al., 2005; Westenberger et al., 2005; 2006; Llewellyn et al., 2009a,b; Lewis et al., 2009; Marcili et al., 2009 a,b; Miles et al., 2009; Zingales et al., 2012).

A maioria dos isolados de *T. cruzi* caracterizada por diversos marcadores moleculares foi obtida de casos humanos de Doença de Chagas, de triatomíneos de áreas endêmicas e de animais do peridomicílio, especialmente gambás (*D. marsupialis*). O ciclo silvestre do *T. cruzi* apenas recentemente passou a ser alvo de estudos moleculares abrangendo diversas espécies de mamíferos e vetores silvestres, com resultados que mostram uma grande complexidade de genótipos, infecções mistas, associações parasita-vertebrados-vetor e padrões ecológicos (Miles et al., 1983; Lisboa et al., 2004, 2006, 2008, 2009; Herrera et al., 2008, 2009; Valente et al., 2009; De Araújo et al., 2012; Rocha et al., 2013; Roque et al., 2013; Lima et al., 2014).

Poucos trabalhos descrevem *T. cruzi* em preguiças, a maioria dos quais baseia-se apenas em características morfológicas (Hoare, 1972). Na Guiana Francesa, uma busca por hemoparasitas em vários mamíferos e répteis mostrou que, dos 280 esfregaços de preguiças analisados, 27% apresentou infecção por *Endotrypanum schaudinii* e 5% por *T. cruzi*-like. Já no caso dos tamanduás e tatus, a infecção foi por *Trypanosoma legeri* (43,2%) (designação atual: *T. rangeli* B) e *T. cruzi* (10%), respectivamente (Thoisy et al., 2000; Maia da Silva et al., 2004a,b). Outro estudo, nessa mesma região da Guiana Francesa, baseado em MLEE detectou infecção por *T. rangeli* e *E. schaudinnii* em preguiças e *T. rangeli* em tamanduá-mirim (Dereure et al., 2001). No Panamá, um estudo com um número grande de amostras de preguiças mostrou a baixa prevalência de *T. cruzi*, quando comparada a outros parasitas como *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Endotrypanum schaudinni* e *Trypanosoma rangeli* (Herer e Christensen, 1980). Recentemente, outro estudo no Panamá mostrou a importância das preguiças e tamanduás na manutenção da transmissão de *T. cruzi* em *Rodnius pallences*, uma vez que a análise do sangue no intestino desses triatomíneos revelou sua alta prevalência em diferentes habitats (Gottdenker et al., 2012). Além disso, análises com mini-exon, incluindo amostras de *Bradypus torquatus* proveniente do Rio de Janeiro, revelaram infecção de um indivíduo por *T. cruzi* da Linhagem 2, atual DTU TcI (Fernandes et al., 1999).

As espécies de tamanduás também apresentam infecção por *T. cruzi*, sendo registrados através de parâmetros morfológicos e técnicas moleculares. Estudos realizados no Pará detectaram nas espécies *Cyclopes didactylus* e *Tamandua tetradactyla* infecção pela DTU TcI através de eletroforese de enzimas (Z1) e do gene mini-exon (Hoare, 1972; Miles et al, 1981; De Araújo et al.,

2012; Roque et al., 2013). Há também relatos morfológicos de formas similares a *T. cruzi* em *T. tetradactyla* no Piauí (Bento et al., 1992).

Diversos trabalhos relatam *T. cruzi* nas espécies de tatus com base na morfologia, eletroforese de enzimas e através de marcadores moleculares tradicionalmente utilizados (mini-exon, 18S rDNA, 24Sα rDNA) e ensaios de PCR-RFLP empregando diversas enzimas de restrição nos genes GPI, HSP-60 e COII. Outros marcadores mais polimórficos, como ITS-1 e SL, também foram utilizados. Os tatus apresentaram infecção por diversas linhagens de *T. cruzi* inicialmente determinadas como zimodemas (Z1 e Z3) e diferentes DTUs (Tcl, II, III e IV). Além de diversas regiões do Brasil, *T. cruzi* foi observado em tatus na Argentina, Bolívia, Colômbia, Paraguai e Venezuela. No Brasil, os estados do Rio de Janeiro, Pará, São Paulo, Bahia, Mato Grosso, Rio Grande do Norte, revelaram infecções por Z1 (Tcl), Z3 (TclII e IV) e TcIII (Deane, 1961; Hoare, 1972; Miles et al, 1981; Fernandes et al., 1999; Yeo et al., 2005; Roque et al., 2008; Lisboa et al., 2009; Llewellyn et al., 2009; Alvarado-Otegui et al., 2012; Morocoima et al., 2012; Orozco et al., 2013; Ramírez et al., 2013; Tenorio et al., 2014; Martins et al., 2015; Acosta et al., 2017).

Trypanosoma rangeli não apresenta restrição de hospedeiros vertebrados, sendo encontrado parasitando diversas espécies de mamíferos de diferentes ordens, como Didelphimorphia (Marsupialia), Xenarthra, Carnivora, Rodentia, Chiroptera e Primatas não humanos e o homem (Hoare, 1972; D'Alessandro e Saravia, 1992, 1999; Cuba Cuba, 1998; Guhl, Vallejo, 2003). As infecções humanas causadas por *T. rangeli* são comuns na América Central, Colômbia e Venezuela (Guhl, Vallejo, 2003; Vallejo et al., 2003, 2009). No Brasil, *T. rangeli* foi descrito em diferentes mamíferos e triatomíneos (gênero *Rhodnius*), principalmente na Amazônia, onde foram descritos casos humanos (Miles et al., 1983; Coura et al., 1996; Maia da Silva et al., 2004a,b, 2007).

Estudos moleculares comparativos de isolados de diferentes hospedeiros mamíferos e espécies de *Rhodnius* de regiões geográficas demonstraram que *T. rangeli* é um táxon complexo formado por diferentes grupos (Grisard et al., 1999; Urrea et al., 2005). Trabalhos baseados em padrões de RAPD e análises filogenéticas do gene ribossômico (SSU e ITS) e de SL de isolados de *T. rangeli* de diferentes hospedeiros e regiões geográficas dividiram essa espécie em cinco linhagens (A-E) filogenéticas (Maia da Silva et al., 2004a,b, 2007, 2009).

As espécies de Xenarthra são hospedeiros frequentes de *T. rangeli*. Estudos morfológicos revelaram infecções mistas em quatro tamanduás mirins no Panamá, sendo que três apresentaram infecções por *T. rangeli* e *T. legeri* (espécie originalmente classificada no subgênero *Megatrypanum* e atualmente classificada como *T. rangeli* B) e um por *T. legeri* e *T. cruzi*-like (Walton, Sousa, 1967; Maia da Silva et al., 2004a,b). Além do Panamá, *T. legeri* foi registrado em tamanduá-mirim da Guiana Francesa, Honduras e do Brasil e em preguiças da Costa Rica (Hoare, 1972).

As espécies *T. rangeli*-like foram extensivamente descritas nos Xernartha, em estudos baseados apenas em parâmetros morfológicos. Dentre essas espécies, nas preguiças foram descritos *T. preguici*, *T. leeuwenhoekii* e *T. mesnilbrimonti* e no tamanduá-bandeira *T. myrmecophagae* (Shaw, 1969; Hoare, 1972). A inclusão de *T. leeuwenhoekii* e *T. preguici* (ambos de preguiça) e *T. legeri* (tamanduá) em filogenias moleculares agrupou essas espécies com *T. rangeli* das linhagens C, B e B, respectivamente (Maia da Silva et al., 2004a,b).

Através de eletroforese de enzimas foi detectada infecção por *T. rangeli* em um tamanduá-mirim coletado em Rondônia (Miles et al., 1983). Recentemente, uma infecção tripla foi descrita em um tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) capturado no Brasil (Pará); análises moleculares detectaram a presença de *T. cruzi* (Tcl), *T. rangeli* e *Leishmania infantum* neste hospedeiro (De Araújo et al., 2012).

1.3.2 Gênero *Leishmania*

Tripanossomatídeos do gênero *Leishmania* são transmitidos por dípteros hematófagos (Psychodidae: Phlebotominae) e parasitam várias espécies de mamíferos (novo e velho Mundo) e lagartos (apenas no velho Mundo). Grande parte das espécies de *Leishmania* de mamíferos causa lesões cutâneas, mucocutâneas e viscerais em humanos. Preguiça, tamanduá, tatu, roedores e marsupiais são reservatórios importantes de *Leishmania* por abrigarem várias espécies infectantes para o homem (Shaw, 1985). Considerando a morfologia de *Leishmania*, amastigotas são as formas tipicamente encontradas nos hospedeiros vertebrados enquanto que promastigotas são as que colonizam o inseto vetor (Hoare, 1976).

