



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LUANA KARLA NOGUEIRA DE SANTANA SOUZA SANTOS

**OCORRÊNCIA DE *Plasmodium brasilianum*/*Plasmodium malariae*
E *Toxoplasma gondii* EM PRIMATAS PLATYRRHINI NA
BAHIA**

**ILHÉUS – BAHIA
2023**

LUANA KARLA NOGUEIRA DE SANTANA SOUZA SANTOS

**OCORRÊNCIA DE *Plasmodium brasilianum*/*Plasmodium malariae*
E *Toxoplasma gondii* EM PRIMATAS PLATYRRHINI NA
BAHIA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de pesquisa: Clínica e sanidade animal.
Sub-área: Doenças Parasitárias dos animais.

Orientador: George Rego Albuquerque
Co-orientador: Danilo Simonini Teixeira

**ILHÉUS- BAHIA
2023**

LUANA KARLA NOGUEIRA DE SANTANA SOUZA SANTOS

**OCORRÊNCIA DE *Plasmodium brasilianum/Plasmodium malariae* E *Toxoplasma gondii*
EM PRIMATAS PLATYRRHINI NA BAHIA**

Ilhéus – Bahia, 23/03/2023

George Rego Albuquerque – Doutor
UESC/DCAA (orientador)

Danilo Simonini Teixeira – Doutor
UESC/DCAA (co-orientador)

Daniele de Santana Rocha – Doutora
UESC/DCAA

Denise Anete Madureira de Alvarenga – Doutora
IRR/ Fiocruz Minas

Filipe Vieira Santos de Abreu – Doutor
IFNMG/

Martín Roberto Del Valle Alvarez – Doutor
UESC/DCB

**ILHÉUS – BA
2023**

Dedico aos meus familiares, principalmente aos meus pais Carlos Humberto e Juilma Cristina, aos meus irmãos Carlos Matheus e Mardson Felipe (*in memorian*), aos meus avós maternos Juildes e Maria Eulina e aos meus avós paternos Manuel e Maria (*in memorian*). Aos meus amigos, por todo o apoio e por estarem presentes. Dedico ao meu sobrinho Arthur e ao primo Bernardo pelo o amor imenso que vocês tem pelos animais, é inspirador. Á todos os profissionais envolvidos nesta pesquisa, principalmente aqueles envolvidos na conservação dos Primatas Neotropicais. Que o mundo possa ser mais gentil.

AGRADECIMENTOS

O caminho da pesquisa é laborioso, cheio de descobertas, de superações, de perseverança e acima de tudo, é um caminho para ser trilhado em equipe, pois é impossível “fazer ciência” sozinho, por esta razão, não poderia deixar de agradecer. Primeiramente, agradeço aos meus orientadores professor George Rego Albuquerque por abrir as portas do universo da pesquisa na minha história e por me ajudar a trilhá-la. Agradeço ao professor Danilo Simonini Teixeira por me apresentar ao mundo dos primatas.

Agradeço à professora Daniele de Santana Rocha por todos os momentos que dividimos em laboratórios. Não só a respeito do trabalho, por isso agradeço de todo coração o conhecimento e experiência que você compartilhou comigo, mas também, pela inspiração que você é. Agradeço à professora Hilytchaikra Ferraz Fehlberg pela paciência, pela generosidade, pelo conhecimento e experiência compartilhados, agradeço muito pela disposição em ajudar, a sempre estar presente auxiliando tantos pesquisadores.

Agradeço à Sofia Bernal Valle por toda a inspiração, obrigada pelo companheirismo, pela parceria, pela amizade, por compartilhar a experiência de trabalho de campo, de como trabalhar em equipe, pelos conselhos e direcionamento quando tudo parecia muito difícil. Os campos foram os melhores momentos dessa jornada por você está presente. Agradeço à Reizane Pereira Lordelo pelas suas risadas, pela sua leveza, pelo seu companheirismo e amizade, aprendemos muito uma com a outra, enfrentamos dificuldades juntas, obrigada por tudo.

Agradeço ao meu colega biólogo e amigo Elson Oliveira Rios por toda amizade, paciência e pela experiência que você compartilhou comigo. Você me recebeu de braços abertos e me ensinou a trabalhar duro e a caminhar pelas matas. Agradeço ao professor Martin Roberto Dell Valle Alvarez pelos conselhos, pela confiança no meu trabalho, por me apresentar ao campo da mastozoologia, por oportunizar aprender muito sobre os pequenos mamíferos. Obrigada pela amizade. Agradeço pela colega de pós-graduação e de laboratório Gabriela Mota Sena de Oliveira por todo o apoio, pelo conhecimento e experiência, por ser a pessoal gentil e generosa que você é.

Agradeço à minha família, aos meus pais Carlos e Juilma, aos meus irmãos Carlos Matheus e Mardson Filipe (a saudade é enorme), aos meus avós Juildes e Maria Eulina e aos saudosos Manuel e Maria. Agradeço às minhas tias Virgínia, Cátia, Fátima, ao meu sobrinho

Arthur, ao meu primo Bernardo, as minhas primas Bruna e Nicole. Agradeço pela compreensão as ausências, pelo apoio nos momentos mais difíceis. Vocês são minha rocha.

Agradeço aos amigos Mateus Saron, Danilo Pontes, Casio César, amigos de longa data e que mesmo distantes o carinho e a amizade ainda resistem. Agradeço as minhas amigas e colegas Gabrielle Buenavista e Ana Gouveia vocês são a família que eu escolhi, obrigada por tudo. Aos meus amigos Alisson Costa, Vinícius Bonfim, João Rhem, pela amizade, pelas boas risadas e histórias compartilhadas. Sempre buscamos fazer o melhor. Agradeço à Matheus Cardoso pela amizade e pelo apoio. Agradeço à Samuel Macedo pela pessoa que você é, com uma energia única, obrigada por me inspirar tantas vezes, pela amizade, pela nossa “torta de pedra” e pelo pastel de frango com quatro queijo lendário. Obrigada à Haniel Cedraz, pelas risadas e pelo apoio em estatística eu nunca vou esquecer.

Agradeço pelas contribuições da equipe de trabalho formada por Igor, Vicente, Zaqueu, Denis e Jiomário (o Bila) integrantes dos Projetos: BioBrasil, coordenado pelo Centro de Pesquisa e Conservação da Sociedade Zoológica de Antuérpia na Bélgica, e Almada Mata Atlântica Brasil (AMAP – Brasil).

Agradeço aos funcionários da UESC, técnicos de laboratório, seguranças do campus, os motoristas. Agradeço muito a Fabiana, a Joilson, a Zeni, tia Antônia, Ricardo Rocha (Bicudeiro) e a tantos outros que compartilhei um fim de semana, um cafezinho, várias estradas. Agradeço a todos que conheci durante os trabalhos de campo, foram momentos de muito aprendizado sobre tantos assuntos. Agradeço ao trabalho de todos os funcionários das Secretarias de Saúde que despenderam do seu tempo para criar a parceria com nosso grupo de pesquisa. Agradeço a DIVEP e a equipe de campo que nos acompanharam.

Agradeço a equipe de profissionais do Instituto René Rachou da Fiocruz de Minas (Belo Horizonte). À doutora Denise Anete Madureira de Alvarenga por me receber com tanta gentileza e alegria, eu já a admirava pelo trabalho que realiza e ao te conhecer pessoalmente a admiração só aumentou. Agradeço pela paciência e pela experiência do trabalho em laboratório. Agradeço à professora Cristiana Ferreira Alves de Brito por aceitar a parceria.

Agradeço à toda equipe do Projeto Febre Amarela, aos desenvolvedores da *Vetbag*.

Agradeço às instituições financiadores de pesquisa que possibilita a realização de pesquisa, o desenvolvimento da ciência. Agradeço a CAPES, CNPq e ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da UESC (Universidade Estadual de Santa Cruz).

Finalmente, agradeço a todos os animais. Primeiro, aos meus companheiros de vida por todo o carinho que compartilham comigo e depois a todos os outros animais, os domésticos e os selvagens. Peço que nos perdoem por não os protegerem como deveríamos.

“...Só protegemos o que amamos e não amamos o que não conhecemos.”

Nelio R. Reis e colaborador

OCORRÊNCIA DE *Plasmodium brasilianum*/*Plasmodium malariae* E *Toxoplasma gondii* EM PRIMATAS PLATYRRHINI NA BAHIA

RESUMO

Os Primatas Não Humanos (PNH) são considerados reservatórios de diversos agentes patológicos no ambiente silvestre. As atividades antrópicas causam desequilíbrio ambiental. A fragmentação de habitats, a alteração climática, a presença de humanos em áreas silvestres associada a pouca estrutura sanitária são alguns dos fatores de risco para a transmissão de doenças zoonóticas emergentes ou reemergentes. Os parasitos são atores frequentes em processos mórbidos de ordem zoonótica e podem causar impactos negativos na conservação de animais silvestres. As protozooses são por muitas vezes negligenciadas no âmbito da saúde pública e na saúde veterinária. O impacto em populações de animais silvestres que já sofrem com o desequilíbrio no ambiente pode ser um fator determinante da redução da população de espécies já em ameaça. Portanto, a vigilância epidemiológica dentro do meio silvestre é fundamental para a compreensão do comportamento de agentes parasitários nestes ambientes. Devido a proximidade evolutiva dos PNH com os humanos, por sua vasta distribuição no território brasileiro, por suas atividades sinantrópicas e papel de reservatório são primordiais na vigilância para a saúde pública. Neste cenário, o estudo teve por objetivo verificar a frequência dos parasitos *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. em primatas Platyrrhini (Neotropicais) no território baiano através de técnicas de diagnóstico sorológico e molecular. Foram realizadas capturas em áreas rurais, periurbanas e urbanas em 18 municípios do estado da Bahia. Foram capturados 127 animais de sete espécies de primatas platirrininos: *Alouatta caraya* (2), *Callithrix geoffroyi* (23), *C. jacchus* (4), *C. kuhlii* (31), *C. penicillata* (40), *Leontopithecus chrysomelas* (16), híbridos (*Callithrix* spp.) (10), *Sapajus robustus* (1). Destes 96,85% (123/127) foram animais de vida livre e 3,14% (4/127) foram provenientes de cativeiro. Os animais capturados foram contidos e anestesiados para obtenção de amostras de sangue por punção endovenosa. As amostras de sangue foram encaminhadas para o laboratório de parasitologia veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) onde foram centrifugadas para a obtenção do soro e do coágulo. Avaliação sorológica utilizando o Teste de Aglutinação Modificada (MAT) para a análise de presença de anticorpos anti-*T.gondii* identificou 1,57% (2/127) de prevalência. Na avaliação molecular por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) convencional de amostras de sangue, todas foram negativas. Para a identificação dos parasitos *Plasmodium* spp. foi utilizados a *Nested*-PCR e a reação de polimorfismo de fragmentos de restrição (PCR - RFLP) em amostras de coágulo identificou 0,78% (1/127) positivo para *Plasmodium brasilianum*/*P. malariae* em espécie de *C. geoffroyi*, sendo o primeiro relato desse parasito nesse clatriquídeos diagnosticado no território baiano. O monitoramento desses agentes em primatas tem papel importante para a vigilância epidemiológica e, concomitantemente, para a saúde pública. Essas descobertas reforçam a necessidade de maiores investigações para compreensão da ecologia de parasitos no meio silvestre, e assim medidas de controle e prevenção possam ser estabelecidas efetivamente para evitar a transmissão para humanos.

Palavras-chave: infecção; malária; primatas não-humanos; protozoários; malária; toxoplasmose

OCORRENCE OF *Plasmodium brasilianum/Plasmodium malariae* AND *Toxoplasma gondii* IN PLATYRRHINI PRIMATES IN BAHIA

ABSTRACT

Non-human primates (NHP) are considered reservoirs of several pathological agents in the wild environment. Anthropic activities cause environmental imbalance. Habitat fragmentation, climate change, the presence of humans in wild areas associated with poor sanitary structure are some of the risk factors for the transmission of emerging or re-emerging zoonotic diseases. Parasites are frequent players in morbid processes of zoonotic order and can cause negative impacts on the conservation of wild animals. Protozoa are often neglected in public health and veterinary health. The impact on wild animal populations that already suffer from environmental imbalance can be a determining factor in the reduction of the population of already endangered species. Therefore, epidemiological surveillance within the wild is critical to understanding the behavior of parasitic agents in these environments. Due to the evolutionary proximity of NHP to humans, their wide distribution in the Brazilian territory, their synanthropic activities and role as reservoirs are essential in public health surveillance. In this scenario, the study aimed to verify the frequency of the parasites *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium* spp. in Platyrrhini primates (Neotropical) in the territory of Bahia through serological and molecular diagnostic techniques. Captures were made in rural, peri-urban and urban areas in 18 municipalities in the state of Bahia. We captured 127 animals of seven species of platyrrhines: *Alouatta caraya* (2), *Callithrix geoffroyi* (23), *C. jacchus* (4), *C. kuhlii* (31), *C. penicillata* (40), *Leontopithecus chrysomelas* (16), hybrids (*Callithrix* spp.) (10), *Sapajus robustus* (1). Of these 96.85% (123/127) were free-living animals and 3.14% (4/127) were captive. Captured animals were restrained and anesthetized to obtain blood samples by intravenous puncture. The blood samples were sent to the veterinary parasitology laboratory of the Santa Cruz State University (UESC) where they were centrifuged to obtain serum and clot. Serological evaluation using the Modified Agglutination Test (MAT) to analyze the presence of anti-*T.gondii* antibodies identified a 1.57% (2/127) prevalence. In the molecular evaluation by conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) of blood samples, all were negative. Nested PCR was used to identify *Plasmodium* spp. parasites, and the restriction fragment polymorphism reaction (PCR - RFLP) in clot samples identified 0.78% (1/127) positive for *Plasmodium brasilianum/P. malariae* in *C. geoffroyi* species. The monitoring of these agents in primates plays an important role for epidemiological surveillance and, concomitantly, for public health. These findings reinforce the need for further investigations to understand the ecology of parasites in the wild, so that control and prevention measures can be effectively established to prevent transmission to humans.

Key words: infeccion; malaria; non-human primate; protozoan; malaria; toxoplasmosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Exemplares de espécies de primatas Platyrrhini.	25
Figura 2 –	Estágios de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> .	29
Figura 3 –	Ciclo evolutivo de <i>Toxoplasma gondii</i> .	31
Figura 4 –	Algumas das espécies de <i>Plasmodium</i> spp. do subgênero não- <i>Laverania</i> .	40
Figura 5 –	Esquema do Ciclo evolutivo de <i>Plasmodium</i> spp.	43
Figura 6 –	Origem dos casos confirmados em municípios do estado da Bahia no ano de 2021.	46
Figura 7 –	Mapa Mundial da distribuição dos principais subgênero de <i>Plasmodium</i> não <i>Laverania</i> .	47
Figura 8 –	Mosquitos da bromélia <i>Anopheles (Kerteszia) cruzi</i>	49
Figura 9 –	Mapa de Localização dos municípios da pesquisa e a relação com os biomas do estado.	58
Figura 10 –	Sagui (<i>Callithrix Khulii</i>) atraídos para armadilha de captura viva do tipo <i>Tomahawk</i> .	59
Figura 11 –	Disposição de armadilhas de captura viva em diferentes possibilidades.	60
Figura 12 –	Procedimentos de coleta de material em primatas Platyrrhini	63
Figura 13 –	. Microplaca para o MAT destacando os poços do controle positivo e negativo.	68
Figura 14 –	Amplificação da amostra positiva para <i>P. malariae</i> em gel de agarose a 2% com brometo.	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Família, gênero e tamanho de primatas Platyrrhini do Brasil.	23
Tabela 2	– Estudos sorológicos de primatas platirrinos no Brasil.	37
Tabela 3	– Espécies de <i>Plasmodium</i> descritas em primatas não humanos e seus respectivos hospedeiros naturais e distribuição geográfica.	39
Tabela 4	– Municípios escolhidos para captura de primatas.	57
Tabela 5	– Classificação de primatas platyrrhini investigados para anticorpos anti- <i>T. gondii</i> de acordo com a espécie, nome comum, sexo e faixa etária, condição de vida e município de captura.	71
Tabela 6	– Animais testados no Teste de Aglutinação Modificado (MAT).	72
Tabela 7	– Primatas platirrinos testados em <i>nested</i> -PCR para <i>Plasmodium</i> spp.	83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Anestésicos utilizados na captura e anestesia dissociativa dos primatas.	62
Quadro 2 –	Volume de sangue retirado por punção venosa de acordo com o peso do animal.	64
Quadro 3 –	<i>Primers</i> utilizados na PCR para <i>Toxoplasma gondi</i>	69
Quadro 4 –	<i>Primers</i> utilizados para <i>nested-PCR</i> para <i>Plasmodium</i> spp.	79
Quadro 5 –	<i>Primers</i> da <i>nested PCR</i> para identificar <i>Plasmodium simium</i>	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Conselho de Ética no Uso de Animais
CETAS	Centro de Triagem de Animais Silvestres
CITES	<i>Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora</i>
CSP	Proteína circunsporozoíta
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DNTP's	Dexorribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido Etilenodiamino tetra-acético
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> - Ensaio Imunoenzimático Indireto
EPI's	Equipamentos de Proteção Individuais
HAI	Hemaglutinação Indireta
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IUCN	<i>The International Union for Conservation of Nature</i>
LAT	Teste de Aglutinação de Látex
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
MAT	Teste de Aglutinação Modificada
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MSP-1	Proteína 1 de superfície do merozoíto
<i>Nested-PCR</i>	Reação em cadeia da polimerase com dois passos de amplificação
OMS/WHO	Organização Mundial de Saúde/ <i>World Health Organisation</i>
PAN	Plano de Ação Nacional
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> - Tampão Fosfato-Salino
PNH	Primatas Não-Humanos
RFLP	Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição
RIFI	Imunofluorescência Indireta
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SNP(s)	Polimorfismo (s) de base única (<i>Single nucleotide polymorphism</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVO GERAL.....	18
3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4 REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1 Primatas Platyrrhini	21
4.2 Toxoplasmose.....	27
4.2.1 Aspectos Gerais	27
4.2.2 Ciclo Evolutivo de <i>Toxoplasma gondii</i>	28
4.2.4 Toxoplasmose em Primatas Não-Humanos.....	31
4.3 Malária.....	38
4.3.1 Aspectos Gerais	38
4.3.2 Ciclo Evolutivo de <i>Plasmodium</i> spp.	41
4.3.3 Impactos na saúde pública, malária zoonótica e ameaça a conservação	43
4.3.4 Malária símia	48
4.4 Diagnóstico de agentes parasitários.....	53
4.4.1 Diagnóstico de <i>Toxoplasma gondii</i>	53
4.4.2 Diagnóstico de <i>Plasmodium</i> spp.....	54
5 MATERIAL E MÉTODOS PARA CAPTURA E OBTENÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS	56
5.1 Comitê de Ética	56
5.2 Captura de Primatas Platyrrhini na Bahia.....	56
5.2.1 Área do estudo.....	56
5.2.2 Captura dos Primatas	58
5.3 Coleta de material Biológico	62
5.4 Análise Estatística.....	64

6	CAPÍTULO I.....	65
	Resumo	66
	6.1 Introdução.....	66
	6.2 Material e Métodos.....	67
	6.2.1 Avaliação Sorológica.....	67
	6.2.2 Avaliação Molecular.....	68
	6.3 Resultados.....	69
	6.5 Discussão	72
	6.6 Conclusão	74
7	CAPÍTULO II.....	75
	7.1 Introdução.....	76
	7.2 Material e Métodos.....	77
	7.2.3 <i>Nested</i> PCR - alvo 18S	78
	7.2.4 <i>Nested</i> PCR - alvo mitocondrial e RFLP	79
	7.2.5 Sequenciamento.....	81
	7.3 Resultados e discussão.....	82
	7.4 Conclusão	84
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	86
9	REFERÊNCIAS	87
10	APÊNDICES	107

1 INTRODUÇÃO

As relações entre os humanos, os animais e a natureza foram modificadas ao decorrer da história. Com o passar do tempo, o desenvolvimento do meio técnico-científico-informacional possibilitou a expansão da população humana. Por conseguinte, as necessidades materiais e espaciais expandiram (NEVES; BARBOSA, NEVES, 2019). O processo de globalização possibilitou avanços tecnológicos, econômicos, facilitaram a locomoção de pessoas e de produtos, aumentando o fluxo migratório cada vez mais rápido. Todos esses movimentos trouxeram benefícios para a população humana, mas foi progressivamente afastando-a do meio natural (CAVALCANTE; CAVALCANTE, 2009). Em contrapartida a exploração insustentável aos recursos naturais levou a invasão e destruição de áreas florestais, corpos hídricos, desequilíbrio climático e desastres ambientais

O impacto das atividades antrópicas desencadeou desequilíbrio em diversos ecossistemas. Afetaram os meios abióticos (como exemplo, a poluição de corpos hídricos, o exacerbado uso do solo); como também os meios bióticos (o desmatamento voraz para dar lugar às áreas de produção agrícola e pecuária, atividades industriais, desenvolvimento de cidades desorganizado) resultando em grandes sequelas para a flora e a fauna de todos os biomas no Brasil e no mundo (ZANELLA, 2016). É um modelo de exploração insustentável sem prever a finitude dos serviços ecológicos e os impactos ocasionados à vida silvestre.

Essa desarmonia ecológica leva a alterações de diferentes escalas ambientais como a extinção de espécies, o aparecimento ou reaparecimento de microrganismos patogênicos, o aumento de vetores que carregam agentes causadores de doenças facilitando a dispersão de desses agentes e sua adaptação em novos hospedeiros (PEREIRA JUNIOR; PEREIRA, 2017). O meio silvestre é um vasto mundo do qual conhecemos brevemente. Há muitas informações que desconhecemos a respeito da ecologia e dos seus componentes. E como em qualquer organismo vivo, prezar pelo funcionamento fisiológico é um fator essencial para a sobrevivência, incluindo a espécie humana (MAGNUSSON, 2019).

A vigilância e o monitoramento desse ambiente e da relação humano-animais-natureza é o caminho que pode fornecer maiores entendimentos acerca dos processos que ocorrem e, dessa forma fornecer um alerta para um problema que pode ser solucionado (GUBERTI; STANCAMPIANO; FERRARI, 2014).

Os Primatas, grupo no qual nós humanos pertencemos, são animais bastante suscetíveis a diferentes agentes patogênicos (SOLÓRZANO-GARCÍA; LEÓN, 2018). Além desse fato, a maior parte das espécies de primatas sofrem constantes repercussões das atividades humanas.

Por serem tão próximos na cadeia evolutiva com os humanos, ficam à mercê de doenças que afetam a ambos (ESTRADA et al., 2018). E nesse aspecto é importante a investigação e monitoramento das mazelas sofridas por este grupo de animais.

As doenças zoonóticas são as quais compartilhamos com animais domésticos e silvestres (RAHMAN et al., 2020). Estas causam danos a ambos, ademais acarretam a grandes problemas econômicos, sociais e, obviamente, a saúde pública e veterinária. Grande parte dessas doenças são negligenciadas e de caráter emergente ou reemergente (CHAKRABORTY et al., 2022). O que é válido dizer é que necessitam de atenção para que possam ser identificadas, compreendidas, controladas e erradicadas para que não causem mais danos.

Dentre o amplo rol de agentes capazes de causar doenças, os parasitos tem um grupo diverso, com variadas formas e vias de transmissão envolvidos. Os protozoários destacam-se neste grupo por características de adaptação, de variedades de hospedeiros, de vias de transmissão e por sua distribuição geográfica (RONDÓN et al., 2021). Dentre estes, os parasitos dos gêneros *Plasmodium* e *Toxoplasma*, ambos pertencentes ao filo Apicomplexa, embora apresentem biologia, ciclo evolutivo e vias de transmissão distintas, são relevantes em termos de saúde única.

Primatas Neotropicais tendem a ser suscetíveis à infecção por *T. gondii*, a gravidade da infecção pode estar atrelada a espécie do primata infectado, cujos sinais clínicos podem se apresentar de forma assintomática ou com o aparecimento de sintomas inespecíficos leves ou mais severos culminando no óbito do animal (EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003). Os primatas criados em cativeiro podem estar mais expostos a contrair o parasito devido à proximidade com humanos e animais domésticos e pela dieta ofertada fora dos padrões de biossegurança (DUBEY et al., 2021).

Já a malária símia no Brasil está relacionada com duas espécies de *Plasmodium*: *P. brasilianum* e *P. simium* (DEANE, 1992). Essas duas espécies demonstram potencial zoonótico e os primatas podem atuar como reservatórios desses agentes e são um dos pontos da tríade para a manutenção da malária zoonótica (LALREMRUATA et al., 2015; BRASIL et al., 2017b; MOURIER et al., 2019).

Destarte, este estudo teve por objetivo realizar um levantamento epidemiológico a cerca desses parasitos na população de primatas Playthrrini que habitam biomas do território baiano. Para mais, corroborar com tantos outros estudos que divulgam a prudência de programas de vigilância e monitoramento de animais silvestres para investigação de doenças zoonóticas endêmicas.

2 OBJETIVO GERAL

Identificar a prevalência dos protozoários do gênero *Toxoplasma* e *Plasmodium* em primatas Platyrrhini do estado da Bahia.

3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em primatas Platyrrhini capturados em municípios do território baiano;
- Avaliar a presença de DNA de *Toxoplasma gondii* em amostras de sangue de primatas Platyrrhini em municípios do território baiano;
- Detectar a presença de DNA de *Plasmodium* spp. em amostras de coágulo de primatas Platyrrhini capturados em municípios do território baiano;
- Identificar a espécie de *Plasmodium* spp. presente em amostras de coágulo de primatas Platyrrhini em municípios do território baiano.

4 REVISÃO DE LITERATURA

O planeta Terra enfrenta crises sanitárias que causam impactos socioeconômicos significativos. No decorrer da história a sociedade humana enfrentou epidemias e pandemias como o novo coronavírus (COVID-19). As doenças infecciosas emergentes podem estar relacionadas com a transmissão de patógenos entre humanos e animais (PIRET; BOIVIN, 2021). Estima-se que mais de 70% das doenças infecciosas emergentes são zoonoses. E os animais silvestres apresentam um papel importante, com possibilidade de um amplo rol de reservatórios para os agentes zoonóticos por muitas vezes desconhecidos (RAHMAN et al., 2020).

As zoonoses são doenças compartilhadas, naturalmente, entre humanos e animais por contato direto, através de um vetor ou através da ingestão de alimentos e água contaminados, representando um grande risco para saúde pública (MCARTHUR, 2019). A tríade epidemiológica dá-se pela interação de indivíduos (humanos e animais), dos patógenos e dos componentes ambientais, que se presentes, em determinadas condições, favorecem ou não a ocorrência da infecção (CHOMEL et al., 2007; THOMPSON; KUTZ, 2019).

As atividades humanas geram riscos para o aparecimento e o reaparecimento de doenças zoonóticas. O desequilíbrio causado no ecossistema por práticas vorazes do agronegócio, levando ao desmatamento, fragmentação de florestas e redução do habitat silvestre; as mudanças climáticas e a perda da diversidade biológica estão entre as grandes ameaças para a saúde humana (ARTAXO, 2020; ESTRADA et al, 2020; GIBB et al., 2020).

Ademais, o aumento da população humana e das atividades que aproximam os humanos dos animais, como o ecoturismo, a caça, o consumo de carne de caça, o comércio de animais vivos para alimentação ou como animais de companhia, domésticos ou pets exóticos, legal ou ilegalmente comercializados, e atividades de pesquisa questionáveis contribuem para a transmissão e disseminação dessas morbidades (CHOMEL et al., 2007; GIBB et al., 2020; WEISS; SANKARAN, 2022). Adicionalmente, esses agentes mórbidos não assolam apenas a população humana, mas também, causa agravos em animais, e no meio silvestre torna-se um grande risco para a conservação de espécies da fauna endêmica (RONDÓN et al., 2021).

O Brasil é um país de proporções continentais que abriga cerca de um terço das florestas tropicais do planeta, reunindo em torno de 1,8 milhão de espécies (entre mamíferos, aves, répteis, anfíbios, peixes e artrópodes) habitando seis diferentes biomas, ocupando a posição de país com a maior diversidade biológica do mundo. Contrariamente, apesar da riqueza de espécies da fauna e da flora no seu território, lidera a posição do ranking em desmatamento

(NASH, 2022). Entre os biomas brasileiros o Cerrado e a Mata Atlântica são considerados *Hotspots*, ou seja, áreas com grande riqueza de diversidade biológica endêmicas que estão criticamente ameaçadas (MARCHESE, 2015). O território baiano corresponde a 564.760,429 km² de área territorial composto por 417 municípios com uma população de aproximadamente 14.985.284 pessoas. É classificado como o quinto maior estado do Brasil e o seu território abrange biomas da Mata Atlântica, do Cerrado e da Caatinga (IBGE, 2022).

A Mata Atlântica ocupa a faixa litorânea brasileira explorada desde a chegada dos portugueses no país. É o quinto bioma na Lista dos *Hotspots* com mais de 20.000 espécies da flora, 261 espécies de mamíferos, sendo que 73 são endêmicas da floresta (CONSERVATION, 2022). O Cerrado é a segunda maior região ecológica do Brasil, totalizando 20% do território nacional. Possui alto grau de endemismo com mais de 10.000 espécies de plantas, sendo 44% delas de ocorrência nativa e cerca de 161 espécies de mamíferos conhecidos (CONSERVATION, 2022). A Caatinga é o único bioma que ocorre apenas no território brasileiro. Apresenta vegetação semiárida, de clima seco com baixos índices pluviométricos e contempla 148 espécies de mamíferos sendo 10 espécies endêmicas deste bioma. Em comparação aos dois biomas anteriores se mantém mais intacto, porém ainda há poucas ações para sua conservação (IBGE, 2022; CONSERVATION, 2022).

Os impactos ambientais ocorridos no Brasil decorrentes do desequilíbrio das relações humanos-ambiente-animais silvestres, leva a alterações dos seus ecossistemas e das condições climáticas associados ao tipo de clima tropical natural do país, favorecem o desenvolvimento de patógenos e parte do ciclo de transmissão de inúmeros parasitos para os seres humanos estão conectados à saúde dos animais silvestres (ARTAXO, 2020). A saúde pública, o bem-estar animal e a transmissão de patógenos para e entre as populações de animais silvestres e humanos são, atualmente, preocupações essenciais para a Saúde Única (RONDÓN et al., 2021).

Nesse contexto, a vigilância epidemiológica e o monitoramento sanitário de animais silvestres são uma fonte importante de alerta para a saúde humana. Neste cenário, os Primatas Não Humanos (PNH) são de grande interesse para a pesquisa devido a sua proximidade filogenética, anatômica e fisiológica com os humanos e pelo seu papel como reservatório de agentes com potencial zoonótico (DAVOUST et al., 2018).

Os PNH são considerados espécies sentinelas para agentes mórbidos como o vírus da febre amarela. De acordo com Brasil (2017b) no ano de 1999, logo após a ocorrência de surto de Febre Amarela em humanos na região centro-oeste do país foi desenvolvido pelo Ministério da Saúde o Sistema de Vigilância de Epizootias em PNH. O intuito seria realizar atividades regionais para a detecção do agente, do vetor e verificar a saúde do ambiente afim de tomar

medidas de prevenção e de controle. Em 2006 a vigilância de epizootias foi incluída na lista de doenças e agravos de notificação compulsória pela portaria ministerial nº 5/2006 retificada pela portaria nº 2.472/2010 (ARAÚJO et al., 2011; BRASIL, 2017b). Estas ações foram importantes por possibilitarem, além de pesquisas sobre Febre Amarela, novas possibilidades de investigação de outros agentes infecciosos capazes de causar agravos que ameacem a saúde e a conservação de primatas platirrinos, como também, afetar a saúde dos humanos.

4.1 Primatas Platyrrhini

A ordem Primates representa um dos grupos mais variados entre os mamíferos. É uma das três ordens mais diversas consecutiva às ordens Rodentia e Chiroptera (ESTRADA et al., 2017). Apresenta um grupo com diversidade de morfologia (diferentes tamanhos, padrões de coloração dos pelos), de dieta, de hábitos de locomoção e de organização social.

