

**Victor Gabriel Farias Gonçalves**

**PREVALÊNCIA DE *Hepatozoon* sp., MICROFILÁRIA E *Trypanosoma* sp. EM AMOSTRA DE ANUROS DE SANTANA DO ARAGUAIA, NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL**

**JARU**

**2024**

**Victor Gabriel Farias Gonçalves**

**PREVALÊNCIA DE *Hepatozoon* sp., MICROFILÁRIA E *Trypanosoma* sp. EM  
AMOSTRA DE ANUROS DE SANTANA DO ARAGUAIA, NO ESTADO DO PARÁ,  
BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia – *Campus* Jaru para obtenção do título de Bacharel (a) em Medicina Veterinária.

Orientador: Dr. Bruno Rafael Fermino

**JARU**

**2024**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Gerador de Ficha Catalográfica do IFRO,  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Gonçalves, Victor Gabriel Farias.  
Prevalência de Hepatozoon sp., Microfilária e Trypanosoma sp. em  
amostra de Anuros de Santana do Araguaia, estado do Pará, Brasil. / Victor  
Gabriel Farias Gonçalves, Jaru-RO, 2024.  
36 f.

Orientador(a): Prof. Dr. Bruno Rafael Fermino.  
Coorientador(a): Prof. Dra. Rute Witter Franco.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária)  
– Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO,  
Jaru-RO, 2024.

1. Anfíbios. 2. Microscopia de Luz. 3. Hemoparasitos. I. Fermino, Bruno  
Rafael (orient.). II. Franco, Rute Witter (coorient.). III. Instituto Federal de  
Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO. IV. Título.

**Bibliotecário(a) Responsável:** Sarah Freire Bezerra, CRB-11/1097 (Campus Jaru)

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus por ter me dado forças nos momentos difíceis, por me proteger nessa jornada e por me conceder a oportunidade de chegar até aqui.

Agradeço a minha família, minha base e alicerce, que me apoiou, incentivou a nunca desistir, sendo meu refúgio em momentos de luta.

A minha mãe Edna, por ter cuidado incansavelmente de mim e das minhas irmãs, por ser pai e mãe, por todos os ensinamentos, por ter me apoiado e incentivado a continuar estudando, por me dar suporte para passar por esse processo, suas palavras de apoio e conforto em momentos ruins me fizeram vencer os desafios da graduação.

As minhas irmãs Karla e Karina por todos os conselhos, companheirismo e por estarem comigo durante todo o processo.

Aos meus sobrinhos, Helena, Gael e Diogo, minha motivação diária.

Aos meus tios, primos e amigos, por fazerem parte dessa jornada.

Aos meus amigos da graduação e companheiros de profissão por tornarem meus dias mais suportáveis durante todos esses anos, gratidão “amiguinhos”: Vanubia, Leonardo, Angélica, Clebson, Vanessa, André, Hingrid, Ronaldo, Helder e Denilson, vocês se tornaram meus irmãos.

A professora Rute que esteve conosco desde o início e sempre fez o possível para nos ajudar, além de coordenadora se tornou uma mãe.

Ao professor Bruno por ter aceitado ser meu orientador mesmo eu não entendendo nada de animais selvagens, pela paciência, pelos ensinamentos, ideias, conversas.

Aos professores e técnicos, Luiz Donizete, Camila, Marilene, Juliana e Regina, vocês foram além, são incríveis.

A todos os professores que passaram ao longo da graduação.

## RESUMO

Mundialmente são conhecidas mais de 8.400 espécies de anfíbios, sendo o Brasil o país com a maior diversidade desse grupo. Devido habitarem em diferentes ambientes, tornam-se mais vulneráveis a vetores hematófagos, sendo acometidos por hemoparasitos intra-eritrocitários e extracelulares. Na literatura há muitas incertezas sobre a identificação destes parasitos e no Brasil tais estudos são escassos. Com isso, o objetivo desse trabalho é descrever a prevalência dos principais hemoparasitos que infectam os anfíbios, através de avaliação morfológica de esfregaços sanguíneos das amostras coletadas na Fazenda Fartura localizada no município de Santana do Araguaia no sudeste do estado do Pará. No total foram coletadas amostras de 106 anfíbios da ordem anura. Destas, 12 (11,32%) foram positivas para hemoparasitos, sendo observado uma maior prevalência de tripanossomas em relação a outros hemoparasitos. Dentre as espécies de anuros avaliadas nas amostras de *Leptodactylus macrosternum* foram identificadas duas coinfeções, sendo uma de *Trypanosoma* sp. e *Hepatozoon* sp. e a outra de *Trypanosoma* sp. e microfilária. Além disso, foi identificado pela primeira vez tripanossomas em *Leptodactylus brevipes* descrito no mundo, em *Physalaemus centralis* e *Physalaemus cuvieri* descritos no Brasil. Tornando-se a maior expedição realizada na Fazenda Fartura com o intuito de realizar levantamento de hemoparasitos em anuros, esses resultados revelam uma fração das infecções por hemoparasitos, uma vez que, foram utilizados apenas microscopia de luz para diagnóstico. Análises por metodologias moleculares, como PCR e sequenciamento de DNA, vêm se mostrando mais sensíveis e específicas como ferramentas de diagnóstico para esses parasitos.

**Palavras-chave:** Anfíbios, Microscopia de Luz, Hemoparasitos.

## **ABSTRACT**

More than 8,400 species of amphibians are known worldwide, and Brazil is the country with the greatest diversity of this group. Because they live in different environments, they are more vulnerable to hematophagous vectors and are affected by intra-erythrocytic and extracellular hemoparasites. In the literature, there are many uncertainties about the identification of these parasites and in Brazil such studies are scarce. With this in mind, the aim of this study was to describe the prevalence of the main hemoparasites that infect amphibians, through morphological evaluation of blood smears from samples collected at Fazenda Fartura, located in the municipality of Santana do Araguaia in the southeast of the state of Pará. In total, samples were collected from 106 amphibians of the anura order. Of these, 12 (11.32%) were positive for hemoparasites, with a higher prevalence of trypanosomes compared to other hemoparasites. Among the anuran species evaluated in the samples of *Leptodactylus macrosternum*, two co-infections were identified, one of *Trypanosoma* sp. and *Hepatozoon* sp. and the other of *Trypanosoma* sp. and *microfilaria*. In addition, trypanosomes were identified for the first time in *Leptodactylus brevipes* described in the world, in *Physalaemus centralis* and *Physalaemus cuvieri* described in Brazil. This is the largest expedition carried out at Fazenda Fartura to survey hemoparasites in anurans. These results reveal a fraction of hemoparasite infections, since only light microscopy was used for diagnosis. Molecular methodologies such as PCR and DNA sequencing have proved to be more sensitive and specific diagnostic tools for these parasites.

**Keywords:** Amphibians, Light Microscopy, Hemoparasites.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>Gênero <i>Hepatozoon</i> .....</b>	<b>9</b>
<b>Microfilária.....</b>	<b>10</b>
<b>Gênero <i>Trypanosoma</i> .....</b>	<b>11</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>Local e métodos da coleta.....</b>	<b>14</b>
<b>Captura de vertebrados.....</b>	<b>15</b>
<b>Eutanásia dos animais .....</b>	<b>16</b>
<b>Local das análises das amostras .....</b>	<b>16</b>
<b>Análises microscópica das amostras .....</b>	<b>16</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>27</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>32</b>

## INTRODUÇÃO

O termo herpetofauna é utilizado para classificar anfíbios (ordens Anura, Caudata, Gymnophiona) e répteis (ordens Squamata, Testudines e Crocodylia) identificados numa determinada localização (LIMA *et al.*, 2016). São conhecidas mundialmente mais de 8.400 espécies de anfíbios, sendo o Brasil o país com a maior diversidade desse grupo com 1.188 espécies, a maioria é composta por anuros (sapos, rãs e pererecas) com 1.144 (duas exóticas e invasoras), seguidos por 39 Gymnophiona e 5 Caudata (SEGALLA *et al.*, 2021). Dentre as espécies descritas no Brasil, 329 são identificadas na região amazônica, representando uma riqueza em relação aos outros biomas brasileiros, com cerca de 31% dos anfíbios descritos no país (FRANÇA *et al.*, 2017).

Originado do grego o termo *amphibio* “ambas vidas”, refere-se às duas fases de vida desses animais, a aquática e terrestre, onde a primeira ao nascerem vivem na água, tendo sua respiração por meio das brânquias e a partir da sua evolução vão para a terra, onde sua respiração passa ser através do pulmão e pele (LIMA, 2015).

Este grupo de animais desenvolvem papéis fundamentais nas teias alimentares, contribuindo para o controle de invertebrados em regiões naturais e ambientes urbanizados (COÊLHO *et al.*, 2021b). Além disso, são utilizados para caracterizar a qualidade do ambiente, em virtude de suas necessidades comportamentais e fisiológicas, especialmente durante as fases reprodutivas, possuindo maior dependência de lugares úmidos e ambientes aquáticos (PINHO *et al.*, 2021).

Devido os anuros habitarem em diferentes ambientes aquáticos e terrestres, esses são mais vulneráveis a vetores hematófagos e, comumente, são acometidos por hemoparasitos intra-eritrocitários e extracelulares (PINHO *et al.*, 2021). Existe uma grande diversidade de protozoários sanguíneos que infectam os anfíbios. Os protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa são os parasitos mais comuns isolados, principalmente os do grupo das hemogregarinas (FERREIRA *et al.*, 2020). Outros parasitos normalmente identificados nesse grupo são os do gênero *Trypanosoma*, podendo ser observados em coinfeção ou infecção única (LEAL *et al.*, 2009).

Ainda não há um consenso relacionado aos efeitos deletérios da relação parasito-hospedeiro entre hemoparasitos e anuros. Grande parte dos estudos sugerem relação não patogênica, entretanto, altas taxas de infecção podem ser nocivas aos hospedeiros, em especial

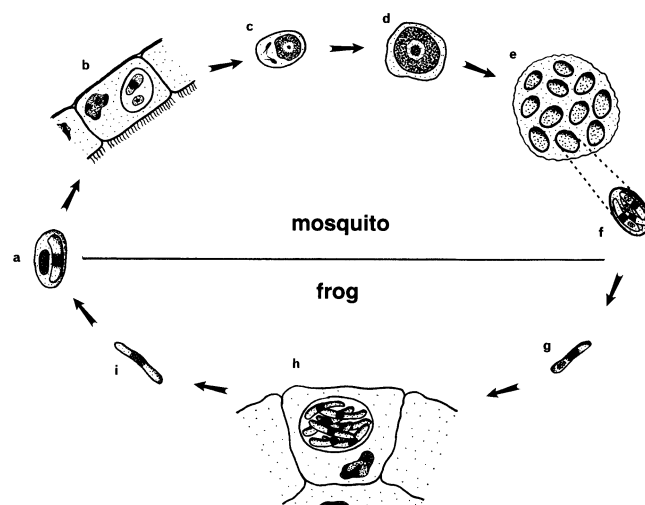


nos estágios iniciais de sua vida, onde em condições extremas é possível observar doenças com grande potencial a dar origem a extinção regional (COÊLHO *et al.*, 2021b).