Uma revisão sobre os reservatórios silvestres e sinantrópicos de *Leishmania* das Américas elencou as espécies de *Leishmania* e seus potenciais reservatórios e hospedeiros vertebrados de diversas Ordens da Classe Mammalia (Roque, Jansen, 2014). Desta maneira, para a Ordem Pilosa, as preguiças são consideradas hospedeiras de *L. colombiensis*, *L. equatoriensis* e *L. panamensis* (*C. hoffmanni*), *L. shawi* (*B. tridactylus* e *C. didactylus*) e também um potencial reservatório para *L. guyanensis* (*C. didactylus*); o tamanduá-mirim (*T. tetradactyla*) é hospedeiro de *L. guyanensis*, *L. amazonensis* e *L. infantum* e o tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*) é hospedeiro de *L. guyanensis* e potencial reservatório de *L. naiffi*.

As espécies de *Leishmania* de mamíferos foram inicialmente divididas em dois subgêneros, com base na região do tubo digestório onde o parasita se desenvolve (Lainson, Shaw, 1987, 2005): *L. (Viannia)*, restrito a região neotropical; e *L. (Leishmania)*, representado por espécies do Novo e do

Velho Mundo. Recentemente, foi proposto um novo subgênero, *Mundinia*, para abrigar as espécies *L. enrietti*, *L. sp.* (isolada de um Canguru australiano) e *L. martiniquenses* (Espinosa et al., 2016).

Nas árvores filogenéticas, as espécies do gênero *Leishmania* formam um grupo monofilético. Filogenias baseadas em sequências de SSU rRNA agruparam os gêneros *Leishmania* e *Endotrypanum*, gerando controvérsias em relação à taxonomia de algumas espécies, como *L. herreri*, *L. hertigi*, *L. colombiensis* e *L. equatoriensis* (Cupolillo et al., 1995; Croan et al., 1997; Noyes et al., 1997; Stevens et al., 2001; Yurchenko et al., 2006). As sequências do gene SSU rRNA mostraram-se muito conservadas para diferenciar espécies de *Leishmania*. No entanto, o polimorfismo do gene ITS rDNA mostrou alta variabilidade inter- e intraespecífica (Cupolillo et al., 1995; 1998; Schönián et al., 2000; Miles et al., 2009).

Uma revisão, baseada em vários estudos moleculares como PCR-RFLP do gene ITS rDNA, MLEE e sequências de SSU rRNA de espécies dos gêneros *Leishmania* e *Endotrypanum*, revelou duas principais linhagens filogenéticas denominadas Secções: Euleishmania, formada pelos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, e Paraleishmania formada por espécies de *Endotrypanum* e leishmanias com classificação incerta, denominadas “leishmanias enigmáticas”. Estas últimas incluem: *L. herreri*, parasita de preguiças; *L. equatoriensis*, parasita de preguiças e esquilos, *L. deanei* e *L. hertigi*, de porco-espinho, *L. colombiensis* que infecta preguiça e humanos. O grupo de “leishmanias enigmáticas” apresenta relação com as espécies do gênero *Endotrypanum* e algumas espécies não induzem sinais clínicos de leishmaniose (Cupolillo et al., 2000).

Para resolver a relação filogenética entre as “leishmanias enigmáticas” e as espécies de *Endotrypanum*, Espinosa et al. (2016) analisaram um número significativo de sequências de SSU rRNA, gGAPDH e HSP70 de representantes dessas espécies e dos subgêneros de mamíferos (*Viannia* e *Leishmania*) e répteis (*Sauroleishmania*). Os resultados permitiram validar o gênero *Endotrypanum*, que além de *E. shaudinni* e *E. monterogeii* passa atualmente a abrigar as espécies anteriormente classificadas como *L. herreri*, *L. equatoriensis* e *L. colombiensis*. Também foi proposta a criação de um novo gênero, *Porcisia*, para abrigar as espécies encontradas em porco espinho (*L. hertigi* e *L. denaei*), devido a relevante distância genética (12% para gGAPDH e 5% HSP70) do clado irmão contendo as espécies de *Endotrypanum* (Espinosa et al., 2016).

O clado incluindo as espécies heteroxênicas (*Leishmania*, *Endotrypanum*) e monoxênicas (*Wallaceina* e algumas espécies de *Leptomonas* e *Crithidia*) foi anteriormente definido como SE (“Slowly Evolving”), devido às baixas taxas de divergência da subunidade menor do gene ribossômico (SSU rRNA) (Merzlyak et al., 2001). Com base em análises combinadas de gGAPDH e SSU rRNA foi proposta a denominação da Subfamília Leishmaniinae, uma vez que o clado SE localizava-se abaixo de família e acima de gênero (Jirkú et al., 2012). A recente classificação da subfamília Leishmaniinae,

no gênero *Endotrypanum* é ainda mais difícil. Além de *Leishmania*, tripanossomas de répteis, anfíbios, morcegos e marsupiais são transmitidos por flebotomíneos (Hoare, 1972; Ferreira et al., 2008; Viola et al., 2009).

Conforme já mencionado, diversas análises moleculares foram realizadas mostrando o relacionamento das espécies de *Endotrypanum* com as espécies conhecidas como “leishmanias enigmáticas” que não se agrupavam na Secção denominada Euleishmania (Croan et al., 1997; Cupolillo et al., 1998, 2000).

Com base na nova classificação do gênero *Endotrypanum*, baseada em análises dos genes gGAPDH e HSP70, este gênero é composto pelas seguintes espécies: *E. colombiensis*, *E. equatoriensis*, *E. herreri*, *E. monterogei* e *E. shaudinni*. Na árvore filogenética derivada dos genes supracitados, foi possível notar a formação de dois subclados: o primeiro composto por *E. herreri* e outros isolados de flebotomíneos do Amazonas e de preguiças do Pará; e o segundo por *E. colombiensis*, isolados de *Endotrypanum* do Brasil (Rondônia), Panamá e Guiana Francesa, *E. monterogei*, *E. shaudinni* e *E. equatoriensis*.

1.4 Genes empregados nas análises moleculares e relacionamento genético

1.4.1 Gene Ribossômico

Os genes ribossômicos estão universalmente distribuídos e são funcionalmente equivalentes em todos os organismos e tem sido amplamente utilizados nas inferências filogenéticas de tripanossomatídeos (Sogin et al., 1986).

Esse gene apresenta uma estrutura complexa, composta por unidades de transcrição (cistrons ribossômicos) intercaladas por um espaçador intergênico (IGS) e que se repetem em “tandem” por mais de 100 vezes no genoma (Figura 4). Por uma única unidade de transcrição, conhecida como pré-rRNA, os genes são processados, originando três moléculas de RNA maduros: 18S (SSU, subunidade menor), 5.8S e 24S (LSU, subunidade maior). A subunidade maior é constituída por dois fragmentos de alto peso molecular, 24S α e 24S β e quatro subunidades de rRNAs de baixo peso molecular (S1, S2, S4 e S6). Composto por sequências altamente conservadas, as subunidades 18S e 24S são intercaladas por espaçadores ITS (ITS 1 e 2, espaçadores internos transcritos), de conservação intermediária, e ETS (espaçador externo transcrito) que são flanqueados pelo espaçador intergênico (IGS), que apresenta sequências altamente variáveis (Sogin et al., 1986; Hernández et al., 1990). Já a subunidade menor denominada SSU, é composta por oito regiões conservadas (U1-U8) e nove regiões variáveis (V7-V9), sendo muito utilizada por apresentar características importantes, tais como o pequeno

tamanho, a fácil amplificação por PCR e a presença de regiões variáveis por regiões flanqueadas (Hernández et al., 1990). Atualmente, há inúmeras sequências de SSU de espécies e isolados de tripanossomatídeos depositadas em bancos, o que permite a identificação de novas espécies e a inferência de relacionamento de linhagens e genótipos.

Figura 4 - Representação esquemática do cistron ribossômico de rRNAs precursores de tripanossomatídeos.

Os espaçadores IGS e ITS são muito mais variáveis do que as regiões SSU e LSU. As sequências ITS1 e ITS2 diferem inter e intra-especificamente e, por esse motivo, são consideradas excelentes para inferir o relacionamento filogenético de organismos próximos, para diagnóstico e como marcadores taxonômicos. Análises de ITSrDNA revelaram variabilidade inter e intraespecífica em *Leishmania* sp. e *Endotrypanum* sp. (Cupolillo et al., 2000), diferenciando também linhagens de *T. cruzi* (Fernandes et al., 1999; Cuervo et al., 2002; Santos et al., 2002; Luna-Marin et al., 2009; Marcili et al., 2009), de *T. rangeli* (Maia da Silva et al., 2004a), espécies de tripanossomas Africanos (Desquesnes et al., 2001; Njiru et al., 2005; Rodrigues et al., 2008), genótipos de *T. theileri* (Rodrigues et al., 2006, 2010) e tripanossomas de anuros (Ferreira et al., 2007, 2008) e de serpentes (Viola et al., 2008, 2009).

1.4.2 Gene Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase glicosomal - gGAPDH

Glicossomos, organelas presentes nos representantes da família Trypanosomatidae, contém enzimas envolvidas no metabolismo da glicose e glicerol, diferindo dos eucariotos, nos quais as enzimas são citosólicas. Nos tripanossomas, há dois genes que codificam a enzima glicosomal (gGAPDH) e um terceiro, que codifica a enzima citosólica (cGAPDH), mais estritamente relacionado com os genes bacterianos (Kendall et al., 1990; Hannaert et al., 1992, 1998) (Figura 5).