Os PNH distribuem-se, na sua maioria, pela faixa intertropical do planeta. Ocorrem, principalmente, em quatro regiões: no continente americano (neotrópico), no africano, no asiático e na região de Madagascar, caracterizadas como regiões de elevada prioridade para a conservação de símios (BICCA-MARQUES et al., 2006; PISSINATI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010; ESTRADA et al., 2017).

Presentes em 90 países, sendo que dois terços de todas as espécies ocorrem em quatro países: Brasil, Madagascar, Indonésia e República Democrática do Congo (ESTRADA et al., 2017). De modo geral, são mamíferos placentários, caracterizados por possuírem membros pentadáctilos, clavícula, pelo desenvolvimento cerebral (tamanho), o sentido da visão mais evoluído do que o olfato, principalmente, em espécies diurnas e por adaptação de vida arborícola (BICCA-MARQUES et al., 2006).

Sua classificação taxonômica é bastante discutível e está em constante atualizações (AURICCHO, 1995; BICCA-MARQUES et al., 2006; PISSINATI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010; REIS et al., 2015). Rylands et al (2000) dividiu esse grupo em duas subordens: Prosimii (prossímios) e Anthropoidea (antropóide e símios). A primeira composta por lemuriformes, lorosiformes e tarsiiformes A segunda dividida em Catarrhini (ou primatas do velho mundo) e Platyrrhini (ou primatas do novo mundo). Já Perelman et al. (2011) dividiu-os em: Strepsirrhini (Lorisiformes, Chiromyiformes e Lemuriformes) e Haplorrhini (Tarsiiformes, Platyrrhini e Catarrhini).

A infraordem Catarrhini (do grego *kata*=inferior, *Rhinos*=nariz) é composta pelos primatas que habitam os continentes da África e da Ásia. São exemplos desse grupo os gorilas, os Chimpanzés, os babuínos e os humanos (BICCA-MARQUES et al., 2006).

Já a infraordem Platyrrhini ou como também são conhecidos: primatas do novo mundo ou primatas neotropicais (do grego *Platy*=largo, chato, *Rhinos*=nariz) são caracterizados pela posição de abertura das narinas voltada para os lados, pelo septo nasal largo e focinho curto. Esse grupo habita as florestas tropicais do Sul do México até o norte da Argentina e estão presentes em todos os países da América do Sul, exceto Chile, Uruguai e de algumas ilhas do Caribe. (WANG et al., 2019). São macacos que variam em tamanho de pequeno a médio (100g a pouco mais de 10Kg), em locomoção, predominantemente quadrúpede, algumas espécies apresentando cauda preênsil e de hábitos arborícolas (REIS et al., 2015).

O Brasil é o país com maior riqueza em primatas neotropicais (Platyrrhini) do mundo, se destaca juntamente com a Colômbia e o Peru. A grande extensão territorial, presente em quase sua totalidade (92%) na faixa intertropical albergando florestas tropicais úmidas, como a Floresta Amazônica e Mata Atlântica; e formações florestais, como o Cerrado, Caatinga e Pantanal; proporciona ambientes diversos, e conseqüentemente, apresenta animais adaptados a essas diferentes áreas o que leva a ampla diversidade de primatas (JERUSALINSKY; MELO, 2018).

Os PNH têm um papel central na diversidade biológica tropical e nos processos, funções e serviços de ecossistemas (ESTRADA et al., 2020). Os primatas desempenham fundamental função para o equilíbrio da cadeia silvestre. Assumem papel ecológico de presa e de caçador, interagem em mutualismo com outras espécies. São dispersores de sementes de angiospermas, e por esta razão, participam do fornecimento de diferentes alimentos (como pólen, néctar, frutas) para vários animais, incluindo os humanos. Além da proximidade biológica com os humanos, os PNH oferecem conhecimento a respeito da história evolutiva, sobre o comportamento e a saúde humana (ESTRADA et al., 2017, 2018). De acordo com o Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Primatas da Mata Atlântica e da Preguiça-de-Coleira são mais de 139 espécies e subespécies de símios. Na Mata Atlântica estão presentes 23 espécies (BRASIL, 2019). De acordo com Reis et al. (2015) são cinco famílias totalizando 19 gêneros descritos na tabela 1. Alguns exemplares do grupo Platyrrhini são apresentados na Figura 1.

Em contraste a riqueza de espécies existe relevante rol de ameaças ao estado de conservação dos primatas no Brasil (JERUSALINSKY; MELO, 2018). Na portaria do

Ministério do Meio Ambiente (MMA) nº 148, de 7 de junho de 2022 apontam 35 espécies brasileiras em algum grau de ameaça a extinção.

Tabela 1. Família, gênero e tamanho de primatas Platyrrhini do Brasil.

Família	Gênero	Peso (g)	Comprimento cabeça-corpo (cm)	Comprimento cauda (cm)
Callitrichidae	<i>Callibela</i>	150 -185	16	23
	<i>Callimico</i>	420	24	29
	<i>Callithrix</i>	260-470	20	30
	<i>Cebuella</i>	130	13	20
	<i>Leontopithecus</i>	600	27	39
	<i>Mico</i>	400	22	33
	<i>Sanguinus</i>	450	22	35
Cebidae				
Subfamília Saimiriinae	<i>Saimiri</i>	790	29	39
Subfamília Cebinae	<i>Cebus</i>	3.100	41	46
	<i>Sapajus</i>	2.500-3.200	40-42	43,5
Aotidae	<i>Aotus</i>	700-1.200	34-38,5	31-39,5
Pitheciidae				
Subfamília Callicebinae	<i>Callicebus</i>	800-2.000	25-75	40-51
Subfamília Pitheciinae	<i>Cacajao</i>	4.000	45,5	17
	<i>Chiropetes</i>	3.000	35	45
	<i>Pithecia</i>	1.500-3.500	36-53,5	40-44,5
Atelidae				
Subfamília Alouattinae	<i>Alouatta</i>	6.200-7.200	49-74,2	52,5-68,5
Subfamília Atelinae	<i>Ateles</i>	7.000-10.400	46-60	82,5-84
	<i>Brachyteles</i>	9.300-10.000	48.4-48,7	73,9-75,3
	<i>Lagothrix</i>	7.050-8.660	49,6-55,5	62,5-71

Fonte: Adaptado de Reis et al. (2015).

Os fatores de risco que ameaçam essas espécies, são principalmente, a destruição e perturbação dos ambientes florestais (ESTRADA et al., 2018). O desmatamento vem reduzindo e fragmentando a área de vida desses animais. De acordo com o Plano Ação Nacional (PAN) para conservação de primatas da Mata Atlântica as principais atividades humanas envolvidas no desmatamento são as atividades de agricultura e pecuária; a construção de infraestruturas para expansão urbana; a caça e a retirada de indivíduos para a comercialização ilegal; acidentes em áreas periurbanas e de rodovias, como eletrocussão e atropelamentos; e agentes patogênicos

e a mudança climática. Ademais, outros riscos são a hibridização de espécies, presença de espécies invasoras e a competição por território e alimentos. (BRASIL, 2019).

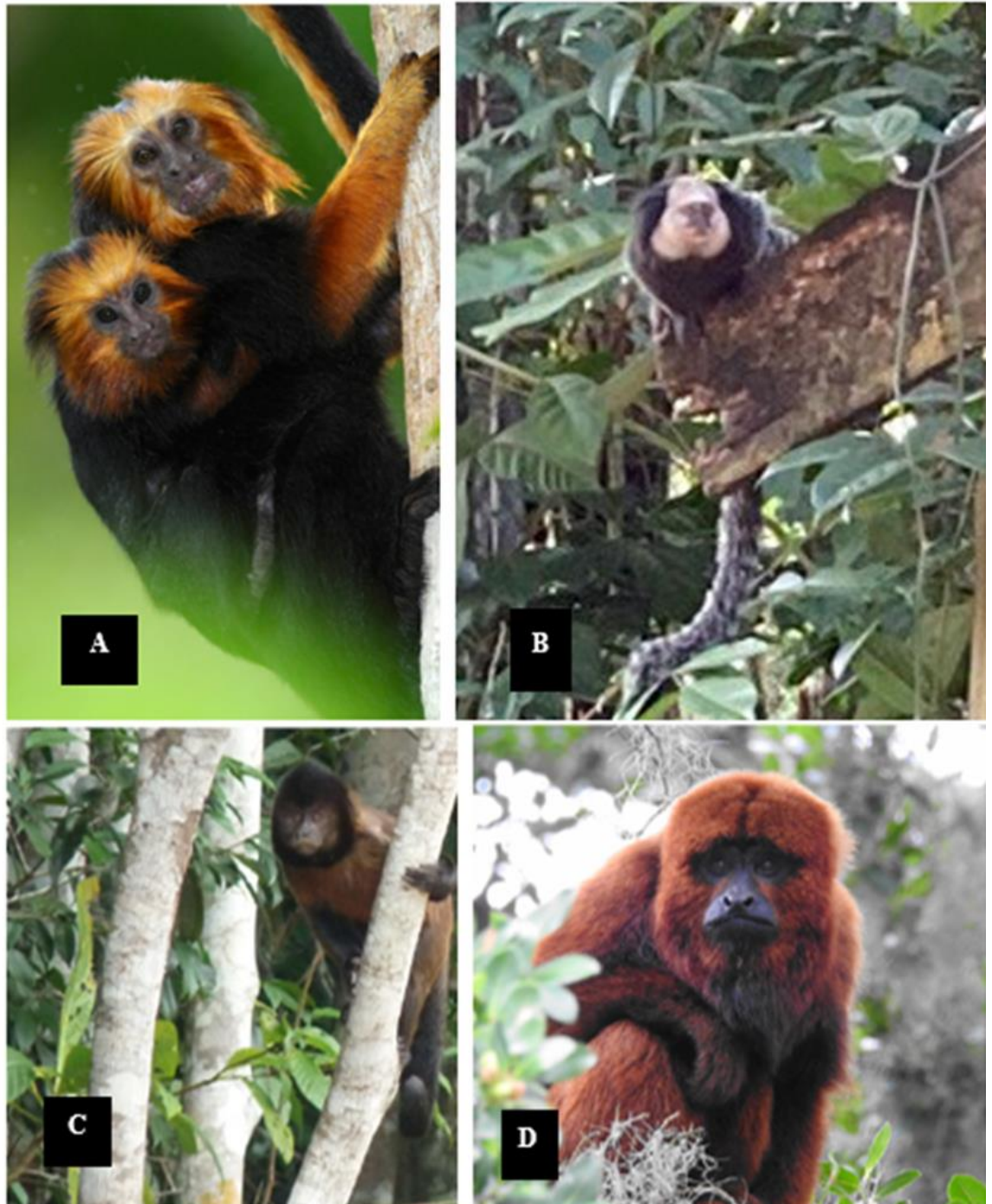


Figura 1. Exemplos de espécies de primatas Platyrrhini: Dois indivíduos, um filhote e um adulto de Mico leão da cara dourada da espécie *Leontopithecus chrysomelas* (A); Sagui-de-cara-branca da espécie *Callithrix geoffroyi* (B); Macaco prego da espécie *Sapajus robustus* (C) e Bugio marrom da espécie *Alouatta guariba* (D). Fonte: Adaptado de Brasil (2019) e arquivo pessoal.

Uma avaliação realizada por Estrada et al. (2017) indicou que mais da metade das espécies de PNH estão próximas da extinção. Pressões provenientes do aumento da população global e da expansão das atividades econômicas a demandas insustentáveis exigem extrações de recursos e conversão de áreas florestais em áreas de expansão urbana, áreas para produção industrial, para a agricultura e a pecuária que afeta negativamente cerca de 59% das espécies de primatas neotropicais (ESTRADA et al., 2020).

Outras ameaças são a construção de estradas e ferrovias, mineração, construções de barragem afetando cerca de 1 a 13% das espécies (ESTRADA et al., 2018). A carne de animais silvestres comercializada em mercados, decorrente de caça tem tornando-se um impulso para o declínio da população de PNH. Juntamente com a captura e a comercialização legal ou ilegal do todo ou de partes desses animais, seja para fins de consumo, para pesquisas biomédicas, para coleção em zoológicos ou criação como *pets*. Nos dados da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES) reportaram no período de 2005 a 2014 o comércio de 450.000 indivíduos vivos mais 11.000 de partes dos animais comercializadas. Dentre as espécies 4% foram neotropicais totalizaram 13 gêneros envolvidos (ESTRADA et al., 2017).

A perda do habitat devido a áreas de agricultura (afetando 76% das espécies), exploração das florestas e colheita de madeira (31%), como também, caça e captura desses animais (60%) sendo as maiores ameaças as espécies de primatas do mundo. A fragmentação e perda de habitat, devido ao desmatamento e à urbanização, levam a mudanças nos hábitos alimentares desses animais (SANTOS et al., 2014).

Segundo esses fatores de risco que ameaçam as espécies de primatas regionalmente, o PAN identificou como alvo de proteção 13 espécies de símio da Mata Atlântica: duas espécies classificadas como “Críticamente em Perigo”: *Alouatta guariba guariba* e *Brachyteles hypoxanthus*; oito espécies como “Em Perigo”: *Brachyteles arachnoides*, *Callithrix aurita*, *Callithrix flaviceps*, *Leontopithecus caissara*, *Leontopithecus chrysomelas*, *Leontopithecus chrysopygus*, *Leontopithecus rosalia* e *Sapajus robustus*; e três espécies como “vulneráveis”: *Alouatta guariba clamitans*, *Callicebus melanochir* e *Callicebus personatus*. Além disso, contempla três primatas categorizados como “quase ameaçados”: *Sapajus nigritus nigritus*, *Sapajus nigritus cucullatus* e *Callithrix kuhli* descritos na portaria ICMBio nº 702/2018.

Além dos impactos das ações antrópicas os PNH outra ameaça para sua conservação são a exposição às doenças infecciosas emergentes. O aumento do contato com os humanos e animais domésticos ou com surtos epizooticos podem levar ao declínio da população de primatas (ESTRADA et al., 2018).

Alguns levantamentos foram realizados (SOLÁRZO-GARCIA; LEÓN, 2018; CARRILLO-BILBAO; MARTIN-SOLANO; SAEGERMAN, 2021; RODÓN et al., 2021) a fim de avaliar a presença de agentes patogênicos que acarretam ameaça a conservação dos PNH, os quais podem ser considerados hospedeiros reservatórios, ou seja, aqueles responsáveis pela sobrevivência desses agentes no ambiente silvestre.

Os PNH podem albergar patógenos de variadas classes de doenças zoonóticas; as doenças virais: como os arbovírus da Febre Amarela, o Herpes vírus e o vírus da Raiva; as doenças bacterianas como Salmoneloses, Clostridioses e Tuberculose; as doenças fúngicas: Histoplasmose, Esporotricose, Candidíase; e ademais, as doenças parasitárias: como verminoses, Amebíase, Tripanossomíase, Leishmaniose, Toxoplasmose e Malária (VERONA; PISSINATI, 2014; HOPPER, 2021).

Na revisão de Carrillo-Bilbao, Martin-Solano e Saegerman (2021) foi feita uma revisão sobre patógenos transmitidos pela corrente sanguínea em PNH da região Neotropical e foram observados em estudos realizados no período de 1929 até 2019 a identificação de 56 diferentes patógenos em 25 gêneros (132 espécies) de PNH. O grupo com maior número de estudos reportados em primatas foram os protozoários, os quais dos 197 estudos avaliados totalizaram 128 em comparação às bactérias (n=12) e vírus (n=57). Entre os agentes mais pesquisados estão *Plasmodium brasilianum* e *Trypanosoma cruzi*.

O estudo realizado por Kuris (2012) verificou que entre as doenças causadas por parasitos, os protozoários apresentam 47% de prevalência em processos mórbidos. O que também foi corroborado pela revisão apresentada por Rondón et al. (2021) cuja detecção foi de 45,9% dos estudos detectaram protozoários em símios de vida livre. Os protozoários mais frequentes identificados em primatas foram *Giardia* sp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Trypanosoma cruzi* e *Toxoplasma gondii*. Ainda foi possível concluir que o Brasil registrou o maior número de pesquisa de parasitos em primatas da América Latina.

Segundo Santana, Mesquita e Filho (2014) as doenças parasitárias, são muitas vezes negligenciadas na saúde da população humana e animal. Os parasitos são as formas de vida mais comuns e são importantes componentes dos ecossistemas, atuando como agentes de seleção natural, apresentando um risco para conservação biológica de espécies silvestres, podendo desencadear ou acelerar o declínio de populações e para as espécies ameaçadas, o risco é ainda maior (ALTIZER et al., 2007; PAFČO et al., 2017). Para Solórzano-García e León (2018), o estudo dos parasitos é fundamental para a primatologia dada a sua significância ecológica e os seus efeitos sobre a demografia, o comportamento e a evolução dos primatas, e especialmente, avaliar a vulnerabilidade às infecções parasitárias.

O parasitismo é considerado uma das ameaças a existência de populações silvestres, a fauna parasitária destes animais pode ser alterada e se tornar um risco para a saúde daqueles que vivem em habitats naturais perturbados por atividades humanas e em contato com agentes zoonóticos e antropozoonóticos (CONGA, 2018; SOLÓRZANO-GARCÍA; LEÓN, 2018).

As doenças infecciosas emergentes causam grande impacto na saúde pública, na segurança alimentar, na economia e no ambiente (KUIKEN et al., 2005). O impacto ambiental de doenças infecciosas emergentes são ameaças para a conservação da população de animais silvestres o que pode levar a evento de extinção (WALSH et al., 2003). Os animais, em particular, os animais silvestres podem ser a fonte de 70% de todas as infecções emergentes (TAYLOR; LATHAM; WOOLHOUSE, 2001). Desse modo, a vigilância de patógenos zoonóticos e sua transmissão natural em animais silvestres é crítico para o manejo dessas infecções (KRUSE et al., 2004).

4.2 Toxoplasmose

A Toxoplasmose é uma doença zoonótica causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. É uma doença negligenciada que afeta um terço da população humana. É um problema importante para a saúde pública mundial. É considerada uma das doenças zoonóticas mais prevalentes em animais vertebrados do mundo (TENTER et al., 2000; DUBEY, 2022). E estima-se que na América Central, do Sul e no continente Europeu a taxa de infecção seja entre 30 a 90% em humanos (AGUIRRE et al., 2019), sendo amplamente prevalente em população de animais (DUBEY, 2022).

4.2.1 Aspectos Gerais

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório, cosmopolita com capacidade de infectar um amplo rol de hospedeiros de animais vertebrados, incluindo os humanos (WHO, 2015; DUBEY, 2008; DUBEY; JONES, 2008).

A infecção por *T. gondii* apresenta ampla prevalência em animais e humanos em todos os continentes com diferentes climas, sendo descrito em mais de 350 espécies de animais vertebrados homeotérmicos (NIEHAUS et al., 2020).

Pertence ao Filo Apicomplexa, Classe Conoidasida, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidiia Família Sarcocystidae e a Sub-família Toxoplasmatinae (DUBEY, 2010). Os felídeos, domésticos e silvestres são os hospedeiros definitivos deste parasito eurixeno (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005).

O gênero *Toxoplasma* foi identificado pela primeira vez em um roedor *Ctenodactylus gundii* em 1908 na Tunísia por Nicolle e Manceaux (1908). A princípio foi confundido com o protozoário do gênero *Leishmania*, mas logo perceberam se tratar de um organismo ainda não identificado, cujo o nome decorreu do seu aspecto morfológico seguido do nome do hospedeiro no qual foi encontrado (*Toxo*=arco; *plasma*=vida) (NICOLLE MANCEAUX, 1909).

No mesmo ano o pesquisador italiano Splendore (1908) identificou o mesmo agente em uma espécie de coelho no Brasil, este também, foi confundido com *Leishmania*, e apresentou um quadro de infecção aguda evoluindo ao óbito. Splendore enviou as amostras de tecido para o que viria a se tornar o Instituto Oswaldo Cruz para a tentativa de identificar o agente. No decorrer da história o agente foi descrito em diversas espécies diferentes (DUBEY, 2008; DUBEY, 2009; SOUZA; BELFORT, 2014; DUBEY, 2020).

Apesar da descoberta do agente ter ocorrido no início do século XX o ciclo evolutivo só foi ser descrito na década de 70 por Frenkel, Dubey e Miller (1970). Até então só eram conhecidos os estágios assexuais do parasito (taquizoítos e bradizoítos) com a descoberta da fase sexual do ciclo e o estágio de vida ambiental pode-se compreender a alta prevalência mundial (DUBEY, 2009).

4.2.2 Ciclo Evolutivo de *Toxoplasma gondii*

Entre animais as principais formas de infecção são pelo carnivorismo, ingestão de carne crua contendo os cistos teciduais, pela ingestão de alimentos, água e solo contaminados por oocistos, ou por via congênita (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005; DUBEY, 2010). Embora as várias formas de transmissão o carnivorismo é a via mais eficiente de transmissão para os hospedeiros (DUBEY, 2009).

Em humanos a principal via também ocorre pela ingestão de cistos teciduais e oocistos; outras vias são pela transmissão vertical de mãe para filho (transplacentária), e em menor importância a transmissão pode se dá por transfusão sanguínea ou transplante de órgãos, venérea e durante o aleitamento (DUBEY, 2022).

As três formas infectantes do protozoário *T. gondii* são: os Taquizoítos, os Bradizoítos nos cistos teciduais e os Esporozoítos encontrados no interior dos oocistos (Figura 2).

Os taquizoítos tem morfologia alongada, com forma semilunar, região anterior afilada e a região posterior arredondada, com a capacidade de invadir as células e se dividir assexuadamente por endodiogenia. É o estágio ativo, de rápida multiplicação e o mais provável de causar sinais clínicos (WYROSDICK; SCHAEFER, 2015). Podem ser encontrados livres na

corrente sanguínea ou no interior de células nucleadas na fase aguda da infecção (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012).

Os Bradizoítos possuem forma similar a dos taquizoítos, contudo, dividem-se lentamente e formam cistos como mecanismos de proteção ao sistema imune do hospedeiro. São encontrados na fase crônica da infecção encistados nos tecidos dos hospedeiros, como nos músculos, no fígado, nos rins e no cérebro. Os cistos podem se manter latente por anos, sendo reativado se o sistema imune for comprometido (DUBEY, 2010; WYROSDICK; SCHAEFER, 2015).

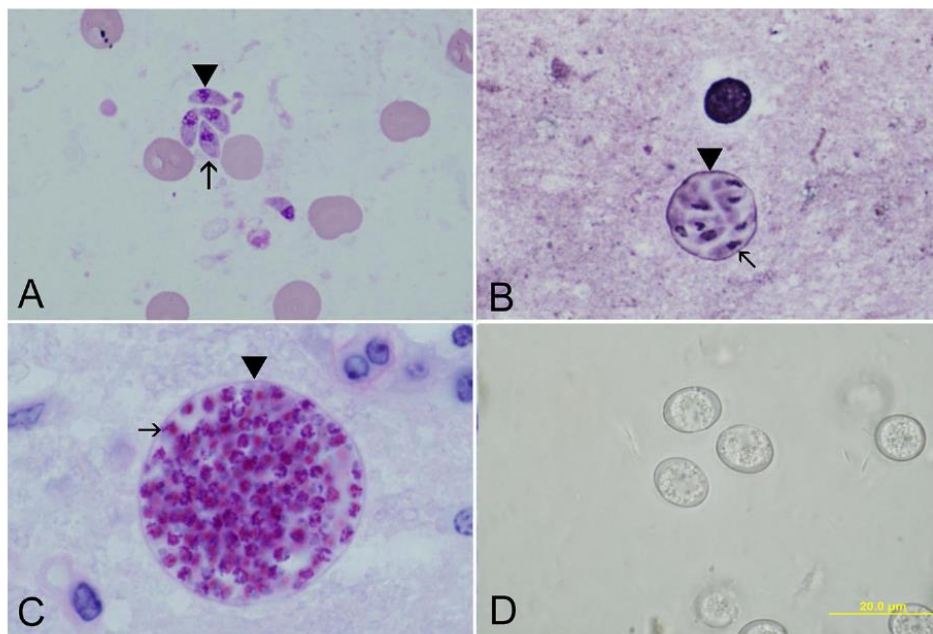


Figura 2. Estágios de vida de *Toxoplasma gondii*.

(A) Taquizoítos em esfregaço com coloração Giemsa (cabeça da flecha); (B) Pequeno cisto tecidual contendo Bradizoítos em esfregaço corado com Giemsa e prata; (C) Cisto tecidual contendo bradizoítos em PAS; (D) Oocistos não esporulado em fezes de gatos, não corado. Fonte: Adaptado de Dubey, 2020.

Os Esporozoítos são a forma infectante ambiental, são encontrados no interior dos oocistos e necessitam de temperatura e umidade ideal para esporular, tornando-se infectante. Os oocistos são formados nas células intestinais de felídeos por reprodução sexuada (gametogonia) e liberados nas fezes. Após a esporulação conterá no seu interior dois esporocistos, cada um com 4 esporozoítos. A esporulação, normalmente, ocorre entre um a cinco dias no ambiente (DUBEY, 2010; WYROSDICK; SCHAEFER, 2015).

Os gatos tem um papel importante na epidemiologia da toxoplasmose. A transmissão nesses animais se dá, principalmente, pela ingestão de presas infectadas (pequenos roedores, aves e outros pequenos mamíferos) (MONTAZERI et al., 2020). Os felídeos podem se

comportar como hospedeiros definitivos e intermediários. É no hospedeiro definitivo que ocorre a reprodução sexuada gerando os oocistos, formas de resistência ambiental. A maioria dos gatos excretam os oocistos, principalmente, nos primeiros dias ou semanas após a infecção, embora as infecções crônicas e em imunossuprimidos esse período pode se estender ou repetir a excreção (DUBEY, 2010; AFONSO et al., 2013).

O ciclo evolutivo heteroxeno facultativo (figura 3) tem a fase assexuada que pode ocorrer nos hospedeiros intermediários e nos hospedeiros definitivos dá-se após a ingestão de cistos teciduais ou de oocistos esporulados (TENTER et al., 2000). Após a ingestão a parede dos cistos teciduais ou oocistos sofrem digestão por enzimas proteolíticas presentes no trato digestório (DUBEY, 2010).

Os bradizoítos ou esporozoítos agora livres penetram as células no epitélio intestinal e por endodiogenia se multiplicam no interior do vacúolo parasitóforo. Após sucessivas divisões a célula se rompe e libera os taquizoítos que se difundem pela corrente sanguínea e linfática, estes invadem novas células nucleadas, multiplicando-se continuamente o que configura a fase aguda da infecção (DUBEY; FRENKEL, 1998). Após a resposta imune, para burlar o sistema de defesa o parasito diminui o metabolismo e taxa de replicação, diferenciando-se em bradizoítos que se encistam em tecidos na musculatura cardíaca e esquelética, nos olhos, no cérebro, pulmão, fígado e rins, formando os cistos teciduais caracterizando a fase crônica da infecção (DUBEY; FRENKEL, 1998; ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012).

No epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos ocorre o ciclo sexuado. Depois da ingestão oocistos ou cistos teciduais, os esporozoítos ou os bradizoítos penetram nas células epiteliais do intestino delgado e começam a se multiplicar por endodiogenia diferenciando até formar os merozoítos (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005; DUBEY, 2010). Estes últimos se desenvolvem em microgametócitos (formados por gametas masculinos), flagelados e móveis, e em macrogametócitos (formados por gametas femininos). Após a fecundação origina-se o zigoto que se desenvolve, segrega a parede cística, transformando-se em oocisto. Os oocistos não esporulados são expelidos junto com as fezes no ambiente. Em condições de temperatura e umidade ideais sucedem a esporogonia e passam a albergar dois esporocistos cada um com quatro esporozoítos (DUBEY, 2010; CDC, 2022).

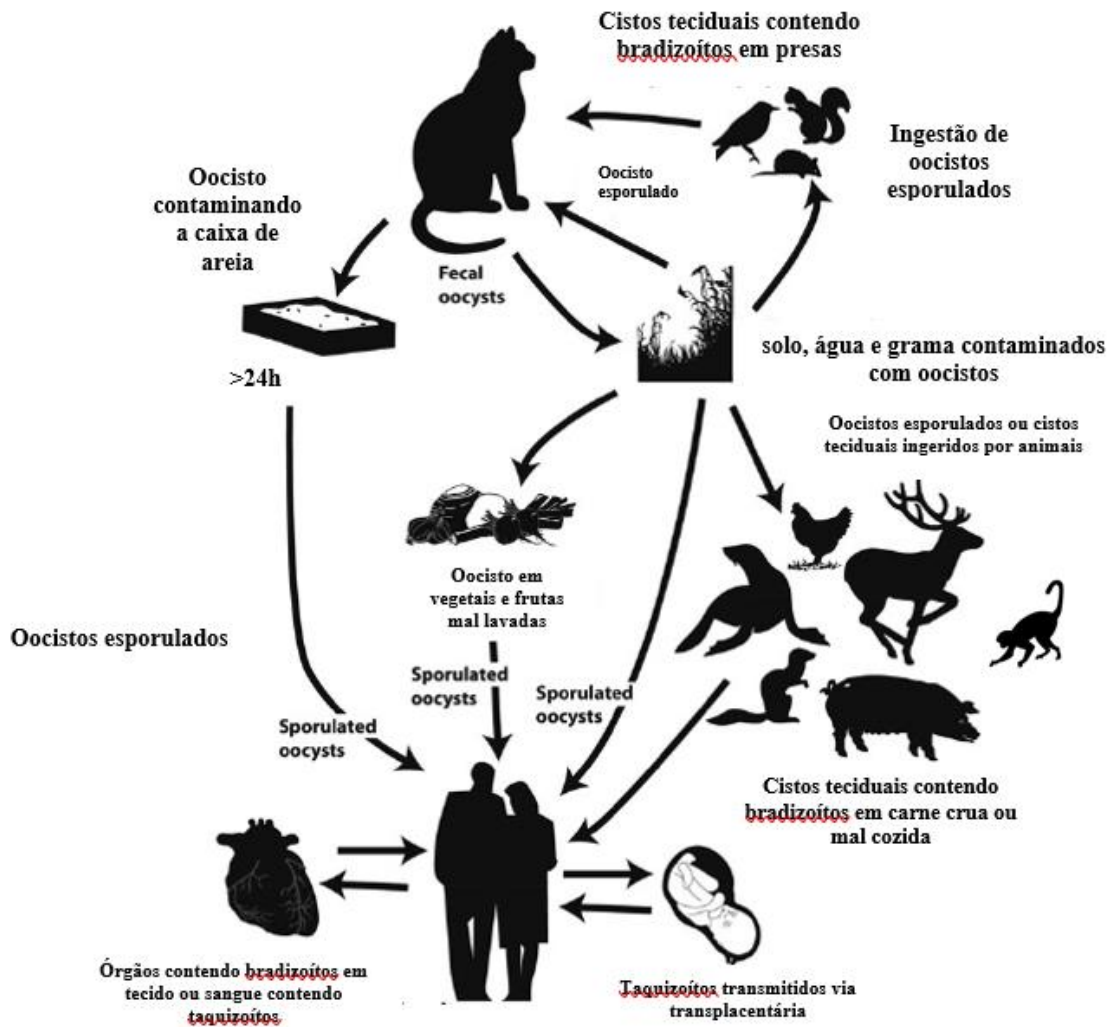


Figura 3. Ciclo evolutivo de *Toxoplasma gondii*. Fonte: Adaptado de Wyrosdick; Schaefer (2015).

4.2.4 Toxoplasmose em Primatas Não-Humanos

De acordo com Dubey (2022) sabe-se pouco sobre a susceptibilidade de primatas do novo mundo em relação à infecção por *T. gondii*, muito menos se conhece sobre a diversidade genética. O primeiro caso de toxoplasmose em primatas Platyrrhini foi descrito em um *Stentor seniculus* criado em cativeiro no Suriname (THEZÉ, 1916). E desde então vários casos tem sido reportados.

Dubey (2010) resumiu casos de óbitos por toxoplasmose em símios do período de 1935 a 2008. Os primatas são considerados como hospedeiros intermediários no ciclo da toxoplasmose. Sabe-se que os primatas do velho mundo demonstram resistência à infecção natural por *T. gondii*, e é, conseqüentemente, incomum o desenvolvimento de manifestações clínicas. Já os platirrininos apresentam alta susceptibilidade, desenvolvendo alterações clínicas

agudas e graves como anorexia, depressão, linfadenite, enterite mesentérica, hepatite, pneumonia, entre outras, e podem também apresentar alterações neurológicas em um grau mais severo da doença, evoluindo à óbito na maioria dos casos (CARME et al., 2009; KINDLOVITS; KINDLOVITS, 2009; CASAGRANDE et al., 2013; DUBEY et al., 2021).