### Gênero *Hepatozoon*

Os *Hepatozoon* sp. são protozoários do filo apicomplexa, sendo o único gênero pertencente à família Hepatozoidae. Esses parasitam uma enorme diversidade de hospedeiros, observados em aves, répteis, mamíferos e anfíbios (PERLES *et al.*, 2019). O ciclo de vida dessas espécies (Figura 1), inicia-se com ingestão de microgamontes e macrogamontes de *Hepatozoon* sp., que ocorre durante o repasto sanguíneo em hospedeiro vertebrado infectado. Em seguida, no vetor os gamontes migram para a parede intestinal, onde ocorre a gametogênese. Um microgamonte formará microgametas que, por fusão, fecundam os macrogametas, oriundos dos macrogamontes, desenvolvendo um zigoto. O zigoto evolui e permeia a parede intestinal, permanecendo na hemocele do vetor. Este dará origem a um oocisto com múltiplos esporocisto contendo esporozoítos. Após a ingestão do artrópode, os esporozoítos são liberados e inicia-se seu desenvolvimento no interior do hospedeiro vertebrado. Esses irão migrar para os hepatócitos, formando um cistozoíto. Em sequência, dois tipos de merontes são formados: um contendo macromerozoítos que, transportados através do sangue invadem novos tecidos e outro, contendo micromerozoítos que irão penetrar os eritrócitos, passar pelo processo de gamontogonia e dão origem aos gamontes circulantes, forma infectante de vetores hematófagos (LANDAU *et al.*, 1972; SMITH, 1996; ÚNGARI, 2023).

**Figura 1** – Ciclo de transmissão e desenvolvimento dos *Hepatozoon* sp.



Fonte: Smith (1996)

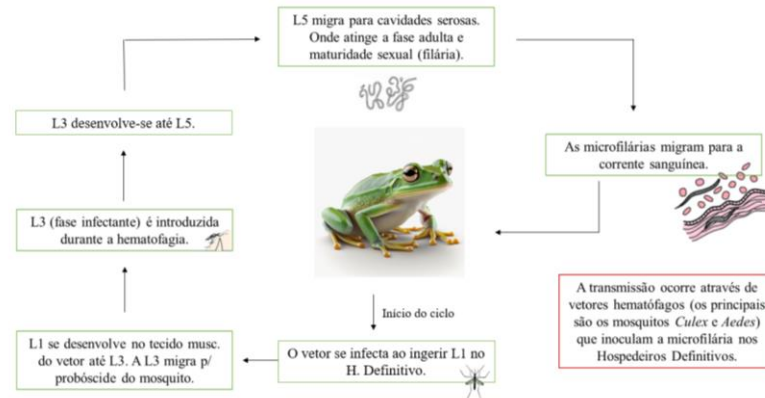
Inúmeras espécies de *Hepatozoon* já foram observadas em diferentes continentes, sendo descritos 45 espécies infectando anuros mundialmente. No Brasil apenas uma única espécie foi identificada parasitando hospedeiro anfíbio, baseado em dados morfológicos foram relatados *Hepatozoon leptodactyli* infectando espécies de *Leptodactylus* sp. Embora haja muitos estudos de hemogregarinas parasitando anuros brasileiros, nenhum foi descrito formalmente além de *H. leptodactyli* (ÚNGARI *et al.*, 2021).

## **Microfilária**

As microfilárias são nematoides sanguíneos, que podem ser observadas na circulação sanguínea, no tecido conjuntivo e em cavidades serosas. A microfilária é uma fase inicial do ciclo de vida de nematoides que pertencem à família Onchocercidae. Morfologicamente descritos, esses parasitos compreendem uma faringe cilíndrica com uma porção muscular anterior e uma porção glandular posterior, os machos possuem asas caudais bem desenvolvidas e caudas em espiral (ANDERSON, 2000).

Esses parasitos necessitam de vetores artrópodes hematófagos para desenvolver seu ciclo de vida. As formas adultas dos nematódeos filarídeos situam-se na cavidade abdominal e torácica do hospedeiro. Após a cópula, as microfilárias L1 migram para os capilares sanguíneos periféricos do hospedeiro, aguardando até o momento de serem ingeridas durante a hematofagia. Após a infecção dos hospedeiros intermediários, as larvas L1 dentro do tubo digestório do artrópode migram para a cavidade hemocélica e posteriormente à musculatura torácica, maturam para L2 e L3. As larvas L3 migram para a probóscide do vetor. Quando ocorre uma nova hematofagia a larva L3 é introduzida no hospedeiro, onde se desenvolve para os estágios L4 e, posteriormente L5 (Figura 2) (VOTYPKA *et al.*, 2020). Os principais vetores desses nematoides são os mosquitos *Culex* e *Aedes*, que podem ser mais abundantes em habitats desmatados, onde os hospedeiros anuros podem ter altas densidades de microfilárias (MCKENZIE; STARKS, 2008).

**Figura 2** – Ciclo de transmissão da microfilária.



**Fonte:** Adaptado de Gouveia (2024).

### Gênero *Trypanosoma*

Os tripanossomas pertencem a família de flagelados Trypanosomatidae, formando um conjunto monofilético de parasitos obrigatórios de vertebrados. Esses inicialmente foram classificados de acordo com sua morfologia, ciclo de vida e origem do hospedeiro, sendo originariamente distribuídos em quatro gêneros: *Blastocrithidia*, *Crithidia*, *Leptomonas* e *Herpetomonas*, posteriormente, vários autores criaram novos gêneros para os trypanosomatídeos (BORGHESAN *et al.*, 2013). Na atualidade, os trypanosomatídeos são organizados em 22 gêneros distintos, baseados em tipos de hospedeiros e formas de desenvolvimento (VOTÝPKA *et al.*, 2013; ÚNGARI, 2023).

Esses organismos são classificados como eucariontes, protistas, unicelulares e, pertencem ao sub-reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Kinetoplastida, subordem Trypanomatina, família Trypanosomatidae e gênero *Trypanosoma* (SIQUEIRA, 2005; CAVALIER-SMITH, 2016).

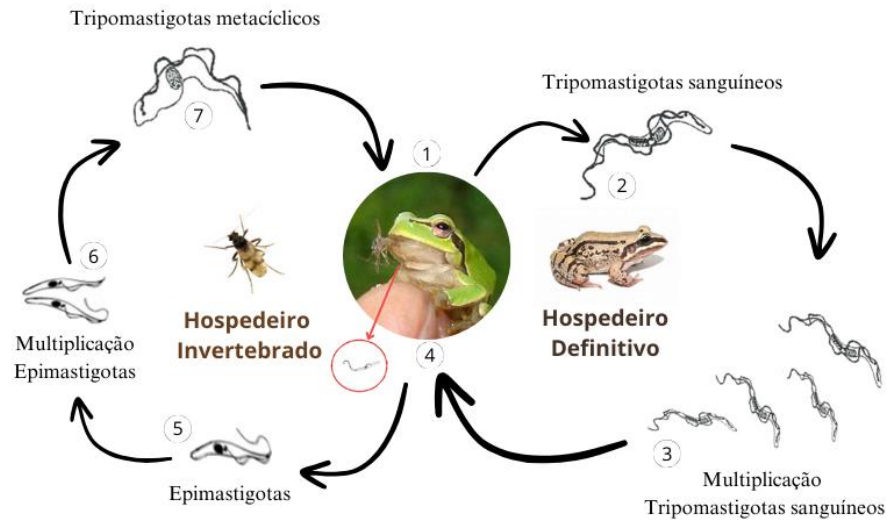
Os parasitos pertencentes ao gênero *Trypanosoma* foram inicialmente utilizados para classificar o *Trypanosoma sanguinis* observado em *Rana esculenta*. A partir disso, várias espécies de tripanossomas vêm sendo descritas em vertebrados, abrangendo mamíferos (MASSARO *et al.*, 2008), répteis, aves peixes e anfíbios (SILVA *et al.*, 2002; SIMPSON *et al.*, 2006; VIOLA *et al.*, 2008).

Nos vertebrados mamíferos é possível observar duas formas de infecção e desenvolvimento do ciclo de vida dos *Trypanosoma* sp., que são caracterizados em secções Salivaria e Stercoraria, descritas de acordo com a forma de infecção no hospedeiro e o lugar de desenvolvimento nos artrópodes (HOARE, 1972). A Seção Salivaria engloba as espécies que

se multiplicam no sistema digestório e glândulas salivares de um inseto vetor, sendo transmitidas por inoculação de fases tripomastigotas metacíclicas, através da picada do vetor. Fazem parte dessa secção os subgêneros *Duttonella*, *Trypanozoon*, *Pycnomonas*, *Nannomonas* (STEVENS, 2008). Já na secção Stercoraria, os trypanosomas se desenvolvem exclusivamente no trato digestório do artrópode vetor, sendo a infecção condicionada ao contato do hospedeiro vertebrado com tripomastigotas metacíclicas eliminadas das fezes contaminadas dos vetores. Esta secção compreende os subgêneros *Schizotrypanum*, *Herpetosoma* e *Megatrypanum* (VALLEJO *et al.*, 2009).

Em anuros não há muitos detalhes na literatura sobre o ciclo biológico, sendo o melhor evidenciado o desenvolvimento do *Trypanosoma fallisi*. Esses infectam o hospedeiro definitivo durante a hematofagia, liberando as fases tripomastigotas metacíclicas. Na corrente sanguínea do vertebrado ocorre a diferenciação em tripomastigotas sanguíneas, em seguida, ocorre a multiplicação dos tripomastigotas sanguíneas no sistema circulatório. Novamente, durante o repasto sanguíneo o inseto vetor ingere tripomastigotas sanguíneas. A partir disso, no organismo do vetor os tripomastigotas irão se diferenciar em formas epimastigotas, após isso, os estágios epimastigotas multiplicam-se na luz do sistema digestivo artrópode, passando para a hemolinfa do invertebrado e indo até a glândula salivar. Na glândula salivar acontece a diferenciação das formas epimastigota para tripomastigotas metacíclicas, fase infectante para os anuros (Figura 3) (FERREIRA, 2007b).