Figura 5 - Representação esquemática dos genes de gGAPDH.

Os genes gGAPDH são codificadores de proteínas e estão sujeitos a diferentes pressões seletivas, apresentando menores taxas de evolução quando comparados com os genes ribossômicos. Esses genes fornecem alinhamentos confiáveis entre sequências de organismos geneticamente distintos e têm se mostrado excelentes marcadores para estudos filogenéticos com tripanossomatídeos (Hamilton et al., 2004, 2005a,b, 2007; Stevens, 2008).

Estudos baseados em sequências concatenadas ou independentes utilizando os genes SSU rRNA e gGAPDH apontaram topologias congruentes, sendo recomendados para a descrição e inferências filogenéticas de gêneros, subgêneros e espécies de tripanossomatídeos (Hamilton et al., 2004; 2005a, 2009; Viola et al., 2009; Maslov et al., 2010; Teixeira et al., 2011; Borghesan et al., 2013; Fermino et al., 2013;).

2 CONCLUSÕES

Nesse estudo foi realizado um grande levantamento de espécies da família Trypanosomatidae em espécies de *Xenarthra* capturadas nos estados de Rondônia (RO), Pará (PA) e Mato Grosso (MT), no bioma Amazônico. Os parasitas identificados foram comparados com os encontrados em *Xenarthra* de outras regiões, assim com aqueles detectados em amostras de porco-espinho (*Coendou*) também capturados na Amazônia.

Amostras de sangue/tecido foram utilizadas para avaliar a diversidade genética e relações filogenéticas dos tripanossomatídeos com base em DNA barcoding e filogenias foram inferidas com sequências dos genes SSU rRNA e gGAPDH. Ao todo, 464 amostras foram utilizadas neste estudo, sendo 361 de preguiças, 32 de tamanduás e 14 de tatus, além de 57 de *Coendou*. Dentre as espécies de *Xenarthra* (N=407), foram analisadas preguiças dos gêneros *Bradypus* (N=251) e *Choloepus* (N=109), tamanduás (*Tamandua* e *Cyclopes*) e tatus (*Dasypus* e *Cabassous*). Os resultados revelaram prevalência de infecção por tripanossomatídeos maiores nas preguiças (30,47%), seguido dos tamanduás (5,16%) e tatus (1,47%). Esses resultados corroboram estudos morfológicos que sugerem que espécies de *Xenarthra* são hospedeiras de diferentes gêneros e espécies de tripanossomatídeos.

As preguiças foram encontradas infectadas (34,35%: 124 infectadas de 361 examinadas) por: *Endotrypanum* (N=54), duas espécies de *Trypanosoma* sp. descobertas nesse estudo [*T. sp1* (N=9) e *T. sp2* (N=53)], *T. rangeli* das linhagens A (N=4), B (N=9) e E (N=3), e *T. cruzi* da DTU TcIII (N=2). Os tamanduás apresentaram infecção (65,63%: 21 infectados de 32 examinados) por: *T. sp2* (N=18), *T. rangeli* das linhagens A (N=1), B (N=2) e E (N=1). Nos tatus foram detectadas infecções (42,86%: 6 infectados de 14 examinados) por: *T. sp2* (N=3) e *T. cruzi* III (N=4).

Os resultados corroboraram estudos anteriores indicando uma forte associação do gênero *Endotrypanum* com preguiças, os únicos animais encontrados infectados por espécies desse gênero nesse estudo. Nosso trabalho revelou, pela primeira vez, *T. rangeli* das linhagens A e E em preguiças e tamanduás, e corroborou relatos anteriores de *T. rangeli* da linhagem B em preguiças e tamanduá-mirim. Foram detectadas infecções por *T. cruzi* TcIII em tatus (*D. novemcinctus*), confirmando estudos que associam fortemente tatus com essa DTU. Além disso, pela primeira vez, TcIII foi identificado em preguiças, confirmando que animais de diversas ordens e estratos são infectados com TcIII em diferentes biomas.

As duas espécies novas de *Trypanosoma* identificadas foram, provisoriamente, denominadas *T. sp1*, até o momento exclusiva de preguiças (9 animais) e *T. sp2*, altamente prevalente, presente em todas as espécies de *Xenarthra* e também em *Coendou*. A taxa de infecção por tripanossomatídeos em

Coendou foi de 15,79%, com infecções por *T. sp2* (N=3) e *Porcisia* (N=2). *Porcisia* spp. foi encontrada em amostras de *Coendou* da Amazônia e Caatinga.

Nas preguiças, foram encontradas infecções mistas com diferentes espécies de *Trypanosoma*, de *Endotrypanum*, e com espécies desses dois gêneros. Tatus e tamanduás apresentaram infecções mistas por diferentes tripanossomas, e um tamanduá apresentou diferentes linhagens de *T. rangeli*. Estudos anteriores e resultados obtidos nesse trabalho confirmam que *T. cruzi* III e *T. rangeli* são comuns em Xenarthra.

Com o levantamento bastante abrangente de tripanossomatídeos em Xenarthra realizado nesse estudo, demonstramos que esses animais, especialmente as preguiças, possuem um dos maiores repertórios de tripanossomatídeos já encontrado em um determinado hospedeiro mamífero. Nossos resultados sugerem que *Endotrypanum* evoluiu em associação com esses animais, consistente com altas taxas de infecção e ausência desse gênero nos outros Xenarthra analisados nesse estudo.

Resultados aqui obtidos também apoiaram fortemente uma história evolutiva compartilhada entre parasitas do gênero *Porcisia* e roedores do gênero *Coendou*. Corroborando essas associações, não detectamos *Porcisia* em Xenarthra, nem *Endotrypanum* em *Coendou*, embora esses animais compartilhem nichos ecológicos na Amazônia.

REFERÊNCIAS*

- Abolis NG, de Araújo SM, Toledo MJdO, Fernandez, MA, Gomes, ML. *Trypanosoma cruzi* I-III in southern Brazil causing individual and mixed infections in humans, sylvatic reservoirs and triatomines. *Acta Trop*. 2011;(120):167-72.
- Acosta N, López E, Lewis MD, Llewellyn MS, Gómez A, Román F, Miles MA, Yeo M. Hosts and vectors of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in the Chagas disease endemic region of the Paraguayan Chaco. *Parasitology*. 2017;9:1-15.
- Aguilar HM, Abad-Franch F, Dias JCP, Junqueira ACV, Coura JR. Chagas disease in the Amazon region. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102(Suppl 1):47-56.
- Alvarado-Otegui JA, Ceballos LA, Orozco MM, Enriquez GF, Cardinal MV, Cura C, Schijman AG, Kitron U, Gürtler RE. The sylvatic transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* in a rural area in the humid Chaco of Argentina. *Acta Trop*. 2012;124:79-86.
- Barnabé C, Neubauer K, Solari A, Tibayrenc M. *Trypanosoma cruzi*: presence of the two major phylogenetic lineages and of several lesser discrete typing units (DTUs) in Chile and Paraguay. *Acta Trop*. 2001; 78:127-37.
- Barnabé C, Mobarec HI, Jurado MR, Cortez JA, Brenière SF. Reconsideration of the seven discrete typing units within the species *Trypanosoma cruzi*, a new proposal of three reliable mitochondrial clades. *Infect Genet Evol*. 2016;39:176-86.
- Barnosky AD, Lindsey EL. Timing of Quaternary megafaunal extinction in South America in relation to human arrival and climate change. *Quat Int*. 2010;217:10-29.
- Barrett TV, Hoff RH, Mott KE, Miles MA, Godfrey DG, Teixeira R, Almeida de Souza JA, Sherlock IA. Epidemiological aspects of three *Trypanosoma cruzi* zymodemes in Bahia State, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1980;74:84-90.
- Bento DNC, Farias LM, Godoy MF, Araújo JF. Epidemiologia da doença de chagas na zona rural do município de Teresina-Piauí, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1992; 25:51-8.
- Benton, M.J. Vertebrate paleontology. Oxford, Blackwell Science; 2000. 455p.
- Borrero LA, Zárate M, Miotti L, Massone M. The Pleistocene - Holocene transition and human occupations in the southern cone of South America. *Quat Int*. 1998;49:191-9.
- Borghesan TC, Ferreira RC, Takata CSA, Campaner M, Borda CC, Paiva F, Milder RV, Teixeira MMG, Camargo EP. Molecular phylogenetic redefinition of *Herpetomonas* (Kinetoplastea, Trypanosomatidae), a genus of insect parasites associated with flies. *Protist*. 2013;164:129-52.
- Brasil. Lista de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Portaria nº 444 e nº 445, de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial [da União], Brasília, DF, n. 245, 18 dez. 2014;Seção 1: 121-130.
- Brenière SF, Waleckx E, Barnabé C. Over Six Thousand *Trypanosoma cruzi* Strains Classified into Discrete Typing Units (DTUs): Attempt at an Inventory. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(8):e0004792.
- Brisse S, Barnabé C, Tibayrenc M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. *Int J Parasitol*. 2000;(30):35-44.
- Brisse S, Henriksson J, Barnabé C, Douzery EJP, Berkvens D, Serrano M, De Carvalho MRC, Buck GA, Dujardin JC, Tibayrenc M. Evidence for genetic exchange and hybridization in *Trypanosoma cruzi* based on nucleotide sequences and molecular karyotype. *Infect Genet Evol*. 2003;2:173-83.
- Camargo EP. *Phytomonas* and other Trypanosomatid parasites of plants and fruit. *Adv Parasit*. 1998;42:29-112.
- Camargo EP. *Phytomonas* and other Trypanosomatid parasites of plants and fruit. *Adv Parasit*. 1999;42:29-112.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. [2011 Jul 15]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

