



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, ANATOMOPATOLÓGICA, IMUNO-
HISTOQUÍMICA E DETECÇÃO MOLECULAR DA TOXOPLASMOSE EM
PRIMATAS NÃO HUMANOS DE VIDA LIVRE DO BRASIL CENTRAL.**

DAVI EMANUEL RIBEIRO DE SOUSA

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
Junho de 2025**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, ANATOMOPATOLÓGICA, IMUNO-
HISTOQUÍMICA E DETECÇÃO MOLECULAR DA TOXOPLASMOSE EM
PRIMATAS NÃO HUMANOS DE VIDA LIVRE DO BRASIL CENTRAL.**

ALUNO: DAVI EMANUEL RIBEIRO DE SOUSA

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO:

**BRASÍLIA/DF
Junho de 2025**

MARCIO BOTELHO DE CASTRO, Prof. Doutor (UnB)

ORIENTADOR

FERNANDO HENRIQUE FURLAN, Prof. Doutor (UFMT)

EXAMINADOR EXTERNO

ALESSANDRO PECEGO MARTINS ROMANO, Doutor, (Ministério da Saúde)

EXAMINADOR EXTERNO

BERGMANN MORAIS RIBEIRO, Prof. Doutor, (UnB)

EXAMINADOR INTERNO

CRISTIANO BARROS DE MELO, Prof. Doutor (UnB)

EXAMINADOR INTERNO

BRASÍLIA-DF, 12 de JUNHO de 2025

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

SOUSA, D. E. R. S. **Caracterização epidemiológica, anatomopatológica, imuno-histoquímica e detecção molecular da toxoplasmose em primatas não humanos de vida livre do Brasil Central.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 2024, 51p. Qualificação de Doutorado.

Documento formal autorizando reprodução dessa tese para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte dessa Tese de Doutorado pode ser reproduzida sem a autorização escrito do autor ou de seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

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

RS725cc RIBEIRO DE SOUSA, DAVI EMANUEL
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EPIDEMIOLOGICA, PATOLÓGICA E
IMUNOHISTOQUÍMICA DA TOXOPLASMOSE EM PRIMATAS NÃO HUMANOS DE
VIDA LIVRE NO BRASIL CENTRAL. / DAVI EMANUEL RIBEIRO DE
SOUSA; orientador Márcio Botelho de Castro. Brasília, 2025.
37 p.

Tese (Doutorado em Ciências Animais) Universidade de
Brasília, 2025.

1. TOXOPLASMOSE EM PRIMATAS NÃO HUMANOS. I. Botelho de
Castro, Márcio, orient. II. Título.

“... Eu sigo em frente, para a frente eu vou, eu sigo enfrentando a onda onde muita gente naufragou.” **Humberto Gessinger.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu verdadeiro e único pai, que nunca me deixou faltar resiliência. Sem ele, eu não teria a capacidade de realizar esse objetivo. A minha família, na qual o primeiro pilar é minha mãe Iraci Ribeiro de Sousa, minha rainha, minha guerreira e batalhadora e minha filha Maria Helena Silveira de Sousa, que hoje com 6 anos continua sendo minha principal motivação despertando ainda mais a disciplina e a vontade que eu mesmo desconhecia. Obrigado pelo apoio e a ajuda na superação de várias dificuldades, fazendo-me acreditar que desistir não é uma opção. Obrigado por estar sempre comigo e retirar de mim o desespero, me fazendo lembrar que foi por minha família que eu assumi esse compromisso e é por ela também que eu cheguei até aqui. A Nana, titia, tia Zélia e vovó que são meus pilares espirituais e intercedem diretamente por mim todos os dias de minha vida.

Ao meu amigo e orientador Prof. Dr. Márcio Botelho de Castro. Residência, Mestrado e Doutorados juntos! Um orgulho ter completado a trajetória acadêmica com o senhor, desde a residência me ensinou a explorar o meu potencial, acreditou na minha capacidade, treinou e lapidou meu conhecimento para essa conquista. Obrigado por toda a paciência e por me fazer despertar e ter a certeza de que a Patologia, à Docência e a Pesquisa são as minhas escolhas.

Cronologicamente, agradeço de forma especial a minha equipe Taís Meziara Wilson e Mizael Machado, que me ajudam desde a residência até os dias de hoje, auxiliaram diretamente neste trabalho e me ajudam sempre. Minha equipe!