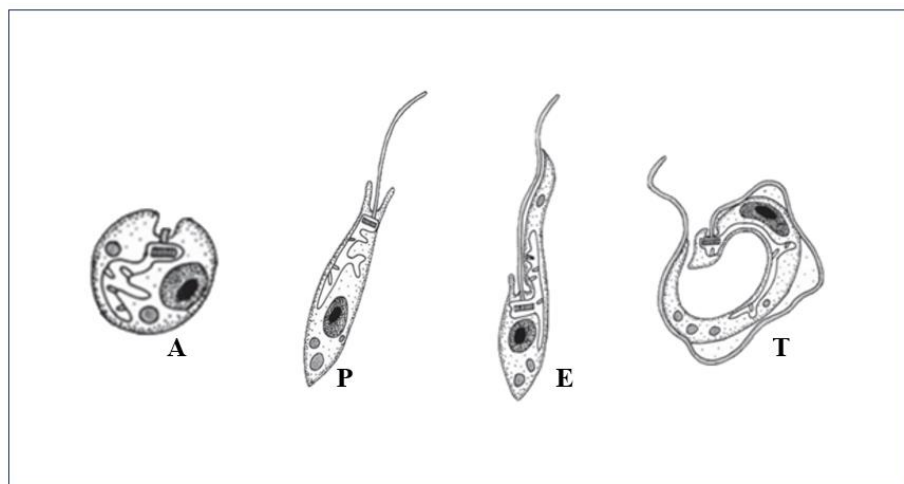
**Figura 3** – Ciclo biológico do Gênero *Trypanosoma*.



**Fonte:** Adaptado de Santos (2024).

Os tripanossomas também são observados em diferentes fases de acordo com seu ciclo de desenvolvimento, essas são descritas de acordo com a posição do cinetoplasto em relação ao núcleo e da presença de membrana ondulante ou flagelo livre. Os estágios observados são: amastigota, epimastigota, tripomastigota e, eventualmente, promastigota (Figura 4). As fases tripomastigotas são identificados em hospedeiros vertebrados como tripomastigotas sanguíneos e em invertebrado como tripomastigotas metacíclicos. Já as outras formas são espécie dependente, ou seja, ocorre nos vertebrados como amastigotas intracelulares e nos invertebrados promastigotas e epimastigotas (VICKERMAN, 1994).

**Figura 4** – Representação das formas morfológicas dos tripanossomatídeos do gênero *Trypanosoma*.



**Legenda:** A, amastigota; P, promastigota; E, epimastigota; T, tripomastigota. **Fonte:** Adaptado de Fermino (2017).

Filogeneticamente os tripanossomas, dividem-se em dois clados, um terrestre e um aquático. No clado terrestre observa-se todos os tripanossomas de mamíferos, aves e algumas espécies que parasitam lagartos e serpentes (*T. cascavelli*, *T. serpentis*, *T. gecko*, *T. varani*) (VIOLA *et al.*, 2009). Já no clado aquático, são agrupadas as espécies que infectam algumas tartarugas, crocodilianos (*T. terena*, *T. grayi*, *T. ralphi*), peixes (*T. marv*, *T. granulatum*, *T. binneyi*, *T. boissoni*, *T. clar*) e anuros (*T. rotatotium*, *T. mega* e *T. fallisi*) (FERREIRA *et al.*, 2007b; DVORAKOVA *et al.*, 2015).

Os tripanossomas de anfíbios, répteis, aves e peixes ainda não são claramente descritos, não existindo padrões taxonômicos definidos e validados pela comunidade científica, diferente de *Trypanosoma* spp. de mamíferos que possuem classificações bem delimitadas em secções, subgêneros, espécies e subespécies. Algumas análises recentes evidenciaram que, para a maioria dos tripanossomas não é possível formar padrões taxonômicos utilizando as características morfológicas, pois essas características variam amplamente dentro de uma determinada população (ZÍDKOVÁ *et al.*, 2010). Desta forma, a taxonomia da família Trypanosomatidae vem sofrendo alterações utilizando dados moleculares (MASLOV *et al.*, 2013).

Levando em consideração a falta de informação sobre os anfíbios e principalmente sobre seus parasitos, o presente artigo tem como objetivo descrever a prevalência dos principais hemoparasitos que infectam os anfíbios, através de avaliação morfológica, utilizando microscopia de luz, das amostras coletadas na fazenda Fartura localizada no município de Santana do Araguaia no sudeste do Estado do Pará.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Local e métodos da coleta

A Fazenda Fartura é localizada na região sul do município de Santana do Araguaia, Pará. Abrangendo uma área de 53.078 ha, sendo 35.108 ha de remanescente florestal e 17.970 ha são dedicados à atividade agropecuária com plantio de soja e pastagem. A propriedade é dominada pelo bioma Amazônia e Cerrado. A Fazenda está introduzida em uma das maiores bacias com território inteiramente inserido no país, Tocantins-Araguaia, compreendendo a abundante biodiversidade da região (PELICICE *et al.*, 2021).



Os animais foram recolhidos por meio de três formas: busca ativa diurna e noturna, armadilhas de interceptação e queda (AIQ), e armadilhas de cola. Como o território da pesquisa é localizado entre a Amazônia e o Cerrado, em uma região ecotonal, o desenho amostral para as três formas utilizadas intencionou expandir os diferentes ambientes influenciados por esses dois biomas.

**Figura 5** - Forma de coleta dos animais.



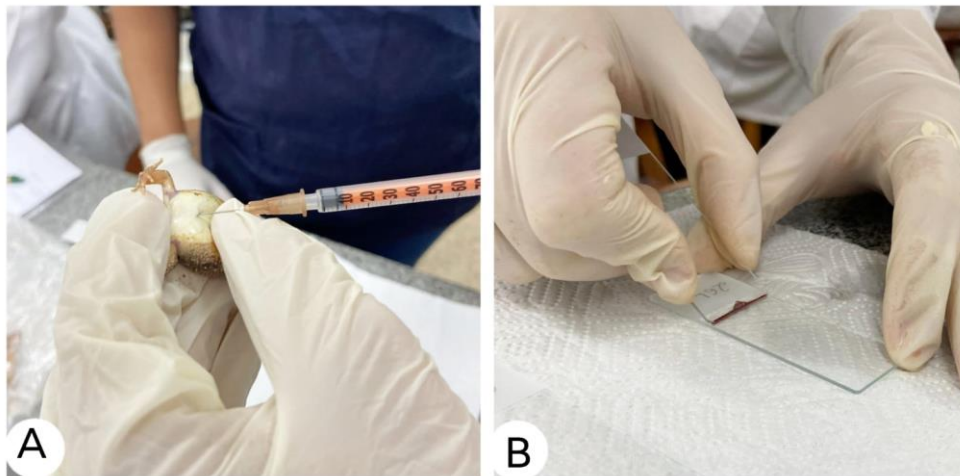
**Legenda:** A, armadilhas de interceptação e queda (AIQ); B, animal capturado pelo método AIQ. **Fonte:** Fermino (2024).

### **Captura de anuros**

Foram coletados 106 exemplares de anuros de diferentes espécies e ambientes descritos na Tabela 1. Todas as amostras utilizadas no desenvolvimento da pesquisa foram cedidas pelo Laboratório de Herpetologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as recomendações do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Número de Permissão: 10126-3). O manuseio de animais foi realizado em rigorosa conformidade com a boa prática animal. Até um mililitro de sangue, com assepsia prévia com álcool iodado, foi coletado de cada animal, por via intracardíaca (Figura 6A), usando citrato de sódio como anticoagulante, sendo divididos para esfregação sanguínea (Figura 6B) e armazenamento em etanol 99% (v/v). Os animais coletados foram armazenados na coleção do professor Miguel Trefaut Rodrigues, chefe do Laboratório de Herpetologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. A identificação dos animais por morfologia e/ou por sequenciamento genético, foi feita pela equipe do professor Miguel.



**Figura 6** - Colheita de sangue por via intracardíaca (A) e realização de esfregaço sanguíneo (B).



**Fonte:** arquivo pessoal (2024).

### **Eutanásia dos animais**

A eutanásia dos animais foi determinada por Cubas *et al.* (2014), sendo utilizado a dose letal de lidocaína.

### **Local das análises das amostras**

As amostras coletadas foram analisadas no Laboratório de Biologia do IFRO - *Campus* Jaru.

### **Análises microscópica das amostras**

As colorações hematológicas foram feitas manualmente com o kit panótico rápido. O procedimento iniciou-se com a imersão das lâminas na solução nº 1 (triarilmetano a 0,1%), por 30-40 s, em seguida, as extensões foram imersas na solução nº 2 (xanteno a 0,1%), e nº 3 (tiazina a 0,1%), repetindo-se o mesmo procedimento. As lâminas foram enxaguadas em água corrente e secadas ao ar livre. Posteriormente, foram analisadas em microscopia de luz sob o aumento de 400x e 1000x com auxílio de óleo de imersão. A positividade parasitária foi confirmada taxonomicamente através das semelhanças morfológicas descritas nos guias de Telford (2009) e Lainson (2012). As imagens foram registradas e mensuradas utilizando o software (S-EYE) de câmera acoplado ao microscópio de luz.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**



Dentre as 106 amostras analisadas por microscopia de luz, foram identificados 12 (11,32%) anuros positivos, sendo duas (16,33%) pertencentes à família Bufonidae e 10 (83,33%) pertencentes à família Leptodactylidae. Das 12 amostras positivas, todas estavam infectadas por *Trypanosoma* sp. Além disso, duas amostras pertencentes à família Leptodactylidae apresentaram coinfeção, uma por *Trypanosoma* sp. e *Hepatozoon* sp. e a outra por *Trypanosoma* sp. e microfilária. Os resultados e a prevalência da parasitemia em cada espécie, obtidos nas análises microscópicas estão detalhados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Lista de espécies de anuros registrados no decorrer do levantamento na Fazenda Fartura.