- Cardinal MV, Lauricella MA, Ceballos LA, Lanati L, Marcet PL, Levin MJ, Kitron U, Gürtler RE, Schijman AG. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Int J Parasitol*. 2008;38:1533-43.
- Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 1998;73:203-66.
- Cavalier-Smith T. Only six kingdoms of life. *Proc Biol Sci*. 2004;271:1251-62.
- Cavalier-Smith T. Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. *Eur J Protistol*. 2016;56:250-76.
- Ceballos LA, Cardinal MV, Vazquez-Prokopec GM, Lauricella MA, Orozco MM, Cortinas R, Schijman AG, Levin MJ, Kitron U, Gürtler RE. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. *Acta Trop*. 2006;98:286-96.
- Chagas C, Chagas C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1909;1:159-218.
- Chiarello AG. Sloth Ecology: An overview of field studies. In: Vizcaíno SF, Loughry WJ (eds.) *The Biology of the Xenarthra*. Florida, University Press; 2008. 269-80 p.
- Coura JR, Fernandez O, Aboleda M, Barrett TV, Carrara N, Degraeve W, Campbell DA. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996;90:278-9.
- Coura JR, Junqueira ACV, Fernandes O, Valente SAS, Miles MA. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol*. 2002;18:171-6.
- Cuba Cuba CA. Revision de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31:207-20.
- Cuervo P, Cupolillo E, Segura I, Saravia N, Fernandes O. Genetic diversity of Colombian sylvatic *Trypanosoma cruzi* isolates revealed by the ribosomal DNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:877-80.
- Cupolillo E, Grimaldi Júnior G, Momen H, Beverley SM. Intergenic region typing (IRT): a rapid molecular approach to the characterization and evolution of *Leishmania*. *Mol Biochem Parasitol*. 1995;73:145-55.
- Cupolillo E, Pereira LOR, Fernandes O, Catanho MP, Pereira JC, Medina-Acosta E, Grimaldi G Jr. Genetic data showing evolutionary links between *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998;93:677-83.
- Cupolillo E, Medina-Acosta E, Noyes H, Momen H, Grimaldi G Jr. A revised classification for *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitol Today*. 2000;16:142-4.
- Croan DG, Morrison DA, Ellis JT. Evolution of the genus *Leishmania* revealed by comparison of DNA and RNA polymerase gene sequences. *Mol Biochem Parasitol*. 1997;89:149-59.
- D'Alessandro A, Saraiva NG. *Trypanosoma rangeli*. In: Kreier J, Baker JR. (eds.) *Parasitic protozoa*. New York, Academic Press; 1992. 1-54 p.
- D'Alessandro A, Saraiva NG. *Trypanosoma rangeli*. In: Gilles HM. (ed.) *Protozoal diseases*. London, Arnold; 1999. 398-412 p.
- Da Câmara ACJ, Varella-Freire AA, Valadares HMS, Macedo AM, D'Ávila DA, Machado CR, Lages-Silva E, Chiari E, Galvão LMC. Genetic analyses of *Trypanosoma cruzi* isolates from naturally infected triatomines and humans in Northeastern Brazil. *Acta Trop*. 2010;115:205-11.
- Da Câmara AC, Lages-Silva E, Sampaio GHF, D'Ávila DA, Chiari E, da Cunha Galvão LM. Homogeneity of *Trypanosoma cruzi* I, II, and III populations and the overlap of wild and domestic transmission cycles by *Triatoma brasiliensis* in Northeastern Brazil. *Parasitol Res*. 2013;112:1543-50.
- Dario MA, Rodrigues MS, Barros JHS, Xavier SCC, D'Andrea PS, Roque ALR, Jansen AM. Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). *Parasit Vectors*. 2016;9:477-91.
- Deane LM. Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev Inst Med Trop. São Paulo*. 1961;3:15-28.

Deane LM, da Silva JE, Figueiredo PZ. Leishmaniae in the viscera of porcupines from the state of Piauí, Brazil. *Rev Inst Med Trop. São Paulo.* 1974;16:68-9.

De Araújo VAL, Boité MC, Cupolillo E, Jansen AM, Roque ALR. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. *Parasitology.* 2012;140:455-60.

Delsuc F, Catzefflis FM, Stanhope MJ, Douzery EJP. The evolution of armadillos, anteaters and sloths depicted by nuclear and mitochondrial phylogenies: Implications for the status of the enigmatic fossil Eurotamandua. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 2001;268:1605-15.

Delsuc F, Scaly M, Madsen, O, Stanhope MJ, de Jong WW, Catzefflis FM, Springer MS, Douzery EJP. Molecular phylogeny of living xenarthrans and the impact of characters and taxon sampling on the placental tree rootin. *Mol Biol Evol.* 2002;19:1656-71.

Delsuc F, Vizcaíno SF, Douzery EJP. Influence of Tertiary paleoenvironmental changes on the diversification of South American mammals. A relaxed molecular clock study within Xenarthrans. *BMC Evol Biol.* 2004;4:11-23.

De Vivo M, Carmingnotto AP. Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and Africa. *J Biogeogr.* 2004; 31:943-57.

Deschamps P, Lara E, Marande W, Lopez-Garcia P, Ekelund F, Moreira D. Phylogenomic analysis of kinetoplastids supports that trypanosomatids arose from within bodonids. *Mol Biol Evol.* 2011;28:53-8.

Desquesnes M, McLaughlin G, Zoungrana A, Davila AMR. Detection and identification of *Trypanosoma* of African livestock through a single PCR based on internal transcribed spacer 1 of rDNA. *Int J Parasitol.* 2001;31:610-4.

Dereure J, Barnabé C, Vié JC, Madélenat F, Raccurt C. Trypanosomatidae from wild mammals in the neotropical rainforest of French Guiana. *Ann Trop Med Parasitol.* 2001;95:157-66.

Dias FBS, Quartier M, Romaña CA, Diotaiuti L, Harry M. *Tamandua tetradactyla* Linnaeus, 1758 (Myrmecophagidae) and *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 (Triatominae) infection focus by *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 (Trypanosomatidae) in *Attalea phalerata* Mart. ex Spreng (Arecaceae) palm tree in the Brazilian Amazon. *Infect Genet Evol.* 2010;10:1278-81.

DNASTAR, 1997. Lasergene Biocomputing Software for Windows, User's Guide: A Manual for the Lasergene System, DNSTAR, Inc, Wisconsin, USA.

Eizirik E, Murphy WJ, O'Brien SJ. Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation. *J Hered.* 2001;92:212-9.

Engelman GF. The phylogeny of Xenarthra. In: Montgomery GG, ed. The Evolution and Ecology of armadillos, sloths and vermilings. Washington and London, Smithsonian University Press; 1985;51-64 p.

Espinosa OA, Serrano MG, Camargo EP, Teixeira MMG, Shaw JJ. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitology.* 2016;15:1-13.

Fermino BR, Viola LB, Paiva F, Garcia HA, de Paula CD, Botero-Arias R, Takata CSA, Campaner M, Hamilton PB, Camargo EP, Teixeira MMG. The phylogeography of trypanosomes from South American alligatorids and African crocodilids is consistent with the geological history of South American river basins and the transoceanic dispersal of *Crocodylus* at the Miocene. *Parasit Vectors.* 2013;6:313-26.

Fermino BR, Paiva F, Soares P, Tavares LER, Viola LB, Ferreira RC, Botero-Arias R, de-Paula CD, Campaner M, Takata CSA, Teixeira MMG, Camargo EP. Field and experimental evidence of a new caiman trypanosome species closely phylogenetically related to fish trypanosomes and transmitted by leeches. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2015; 4:368-78.

Fernandes O, Santos SS, Junqueira ACV, Jansen AM, Cupolillo E, Campbell DA, Zingales B, Coura JR. Populational heterogeneity of Brazilian *Trypanosoma cruzi* isolates revealed by the mini-exon and ribosomal spacers. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999a;94 Suppl 1:195-7.