Em um estudo que avaliou 33 primatas Platyrrhini de diferentes espécies que desenvolveram toxoplasmose fatal, observaram que os sinais clínicos *ante-mortem* foram variados, desde indivíduos assintomáticos, àqueles apresentando apatia, anorexia, dispneia, hipotermia, secreção nasal serossanguinolenta. Na avaliação histopatológica lesões agudas e fatais foram observadas em vários sistemas do corpo, as mais frequentes foram congestão e edema pulmonar, hepatomegalia, esplenomegalia e linfadenite mesentérica hemorrágica (EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003).

Entre as espécies de primatas Platyrrhini foi observado que alguns apresentam maior susceptibilidade à infecção por *T. gondii* do que outros. Os gêneros pertencentes a família Callitrichidae parecem ser os mais suscetíveis, seguido pelos gêneros *Ateles* e *Alouatta* pertencentes a família Atelidae e os gêneros *Aotus* e *Saimiri* da família Cebidae. Em contraste, o gênero *Cebus* e *Sapajus* da família Cebidae parecem ser menos suscetíveis ao agente etiológico criando resposta imunológica e sobrevivendo à infecção (NIEHAUS et al., 2020; PAULA et al., 2020).

Os gêneros *Saimiri*, *Aotus*, *Ateles*, e *Alouatta* podem apresentar sinais agudos e graves da doença com taxa de mortalidade entre 20 a 80% (CATÃO-DIAS, EPIPHANIO e KIERULFF, 2013). Relatos de infecção experimental e natural demonstram a suscetibilidade desta espécie. Em infecção experimental por *T. gondii* foi observada frequente desenvolvimento de inflamação necrótica multifocal aguda com alta possibilidade de óbito em *Saimiri sciureus* (ANDERSON; MCCLURE, 1982). Já em infecções naturais Cunningham et al. (1992) relataram quadro de epizootia ocorrida em um zoológico em Londres. Dezesete indivíduos da espécie *Saimiri sciureus* desenvolveram a doença e cinco deles foram ao óbito. E Cedillo-Peláez et al. (2011) relataram a forma aguda e fatal da toxoplasmose caracterizada por edema pulmonar grave, pneumonia intersticial difusa em primeiro relato da infecção da espécie *Saimiri sciureus* descrita na Cidade do México.

Na Costa Rica foram avaliados símios de vida livre e a prevalência em animais do gênero *Alouatta* apresentaram 6,6% (10/151) de soropositivos (NIEHAUS et al., 2020). Em São Paulo foi realizado uma pesquisa com diferentes espécies de mamíferos silvestres, dos 26 animais atendidos no Centro Universitário de Rio Preto seis foram primatas Platyrrhini da

espécie *Alouatta caraya* (5) e *Cebus apella* (1). Foi realizado teste sorológico (MAT) apenas em um indivíduo da espécie *A. caraya* foi detectado anticorpos anti-*T. gondii*.

Niehaus et al. (2020) explicam que os calitriquídeos (os gêneros *Sanguinus*, *Leontopithecus*, *Callithrix*) são bastante suscetíveis à infecção com a taxa de mortalidade de quase 100%, o que pode resultar em uma baixa soroprevalência, pois os animais morrem antes de serem diagnosticados, principalmente animais em condição de vida livre.

Molina et al. (2017) avaliaram 136 micos-leões-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) de vida livre no Rio de Janeiro e não foram identificados nenhum mico soropositivo. Esses animais tinham contato com o ambiente urbano, tanto com a população humana, como também, com a população de animais domésticos, inclusive, com os gatos doméstico. Os autores determinam duas vertentes para esse resultado: a possibilidade de que esses indivíduos não tiveram contato com *T. gondii* ou que se houve infecção os indivíduos infectados foram à óbito antes de realizar soroconversão, não gerando infectados sobreviventes. Esta última hipótese ratifica a suscetibilidade deste grupo à infecção.

Um inquérito sorológico realizado com *Leontopithecus chrysomelas* na região do sul da Bahia avaliou a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. Os animais capturados habitam ambientes de Reserva biológica, de sistemas agroflorestais e em fragmentos florestais, e são monitorados a fim de manter a conservação da espécie que é endêmica dessa região. Foi observada a prevalência de 2,72% (4/147) de soropositivos. Três dos quatro animais positivos foram provenientes de área agroflorestal. Nesse ambiente ocorre bastante manipulação do solo e das espécies vegetais florestais para a realização do plantio de espécies vegetais produtivas, dessa forma cria-se maior espaçamento entre as árvores impelindo que os animais desçam aos solos com maior frequência para se deslocar e para buscar alimentos (LORDELO, 2021).

Já no estudo feito por Pires et al. (2012) foram avaliados animais em Centro de Triagem (CETAS) em Seropédica no estado do Rio de Janeiro. Foram analisados por HAI a prevalência em animais do gênero *Cebus* e *Callithrix* e os achados foram interessantes. Os primatas do gênero *Cebus* apresentaram alta taxa de prevalência 76,19% (16/21) o que fortalece ainda mais a hipótese de criação de resposta imune para à infecção nesse grupo de primatas. Esses animais apresentam hábitos terrestres, além dos hábitos arborícolas. Todos os animais positivos não apresentaram nenhum sinal clínico de doença. Já no gênero *Callithrix* a prevalência apresentada foi baixa 4,5% (1/22). Epiphanyo et al. (2003) relataram que esta espécie pode portar a doença de forma aguda e severa o que pode levar a pensar em baixa resposta imunológica e que a infecção pode ser fatal nesse grupo.

Os primatas do gênero *Cebus* podem apresentar infecções na forma subagudas e moderadas, com baixa taxa de mortalidade e elevados títulos de Imunoglobulina G (BOUER et al., 2010). Garcia et al. (2005) observaram durante a pesquisa no estado do Paraná a prevalência de 30.2% (13/43) em macacos do gênero *Cebus* e 17,6% (3/17) em *Alouatta caraya*, presumindo que o risco da infecção nos primatas está atrelado ao contato com os humanos. No estado de Sergipe a prevalência encontrada em primatas de zoológico de Aracaju foi de 21,4% (3/14) em *Cebus libidinosus* e 75% (3/4) em *Cebus xanthosternus* (PIMENTEL et al., 2009).

A pesquisa conduzida por Paula et al. (2020) 57 primatas residentes do zoológico de Belo Horizonte foram testados para anticorpos anti-*T. gondii*. Foram detectados a presença de 6,38% (3/47) soropositivos entre os primatas neotropicais e 100% (10/10) de soropositivos entre os primatas do velho mundo. Todos os animais soropositivos foram da espécie *Sapajus apella*. Enquanto que os primatas do velho mundo apresentam uma exposição não letal ao *T. gondii* tendo tempo de desenvolver uma resposta imunológica a infecção (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000).

Grumann et al. (2017) também encontraram alta prevalência em *Sapajus* spp. 100% (18/18) em estudo no Rio Grande do Sul que avaliou 21 platirrinos. Os três *Alouatta* spp. testados foram soronegativos.

Em um inquérito sorológico avaliando a prevalência em animais silvestres alojados em dois zoológicos um em Cuba (PZN) e outro no Rio de Janeiro (RIOZOO) foram avaliados a presença de anticorpos em primatas platirrinos residentes. Foram utilizados o ELISA e o MAT, respectivamente. No zoológico PZN haviam três indivíduos: *Cebus albifrons* (1) e *Sapajus apella* (2), enquanto que no zoológico RIOZOO haviam 64 indivíduos: *Aotus azarae* (3), *A. nigriceps* (2), *Alouatta seniculus* (2), *Ateles paniscus* (1), *Callicebus brunneus* (1), *Chiripotes utahickae* (2), *Pithecia irrorata* (4), *Cebus albifrons* (6), *C. kaapori* (1), *Sapajus apela* (12), *S. Flavius* (6), *S. robustus* (6), *S. xanthosternos* (18). Com a prevalência de 0% (0/3) em platirrinos no PZN e de 54,69% (35/64) no RIOZOO. As espécies com maior prevalência para anticorpos anti-*T. gondii* foram as do gênero *Sapajus* (VILLAR-ECHARTE et al., 2021).

Grande parte dos estudos sejam patológicos *post-mortem* e sorológicos, com soros obtidos de animais vivos, são realizados com animais em condição de cativeiro. Este grupo pode estar sujeito a maiores riscos de infecção pelo protozoário (CUNNINGHAM et al., 1992; EIPHANIO, TEIXEIRA E CATÃO-DIAS, 2001; BOUER et al., 2010; MINERVINO et al., 2010). Como vivem cativos, esses animais tem maior contato com humanos, recebem alimentos provenientes dos seus cuidadores, podem ter contato com animais domésticos como o gato. Em animais em condição de vida livre ainda há a necessidade de compreender a forma como esses

animais se contaminam principalmente, em espécies com hábitos majoritariamente arborícolas (EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003).

Acredita-se que pelo fato de alguns Platyrrhini viverem por muito tempo em árvores, não tendo contato frequente com os felinos e conseqüentemente diminuindo o risco de contato com oocistos, possibilitou que esses animais não obtivessem o desenvolvimento de uma resposta imune eficiente para combater este protozoário (DUBEY, 2010; DUBEY et al. 2021). Por ser um agente transmitido por via fecal-oral, a dieta é um fator de risco importante para a transmissão da infecção. Os estudos de Ferreira et al. (2015) e de Cano-Terriza et al. (2019) propõem que os fatores de risco estão relacionados com a dieta dos primatas, para aqueles que se alimentam de carne crua ou presas.

Os platirrinos têm hábitos comportamentais e alimentares bastante diversificados, cada família pode apresentar características alimentares próprias. O grupo da família Atelidae (composto pelo gênero *Alouatta* por exemplo) com hábitos folívoros suplementando a dieta com algumas frutas, flores e sementes e a maioria das espécies tem preferência por viver na copa das árvores, em níveis mais altos, mas algumas espécies como *A. caraya* podem regularmente descer ao solo (CATÃO-DIAS; EPIPHANIO; KIERULFF, 2013).

Já a família Cebidae e Callitrichidae tem hábitos onívoros. Os gêneros *Cebus*, *Sapajus* e *Saimiri* podem se alimentar de frutas, folhas, sementes, invertebrados e pequenos vertebrados, além de néctar e ovos, preferem viver na copa das árvores, mas descem ao solo para se locomover no espaço e para buscar alimentos. Os calitriquídeos se alimentam de frutos, sementes ou grãos, goma de plantas, invertebrados e pequenos vertebrados como anuros, ovos e filhotes de aves (CATÃO-DIAS; EPIPHANIO; KIERULFF, 2013, REIS et al., 2015).

De acordo com Paula et al. (2020) *Sapajus apella* são animais onívoros com a dieta baseada em frutas, sementes e pequenos vertebrados e se movem pelo solo por muitas horas forrageando, à procura de alimentos. Em comparação a outras espécies que apresentam hábitos essencialmente arborícolas, esta espécie pode ter tido maior contato com o protozoário e desenvolvido uma resposta imunológica similar ao que ocorre com os primatas do velho mundo. Isto pode ser corroborado pelo estudo sorológico realizado por Epiphanio, Teixeira e Catão-Dias (2001) que ao avaliar quatro famílias de platirrinos que viviam em zoológicos, identificaram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em 0,95% (1/110) de calitriquídeos, em 50% (1/2) de atelídeos, em 68,9% (73/106) de cebídeos e em 30% (9/30) de atelídeos.

Ferreira et al. (2015) avaliaram os fatores de risco associados à infecção em *Sapajus* spp. residentes no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) e Zoológicos provenientes de cinco estados do nordeste do Brasil (Alagoas, Paraíba, Pernambuco, Piauí e

Rio Grande do Norte). Foram comparados variáveis como fonte de água, origem dos animais, presença de gatos domésticos, ingestão de carne crua, armazenamento de frutas, espécie, idade. Concluíram que os fatores de risco associados à animais em condição de cativeiro são a idade e a dieta fornecida aos animais. Em relação à idade os animais mais velhos estão mais sujeitos a contrair o parasito, pois tem maior tempo de vida para entrar em contato com fontes de infecção. No que se refere à dieta, a oferta de carne crua é o grande risco para este grupo de primatas, devendo ser instituído um protocolo para biossegurança alimentar, com medidas de segurança estendidas a outros tipos de alimentos e a fonte de água.

Outros fatores de risco para a transmissão da infecção entre os animais podem ser a presença e distribuição de felinos e roedores, silvestres ou domésticos, nas áreas habitadas pelos primatas; da existência de estresse ambiental; das interações territoriais entre as espécies; de características da paisagem e da vegetação; e da susceptibilidade dos hospedeiros (AFONSO et al., 2007; HORN et al., 2011; NIEHAUS et al., 2020). Além desses fatores a extensão da área de vida, maiores necessidades energéticas e o tamanho corporal podem influenciar na transmissão (OTTAVIANI et al., 2006).

De toda a forma, em animais de cativeiro são necessários cuidados específicos para a manutenção destes animais, principalmente, a respeito da dieta, da higienização e do controle na circulação de animais. Evitar o uso de alimentos sem higienização prévia na dieta dos animais. Ao utilizar carne realizar congelamentos e cozimentos prévios a oferta. Manter os equipamentos de uso diário separados e individualizados para cada grupos de mamíferos, não utilizar botas, luvas, mangueira de borracha e vassouras em conjunto com o material dos felídeos (BOUER et al., 2010; DUBEY et al., 2021).

O estresse da vida em cativeiro associado a proximidade com os felinos domésticos e/ou silvestres, capazes de eliminar oocistos em fezes, podem estar associados a vulnerabilidade dos animais a contrair o parasito e a desenvolver a doença (DUBEY; BEATIE, 1988).

Dados sorológicos de primatas platirrinos no Brasil sumarizado na tabela 2.

Tabela 2. Estudos sorológicos de primatas platirrinos no Brasil.

Referência	Gênero/Espécie	Condição	Nº examinados	Nº positivos	%	Método diagnóstico	Estado
Garcia et al. (2005)	<i>Cebus; Alouatta caraya</i>	vida livre	60	16	26,7	MAT	PR
Pimentel et al (2009)	<i>Cebus libidinosus; Cebus xanthosternus</i>	Cativeiro	18	6	33,4	MAT	SE
Bouer et al. (2010)	<i>Cebus; Callithrix; Alouatta; Leontopithecus; Ateles; Saimiri; Sanguinus; Aotus; Lagothrix</i>	Cativeiro	206	116	52,63	ELISA-IgM	SP
Minervino et al. (2010)	<i>Ateles paniscus; Cebus apella; Callicebus</i>	Cativeiro	26	15	57,6	MAT	PA/RN
Pires et al. (2012)	<i>Cebus; Callithrix</i>	Cativeiro	43		39,5	HAI	RJ
Silva et al. (2013)	<i>Cebus apella nigritus</i>	vida livre	36	3	8,33	MAT	SP
Ferreira et al. (2015)	<i>Sapajus.</i>	Cativeiro	134	111	82,83	MAT	AL/RN PB/PE/PI
Grumann et al. (2017)	<i>Sapajus; Alouatta</i>	Cativeiro	21	18	85,7	HAI	RS
Minervino et al. (2017)	<i>Ateles paniscus; Leontopithecus ; Sapajus apella</i>	Cativeiro	179	88	49,2	MAT	AM
Molina et al. (2017)	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	vida livre	136	0	0	MAT	RJ
Paula et al. (2019)	<i>Sapajus apella;</i>	Cativeiro	47	3	6,38	RIFI, ELISA, HAI	MG
Vilar-Echarté et al. (2021)	<i>Aotus; Alouatta; Ateles; Callicebus; Chiripotes; Pithecia; Cebus; Sapajus</i>	Cativeiro	64	35	54,69	MAT	RJ
Lordelo (2021)	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Vida livre	147	4	2,72	MAT	BA

AL – Alagoas; AM – Amazonas; MG – Minas Gerais; PA – Pará; PB – Paraíba; PE – Pernambuco; PI – Piauí; PR – Paraná; RJ – Rio de Janeiro; RN – Rio Grande do Norte; RS – Rio Grande do Sul; SE – Sergipe e SP – São Paulo.

4.3 Malária

A malária é uma doença infecciosa vetorial causada por parasitos do gênero *Plasmodium*. É conhecida, também, como Paludismo, febre palustre, tremedeira, febre terçã maligna, sezão, maleita ou febre intermitente (WHO, 2022).

4.3.1 Aspectos Gerais

Os parasitos causadores da malária são os protozoários do gênero *Plasmodium*. Pertencem ao Subreino Protozoa, Filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida, subordem Haemosporina, e é o único gênero pertencente à família Plasmodiidae (FAUST; DOBSON, 2015).

Este gênero é considerado bem sucedido parasitando todos os grupos de vertebrados terrestres. São mais de 200 espécies descritas infectando aves, répteis e mamíferos, incluindo os humanos e PNH (COATNEY et al., 1971; THOISY et al. 2000; TAYLOR; COOL; WALL, 2016; SATO, 2021).

De acordo com o *World Malaria Report* (WHO, 2022) há cinco espécies principais que parasitam os seres humanos: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi*, os dois últimos com habilidade de infectar símios, sendo os PNH hospedeiros naturais destas infecções (WHITE, 2008). A espécie *P. falciparum* está relacionada ao tipo mais severo da doença. A ocorrência de *P. ovale* está restrita a determinadas regiões do continente africano e em casos importados ao Brasil. *P. vivax* é o de maior prevalência em humanos no Brasil, seguido de *P. falciparum*; e com a menor taxa de infecção está *P. malariae* (BRASIL, 2021a).

Por outro lado existem cerca de 29 espécies de *Plasmodium* envolvidos em infecção em PNH: três espécies são de chimpanzés e gorilas (*Pan troglodytes* e *Gorilla gorilla* na África central e oeste); duas de orangotangos (*Pongo pygmaeus* na Indonésia e Malásia); quatro infectam gibões (*Hylobates lar* e *Hylobates moloch* no sudeste da Ásia); onze infectam macacos do Velho Mundo (Família Cercopithecidae na África e Ásia); seis espécies infectam lêmures (*Lemur* spp. em Madagascar) e duas infectam primatas do novo mundo (na América do Sul) (Tabela 3). Estes últimos são *Plasmodium simium* e *Plasmodium brasilianum* (CUROTTO et al., 2012).

Plasmodium simium e *P. brasilianum* são consideradas espécies semelhantes, do ponto de vista morfológico, genético e imunológico, com os agentes da malária humana, *P. vivax* e *P. malariae*, respectivamente (DEANE, 1992; DEANE et al., 1968). Esse fato também ocorre com

as espécies *P. reichenowi* e *P. falciparum* que são indistinguíveis, e respectivamente, infectam chimpanzés e gorilas, e o ser humano (COATNEY et al., 1971).

Estudos realizados por Liu et al (2010) observaram ampla variedade dos parasitos em macacos africanos e, adicionalmente, que algumas das espécies encontradas nos macacos apresentam similaridade genética com uma espécie que parasita humanos, *P. falciparum*. Outra informação interessante é que ambas as espécies *P. falciparum* e *P. reichenowi* são diferentes de todas as outras espécies de *Plasmodium*, assim classificando-as em um subgênero chamado *Laverania* (BRAY, 1963; LIU et al., 2016).

Tabela 3. Espécies de *Plasmodium* descritas em primatas não humanos e seus respectivos hospedeiros naturais e distribuição geográfica.

Grupo e Local	Espécie de <i>Plasmodium</i>
Chimpanzés e Gorilas África central e oeste	<i>P. reichenowi</i>
	<i>P. rodhaini</i>
	<i>P. schwetzi</i>
Orangotangos Indonésia e Malásia	<i>P. pitheci</i>
	<i>P. silvaticum</i>
Gibões sudeste da Ásia	<i>P. eylesi</i>
	<i>P. jefferyi</i>
	<i>P. hylobati</i>
	<i>P. youngi</i>
Macacos do Velho Mundo África central, sul e sudeste da Ásia	<i>P. coatneyi</i>
	<i>P. cynomolgi</i>
	<i>P. fieldi</i>
	<i>P. fragile</i>
	<i>P. gonderi</i>
	<i>P. inui</i>
	<i>P. knowlesi</i>
	<i>P. shortti</i>
	<i>P. simiovale</i>
	<i>P. georgesi</i>
	<i>P. petersi</i>
Lêmures Madagascar	<i>P. foleyi</i>
	<i>P. girardi</i>
	<i>P. uilenbergi</i>
	<i>P. percygarnhami</i>
	<i>P. coulangesi</i>
Primatas do novo mundo América do Sul	<i>P. bucki</i>
	<i>P. brasilianum</i>
	<i>P. simium</i>

Fonte: Adaptado de Bray (1963); Deane (1992); Curotto et al. (2012).

Em contra partida o subgênero não-Laverania englobam outras espécies que parasitam humanos (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*) e também espécies que parasitam os PNH como *P.*

knowlesi, *P. simium*, *P. brasilianum* e a mais recente *P. cynomolgi*, que também apresentam potencial zoonótico (SINGH et al. 2004; TA et al., 2014; LALREMRUATA et al., 2015; BRASIL et al., 2017; HANG et al., 2021), demonstrado na figura 4.

A severidade da doença é determinada pelas características do parasito envolvido, as interações parasito-hospedeiro e a patologia de cada espécie infectante (HANG et al., 2021). Esses protozoários apresentam elevada flexibilidade genética o que permite que se adaptem a diferentes ambientes, possibilidade de criar resistência à medicamentos para o tratamento da doença e podem modificar a relação de especificidade com os seus hospedeiros (SATO, 2021).




	<i>P. vivax</i> -like	<i>P. malariae</i> -like	<i>P. ovale</i> -like	<i>P. knowlesi</i>
 Infecta humanos	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale curtisi</i> <i>P. ovale wallikeri</i>	
 Infecta humanos e PNH	<i>P. cynomolgi</i> <i>P. simium</i>	<i>P. brasilianum</i>		<i>P. knowlesi</i>
 Ciclo de vida eritrocitário	48 h (Tertian)	72 h (Quartan)	48 h (Tertian)	24 h (Quotidian)

Figura 4. Algumas das espécies de *Plasmodium* spp. do subgênero não-*Laverania* Fonte: Adaptado de Hang et al. (2021).

A transmissão do parasito ocorre pela picada de mosquitos fêmea do gênero *Anopheles* durante o repasto sanguíneo (SILVA, 2016). Os insetos pertencem a ordem Diptera, subordem Nematocera, da família Culicidae, subfamília Anophelinae (FAUST; DOBSON, 2015). São mosquitos bem adaptados a grandes coleções de água, com pouca correnteza, como os lagos, represas, lagoas ou rios (SILVA, 2016). O vetor, além de carrear o protozoário é o hospedeiro definitivo, no qual ocorre a fase sexual do ciclo evolutivo. São popularmente conhecidos como mosquito-prego, muriçoca, sovela, bicuda ou carapanã.

O gênero do vetor é tão diverso quanto as espécies de *Plasmodium*. Apresenta ampla diversidade de espécies que podem atuar como vetor em todo mundo o que evidencia a emergência da malária (ESCALANTE; PACHECO, 2019; DUARTE et al., 2021). São cerca de 400 espécies dentro do gênero *Anopheles* spp., 60 com ocorrência no Brasil e 11 espécies estão envolvidas com a transmissão da doença (BRASIL, 2021a).

O principal vetor envolvido da malária no Brasil é o mosquito *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi*, espécie responsável por 99% dos casos de malária reportados anualmente em humanos na bacia Amazônica (SALLUM et al., 2019). Já na Mata Atlântica

brasileira o vetor local é *Anopheles (Kerteszia) cruzii* que pode transmitir a malária para humanos, como também atuam como vetor da transmissão para animais domésticos e silvestres (CARLOS et al., 2019; MEDEIROS-SOUSA et al., 2019; MULTINI; WILKE; MARRELLI., 2020).

Os anofelinos do subgênero *Kerteszia* tem um relacionamento próximo com florestas úmidas ricas em Bromélias, fazem criadouros deixando suas larvas se desenvolverem nessas plantas que acumulam muita água e ficam sombreadas ou parcialmente sombreadas (MARQUES et al., 2012; BRASIL, 2021a). No subgênero *Kerteszia* existem quatro espécies envolvidas na transmissão da Malária: *An. cruzii*, *An. bellator*, *An. homunculus*, e *An. neivai* (ZAVORTINK, 1973).

A densidade dessa população de mosquitos está relacionada com a abundância das Bromélias, da umidade e da cobertura vegetal. Forattini et al. (1993) consideram esse grupo exofílicos (atraídos por locais com maior cobertura vegetal), habitam ambientes silvestres ecologicamente independentes dos humanos. Embora outros estudos relatam que as espécies apresentam comportamento antropofílico, podendo também, se alimentar de aves e mamíferos (ZAVORTINK, 1973; CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

As atividades de hematofagia podem ocorrer durante todo o dia com ficando mais intensa nos períodos crepusculares estando mais elevada nas primeiras horas do anoitecer e do amanhecer. (ZAVORTINK, 1973). Os mosquitos também podem apresentar hábitos acrodendrofílicos (vivem preferencialmente nas copas das árvores), observados no *An. (Kerteszia) cruzii* (DEANE et al., 1971; ZAVORTINK, 1973).

O estudo de Deane (1971) demonstrou o envolvimento do mosquito *A. (Kerteszia) cruzii* com a transmissão de *P. brasilianum* e *P. simium* para primatas *Alouatta belzebul* em área de Mata Atlântica. E sugere ser o vetor de transmissão da malária simiana nas regiões leste e sudeste do Brasil. Os estudos de Deane (1992) e Pina-Costa et al. (2014) corroboram que *An. Cruziii* é o vetor primário na transmissão da malária humana e símia em área de Mata Atlântica.

4.3.2 Ciclo Evolutivo de *Plasmodium* spp.

De acordo com Hang et al. (2021) o ciclo evolutivo dos parasitos da Malária é bastante complexo. O ciclo biológico metacíclico envolve três fases: uma fase assexuada exoeritrocitária, uma fase assexuada eritrocitária e uma fase sexual (gametogonia). As formas de vida do parasito são específicas a determinada fase do ciclo. Por ser um ciclo de vida heteroxeno requer um hospedeiro intermediário (os hospedeiros vertebrados) e um hospedeiro

definitivo (o hospedeiro invertebrado). (FAUST; DOBSON, 2015; SIMTH; STYCZYNSKI, 2018) (Figura 5). Todas as espécies de *Plasmodium* tem o ciclo evolutivo similar (SATO, 2021).

Nos primatas o ciclo evolutivo se inicia após a inoculação de esporozoítos por uma mosquito fêmea quando perfura a pele durante o repasto sanguíneo. Os esporozoítos circulam pelo corpo e logo deixa a circulação sanguínea invadindo hepatócitos iniciando o ciclo exoeritrocitário ou fase pré-eritrocitária por esquizogonia. Após as multiplicações assexuadas o parasito cresce de tamanho modelando o formato celular. Quando o esquizonte está maduro se rompe e libera os merozoítos na circulação. Estes vão invadir os eritrócitos realizando a esquizogonia eritrocitária, sequestrando todos os nutrientes das hemácias para que assim o parasito cresça e escape da resposta imunológica. Após a invasão o vacúolo parasitóforo é formado em volta do parasito. Este processo é seguido pelo desenvolvimento do estágio de trofozoíto “anel” e replica até formar um esquizonte maduro. O número dos merozoítos liberados após a ruptura do esquizonte para novas invasões de eritrócitos depende da espécie do *Plasmodium*, podendo variar entre 8 a 16 merozoítos que invadirão novos eritrócitos, esse processo se repete. O período de tempo que leva para completar o ciclo eritrocitário pode ser a cada 24h (quotidiano), 48h (terça) e 72h (quarta) dependendo da espécie envolvida. Os sinais clínicos da malária, especialmente a febre, calafrios e a náusea, estão ligados a cada rodada de ruptura de esquizontes e liberação de merozoítos com consequente destruição das hemácias indefinidamente (COATNEY et al., 1971; COX, 2010; BODDEY; COWMAN, 2013; KOCH; BAUM, 2016; NGWA et al., 2016; HANG et al., 2021).

Durante cada replicação dos estágios sanguíneos uma pequena porção dos parasitos assexuais se desenvolvem em microgametócitos ou macrogametócitos, estágios sexuais, responsáveis para a transmissão do hospedeiro intermediário para o definitivo. Essa transformação é aumentada quando esse parasito sofre com as condições de estresse microambiental, como elevada parasitemia, quadro de anemia, respostas imunitárias dos hospedeiros, ou tratamento medicamentoso. Dentro da circulação sanguínea periférica permanecem até que sejam ingeridos pelos mosquitos hematófagos quando estão se alimentando (COX, 2010; BODDEY; COWMAN, 2013; KOCH; BAUM, 2016; NGWA et al., 2016; HANG et al., 2021).

No interior do intestino do mosquito o microgameta fertiliza o macrogametócito, formando o zigoto que se desenvolve em zigoto móvel (oocineto) no lúmen do intestino do mosquito. O oocineto penetra a parede do intestino e uma parede fina se forma ao redor, o oocisto começa a crescer projetando-se a hemocele do mosquito. Várias divisões ocorrem a

partir de 48h após o repasto sanguíneo, formando esporoblastos e após os esporozoítos. Podem ser produzidos milhares de esporozoítos que são liberados e migram até as glândulas salivares do mosquito onde aguardam para ser injetados em um outro hospedeiro sanguíneo (COX, 2010; BODDEY; COWMAN, 2013; KOCH; BAUM, 2016; NGWA et al., 2016; HANG et al., 2021).

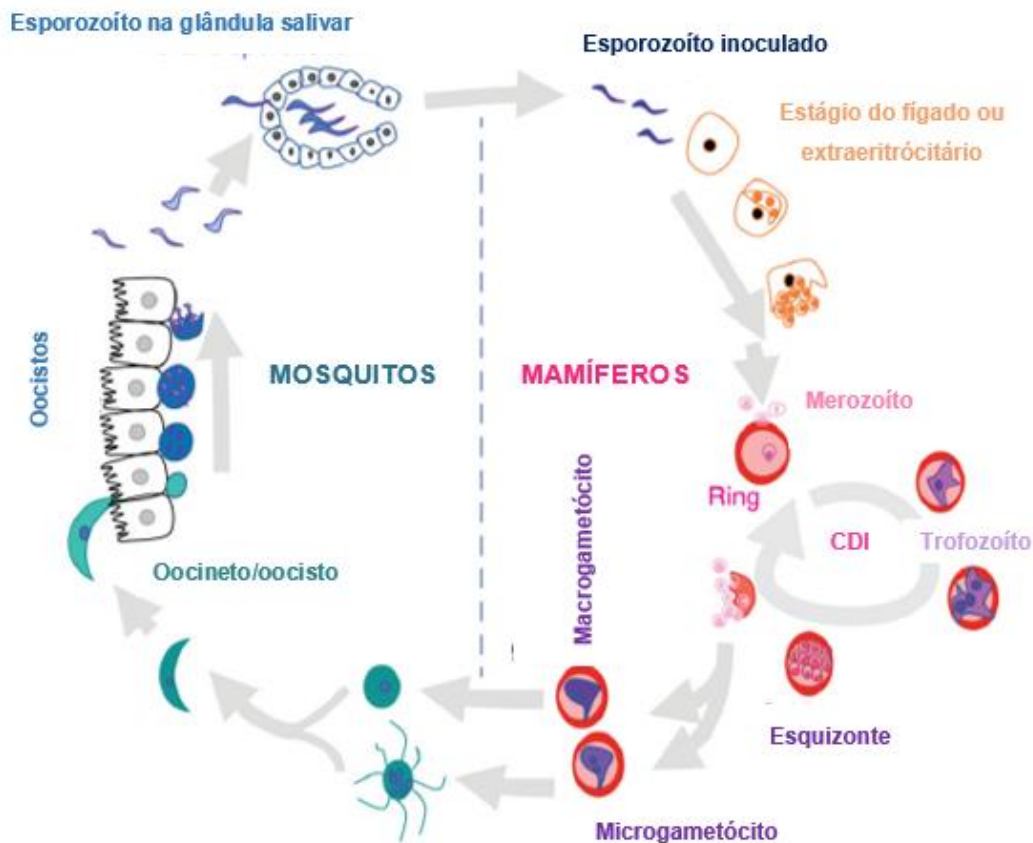


Figura 5. Esquema do Ciclo evolutivo de *Plasmodium* spp. O ciclo evolutivo inicia quando um mosquito infectado inocula esporozoítos no hospedeiro intermediário. Os parasitos migram para o fígado invadindo, se desenvolvendo e se replicando nos hepatócitos. Após a ruptura dos hepatócitos entram no Ciclo de Desenvolvimento Intraeritrocitário (CDI). Invadem os eritrócitos onde se desenvolve e se replicam assexuadamente, rompem as células e invadem novas hemácias. A reprodução sexuada ocorre no intestino do artrópode do gênero *Anopheles* após este se infectar ao repasto sanguíneo. Fonte: Adaptado de Howick et al. (2020).