TAXON	AMOSTRA	ORDEM: ANURA		DIAGNÓSTICO	P (%)	CI
		AMBIENTE				
		ABERTO	FLORESTAL			
<b>Família: <i>Allophrynidae</i></b>						
<i>Allophryne ruthveni</i>	1		X	-	0	-
<b>Família: <i>Aromobatidae</i></b>						
<i>Allobates carajas</i>	1		X	-	0	-
<b>Família: <i>Bufonidae</i></b>						
<i>Rhaebo guttatus</i>	4	X	X	<i>Trypanosoma</i> sp.	25%	-
<i>Rhinella marina</i>	2		X	<i>Trypanosoma</i> sp.	50%	-
<i>Rhinella mirandaribeiroi</i>	4	X		-	0	-
<b>Família: <i>Ceratophryidae</i></b>						
<i>Ceratophrys cornuta</i>	9		X	-	0	-
<b>Família: <i>Leptodactylidae</i></b>						
<i>Adenomera juikitam</i>	1	X		-	0	-
<i>Adenomera kayapo</i>	5		X	-	0	-
<i>Adenomera saci</i>	4	X		-	0	-
<i>Leptodactylus brevipes</i>	2		X	<i>Trypanosoma</i> sp.	100%	-
<i>Leptodactylus fuscus</i>	1	X		-	0	-
				<i>Hepatozoon</i> sp.	20%	
<i>Leptodactylus macrosternum</i>	5	X		Microfilária	20%	2
				<i>Trypanosoma</i> sp.	80%	
<i>Leptodactylus mystaceus</i>	7		X	-	0	-

<i>Leptodactylus natalensis</i>	1		X	-	0	-
<i>Leptodactylus pustulatus</i>	2		X	<i>Trypanosoma</i> sp.	50%	-
<i>Leptodactylus vastus</i>	2		X	-	0	-
<i>Physalaemus centralis</i>	2	X	X	<i>Trypanosoma</i> sp.	50%	
<i>Physalaemus cuvieri</i>	20		X	<i>Trypanosoma</i> sp.	10%	-
<i>Physalaemus</i> sp. nov.	10	X		-	0	-
<b>Família: Microhylidae</b>						
<i>Elachistocleis magna</i>	12	X	X	-	0	-
<b>Família: Phyllomedusidae</b>						
<i>Pithecopus araguaianus</i>	6		X	-	0	-
<b>Família: Strabomantidae</b>						
<i>Pristimantis</i> cf. giorgii	5		X	-	0	-
<b>Total</b>	<b>106</b>				<b>11,32%</b>	<b>2</b>

**Legenda:** P (%), prevalência em porcentagem; CI, coinfeção.

Dentre as amostras avaliadas em nosso trabalho, 94 (88,68%) espécies amostradas não estavam hemoparasitadas, entre as espécies de anuros negativas encontram-se, *Allophryne ruthveni*, *Allobates carajas*, *Rhinella mirandaribeiroi*, *Ceratophrys cornuta*, *Adenomera juikitam*, *Adenomera kayapo*, *Adenomera saci*, *Leptodactylus fuscus*, *Leptodactylus mystaceus*, *Leptodactylus natalenses*, *Leptodactylus vastus*, *Physalaemus* sp. nov., *Elachistocleis magna*, *Pithecopus araguaianus* e *Pristimantis* cf. giorgii.

Esses resultados, provavelmente, revela uma fração das infecções por hemoparasitos, uma vez que, foram utilizados apenas microscopia de luz para diagnóstico. Análises por metodologias moleculares, como PCR e sequenciamento de DNA, vêm se mostrando mais sensíveis e específicas como ferramentas de diagnóstico para esses parasitos (RODULFO *et al.*, 2007). Mesmos assim, neste trabalho, temos dados únicos e de grande importância para a parasitologia de animais selvagens.

Entre os tripanossomas observados, foi identificado grande variação polimórfica, apresentando desde formas alongadas, ovais e finas. Além disso, foram observados presença de estrias na superfície do corpo de alguns parasitos. O núcleo, apresentava-se na forma arredondada a alongada. O cinetoplasto, quando visível, situava-se posteriormente ao núcleo. A membrana ondulante, quando presente, estendia-se por todo o corpo do parasito ou somente até a metade. O flagelo livre foi observado em dimensões de curto a longo. Essas variações na

morfologia foram confirmadas através dos parâmetros morfométricos desses parasitos descritos na Tabela 2.

Estudos realizados anteriormente confirmam esse polimorfismo observado neste trabalho. Desser (2001) descreve nove espécies de tripanossomas com morfologias distintas identificados no gênero *Rana*. Devido essa grande variação morfológica, a literatura não indica identificar as espécies de tripanossomas apenas com esses dados, com o intuito de reduzir os erros na descrição de *Trypanosomas* sp. indica-se aliar aspectos morfológicos e moleculares (Werner, 1993; Leal *et al.*, 2009). Todos os hemoparasitos observados foram mensurados e suas medidas estão descritas na Tabela 2.

*Hepatozoon* spp. foram quantificados de acordo com os níveis de parasitemia, onde infecção leve ocorria quando se observava apenas um parasito em até três campos ópticos, a infecção média é descrita quando observava-se valores entre o máximo de infecção leve e até três parasitos por campos ópticos e infecção grave quando ultrapassava os valores máximo de infecção média (BIASI *et al.*, 1989; O'DWYER *et al.*, 2003).

**Tabela 2** – Mensurações dos hemoparasitos identificados em diferentes anuros.

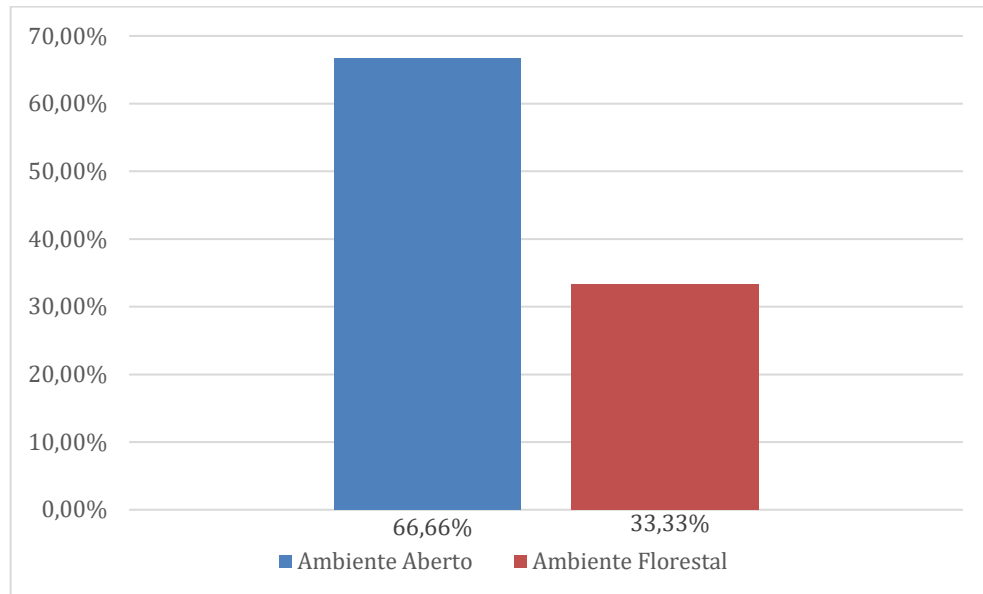
Código de Campo	C. µm	C.C. µm	L. µm	C.N. µm	L.N. µm	F.L. µm	C.A.N. µm	C.P.N. µm	C.M.O. µm	L.M.O. µm
BF – 40	78,31	61,74	-	3,54	2,03	16,57	32,00	26,70	-	-
BF - 203	69,31	55,1	-	3,96	1,84	14,21	27,22	23,91	-	-
BF - 238	27,48	-	17,60	3,00	2,58	-	-	-	-	-
BF - 227	60,56	58,61	-	2,61	2,04	3,36	21,09	27,28	-	-
BF - 227	16,78	-	2,42	6,02	2,42	-	-	-	-	-
BF - 227	19,87	-	0,42	-	-	-	-	-	-	-
BF - 21	34,10	-	18,58	3,61	3,51	-	-	-	19,61	9,27
BF - 118	58,16	50,31	-	2,23	1,85	11,02	26,68	24,27	-	-
BF - 111	17,70	-	13,52	0,57	0,50	-	-	-	-	-

**Legenda:** C.T. µm, comprimento total; C.C. µm, comprimento do corpo L. µm, largura. C.N. µm, comprimento do núcleo. L.N. µm, largura do núcleo; F.L. µm, flagelo livre; C.A.N. µm, comprimento anterior ao núcleo; C.P.N. µm, comprimento posterior ao núcleo; C.M.O µm, comprimento da membrana ondulante; L.M.O. µm, largura da membrana ondulante. Resultados obtidos através da média das mensurações de hemoparasitos observados na mesma amostra.

Ao observarmos o ponto de coleta, é possível avaliar a prevalência de anuros parasitados em relação ao ambiente amostrado (Gráfico 1) onde, 66,66% das espécies hemoparasitados foram amostrados em ambiente aberto (Cerrado) e 33,33% em ambiente florestal (Amazônia). Em contrapartida Leal *et al.*, (2009), descreveram uma maior prevalência de *L. podicipinus* hemoparasitados em ambiente florestal. Acredita-se que os anuros estavam sendo mais parasitados por sanguessugas do que por insetos, devido ter sido amostradas em ambiente

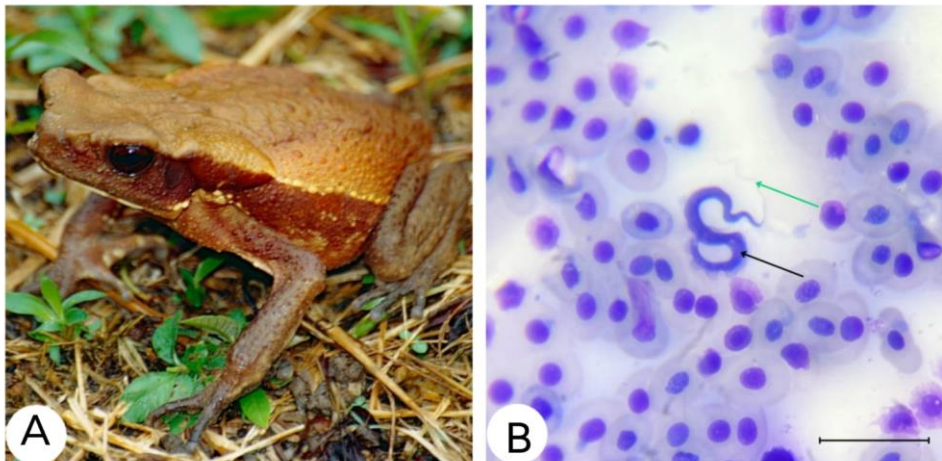
aquático, local mais propício a presença de sanguessugas em relação aos outros insetos. Outra hipótese é que esse vetor, a sanguessuga, ao se fixar no hospedeiro, desencadearia a liberação dos tripanossomas dos órgãos para a circulação periférica, realizado pelo estímulo da alimentação, aumentando com isso a parasitemia.