A minha equipe da pós LPPV-UnB, Luana Macêdo e Liz de Albuquerque Cerqueira, vocês foram pilares importantes para mim durante toda minha caminhada em Brasília, dividimos muitas situações e hoje carrego vocês sempre no meu coração, vocês podem contar sempre comigo. Ana Livia V. de Sousa, muito obrigado por ser uma segurança e um apoio

emocional gigantesco, você representa muito pra mim e estarei com você na sua caminhada! Luana (camisa 10), Liz, Ana Livia e Yasmim, como um todo, vocês compartilharam comigo inúmeros momentos e sempre me deram total apoio. Obrigado por todo o suporte e eu espero poder continuar a colaborar com a evolução de vocês. Agradeço a Ismael Lira Borges, pelo apoio gigante em momentos muito turbulentos. Demais Amigos, Lucas Pimenta, Daniel Martins e Agrício Moreira.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais (Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV) da Universidade de Brasília pela oportunidade, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo fornecimento da bolsa.

ÍNDICE

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO 1 – TOXOPLASMOSE EM PRIMATAS NÃO HUMANOS	1
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Problemática e Relevância.....	4
1.2. Objetivos.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Toxoplasmose em primatas não humanos: Uma breve compreensão histórica	5
2.2 Agente etiológico	6
2.3 Ciclo de vida.....	10
2.4 Epidemiologia.....	14
2.5 Sinais Clínicos	16
2.6 Patologia	18
2.7 Patogenia	20
2.8 Métodos de diagnóstico	22
2.9 Estratégias de controle.....	24
CAPÍTULO 2 – INSIGHTS INTO THE THREATS OF TOXOPLASMOSIS FOR FREE-RANGING BLACK-TUFTED MARMOSETS LIVING IN OUR NEIGHBORHOOD	26
CAPÍTULO 3 – URBANIZED NON-HUMAN PRIMATES AS SENTINELS FOR HUMAN ZOONOTIC DISEASES: A CASE OF ACUTE FATAL TOXOPLASMOSIS IN A FREE-RANGING MARMOSET IN COINFECTION WITH YELLOW FEVER VIRUS)	27
CAPÍTULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

RESUMO

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, EPIDEMIOLÓGICA, PATOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DA TOXOPLASMOSE EM PRIMATAS NÃO HUMANOS DE VIDA LIVRE NO BRASIL CENTRAL.

Davi Emanuel Ribeiro de Sousa¹, Márcio Botelho de Castro²

¹Medico Veterinário/Doutorando em Ciências Animais – PPGCA/UnB – Brasília/DF

²Médico Veterinário/Doutor – UnB – Brasília/DF

A toxoplasmose é uma doença zoonótica que afeta uma ampla gama de hospedeiros, incluindo primatas não humanos, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Os felinos são hospedeiros definitivos e eliminam oocistos no ambiente que podem sobreviver anos em condições adversas. Primatas neotropicais são altamente suscetíveis à toxoplasmose com altas taxas de mortalidade durante surtos. Fatores como fragmentação de habitat, invasão urbana e contato próximo com animais domésticos elevam a probabilidade de exposição e o risco de exposição, doença e morte. Nos primatas não humanos (PNHs), a doença se manifesta de forma aguda com distribuição sistêmica podendo afetar todos os órgãos (especialmente fígado, baço, pulmão e coração) e o desfecho é fatal. O papel dos PNHs como espécies sentinelas para toxoplasmose têm sido discutido, dada sua alta suscetibilidade e importância ecológica. O monitoramento contínuo aliado a estudos epidemiológicos, bem como a caracterização morfológica e molecular *do T. gondii*, principalmente nas populações de PNHs de vida livre, favorecem a compreensão da dinâmica da doença, ajudando a implementar estratégias eficazes de conservação e de saúde pública. Dessa forma, este estudo caracterizou os aspectos epidemiológicos, patológicos e moleculares da toxoplasmose em calitriquídeos de vida livre na Região Centro-Oeste do Brasil.

Palavras-chave: Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, primatas de vida livre, zoonose, saúde pública.

ABSTRACT

EPIDEMIOLOGICAL, PATHOLOGICAL IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TOXOPLASMOSIS IN FREE-LIVING NON-HUMAN PRIMATES IN CENTRAL BRAZIL.

Davi Emanuel Ribeiro de Sousa¹, Márcio Botelho de Castro²

¹Medico Veterinário/Doutorando em Ciências Animais – PPG/UnB – Brasília/DF

²Médico Veterinário/Doutor – UnB – Brasília/DF

Toxoplasmosis is a zoonotic disease that affects a wide range of hosts, including non-human primates (NHPs), caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Felids are the definitive hosts, shedding oocysts into the environment, where they can survive for years under adverse conditions. Neotropical primates are highly susceptible to toxoplasmosis, with high mortality rates during outbreaks. Factors such as habitat fragmentation, urban encroachment, and close contact with domestic animals increase the likelihood of exposure. The disease manifests acutely and systemically, potentially affecting all organs, with particular involvement of the liver, spleen, lungs, heart, and brain. The role of NHPs as sentinel species for toxoplasmosis has been discussed due to their high susceptibility and ecological importance. Continuous monitoring and the epidemiological, pathological, and molecular characterization of *T. gondii*, especially in free-ranging NHP populations, enhance the understanding of disease dynamics, contributing to the implementation of effective conservation and public health strategies. This study aims to characterize the epidemiological, pathological, and molecular aspects of toxoplasmosis in free-ranging callitrichids in the Central-West region of Brazil.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, free-ranging marmoset, zoonosis, public health.