4.3.3 Impactos na saúde pública, malária zoonótica e ameaça a conservação

A malária é um sério problema para humanidade desde a pré-história, sendo uma das mais antigas doenças conhecidas. Relatos sobre a malária foram discutidos no cânone chinês de medicina em 2.700 a.C., nas escrituras dos filósofos gregos como Homero, Aristóteles e Platão. O fisiologista Hipócrates foi o primeiro a relacionar a doença com corpos d'água

estagnados de regiões dos pântanos. Até então o papel do vetor não havia sido descoberto e se atribuía a mazel a um ar ruim. Os italianos no século XIV então cunharam a doença de Malária (*ária cativa ou mal'aria*). Já os franceses utilizaram o termo paludismo que fazia referência aos pântanos (COATNEY et al., 1970; FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008).

Cormier (2010) descreve que todas as formas de malária nas Américas foram originadas do velho mundo introduzidos pelos povos africanos e europeus durante o período colonial. As malárias em primatas do novo mundo compartilham uma relação genética bem próxima as malárias que infectam humanos sugerindo uma transmissão zooantroponótica.

Atualmente, cerca da metade da população humana mundial encontra-se em risco de contrair o agente da malária. Alguns grupos populacionais estão expostos a maior risco de contrair a doença na forma mais severa, são eles: infantes e crianças até 5 anos de idade, gestantes, pessoas com doenças imunossupressoras, profissionais migrantes e aquele que viajam para áreas de alta prevalência da malária (WHO, 2022).

De acordo com o último Relatório Mundial sobre a Malária (WHO, 2022) no ano de 2021 houve 247 milhões de casos notificados em 84 países onde a malária é considerada endêmica, incluindo o Brasil. Estimou-se 619.000 óbitos, ocorrendo 96% dos casos em países do continente africano e cerca de 80% dos óbitos foram crianças abaixo de 05 anos de idade.

No Brasil, a transmissão da malária é complexa com áreas endêmicas de transmissão, áreas de baixa transmissão e áreas sem transmissão, ademais o aumento do fluxo de pessoas entre as regiões e entre países endêmicos são fatores que aumentam o risco (FIGUEIREDO, 2015).

A magnitude da doença, em solo brasileiro, relaciona-se com a elevada incidência na região amazônica. Em 2020 foram notificados 145.205 casos de malária, cujo 99% foram de origem autóctone, com cerca de 75,2% (106.645) dos casos provenientes de áreas indígenas e áreas rurais na região amazônica, considerada área endêmica de malária no Brasil (BRASIL, 2021b; BRASIL, 2022). A Portaria GM/MS nº 3.418, de 31 de agosto de 2022 confirma a malária como uma doença compulsória de notificação imediata (casos na região extra-amazônica) e semanal (casos na região amazônica).

Em regiões de transmissão extra-amazônica podem ocorrer a transmissão importada, introduzida e os casos autóctones, por ser uma região não endêmica os esforços para aprimorar a vigilância e o manejo dos casos dessa afecção é assertivo para o diagnóstico e tratamento correto; outro fator é o risco de reintrodução da doença em áreas não endêmicas em virtude do vetor *Anopheles* spp. está presente em todo o território do país (ALVARENGA, 2014).

Casos registrados em regiões extra-amazônicas tem sido mais frequente, sejam casos autóctones ou casos importados de áreas endêmicas. Dos 1.350 casos importados de outros países 93% foram notificados na região amazônica e 7% na região extra-amazônica. Dos casos importados 74,3% foram importados de países das Américas (Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Nicarágua, Peru, Porto Rico, Suriname e Venezuela). O estado do Ceará, Paraíba e Sergipe são os que mais importam a doença, enquanto Goiás e Rio de Janeiro são os que mais exportam (BRASIL, 2022).

De acordo com o Boletim nº 01 de 2021 o estado da Bahia demonstra ampla dispersão de espécies do vetor, o que indica alta receptividade à transmissão de *Plasmodium* spp. Também é ressaltado a vulnerabilidade de municípios baianos à introdução ou reintrodução da malária, principalmente, pelo desequilíbrio ambiental ocasionado por atividades econômicas de mineração e extrativismo vegetal, por exemplo (BRASIL, 2021b).

Em 2021, foram confirmados 75 casos de malária humana no estado da Bahia (Figura 6). Esse aumento de casos foi decorrente de um surto identificado na região do extremo sul do estado. No rastreamento da origem dos casos foi detectado que 89,1% (67) foram casos autóctones. Itabela totalizou 63 casos de infecção por *P. vivax*. Casos importados do norte do país totalizaram 6,7% (5/75): um caso proveniente do estado do Amapá, um do estado de Roraima, dois do estado de Rondônia e um do Pará. Um caso importado do Mato Grosso e dois casos importados da Angola, país do continente africano (SINAN, 2023).

O aparecimento da malária zoonótica depende de vários fatores, como a presença do mosquito vetor do parasito e da sua adaptação vetorial (comportamento antropofágico ou zoofágico). Adicionalmente, a existência de uma área de contato e uma frequência de interação entre humanos, mosquitos e primatas não-humanos pode ser um ponto importante, tendo em vista o papel desses animais como reservatório do parasito (RAMASAMY, 2014). Os padrões ecológicos e de habitação humana, a susceptibilidade dos hospedeiros, tanto os definitivos como os intermediários à infecção numa mesma região e o potencial de recombinação genética entre as espécies de *Plasmodium* que infectam humanos e as espécies que infectam primatas não humanos são outros fatores envolvidos na transmissão da malária zoonótica (RAMASAMY, 2014; BROCK et al., 2019).

As atividades humanas inseridas no interior das florestas criam um ambiente de contato entre macacos, mosquitos e humanos deixando-os em risco de contrair à infecção (SU; WU, 2021). Várias espécies de parasitos da malária apresentam a capacidade de infectar PNH e humanos. As espécies *P. cynomolgi* e *P. knowlesi* causam infecções zoonóticas no sudeste da Ásia (IMWONG et al., 2018).

No Brasil as duas espécies presentes que infectam PNH apresentam potencial zoonótico. Deane e Deane (1966) relataram um caso de infecção zoonótica acidental de um trabalhador na pesquisa de campo. O estudo buscava avaliar na região florestal da Cantareira em São Paulo a presença de *P. simium* em platirrinos habitantes da região e quais as espécies de mosquitos envolvidos na transmissão. Durante o experimento um dos trabalhadores apresentou sintomas condizentes com a malária, ao testar o sangue em lâminas de gota espessa e esfregaço sanguíneo foi diagnosticado à infecção por *P. simium*. Um estudo mais recente descreveu um surto de malária em humanos ocorrido em região de Mata Atlântica na cidade do Rio de Janeiro e através de técnica molecular avaliando a sequência do genoma mitocondrial foram observadas regiões com uma pequena diferença em dois únicos nucleotídeos de *P. vivax* e de *P. simium* o que possibilitou fechar o diagnóstico em humanos (BRASIL et al., 2017a).

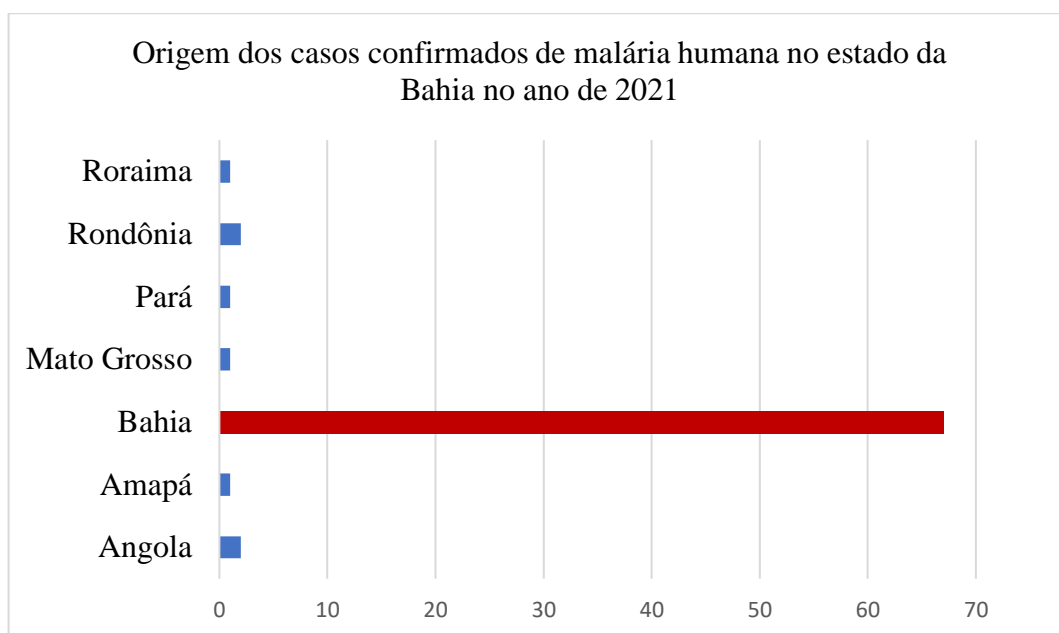


Figura 6. Origem dos casos confirmados em municípios do estado da Bahia no ano de 2021. Fonte: adaptado de SINAN (2023).

Plasmodium brasilianum também foi descrito com potencial zoonótico e os primatas neotropicais de área de Mata Atlântica podem atuar como reservatórios (SU; WU, 2021). Coatney et al (1971) relataram que experimentalmente *P. brasilianum* de macacos podem infectar humanos e que primatas neotropicais podem se infectar por *P. malariae*. Em um estudo realizado com comunidades indígenas Yanomani da Amazônia venezuelana foram avaliados genes que codificam a proteína de circunsporozoíto (CSP) e a menor subunidade de ribossomos (18S) e identificaram a presença de parasitos de malária em 12 pacientes humanos 100%

idênticos aos parasitos isolados de macaco *Alouatta seniculus*. A sequência de aminoácidos traduzidas do gene da CSP mostrou unidades idênticas de repetição entre os parasitos isolados de humanos e primatas (LALREMRUATA et al., 2015). Estes estudos demonstram as recentes evidências de *spillover* de parasitos de malária de PNH para os humanos (ANTINORI et al., 2021).

O desmatamento extensivo, decorrente do progresso na industrialização e do aumento das áreas agrícolas, levam à redução dos habitats da fauna silvestre forçando as populações a se deslocarem para áreas mais próximas da população de humanos o que aumenta o risco da transmissão (HANG et al., 2021).

De acordo com Hang et al (2021) as espécies de *Plasmodium* não *Laverania* estão distribuídas por todo o mundo, principalmente nas zonas tropicais e sub-tropicais do sudeste da Ásia. Também podem ocorrer na região subsaariana do continente africano e na América central e do sul (Figura 7).

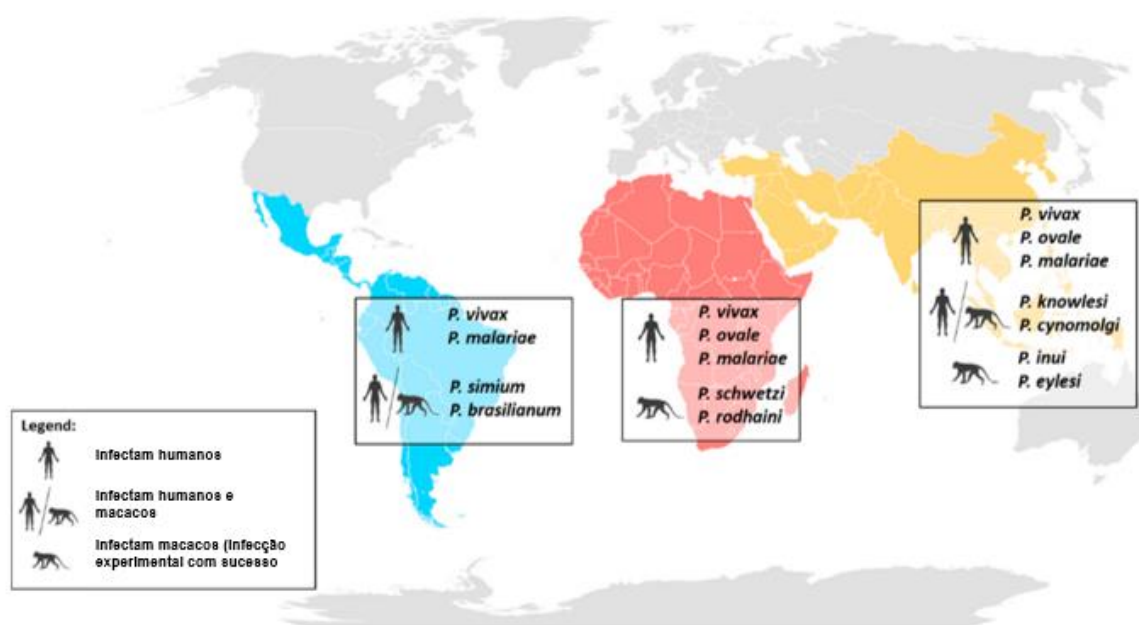


Figura 7. Mapa Mundial da distribuição dos principais subgêneros de *Plasmodium* não *Laverania*
Fonte: Hang et al. (2021).

No sudeste da Ásia os macacos do velho mundo da família Cercopithecidae são alvo da malária zoonótica causada pelas espécies *P. knowlesi* e *P. cynomolgi* (EYLES, 1963; CHIN; MOSS; COLIN, 1979). Já na região do continente americano é relatado primatas platyrrhini infectados naturalmente por *P. simium*. As espécies de primatas Bugio e de macacos-prego distribuídas por áreas da Mata Atlântica da América central e do sul (BRASIL et al. 2017a). *Plasmodium brasilianum* demonstrou infectar uma grande diversidade de espécies de macacos

do Novo Mundo e foi detectado nas cinco famílias de primatas da América do Sul (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA; DEANE, 1995; ALVARENGA et al., 2017). Em termos de morfologia, genética e respostas imunológicas, as semelhanças entre *P. simium* e *P. vivax*, e entre *P. brasilianum* e *P. malariae*, foram confirmadas (SEED et al., 1976; COCHRANE et al., 1985; BARNWELL, 1986; FANDEUR et al., 2000).

4.3.4 Malária símia

Em 1960 Don Eyles foi acidentalmente infectado por *P. cynomolgi* através da picada de um mosquito, enquanto trabalhava nos EUA, este fato estimulou extensos estudos em malária simiana em várias partes do mundo (DEANE, 1992).

O primeiro relato de malária simiana em primatas Platyrrhini foi descrito anos atrás da infecção em Eyles. Um primata brasileiro o uacari calvo (*Cacajao calvus*) proveniente da região Amazônica e residindo em um circo em Hamburgo na Alemanha teve seu sangue investigado por Gonder e Berenberg-Gossler (1908) que identificaram um parasito morfologicamente similar ao parasito *P. malariae* e nomearam o parasito encontrado de *P. brasilianum*.

De acordo com Deane et al. (1968) no Brasil a malária símia está amplamente distribuída, e podem ser encontradas principalmente em primatas na região amazônica e na região sul e sudeste do país. Duas espécies estão relacionadas com a malária símia no Brasil: *P. brasilianum* e *P. simium*. Os mosquitos da bromélia *Anopheles (Kerteszia) cruzi* (Figura 8) são os vetores na transmissão dos plasmódios na em região de Mata Atlântica ().

A possibilidade de espécies de plasmódio infectar primatas não humanos fora atestada por experimentos ou detectadas infecções naturais. Em infecções naturais a doença, geralmente, se apresenta subclínica, com exceção de uma anemia leve, sem ser debilitante para os primatas (HUBBARD, 1995). Contudo, de modo incomum, alguns hospedeiros podem apresentar infecção severa que pode levar à óbito. Os sinais clínicos que podem ser manifestados são anemia, febre, perda de peso, anorexia, diarreia e hepatoesplenomegalia (HUBBARD, 1995). Alguns autores relatam que *P. brasilianum* se apresenta com maior potencial patogênico do que o *P. simium* (DEANE, 1992; KINDLOVITS; KINDLOVITS, 2009).

As relações filogenéticas entre os parasitos humanos e os parasitos que infectam primatas neotropicais *P. vivax* e *P. simium* e *P. malariae* e *P. brasilianum*, respectivamente foram estudadas de maneira aprofundada. Foram utilizados de forma conjunta três genes nucleares e um gene mitocondrial nas análises e foi observada uma grande similaridade genética entre esses parasitos. Esses dados sugerem uma transferência recente de hospedeiro entre

humanos e primatas neotropicais. Os autores discutem que, devido ao limitado número de sequências disponíveis dos parasitos que infectam primatas neotropicais *P. simium* e *P. brasilianum*, não foi possível estabelecer as direções das transferências de hospedeiro (TAZI; AYALA, 2011).



Figura 8. Mosquitos da bromélia *Anopheles (Kerteszia) cruzi*
Fonte: Pina-Costa et al., 2014.

Casos de infecção natural em primatas Platyrrhini tem sido relatado por diversos autores. Fandeur et al. (2000) aproveitaram uma ação de resgate e realocação de animais silvestre de uma região do Sinnamary na Guiana Francesa para investigar em sangue de primatas a presença de parasitos da malária símia. Formas sanguíneas similares a *P. brasilianum* foram encontradas em quatro espécies de primatas *Alouatta seniculus*, *Pithecia pithecia*, *Sanguinus midas midas* e *Ateles paniscus paniscus* com alta prevalência em *Alouatta seniculus*. A detecção molecular demonstrou maior sensibilidade na identificação de macacos positivos com baixa parasitemia. Na investigação microscópica de lâminas de esfregaço sanguíneo indicaram 5 a 6% de animais infectados, enquanto que pela *nested*-PCR de DNA ribossomal foram identificados 11.3% de prevalência.

Deane (1992) avaliou lâminas de esfregaço sanguíneo de 509 Calitriquídeos entre eles indivíduos do gênero *Callithris*, *Cebuella*, *Leontopithecus* e *Sanguinus* com prevalência de 0,8%, um indivíduo apenas da espécie *Sanguinus niger*.

No estudo de Aitken et al. (2016) avaliaram 268 micos-leões da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) por microscopia e PCR gênero-específico e todos os indivíduos foram negativos em ambos diagnósticos. Neste estudo foram avaliados majoritariamente espécies da família Callithrichidae totalizando 97,63% dos animais capturados e avaliados. Dentre eles 12,6% (16/127) da espécie *Leontopithecus chrysomelas* e todos esses foram negativos na detecção molecular.

A sequência do gene que codifica a subunidade menor do ribossomo (SSUrRNA ou 18S) foi avaliada e alinhada com as de *P. malariae*, *P. falciparum* e *P. vivax*. O resultado sugeriu alta proximidade. O mesmo resultado foi encontrado na avaliação das sequências de isolados de *P. malariae* e *P. brasilianum* de um fragmento de gene análogo da proteína 1 de superfície do merozoíto (MSP-1) de *P. falciparum*. As sequências do fragmento do gene examinado de *P. brasilianum* e *P. malariae* foram mais parecidas aquelas encontradas em *P. vivax* do que naquelas encontradas em *P. falciparum*. O alto nível de sequências de genes homólogos em SSUrRNA and MSP-1 demonstra a proximidade taxonômica dessas duas espécies (ESCALANTE et al., 1995; LI et al., 2001). Outras técnicas utilizadas para a identificação do agente são a sequência do gene da proteína circumsporozoíta e os genes mitocondriais do citocromo b (LAL et al., 1988; HIKOSAKA; KITA; TANABE, 2013; SANTOS et al., 2020).

Em outro estudo avaliando amostras de sangue de 448 primatas silvestres em diferentes áreas ecológicas do Brasil onde casos da malária humana autóctone tinham sido reportados. Em áreas de cerrado no Tocantins foram coletados 51, em áreas de floresta semidecídua de Mata Atlântica no Mato Grosso do Sul foram coletados 257 animais e em área de Mata Atlântica em São Paulo foram coletados 140 animais. Através da técnica de semi-nested PCR multiplex foram identificados na espécie *Alouatta clamitans* capturados em área de Mata Atlântica em São Paulo 11,3% (8/71) de positivos para *P. simium/P. vivax* e 5,6% (4/71) positivos para *P. brasilianum/P. malariae* e em um indivíduo foi detectado *P. falciparum*; nos animais capturados da espécie *Cebus apella* (30) e *Callithrix* spp. (39) todos foram negativos. Na região de floresta semidecídua de Mata Atlântica no Mato Grosso do Sul obtiveram resultados similares, indivíduos da espécie *Alouatta caraya* apresentaram 5,5% (13/235) positivos para *P. brasilianum/P. malariae*, 0,4% (1/235) positivo para *P. simium/p. vivax* e 0,8% (2/235) positivos para *P. falciparum*. Todos os primatas capturados da área do cerrado foram negativos (DUARTE et al., 2008).

No estudo realizado por Abreu et al. (2019) foram avaliados platirrinos de 30 municípios pertencentes a quatro estados brasileiros: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Rio de

Janeiro, sendo a maioria das coletas realizadas nesse último estado. Foram examinados 146 primatas distribuídos em seis espécies diferentes: *Alouatta guariba clamitans* (48), *Brachyteles hypoxanthus* (1), *Callicebus nigrifrons* (1), *Callithrix spp.* (66), *Leontopithecus rosalia* (5) e *Sapajus nigritus* (25). De todos os animais avaliados apenas os indivíduos da espécie *Alouatta guariba clamitans* foram detectados como positivos. No Rio de Janeiro foram capturados e examinados amostra de sangue de 42 indivíduos dessa espécie e 11,9% (5/42) foram positivos para *P. simium*, 9,5% (4/42) positivos para *P. brasilianum/P. malariae*, 4,7% (2/42) positivos para *P. brasilianum/P. malariae e P. simium* e nenhum dos indivíduos foram positivos para *P. falciparum*. Dos indivíduos capturados no estado do Espírito Santo 25% (1/4) foi positivo para *P. simium* e 25% (1/4) foi positivo para *P. brasilianum/P. malariae*.

Similarmente, um estudo realizado em 2011 avaliou 50 bugios ruivos em áreas de Mata Atlântica da região metropolitana de São Paulo e encontraram 18% dos animais infectados com *P. simium* e 4% com *P. brasilianum* (YAMASAKI et al., 2011). Os primatas atuam como reservatório do parasito e supõe-se que a circulação do agente em área de Mata Atlântica é presente.

Nos estudos apresentados também foram realizadas a avaliação microscópicas de lâminas de gota espessa e esfregaço sanguíneo de amostras de sangue dos primatas. Em todos os estudos a técnica de detecção molecular apresentou maior sensibilidade na detecção da infecção (FANDEUR et al., 2000; DUARTE et al., 2008; ABREU et al. 2019).

Kindlovits e Kindlovits (2009) relatam que as espécies de *Alouatta spp.* são mais frequentemente infectadas por *P. brasilianum* e *P. simium* o que corrobora os achados encontrados nos estudos citados anteriormente.

De acordo com Deane (1992) *P. brasilianum* infecta naturalmente os gêneros das famílias Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae, são cerca de 35 espécies infectadas já descritas (ARAÚJO et al, 2013). Enquanto *P. simium* foi identificado infectando naturalmente somente *Alouatta spp.* e *Brachyteles spp.* da família Atelidae. Além disso, a distribuição de *P. simium* parece ser limitada às áreas das regiões sul e sudeste do Brasil, enquanto, *P. brasilianum* difunde-se por vários países da América latina (KINDLOVITS; KINDLOVITS, 2009).

As pesquisas apresentadas por Bueno et al. (2013), Erkenswick et al. (2017), Alvarenga et al. (2017) demonstram a capacidade de infecção por *P. brasilianum* em várias espécies de primatas Platyrrhini.

Bueno et al. (2013) avaliaram amostra de sangue de 19 primatas de vida livre da região Amazônica (estado de Rondônia e Amazonas), área bastante impactada por ações humanas. Foram realizadas análises microscópicas e moleculares. Doze espécies foram capturadas: *Aotus*

infulatos, *Callicebus boliviensis*, *Callicebus brunneus*, *Callicebus caligatus*, *Callicebus dubius*, *Lagothrix cana*, *Pithecia sp.*, *Saimiri boliviensis*, *Saimiri madeirae*, *Sanguinus fuscicollis mura*, *Sanguinus labiatus rufiventer*, *Sapajus apella* das quais 21% (4/19) foram positivos para *P. brasilianum*. Os animais positivos foram um indivíduo *C. dubius*, um *Pithecia sp.* e dois indivíduos *C. caligatus*. Um estudo realizado no mesmo ano no estado de Rondônia obteve a prevalência de 10,9% (20/184) positivos para *Plasmodium spp.* Foram avaliadas 21 espécies diferente de platirrinos das famílias Callitrichidae, Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae, entre animais de condição de vida livre (135) e em cativeiro (49). A maioria dos indivíduos capturados foram da espécie *Sapajus apella* (33) que apresentaram dois indivíduos positivos. A espécie com maior número de amostras positivas foi *Pithecia irrorata* com seis indivíduos positivos. A identificação de *P. brasilianum* foi confirmada por amplificação e sequenciamento do MSP-1 e do gene CSP (ARAÚJO et al 2013).

Alvarenga et al. (2017) investigaram amostras de sangue de 122 platirrinos da família Callitrichidae provenientes de condição de cativeiro (61%) e de vida livre (47%). As amostras de animais de cativeiro foram provenientes do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ) para fins de conservação, e também, de zoológicos dos estados de Belo Horizonte, São Paulo e Rio de Janeiro. As amostras de animais de vida livre foram provenientes de animais da Amazônia brasileira. Foram identificados DNA de *P. brasilianum/P. malariae*, em 6,6% (8/122) dos animais pela técnica de *nested-PCR* e confirmado no sequenciamento. Dez animais foram gênero *Callithrix* (cinco *C. geoffroyi*, dois *C. jacchus* e três indivíduos híbridos), vinte e três animais foram do gênero *Sanguinus* (nove *S. midas*, oito *S. bicolor*, três *S. niger*, um *S. martinsi ochraceus*, um *S. martinsi martinsi* e um híbrido) e oitenta e cinco foram do gênero *Leontopithecus* (setenta e três *L. chrysomelas*, oito *L. rosalia* e quatro *L. chrysopygus*). Nesta pesquisa diferente das demais apresentadas identificaram positividade em animais dos gêneros *Callithrix*, *Leontopithecus* e *Mico*. Sendo o primeiro estudo a descrever pela primeira vez por *P. brasilianum/P. malariae* em *C. geoffroyi* e em outras espécies da família de Calitriquídeos.

Plasmodium brasilianum contrasta com outros parasitos do gênero por apresentarem capacidade de parasitar hospedeiros de diferentes famílias, visto que a maioria das espécies plasmódios são estenoxenos e geralmente restringem sua atividade parasitária a uma família taxonômica (FANDEUR et al., 2000; ALVARENGA et al., 2017).

Alvarenga et al. (2015) identificaram pela primeira vez infecção natural por *P. simium* em 10% (3/30) das amostras de sangue de platirrinos residentes do CPRJ. Foram identificados nas espécies *Cebus sp.* (1), *Sapajus robustus* (1) e *Sapajus xanthosternos* (1). Esta prevalência encontrada nesses animais que residem em área de Mata Atlântica condiz com outros resultados

obtidos em outras espécies de primatas. Tendo visto que *P. simium* encontra-se restrito a áreas de Mata Atlântica da região sul e sudeste do Brasil. Ademais a presença do vetor *An. (Kertessia) cruzii* e *An. (Nyssorhynchus) albitarsi* e *An. (N.) aquasalis* na área e a detecção de anticorpos contra formas sanguíneas e de esporozoítos já havia sido observado anteriormente (DUARTE et al., 2008) o que fortalece a hipótese da transmissão nessa área.

4.4 Diagnóstico de agentes parasitários

Existem várias técnicas laboratoriais para o diagnóstico parasitológico. Testes que avaliam a detecção direta do agente ou a avaliação indireta da presença do agente infeccioso. Dentre as técnicas utilizadas estão os métodos biológicos, sorológicos, histológicos, moleculares ou combinação das técnicas (HILL; DUBEY, 2002; SILVA, 2016b).

4.4.1 Diagnóstico de *Toxoplasma gondii*

A identificação clínica da doença nos animais é desafiadora pela inespecificidade dos sintomas e dos sinais clínicos, que tem apresentações variadas: hipertermia, apatia, secreção ocular, alterações gastrointestinais, como anorexia, perda de peso, vômitos e diarreia, mialgias e linfadenopatias, alterações respiratórias, como tosse, secreção nasal, dispneia, coma e consequente óbito do animal. Por esta razão, os testes complementares são imprescindíveis para a conclusão diagnóstica (COSTA et al., 2007; KINDLOVITS; KINDLOVITS, 2009).

Para fins de inquéritos epidemiológicos o uso de testes sorológicos demonstra boa praticidade em hospedeiros intermediários da infecção. Em animais, os anticorpos para *T. gondii* são frequentemente detectados com testes de aglutinação: Hemaglutinação Indireta (HAI), Aglutinação de Látex (LAT), Aglutinação Modificada (MAT); o Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA) e a Imunofluorescência Indireta (RIFI) (DUBEY, 2010; DUBEY et al., 2012). De acordo com Sharma et al. (2019) os testes sorológicos são métodos indiretos de diagnóstico menos invasivos, de baixo custo, que funcionam com amostras armazenadas por congelamento. O objetivo é avaliar apenas a exposição pelo agente infeccioso.

Dentre os testes sorológicos o MAT é um método indireto que detecta anticorpos IgG anti-*T. gondii* em infecções crônicas. Utiliza taquizoítos inativados com formalina e 2-mercaptoetanol (2ME) (DUBEY; DESMONTS, 1987). É frequentemente utilizado em diferentes espécies de animais. É uma técnica que dispensa uso de equipamentos especiais e não utiliza conjugados espécie-específicos, sendo bastante útil para avaliação epidemiológica em animais silvestres (HILL; DUBEY, 2002; CENCI-GOCA et al., 2011). Apresenta baixa

eficiência em infecções aguda devido ao 2ME que elimina as substâncias não-específicas IgM e podem resultar em falsos negativos. O material de escolha é o soro, contudo, pode ser realizado com o plasma ou sangue total, soros hemolisados não interferem na resposta do teste (DUBEY, 2010; BELTRAME et al., 2012; DUBEY, 2020). Apresenta alta especificidade para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em humanos e em animais, sendo o único teste sorológico validado extensivamente em várias espécies de animais (MOLINA et al., 2017).

Os métodos moleculares realizam a detecção direta do parasito, são amplamente utilizados para a detecção de DNA específico de diversos agentes infecciosos, apresentando boa sensibilidade. De acordo com Kompalic-Cristo, Britto e Fernandes (2005) a PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) é uma técnica permite amplificar um alvo genômico em várias cópias com o auxílio de *primers* específicos que irão completar a fita de DNA do *T. gondii*. Pode-se investigar a parasitemia do agente em amostras de sangue ou tecidos. Alguns genes alvos são mais utilizados no diagnóstico, como os segmentos dos genes B1 e P30. O gene B1 é bastante utilizado demonstrando alta sensibilidade para detecção em comparação ao P30. Outras sequências-alvo utilizadas são o gene codificante para o RNA da subunidade menor ribossômica, que se encontra repetido em 110 cópias por genoma e um fragmento de 529pb presente em 200 a 300 cópias por célula. Esta última técnica tem apresentado maior sensibilidade no diagnóstico tanto em amostras provenientes de humanos como também de outros animais (VERONESI et al., 2017). O resultado é visualizado em gel de agarose após eletroforese. Como desvantagem estão o custo elevado da técnica, a necessidade de equipamentos próprios da técnica o que dificulta o uso da técnica na rotina (SINGH, 1997; ZARLENGA; HIGGINS, 2001; GASSER, 2006).