**Gráfico 1** – Prevalência em porcentagem, de anuros hemoparasitados por ambiente amostrado.



Na família Bufonidae, 25% (1/4) da espécie *Rhaebo guttatus* (Figura 7A) foram identificados parasitados por *Trypanosoma* sp. (Figura 7B). Nessa espécie há poucos relatos no Brasil descrevendo a infecção por *Trypanosoma* sp.. Um estudo na Amazônia Ocidental realizado por Carlos *et al.*, (2024) que descrevem parasitemia em *R. guttatus* e *Rhinella marina* onde 3 espécimes estavam infectados por hemogregarinas e duas infectados por microfilária. Ferreira *et al.*, (2007a) descreveram a prevalência de tripanossomas em anuros em diferentes biomas brasileiros, nesse trabalho os autores observaram uma prevalência de 16,66% (1/6), corroborando com os dados obtidos em nosso estudo onde foi possível observar parasitemia em *Rhaebo guttatus* com uma pequena quantidade de amostras analisadas.

**Figura 7** – Hemoparasito observado em *Rhaebo guttatus*.



**Fonte:** Dupont (2022)

**Fonte:** arquivo pessoal (2024)

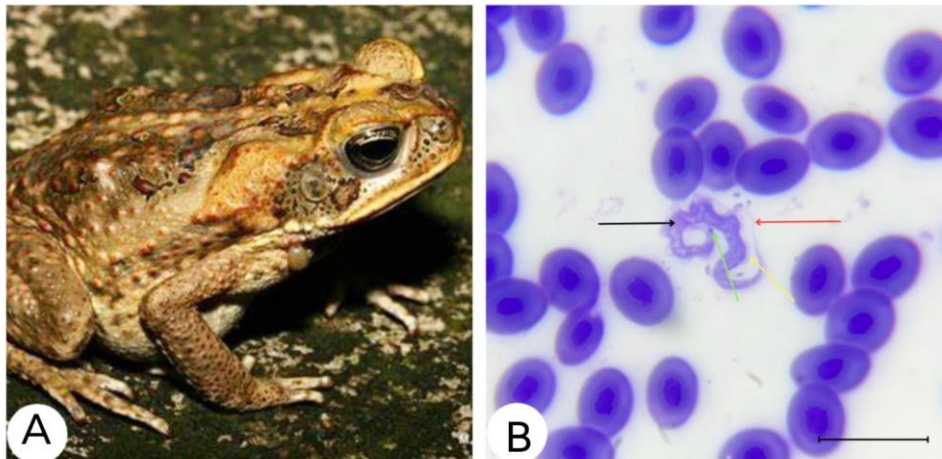
**Legenda:** A, *Rhaebo guttatus*; B, *Trypanosoma* sp. em aumento de 1000x em microscopia de luz, seta preta indica o núcleo e a seta verde o flagelo livre; Escala, 10  $\mu$ m.

Foi observado que uma (50%) das amostras avaliadas do sapo-cururu (*Rhinella marina*) (Figura 8A), pertencente à família Bufonidae, estava infectada por *Trypanosoma* sp. (Figura 8B). Coelho *et al.*, (2021b) descreveram o primeiro relato de *Trypanosoma* sp. parasitando *Rhinella major* na Amazônia brasileira. Nesse estudo foram coletadas amostras de 44 espécies de *Rhinella major*, onde apenas 4 (9,09%) apresentaram infecção por tripomastigotas, sendo observado baixas prevalência de *Trypanosoma* sp. em *R. major*.

Attias *et al.*, (2016) descreveram a filogenia molecular de tripanossomas de anuros brasileiros. Nesse estudo diferentes espécies de tripanossoma foram isolados de *Rhinella marina* do bioma Amazônico, entretanto, não há dados relativos à sua prevalência. Grande parte dos estudos realizados com *R. guttatus* e *Rhinella marina* são focados em avaliar os efeitos antimicrobianos e antiproliferativos das secreções cutâneas produzidas por essas espécies (FERREIRA *et al.*, 2013). Segundo Ibarra-Vega (2023) estas secreções cutâneas são fonte de biomoléculas com altas atividades antimicrobianas, que ainda não são totalmente evidenciadas.

**Figura 8** – Hemoparasito observado em *Rhinella marina*.

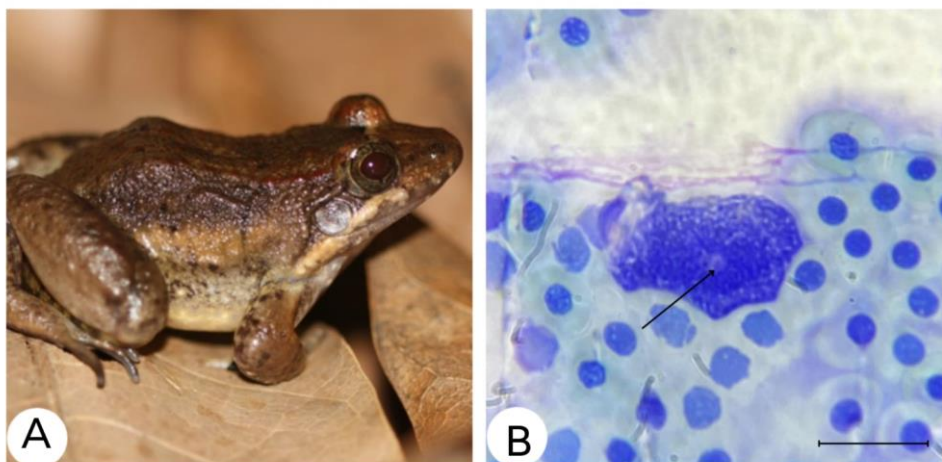




**Legenda:** A, *Rhinella marina*; B, *Trypanosoma* sp. observado em aumento de 1000x em microscopia de luz, seta preta indica o núcleo, seta verde o cinetoplasto, seta velha o flagelo livre, seta amarela indica a membrana ondulante. Escala, 10  $\mu$ m. **Fonte:** arquivo pessoal (2024).

Na família Leptodactylidae observamos em espécimes de rã da espécie *Leptodactylus brevipes* (Figura 9A), 100% das amostras coletadas positivas para *Trypanosoma* sp. (Figura 9B). Não há estudos que elucidem a prevalência de *Trypanosoma* sp. parasitando esta espécie no mundo. Úngari (2023) realizou um estudo sobre a biodiversidade de hemoparasitos de anfíbios e répteis. Nesse estudo, foi possível observar uma prevalência de 44 (81,48%) rãs da família Leptodactylidae parasitados por *Trypanosoma* sp. Entretanto, não há relato de infecção por hemoparasitos em *L. brevipes*.

**Figura 9** – *Trypanosoma* sp. observado em *Leptodactylus brevipes*.



**Fonte:** Carvalho (2020)

**Fonte:** arquivo pessoal

**Legenda:** A, *Leptodactylus brevipes*; B, *Trypanosoma* sp. observado em aumento de 1000x em microscopia de luz, seta preta indica o núcleo do hemoparasito; Escala, 10  $\mu$ m.

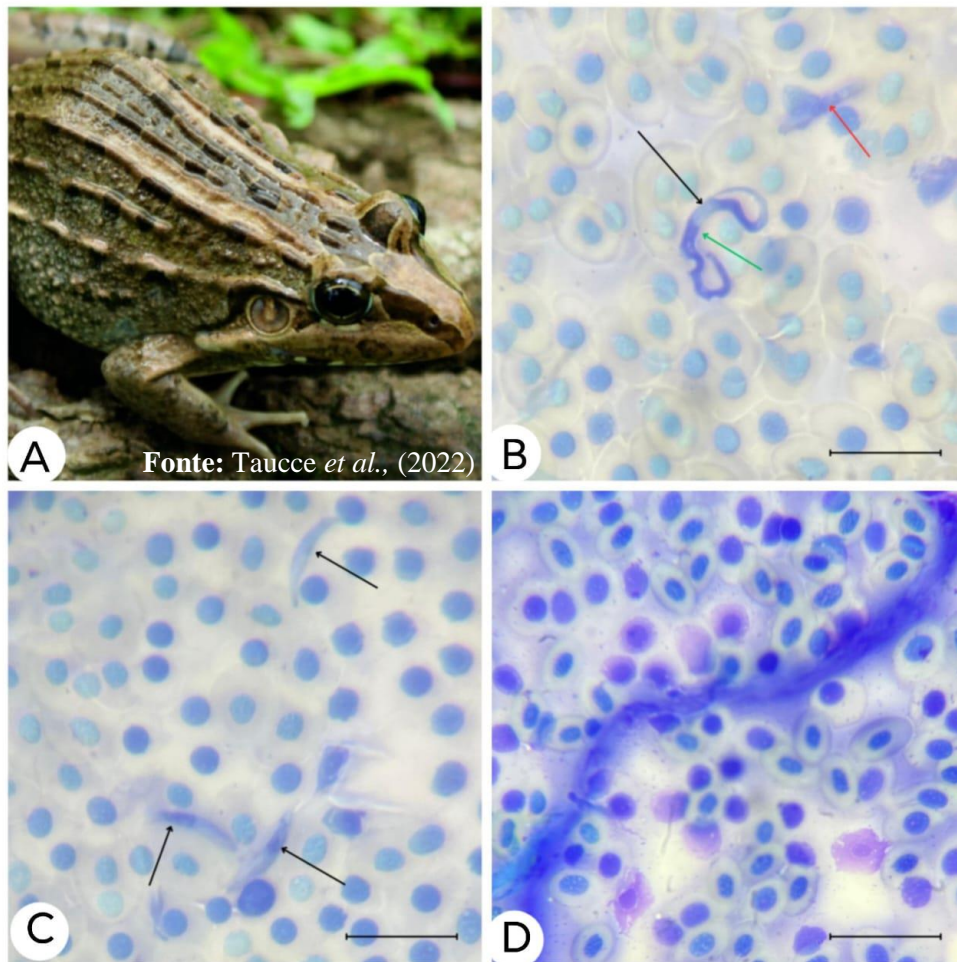
Na espécie *Leptodactylus macrosternum* (Figura 10A) observamos a maior prevalência dentre os exemplares avaliados neste estudo, com quatro (80%) anuros infectados. Além disso, foi a única espécie que apresentou coinfeção, duas (40%) amostras foram identificadas com infecção mista, uma por *Trypanosoma* sp. e *Hepatozoon* sp. e a outra por *Trypanosoma* sp. e microfilária. Em um estudo realizado no bioma amazônico, Ferreira *et al.*, (2007b) descreveram valores de prevalência de 36% de infecção por *Trypanosoma* sp. em 75 amostras de anuros.