- Fernandes O, Mangia RH, Lisboa CV, Pinho AP, Morel CM, Zingales B, Campbell DA, Jansen AM. The complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro state (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer of the mini-exon gene. *Parasitology*. 1999b;118:161-6.
- Fernandes O, Santos SS, Cupolillo E, Mendonça B, Derre R, Junqueira ACV, Santos LC, Sturm NR, Naiff RD, Barret TV, Campbell DA, Coura JR. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001; 95:97-9.
- Ferreira RC, Campaner M, Viola LB, Takata CSA, Takeda GF, Teixeira MMG. Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic Forest and Pantanal biomes in Brazil. *Parasitology*. 2007;134:1623-38.
- Ferreira RC, De Souza AA, Freitas RA, Campaner M, Takata CSA, Barrett TV, Shaw JJ, Teixeira MMG. A Phylogenetic Lineage of Closely Related Trypanosomes (Trypanosomatidae, Kinetoplastida) of Anurans and Sand Flies (Psychodidae, Diptera) Sharing the Same Ecotopes in Brazilian Amazonia. *J Eukaryot Microbiol*. 2008;55:427-35.
- Flegontov P, Votýpka J, Skalický T, Logacheva MD, Penin AA, Tanifuji G, Onodera NT, Kondrashov AS, Volf P, Archibald JM, Lukeš J. *Paratrypanosoma* is a novel early-branching trypanosomatid. *Curr Biol*. 2013;23:1787-93.
- Freitas JM, Augusto-Pinto L, Pimenta JR, Bastos-Rodrigues L, Gonçalves VF, Teixeira SMR, Chiari E, Junqueira ACV, Fernandes O, Macedo AM, Machado CR, Pena SDJ. Ancestral Genomes, Sex, and the Population Structure of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Pathog*. 2006;2(3)e24:226-35.
- Gardner AL. Order Cinculata. In: Wilson DE, Reeder DM. (Ed.). *Mammal species of the world*. v. 1. Baltimore, The Johns Hopkins University Press; 2005a; 94-9 p.
- Gardner AL. Order Pilosa. In: Wilson DE, Reeder DM. (Ed.). *Mammal species of the world*. v. 1. Baltimore, The Johns Hopkins University Press. 2005b;100-3 p.
- Gardner AL. *Mammals of South America*. Vol 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats. Cap. Magnorder Xenarthra. Chicago and London, University Press; 2007. 690 p.
- Gaunt M, Miles M. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (triatominae) and their associated trypanosomes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000;95:557-65.
- Gibb GC, Condamine FL, Kuch M, Enk J, Moraes-Barros N, Superina M, Poinar HN, Delsuc F. Shotgun Mitogenomics Provides a Reference Phylogenetic Framework and Timescale for Living Xenarthrans. *Mol. Biol. Evol*. 2016; 33:621-42.
- Guhl F, Vallejo GA. *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli* Tejera, 1920 - An updated review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98:435-42.
- Gottdenker NL, Chaves LF, Calzada JE, Saldaña A, Carroll CR. Host Life history strategy, species diversity, and habitat influence *Trypanosoma cruzi* vector infection in changing landscapes. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(11)e1884:1-11.
- Glass BP. History of classification and nomenclature in Xenarthra (Edentata). In: Montgomery GG, ed. *The evolution and ecology of armadillos, sloths, and vermilinguas*. Washington and London, Smithsonian University Press; 1985; 51-64 p.
- Grisard EC, Campbell DA, Romanha AJ. Mini-exon gene sequence polymorphism among *Trypanosoma rangeli* strains isolated from distinct geographical regions. *Parasitology*. 1999;118:375-82.
- Hannaert V, Blaauw M, Kohl L, Allert S, Opperdoes FR, Michels PA. Molecular analysis of the cytosolic and glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in *Leishmania mexicana*. *Mol Biochem Parasitology*. 1992;55:115-26.
- Hannaert V, Opperdoes FR, Michels PA. Comparison and evolutionary analysis of the glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from different Kinetoplastida. *J Mol Evol*. 1998;47:728-38.
- Hamilton PB, Stevens JR, Gaunt MW, Gidley J, Gibson WC. Trypanosomes are monophyletic: evidence from genes for glyceraldehyde phosphate dehydrogenase and small subunit ribosomal RNA. *Int J Parasitol*. 2004; 34:1393-404.

- Hamilton PB, Stevens JR, Gidley J, Holz P, Gibson WC. A new lineage of trypanosomes from Australian vertebrates and terrestrial bloodsucking leeches (Haemadipsidae). *Int J Parasitol.* 2005a;35:431-43.
- Hamilton PB, Stevens JR, Cooke B, Boag B, Holz P, Gibson WC. The inadvertent introduction into Australia of *Trypanosoma nabiasi*, the trypanosome of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), and its potential for biocontrol. *Mol Ecology.* 2005b;14:3167-76
- Hamilton PB, Gibson WC, Stevens JR. Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. *Molecular phylogenetics and evolution.* 2007;44:15-25.
- Hamilton PB, Adams ER, Njiokou F, Gibson WC, Cuny G, Herder S. Phylogenetic analysis reveals the presence of the *Trypanosoma cruzi* clade in African terrestrial mammals. *Infect Genet Evol.* 2009;9:81-6.
- Hernandez R, Rios P, Valdes AM, Pinero D. Primary structure of *Trypanosoma cruzi* small-subunit ribosomal RNA coding region: comparison with other trypanosomatids. *Mol Biochem Parasitol.* 1990; 41:207-12.
- Herrer A, Christensen HA. *Leishmania braziliensis* in the Panamanian two-toed sloth, *Choloepus hoffmanni*. *Am J Trop Med Hyg.* 1980; 29:1196-200.
- Herrera HM, Lisboa CV, Pinho AP, Olifiers N, Bianchi RC, Rocha FL, Mourão GM, Jansen AM. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102:1133-9.
- Herrera C, Guhl F, Falla A, Fajardo A, Montilla M, Adolfo Vallejo G, Barges MD. Genetic Variability and Phylogenetic Relationships within *Trypanosoma cruzi* I Isolated in Colombia Based on Miniexon Gene Sequences. *J Parasitol Res.* 2009. pii: 897364.
- Hoare CA. Morphological and taxonomic studies on Mammalian Trypanosomes. X. Revision of the Systematics. *J Protozool.* 1964;11:200-7.
- Hoare, CA. The Trypanosomes of Mammals: A zoological monograph. Oxford, Blackwell Scientific Publications; 1972. 750 p.
- Herrer A. *Leishmania hertigi* sp. n., from the tropical porcupine, *Coendou rothschildi* Thomas. *J Parasitol.* 1971;57:626-9.
- Huson DH, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol Biol Evol.* 2006;23:254-67.
- IUCN. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-3. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/search>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2017.
- Jansen AM, Xavier SCC, Roque, ALR. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. *Acta Trop.* 2015;151:1-15.
- Jirku M, Yurchenko VY, Lukes J, Maslov DA. New species of insect trypanosomatids from Costa Rica and the proposal for a new subfamily within the Trypanosomatidae. *J Eukaryot Microbiol.* 2012;59:537-47.
- Kendall G, Wilderspin AF, Ashall F, Miles MA, Kelly JM. *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase does not conform to the 'hotspot' topogenic signal model. *EMBO J.* 1990;9:2751-8.
- Koch PL, Barnosky AD. Late quaternary extinctions: State of the debate (Ed.), *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2006; 37:215-50.
- Kostygov AY, Grybchuk-Ieremenko A, Malysheva MN, Frolov AO, Yurchenko V. Molecular revision of the genus *Wallaceina*. *Protist.* 2014;165:594-604.
- Kostygov AY, Dobáková E, Grybchuk-Ieremenko A, Váhala D, Maslov DA, Votýpka J, Lukeš J, Yurchenko V. Novel Trypanosomatid-Bacterium Association: Evolution of Endosymbiosis in Action. *MBio.* 2016;7(2):e01985.
- Lainson R, Shaw JJ. Leishmaniasis in Brazil: XII. Observations on cross-immunity in monkeys and man infected with *Leishmania mexicana mexicana*, *L. m. amazonensis*, *L. braziliensis braziliensis*, *L. b. guyanensis* and *L. b. panamensis*. *J Trop Med Hyg.* 1977;80:29-35.

- Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R (eds). *The leishmaniasis in biology and medicine*. London: Academic Press; 1987. v. 1, p. 1-120.
- Lainson R, Shaw JJ, Fraiha H. Chagas's Disease in the Amazon Basin: I. *Trypanosoma cruzi* infections in silvatic mammals, triatomine bugs and man in the State of Pará north Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1979;73:193-204.
- Lainson R, Shaw JJ. Leishmaniasis in the New World. In: Collier L, Balows A, Sussman M, (eds). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Parasitology*. 10th ed. London: Arnold; 2005. v 5, p. 313-349.
- Lanham SM, Miles MA, de Souza AAA, Póvoa MM. Anion-exchange separation for neotropical trypanosomes: a preliminary trial and a description of *Trypanosoma devei* from the tamarin *Saguinus midas niger*. *Z Parasitenkd*. 1984;70:311-9.
- Lewis MD, Llewellyn MS, Gaunt MW, Yeo M, Carrasco HJ, Miles MA. Flow cytometric analysis and microsatellite genotyping reveal extensive DNA content variation in *Trypanosoma cruzi* populations and expose contrasts between natural and experimental hybrids. *Int J Parasitol*. 2009; 39:1305-17.
- Lima VS, Jansen AM, Messenger LA, Miles MA, Llewellyn MS. Wild *Trypanosoma cruzi* I genetic diversity in Brazil suggests admixture and disturbance in parasite populations from the Atlantic Forest region. *Parasit Vectors*. 2014;7:263-70.
- Lima L, Espinosa-Álvarez O, Pinto CM, Cavazzana M Jr, Pavan AC, Carranza JC, Lim BK, Campaner M, Takata CSA, Camargo EP, Hamilton PB, Teixeira MMG. New insights into the evolution of the *Trypanosoma cruzi* clade provided by a new trypanosome species tightly linked to Neotropical Pteronotus bats and related to an Australian lineage of trypanosomes. *Parasit Vectors*. 2015;8:657-74.
- Lisboa CV, Mangia RH, Rubião E, de Lima NRC, das Chagas Xavier SC, Picinatti A, Ferreira LF, Fernandes O, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* transmission in a captive primate unit, Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop*. 2004;90:97-106.
- Lisboa CV, Mangia RH, Luz SL, Kluczkowski A Jr, Ferreira LF, Ribeiro CT, Fernandes O, Jansen AM. Stable infection of primates with *Trypanosoma cruzi* I and II. *Parasitology*. 2006;133:603-11.
- Lisboa CV, Pinho AP, Herrera HM, Gerhardt M, Cupolillo E, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* (kinetoplastida, Trypanosomatidae) genotypes in neotropical bats in Brazil. *Vet Parasitol*. 2008;156:314-8.
- Lisboa CV, Xavier SCdC, Herrera HM, Jansen AM. The ecology of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle: Dispersion of zymodeme 3 (Z3) in wild hosts from Brazilian biomes. *Vet Parasitol*. 2009;165:19-24.
- Llewellyn MS, Lewis MD, Acosta N, Yeo M, Carrasco HJ, Segovia M, Vargas J, Torrico F, Miles MA, Gaunt MW. *Trypanosoma cruzi* IIc: phylogenetic and phylogeographic insights from sequence and microsatellite analysis and potential impact on emergent Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009a; 3(9):e510.
- Llewellyn MS, Miles MA, Carrasco HJ, Lewis MD, Yeo M, Vargas J, Torrico F, Diosque P, Valente V, Valente SA, Gaunt MW. Genome-scale multilocus microsatellite typing of *Trypanosoma cruzi* discrete typing unit I reveals phylogeographic structure and specific genotypes linked to human infection. *PLoS Pathog*. 2009b;5(5):e1000410.
- Lukes J, Skalicky T, Tyc J, Votypka J, Yurchenko V. Evolution of parasitism in kinetoplastid flagellates. *Mol Biochem Parasitol*. 2014;195:115-22.
- Luna-Marin KP, Jaramillo-Londono CL, Hernandez-Torres J, Gutierrez-Marin R, Vallejo GA, Angulo-Silva VM. ITS-RFLP- and RAPD-based genetic variability of *Trypanosoma cruzi* I, human and vector strains in Santander, Colombia. *Parasitol Res*. 2009;105:519-28.
- Lyons SK, Smith FA, Brown JH. Of mice, mastodons and men: human-mediated extinctions on four continents. *Evol Ecol Res*. 2004;6:339-58.
- Maia da Silva F, Rodrigues AC, Campaner M, Takata CSA, Brigido MC, Junqueira ACV, Coura JR, Takefa GF, Shaw JJ, Teixeira MMG. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma rangeli* and allied species from human, monkeys and other silvatic mammals of the Brazilian Amazon disclosed a new group and a species-specific marker. *Parasitology*. 2004a;128:283-94.

Maia da Silva F, Noyes H, Campaner M, Junqueira ACV, Coura JR, Añez N, Shaw JJ, Stevens JR, Teixeira MMG. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. *Parasitology*. 2004b; 29:549-61

Maia Da Silva F, Junqueira ACV, Campaner M, Rodrigues AC, Crisante G, Ramirez LE, Caballero ZCE, Monteiro FA, Coura JR, Añez N, Teixeira MMG. Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. *Mol Ecol*. 2007;16:3361-73.

Maia da Silva F, Marcili A, Lima L, Cavazzana MJr, Ortiz PA, Campaner M, Takeda GF, Paiva F, Nunes VLB, Camargo EP, Teixeira MMG. *Trypanosoma rangeli* isolates of bats from Central Brazil: genotyping and phylogenetic analysis enable description of a new lineage using spliced-leader gene sequences. *Acta Trop*. 2009;109:199-207.

Maia da Silva F, Marcili A, Ortiz PA, Epiphanyo S, Campaner M, Catão-Dias JL, Shaw JJ, Camargo EP, Teixeira MMG. Phylogenetic, morphological and behavioural analyses support host switching of *Trypanosoma* (Herpetosoma) *lewisi* from domestic rats to primates. *Infect Genet Evol*. 2010;10:522-9.

Marcili A, Valente VC, Valente SA, Junqueira ACV, da Silva FM, Pinto AY, Naiff RD, Campaner M, Coura JR, Camargo EP, Miles MA, Teixeira MMG. *Trypanosoma cruzi* in Brazilian Amazonia: Lineages TCI and TCIIa in wild primates, *Rhodnius* spp. and in humans with Chagas disease associated with oral transmission. *Int J Parasitol*. 2009;39:615-23.

Marcili A, Lima L, Valente VC, Valente SA, Batista JS, Junqueira ACV, Souza AI, da Rosa JA, Campaner M, Lewis MD, Llewellyn MS, Miles MA, Teixeira MMG. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCIIc: new hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. *Infect Genet Evol*. 2009;9:1265-74.

Maslov DA, Lukes J, Jirku M, Simpson L. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. *Mol Biochem Parasitol*. 1996;75:197-205.

Maslov DA, Yurchenko VY, Jirku M, Lukes J. Two new species of trypanosomatid parasites isolated from Heteroptera in Costa Rica. *J Eukaryot Microbiol*. 2010; 57:177-88.

Maslov DA, Votýpka J, Yurchenko V, Lukeš J. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. *Trends Parasitol*. 2013;29:43-52.

Marshall LG, Webb SD, Sepkoski JJ, Raup DM. Mammalian Evolution and the Great American Interchange. *Science*. 1982;215:1351-57.

Martinez MF, Kowalewski MM, Salomón OD, Schijman AG. Molecular characterization of Trypanosomatid infections in wild howler monkeys (*Alouatta caraya*) in northeastern Argentina. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2016;5:198-206.

Martins LPA, Marcili A, Castanho REP, Therezo, ALS, de Oliveira, JCP, Suzuki RB, Teixeira MMG, da Rosa JA, Sperança MA. Rural *Triatoma rubrovaria* from Southern Brazil Harbors *Trypanosoma cruzi* of lineage IIc. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79:427-34.

Martins K, Andrade CM, Barbosa-Silva AN, Nascimento GB, Chiari E, Galvão LMC, da Câmara ACJ. *Trypanosoma cruzi* III causing the indeterminate form of Chagas disease in a semi-arid region of Brazil. *Int J Infect Dis*. 2015;39:68-75.

McDonald HG. Paleoecology of extinct xenarthrans and the great American biotic interchange. *Bull Fla Mus Nat Hist*. 2005;45:313-33.

Mesnil F, Brimont E. Sur un hématozoaire nouveau (*Endotrypanum* n.gen.) d'un édenté de Guyane. C. R. Hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris. 1908;65:581-3.

Merzlyak E, Yurchenko V, Kolesnikov AA, Alexandrov K, Podlipaev SA, Maslov DA. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids based on small subunit rRNA genes: polyphyly of *Leptomonas* and *Blastocrithidia*. *J Euk Microbiol*. 2001;48:161-9.

Miles MA, Povoá MM, de Souza AA, Lainson R, Shaw JJ, Ketteridge DS. Chagas's disease in the Amazon Basin: II. The distribution of *Trypanosoma cruzi* zymodemes 1 and 3 in Pará State, north Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1981;75:667-74.

Miles, MA, Arias, JR, Valente, SAS, Naiff, RD, de Souza, AA, Povoá MM, Lima, JAN, Cedillos, RA. Vertebrates hosts and vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1983;32:1251-9.

Miles MA, Llewellyn MS, Lewis MD, Yeo M, Baleela R, Fitzpatrick S, Gaunt MW, Mauricio IL. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. *Parasitology.* 2009;136:1509-28.

Möller-Krull M, Delsuc F, Churakov G, Marker C, Superina M, Brosius J, Douzery EJP, Schmitz J. Retroposed elements and their flanking regions resolve the evolutionary history of xenarthran mammals (armadillos, anteaters, and sloths). *Mol Biol Evol.* 2007;24:2573-82.

Monteiro WM, Magalhães LK, Filho FSS, Borborema M, Silveira H, Barbosa MG. *Trypanosoma cruzi* TcIII/Z3 genotype as agent of an outbreak of Chagas disease in the Brazilian Western Amazonia. *Trop Med Int Health.* 2010;15:1049-51.