4.4.2 Diagnóstico de *Plasmodium spp.*

O diagnóstico de *Plasmodium spp.* pode ser realizado pela observação direta do parasito, pelos métodos indiretos e pela identificação dos antígenos relacionados no sangue periférico (BRASIL, 2019).

O diagnóstico morfológico consiste em visualizar a presença do parasito do modo direto na amostra de sangue. O teste padrão ouro para a confirmação da malária é o teste de gota espessa. É produzida a lâmina de vidro com uma gota de sangue periférico corado com Giemsa e observada em microscópio óptico, onde será lido 100 a 200 campos (BRASIL, 2021). Ainda pode ser feito o esfregaço sanguíneo, mas este último com menor sensibilidade ao comparar com a técnica de gota espessa (BRASIL, 2019).

Existem testes imunocromatográficos para diagnóstico rápido da malária humana, utilizando fitas de nitrocelulose com anticorpo monoclonal contra antígenos específicos do parasito. Pode levar a resultados falso positivos (BRASIL, 2021). Mais utilizados para a detecção em humanos.

Os testes sorológicos tem por base a identificação indireta do parasito avaliando a resposta imunológica com a detecção de anticorpos ou ainda a detecção de antígenos. O teste padrão ouro para avaliação seria a Reação de Imunofluorescência a Indireta (RIFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (BRASIL, 2019).

Os diagnósticos moleculares que apresentam maior sensibilidade e especificidade como a PCR convencional e a PCR em tempo real (real-time PCR). A realização dessas técnicas gera alto custo, necessita de estrutura específica, dificultando a utilização de rotina, contudo, é um método de detecção eficaz para identificar infecções de baixa parasitemia e realizar técnicas diagnósticas mais assertivas em relação a espécie do agente. Das várias técnicas descritas as mais utilizadas são a PCR para diferentes porções da região 18S do DNA ribossomal (SSUrRNA), descrita por Snounou et al. (1993), Kimura et al. (1997), Rubio et al. (1999) e Singh et al. (1999); a sequência de fragmentos da proteína de superfície 1 (MSP-1) descrita por Holder et al. (1985), Birkenmeyer et al (2010), Putaporntip et al. (2013) e Guimarães et al (2015); *nested*-PCR para amplificar gene mitocondrial do citocromo b descrito por Perkins e Shall (2002) e a sequência do gene da proteína do circumsporozoíto descrito por Escalante et al. (1995), Lal et al. (1988), Li et al (2001).

Alvarenga et al. (2018) elaboraram ensaio diagnóstico para identificar, acuradamente, *P. simium* baseado na sequência de genoma mitocondrial. Este método depende do fato de que toda sequência do genoma mitocondrial (derivado de um primata neotropical de Mata Atlântica) difere da espécie restritamente relacionada *P. vivax* por dois únicos polimorfismos de base única (SNPs). *Primers* designados para amplificar essa região passará pelo processo de digestão por uma enzima de restrição *Hpy*CH4III para identificação específica da espécie *P. simium*.

5 MATERIAL E MÉTODOS PARA CAPTURA E OBTENÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

5.1 Comitê de Ética

As atividades realizadas foram licenciadas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número 75734-6 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) e pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz (CEUA/UESC) (Nº 023/21).

5.2 Captura de Primatas Platyrrhini na Bahia

5.2.1 Área do estudo

As atividades de campo foram realizadas em parceria com o projeto Febre Amarela BR e a Diretoria de Vigilância Epidemiológica do estado da Bahia (DIVEP) da Secretaria de Saúde (SESAB).

A área de estudo foi determinada em função da dispersão da febre amarela no estado. Assim, foram selecionados 18 municípios distribuídos em seis das dez regiões geográficas intermediárias da Bahia: Barreiras, Feira de Santana, Guanambi, Ilhéus-Itabuna, Santo Antônio de Jesus e Vitória da Conquista. Os municípios (tabela 4 e figura 9) cobrem áreas de vegetação dos biomas da Caatinga, do Cerrado e da Mata Atlântica (figura 9). Os locais se caracterizavam por áreas rurais e periurbanas, inseridas em fragmentos de florestas, e áreas urbanas.

O esforço amostral ocorreu no período de outubro de 2021 até outubro de 2022. As expedições duraram em torno de 10 a 15 dias de campo com pesquisa ativa em busca dos primatas.

As áreas de captura foram identificadas através da obtenção de relatos de visualização e ocorrência dos primatas por transeuntes, moradores e, também, por informações obtidas com agentes de saúde das Secretarias de Saúde Municipais e o apoio de moradores das áreas (mateiros). Foi utilizado uma cartilha com imagens de diversas espécies de primatas possíveis de serem encontrados na região para direcionar os entrevistados na identificação dos animais e definir qual a localização que foram avistados.

A equipe de campo foi composta, por no mínimo, quatro profissionais, para os procedimentos de captura dos animais, contenção e anestesia, coleta de amostras biológicas e, posterior, soltura dos primatas no mesmo local da captura.

Tabela 4. Municípios escolhidos para captura de primatas.

Municípios	Bioma	Regiões Geográficas Intermediárias
Carinhanha	Caatinga	Guanambi
Cocos	Caatinga; Cerrado	Barreiras
Coribe	Caatinga; Cerrado	Barreiras
Cruz das Almas	Mata Atlântica	Santo Antônio de Jesus
Feira de Santana	Caatinga; Mata Atlântica	Feira de Santana
Formosa do Rio Preto	Cerrado	Barreiras
Ibirataia	Mata Atlântica	Vitória da Conquista
Ilhéus	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna
Itabela	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna
Itanhém	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna
Iuiú	Caatinga	Guanambi
Jaborandi	Caatinga; Cerrado	Barreiras
Jucuruçu	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna
Lençóis	Caatinga	Feira de Santana
Malhada	Caatinga	Guanambi
Porto Seguro	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna
Santa Rita de Cássia	Caatinga; Cerrado	Barreiras
Una	Mata Atlântica	Ilhéus-Itabuna

Fonte: adaptado de IBGE (2022).

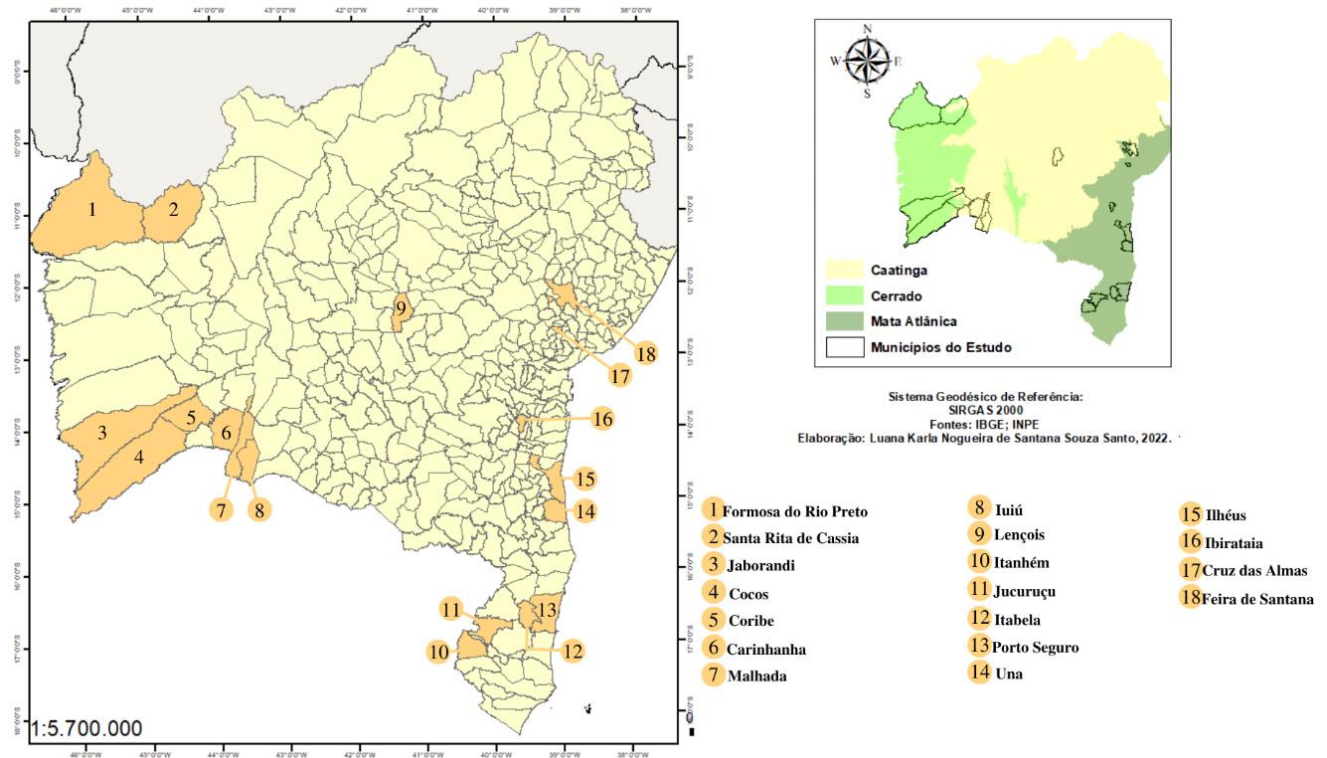


Figura 9. Mapa de Localização dos municípios da pesquisa e a relação com os biomas do estado

5.2.2 Captura dos Primatas

Para a realização das capturas foram levados em consideração a espécie a ser capturada. Tendo em vista a variedade de tamanho e comportamento das espécies.

As espécies de pequeno porte da família Callitrichidae e as espécies de médio porte da família Cebidae (0,3 a 5kg) foram capturadas com auxílio de armadilhas de captura viva, *livetrap*s, de disparo automático, do tipo *Tomahawk* iscada com frutas (banana, goiaba, mamão, etc.), tendo em mente, os relatos da predileção alimentar dos grupos locais (figura 10).

Após informações da localização dos primatas e previamente a montagem das armadilhas, o grupo de pesquisadores se direcionava ao local e realizava reconhecimento da área até visualizar o grupo dos animais, observando o horário e atividade realizada pelos macacos (passagem ou alimentação) e qual o alimento de predileção do grupo avistado. Logo após observava-se os melhores lugares para montar as armadilhas. Os pontos de captura foram marcados com o GPS. Foi utilizado o *playpack* com os sons das espécies avistadas ao redor do local para aguçar a curiosidade dos animais e atraí-los para as armadilhas.

As armadilhas foram dispostas em galhos de árvores, em estruturas habitacionais (como por exemplo, o telhado de casas, muros), e em estruturas chamadas jiraus construídos manualmente (figura 11). Foram dispostas em média cinco a seis armadilhas próximas umas às

outras, tendo em vista que as espécies apresentam comportamento gregário e sempre buscam e se alimentam em grupo aumentando a chance de captura.



Figura 10. Saguí (*Callithrix Khuli*) atraídos para armadilha de captura viva do tipo *Tomahawk*. Um indivíduo preso em armadilhas *Tomahawk* o outro à espreita.

Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 11. Disposição de armadilhas de captura viva em diferentes possibilidades – A – armadilhas montadas em árvores; B – Armadilhas dispostas em muros; C – Armadilhas em jirau.
Fonte: Arquivo pessoal.

Para as espécies grande porte, da família Atelidae (acima de 6Kg) foram realizadas capturas através de projetores de dardos anestésicos. Os tiros foram praticados por profissionais devidamente treinados nesta técnica. Foi utilizado um rifle com propulsão de dióxido de carbono comprimido e os dardos com injeção de droga por gás butano. As doses foram calculadas estimando o peso médio dos machos e fêmeas das espécies a ser capturadas, seguindo a recomendação descrita por Brasil (2017b) e Teixeira et al. (2022) (quadro 1). No solo montava-se uma rede manipulada por outros membros da equipe para amortecer a queda do primata atingido.

Após a captura de um indivíduo aguardava-se em torno de uma hora para observar se mais animais entravam nas armadilhas vizinhas.

Utilizava-se um pano de cor escura para cobrir as armadilhas no momento da retirada da armadilha com o animal do local e transporte do animal ao laboratório de campo. Essa ação é importante para diminuir o estresse visual.

Os animais foram contidos fisicamente com auxílio de luvas de raspa de couro, puçá, rede ou peças de madeira construídas para conter o animal no fundo da gaiola até a indução anestésica. Todos os profissionais que manipularam os animais ou estavam na área do laboratório de campo estavam devidamente paramentados com EPI's.

Foram utilizadas duas técnicas anestésicas para a contenção química dos animais. A anestesia inalatória era técnica padrão de escolha.

Com auxílio da *Vetbag*® (mochila de campo que comporta cilindro de oxigênio, vaporizador universal, traqueia, kits de máscaras faciais) os animais foram anestesiados com Isoflurano ajustado para liberar de 1 a 2% do anestésico (efeito dependente) e 1,5L de O₂/min como indicado por Gamble (2016).

Durante todo o processo os indivíduos foram monitorados com a avaliação dos parâmetros fisiológicos: frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura corporal; e nível de aprofundamento do plano anestésico.

Após a finalização da coleta do material biológico os animais foram mantidos em observação, monitorados até a completa recuperação pós anestesia. Com os animais já despertos foi realizada a soltura no mesmo local da captura.

Em casos de impossibilidade do uso da anestesia inalatória foram utilizados anestésicos injetáveis por via IM (quadro 1). Esse procedimento demandava maior tempo na indução e na recuperação dos animais (dados observados empiricamente).

Foram realizadas a identificação do gênero ou espécie capturada, determinado o sexo (macho ou fêmea), estimada a faixa etária (filhote, jovem, adulto) e a pesagem.

Quadro 1. Anestésicos utilizados na captura e anestesia dissociativa dos primatas

Fármacos utilizados no dardo anestésico			
Anestésico	Dose	Concentração	Via
Cetamina	10 a 15 mg/Kg (0,2 a 0,3mL/Kg)	50mg/ml	Dardo
Dexmedetomidina	0,005 a 0,05 mg/Kg (0,01 a 0,1mL/Kg)	0,5mg/ml	
Fármacos utilizados para a anestesia			
Anestésico	Dose	Concentração	Via
Cetamina	10 mg/Kg	100 mg/mL	Intramuscular (IM)
Midazolam	0,3 mg/Kg	5 mg/mL	

Fonte: Gamble (2016); Brasil (2017b); Teixeira et al. (2022)

5.3 Coleta de material Biológico

O laboratório de campo era montado em área plana, sombreada e distante de transeuntes, demarcado por fita de isolamento. No laboratório de campo, todo o material foi previamente organizado na mesa, dividido em sessões para que a dinâmica da coleta do material biológico durasse o menor tempo necessário (figura 12A).

Os espaços da mesa de trabalho foram divididos em: área de contenção (onde os animais foram contidos fisicamente e removidos das armadilhas), área de anestesia (com o material, equipamentos e o médico veterinário responsável pela anestesia), área de coleta de amostras (com os tubos previamente identificados e dispostos em ordem de sequência das amostras coletadas com um pesquisador realizando a coleta das amostras biológicas e outro pesquisador armazenando as amostras nos tubos), área de documentação (com o pesquisador responsável para tomar nota de todos os dados coletados).

A priori foram coletadas amostras de *swab* orofaríngeo e retal (duas amostras de cada) (figura 12B). Logo após foram realizadas as coletas de sangue por punção na veia femoral interna, após a desinfecção com clorexidina a 0,12%, utilizando agulha hipodérmica 23 G (0,60mm x 25mm) e seringa de 3mL ou 5mL. A quantidade de sangue coletada sujeita-se ao peso do indivíduo capturado (quadro 2), referente ao máximo 1% do peso vivo do animal.

Das amostras de sangue coletadas foram divididas em alíquotas de 0,5mL em dois tubos com EDTA cada e o sangue excedente foi armazenado em tubo sem EDTA. O tubo com anticoagulante foi armazenado em congelamento por nitrogênio líquido. O tubo sem anticoagulante foi mantido em isopor com gelo reciclável e logo em seguida foi centrifugado a

5000 rpm para separação do soro e do coágulo. Todo material separado foi então congelado em nitrogênio líquido.



Figura 12. Procedimentos de coleta de material em primatas Platyrrhini. A – Anestesia inalatória por máscara facial; B – Coleta de *swab* retal em Sagui-da-cara-branca (*Callithrix geoffroyi*); C – Aplicação de *microchip* para identificação do animal.

Fonte: Arquivo pessoal.

Quadro 2. Volume de sangue retirado por punção venosa de acordo com o peso do animal

Intervalo de peso das espécies (g)	Volume se sangue coletado (mL)
4.00 – 10.000	3 – 8
2.000 – 5.000	3 – 6
300 – 400	2,5 – 3
200 – 300	2 – 2,5

Fonte: Brasil (2017b).

Em seguida foram coletados outros tipos de amostras biológicas como pelos, ectoparasitas, se presentes, e amostras de fezes.

Também foram mensuradas medidas morfológicas em centímetros: circunferência de cabeça, do pescoço e do peito; comprimento cabeça-corpo, da cauda, cabeça-cauda, comprimento da mão, do fêmur, da tibia, do pé e da orelha do lado direito.

Durante o procedimento foram feitos a avaliação física dos animais observando a condição física, o escore corporal, avaliação da cavidade bucal, inspeção para avaliar a presença de cicatrizes, feridas, a contagem do número dos dedos das mãos e dos pés. Por fim, foram inseridos microchips (figura 12-C) nos animais para identificação daqueles já amostrados, assim em casos de recaptura pode-se identificar.

As capturas e coletas em campo seguiram orientações sugeridas por Amaral (2017), Brasil (2017b) e Teixeira et al. (2022).

5.4 Análise Estatística

A Análise estatística dos dados foi realizado através do *software* Jamovi versão 2.3 (The Jamovi Project, 2022), *software* EpiInfo™ 7.2.5.0 e *software* R Core Team (2022).

Para avaliar a associação entre os resultados encontrados e os dados epidemiológicos foi empregado o teste exato de Fisher com correção Bonferroni considerando o nível de significância (α) de 5% ($p < 0,05$).

6 CAPÍTULO I

Ocorrência de Anticorpos anti-*T.gondii* em primatas Platyrrhini no estado da Bahia, Brasil

Resumo

A toxoplasmose é uma doença zoonótica negligenciada amplamente distribuída pelo mundo. É causada pelo protozoário intracelular obrigatório *T. gondii*. Pode infectar diversos animais homeotérmicos, incluindo os humanos e os primatas não humanos. Os felídeos, domésticos e silvestres são os hospedeiros definitivo e responsáveis pelo desenvolvimento do estágio ambiental do parasito. Os primatas platyrrhini ou primatas do novo mundo são mais suscetíveis a infecção do que os primatas no velho mundo. Neste estudo, a ocorrência de infecção por *T. gondii* foi investigada pelo Teste de Aglutinação modificada (MAT) e pela análise molecular (PCR) em primatas platyrrhini capturados em 18 municípios do estado da Bahia, Brasil. Foram avaliados animais de vida livre e animais de cativeiro de sete espécies: *Alouatta caraya*, *Callithrix* spp. (híbridos); *C. geoffroyi*, *C. jacchus*, *C. kuhlii*, *C. penicillata*, *Leontopithecus chrysomelas* e *Sapajus robustus*. Das amostras de soro examinadas 1,58% (2/127) foram soropositivas para anticorpos IgG anti-*T. gondii* reagentes na titulação de 1:50. Todas as amostras foram negativas na avaliação molecular. A susceptibilidade a infecção pode estar relacionada com a espécie de primata infectada podendo apresentar uma resposta imunológica mais estrutura em certos grupos mais do que em outros.

6.1 Introdução

A toxoplasmose é uma doença distribuída mundialmente, causada pelo protozoário Apicomplexa *Toxoplasma gondii* que afeta um amplo rol de hospedeiros de animais vertebrados, incluindo humanos e primatas-não humanos (JACOBS et al., 1998). Os felídeos domésticos e silvestres são considerados os hospedeiros definitivos e os únicos capazes de produzir o estágio de transmissão ambiental (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

As principais formas de infecção em humanos e animais são através da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos ou pela ingestão de cistos teciduais em carne crua ou mal cozida (DUBEY et al., 2021; DUBEY, 2022).

O Brasil é o país com maior diversidade em primatas do mundo, em contrapartida, as espécies sofrem muitos impactos oriundo das atividades antrópicas. O desmatamento, a caça e a retirada desses animais para o comércio ilegal estão entre os fatores responsáveis pelo declínio da população (ESTRADA et al. 2018). Esse impacto no ambiente pode deixar os animais mais vulneráveis a contrair infecções (ESTRADA et al., 2018). A mortalidade devido às doenças infecciosas também é um fator preocupante para a conservação dos símios neotropicais (DUBEY, 2010).

Os primatas Platyrrhini (Primatas Neotropicais ou do novo Mundo) são considerados altamente suscetíveis à infecção pelo *T. gondii*, enquanto os Primatas do Velho mundo são considerados resistentes (DUBEY, 2022). As informações sobre a prevalência de *T. gondii* em primatas Platyrrhini de vida livre ainda são escassas. Alguns estudos realizados em animais de cativeiro provenientes de zoológicos, laboratórios de pesquisa e Centros de Triagem de Animais

Silvestres (CETAS) são mais frequentes e demonstram evidências sorológicas de anticorpos anti-*T. gondii* em várias espécies (BOUER et al., 2010; PIRES et al., 2012; FERREIRA et al., 2015; GRUMANN et al., 2017; MINERVINO et al., 2017; MELO et al., 2020).

Algumas espécies podem apresentar prevalências sorológicas altas como identificado em gêneros como *Cebus* e *Sapajus* (SILVA et al., 2013; FERREIRA et al., 2015; PAULA et al., 2019), baixas prevalências e casos de surtos em espécies de calitriquídeos e no gênero *Saimiri* (CUNNINGHAM et al., 1992; EIPHANIO; TEIXEIRA; CATÃO-DIAS, 2001; PIRES et al., 2012; MOLINA et al., 2017; LORDELO, 2021; OLIVEIRA et al., 2022).

Tendo tudo isto em vista objetivou-se verificar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* e detectar a presença de DNA em amostras de sangue de primatas Platyrrhini capturados em municípios do estado da Bahia, localizado na região nordeste do Brasil em parceria como o Projeto Febre amarela Br, que visa a vigilância ativa de primatas de vida livre.

6.2 Material e Métodos

No laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) localizado no município de Ilhéus no estado da Bahia foram realizados os procedimentos de diagnósticos sorológico com a técnica de Aglutinação Modificada (MAT) e o a investigação molecular das amostras de sangue de primatas Platyrrhini.

6.2.1 Avaliação Sorológica

Para a investigação de anticorpos anti-*T. gondii* foi utilizado o Teste de Aglutinação Modificada (MAT) descrito por Dubey e Desmonts (1987).

As amostras de soro foram diluídas na proporção de 1:25 em Solução tampão Fosfato Salina (PBS, pH = 7,2) em uma microplaca de fundo em U.

O mix para o antígeno foi preparado com taquizoítos de *T. gondii* inativados pela formalina (DESMONTS e REMINGTON 1980), misturado com Tampão Borato, 2-mercaptoetanol e azul de Evans. Em seguida, foram adicionados 25µL do soro diluído e 25µL do mix contendo o antígeno a uma microplaca de fundo em V, juntamente com os controles positivos e negativos.

Por conseguinte, a microplaca foi agitada por 2 a 3 minutos, revestida por papel filme e incubada a 37°C *overnight* (por 24h), para assim, realizar a primeira leitura. Em seguida, a microplaca foi incubada a 4°C por 4 a 6h para a realização da segunda leitura.

As leituras foram realizadas com auxílio de um microscópio estereoscópio Binocular no aumento de 2x. As amostras consideradas negativas foram caracterizadas pela formação de botão azul no fundo do poço em V e as amostras positivas (+++) se apresentaram como uma formação de uma malha/tapete azul no poço (Figura 13).

O ponto de corte utilizado foi 1:25 como sugerido pela literatura e as amostras positivas foram tituladas com diluições em série seriada até negativar (SIQUEIRA et al.,2013; GENNARI et al., 2015).

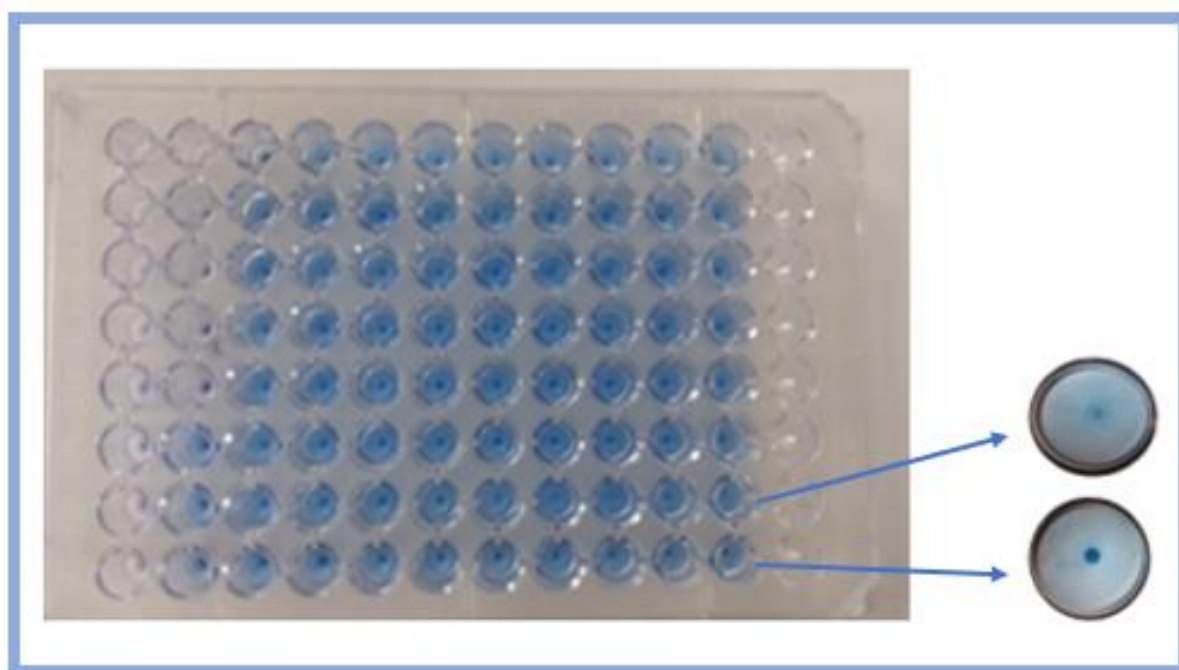


Figura 13. Microplaca para o MAT destacando os poços do controle positivo (poço acima) e do controle negativo (poço a baixo).

6.2.2 Avaliação Molecular

Para a investigação molecular de *T. gondii* em amostras de sangue total foi realizada a extração de DNA utilizando 200 μ L da amostra de sangue total seguindo as etapas do protocolo do kit comercial de extração de DNA/RNA *Biogene* da *Bioclin*®. A amostra foi eluída em 40 μ L.

A quantificação e a avaliação de pureza (relação 260/280nm) do DNA eluído foi realizado no aparelho de espectrofotometria (*NanoDrop 2000/c* - *Thermo Scientific*®, USA), utilizando como *blank* a água ultrapura.

As amostras de DNA foram submetidas a PCR convencional com os produtos resultantes amplificando o comprimento de 529 pares de base (pb) como descrito por Homan et al. (2000).

Pra cada tubo de reação de 0,2mL foram utilizados tampão de PCR (50mMKCl, 20mM de Tris-HCl), 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de DNTPs, 1U de Taq-polimerase (Platinum® Taq DNA Polymerase, Invitrogen®, USA), 10 µM de cada primer e água ultra pura (MIX-PCR), totalizando em 23,5µL do MIX-PCR e 1,5µL do produto de extração do DNA. Os *primers* utilizados foram TOX 4 e TOX 5, descritos no quadro 3.

As condições da amplificação no termociclador (Veriti 96- *Well Thermal Cycle*®) compreendendo um ciclo para desnaturação inicial a 94°C por 7 minutos; desnaturação, anexação dos iniciadores e alongamento em 34 ciclos por um minuto cada a 94°C, 60°C e 72°C, respectivamente; seguido de um ciclo de 72°C por 10 minutos.

Para controle positivo foi utilizado taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* e como controle negativo foi utilizado a água mili-Q estéril.

Quadro 3. *Primers* utilizados na PCR para *Toxoplasma gondii*

<i>Primers</i>	Sequência de nucleotídeos
TOX4	5' (CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG) 3'
TOX5	5' (CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT) 3'

6.3 Resultados

Um total de 127 primatas Platyrrhini foram capturados, de oito espécies diferentes, em 18 municípios distribuídos em seis regiões geográficas intermediárias da Bahia: Barreiras, Feira de Santana, Guanambi, Ilhéus-Itabuna, Santo Antônio de Jesus e Vitória da Conquista.

Dos animais capturados 96,85% foram animais de vida livre e 3,15% de cativeiro (Tabela 5). As espécies capturadas foram: *Alouatta caraya* (2/127), *Callithrix* spp. (híbridos) (10/127), *C. geoffroyi* (23/127), *C. jacchus* (4/127), *C. kuhlii* (31/127), *C. penicillata* (40/127), *Leontopithecus chrysomelas* (16/127), *Sapajus robustus* (1/127).

Em relação ao sexo foram capturados 55,11% (70/127) machos e 44,88% (57/127) fêmeas. Animais adultos foram os mais capturados 79,52% (101/127), seguido por 15,74% (20/127) jovens e 4,72% (6/127) filhote. Mais detalhes na tabela 5.

Na avaliação sorológica 1,57% (2/127; IC95%; 0%-3%) das amostras foram soropositivas (tabela 6). Um indivíduo *Alouatta caraya* e um indivíduo *Sapajus robustus*, foram reagentes na titulação de anticorpos até 1:50.

Foi utilizado o Teste exato de Fisher para avaliar se houve diferença significativa entre os positivos para a sorologia e o sexo, a condição de vida e a faixa etária dos primatas. Não houve diferença significativa entre a positividade no teste MAT e o sexo, condição de vida e faixa etária dos primatas capturados.

Para a avaliação dos animais soropositivos e as espécies foi necessário utilizar a correção de Bonferroni no resultado do teste Exato de Fisher apresentando que também não houve diferença significativa entre os positivos no MAT e as espécies capturadas

Na avaliação molecular todas as amostras foram negativas.

Tabela 5. Classificação de primatas platyrrhini investigados para anticorpos anti-*T. gondii* de acordo com a espécie, nome comum, sexo e faixa etária, condição de vida e município de captura.

Espécie	Nome comum	Sexo (Macho/Fêmea)	Faixa Etária (Filhote/Jovem/Adulto)	Condição (Vida livre/cativeiro)	Cidades
<i>Alouatta caraya</i>	Bugio	1/1	0/1/1	2/0	Ca (1), SRC (1)
<i>Callithrix</i> spp. (híbridos)	Sagui	4/6	1/2/7	9/1	CA (1), FRP (4), SRC (5)
<i>Callithrix geoffroyi</i>	Sagui-da-cara-branca	8/15	1/5/17	23/0	Itab (2), Itan (5), PS (16)
<i>Callithrix jacchus</i>	Sagui-de-tufo-branco	3/1	1/1/2	4/0	FRP (1), SRC (3)
<i>Callithrix khulii</i>	Sagui, souim	19/12	3/8/20	30/1	Ib (1), Ilh (30)
<i>Callithrix penicillata</i>	Sagui-de-tufo-preto	23/17	0/3/37	39/1	Ca (2), Co (9), Cor (10), CA (1), FS (1), FRP (4), Iu (4), Le (3), Ja (3), Ma (1), SRC (2)
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Mico-Leão-da-cara-dourada	11/5	0/0/16	16/0	Ilh (6), Un (10)
<i>Sapajus robustus</i>	Macaco-prego-de-crista	1/0	0/0/1	0/1	Ju (1)

Ca = Carinhanha; Co = Cocos; Cor = Coribe; CA = Cruz das Almas; FS = Feira de Santana; FRP = Formosa do Rio Preto; Ib = Ibirataia; Ilh = Ilhéus; Itab = Itabela; Itan = Itanhém; Iu = Iuiú; Ju = Jucuruçu; Ja = Jaborandi; Le = Lençóis; Ma = Malhada; PS = Porto Seguro; SRC = Santa Rita de Cássia; Un = Una.