De maneira semelhante, Desser (2001) relata uma prevalência de 12% de infecção por *Trypanosoma* sp. na Costa Rica. Corroborando com esses estudos, Coelho (2020) descreve o primeiro registro de *Trypanosoma* sp. em *Leptodactylus macrosternum* na Amazônia Oriental, com prevalência de 25%. Ao contrário desses relatos, em nosso estudo foi observada uma prevalência superior às descritas, com 80% de positividade das amostras, entretanto, em uma menor quantidade de exemplares amostrados.

As infecções por *Hepatozoon* sp. foram encontradas em baixa prevalência por Menezes Leal *et al.*, (2015), onde analisou-se amostras de 77 *Leptodactylus podicipinus* e 68 *Leptodactylus chaquensis*, observando uma prevalência de 2.60% e 11.76% respectivamente. Além disso, Calil *et al.*, (2017) descreveram em São Paulo uma prevalência de 1,1% dos anfíbios amostrados. Esses relatos corroboram os dados obtidos em nosso estudo, onde foi observado níveis médios de parasitemia e apenas uma (8,33%) amostra dos anuros coletados estava positiva para *Hepatozoon* sp. (Figura 10C).

Nguiffo *et al.*, (2019), descrevem prevalência de infecção por microfilárias em rãs goliás (*Conraua goliath*) de Camarões, neste trabalho foi observado um alto índice de parasitemia por microfilária variando de acordo com as estações do ano, sendo relatado uma prevalência de 65% na estação seca a 23% na estação chuvosa. No Brasil não há muitos estudos sobre epidemiologia dos nematoides filarióides em sangue de anuros, entretanto, em um estudo realizado por Coelho *et al.*, (2021a) apresentaram o primeiro registro da presença de microfilárias no sangue de *L. macrosternum* da região amazônica, com prevalência de 15,6% de amostras positivas, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho onde 20% das *L. macrosternum* estavam parasitadas por microfilárias (Figura 10D).

**Figura 10** – Hemoparasitos observados em *Leptodactylus macrosternum*.



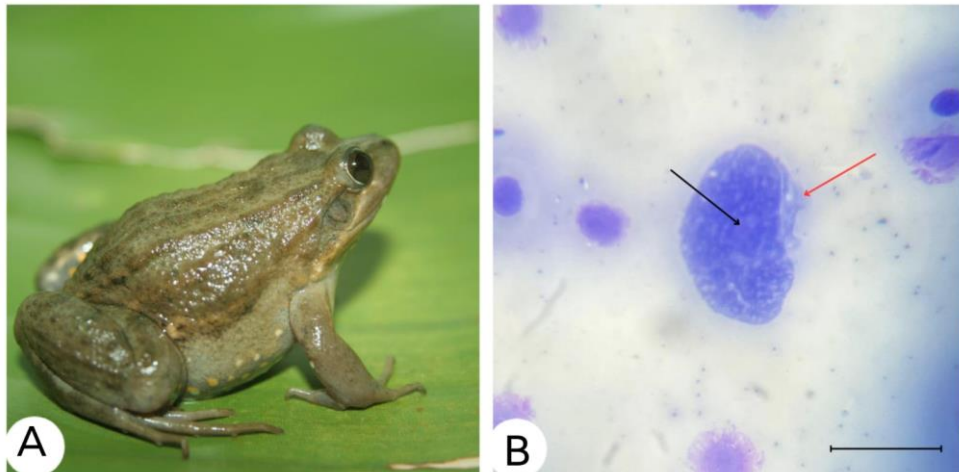
Fonte: arquivo pessoal (2024)

**Legenda:** A, *Leptodactylus macrosternum*; B, *Trypanosoma* sp. e *Hepatozoon* sp, a seta preta indica o núcleo do tripanossoma, seta verde aponta o flagelo livre e a seta vermelha indica o núcleo do *Hepatozoon* sp.; C, *Hepatozoon* sp. as setas pretas indicam o núcleo do hemoparasito; D, microfilária; Hemoparasitas observados em aumento de 1000x em microscopia de luz; Escala, 10 µm.

Na espécie *Leptodactylus pustulatus* (Figura 11A), dentre as amostras analisadas, foi observada prevalência de 50% (1/2) para *Trypanosoma* sp. (Figura 11B). Um estudo realizado por Úngari (2023) confirma os resultados de alta prevalência obtidos em nosso trabalho, onde 66,66% das espécies de *L. pustulatus* amostradas estavam infectadas por *Trypanosoma* sp.

**Figura 11** – *Trypanosoma* sp. observado em *Leptodactylus pustulatus*.





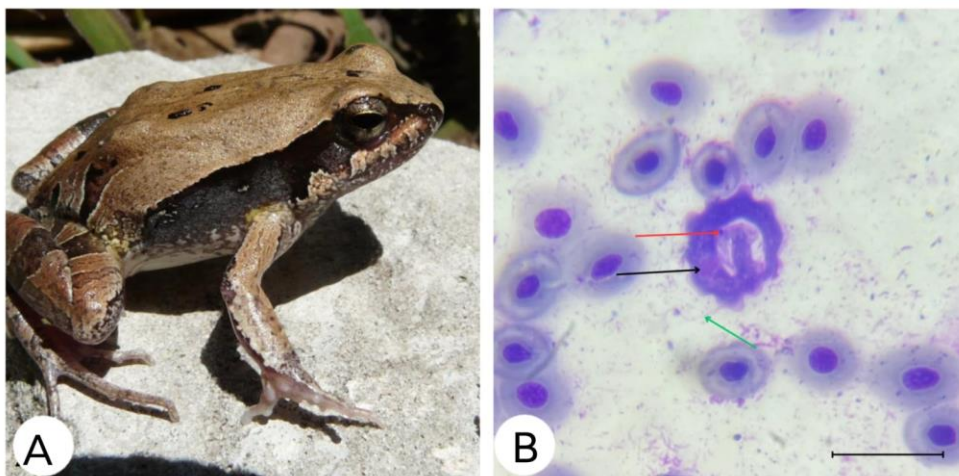
**Fonte:** Horta; Luiza de Deus (2020)

**Fonte:** arquivo pessoal (2024)

**Legenda:** A, *Leptodactylus pustulatus*. Fonte: B, *Trypanosoma* sp. observado em aumento de 1000x em microscopia de luz, seta preta indica o núcleo do hemoparasito, seta vermelha indica a membrana ondulante; Escala, 10  $\mu$ m.

Nos exemplares de *Physalaemus centralis* (Figura 12A) pertencentes à família Leptodactylidae, foi identificado 50% (1/2) amostra infectada por *Trypanosoma* sp. (Figura 12B). Em um estudo realizado por Sato (2015) a fim de avaliar a abundância de *Trypanosoma* sp. em anuros pertencentes à família Leptodactylidae em diferentes biomas do Brasil e regiões da Venezuela e Colômbia, foram isolados inúmeros gêneros da família Leptodactylidae, entre elas foram coletadas amostras de rãs pertencentes ao gênero *Physalaemus* sp. Entretanto, nenhuma espécie foi positiva para *Trypanosoma* sp., diferente do que foi observado em nosso estudo, onde 50% das espécies de *P. centralis* testaram positivo para *Trypanosoma* sp., tornando o primeiro caso descrito de *Physalaemus centralis* no Brasil.

**Figura 12** – Hemparasito identificado em *Physalaemus centralis*.



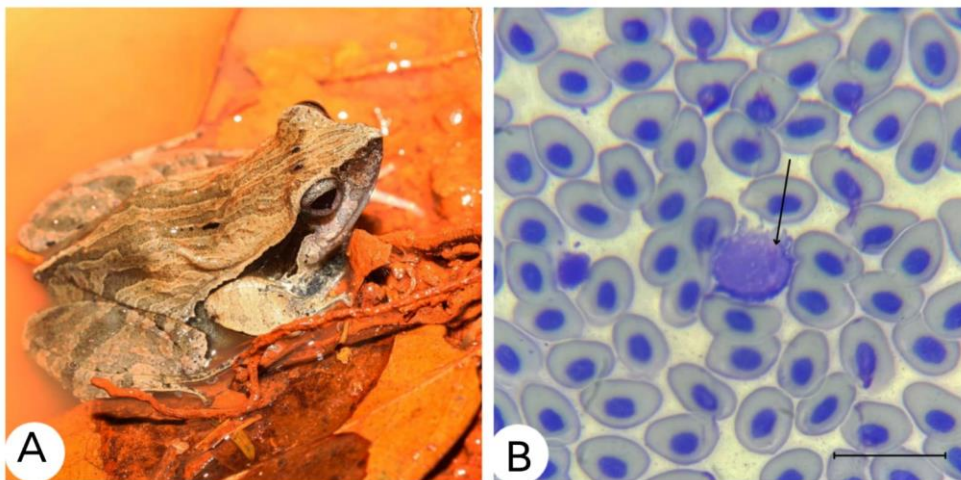
**Fonte:** Smith (2006)

**Fonte:** arquivo pessoal (2024)

**Legenda:** A, *Physalaemus centralis*. B, *Trypanosoma* sp. observado em aumento de 1000x em microscopia de luz, seta preta indica o núcleo do hemoparasito, seta verde indica o flagelo livre, seta vermelha indica o cinetoplasto; Escala, 10 µm.

*Physalaemus cuvieri* conhecida popularmente como rã-cachorro (Figura 13A), pertencente à família Leptodactylidae, foram observados duas (10%) amostras positivas para *Trypanosoma* sp. (Figura 13B). Observa-se em um estudo realizado por Ferreira (2015) em anuros da família Leptodactylidae coletados em Minas Gerais, uma baixa prevalência de *Trypanosoma* sp., sendo identificados apenas 6,25% dos anuros parasitados. Ainda, nesse estudo não foram observados parasitemia em espécies pertencentes ao gênero *Physalaemus* sp., diferente dos resultados obtidos em nosso estudo, onde 10% das amostras de *P. cuvieri* apresentavam-se parasitadas por *Trypanosoma* sp., tornando-se o primeiro caso descrito de *Physalaemus cuvieri* no Brasil.