Moreira D, Lopez-Garcia P, Vickerman K. An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004;54:1861-75.

Morocoima A, Carrasco HJ, Boadas J, Chique JD, Herrera L, Urdaneta-Morales S. *Trypanosoma cruzi* III from armadillos (*Dasypus novemcinctus novemcinctus*) from Northeastern Venezuela and its biological behavior in murine model. Risk of emergency of Chagas' disease. *Exp Parasitol.* 2012;132:341-7.

Murphy WJ, Eizirik E, O'Brien SJ, Madsen O, Scally M, Douady CJ, Teeling E, Ryder OA, Stanhope MJ, de Jong WW, Springer MS. Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics. *Science.* 2001a;295:2348-51.

Murphy WJ, Eizirik E, Johnson WE, Ping Zhang YP, Ryder OA, O'Brien SJ. Molecular phylogenetics and the origin of placental mammals. *Nature.* 2001b;409:614-8.

Nicholas KB, Nicholas HBJ, Deerfield DW. GeneDOC: Analysis and visualization of genetic variation. *EMBNEW News.* 1997;4:14.

Njiru ZK, Constantine CC, Guya S, Crowther J, Kiragu JM, Thompson RCA, Dávila A. The use of ITS1 rDNA PCR in detecting pathogenic African trypanosomes. *Parasitol Res.* 2005;95:186-92.

Noyes, H. A., Arana, B.A., Chance, M. L., Maigon, R. The *Leishmania hertigi* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) Complex and the lizard *Leishmania*: their classification and evidence for a neotropical origin of the *Leishmania-Endotrypanum* clade. *J Eukaryot Microbiol.* 1997;44:511-7.

Noyes HA, Stevens JR, Teixeira M, Phelan J, Holz P. A nested PCR for the *ssrRNA* gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma* sp. in wombats and kangaroos in Australia. *Int J Parasitol.* 1999;29:331-9.

Ocaña-Mayorga S, Aguirre-Villacis F, Pinto CM, Vallejo GA, Grijalva MJ. Prevalence, Genetic Characterization, and 18S Small Subunit Ribosomal RNA Diversity of *Trypanosoma rangeli* in Triatomine and Mammal Hosts in Endemic Areas for Chagas Disease in Ecuador. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15:732-42.

Orozco MM, Enriquez GF, Alvarado-Otegui JA, Cardinal MV, Schijman AG, Kitron U, Gürtler R. New sylvatic hosts of *Trypanosoma cruzi* and their reservoir competence in the humid Chaco of Argentina: A Longitudinal Study. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;88:872-82.

Ortiz PA, Maia da Silva F, Cortez AP, Lima L, Campaner M, Pral EMF, Alfieri SC, Teixeira MMG. Genes of Cathepsin L-like proteases in *Trypanosoma rangeli* isolates: markers for diagnosis, genotyping and phylogenetic relationships. *Acta Trop.* 2009;112:249-59.

Paglia AP, da Fonseca GAB, Rylands AB, Herrmann G, Aguiar LMS, Chiarello AG, Leite YLR, Costa LP, Siciliano S, Kierulff MCM, Mendes SL, Tavares VdaC, Mittermeier RA, Patton JL. 2012. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2ª Edição / 2nd Edition. Occasional Papers in

Conservation Biology, No. 6. Conservation International, Arlington, VA. 76pp.

Patterson B, Pascual R. The fossil mammal fauna of South America. In: Keast A, Erk FC, Glass PB (eds): Evolution, mammals and southern continents (State University of New York Press, Albany). 1972;247-309.

Podlipaev S. The more insect trypanosomatids under study-the more diverse Trypanosomatidae appears. Int J Parasitol. 2001;31:648-52.

Póvoa MM, de Souza AA, Naiff RD, Arias JR, Naiff MF, Biancardi CB, Miles MA. Chagas' disease in the Amazon basin IV. Host records of *Trypanosoma cruzi* zymodemes in the states of Amazonas and Rondonia, Brazil. Ann Trop Med Parasitol. 1984;78:479-87.

Ramírez JD, Herrera C, Bogotá Y, Duque MC, Suárez-Rivillas A, Guhl F. Validation of a Poisson-distributed limiting dilution assay (LDA) for a rapid and accurate resolution of multiclonal infections in natural *Trypanosoma cruzi* populations. J Microbiol Methods. 2013;92:220-5.

Ramírez JD, Tapia-Calle G, Muñoz-Cruz G, Poveda C, Rendón LM, Hincapié E, Guhl F. Trypanosome species in Neotropical bats: biological, evolutionary and epidemiological implications. Infect Genet Evol. 2014;22:250-6.

Rocha FL, Roque ALR, de Lima JS, Cheida CC, Lemos FG, de Azevedo FC, Arrais RC, Bilac D, Herrera HM, Mourão G, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* infection in neotropical wild carnivores (Mammalia: Carnivora): at the top of the *T. cruzi* transmission chain. PLoS One. 2013;8(7):e67463.

Rodrigues AC, Campaner M, Takata CS, Dell' Porto A, Milder RV, Takeda GF, Texeira MMG. Brazilian isolates of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: diagnosis and differentiation of isolates from cattle and water buffalo based on biological characteristics and randomly amplified DNA sequences. Vet Parasitol. 2003;116:185-207.

Rodrigues AC, Paiva F, Campaner M, Stevens JR, Noyes HA, Teixeira MGG. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. Parasitology. 2006;132:215-24.

Rodrigues AC, Neves L, Garcia HA, Viola LB, Marcili A, Da Silva FM, Sigauque I, Batista JS, Paiva F, Teixeira MMG. Phylogenetic analysis of *Trypanosoma vivax* supports the separation of South American/West African from East African isolates and a new *T. vivax*-like genotype infecting a nyala antelope from Mozambique. Parasitology. 2008;135(11):1317-28.

Rodrigues AC, Garcia HA, Batista JS, Minervino AH, Goes-Cavalcante G, Maia da Silva F, Ferreira RC, Campaner M, Paiva F, Teixeira MMG. Characterization of spliced leader genes of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: phylogeographical analysis of Brazilian isolates from cattle supports spatial clustering of genotypes and parity with ribosomal markers. Parasitology. 2010;137:111-22.

Rodriguez-Bonfante C, Bonfante-Garrido R, Grimaldi G, Jr., Momen H, Cupolillo E. Genotypically distinct *Leishmania colombiensis* isolates from Venezuela cause both cutaneous and visceral leishmaniasis in humans. Infect Genet Evol. 2003;3:119-24.

Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. 2003;19:1572-4.

Roque ALR, Xavier SCC, da Rocha MG, Duarte ACM, D'Andrea PS, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. Am J Trop Med Hyg. 2008;79:742-9.

Roque ALR, Xavier SCC, Gerhardt M, Silva MFO, Lima VS, D'Andrea PS, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* among wild and domestic mammals in different areas of the Abaetetuba municipality (Pará State, Brazil), an endemic Chagas disease transmission area. Vet Parasitol. 2013;193:71-7.

Roque ALR, Jansen AM. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. Int J Parasitol Parasites Wildl. 2014;3:251-62.

Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A laboratory Manual. 2 ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. 2100 p.