Tabela 6. Animais testados no Teste de Aglutinação Modificado (MAT).

Variável	categoria	Positivos MAT		Negativos MAT		Total
		n	(%)	n	(%)	
Sexo	Fêmea	0	0.0	57	100.0	57
	Macho	2	2.9	68	97.1	70
Condição de vida	Vida Livre	1	0.8	122	99.2	123
	Cativeiro	1	25.0	3	75.0	4
Faixa etária	Filhote	0	0.0	6	100.0	6
	Jovem	0	0.0	17	100.0	17
	Adulto	2	1.9	102	98.1	104
Espécies	<i>Alouatta caraya</i>	1	50.0	1	50.0	2
	<i>Callithrix spp (Híbrido)</i>	0	0.0	10	100.0	10
	<i>Callithrix geoffroyi</i>	0	0.0	23	100.0	23
	<i>Callithrix jacchus</i>	0	0.0	4	100.0	4
	<i>Callithrix Khulii</i>	0	0.0	31	100.0	31
	<i>Callithrix penicillata</i>	0	0.0	40	100.0	40
	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	0	0.0	16	100.0	16
	<i>Sapajus robustus</i>	1	100.0	0	0.0	1

6.5 Discussão

As espécies da família Callitrichidae foram a maioria dos animais capturados para o estudo 97,6% (124/127). De todos os soros avaliados 3,15% eram de animais provenientes de condição de cativeiro e 96,85% foram de animais em condição de vida livre. Porém, a maioria desses animais tinham alguma forma de contato com os seres humanos. Alguns com maior proximidade do que outros.

Foi possível observar animais que viviam em sinantropia já acostumados a visitar certas residências diariamente para receber alimentos (frutas, em geral bananas). Essa proximidade dos primatas com ambientes antropizados, principalmente, em más condições sanitárias, e, ainda, a ingestão de alimentos que possam estar contaminados com os cistos teciduais ou com oocistos podem ser um fator de risco para a transmissão do parasito (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005).

Contudo, nesse estudo apesar dos fatores de risco presentes, a prevalência encontrada foi baixa. Em outros estudos realizados investigando a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em soro de Callitriquídeos também foram observados baixa prevalência (BOUER et al., 2010; PIRES et al., 2017; MOLINA et al., 2017; PAULA et al., 2020; LORDELO, 2021).

No estudo realizado por Molina et al. (2017), todos os 126 micos-leões-da-cara-dourada (*L. chrysomelas*) foram negativos para anticorpos anti-*T. gondii*, mesmo com alta interação com humanos e animais domésticos, como os gatos. No presente estudo também foi observado certa interação entre grupos de callitriquídeos e humanos. Dezesesseis indivíduos da espécie *L. chrysomelas* foram avaliados e todos foram soronegativos. Cento e oito indivíduos de gênero

Callithrix também avaliados e todos foram soronegativos. A principal hipótese para isso é que os Calitriquídeos são altamente suscetíveis a infecção por *T. gondii* (EPIPHANIO et al., 2003; CATÃO-DIAS; EPIPHANIO; KIERULFF, 2013; MOLINA et al., 2017; NIEHAUS et al., 2020; DUBEY et al., 2021) e que os animais infectados vão à óbito rapidamente sem antes fazer a conversão sorológica. A segunda hipótese é de estes indivíduos não tiveram contato com o protozoário, pontos que também foram discutidos por outros autores (MOLINA et al., 2017; NIEHAUS et al., 2020).

Os indivíduos soropositivos para anticorpos anti-*T.gondii* nestas pesquisa foram um indivíduo da espécie *Sapajus robustus* e um indivíduo *Alouatta caraya*.

O macaco prego de crista (*Sapajus robustus*) era uma animal em condição de cativeiro ilegal, vivia em um ambiente inóspito, em contato com animais domésticos (bovinos, suínos, caninos, felinos, aves domésticas) e em contato muito próximo com os humanos, inclusive alimentando-se de comidas industrializadas. Este indivíduo vivia em um ambiente desafiador rodeado de fatores de risco para a infecção por *T. gondii*. Além disso, na literatura *Sapajus* spp. apresentam alta prevalência para infecção por *T. gondii*, são animais que apresentam certa resistência à infecção, capazes se realizar a soroconversão e apresentar anticorpos ao serem avaliados (BOUER et al., 2010; FERREIRA et al., 2015).

Sapajus spp. são animais com hábitos onívoros e forrageiros, indo ao solo em busca de sementes, larvas em frutas, pequenos insetos e invertebrados. Animais que vivem em cativeiro podem estar expostos, se os padrões de biossegurança não forem implementados (DUBEY et al., 2021).

Um dos *Alouatta* spp. testados foi positivo (50%, 1/2), este animal era de vida livre, tinha boa condição física e os parâmetros normais durante o exame clínico. É válido salientar a dificuldade de captura desses animais em vida livre. Os animais desse gênero podem apresentar sinais agudos e graves da doença com taxa de mortalidade entre 20 a 80% (CATÃO-DIAS, EPIPHANIO e KIERULFF, 2013). Porém, normalmente apresentam uma baixa prevalência e baixos títulos de conversão (GARCIA et al., 2005; GRUMANN et al., 2017; EPIPHANIO, TEIXEIRA E CATÃO-DIAS 2001)). Neste estudo também foram identificados títulos baixos (1:50) no teste MAT.

No diagnóstico molecular nenhuma amostra foi positiva. Este fato pode ser explicado, primeiramente também pelo grande número de Callitriquídeos coletados que podem ir à óbito devido à infecção por *T. gondii* e mesmo nos animais positivos na sorologia, os indivíduos possivelmente devem estar na fase crônica da doença, na qual o parasito fica na forma latente em cistos teciduais e não no sangue. Esse resultado também foi observado em avaliação

molecular de amostras de sangue de primatas neotropicais (do gênero *Ateles*, *Cebus*, e *Lagothrix*), em condição de cativeiro, residentes de um zoológico em São Paulo (SILVA, 2016a).

O diagnóstico molecular de *T. gondii* a partir de amostras de sangue pode ser difícil, a não ser que o paciente apresente alta parasitemia de infecção aguda, e dessa forma os taquizoítos possam estar presentes na circulação (DUBEY et al., 2021).

6.6 Conclusão

Nesse estudo identificamos uma baixa soroprevalência de anticorpos anti-*T.gondii* em primatas Platyrrhini do estado da Bahia, Brasil. Não foi identificado material genético do agente em amostras de sangue.

7 CAPÍTULO II

Detecção molecular de *Plasmodium brasilianum*/*P. malariae* em primata Platyrrhini de vida livre no estado da Bahia, Brasil

Resumo

Os primatas Platyrrhini podem ser infectados por protozoários do gênero *Plasmodium*, parasito responsável pela Malária. O agente etiológico é transmitido pela picada dos mosquitos do gênero *Anopheles*, hospedeiros definitivos deste parasito. A malária símia no Brasil está relacionada com duas espécies: *P. simium* e *P. brasilianum*, que são morfológica e geneticamente semelhantes às espécies que infectam os seres humanos, *P. vivax* e *P. malariae*, respectivamente. A malária extra-amazônica tem sido relacionada com o mosquito *An. (Kerteszia) cruzii*, frequente em áreas com riqueza em Bromélias, flora endêmica de Mata Atlântica. As mudanças ambientais, o grande fluxo migratório de pessoas e o comércio de animais, podem contribuir para a disseminação do parasito no território brasileiro. A vigilância e monitoração de primatas silvestres podem trazer informações a cerca da distribuição deste parasito e o correto diagnóstico da espécie presente é relevante para a saúde pública. Portanto, objetivou-se com este estudo identificar a presença de material genético de *Plasmodium* spp. em primatas Platyrrhini de 18 municípios do Estado da Bahia (Carinhanha, Cocos, Coribe, Cruz das Almas, Feira de Santana, Formosa do Rio Preto, Ibirataia, Ilhéus, Itabela, Itanhém, Iuiú, Jaborandi, Jucuruçu, Lençóis, Malhada, Porto Seguro, Santa Rita de Cássia e Una). Os animais foram capturados com armadilhas de captura viva, do tipo *Tomahawk*, iscada com frutas. A contenção química foi realizada, com anestesia inalatória fornecida pela *VetBag*®, para a coleta de amostras de sangue realizada através da veia femoral. Foram coletadas 127 amostras de sangue de primatas platyrrhines de vida livre e de condição de cativeiro dos municípios da Bahia: *Alouatta caraya* (2), *Callithrix geoffroyi* (23), *C. jacchus* (5), *C. kuhlii* (30), *C. penicillata* (41), híbridos (*Callithrix* spp.) (9), *Leontopithecus chrysomelas* (16) e *Sapajus robustus* (1). O diagnóstico molecular foi realizado a partir de amostras de coágulo submetidas à *nested*-PCR com alvo a subunidade menor do RNA ribossomal (SSUrRNA) e posterior sequenciamento. De todas as amostras testadas 0,78% (1/127) foram positivas para *Plasmodium brasilianum/P.malariae*. Esta foi a primeira detecção deste parasita em *C. geoffroyi* na Bahia.

7.1 Introdução

A malária é uma doença causada pelos protozoários do gênero *Plasmodium*. A infecção é transmitida através da picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles* (GALINSK, 2022). No Brasil os casos de Malária humana são endêmicos da região norte do país. Contudo, tem sido reportado cada vez mais casos de origem autóctone, em nas áreas de Mata Atlântica. Nesse ambiente o vetor principal é o *Anopheles (Kerteszia) cruzi*, o mosquito das bromélias. Os anofelinos do subgênero *Kerteszia* dispõe seus criadouros em plantas que acumulam água como as plantas endêmicas da região, as Bromélias, e estão comumente envolvidos nos surtos de malária de Mata Atlântica. Os hábitos desses mosquitos podem variar de uma região para outra e ao longo das estações do ano (BRASIL, 2021).

Os primatas platirrinos são considerados reservatórios para o parasito da malária e podem ser um importante ator na transmissão da malária zoonótica que configura um dos maiores desafios para eliminação da malária (LALREMURATA et al., 2015; BRASIL et al., 2017).

São identificadas cinco espécies de parasitos da malária em humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* (*Plasmodium ovale wallikeri* e *P. o. curtisi*), *Plasmodium malariae* e *Plasmodium knowlesi* (ASHLEY; PHYO; WOODROW, 2018). Mas existem cerca de 30 espécies de *Plasmodium* que conseguem estabelecer infecções em PNH, apesar de a maioria dos parasitos ainda estarem restritos a hospedeiros filogeneticamente relacionados que pertencem à mesma família (DAVIDSON et al., 2019).

No continente americano duas espécies estão envolvidas na infecção dos primatas platyrrhini, *P. brasilianum* e *P. simium*. Ambas já foram reportadas em infecções em humanos (DEANE, 1992; LALREMURATA et al., 2015) o que reforça a importância do processo de vigilância epidemiológica nesse grupo de animais. *Plasmodium brasilianum* infecta um grande número de espécies que pertencem a todas as famílias de primatas neotropicais, em contraste a maioria das outras espécies de *Plasmodium* que infectam apenas primatas da mesma família taxonômica (DEANE, 1992).

O objetivo desse estudo foi avaliar a presença de DNA de *Plasmodium* spp. em primatas plattirinos no estado da Bahia e identificar qual a espécie presente.

7.2 Material e Métodos

O diagnóstico molecular para detecção de DNA de *Plasmodium* spp. foi realizado no laboratório de Malária do Instituto René Rachou, unidade regional da Fundação Oswaldo Cruz de Minas localizada no município de Belo Horizonte em Minas Gerais.

7.2.1 Extração de DNA

Para a técnica de extração de DNA foi utilizado 150µl de amostra de coágulo que foi macerado com o auxílio de tesouras e misturado a 300µl do tampão de lise fornecido no mini kit DNA QIAMP®, QUIAGEN e centrifugado a 6000 rpm por 40 segundos para ruptura do coágulo. Logo após deu-se a continuidade as etapas sugeridas no protocolo do kit comercial da QIAMP (protocolo em anexo). O procedimento foi adaptado do protocolo descrito pro Abreu et al. (2018).

7.2.2 PCR de citocromo B de mamíferos

Para avaliar se as extrações realizadas foram um sucesso, as amostras de DNA foram submetidas a PCR para amplificação de fragmento do citocromo B de mamíferos. Os *primers* utilizados a seguir: cyBF (5' CCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA 3') e cyBR (5'

CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA 3'). Seguindo o protocolo adaptado do descrito por Kocher et al. (1989).

A amplificação gerou um fragmento de 350pb para primatas neotropicais. A reação foi realizada em volume de 20 mL utilizando: 2 µL de DNA, 0,625 µM de cada um dos *primers*, 0,125 mM de cada um dos dNTPs, 1,875 mM de MgCl₂, 1U de Taq-DNA Polimerase (Invitrogen, California, USA) e o tampão da Taq DNA polimerase 10X. As amplificações foram realizadas no termociclador *Mastercycler® personal Eppendorf*, sendo as condições da PCR para a reação: 95 °C por cinco minutos, 35 ciclos com 95 °C por trinta segundos, 58 °C por trinta segundos, 72 °C por um minuto, após estes ciclos um passo de extensão a 72 °C por seis minutos e 4 °C por tempo ilimitado.

7.2.3 Nested PCR - alvo 18S

O DNA extraído foi submetido à amplificação pela técnica *nested* PCR descrita por Snounou et al. (1993) utilizando *primers* espécie-específicos para identificar espécies de plasmódios que infectam humanos (*P. malariae*/*P. brasilianum*, *P. vivax*/*P. simium* e *P. falciparum*), tendo como alvo o gene que codifica a subunidade menor do RNA ribossomal (18S ou SSUrRNA).

Todas as reações de PCR foram executadas em 20µL de volume final contendo 250µM de cada oligonucleotídeo inicializador (*primers*) e 10µL do mix (MasterMix Promega). Foi utilizado 2µL de DNA (5-10ng).

Para a primeira reação foram utilizados os *primers* rPLU5 e rPLU6 para o fragmento de gênero específico de 1200 pb do gene que codifica a subunidade menor do RNA ribossomal. Para a segunda reação foram utilizados os *primers espécie-específicos* rFAL-1-rFAL2 para *P. falciparum* que amplifica um fragmento de 205 pb, rV1V1-rV1V2 para *P. vivax* que amplifica 120pb, rMAL1-rMAL2 para *P. malariae*, que amplifica em 144 pb (quadro 4).

Foram utilizados como controle negativo água ultrapura e como controles positivos foram utilizados DNA de *P. brasilianum* de MR4 (Banco Internacional de Reagentes de Referência de Malária – ATCC, EUA), DNA de *P. simium* obtido de quadro de infecção aguda com parasitemia confirmada pela microscopia óptica, DNA de paciente com elevada parasitemia de *P. vivax*, DNA de *P. falciparum* – cepa 3D7 mantida no laboratório da Fiocruz Minas. Todos os controles foram cedidos pela Fiocruz Minas.

As amplificações foram executadas em um termociclador automático (BIORED T100 *Thermal Cycler*) e os parâmetros para cada ciclo foram: para a desnaturação inicial 95°C

durante 5 minutos, seguido de 24 ciclos de anelamento à 58°C durante 2 minutos, extensão à 72°C durante 2 minutos e desnaturação à 94°C durante 1 minuto, seguido de uma incubação do anelamento final à 58°C por 2 minutos e extensão à 72°C por 5 minutos. A temperatura foi reduzida até 4°C e se manteve até as amostras serem removidas do termociclador. A segunda reação foi executada seguindo os mesmos parâmetros utilizados para a primeira reação, apenas alterando a quantidade para 29 ciclos de amplificação.

Quadro 4. *Primers* utilizados para *nested-PCR* para *Plasmodium* spp.

PCR	Alvo	Sequência de nucleotídeos	Tamanho do fragmento
1ª Reação	Gene 18S de <i>Plasmodium</i>	5'CCTGTTGTTGCCTTAAACTTC 3' 5'TTAAAATTGTTGCAGTTAAAACG3'	1200 pb
2ª Reação	Gene 18S de <i>P. vivax</i> ,	5'CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC3' 5'TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATATT3'	120 pb
	<i>P. falciparum</i> ,	5'TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATATT3	205 pb
	<i>P. malariae</i>	5'ACACAATGAACTTCAATCATGACTACCCGTC3' 5'ATAACATAGTTGTACGTTAAGAATACCGC 3' 5'AAATTCCCATGCATAAAAAATTATACAAA3'	144 bp

É válido salientar que a extração de DNA e o mix da PCR foram preparados em “sala livre de DNA de parasitos” distintas uma da outra com diferentes conjuntos de pipetas e ponteiros utilizadas em cada procedimento, e assim, evitando contaminação.

Os fragmentos amplificados foram visualizados em gel de agarose a 2% preparado com 1x TAE buffer (40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA) with 5 µg/mL de Brometo de Etídeo (Invitrogen) em sistema horizontal (Bio-Rad) a 100 V por 30 minutos. Os géis foram examinados com transiluminador automático UV (UVP - Bio-Doc System it). A eletroforese foi executada em sala especificamente utilizada para a análise de DNA amplificado com conjunto de pipetas e ponteiros próprios.

7.2.4 *Nested PCR* - alvo mitocondrial e RFLP

Para descartar/confirmar a espécie *P. simium* foi utilizada a técnica descrita por Alvarenga et al. (2018). Essa técnica é específica para o diagnóstico diferencial de *P. simium*. Foram utilizados dois pares de *primers* descritos no quadro 5.

A primeira reação (*primers* PsimOutF e PsimIntR) foi realizada no volume final de 20µL contendo 0.5M de cada oligonucleotídeo inicializador (*primers*), mix preparado com 0.2 µL Taq DNA Polimerase (Invitrogen, 5U/µL), 0.2 mM de cada desoxirribonucleotídeo trifosfato (DNTPs) e 1.5mM MgCl₂ e 2µL da amostra de DNA extraído. A segunda reação foi realizada com as mesmas condições descritas acima, utilizando os *primers* PsimEDF e PsimEDR.

A reação foi executada no no Termociclador (*Veriti 96 wells, Applied Biosystems*) com os seguintes parâmetros do ciclo; um ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 2 minutos, seguindo de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, o anelamento a 54 °C por 20 segundos e a extensão a 72 °C por 30 segundos e a extensão final a 72 °C for 2 minutos. A temperatura então reduz para 4°C. Para a segunda reação da PCR utilizou 1 a 3 µL do produto da reação primária. Os ciclos seguiram com os mesmos parâmetros da primeira reação.

Os fragmentos amplificados foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 2% de 1X tampão TAE (40mM Tris-Acetato, 1 mM EDTA) corado com 5µg/mL corado de Brometo de Etídeo (Invitrogen) em sistema horizontal (Bio-Rad) a 100V por 30 minutos. Os géis foram examinados em transiluminador UV (UVP – Bio Doc System it).

Quadro 5. *Primers* da *nested* PCR para identificar *Plasmodium simium*.

<i>Nested</i> PCR	<i>Primers</i>	Sequência de nucleotídeos
Para a 1ª Reação	PsimOUTF	5'CAGGTGGTGTTTTAATGTTATTATCAG3'
	PsimINR	5'ATGTAAACAATCCAATAATTGCACC3'
Para a 2ª Reação	<i>Psim EDF</i>	5'ATCCTACATTTGCTGGAGATCCTA3'
	<i>PsimEDR</i>	5'GCTCTTGTATCTACTTCTAAACCTGTAG3'

Todas as reações foram realizadas em salas distintas “livre de DNA de parasitos” utilizando conjuntos de pipetas e ponteiros próprias. Foram utilizados como controles positivos de DNA de *P. brasilianum* de MR4 (Banco Internacional de Reagentes de Referência de Malária – ATCC, EUA), DNA de *P. simium* obtido de quadro de infecção aguda com parasitemia confirmada pela microscopia óptica, DNA de paciente com elevada parasitemia de *P. vivax*, DNA de *P. falciparum* – cepa 3D7 mantida no laboratório da Fiocruz Minas. Todos os controles foram cedidos pela Fiocruz Minas.

Seguindo a amplificação verificada em gel de agarose os produtos da *nested*-PCR foram digeridos com a enzima de restrição *Hpy*CH4III (*New England Biolabs*, Ipswich, MA, USA) no método de RFLP-PCR (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).

A digestão foi executada em um volume de 10 μ L contendo 0.5 μ L da enzima (5U/ μ L), 1 μ L do tampão para a enzima e 5 μ L do produto da PCR (2–7 μ L de acordo com a intensidade visualizado no gel de agarose). Protocolo descrito por Alvarenga et al. (2018), técnica de diagnóstico específico para *P. simium*.

7.2.5 Sequenciamento

Para o sequenciamento do DNA amplificado pela *Nested* PCR Mitocondrial foi utilizado o kit Big Dye[®] Terminator v3,1 cycle sequencing (*Applied Biosystems*, Califórnia, EUA). As reações foram realizadas em um volume final de 10 μ L com cerca de 2 μ L de produto da PCR foi amplificado usando 10 μ M de primer e 1 μ L do kit BigDye Terminator.

As condições foram: 96 °C durante um minuto, 35 ciclos a 96 °C durante quinze segundos, 54 °C por quinze segundos e após estes ciclos, um passo de extensão final a 60 °C por quatro minutos. Logo após foi realizado à precipitação do DNA em cada poço da placa MicroAmp 96-well[®] *Reaction plate* (*Applied Biosystems*, Califórnia, USA) foram adicionados 1 μ L de EDTA 125 mM, 1 μ L de acetado de amônio 7,5 M e 50 μ L de etanol absoluto gelado. Em seguida, a placa foi selada e levada ao vortex brevemente. Em seguida a placa foi incubada por 15 minutos à temperatura ambiente e centrifugada por 45 minutos a 3700 rpm também em temperatura ambiente.

A placa foi vertida e o sobrenadante foi descartado. Em cada poço foram adicionados 100 μ L de etanol 70% gelado. A placa foi centrifugada por 15 minutos a 3700 r.p.m. em temperatura ambiente e foi vertida de forma que o sobrenadante fosse descartado. Em seguida a placa foi centrifugada em posição invertida a 3700 rpm por dois minutos. Depois o DNA foi ressuspendido com formamida HI-DITM (*Applied Biosystems*, Califórnia, USA), a placa foi novamente selada e vedada em papel alumínio e analisada em sequenciador automático 37300 pela plataforma de sequenciamento da Fiocruz Minas.

As seqüências obtidas do sequenciador automático foram inicialmente analisadas no programa BLASTn (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) com o propósito de confirmar o gene sequenciado. Cada seqüência *Chromas Lite* versão 2.1.1, que fornece o *base-calling*, na qual é possível avaliar a qualidade dos cromatogramas gerados pelo sequenciador automático.

Os alinhamentos das sequências e a obtenção da sequência consenso foram realizados com o *software* de alinhamento múltiplo *ClustalW* (Thompson et al., 1994) e *Contig Assembly Program* (CAP) (Huang, 1992), dentro do pacote de programas *BioEdit Sequence Alignment Editor* v.7.0.9 (Hall, 1999).

No BioEdit, quando necessário, foi realizada a edição manual do alinhamento do gene sequenciado. O alinhamento também foi realizado utilizando o *software* *Muscle*, implementado no MEGA. As sequências de referência de *Plasmodium* utilizadas estão disponíveis no GenBank [número de acesso]: *P. vivax* [GenBank: AY579418.1], *P. falciparum* [GenBank: JQ627150.1], *P. malariae* [GenBank: GU815531.1] e *P. brasilianum* [GenBank: KC906730.1]

7.3 Resultados e discussão

Foram testadas 127 amostras de coágulo de Primatas Platyrrhini de municípios do território baiano. Os resultados obtidos a partir da análise molecular obteve a prevalência de 0,78% (1/127) de positivo (Tabela 7) para DNA de *Plasmodium* (Figura 14). Essa baixa prevalência pode ter sido influenciada pelo alto número de indivíduos da família Callitricidae. Este agente é mais frequentemente detectado em gêneros como *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles*, *Cacajao*, *Cebus* e *Saimiri* (KINDLOVITS; KINDLOVITS, 2009).

A infecção natural por *Plasmodium* spp. em indivíduos da família Callitricidae não acontece com frequência apresentando baixa ou nenhuma prevalência (DEANE, 1992; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 1995; FANDEUR et al., 2000; ARAÚJO et al., 2013; AITKEN et al., 2016; ALVARENGA et al., 2017). Apesar do agente *P. brasilianum* ter ampla distribuição geográfica e baixa especificidade de hospedeiros, foi sugerido por Aitkens et al. (2016) que os indivíduos da família Callitricidae podem apresentar resistência à infecção.

Outros fatores que podem ser responsáveis pela baixa prevalência seria o comportamento desse grupo de animais de movimentos ligeiros e dinâmicos, com hábitos de dormir em ocas de árvores do momento do crepúsculo ao nascer do sol com menor exposição à picada de mosquitos (ROSENBERGER, 1995).

Nessa investigação indivíduo positivo foi da espécie *C. geoffroyi*, um indivíduo macho, adulto com sobre peso e boa condição física. Foi capturado em área de Mata Atlântica localizada no distrito de Trancoso, município de Porto Seguro, extremo sul da Bahia. Essa é a primeira identificação de DNA de *P. brasilianum/P. malariae* em indivíduo da espécie *C. geoffroyi* no estado da Bahia. Anteriormente, Alvarenga et al. (2017) descreveram a primeira detecção de *P. brasilianum/P. malariae* nessa espécie no estado do Rio de Janeiro.

O município de Porto Seguro está inserido em área de Mata Atlântica em região litorânea do estado da Bahia, é uma região de amplo fluxo turístico. O distrito de Trancoso, antiga vila de pescadores, passou por um aumento populacional nos últimos anos, com progressiva expansão urbana o que ocasionou desmatamento da Mata Atlântica presente na região gerando áreas de degradação e problemas socioambientais (SILVA, 2006).

Esse impacto ambiental afeta tanto o meio abiótico como o meio biótico do ecossistema da região, impactando a flora e a fauna. Esse estresse ambiental causado pode deixar os animais mais vulneráveis a contrair infecções e apresentarem alta parasitemia (DUARTE et al., 2008). Sabe-se que o vetor *Anopheles (Kerteszia) cruzii* tem um ambiente propício para seu desenvolvimento em áreas de floresta da Mata Atlântica, principalmente, em região com alta densidade de bromélias (MULTINI; WILKE; MARRELLI., 2020), fato que foi observado na região de captura do grupo de Calitriquídeos. No Boletim entomológico do estado da Bahia (BRASIL, 2016) verificou-se a presença de mosquitos do gênero *Anopheles* em 373 municípios, entre eles o município de Porto Seguro. Um dos subgêneros identificados foi *Kerteszia*, confirmando a presença do mosquito na região estudada.

A hipótese nesse estudo é que o agente etiológico está circulando na região onde os primatas vivem. São necessários outros estudos epidemiológicos na região para monitoramento desses animais e maiores conclusões a respeito desse achado.

Tabela 7. Primatas platirrinos testados em *nested*-PCR para *Plasmodium* spp.

Variável	categoria	Positivos Nested PCR <i>Plasmodium</i>		Negativos Nested PCR <i>Plasmodium</i>		Total
		n	(%)	n	(%)	
Sexo	Fêmea	0	0.0	57	100.0	57
	Macho	1	1.4	69	98.6	70
Condição de vida	Vida Livre	1	0.8	122	99.2	123
	Cativeiro	0	0.0	4	100.0	4
Faixa etária	Filhote	0	0.0	6	100.0	6
	Jovem	0	0.0	17	100.0	17
	Adulto	1	1.0	103	99.0	104
Espécies	<i>Alouatta caraya</i>	0	0.0	2	100.0	2
	<i>Callithrix</i> spp (Híbrido).	0	0.0	10	100.0	10
	<i>Callithrix geoffroyi</i>	1	4.3	22	95.7	23
	<i>Callithrix jacchus</i>	0	0.0	4	100.0	4
	<i>Callithrix Khulii</i>	0	0.0	31	100.0	31
	<i>Callithrix penicillata</i>	0	0.0	40	100.0	40
	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	0	0.0	16	100.0	16
	<i>Sapajus robustus</i>	0	0.0	1	100.0	1

7.4 Conclusão

Foi identificado a presença de DNA de *Plasmodium brasilianum/P. malariae* em amostra de coágulo de primata Platyrrhini no estado da Bahia. É o primeiro relato de *P. brasilianum/P. malariae* em *Callithrix geoffroyi* na Bahia.

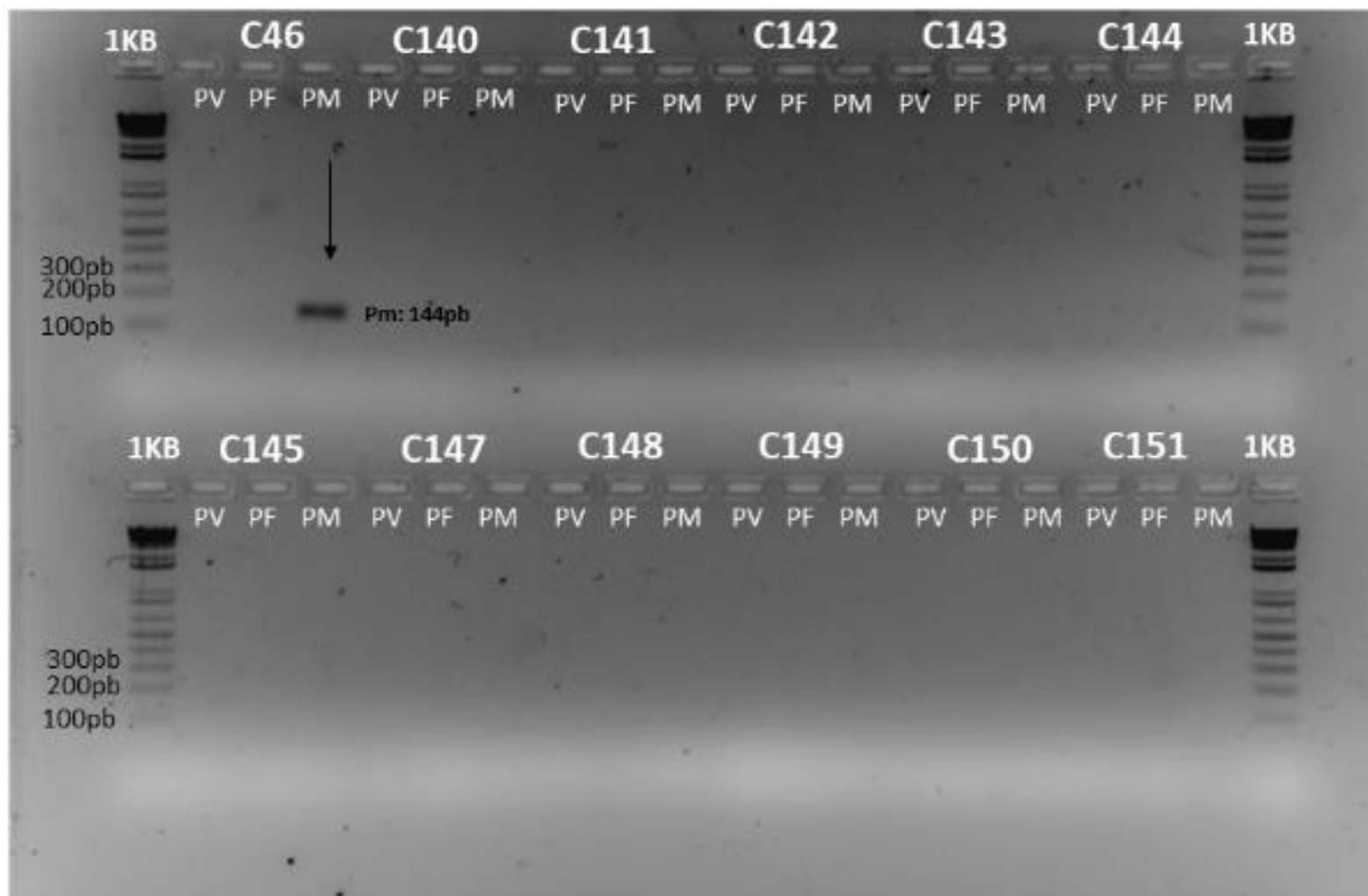


Figura 14. Amplificação da amostra positiva para *P. malariae* em gel de agarose a 2% com brometo. Padrão de Peso Molecular *1Kb Plus DNA Ladder* (Invitrogen) – região alvo 18S – espécie-específico amplificando em banda de comprimento 144pb. PV = *Plasmodium vivax*, PF = *P. falciparum*, PM = *P. malariae*

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa a respeito da presença de *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. em primatas Platyrrhini, realizada em municípios do território baiano confirmou a presença de ambos os agentes nesse grupo de animais.