**Figura 13** – *Trypanosoma* sp. observado em *Physalaemus cuvieri*.



**Legenda:** A, rã-cachorro *Physalaemus cuvieri*.; B, *Trypanosoma* sp. identificado na amostra, seta preta indica o núcleo do hemoparasito; Escala, 10 µm. **Fonte:** arquivo pessoal (2024).

Em um estudo realizado por Leal (2009) com o intuito de identificar hemoparasitos do gênero *Trypanosoma* sp. e hemogregarinas em anuros dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, Brasil, foram coletadas amostras de 40 espécies de anuros, divididos entre as famílias Hylidae, Leptodactylidae e Bufonidae. Desses, 10% foram positivos para hemogregarinas e 20% positivos para tripanossomas. Nesse estudo é possível observar uma prevalência para tripanossoma relativamente alta, já a frequência de hemogregarinas foi inferior, entretanto, proeminente. Os resultados observados por Leal (2009) confirmam a nossa pesquisa, onde, a maior parte dos anuros 91,66% estava positivo para *Trypanosoma* sp. e apenas 8,33% positivo

para *Hepatozoon* sp. Os resultados observados em nosso trabalho, são semelhantes a outro estudo sobre espécies de anuros, originários do Canadá, no qual foi observada uma maior prevalência de animais parasitados por *Trypanosoma* sp. que outros hemoparasitos (BARTA; DESSER, 1984).

## CONCLUSÃO

Esta foi a maior expedição realizada na Fazenda Fartura com o intuito de realizar levantamento de hemoparasitos em anuros. Observamos uma prevalência de 11,32% de animais infectados. A família Leptodactylidae foi a que mais apresentou parasitemia dentre as espécies avaliadas. Foi possível observar uma influência do ambiente aberto em relação a infecção por hemoparasitos, entretanto, não há estudos ou dados que confirmem esses resultados, sendo necessários maiores investigações. Além disso, em nosso trabalho foi identificado pela primeira vez tripanossomas em *Leptodactylus brevipes* descrito no mundo, em *Physalaemus centralis* e *Physalaemus cuvieri* descritas no Brasil. Fica evidente, que ainda há na literatura muitas incertezas sobre a identificação destes parasitos e no Brasil estes estudos são escassos. Com isso, faz-se necessário a realização de avaliações moleculares para aumentar a sensibilidade e especificidade dos dados epidemiológicos descrito, além de possibilitar a identificação de novas espécies de hemoparasitos de anfíbios, contribuindo para o conhecimento destes protozoários.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, R. C. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. **UK: CABI Publishing**, 2000.

ATTIAS, M.; SATO, L. H.; FERREIRA, R. C.; TAKATA, C. S. A.; CAMPANER, M.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G.; DE SOUZA, W. Developmental and Ultrastructural Characterization and Phylogenetic Analysis of *Trypanosoma herthameyeri* n. sp. of Brazilian Leptodactilydae Frogs. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, vol. 63, no. 5, p. 610–622, 2016.

BARTA, J. R.; DESSER, S. S. Blood parasites of amphibians from Algonquin Park, Ontario. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 20, n. 3, p. 180-189, 1984.

BIASI, P.; CARDOSO JUNIOR, R.B.; SANTOS, S.M.A. Presença de *Hepatozoon plimmeri* (Sambom, 1909) – Coccidia, Haemogregarinidae – em exemplar de *Bothrops jararaca* (Wied, 1824) – Serpentes, Viperidae, Crotalinae – mantido em cativeiro. **Memórias do Instituto Butantan**, v.51, p.117-121, 1989.

BORGHESAN, T. C.; FERREIRA, R. C.; TAKATA, C. S. A.; CAMPANER, M.; BORDA, C. C.; PAIVA, F.; MILDER, R. V.; TEIXEIRA, M. M. G.; CAMARGO, E. P. Molecular phylogenetic redefinition of *Herpetomonas* (Kinetoplastea, Trypanosomatidae), a genus of insect parasites associated with flies. **Protist**, 164(1), 129–152, 2013.

CALIL, P.R.; GONZALEZ, I.H.L.; SALGADO, P.A.B.; CRUZ, J.B. da; RAMOS, P.L.; CHAGAS, C.R.F. Hemogregarine parasites in wild captive animals, a broad study in São Paulo Zoo. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. 5, 1378–1387, 2017.

CARLOS, E. C. S.; WAMBERGUE, G. L. D.; CARVALHO, A. C.; COSTA, P. N.; SOUZA, J. O.; CARVALHO, A. N. de; FARIAS, G. de M.; SILVA, F. S. OCORRÊNCIA DE HEMOPARASITAS EM RHAEBO GUTTATUS (SCHNEIDER, 1799) E RHINELLA MARINA (LINNAEUS, 1758), NA AMAZÔNIA ORIENTAL. In: **Anais do Congresso de Gestão do Conhecimento e Sociobiodiversidade das Áreas Protegidas de Carajás – CGBio. Anais. Parauapebas (PA) ICMBio**, 2024.

CARVALHO, T. R. Mato Grosso white-lipped frog (*Leptodactylus brevipes*). [s. d.]. **iNaturalist**. 2020.

CAVALIER-SMITH, T. Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. **European Journal of Protistology** 56:250-76. 2016.

COELHO, T. A. Hemoparasitos de anfíbios anuros da Amazônia. Santarem, PA. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA; 2020.

COELHO, T. A.; SOUZA, D. C.; SANTOS-Jr, I. A.; KAWASHITA-RIBEIRO, R. A. Filialar nematode in the blood of *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Anura: Leptodactylidae). **Herpetology Notes**, v. 14, p. 855-857, 2021a.

COELHO, T. A.; SOUZA, D. C. D. E.; KAWASHITA-RIBEIRO, R. A.; CORRÊA, L. L. First record of *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastea: Trypanosomatidae) parasiting *Rhinella major* in the Brazilian Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 93, no. 2, p. e20190467, 2021b.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca. 2014.

DESSER, S. S. The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. **The journal of parasitology**, vol. 87, no. 1, p. 152–160, 2001.

DUPONT, B. File:Spotted toad (*Rhaebo guttatus*) (10345945393). Jpg. [s. d.]. **Wikimedia.org**. 2022.

DVORAKOVA, N.; KVICEROVA, J.; HOSTOVSKY, M.; SIROKY, P. Haemogregarines of freshwater turtles from Southeast Asia with a description of *Haemogregarina sacaliae* sp. n. and a redescription of *Haemogregarina pellegrini* Laveran and Pettit, 1910. **Parasitology**, vol. 142, no. 6, p. 816–826, 2015.

FERMINO, B.R. Filogenia e taxonomia de tripanossomas de vertebrados aquáticos. São Paulo. **Tese de Doutorado**. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. 135 p. 2017.

FERREIRA, D. A. R.; PERLES, L.; MACHADO, R. Z.; PRADO, C. P. A.; ANDRÉ, M. R. Molecular detection of Apicomplexan hemoparasites in anurans from Brazil. **Parasitology research**, vol. 119, no. 10, p. 3469–3479, 2020.

FERREIRA, J. I. G. S. Diversidade, isolamento e filogenia de parasitas do gênero *Trypanosoma* em vertebrados silvestres da ilha pluvial e Estação Ecológica de Pirapitinga, Minas Gerais. São Paulo, SP. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo – USP; 2015.





- FERREIRA, P. M. P.; LIMA, D. J. B.; DEBIASI, B. W.; SOARES, B. M.; MACHADO, K. C.; NORONHA, J. C.; RODRIGUES, D. de J.; SINHORIN, A. P.; PESSOA, C.; VIEIRA JÚNIOR, G. M. Antiproliferative activity of *Rhinella marina* and *Rhaebo guttatus* venom extracts from Southern Amazon. **Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology**, vol. 72, p. 43–51, 2013.
- FERREIRA, R. C. Diversidade e filogenia de Tripanossomas de anuros. São Paulo. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo -USP. 2007b.
- FERREIRA, R. C.; CAMPANER, M.; VIOLA, L. B.; TAKATA, C. S. A.; TAKEDA, G. F.; TEIXEIRA, M. M. G. Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic Forest and Pantanal biomes in Brazil. **Parasitology**, vol. 134, no. 11, p. 1623–1638, 2007a.
- FRANÇA, D. P. F.; FREITAS, M. A. de; RAMALHO, W. P.; BERNARDE, P. S. Diversidade local e influência da sazonalidade sobre taxocenoses de anfíbios e répteis na Reserva Extrativista Chico Mendes, Acre, Brasil. **Iheringia. Série zoologia**, 107(0), e2017023, 2017.
- HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals a zoological monograph. [s.l.] **Blackwell Scientific Publications**, 1972.
- HORTA, G. LUIZA DE DEUS, G. LEPTODACTYLUS PUSTULATUS – HERPETO. [s. d.]. **Herpeto.org**. 2020.
- IBARRA-VEGA, R.; GALVÁN-HERNÁNDEZ, A. R.; SALAZAR-MONGE, H.; ZATARAÍN-PALACIOS, R.; GARCÍA-VILLALVAZO, P. E.; ZAVALZA-GALVEZ, D. I.; VALDEZ-VELAZQUEZ, L. L.; JIMÉNEZ-VARGAS, J. M. Antimicrobial compounds from skin secretions of species that belong to the bufonidae family. **Toxins**, vol. 15, no. 2, p. 145, 2023.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico**. Banco de dados-cidades. 2022.
- LAINSON, R. **Atlas of protozoan parasites of the Amazonian fauna of Brazil**. Instituto Evandro Chagas. Ananindeua. 2012.
- LANDAU, I.; MICHEL, J. C.; CHABAUD, A. G.; BRYGOO, E. R. Cycle biologique d’Hepatozoon domerguei; discussion sur les caracteres fondamentaux d’un cycle de Coccidie. **Zeitschrift for Parasitenkunde**, vol. 38, no. 3, p. 250–270, 1972.
- LEAL, D. D. M.; O’DWYER, L. H.; RIBEIRO, V. C.; SILVA, R. J.; FERREIRA, V. L.; RODRIGUES, R. B. Hemoparasites of the genus Trypanosoma (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) and hemogregarines in Anurans of the São Paulo and Mato Grosso do Sul States - Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 81, no. 2, p. 199–206, 2009.
- LIMA, E. F.; FILHO, J. P. S.; ARAÚJO, A.F.S. **Dicionário de termos técnicos tratados em Ecologia**. Paranaíba, 2016.
- LIMA, M. G. A. Ciências Biológicas. Zoologia dos cordados 2. ed. Fortaleza: **Editora da UECE**, 2015.
- MASLOV, D. A.; VOTÝPKA, J.; YURCHENKO, V.; LUKEŠ, J. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. **Trends in parasitology**, vol. 29, no. 1, p. 43–52, 2013.