- Santos SS, Cupolillo E, Junqueira A, Coura JR, Jansen A, Sturm NR, Campbell DA, Fernandes O. The genetic diversity of Brazilian *Trypanosoma cruzi* isolates and the phylogenetic positioning of zymodeme 3, based on the internal transcribed spacer of the ribosomal gene. *Ann Trop Med Parasitol*. 2002;96:755-64.
- Sato H, Leo N, Katakai Y, Takano J, Akari, H, Sin-ichiro N, Une, Y. Prevalence and molecular phylogenetic characterization of *Trypanosoma (Megatrypanum) Minasense* in the peripheral blood of small Neotropical Primates after a quarantine period. *J Parasitol*. 2008;94:1128-38.
- Schönian G, Akuffo H, Lewin S, Maasho K, Nylén S, Pratlong F, Eisenberger CL, Schnur LF, Presber W. Genetic variability within the species *Leishmania aethiopica* does not correlate with clinical variations of cutaneous leishmaniasis. *Mol Biochem Parasitol*. 2000;106:239-48.
- Schwarz RS, Bauchan GR, Murphy CA, Ravoet J, de Graaf DC, Evans JD. Characterization of Two Species of Trypanosomatidae from the Honey Bee *Apis mellifera*: *Crithidia mellificae* Langridge and McGhee, and *Lotmaria passim* n. gen., n. sp. *J Eukaryot Microbiol*. 2015; 62: 567-83.
- Shaw JJ. The haemoflagellates of sloths. London School of Hygiene and Tropical Medicine Memoir 13. London, HK Lewis Co Ltd; 1969. 132 p.
- Shaw JJ. The hemoflagellates of sloths, vermilinguas (anteaters), and armadillos. In: The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilingues (ed. Montegomery, G.G.). Washington DC, Smithsonian Institute Press;1985. 279-92 p.
- Shaw JJ. Endotrypanum, a unique intraerythrocytic flagellate of New World tree sloths. An evolutionary link or an evolutionary backwater? *Cien Cult*.1992;44:107-16.
- Silva TMF, Olinda RG, Rodrigues CMF, Camara ACL, Lopes FC, Coelho WAC, Ribeiro MFB, Freitas CIA, Teixeira MMG, Batista JS. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. *Vet Res*. 2013;44:1-9.
- Simpson GG. Splendid isolation: The curious history of South American mammals. New Haven, Yale University Press; 1980. 512 p.
- Simpson AGB, Stevens JR, Lukes J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. *Trends Parasitol*. 2006;22:168-74.
- Sogin ML, Elwood HJ, Gunderson JH. Evolutionary diversity of eukaryotic small-subunit rRNA genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986;83:1383-7.
- Springer MS, Stanhope MJ, Madsen O, de Jong WW. Molecules consolidate the placental mammal tree. *Trends Ecol Evol*. 2004;19:430-8
- Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*. 2006;22:2688-90.
- Stevens JR, Teixeira MMG, Bingle LEH, Gibson WC. The taxonomic position and evolutionary relationships of *Trypanosoma rangeli*. *Int J Parasitol*. 1999a;29:749-57.
- Stevens JR, Noyes HA, Dover GA, Gibson WC. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*. *Parasitology*. 1999b;118:107-16.
- Stevens JR, Noyes HA, Schofield CJ, Gibson W. The molecular evolution of Trypanosomatidae. *Adv Parasit*. 2001;48:1-56.
- Stevens JR. Kinetoplastid phylogenetics, with special reference to the evolution of parasitic trypanosomes. *Parasite*. 2008;15:226-32.
- Stock, C. A ground sloth in Alaska. *Science*. 1942;95:552-3
- Svobodová M, Zídková L, Cepicka I, Oborník M, Lukes J, Votýpka J. *Sergeia podlipaevi* gen. nov., sp. nov. (Trypanosomatidae, Kinetoplastida), a parasite of biting midges (Ceratopogonidae, Diptera). *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007;57:423 -32.
- Swofford DL. PAUP*: Phylogenetic Analysis using parsimony: and other methods version 4.0.Sunderland, MA: Sinauer Associates. 1998

Teixeira MMG, Borghesan TC, Ferreira RC, Santos MA, Takata CSA, Campaner M, Nunes VLB, Milder RV, de Souza W, Camargo EP. Phylogenetic validation of the genera *Angomonas* and *Strigomonas* of trypanosomatids harboring bacterial endosymbionts with the description of new species of trypanosomatids and of proteobacterial symbionts. *Protist*. 2011;162:503-24.

Tenório MS, Oliveira e Sousa L, Alves-Martin MF, Paixão MS, Rodrigues MV, Starke-Buzetti WA, Araújo Junior JP, Lucheis SB. Molecular identification of trypanosomatids in wild animals. *Vet Parasitol*. 2014;203:203-6.

Thoisy B, Michel JC, Vogel I, Vié JC. A survey of hemoparasite infections in free-ranging mammals and reptiles in French Guiana. *J Parasitol*. 2000; 86:1035-40.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids*. 1997; 25:4876-82.

Urrea DA, Carranza JC, Cuba Cuba CA, Gurgel-Gonçalves R, Guhl F, Schofield CJ, Triana O, Vallejo GA. Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis* in Peru, *R. colombiensis* in Colombia and *R. pallescens* in Panama, supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. *Infect Genet Evol*. 2005;5:123-9.

Vallejo GA, Guhl F, Carranza JC, Moreno J, Triana O, Grisard EC. Parity between kinetoplast DNA and mini-exon gene sequences supports either clonal evolution or speciation in *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius colombiensis*, *R. pallescens* and *R. prolixus* in Colombia. *Infect Genet Evol*. 2003;3:39-45.

Vallejo GA, Guhl F, Schaub GA. Triatominae-*Trypanosoma cruzi*/T. *rangeli*: Vector-parasite interactions. *Acta Trop*. 2009;110:137-47.

Valente SAS, da Costa Valente VC, das Neves Pinto AY, de Jesus Barbosa César M, dos Santos MP, Miranda COS, Cuervo P, Fernandes O. Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2009;103:291-7.

Viola LB, Campaner M, Takata CSA, Ferreira RC, Rodrigues AC, Freitas RA, Duarte MR, Grego KF, Barrett TV, Camargo EP, Teixeira MMG. Phylogeny of snake trypanosomes inferred by SSU rDNA sequences, their possible transmission by phlebotomines, and taxonomic appraisal by molecular, cross-infection and morphological analysis. *Parasitology*. 2008;135:595-605.

Viola LB, Attias M, Takata CSA, Campaner M, De Souza W, Camargo EP, Teixeira MMG. Phylogenetic analyses based on small subunit rRNA and glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes and ultrastructural characterization of two snake Trypanosomes: *Trypanosoma serpentis* n. sp. from *Pseudoboa nigra* and *Trypanosoma cascavelli* from *Crotalus durissus terrificus*. *J Eukaryot Microbiol*. 2009a;56:594-602.

Viola LB, Almeida RS, Ferreira RC, Campaner M, Takata CS, Rodrigues AC, Paiva F, Camargo EP, Teixeira MMG. Evolutionary history of trypanosomes from South American caiman (*Caiman yacare*) and African crocodiles inferred by phylogenetic analyses using SSU rRNA and gGAPDH genes. *Parasitology*. 2009b;136:55-65.

Vickerman K. The diversity of the kinetoplastid flagellates. In: Lumdsen, WHR, Evans DA. Editors. *Biology of the kinetoplastida*. New York, Academic Press; 1976.1-34 p.

Votýpka J, Suková E, Kraeva N, Ishemgulova A, Duží I, Lukeš J, Yurchenko V. Diversity of trypanosomatids (Kinetoplastea: Trypanosomatidae) parasitizing fleas (Insecta: Siphonaptera) and description of a new genus *Blechomonas* gen. n. *Protist*. 2013;164(6):763-81.

Votýpka J, Kostygov AY, Kraeva N, Grybchuk-Ieremenko A, Tesarova M, Grybchuk D, Lukes J, Yurchenko V. *Kentomonas* gen. n., a new genus of endosymbiont-containing trypanosomatids of Strigomonadinae subfam. n. *Protist*. 2014;165:825-38.

Zeledón R, Ponce C, de Ponce E. Finding of *Leishmania hertigi* in the Costa Rican porcupine. *J Parasitol*. 1977; 63:924-5.

Ziccardi M, Lourenço-de-Oliveira R. The infection rates of trypanosomes in squirrel monkeys at two sites in the Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92:465-70.

Ziccardi M, Lourenço-de-Oliveira R. Morphological features of trypanosomes from squirrel monkeys from the Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998;93:45-55.

Ziccardi M, Lourenco-de-Oliveira R. Polymorphism in trypomastigotes of *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) *minasense* in the blood of experimentally infected squirrel monkey and marmosets. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94:649-53.

Ziccardi M, Oliveira RL, Alvez MC, da Cruz, MFF. *Trypanosoma saimirii* rodhain, a junior synonym of *Trypanosoma rangeli* tejera. *J Parasitol*. 2005; 91:653-6.

Zingales B, Andrade SG, Briones MRS, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG; Second Satellite Meeting. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:1051-4.

Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MMG Schijman AG, Llewellyn MS, Lages-Silva E, Machado CR, Andrade SG, Sturm NR. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*. 2012;12:240-53.

Wallace FG. The trypanosomatid parasites of insects and arachnids. *Exp Parasitol*. 1966;18:124-93.

Wallace FG. Biology of the Kinetoplastida of Arthropods. In: Lumsden WHR, Evans DA, editors. *Biology of the Kinetoplastida*. New York, Academic Press; 1979. 213-40 p.

Wallace FG, Camargo EP, McGhee RB, Roitman I. Guidelines for the description of new species of lower trypanosomatids. *J Protozool*. 1983;30:308-13.

Walton, BC and Sousa, OE. Trypanosomes of the Lesser Anteater, *Tamandua tetradactyla*, from Panama. *J Parasitol*. 1967;53:956-61.

Westenberger SJ, Barnabé C, Campbell DA, Sturm NR. Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics*. 2005;171:527-43.

Westenberger SJ, Sturm NR, Campbell DA. *Trypanosoma cruzi* 5S rRNA arrays define five groups and indicate the geographic origins of an ancestor of the heterozygous hybrids. *Int J Parasitol*. 2006;36:337-46.

Wilson DE, Reeder DM. *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. 3rd ed. Johns Hopkins University Press; 2005. 142 p.

Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sánchez H, Adamson S, Miles GAJ, López E, González N, Patterson JS, Gaunt MW, de Arias AR, Miles MA. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *Int J Parasitol*. 2005;35:225-33.

Yurchenko VY, Lukes J, Jirku M, Zeledón R, Maslov DA. *Leptomonas costaricensis* sp. n. (Kinetoplastea: Trypanosomatidae), a member of the novel phylogenetic group of insect trypanosomatids closely related to the genus *Leishmania*. *Parasitology*. 2006;133:537-46.