Na avaliação sorológica de anticorpos anti-*T. gondii* foi identificado baixa prevalência em símios do estado da Bahia. Adicionalmente, a avaliação molecular não detectou presença de DNA do agente em amostras do sangue total avaliadas.

Através de testes moleculares foi possível detectar DNA de *Plasmodium brasilianum/P. malariae* em amostra de coágulo. Foi a primeira detecção deste agente na espécie de primatas *Callithrix geoffroyi* no estado da Bahia.

9 REFERÊNCIAS

ABREU, F.V.S.; GOMES, L.R.; MELLO, A.R.L.; BIANCO-JUNIOR, C.; PINA-COSTA, A.; SANTOS, E.; TEIXEIRA, D.S.; BRASIL, P. Frozen blood clots can be used for the diagnosis of distinct *Plasmodium* species in man and non-human primates from the Brazilian Atlantic Forest. **Malaria Journal**, v.17, n. 338, 2018.

AFONSO E, THULLIEZ P, PONTIER D, GILOT-FROMONT E. Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: Not all prey species are equal. **Parasitology**, v. 134, p. 1963–1971, 2007. doi: 10.1017/S0031182007003320

AFONSO, E.; THULLIEZ, P.; GILOT-FROMONT, E. Local meteorological conditions, dynamics of seroconversion to *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis catus*) and oocyst burden in a rural environment. **Epidemiology and Infection**, v. 138, p.1105–13, 2010. doi:10.1017/S0950268809991270

AFONSO, E.; GERMAIN, E.; POULLE, M.L.; RUETTE, S.; DEVILLARD, S.; SAY, L.; VILLENA, I.; AUBERT, D.; GILOT-FROMONT. Environmental determinants of spatial and temporal variations in the transmission of *Toxoplasma gondii* in its definitive hosts. **International Journal of Parasitology**, v. 2, p. 278–85, 2013. doi: 10.1016/j.ijppaw.2013.09.006

AGUIRRE, A.A.; LONGCORE, T.; BARBIERI, M.; DABRITZ, H.; HILL, D.; K. P.N.; LEPCZYK, C.; LILLY, E.L.; MCLEOD, R.; MILCARSKY, J.; MURPHY, C.E.; SU, C.; VANWORMER, E.; YOLKEN, R.; SIZEMORE, G.C. The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. **EcoHealth**, v. 16, p. 378-390, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01405-7>

AITKEN, E.H.; BUENO, M.G.; ORTOLAN, L.S.; ALVARÉZ, J.M.; PISSINATI, A.; KIERULFF, M.C.M.; CATÃO-DIAS, J.L.; EPIPHANIO, S. Survey of *Plasmodium* in the golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*) living in urban Atlantic forest in Rio de Janeiro, Brazil.

ALTIZER, S.; NUNN, C. L.; LINDENFORS, P. Do threatened hosts have fewer parasites? A comparative study in primates. **Journal of Animal Ecology**, v.76, p. 304–314, 2007.

ALVARENGA, D. A. M. **Estudo Molecular dos Parasitos Causadores da Malária Simiana no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Pesquisas René Rachou. Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 79. 2014.

ALVARENGA, D.A.; DE PINA-COSTA, A.; DE SOUSA, T.N.; PISSINATTI, A.; ZALIS, M.G.; SUAREZ-MUTIS, M.C.; LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R.; BRASIL, P.; DANIEL-RIBEIRO, C.T.; DE BRITO, C.F. Simian malaria in the Brazilian Atlantic forest: First description of natural infection of capuchin monkeys (Cebinae subfamily) by *Plasmodium simium*. **Malaria Journal**, v. 14, n.81, p. 1-9, 2015.

ALVARENGA, D.A.; PINA-COSTA, A.; BIANCO, C., JR.; MOREIRA, S.B.; BRASIL, P.; PISSINATTI, A.; DANIEL-RIBEIRO, C.T.; BRITO, C.F. New potential *Plasmodium*

brasilianum hosts: Tamarin and marmoset monkeys (family Callitrichidae). **Malaria Journal**, v. 16, n. 71, 2017.

ALVARENGA, D.A.M.; CULLETON, R; PINA-COSTA, A.; RODRIGUES, D.F.; BIANCO JR; C.; SILVA, S.; NUNES, A.J.D.; SOUZA JR., J.C.; HIRANO, Z.M.B.; MOREIRA, S.B.; PISSINATI, A.; ABREU, F.V.S.; AREAS, A.L.L.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; ZALIS, M.G.; FERREIRA-DA-CRUZ, M.F.; BRASI., P.; DANIEL-RIBEIRO, C.T.; BRITO, C.F.A. An assay for the identification of *Plasmodium simium* infection for diagnosis of zoonotic malaria in the Brazilian Atlantic Forest. **Scientific Reports**, v. 8, n. 86, p. 1-10, 2018.

AMARAL, R.G. **Captura, Marcação e Manejo de Primatas para coleta de material biológico e estudos de comportamento, Brasília/DF, 2017**. Monografia (Graduação) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Distrito Federal, p. 27. 2017.

ANDERSON, D.C.; MCCLURE, H.M. Acute disseminated fatal toxoplasmosis in a squirrel monkey. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 181, n° 11, p. 1363-1366, 1982.

ANTINORI, S.; BONAZZETTI, C.; GIACOMELLI, A.; CORBELLINO, M.; GALLI, M.; PARRAVICINI, C.; RIDOLFO, A.L. Non-human primate and human malaria: past, present and future. *Journal of travel medicine*, v. 28, n. 5, p. 1-14, 2021.

ARAÚJO, F.A.A.; RAMOS, D.G.; SANTOS, A.L.; PASSOS, P.H.O. ELKHOURY, A.N.S.M.; COSTA, Z.G.A.; LEAL, S.G.; ROMANO, A.P.M. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n° 4, p. 527-536, out-dez, 2011.

ARTAXO, P. As três emergências que nossa sociedade enfrenta: saúde, biodiversidade e mudanças climáticas. **Estudos Avançados**, v. 34, n. 100, 2020.
<https://doi.org/10.1590/s0103-4014.2020.34100.005>

ASHLEY, E.A.; PHYO, A.P.; WOODROW, C.J. Malaria. *Lancet*, v. 391, p. 1608-1621, 2018. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30324-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30324-6)

AURICCHIO, P. **Primatas do Brasil**. 1 ed. Terra Brasilis: São Paulo, 1995. 168p.

BARNWELL, J.W. Antigens of *Plasmodium vivax* blood stage parasites identified by monoclonal antibodies. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 59–61, 1986.

BELTRAME, M.A.; PENA, H.F.; TON, N.C.; LINO, A.J.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; PEREIRA, F.E.L. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, n.188, p. 225-230, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.053> PMID:22541793.

BERENGUER, J.G. **Manual de Parasitologia: morfologia e biologia dos parasitos de interesse sanitário**. Argos Editora da Unochapecó: Santa Catarina, 2006. 602p.

BICCA-MARQUES, J.C.; SILVA, V.M.; GOMES, D.F. Ordem Primates. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: [s.n.], 2006, p. 101-148.

BIRKENMEYER L, MUERHOFF AS, DAWSON GJ, DESAI SM. Isolation and characterization of the MSP1 genes from *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, p. 996–1003, 2010.

BODDEY, J.A.; COWMAN, A.F. *Plasmodium* nesting: Remaking the erythrocyte from the inside out. **Annual Review of Microbiology**, v. 67, p. 243-269, 2013.

BOUER, A.; WERTHER, K.; MACHADO, R.Z.; NAKAGHI, A.C.; EPIPHANIO, S.; CATÃO-DIAS, J.L. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in experimentally and naturally infected non-human primates by Indirect Fluorescence Assay (IFA) and indirect ELISA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.19, p. 26–31, 2010.
doi: 10.1590/S1984-29612010000100006

BRASIL. Ministério da saúde. Gabinete do ministro. Portaria nº 5, de 21 de fevereiro de 2006. Disponível em:
https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2006/prt0005_21_02_2006_comp.html. Acesso em: 30 de set. 2022.

BRASIL. Ministério da saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2.472, de 31 de agosto de 2010. Disponível em:
https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt2472_31_08_2010.html. Acesso em: 30 de set. 2022.

BRASIL. Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia. Carta Anofélica da Bahia, Brasil. **Boletim entomológico**, n. 03, p. 1-2, 2016.

BRASIL, P.; ZALIS, M.G.; PINA-COSTA, A.; SIQUEIRA, A.M.; BIANCO JÚNIOR, C.; SILVA, S.; AEREAS, A.L.L.; PELAJO-MACHADO, M.; ALVARENGA, D.A.M.; SANTELI, A.C.F.S.; ALBUQUERQUE, H.G.; CRAVO, P.; ABREU, F.V.S.; PETERKA, C.L.; ZANINI, G.M.; MUTIS, A.C.S.; PISSINATI, A.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; BRITO, C.F.A.; CERREIRA-DA-CRUZ, M.F.; CULLETON, R.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. *Plasmodium simium* causing human malaria: a zoonoses with outbreak potential in the Rio de Janeiro Brazilian Atlantic forest. **Lancet Global Health**, v. 5, p.1038–1046, 2017a.
[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30333-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30333-9)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela**. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017b. 102 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria nº 702, de 7 de agosto de 2018. Disponível em:
<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/pan/pan-primatas-ma-e-preguica-de-coleira/1-ciclo/pan-primatas-e-preguica-da-ma-portaria-aprovacao.pdf>. Acesso em: 30 de set. 2022

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). **Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Primatas da Mata Atlântica e da Preguiça-de-Coleira**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2019, 9 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia de Vigilância em saúde**. 5^aed. Brasília: Ministério da Saúde, 2021a. 1128 p.

BRASIL. Ministério da Saúde do Estado da Bahia. Boletim Epidemiológico da Malária no Estado da Bahia, 2021, n. 01. set., 2021b. Disponível em: http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2017/11/boletimEpidemiologicoMalaria_No01_2021.pdf. Acessado em: 28 de jul. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Panorama epidemiológico da malária em 2021: buscando o caminho para a eliminação da malária no Brasil. Boletim Epidemiológico, v. 53, n. 17, p. 1-29, 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria nº148, de 7 de junho de 2022. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf Acessado em: 30 de out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 3.418, de 31 de agosto de 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-3.418-de-31-de-agosto-de-2022-426206193>. Acesso em: 30 de set. 2022.

BRAY, R.S. The Malaria Parasite of Anthropoid Apes. **Journal of Parasitology**, v. 49, n. 6, p. 888-891, 1963.

BUENO, M.G.; ROHE, F.; KIRCHGATTER, K.; DI SANTI, S.M.F.; GUIMARÃES, L.O.; WITTE, C.L.; COSTA-NASCIMENTO, M.J.; TONIOLO, C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. Survey of *Plasmodium* spp. in Free-Ranging Neotropical Primates from the Brazilian Amazon Region impacted by Anthropogenic Actions. **Eco Health**, v. 10, p. 48-53, 2013.

CANO-TERRIZA, D.; ALMERÍA, S.; CABALLERO-GÓMEZ, J.; DÍAZ-CAO, J.; JIMÉNEZ-RUIZ, S.; DUBEY, J.; GARCÍA-BOCANEGRA, I. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive nonhuman primates in zoos in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.65, p. 54–57, 2019.

CARRILLO-BILBAO, G.; MARTIN-SOLANO, S.; SAEGERMAN, C. Zoonotic Blood-Borne Pathogens in Non-Human Primates in the Neotropical Region: A Systematic Review. **Pathogens**, v. 10, n. 1009, p. 1-33, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10081009>

CARLOS, B.C.; RONA, L.D.P.; CHRISTOPHIDES, G.K.; SOUZA-NETO, J.A. A comprehensive analysis of malaria transmission in Brazil. **Pathogens and Global Health**, v. 113, n. 1, p. 1–13, 2019. <https://doi.org/10.1080/20477724.2019.1581463>.

CARME, B.; DEMAR, M.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M.L. Severe acquired toxoplasmosis caused by wild cycle of *Toxoplasma gondii*, French Guiana. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n°4, p. 656-658, 2009. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1504.081306>. PMID:19331765.

CASAGRANDE, R.A.; SILVA, T.C.E.; PESCADOR, C.A.; BORELLI, V., SOUZA JR. J.C.; SOUZA, E.R.; TRAVERSO, S.D. Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 94-98, 2013.

CATÃO-DIAS, J.L.; EPIPHANIO, S.; KIERULFF, M.C.M. Neotropical primates and their susceptibility to *Toxoplasma gondii*: new insights for an old problem. In: BRINKWORTH, J.F.; PECHENKINA, K. **Primates, Pathogens, and Evolution, Developments in Primatology: Progress and Prospects**. New York: Springer, 2013, p. 253–89.

CAVALCANTE, M.B.; CAVALCANTE, M.B. Globalização e meio ambiente: dialética da relação entre sociedade moderna e natureza. **Revista multidisciplinar da UNIESP**, n 07, p. 161-169, 2009.

CEDILLO-PELÁEZ, C.; RICO-TORRES, C.P.; SALAS-GARRIDO, C.G.; CORREA, D. Acute toxoplasmosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 368–371, 2011. doi:10.1016/j.vetpar.2011.03.012

CDC. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Parasites – Toxoplasmosis (*Toxoplasma* infection). 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/epi.html>. Acesso em: 06 de out. 2022.

CENCI-GOGA, B. T. et al. *Toxoplasma* in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. **Foodborne pathogens and disease**, v. 8, n. 7, p. 751–762, 2011.

CHAKRABORTY, C.; BHATTACHARYA, M.; NANDI, S.S.; MOHAPATRA, R.K.; DHAMA, K.; AGORAMOORTHY, G. Appearance and re-appearance of zoonotic disease during the pandemic period: long-term monitoring and analysis of zoonosis is crucial to confirm the animal origin of SARS-CoV-2 and monkeypox vírus. **Veterinary Quarterly**, v. 42, n. 1, p. 119–124, 2022. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2086718>

CHIN, W.; MOSS, D.; COLLINS, W.E. The continuous cultivation of *Plasmodium fragile* by the method of Trager-Jensen. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 28, p. 591–592, 1979.

CHOMEL, B.B.; BELOTTO, A.; MESLIN, F.X. Wildlife, exotic pets and emerging zoonoses. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, n. 1, p. 6-11, 2007.

COATNEY, G.R.; COLLINS, W.E.; WARREN, M.; CONTACOS, P.G. **The primate Malaria**. Washington, DC: US Government Printing Office, 1971, 366 p.

COCHRANE, A.H.; BARNWELL, J.W.; COLLINS, W.E.; NUSSENZWEIG, R.S. Monoclonal antibodies produced against sporozoites of the human parasite *Plasmodium malariae* abolish infectivity of sporozoites of the simian parasite *Plasmodium brasilianum*. **Infectious Immunology**, v. 50, p. 58–61, 1985.

CONGA, D.M.F. **Estudo de nematódeos filarídeos em primatas neotropicais na bacia do rio Yavari – Mirin, Amazônia peruana.** Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Universidade Federal do Pará. Instituto de ciências biológicas. Belém, Pará, p. 121, 2018.

CONSERVATION. Hotspots: As Regiões Biologicamente mais Ricas e Ameaçadas do Planeta. Conservation Internacional, 2022. Disponível em: <
https://www.conservation.org/docs/default-source/brasil/capa_hotspots.pdf?sfvrsn=7b2ee9e1_2>. Acessado em: 02 de janeiro de 2022.

CORMIER, L.A. The Historical Ecology of Human and Wild Primate Malaria in the New World. **Diversity**, v. 2, p. 256-280, 2010.

CONSOLI, R.A.G.B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p.

COSTA, T.L. et al. Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Toxoplasmose. NewsLab, 85ª ed., p.88-104, 2007.

COX, F.E.G. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. **Parasites and Vectors**, v. 3, n. 5, 2010.

COX-SINGH, J. Zoonotic malaria: *Plasmodium knowlesi*, an emerging pathogen. *Curr Opin Infect Dis* 25, 530–536, <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283558780> (2012).

CUNNINGHAM, A.A.; BUXTON, D.; THOMSON, K.M. Na epidemic of Toxoplasmosis in a captive colony of squirrel Monkeys (*Saimiri sciureus*). **Journal of Comparative Pathology**, vol. 107, p. 207-219, 1992.

CUROTTO, S. M.; SILVA, T. G.; BASSO, F. Z.; BARROS FILHO, I. R. de. Malária em mamíferos silvestres. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 67-77, jan./jun., 2012.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife: Threats to biodiversity and human health. **Science**, n. 287, p. 443–449, 2000. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>

DAVIDSON, G.; CHA, T.H.; COOK, A.; SPEDELWINDE, P.; WEINSTEIN, P. Defining the ecological and evolutionary drivers of *Plasmodium knowlesi* transmission within a multi-scale framework. **Malaria Journal**, v. 18, n. 66, p. 1-13, 2019.

DAVOUST, B.; LEVASSEUR, A.; MEDIANNIKOV, O. Studies of nonhuman primates: key sources of data on zoonoses and microbiota. **New Microbe and New Infect**, v. 26, p. S104–S108, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.08.014>

DEANE, L.M.; DEANE, M.P. Studies on Transmission of Simian Malaria and on a Natural Infection of Man with *Plasmodium simium* in Brazil. **Revista paulista de medicina**, v. 67, n. 374, p. 805-808, 1966.

DEANE, L.M.; NETO, J.F.; SITÔNIO, J.G. Novo hospedeiro natural do *Plasmodium simium* e do *Plasmodium brasilianum*: o mono *Brachyteles arachnoides*. **Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.10, n. 5, p. 287-288, 1968.

DEANE, L.M.; DEANE, M.P.; NETO, J.A.F.; ALMEIDA, F.B. On the transmission of Simian Malaria in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.13, n. 5, p. 311-319, 1971.

DEANE, L.M. Simian malaria in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.**, v.87, p. 1–20, 1992.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct Agglutination Test for Diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of clinical Microbiology**, vol. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

DUARTE, A.M.; MALAFRONTTE, R.S.; CERUTTI, C.; CURADO, I.; DE PAIVA, B.R.; MAEDA, A.Y.; YAMASAKI, T.; SUMMA, M.E.L.; NEVES, D.V.D.A.; OLIVEIRA, S.G.; GOMES, A.C. Natural *Plasmodium* infections in Brazilian wild monkeys: reservoirs for human infections? **Acta Tropica**, v.107, p. 179–85, 2008.

DUARTE, A.M.R.C.; FERNANDES, L.N.; SILVA, F.S.; SICCHI, I.L.; MUCCI, L.F.; CURADO, I.; FERNANDES, A.; MEDEIROS-SOUSA, A.R.; CERETTI-JUNIOR, W.; MARRELLI, M.T.; EVANGELISTA, E.; TEIXEIRA, R.; SUMMA, J.L.; NARDI, M.S.; GARNICA, M.R.; LOSS, A.C.; BUERY, J.C.; CERUTTI JR. C.; PACHECO, M.A.; ESCALANTE, A.A.; SALLUM, M.A.M. LAPORTA, G.Z. Complexity of malaria transmission dynamics in the Brazilian Atlantic Forest. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, v. 1, p. 1-8, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.crvpbd.2021.100032>

DUBEY, J.P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v.19, p.337-339, 1987. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1987.tb01426.x>

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis of rats: A review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 1, p. 1–32, 1998.

DUBEY, J.P. The history of *Toxoplasma gondii*: the first 100 years. **Journal Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n° 6, p. 467-475, p. 2008.

DUBEY, J.P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v. 339, p. 877-882, 2009.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2. ed. Maryland: CRC Press, 2010, 313 p.

DUBEY, J.P.; LAGO, E.G.; GENNARI, S.M.; SU, C.; JONES, J.L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 2012; 139:1375-424.

DUBEY, J. The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: WEISS, L.; KIM, K. *Toxoplasma gondii: The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods*, 3^a ed., EUA:Academic Press, 2020. p. 1-19.

DUBEY, J.P; MURATA, F.H.A.; CERQUEIRA-CÉZAR, C.K.; KWOK, O.C.H.; YANG, Y.; SU, C. Recent epidemiologic, clinical and genetic diversity of *Toxoplasma gondii* infections in non-human primates. **Research in veterinary Science**, v. 136, p. 631-641, 2021.

DUBEY, J.P. Clinical toxoplasmosis in zoo animals and its management. **Emerging Animal Species**, v. 2, p. 1-6, 2022.

EYLES, D.E. The species of simian malaria: Taxonomy, morphology, life cycle, and geographical distribution of the monkey species. **Journal of Parasitology**, v. 49, p. 866–887, 1963.

EPIPHANIO, S.; SÁ, L.R.M.; TEIXEIRA, R.H.F; CATÃO-DIAS, J. L. Toxoplasmosis in a wild caught Black Lion Tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*). **Veterinary Record**, v. 149, p. 627–628, 2001.

ERKENSWICK, G.A.; WATSA, M.; PACHECO, M.A.; ESCALANTE, A.; PARKER, P.G. Chronic *Plasmodium brasilianum* infections in wild Peruvian tamarins. **Plos one**, v. 12, n. 9, p. 1-14, 2017.

ESCALANTE, A.A.; BARRIO, E.; AYALA, F.J. Evolutionary origin of human and primate malarias: Evidence from the circumsporozoite protein gene. **Molecular Biology and Evolution**, 1995. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040241

ESCALANTE, A.A., PACHECO, M.A. Malaria molecular epidemiology: Na evolutionary genetics perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 7, p. 1-17, 2019. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AME-0010-2019>.

ESTRADA, A.; GARBER, P.A.; RYLANDS, A.B.; ROOS, C.; FERNANDEZ-DUQUE, E.; DI FIORE, A.; NEKARIS, K.A.I.; NIJMAN, V.; HEYMANN, E.W.; LAMBERT, J.E.; ROVERO, F.; BARELLI, C.; SETCHELL, J.M.; GILLESPIE, T.R.; MITTERMEIER, R.A.; ARREGOITIA, L.V.; GUINEA, M.; GOUVEIA, S.; DOBROVOLSKI, R.; SHANEE, S.; SHANEE, N.; BOYLE, S.A.; FUENTES, A.; MACKINNON, K.C.; AMATO, K.R.; MEYER, A.L.S.; WICH, S.; SUSSMAN, R.W.; PAN, R.; KONE, I.; LI, B. Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. **Science Advances**, v. 3; p. 1-16, 2017.

ESTRADA, A. GARBER, P.A.; MITTERMEIER, R.A.; WICH, S.; GOUVEIA, S.; DOBROVOLSKI, R.; NEKARIS, K.A.I.; NIJMAN, V.; RYLANDS, A.B.; MAISELS, F.; WILLIAMSON, E.A.; BICCA-MARQUES, J.; FUENTES, A.; JERUSALINSKY, L.; JOHNSON, S.; MELO, F.R.; OLIVEIRA, L.; SCHWITZER, C.; ROOS, C.; CHEYNE, S.M.; KIERULFF, M.C.M.; RAHARIVOLOLONA, B.; TALEBI, M.; RATSIMBAZAFY, J.; SUPRIATNA, J.; BOONRATANA, R.; WEDANA, M.; SETIAWAN, A. Primates in peril: the significance of Brazil, Madagascar, Indonesia and the Democratic Republic of the Congo for global primate conservation. **PeerJ**, p. 1-57, 2018. DOI 10.7717/peerj.4869

ESTRADA, A.; GARBER, P.A.; CHAUDHARY, A. Current and future trends in socio-economic, demographic and governance factors affecting global primate conservation. **PeerJ**, p. 1-35, 2020. DOI 10.7717/peerj.9816

FANDEUR, T.; VOLNEY, B.; PENEAU, C.; DE THOISY, B. Monkeys of the rainforest in French Guiana are natural reservoirs for *P. brasilianum*/*P. malariae* malaria. **Parasitology**, v. 120, p. 11–21, 2000.

FAUST, C.; DOBSON, A.P. Primate malarias: diversity, distribution and insights for zoonotic *Plasmodium*. **One Health**, v. 1, p. 66-75, 2015.

FERREIRA, D.R.A.; RIBEIRO, V.O.; LAROQUE, P.O.; WAGNER, P.G.C.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; SILVA, J.C.R.; DUBEY, J.P.; RÊGO, E.W.; MOTA, R.A. 2015. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in captive *Sapajus* spp. **American Journal of Primatology**, v. 77, 558–562, 2015.

FORATTINI, O.P., KAKITANI, I., MASSAD, E., MARUCCI, D. Studies on mosquitões (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 4 - Survey of resting adults and synanthropic behaviour in South-Eastern, Brazil. **Revista Saúde Pública**, v. 27, p. 398–411, 1993.

FRANÇA, T.C.C.; SANTOS, M.G.; FIGUEROA-VILLAR, J.D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, vol. 31, n. 5, p. 1271-1278, 2008.

FRENKEL, J.K., DUBEY, J.P., MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stage identified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, p. 893–896, 1970.

FRENKEL, JK. Biology of *Toxoplasma gondii*. In: Ambroise-Thomas, P.; Peterse, E. **Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control**. Paris: Springer-Verlag; 2000. p. 9-25.

GALINSKY, M.R. Systems biology of malaria explored with nonhuman primates, *Malaria Journal*, v. 21, n. 177, 2022.

GAMBLE, K.C. Primates. In: CARPENTER, J.; MARION, C. **Exotic Animal Formulary**. Missouri: Elsevier Saunders, 2016, 575–615.

GARCIA, J.L.; SVOBODA, W.K.; CHRYSAFIDIS, A.L.; MALANSKI, L.S.; SHIOZAWA, M.M.; AGUIAR, L.M.; TEIXEIRA, G.M.; LUDWIG, G.; SILVA, L.R.; HILST, C.; NAVARRO, I.T. Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World Monkeys (*Cebus* spp.; *Alouatta caraya*) at the Paraná river basin, Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.133, p. 307-311, 2005.

GASSER, R.B. Molecular tools: advances, opportunities and prospects. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 69-89, 2006.

GENNARI, S. M. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies in wild rodents and marsupials from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 3, p. 379–382, set. 2015.

- GIBB, R.; FRANKLINOS, L.H.V.; REDDING, D.; JONES, K.E. Climate change and communicable diseases: Ecosystem perspectives are needed to manage zoonotic risks in a changing climate. **British Medical Journal**, n. 371, p. 1-7, 2020. doi: 10.1136/bmj.m3389
- GONDER, R.; BERENBERG-GOSSLER, H. Untersuchungen über die Malariaparasiten der Affen. **Abh. K. Gesundheits-Amte** (Berlin), v. 26, p. 37-43, 1908.
- GRUMANN, M.R.; SILVA, Z.; SILVA FILHO, J.R.; COSTA, M.M.; VIEIRA, M.I.B.; MOTTA, A.C. Immunohistochemical and serological aspects of *Toxoplasma gondii* infection in neotropical primates. **Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1375-1382, 2017. DOI: 10.5433/1679-0359.2017v38n3p1375
- GUBERTI, V.; STANCAMPIANO, L.; FERRARI, N. Surveillance, monitoring and surveys of wildlife diseases: a public health and conservation approach. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, v. 25, n. 1, p. 3-8, 2014.
- HANG, J.W.; TUKIJAN, F.; LEE, E.Q.H.; ABDEEN, S.R.; ANIWEH, Y.; MALLERET, B. Zoonotic Malaria: Non-*Laverania Plasmodium* Biology and invasion mechanisms. **Pathogens**, v. 10. N. 889, p. 1-22, 2021.
- HIKOSAKA, K.; KITA, K.; TANABE, K. Diversity of mitochondrial genome structure in the phylum Apicomplexa. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 188, p. 26-33, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2013.02.006>
- HILL, D.E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J.P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, n° 1, p. 41-61, 2005.
- HOMAN, W.L.; VERCAMMEN, M.; BRAEKELEER, J.; VERSCHUEREN, H. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 1, p. 65-75, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00170-8)
- HOLDER, A.A.; LOCKYER, M.J.; ODINK, K.G.; SANDHU, J.S.; RIVEROS-MORENO, V.; NICHOLLS, S.C.; HILLMAN, Y.; DAVEY, L.S.; TIZARD, M.L.V.; SCHWARZ, R.T.; FREEMAN, R. Primary structure of the precursor to the three major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites. **Nature**, v. 317, n. 6034, p. 270-273, 1985.
- HOPPER, J. Common Marmosets. In: KUBIAK, M. **Handbook of Exotic Pet Medicine**. [s.n.]: Willey Blackwell, 2021, p. 27-41.
- HOWICK, V.M.; RUSSELL, A.J.C.; ANDREWS, T.; HEATON, H.; REID, A.J.; NATARAJAN, K.; BUTUNGI, H.; METCALF, T.; VERZIER, L.H.; RAYNER, J.C.; BERRIMAN, M.; HERREN, J.K.; BILKER, O.; HEMBERG, M.; TALMAN, A.M.; LAWNICZAK, M.K.N. The Malaria Cell Atlas: Single parasite transcriptomes across the complete *Plasmodium* life cycle. **Science**, p. 1-29, 2020.
- HUBÁLEK, Z. North Atlantic weather oscillation and human infectious diseases in the Czech Republic, 1951-2003. **European Journal of Epidemiology**, v. 20, p. 263-70, 2005. doi: 10.1007/s10654-004-6518-3

HUBBARD, G.B. Protozoal diseases of Nonhuman Primates. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 4, n. 3, p.145-149, 1995.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/panorama>. Acessado em: 30 de agosto de 2022.

JACOBS, D., DUBREMETZ, J.F., LOYENS, A., BOSMAN, F., SAMAN, E. Identification and heterologous expression of a new dense granule protein (GRA7) from *Toxoplasma gondii*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 91, p. 237–249, 1998.

JERUSALINSKY, L.; MELO, F.R. Conservação de primatas no Brasil: perspectivas e desafios. In: URBANI, B.; KOWALEWSKI, M.; CUNHA, R.G.T.; DE LA TORRES.; CORTÉS-ORTIZ, L. **La primatología en Latinoamérica 2 – A primatologia na América Latina 2**. Tomo I Argentina-Colombia. Ediciones. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Caracas, Venezuela. p. 161-186, 2018.

KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. Primatas em Cativeiro: Classificação, descrição, biologia, comportamento e distribuição geográfica. In: KINDLOVITS, A.; KINDLOVITS, L.M. **Clínica e terapêutica em Primatas Neotropicais**, 2ª ed., Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2009, p. 27-51.

KIMURA, M.; KANEKO, O.; LIU, Q.; ZHOU, M.; KAWAMOTO, F.; OTANI, S.; YAMAGUCHI, Y.; TANABE, K. Identification of the four species of human malaria parasites by *nested* PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. **Parasitology International**, v. 46, p. 91-95, 1997.

KOCH, M.; BAUM, J. The mechanics of malaria parasite invasion of the human erythrocyte - towards a reassessment of the host cell contribution. **Cellular Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 19-29, 2016.

KOCHER, T.D.; THOMAS, W.K.; MEYER, A.; EDWARDS, S.V.; PAABO, S.; VILLABLANCA, F.X.; WILSON, A.C. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 86, n. 16, p. 6196-6200, 1989.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 41, n. 4, p. 229-235, 2005.

KRUSE, H.; KIRKEMO, A.M.; HANDELAND, K. Wildlife as Source of Zoonotic Infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 12, 2004.