CAPÍTULO 1 – TOXOPLASMOSE EM PRIMATAS NÃO HUMANOS

1. INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas emergentes em primatas não humanos (PNHs) são uma crescente preocupação para a Saúde Pública, tanto no Brasil quanto no mundo (Carme et al., 2003; Epiphany et al., 2003; Cano-Terriza et al., 2019). A vigilância epidemiológica dessas doenças em PNHs de vida livre tem se mostrado essencial para a investigação de patógenos responsáveis por doenças humanas, como a Febre Amarela, que possuem potencial para se tornarem endêmicas ou desencadear epidemias. Devido à sua estreita relação filogenética com os seres humanos, os PNHs compartilham características imunológicas, fisiológicas e agentes infecciosos, o que os tornam importantes modelos para o estudo de doenças em humanos (Santos et al., 2018; Kamau et al., 2019; Shilin Xin et al., 2021).

Estudos sobre agentes infecciosos em PNHs de vida livre são raros, mas de extrema relevância para a compreensão da epidemiologia de doenças emergentes e reemergentes em humanos e animais (Shilin Xin et al., 2021; Cano-Terriza et al., 2019). A toxoplasmose, por exemplo, é uma zoonose causada pelo protozoário *T gondii*, que infecta animais de sangue quente, incluindo humanos e PNHs. Os felinos são os hospedeiros definitivos, enquanto outros animais de sangue quente atuam como hospedeiros intermediários (Epiphany et al., 2003; Dubey, 2004). Dadas as semelhanças nas condições ambientais e na cadeia de transmissão da toxoplasmose em PNHs, o mapeamento e a caracterização epidemiológica dessa doença podem contribuir para a compreensão dos riscos de sua disseminação principalmente nos centros urbanos (Dubey, 1998; Attias et al., 2020; Shilin Xin et al., 2021).

Nos PNHs do Novo Mundo, a toxoplasmose é frequentemente caracterizada como uma doença aguda e fatal, manifestando-se geralmente em surtos, o que a torna um importante diagnóstico diferencial da febre amarela (Shilin Xin et al., 2021). A perda de habitats devido à urbanização, agricultura e pecuária força os PNHs a se adaptarem e sobreviverem em ambientes antropogênicos, aumentando o contato, por exemplo, com restos de alimentos

humanos, lixo e gatos. Esse cenário facilita a manutenção da toxoplasmose e de outras doenças que representam uma ameaça à conservação dessas espécies. Nesse contexto, os aspectos epidemiológicos e patológicos da toxoplasmose em PNHs de vida livre são cruciais tanto para a vigilância de doenças quanto para a conservação das populações de primatas, auxiliando na identificação de fatores de risco em ambientes antropizados.

Apesar das descrições referentes a alta suscetibilidade à toxoplasmose clínica dos primatas do novo mundo, é notório a carência de estudos sistematizados com PNHs de vida livre, o que limita a compreensão do papel desses animais como hospedeiros intermediários e vigilantes ecológicos. Tais lacunas limitam a vigilância ambiental integrada e a adoção de medidas profiláticas nas regiões com biodiversidade de primatas neotropicais.

1.1. Problemática e Relevância

A conservação das espécies é influenciada diretamente pela relação entre o meio ambiente, a saúde humana e animal, e requer o conhecimento das doenças que ocorrem nas populações e habitats (Innes, 1997; Dubey et al., 2021). A toxoplasmose é uma zoonose aguda e fatal em PNHs, entretanto, a realidade epidemiológica e o conhecimento sobre seus efeitos nas populações de primatas de vida livre no Brasil permanecem incertos (Dubey & Beattie, 1988; Epiphanio et al., 2013; Dubey et al., 2021). Dessa forma, investigações científicas que visam caracterizar a toxoplasmose e estudar sua influência em populações de primatas, são de extrema relevância considerando a semelhança na cadeia de transmissão da enfermidade para humanos e a contribuição na manutenção e preservação das populações de PNHs de vida livre na Região Centro-Oeste do Brasil.