MASSARO, D. C.; REZENDE, D. S.; CAMARGO, L. M. A. Estudo da fauna de triatomíneos e da ocorrência de doença de Chagas em Monte Negro, Rondônia, Brasil. **Revista brasileira de epidemiologia [Brazilian journal of epidemiology]**, vol. 11, no. 2, p. 228–240, 2008.

MCKENZIE, V. J.; STARKS, H. A. Blood parasites of two Costa rican amphibians with comments on detection and microfilaria density associated with adult filarial worm intensity. **The journal of parasitology**, v. 94, n. 4, p. 824–829, 2008.

MENEZES LEAL, D. D.; DREYER, C. S.; DA SILVA, R. J.; RIBOLLA, P. E. M.; DOS SANTOS PADUAN, K.; BIANCHI, I.; O'DWYER, L. H. Characterization of Hepatozoon spp. in *Leptodactylus chaquensis* and *Leptodactylus podicipinus* from two regions of the Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasitology research**, vol. 114, no. 4, p. 1541–1549, 2015.

NGUIFFO, D. N.; WONDJI, C. S.; PONE WABO, J.; MPOAME, M. Microfilariae infestation of goliath frogs (*Conraua goliath*) from Cameroon. **PLoS one**, vol. 14, no. 5, p. e0217539, 2019.

O'DWYER, L. H.; MOÇO, T. C.; DA SILVA, R. J. Description of the gamonts of a small species of Hepatozoon sp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) found in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae). **Parasitology research**, vol. 92, no. 2, p. 110–112, 2003.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A.; AKAMA, A.; ANDRADE FILHO, J. D.; AZEVEDO-SANTOS, V. M.; BARBOSA, M. V. M.; BINI, L. M.; BRITO, M. F. G.; DOS ANJOS CANDEIRO, C. R.; CARAMASCHI, É. P.; CARVALHO, P.; DE CARVALHO, R. A.; CASTELLO, L.; DAS CHAGAS, D. B.; CHAMON, C. C.; COLLI, G. R.; DAGA, V. S.; DIAS, M. S.; DINIZ FILHO, J. A. F.; ZUANON, J. Large-scale degradation of the Tocantins-Araguaia river basin. **Environmental management**, vol. 68, no. 4, p. 445–452, 2021.

PERLES, L.; BARRANCO, G. H. F.; SORIANO, I. M.; CRUZ, N. da R. N.; BUENO, P. J.; SANTANA, Á. E.; MACHADO, R. Z.; WERTHER, K.; ANDRÉ, M. R. Hepatozoon sp. gamonts as an accidental finding in synovial liquid from an injured maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in southeastern Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology]**, vol. 28, no. 4, p. 779–785, 2019.

PINHO, S. R. C.; RODRÍGUEZ-MÁLAGA, S.; LOZANO-OSORIO, R.; CORREA, F. S.; SILVA, I. B.; SANTOS-COSTA, M. C. Effects of the habitat on anuran blood parasites in the Eastern Brazilian Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 93, no. suppl 4, p. e20201703, 2021.

RODULFO, H.; DONATO, M.; MORA, R.; GONZÁLEZ, L.; CONTRERAS, C. E. Comparison of the diagnosis of malaria by microscopy, immunochromatography and PCR in endemic areas of Venezuela. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 40, no. 4, p. 535–543, 2007.

SATO, L. H. Diversidade, biologia, filogeografia e taxonomia molecular de tripanossomas de anuros da família Leptodactylidae. São Paulo, SP. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo – USP; 2015.

SEGALLA, M.; BERNECK, B.; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C.A.G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LOURENÇO, A. C.; MANGIA, S.; MOTT, T.; NASCIMENTO, L. TOLEDO, L. F.; WERNECK, F.; LANGONE, J. A. List of Brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, 10(1), 121–216, 2021.

SILVA, R. A. M. S.; RIVERA DAVILA, A. M.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L. **Trypanosoma evansi e trypanosoma vivax: biologia, diagnóstico e controle**. 2002.



SIMPSON, A. G. B.; STEVENS, J. R.; LUKEŠ, J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends in parasitology**, v. 22, n. 4, p. 168–174, 2006.

SIQUEIRA, A.M. **Subfilo Mastigophora** In: NEVES, D.P. Parasitologia Humana. São Paulo: Atheneu, 11<sup>o</sup>ed. 2005.

SMITH, P. CENTRAL WEEPING FROG *Physalaemus centralis* FAUNA PARAGUAY. [s. d.]. **Faunaparaguay.com**. 2006.

SMITH, T. G. The Genus Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleina). **The journal of parasitology**, vol. 82, no. 4, p. 565, 1996.

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

TAUCCE, P. P. G.; COSTA-CAMPOS, C. E.; CARVALHO, T. R.; MICHALSKI, F. Anurans (Amphibia: Anura) of the Brazilian state of Amapá, eastern Amazonia: species diversity and knowledge gaps. **European journal of taxonomy**, vol. 836, 2022.

TELFORD, S. R. J. **Hemoparasites of Reptilia, Color Atlas and Text**. Boca Raton: CRC Press. 376 p. 2009.

ÚNGARI, L. P. Biodiversidade de hemoparasitos associados a anfíbios e répteis das regiões centro-oeste e sudeste no Brasil. Botucatu, SP. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual Paulista – UNESP; 2023.

ÚNGARI, L. P.; NETHERLANDS, E. C.; QUAGLIATTO SANTOS, A. L.; PAULINO DE ALCANTARA, E.; EMMERICH, E.; DA SILVA, R. J.; O'DWYER, L. H. New insights on the diversity of Brazilian anuran blood parasites: With the description of three new species of Hepatozoon (Apicomplexa: Hepatozoidae) from Leptodactylidae anurans. **International journal for parasitology. Parasites and wildlife**, vol. 14, p. 190–201, 2021.

VALLEJO, G. A.; GUHL, F.; SCHAUB, G. A. Triatominae–Trypanosoma cruzi/T. rangeli: Vector–parasite interactions. **Acta tropica**, v. 110, n. 2–3, p. 137–147, 2009.

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **Internacional Journal for Parasitology**, v. 24, n. 8, p.1317-31, 1994.

VIOLA, L. B.; ATTIAS, M.; TAKATA, C. S. A.; CAMPANER, M.; DE SOUZA, W.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G. 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*. **The journal of eukaryotic microbiology**, vol. 56, no. 6, p. 594–602, 2009.

VIOLA, L. B.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S. A.; FERREIRA, R. C.; RODRIGUES, A. C.; FREITAS, R. A.; DUARTE, M. R.; GREGO, K. F.; BARRETT, T. V.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G. 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**, vol. 135, no. 5, p. 595–605, 2008.

VOTYPKA, J.; BRZONOVA, J.; PETRZELKOVA, K. J. Trypanosomiasis and filariasis. **Neglected Diseases in Monkeys**. Cham: Springer International Publishing, p. 343–371. 2020.

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**, vol. 164, no. 6, p. 763–781, 2013.

WERNER, J. K. Blood parasites of amphibians from Sichuan Province, People's Republic of China. **The journal of parasitology**, vol. 79, no. 3, p. 356–363, 1993.

ZÍDKOVÁ, L.; CEPICKA, I.; VOTÝPKA, J.; SVOBODOVÁ, M. *Herpetomonas trimorpha* sp. nov. (Trypanosomatidae, Kinetoplastida), a parasite of the biting midge *Culicoides truncorum* (Ceratopogonidae, Diptera). **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, vol. 60, no. 9, p. 2236–2246, 2010.

## **ANEXOS**



**Autorização para atividades com finalidade didática no âmbito do ensino superior**

Número: 91982-1	Data da Emissão: 19/09/2024 20:54:18	Validade*: 19/09/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

**Dados do titular**

Nome: BRUNO RAFAEL FERMINO	CPF: 010.345.441-10
Título do Projeto: Anatomia animal; Anestesiologia veterinária; Clínica de animais selvagens; Estágio curricular obrigatório.	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL DE EDUCACAO, CIENCIA E TECNOLOGIA DE RONDONIA	CNPJ: 10.817.343/0001-05

**Cronograma de atividades**

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Aulas de campo e coleta de material biológico.	06/2024	08/2025
2	Análise laboratorial do material coletado	07/2024	08/2025
3	Redação de artigos para TCC	07/2024	08/2025

**Observações e ressalvas**

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonosológica no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: <a href="https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1">https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1</a> .
3	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
6	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
7	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria N°748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
8	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

## Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 10126-3	Data da Emissão: 03/02/2020 09:59:03	Data da Revalidação*: 01/01/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

### Dados do titular

Nome: MIGUEL TREFAUT URBANO RODRIGUES	CPF: 011.275.058-31
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE BIOCENCIAS	CNPJ: 63.025.530/0004-57

### Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Este documento NÃO exige o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
3	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas.
4	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos ou para realização de atividades integrantes do processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
5	Esta licença permanente NÃO exige o pesquisador titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
8	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
11	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
12	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)
13	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .

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



Ministério do Meio Ambiente  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Comprovante de Cadastro de Acesso**

**Cadastro nº A686D68**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A686D68**  
Usuário: **Bruno Rafael Fermino**  
CPF/CNPJ: **010.345.441-10**  
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Trypanosoma**

**Hepatozoon**

Título da Atividade: **Coleta parasitológica em avefauna e herpetofauna**

**Equipe**

<b>Bruno Rafael Fermino</b>	<b>INSTITUTO FEDERAL DE RONDONIA - CAMPUS JARU</b>
<b>Miguel Trefaut Urbano Rodrigues</b>	<b>Universidade de São Paulo</b>
<b>Luís Fábio Silveira</b>	<b>Universidade de São Paulo</b>

**Parceiras Nacionais**

**63.025.530/0033-91 / Universidade de São Paulo**

**63.025.530/0004-57 / Instituto de Biociência - Universidade de São Paulo**

Data do Cadastro: **19/08/2024 22:10:26**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **21:26** de **22/08/2024**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - **SISGEN**