KUIKEN, T.; LEIGHTON, F.A.; FOUCHIER, R.A.M.; LEDUC, J.W.; PEIRIS, J.S.M.; SCHUDEL, A.; STOHR, K.; OSTERHAUS, A.D.M.E. Pathogen surveillance in animals. **Science**, v. 309, p. 1680-1681, 2005.

KURIS, A. M. The Global Burden of Human Parasites: Who and Where are They? How are They Transmitted? **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 6, p. 1056–1064, 2012.

JONES, J. L.; LOPEZ, A., WILSON, M. Congenital toxoplasmosis. **American**

family physician, V.67, N° 10, 2131–2138, 2003.

LAL, A.A.; CRUZ, V.F.; COLLINS, W.E.; CAMPBELL, G.H.; PROCELL, P.M.; MCCUTCHAN, T. Circumsporozoite protein gene from *Plasmodium brasilianum*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 12, p. 5498-5498, 1988.

LALREMRUATA, A.; MAGRIS, M.; VIVAS-MARTINEZ, S.; KOEHLER, M.; ESEN, M.; KEMPAIAH, P.; JEYARAJ, S.; PERKINS, D.J.; MORDMULLER, B.; METZGER, W.G. Natural infection of *Plasmodium brasilianum* in humans: man, and monkey share quartan malaria parasites in the Venezuelan Amazon. **EBioMedicine**, v. 2, p. 1186–1192, 2015.

LI, J.; COLLINS, W.E.; WIRTZ, R.A.; RATHORE, D.; LAL, A.; MCCUTCHAN, T.F. Geographic Subdivision of the Range of the Malaria Parasite *Plasmodium vivax*. **Emerging Infectious Disease**, v. 7, n. 1, 2001.

LIU, W.; LI, Y.; LEARN, G.H.; RUDICELL, R.S.; ROBERTSON, J.D.; KEELE, B.F.; NDJANGO, J.B.N.; SANZ, C.M.; MORGAN, D.B.; LOCATELLI, S.; GONDER, M.K.; KRANZUSCH, P.J.; WALSH, P.D.; DELAPORTE, E.; MPOUDI-NGOLE, E.; GEORGIEV, A.V.; MULLER, M.N.; SHAW, G.M.; PEETERS, M.; SHARP, P.M.; RAYNER, J.C.; HAHN, B.H. Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. **Nature**, v. 467, p. 420–425, 2010.

LIU, W.; SUNDARARAMAN, S.A.; LOY, D.E.; LEARN, G.H.; LI, Y.; PLENDERLEITH, L.J.; NDJANGO, J.B.N.; SPEEDE, S.; ATENCIA, R.; COX, D.; SHAW, G.M.; AYOUBA, A.; PEETERS, M.; RAYNER, J.C.; HAHN, B.H.; SHARP, P.M. Multigenomic Delineation of *Plasmodium* Species of the *Laverania* Subgenus Infecting Wild-Living Chimpanzees and Gorillas. **Genome Biology and Evolution**, v. 8, n. 6, p. 1629-1939, 2016.
doi:10.1093/gbe/evw128

LORDELO, R.P. **Avaliação de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) no sul da Bahia**. Dissertação (mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, p.56, 2021.

LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R.; DEANE, L.M. Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon. I–The infection rates of *Plasmodium brasilianum* in non-human primates. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1995, n. 90, p. 331–339, 1995.

MAENZ, M.; SCHLUTER, D.; LIESENFELD, O.; SCHARES, G.; GROSS, U.; PLEYER, U. Ocular toxoplasmosis past, presente and new aspects of na old disease. **Progress in retinal and eye research**, v. 39, p. 77-106, 2014.

MAGNUSSON, W.E. Biodiversity: the chasm between what we know and we need to know. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 3, 2019.

MARCHESE, C. Biodiversity hotspots: a shortcut for a more complicated concept. **Global ecology and conservation**, v. 3, p. 297-309, 2015.

MARQUES, T.C.; BOURKE, B.P.; LAPORTA, G.Z.; SALLUM, M.A.M. Mosquito (Diptera: Culicidae) assemblages associated with *Nidularium* and *Vriesea* bromeliads in Serra

do Mar, Atlantic forest, Brazil. **Parasites and Vectors** v. 5, n. 41, p. 1-9, 2012.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-41>.

MCARTHUR, D.B. Emerging Infectious diseases. **Nursing Clinics**, v.54, p. 297-311, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.006>

MEDEIROS-SOUSA, A.R.; DE OLIVEIRA CHRISTE, R.; DE CASTRO DUARTE, A.M.R.; MUCCI, L.F.; CERETTI-JUNIOR, W.; MARRELLI, M.T. Effects of anthropogenic landscape changes on the abundance and acrodendrophily of *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, the main vector of malaria parasites in the Atlantic Forest in Brazil. **Malaria Journal**, v. 18, n. 110, p.1-12, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2744-8>.

MELO, R.P.B.; OLIVEIRA, P.R.F.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; BARRETTO, M.L.M.; MOURA, G.H.F.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in heart tissue from common marmoset (*Callithrix jacchus*) monitored for yellow fever and rabies in Pernambuco state, Northeastern of Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional studies and reports**, v. 21, p. 1-3, 2020.

MINERVINO, A.H.H.; SOARES, H.S.; BARRÊTO-JÚNIOR, R.A.; NEVES, K.A.L.; PENA, H.F.J.; ORTOLANI, E.L.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. 2010. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive wild mammals and birds in Brazil. **Journal Zoo Wildlife Medicine**. 41, 572–574, 2010.

MINERVINO, A.H.H.; CASSINELLI, A.B.M.; DE SOUZA, A.J.S.; ALVES, M.M., SOARES, M.C.P.; FERREIRA, D.A.C.; PEREIRA, W.L.A.; GENNARI, S.M. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. **Journal of Medical Primatology**, v. 46, p. 343–346, 2017.

MOLINA, C.V.; KRAWCZAK, F.S.; BUENO, M.G.; SOARES, H.S.; GENNARI, S.M.; PISSINATTI, A.; KIERULFF, M.C.M.; DA SILVA, T.F.; DE FREITAS, D.G.; CANELI, L.C.; CATÃO-DIAS, J.L. Negative serosurvey of *Toxoplasma gondii* antibodies in Golden-headed Lion Tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*) from Niterói/RJ. Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 115–118, 2017.

MONTAZERI, M.; GALEH, T.M.; MOOSAZADEH, M.; SARVI, S.; DODANGEH, S.; JAVIDNIA, J.; SHARIF, M.; DARYANI, A. The global serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in felids during the last five decades (1967–2017): a systematic review and meta-analysis. **Parasites Vectors**, v. 13, n° 82, p. 2-10, 2020.
<https://doi.org/10.1186/s13071-020-3954-1>

MOURIER, T.; ALVARENGA, D.A.M.; KAUSHIK, A.; PINA-COSTA, A.; DOUVROPOULOU, O.; GUAN, Q.; GUZMÁN-VEJA, F.J.; FORRESTER, S.; ABREU, F.V.S.; BIANCO JÚNIOR, C.; SOUZA JÚNIOR, J.C.; MOREIRA, S.B.; HIRANO, Z.M.B.; PISSINATTI, A.; FERREIRA-DA-CRUZ, M.F.; OLIVEIRA, R.L.; AROLD, S.T.; JEFFARES, D.C.; BRASIL, P.; BRITO, C.F.A.; CULLETON, R.; DANIEL-RIBEIRO, T.; PAIN, A. The genome of the zoonotic malaria parasite *Plasmodium simium* reveals adaptations to host switching. **BMC Biology**, v. 19, n. 219, p. 1-17, p. 2021.

MULTINI, L.C.; WILKE, A.B.B.; MARRELLI, M.T. Neotropical *Anopheles* (*Kerteszia*) mosquitoes associated with bromeliad-malaria transmission in a changing world. **Acta Tropical**, v. 205, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105413>.

NASH, M.H. The 201 most (&least) biodiverse countries in 2022. In: The swiftest. Setembro 2022. Site. Disponível em: <https://theswiftest.com/biodiversity-index/>. Acesso em: 30 de set. 2022.

NEVES, F.M.; BARBOSA, L.C.B.G.; NEVES, J.M.C.O.S. A Biodiversidade na Era da Globalização: Mercado Internacional e Degradação Ambiental como Vetores de Simplificação da Biosfera. **Fronteiras: Journal Of Social, Technological and Environmental Science**, v.8, n.1, p.185-213, 2019.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection á corp de *Leishman* (ou organisms voisins) du gondii. **Comptes Rendus Hebdomadaires dês Séances de l'Academic dês Sciences**, v. 147, p. 763–766, 1908.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du gundi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academic des Sciences**, v. 148, p. 369–372, 1909.
SOUZA, W.; BELFORT J.R. Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii* [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014, 214 p. <https://doi.org/10.7476/9788575415719>.

NIEHAUS, C.; SPÍNOLA, M.; SU, C.; ROJAS, N.; RICO-CHÁVEZ, O.; IBARRA-CERDEÑA, C.N.; FOLEY, J.; SUZÁN, G.; GUTIÉRREZ-ESPELETA, G.A.; CHAVES, A. Environmental factors associated with *Toxoplasma gondii* exposure in Neotropical Primates of Costa Rica. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 1-10, 2020.

NGWA, C.J.; ROSA, T.F.D.A.; PRADEL, G. The Biology of Malaria Gametocytes. In: RODRIGUEZ-MORALES, A.J. **Current Topics in Malaria**. IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2016, p. 107-144. doi:10.5772/65464

OLIVEIRA, A.R.; RITTER, J.M.; SANTOS, D.O.; LUCENA, F.P.; MATTOS, S.A.; CARVALHO, T.P.; BULLOCK, H.; MOREIRA, L.G.A.; VASCONCELOS, I.M.A.; COSTA, F.B.; PAIXÃO, T.A.; SANTOS, R.L. Pathology and epidemiology of fatal toxoplasmosis in free-ranging marmosets (*Callithrix* spp.) from the Brazilian atlantic forest. **Plos neglected tropical diseases**, v. 16, n. 9, p. 1-14, 2022.

OTTAVIANI, D.; CAIRNS, S.C.; OLIVERIO, M.; BOITANI, L. Body mass as a predictive variable of homerange size among Italian mammals and birds. **Journal of Zoology**, v. 269, p. 317–30, 2006. doi: 10.1111/j.1469-7998.2006.00060.x

PAFČO, B.; TEHLÁROVÁ, Z.; POMAJBIKOVA, K.J.; TODD, A.; HASEGAWA, H.; PERTZELKOVA, K.J.; MODRÝ, D. Gastrointestinal protists and helminths of habituated agile mangabeys (*Cercocebus agilis*) at Bai Hokou, Central African Republic. **American Journal of Primatology**, p. 1-9, 2017.

PAULA, N.F.; DUTRA, K.S.; OLIVEIRA, A.R.; SANTOS, D.O.; ROCHA, C.E.V.; VITOR, R.W.A.; TINOCO, H.P.; COSTA, M.E.L.T.; PAIXÃO, T.A.; SANTOS, R.L. Host range and susceptibility to *Toxoplasma gondii* infection in captive neotropical and Old-world primates. **Journal of Medical Primatology**, P.1-9, 2020.

PENA, H.F.J.; MARVULO, M.F.V.; HORTA, M.C.; SILVA, M.A.; SILVA, M.A.; SILVA, J.C.R.; SIQUEIRA, D.B.; LIMA, P.A.C.P.; VITALIANO, S.N.; GENNARI, S.M. Isolation and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* from a red-handed howler monkey (*Alouatta belzebul*), a jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), and a black-eared opossum (*Didelphis aurita*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.175, p. 377-381, 2011

PEREIRA JÚNIOR, A.; PEREIRA, E.R. Degradação ambiental e a diversidade biológica/biodiversidade: uma revisão integrativa. **Enciclopédia Biosfera**, v.14 n.26; p. 922-237, 2017.

PERELMAN, P., JOHNSON, W. E., ROOS, C., SEUÁNEZ, H. N., HORVATH, J. E., MOREIRA, M. A. M., KESSING, B., PONTIUS, J., ROELKE, M., RUMPLER, Y., SCHNEIDER, M. P. C., SILVA, A., O'BRIEN, S. J., & PECON-SLATTERY, J. A Molecular Phylogeny of Living Primates. **PLoS Genetics**, v. 7, n. 3, p. 1-17, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001342>

PIMENTEL, J.S.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; MARVULO, M.F.V.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; SILVA, J.C.R.; NETO, J.E. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n. 12, p. 10009-1014, 2009.

PINA-COSTA, A.; BRASIL, P.; DI SANTI, S.M.; ARAUJO, M.P.; SUÁREZ-MUTIS, M.C.; SANTELLI, A.C.F.S.; OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, p. 618–633, 2014

PIRES, J.S.; RIBEIRO, C.T.; CARVALHO-FILHO, R.; PISSINATTI, A.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Infection by *Toxoplasma gondii* in Neotropical non-human primates. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1041-1044, 2012.

PIRET, J.; BOIVIN, G. Pandemics throughout history. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1-16, 2021. doi: 10.3389/fmicb.2020.631736

PISSINATTI, A.; GOLDSCHMIDT, B.; SOUZA, I.V. Taxonomia. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FILHO, J.F. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica**, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010, p. 41-55.

PUTAPORNTIP, C.; HUGHES, A.L.; JONGWUTIWES, S. Low level of sequence diversity at merozoite surface protein-1 locus of *Plasmodium ovale curtisi* and *P. ovale wallikeri* from Thai isolates. **PLoS One**, v.8, n. 3, p. 1-8, 2013.

RAHMAN, T.; SOBUR, A.; ISLAM, S.; IEVY, S.; HOUSSAIN, J.; ZOWALATY, M.E.E.; RAHMAN, T.; ASHOUR, H.M. Zoonotic Diseases: etiology, impact and control. **Microorganisms**, v.8, n. 1405, p. 1-34, 2020. doi:10.3390/microorganisms8091405

RAMASAMY, R. Zoonotic malaria-global overview and research and policy needs. **Frontiers in Public Health**, v. 2, n. 123, p. 1-7, 2014.

REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; BATISTA, C.B.; ROSA, G.L.M. **Primatas do Brasil: Guia de campo**, Rio de Janeiro: Technical Books, 2015, 328p.

ROBERT-GANGNEUX, F., DARDÉ, M. L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.

RONDÓN, S.; CAVALLERO, S.; RENZI, E.; LINK, A.; GONZÁLEZ, C.; D'AMELIO, S. Parasites of Free-Ranging and Captive American Primates: A Systematic Review. **Microorganisms**, V. 9, nº 2546, p. 1-19, 2021.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms9122546>

ROSENBERGER, A.L. **Marmosets and tamarins: Systematics, behavior, and ecology**. Edited by Anthony B. Rylands. New York: Oxford University Press. 1993. 396 pp.

RUBIO, J.; BENITO, A.; BERZOSA, P.J.; ROCHE, J.; PUENTE, S.; SUBIRATS, M.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; GARCÍA, L.; ALVAR, J. Usefulness of Seminested Multiplex PCR in Surveillance of Imported Malaria in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 3260-3264, 1999.

RYLAND, A.B.; SCHENEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIE, R.A.; GROVES, C.P.; RODRIGUEZ-LUNA, E. An assessment of the diversity of New World Primates. **Neotropical Primates**, v.8, n.2, p.261-293, 2000.

SALLUM, M.A.M.; CONN, J.E.; BERGO, E.S.; LAPORTA, G.Z.; CHAVES, L.S.M.; BICKERSMITH, S.A.; OLIVEIRA, T.M.P.; FIGUEIRA, E.A.; MORESCO, G. OLÍVÉR, L.; STRUCHINER, C.J.; YAKOB, L.; MASSAD, E. Vector competence, vectorial capacity of *Nyssorhynchus darlingi* and the basic reproduction number of *Plasmodium vivax* in agricultural settlements in the Amazonian Region of Brazil. *Malaria Journal*, v. 18, n. 117, p. 1-15, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2753-7>.

SANTANA, A.C.; MESQUITA, E.F.M.; FILHO, J.T.S. Parasitismo em animais silvestres do bioma mata Atlântica utilizada como carne de caça. **Revista Semioses**, v 8, n. 1, p. 69-76, 2014.

SANTOS, M.N.; DUARTE, M.H.L.; YOUNG, R.J. Behavioural and ecological aspects of black tufted-ear marmosets, *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) (Primates: Callitrichidae) in a semiurban environment. **Revista de Etologia**, vol. 13, n. 1, p. 37-46, 2014.

SANTOS, S.V.; PENA, H.F.J.; TALEBI, M.G.; TEIXEIRA, R.H.F.; KANAMURA, C.T.; DIAZ-DELGADO, J.; GENNARI, S.M.; CATÃO-DIAS, J.L. Fatal toxoplasmosis in Southern muriqui (*Brachyteles arachnoides*) from São Paulo state, Brazil: Pathological, immunohistochemical and molecular characterization. **Journal of Medical Primatology**, vol. 47, p. 124-127, 2018.

SANTOS, E.H.; YAMAMOTO, L.; DOMINGUES, W.; DI SANTI, S.M.; KANUNFRE, K.A.; OKAY, T.S. A new Real Time PCR with species-specific primers from *Plasmodium malariae*/*P. brasilianum* mitochondrial cytochrome b gene. **Parasitology International**, v. 76, p. 1-8, 2020.

SANTOS, E.O.; KLAIN, V.F.; MANRIQUE, S.B.; ROMAN, I.J.; SANTOS, H.F.; SANGIONI, L.A.; VOGEL, F.S.F.; RECK, J.; WEBSTER, A.; PADILHA, T.C.; ALMEIDA, M.A.B.; SANTOS, E.; BORN, L.C.; BOTTON, S.A. The Influence of Landscape Structure

on the Occurrence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, and *Sarcocystis* spp. in Free-Living Neotropical Primates. **Acta Parasitologica**, n.67, p. 1680-1696, 2022.

SATO, S. *Plasmodium* – a brief introduction to the parasite causing human malaria and their basic biology. **Journal of Physiological Anthropology**, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2021.

SEED, T.M. *Plasmodium simium*: ultrastructure of erythrocytic phase. **Parasitology**, v. 39, p. 262–276, 1976.

SHARMA, R.; PARKER, S.; AL-ADHAMI, B.; BACHAND, N.; JENKINS, E. Comparison of tissues (heart vs. brain) and serological tests (MAT, ELISA and IFAT) for detection of *Toxoplasma gondii* in naturally infected wolverines (*Gulo gulo*) from the Yukon, Canada. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 12, p. 1-8, 2019.

SILVA, R.C.; MACHADO, G.P.; CRUVINEL, T.M.A.; CRUVINEL, C.A.; LANGONI, H. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in tufted capuchin Monkeys (*Cebus apella nigrurus*) from an ecological station in the state of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 251-253, 2013.

SILVA, R.C.; MACHADO, G.P.; CRUVINEL, T.M.A. CRUVINEL, C.A.; LANGONI, H. Detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals in Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 20, n. 41, p. 1-4, 2014.

SILVA, D.B. **Diagnóstico sorológico e molecular de *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos em Parque Zoológico. Botucatu**, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 110p. 2016a.

SILVA, C.L.G. Nematocera – Mosquitos. In: MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2ª ed., São Paulo: Roca, 2016b, p. 97-108.

SINAN. Ministério da saúde. SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2021. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/malaba.def>. Acessado em: 09 de jan. 2023.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v.27, p.1135-1145, 1997.

SINGH, B.; BOBOGARE, A.; COX-SINGH, J.; SNOUNOU, G.; ABDULLAH, M.S.; RAHMAN, H.A. A genus- and species-specific nested polymerase chain reaction malaria detection assay for epidemiologic studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 4, p. 687-692, 1999.

SINGH, B.; SUNG, L.K; MATUSOP, A.; RADHAKRISHNAN, A.; SHAMSUL, S.S.G.; COX-SINGH, J.; THOMAS, A.; CONWAY, D. J. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. **Lancet**, v. 363, p. 1017-1024, 2004.
SILVA, R.C.; MACHADO, G.P.; CRUVINEL, T.M.A. CRUVINEL, C.A.; LANGONI, H. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigrurus*) from an ecological station in the State of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p.251-253, 2013.

SIQUEIRA, D.B.; ALÉSSIO, F.M.; MAUFFREY, J.F.; MARVULO, M.F.V.; RIBEIRO, V.O.; OLIVEIRA, R.L.; PENA, H.F.J.; GENNARI, S.M.; MOTA, R.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C.; DUBEY, J.P.; SILVA, J.C.R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild marsupials and rodents from the Atlantic forest of Pernambuco state, Northeastern region, Brazil. **Brazilian Journal of Parasitology**, v. 99, n. 6, p. 1140-1143, 2013. <http://dx.doi.org/10.1645/GE-2855.1>. PMID:23829204.

SOLÓRZANO-GARCÍA, B.; LEÓN, G.P. Parasites of Neotropical Primates: A Review. **International Journal Primatology**, v.39, p. 155–182, 2018.

SOUZA, W.; BELFORT J.R. **Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii*** [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014, 214 p. <https://doi.org/10.7476/9788575415719>.

SPLENDORE, A. Um novo protozoa parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche de'una malattia Che ricorda in molti punti Il Kala-azar dell'uomo. Nota preliminare. **Revista da Sociedade de Ciências de São Paulo**, v. 3, p. 109–112, 1908.

SU, X.; WU, J. Zoonotic Transmissions and Host Switches of Malaria Parasites. **Zoonoses**, v. 1, n. 1, p. 1-18, 2021.

TA, T.H.; HISAM, S.; LANZA, M.; JIRAM, A.I.; ISMAIL, N.; RUBIO, J.M. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. **Malaria Journal**, v. 13, n. 68, p. 2014.

TAYLOR, M.A.; COOL, R.L.; WALL, R. L. Chapter 13: Parasites of poultry and gamebirds. In: Taylor, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. (Eds.). **Veterinary Parasitology**. 2ed., Wiley Blackwell, 2016, p. 725-727.

TAZI, L.; AYALA, F.J. Unresolved direction of host transfer of *Plasmodium vivax* v. *P. simium* and *P. malariae* v. *P. brasilianum*. **Infection, Genetics and Evolution**, v.11, n. 1, p. 209-221, 2011.

TEIXEIRA, D.S.; BERNAL-VALLE, S.; RAMOS, A.V.V.; SANTOS, L.K.N.S.S.; ABREU, F.V.S.; SANTOS, E.; BANDEIRA, J.C.; ALMEIDA, R.M. Capture and collection of biological samples from free-living neotropical primates. **Primate conservation**, v. 36, p. 1-12, 2022.

TENTER, A.M. HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, p. v.30, p. 1217-1258, 2000.

THÉZÉ, J. Pathologie de la Guyane française. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**. n. 9, p. 449–469, 1916.

THOISY, B.; MICHEL, J.C.; VOGEL, I.; VIÉ, J.C. A Survey of Hemoparasite Infections in Free-Ranging Mammals and Reptiles in French Guiana. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 5, p. 1035-1040, 2000.

THOMPSON, A.; KUTZ, S. Introduction to the special issue on 'Emerging zoonoses and wildlife'. **Parasite and Wildlife**, v. 9, p. 322, 2019.

VERONA, C.E.; PISSINATI, A. Primates: Primatas do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**, 2ª ed., São Paulo: Rocca, 2014, p. 807-828.

VILLAR-ECHARTE, G.; ARRUDA, I.F.; BARBOSA, A.S.; GUZMAN, R.G.; AUGUSTO, A.M.; TROCCOLI, F.; RÉGON, A.M.R.; SANTOS, A.L.C.; ZANOTTO, P.F.C.; AZNCHETTA E GAVA, M.; LANGONI, H.; AMENDOEIRA, M.R. *Toxoplasma gondii* among captive wild mammals in zoos in Brazil and Cuba: seroprevalence and associated risk factors. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.30, n. 2, p. 1-10, 2021.

VORESI, F.; SANTORO, A.; MILARDI, G.L.; DIAFERIA, M. BRANCIARI, R.; MIRAGLIA, D.; CIOFFI, A.; GABRIELLI, S.; RANUCCI, D. Comparison of PCR assays targeting the multi-copy targets B1 gene and 529 bp repetitive element for detection of *Toxoplasma gondii* in swine muscle. **Food Microbiology**, v. 63, p. 213-216, 2017.

WALSH, P.D; ABERNETHY, K.A.; BERMEJO, M.; BEYERS, R.; WACHTER, P.; AKOU, M.E.; HUJIBREGTS, B.; MAMBOUNGA, D.I.; TOHAM, A.K.; KILBOURN, A.M.; LAHM, S.A.; LATOUR, S.; MAISELS, F.; MBINA, C.; MIHUNDOU, Y.; OBIANG, S.N.; EFFA, E.N.; STARKEY, M.P.; TELFER, P.; THIBAUT, M.; TUTIN, C.E.G.; WHITE, L.J.T.; WILKIE, D.S. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. **Nature**, v. 422, n° 6932, p. 611-614, 2003.

WANG, X.; LIM, B.K.; TING, N.; HU, J.; LIANG, Y.; ROOS, C.; YU, L. Reconstructing the phylogeny of new world monkeys (platyrrhini): evidence from multiple non-coding loci. **Current Zoology**, v. 65, n. 5, p. 579-588, 2019.

WEISS, R.A.; SANKARAN, N. Emergence of epidemic disease: zoonoses and other origins. **Faculty Reviews**, v. 11, n. 2, 2022. <https://doi.org/10.12703/r/11-2>

WHITE, N.J. *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 2, P. 172-173, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1086/524889>

WHO. World Health Organisation. Toxoplasmosis Fact Sheet. 2015. Disponível em: https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0011/294599/Factsheet-Toxoplasmosis-en.pdf. Acessado em 02 de julho de 2022.

WHO. World Health Organisation. World malaria report 2022. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240064898>. Acessado em: 02 de jan. 2022.

WYROSDICK, H.M.; SCHAEFER, J.J. *Toxoplasma gondii*: history and diagnostic test development. **Animal Health Research Reviews**, v. 16, n° 2, p. 150-162, 2015.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.51, n. 05, p. 510-519, 2016.

ZARLENGA, D.S.; HIGGINS, J. PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology. **Veterinary Parasitology**, v. 101, p. 215-230, 2001.

ZAVORTINK, T.J. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXIX. A review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. **American Entomology Institute**. 9, 1–54, 1973.

10 APÊNDICES

ANEXO 1



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75734-6	Data da Emissão: 27/07/2022 16:11:56	Data da Revalidação*: 01/08/2022
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: DANILO SIMONINI TEIXEIRA	CPF: 922.004.351-34
Título do Projeto: USO DE FERRAMENTAS GENÉTICAS, MATEMÁTICAS E TECNOLÓGICAS PARA AVALIAR O RISCO DE TRANSMISSÃO E FORTALECER A VIGILÂNCIA DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA NAS CINCO REGIÕES BRASILEIRAS	
Nome da Instituição: UESC - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ	CNPJ: 40.738.999/0001-95

ANEXO 2


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)
CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Ocorrência de *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. em primatas não humanos na Bahia**", registrada com o N° 023/21 sob a responsabilidade de Prof. George Rego Albuquerque que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS** da **UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ (CEUA/UESC)** em reunião de 30/09/2021.

Finalidade: () ensino (x) pesquisa
 Vigência da autorização: 20/10/2021 a 19/10/2023
 Espécie/Linhagem/Raça: **Primatas Neotropicais da família Callitrichidae e primatas do gênero *Alouatta* spp., *Sapajus* spp.**
 N° de animais: 165
 Peso / idade: 500g / 02 a 10 anos
 Sexo: machos e fêmeas
 Origem: **Animais de vida livre**
 Localização: **Áreas de Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e de biomas de transição**

Ilhéus, 30 de setembro de 2021

Rosana Maria de Oliveira Clark
 Coordenadora da CEUA-UESC

ANEXO 3

Lista oficial de primatas da fauna brasileira ameaçados de extinção de acordo com a portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022.

ID	Ordem	Família	Espécie	IUCN
688*	Primates	Atelidae	<i>Alouatta belzebul</i>	VU
689*	Primates	Atelidae	<i>Alouatta discolor</i>	VU
690*	Primates	Atelidae	<i>Alouatta guariba clamitans</i>	VU
691*	Primates	Atelidae	<i>Alouatta guariba guariba</i>	CR
692*	Primates	Atelidae	<i>Alouatta ululata</i>	EN
693*	Primates	Atelidae	<i>Ateles belzebuth</i>	VU
694*	Primates	Atelidae	<i>Ateles chamek</i>	VU
695*	Primates	Atelidae	<i>Ateles marginatus</i>	EN
696*	Primates	Atelidae	<i>Brachyteles arachnoides</i>	EN
697*	Primates	Atelidae	<i>Brachyteles hypoxanthus</i>	CR
698*	Primates	Atelidae	<i>Lagothrix lagothricha cana</i>	EN
699*	Primates	Atelidae	<i>Lagothrix lagothricha lagothricha</i>	VU
700*	Primates	Atelidae	<i>Lagothrix lagothricha poeppigii</i>	VU
701*	Primates	Callitrichidae	<i>Callithrix aurita</i>	EN
702*	Primates	Callitrichidae	<i>Callithrix flaviceps</i>	EN
703*	Primates	Callitrichidae	<i>Leontopithecus caissara</i>	EN
704*	Primates	Callitrichidae	<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	EN
705*	Primates	Callitrichidae	<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	EN
706*	Primates	Callitrichidae	<i>Leontopithecus rosalia</i>	EN
707*	Primates	Callitrichidae	<i>Mico rondoni</i>	VU
708*	Primates	Callitrichidae	<i>Saguinus bicolor</i>	CR
709*	Primates	Callitrichidae	<i>Saguinus niger</i>	VU
710*	Primates	Cebidae	<i>Cebus kaapori</i>	CR
711*	Primates	Cebidae	<i>Saimiri vanzolinii</i>	VU
712*	Primates	Cebidae	<i>Sapajus cay</i>	VU
713*	Primates	Cebidae	<i>Sapajus flavius</i>	EN
714*	Primates	Cebidae	<i>Sapajus robustus</i>	EN
715*	Primates	Cebidae	<i>Sapajus xanthosternos</i>	EN
716*	Primates	Pitheciidae	<i>Cacajao hosomi</i>	EN
717*	Primates	Pitheciidae	<i>Callicebus barbarabrownae</i>	CR
718*	Primates	Pitheciidae	<i>Callicebus coimbrai</i>	EN
719*	Primates	Pitheciidae	<i>Callicebus melanochir</i>	VU
720*	Primates	Pitheciidae	<i>Callicebus personatus</i>	VU
721*	Primates	Pitheciidae	<i>Chiropotes satanas</i>	CR
722*	Primates	Pitheciidae	<i>Chiropotes utahickae</i>	VU

* Espécies constantes na Lista anterior (2014).

VU Vulnerável

EN Em Perigo

CR Criticamente em Perigo

ANEXO 4

Cartilha de campo



Callithrix penicilata - Saguí de tufo pretos



Callithrix kuhlii - Saguí de Wied



Sapajus xanthosternus - Macaco-prego do peito amarelo

PRIMATAS DA BAHIA

Famílias: Callitrichidae e Cebidae .



Leontopithecus chrysomelas - Mico-leão-da-cara-dourada



Sapajus robustus - Macaco-prego-de-crista



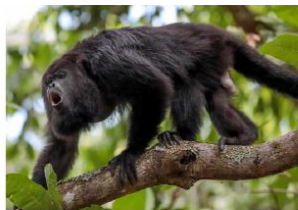
Callithrix jacchus - Saguí-de-tufo-branco



Callithrix geoffroyi - Saguí da cara branca



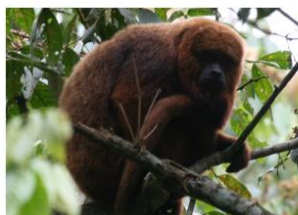
Sapajus libidinosus - Macaco prego



Alouatta caraya - Bugio preto



Alouatta caraya - Bugio preto Juvenis e Fêmea com pelagem dourada



Alouatta guariba guariba - Bugio marrom

PRIMATAS DA BAHIA

Famílias: Athelidae e Pitheciidae.



Brachyteles arachnoides - Muriqui-do-sul



Brachyteles hypoxanthus - Muriqui-do-norte



Callicebus coimbrai - Guigó-de-coimbra-filho



Callicebus barbarabrownae - Guigó-da-aaatinga



Callicebus melanochir - Guigó

Fonte: site de busca de imagens (google, 2021).