1.2 Objetivos

- I. Caracterizar os fatores epidemiológicos, as lesões patológicas e os achados imunohistoquímicos da toxoplasmose em PNHs de vida livre na Região Centro-Oeste do Brasil;
- II. Realizar a detecção molecular e quantificação da carga parasitária do *T. gondii* nos casos fatais em PNHs;
- III. Demonstrar a importância e discutir o papel dos PNHs de vida livre como potenciais sentinelas para a toxoplasmose nos centros urbanos;
- IV. Alertar sobre a importância da toxoplasmose na vigilância epidemiológica de PNHs de vida livre como medida de vigilância para conservação e saúde pública.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Toxoplasmose em primatas não humanos: Uma breve compreensão histórica

O *T gondii* foi descoberto por cientistas que trabalhavam no Norte da África e no Brasil há cerca de 100 anos e até hoje estudos mostram que o parasita é capaz de infectar todos os animais de sangue quente alterando o sistema imunológico, tornando-se um dos parasitários mais bem-sucedidos do mundo (Weiss & Dubey 2009).

Entre os anos de 1920 e 1980 o potencial patogênico do *T. gondii* foi realmente descoberto com inúmeros relatos em crianças infectadas congenitamente apresentando os a clássica tríade da toxoplasmose: hidrocefalia, retinocoroidite e encefalite. Dessa forma essa enfermidade se tornou uma das principais causas de morte em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida ressaltando a forte interação do agente com o sistema imune. Além disso, estudos avançaram na descoberta do ciclo de vida e do hospedeiro definitivo abrindo caminhos para medidas preventivas e tratamentos futuros (Melamed, 2009; Weiss & Dubey 2009).

Primatas do Velho Mundo, que evoluíram em ambientes diversificados da África e Ásia, apresentam uma resposta imunológica relativamente mais eficiente à toxoplasmose clínica, possivelmente como resultado de uma coevolução prolongada com cepas locais de *T. gondii* (Innes, 1997; Dubey & Beattie, 1988). Em contraste, A suscetibilidade dos primatas não humanos do Novo Mundo à infecção por *T gondii* passou a ser evidenciada após o primeiro caso documentado de toxoplasmose no Suriname em um bugio (*Alouatta seniculus*), por Thèzé entre 1914 e 1916 (Dubey et al., 2021). Este achado inicial foi um marco na compreensão da vulnerabilidade dos primatas neotropicais ao protozoário, e desde então esteve presente em estudos posteriores (Innes, 1997; Epiphany et al., 2013; Dubey et al., 2021).

A divergência na susceptibilidade entre primatas do Velho e Novo Mundo sugere a existência de fatores evolutivos e imunológicos modulados por hábitos naturais, ambientes habitáveis, pressões antrópicas e cepas patogênicas que podem influenciar de forma direta ou indireta no desenvolvimento da doença (Innes, 1997; Dubey & Beattie, 1988; Epiphany et al., 2013; Dubey et al., 2021).

2.2 Agente etiológico

O *T. gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoea, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidii, Subordem Eimeriina, Família Sarcocystidae e Subfamília Toxoplasmatinae, sendo o único representante do gênero *Toxoplasma*. O *T. gondii* apresenta três formas morfollogicamente distintas em seu ciclo de vida consideradas infectantes: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Apesar das diferenças funcionais entre essas formas, elas compartilham características morfológicas fundamentais que refletem adaptações intracelulares (Attias et al., 2020). A caracterização morfofuncional dessas estruturas tem sido realizada, principalmente, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET). Esses equipamentos, permitem o detalhamento da organização subcelular e identificação dos complexos apicais envolvidos no processo de invasão celular (Souza & Attias, 2015; Attias et al., 2020).

As formas infectantes de *T. gondii* apresentam morfologia alongada e polaridade celular evidente, com especialização do polo anterior, onde se localiza o complexo apical. Este complexo é composto por estruturas de ancoragem (conoide e micronemas), e secretoras (roptrias), que permitem a penetração ativa na célula hospedeira (Coppens et al., 2018). A superfície do parasita é delimitada por uma película composta por uma membrana plasmática

externa e um complexo de membranas internas, este último constituído por duas membranas justapostas. (Attias et al., 2020).

O conoide é uma estrutura citoesquelética cônica, composta por microtúbulos helicoidais e proteínas associadas ao cálcio, como Centrina 2, TgCAM1, TgCAM2 e miosina TgMyoH. Durante o processo de invasão, o conoide projeta-se para o exterior mediante influxo intracelular de Ca^{2+} . Essa projeção está associada à penetração ativa na célula hospedeira (Coppens et al., 2018). Essa estrutura possui dimensões médias de 400 nm de diâmetro e 250 nm de comprimento. A partir do seu anel polar também emergem 22 microtúbulos subpeliculares que se estendem longitudinalmente até cerca de dois terços do corpo celular. Subjacente ao complexo de membranas internas, há uma rede de filamentos citoplasmáticos compostos por proteínas da família das articulinas (alveolinas), que conferem sustentação estrutural ao corpo do parasito (Monteiro et al., 2001; Attias et al., 2020).

Os micronemas são as organelas secretoras mais abundantes nas formas infectantes de *T. gondii*, apresentando-se como estruturas bastoniformes com aproximadamente 250 nm de comprimento por 50 nm de largura. Estão distribuídos preferencialmente ao redor do anel polar, posicionando-se imediatamente abaixo da membrana plasmática (Attias et al., 2020). A secreção de seu conteúdo é dependente de sinalização por cálcio intracelular e ocorre de maneira coordenada durante a mobilidade e adesão do parasito à célula hospedeira (Coppens et al., 2018). As proteínas secretadas pelos micronemas, denominadas MICs (*microneme proteins*), incluem moléculas com atividade adesiva, perforinas e subtilisinas (serina proteases), fundamentais para a motilidade do parasita e formação da junção móvel durante a invasão celular (Coppens et al., 2018). Do ponto de vista quantitativo, a abundância de micronemas varia entre as formas, onde os esporozoítos apresentam maior número, seguidos por taquizoítos, sendo menos expressivas nos bradizoítos (Dubey et al., 1998, Monteiro et al., 2001, Coppens et al., 2018; Attias et al., 2020).

As roptrias constituem o segundo grupo de organelas secretoras do complexo apical. Elas são estruturas maiores que os micronemas e apresentam morfologia claviforme, com duas regiões distintas: uma base mais larga, de aspecto esponjoso, e uma porção mais afilada que se estende em direção ao complexo apical. Estas organelas são responsáveis pela liberação de proteínas especializadas, denominadas ROPs (*roptry proteins*), que são introduzidas no citoplasma da célula hospedeira durante o processo de invasão. As ROPs modulam processos intracelulares da célula parasitada, favorecendo a sobrevivência e replicação do parasito por meio da subversão de vias metabólicas e sinalização imunológica. Além disso, a secreção de roptrias desempenha um papel essencial na constituição da junção móvel para a invasão do *T. gondii* e na formação da membrana do vacúolo parasitóforo (Bradley & Sibley, 2007; Boothroyd & Dubremetz, 2008). As três formas infectantes e suas organelas estão ilustradas na figura 1.

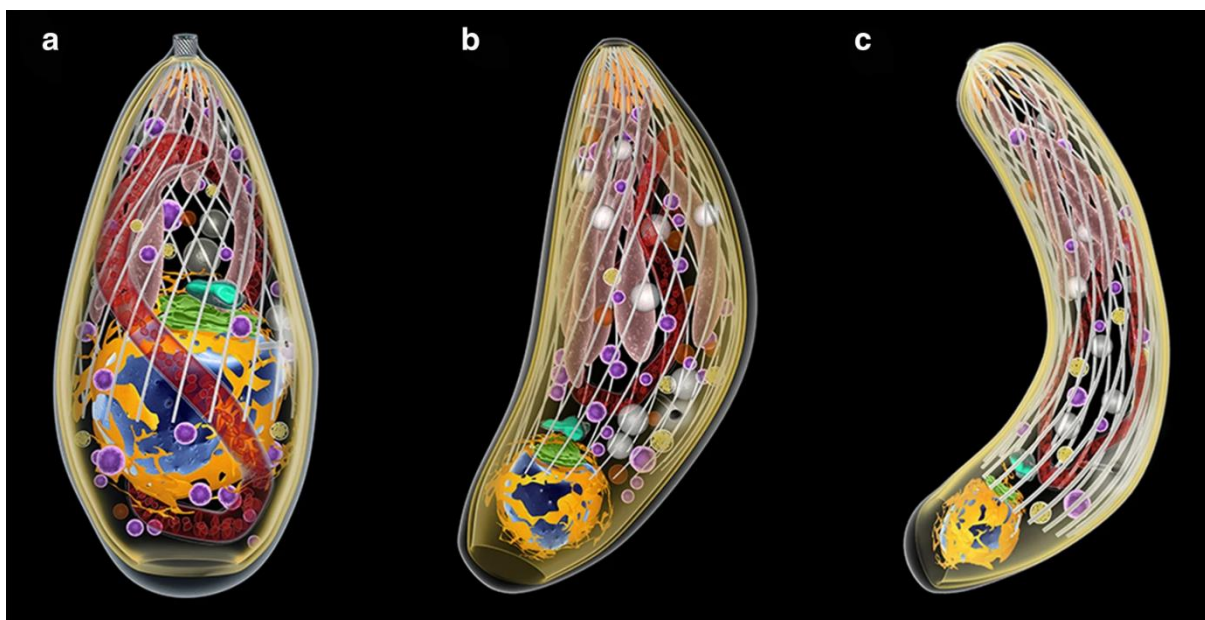


Figura 1. Os três estágios infecciosos do *T. gondii*: taquizoíto (a), bradizoíto (b) e esporozoíto (c). O núcleo (em azul) é envolvido pelo retículo endoplasmático rugoso (em amarelo). Localizado superiormente a ele, encontram-se o complexo de Golgi (em verde) e o apicoplasto (em azul-esverdeado). A mitocôndria única estende-se ao longo do citosol (em vermelho). Grânulos densos (em magenta) e grânulos de amilopectina (em branco) estão dispersos no citoplasma. O complexo apical é constituído pelo conoide cilíndrico. Abaixo dele, localizam-se as organelas secretoras, que incluem as micronemas (em laranja) e as roptrias (em rosa). O corpo celular é delimitado por três unidades de membrana que compõem a película, abaixo da qual se dispõe um conjunto de microtúbulos subpeliculares (Attias et al., 2022).

Embora apenas o *T. gondii* seja reconhecido como espécie, variações genéticas têm sido identificadas e associadas à patogenicidade da infecção (Dubey, 1998; Attias et al., 2020). Estudos sobre os principais antígenos de superfície dos taquizoítos revelam um elevado grau de conservação alélica. Em particular, as proteínas SAG1 e SAG2, codificadas por genes amplamente estudados, apresentam apenas dois alelos distintos entre um conjunto diversificado de cepas analisadas (Burg et al., 1988; Bülow & Boothroyd, 1991).

Do ponto de vista genético, a estrutura populacional de *T. gondii* é caracterizada por padrões contrastantes de diversidade de linhagens, variando principalmente de acordo com a origem geográfica e o ecótipo. No Velho Mundo (África, Ásia e Europa), descobriu-se que a maioria dos isolados de *T. gondii* de humanos, animais domésticos e fauna selvagem pertenciam a algumas linhagens clonais intercontinentais: tipo I, tipo II, tipo III, África 1 (também designada como BrI) e África 4 (Shwab et al., 2014; Galal et al., 2022). Estudos apontam as cepas do tipo I como as mais virulentas em comparação as do tipo II e III (Howe e Sibley, 1995; Khan et al., 2011; Gala et al., 2019). Na Europa e América do Norte, as cepas do tipo II e III são as mais prevalentes, tanto em ambientes selvagens quanto domésticos, enquanto o tipo XII predomina em ambientes selvagens (Gala et al., 2019).

No Novo Mundo (América do Norte e do Sul), as linhagens clonais mais comuns do Velho Mundo (tipo I, II, III e África 1) também são encontradas ao lado de uma diversidade de linhagens clonais locais e populações não clonais específicas da América do Sul ou do Norte (Shwab et al., 2014; Jiang et al., 2018; Galal et al., 2022).

O conhecimento sobre a diversidade genética dos isolados de *T. gondii* em primatas não humanos (PNHs) ainda é escasso e, assim como em humanos, as cepas do tipo II são mais prevalentes (Marian et al., 2024). A toxoplasmose é uma doença sistêmica, aguda e fatal em primatas do Novo Mundo (mais suscetíveis) e bem relatada em PNHs cativos. Entretanto, as

estirpes recombinadas envolvidas nas mortes de PNHs de vida livre ainda representam um desafio desconhecido na epidemiologia molecular da toxoplasmose (Dubey et al., 2021).

2.3 Ciclo de vida

O ciclo de vida do *T. gondii* é heteróximo e envolve hospedeiros definitivos (felídeos) e intermediários. Felídeos, especialmente gatos, são os únicos hospedeiros definitivos e o principal processo de infecção destes animais ocorre pela ingestão de cistos teciduais presentes em presas ou outros alimentos contaminados (Hutchison et al., 1971; Ferguson et al., 1974; Dubey, 2009; Tong et al., 2021). Dentre as formas infectantes do *T. gondii* os taquizoítos representam a de rápida proliferação, os bradizoítos são de crescimento lento, presentes nos cistos teciduais e os esporozoítos estão presentes nos oocistos (Hutchison et al., 1971; Ferguson et al., 1974). A parede do cisto é digerida no estômago devido ao seu baixo pH e ação de enzimática, liberando bradizoítos ou esporozoítos que invadem células epiteliais intestinais, iniciando a formação dos esquizontes, uma estrutura multinucleada (reprodução assexuada) (Dubey et al., 2009).

Durante a esquizogonia nos enterócitos, após ciclos consecutivos de divisão nuclear, os bradizoítos se dividem gerando os merozoítos (células filhas). Paralelamente, há formação do complexo da membrana interna para a individualização de cada merozoíto junto ao surgimento das características típicas das estruturas de ancoragem e secreção, o complexo apical, incluindo micronemas e roptrias. Estes merozoítos infectantes permanecem no interior da célula hospedeira até sua lise (Attias et al., 2020). A ruptura dos enterócitos libera numerosos merozoítos, que podem invadir novos enterócitos, promovendo novos ciclos esquizogônicos sucessivos, o que amplifica exponencialmente a carga parasitária no epitélio intestinal (Dubey et al., 2009). Entre três e quinze dias após a infecção primária, os esquizontes e os merozoítos

localizam-se predominantemente na região ileal do intestino delgado. Nessa fase, parte dos merozoítos inicia diferenciação sexual, dando origem aos gamontes (Attias et al., 2020).

A gametogonia é a formação de macrogametas e microgametas. Os macrogametas originam-se a partir de um único merozoíto e apresentam morfologia oval (8 μm de comprimento $\times$ 6 μm de largura), contendo um núcleo único, retículo endoplasmático, mitocôndrias, grânulos lipídicos, inclusões de amilopectina e corpos formadores de parede do tipo I (0,35 μm de diâmetro, alta densidade eletrônica) e tipo II (11,2 μm de largura, menor densidade e em número reduzido). Os microgametas resultam de divisão esquizogônica e apresentam morfologia alongada (6 μm de comprimento $\times$ 2 μm de largura). Suas características incluem cromatina nuclear condensada, dois corpos basais, flagelos emergindo da região anterior e uma mitocôndria adjacente. A fecundação ocorre pela fusão do microgameta com o macrogameta, resultando na formação do oocisto imaturo, que é liberado no lúmen intestinal e eliminado nas fezes do hospedeiro definitivo (Tong et al., 2018; Attias et al., 2020).

Após a liberação fecal, esses oocistos esporulam no ambiente, dando origem a dois esporocistos contendo quatro esporozoítos, que se tornam infectantes após 1 a 5 dias. Embora os felídeos eliminem milhões de oocistos, essa fase dura aproximadamente quatro semanas após a infecção (Dubey et al., 2009). O oocisto imaturo apresenta morfologia elipsoide (13 μm de comprimento $\times$ 11 μm de largura) e contém um esporoblasto unicelular. Os oocistos esporulados são extremamente resistentes e podem sobreviver por longos períodos em condições ambientais adversas, facilitando sua disseminação (Attias et al., 2020).

Fatores ambientais e hábitos alimentares estão diretamente relacionados às taxas de infecção pelo protozoário. Em hospedeiros intermediários, como os primatas não humanos, a infecção ocorre principalmente pela ingestão de oocistos esporulados presentes em alimentos contaminados (Tenter et al., 2000; Dubey, 2009; Stelzer et al., 2019). O mecanismo de invasão

celular pelo *T. gondii* é uma etapa complexa do ciclo de vida do parasita, além de ser diretamente relacionada a sua patogenicidade, bem como à capacidade de evadir o sistema imunológico do hospedeiro.

Quando liberados, os esporozoítos ou bradizoítos mobilizam-se através de um mecanismo exclusivo denominado motilidade por deslizamento (*gliding motility*), que é dependente da secreção de proteínas dos micronemas (AMA1 e MIC2) que são fundamentais para a adesão inicial do parasita à membrana plasmática da célula hospedeira e para sua motilidade direcionada (Dubey et al., 2004; Dubey et al., 2009). Além disso, esse mecanismo é sustentado por um complexo motor actina-miosina, denominado glideossomo, localizado entre a membrana plasmática e a membrana do complexo da película interna. A força propulsora é gerada pela interação entre a actina filamentosa e a miosina TgMyoA, ancoradas por proteínas adaptadoras (GAP40, GAP45, GAP50, GAPM) que conectam o citoesqueleto do parasita à rede subpelicular (Tenter et al., 2000; Stelzer et al., 2019).

A multiplicação do taquizoíto ocorre por endodiogênese, processo de reprodução assexuada no qual duas células-filhas são formadas simultaneamente no interior da célula-mãe. Múltiplos ciclos de endodiogênese resultam na organização dos parasitas em formações denominadas rosetas (Stelzer et al., 2019; Attias et al., 2020). A liberação dos taquizoítos ocorre mediante ruptura da célula hospedeira, processo que pode ser desencadeado por sinais intracelulares, como o influxo de cálcio, liberando taquizoítos que se disseminam pelo sangue e sistema linfático, transportados principalmente por macrófagos, invadindo diversos tecidos (Stelzer et al., 2019). Com o avançar da infecção, os taquizoítos intracelulares reduzem sua taxa de divisão e, eventualmente, se diferenciam em bradizoítos localizados principalmente nos músculos e no sistema nervoso central, tecidos com baixa renovação celular. Além disso, esses cistos podem persistir durante toda a vida do hospedeiro e são resistentes à resposta imunológica

(Dubey, 2009; Stelzer et al., 2019; Attias et al., 2020). O ciclo de vida da toxoplasmose esta ilustrado na figura 2.

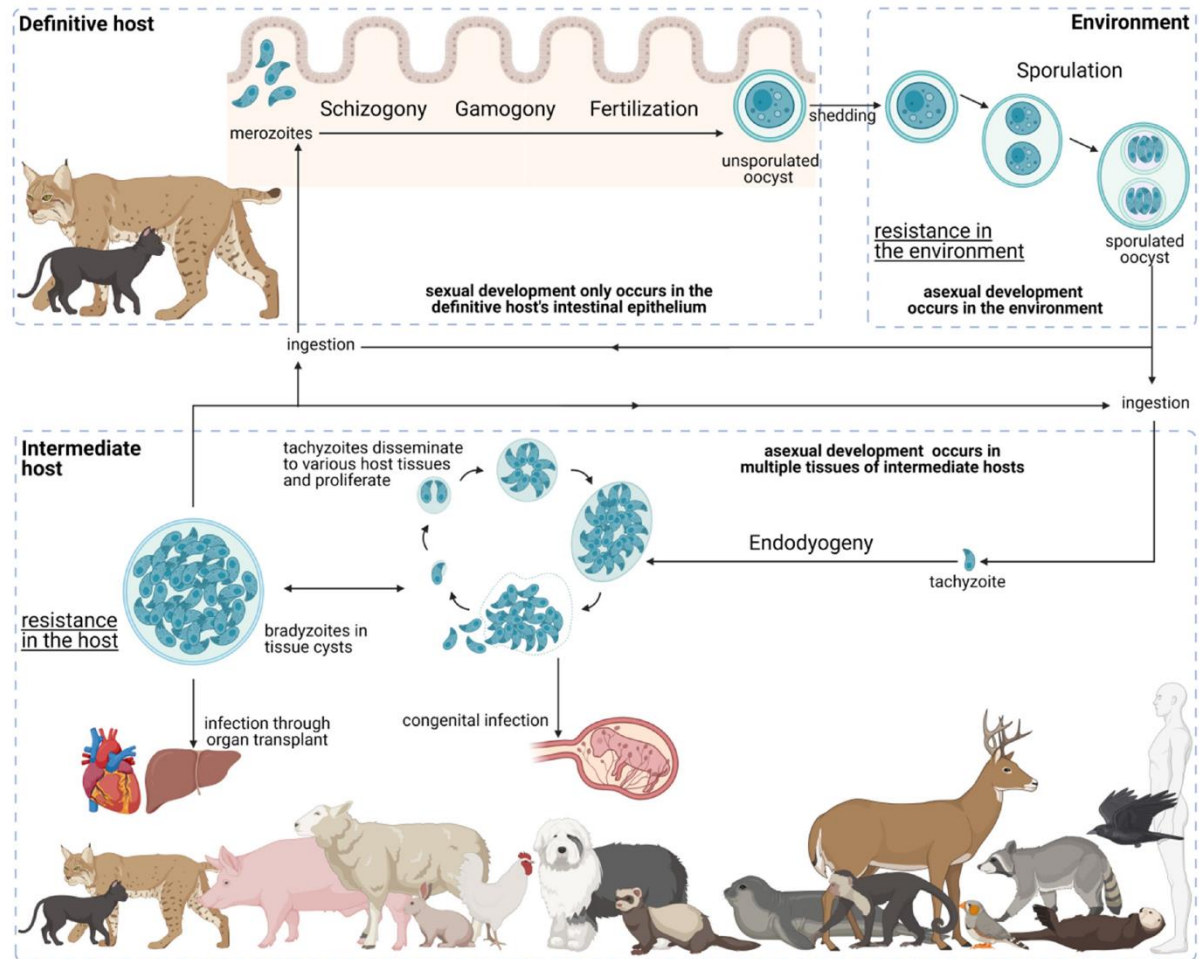


Figura 2. Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*. O ciclo de vida de *Toxoplasma gondii* compreende três fases que ocorrem no hospedeiro definitivo, no ambiente e no hospedeiro intermediário. Os diferentes estágios parasitários e estão indicados juntamente com os diferentes elementos envolvidos (Delgado et al., 2022).

2.4 Epidemiologia

A toxoplasmose é uma zoonose amplamente disseminada que afeta uma grande variedade de hospedeiros intermediários e representa uma preocupação significativa de saúde pública, podendo causar sequelas graves em humanos e desfechos fatais em primatas neotropicais (Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2022). De forma geral, as manifestações da toxoplasmose, variam conforme a cepa do agente, o grau de patogenicidade, o estado imunológico do hospedeiro e a suscetibilidade ou resistência natural de diferentes espécies (Paula et al., 2019).

Evolutivamente, primatas do Velho Mundo demonstram maior resistência à toxoplasmose devido à exposição frequente e não letal ao protozoário, já que essas espécies possuem constante contato com o solo, aumentando a chance de se infectarem por meio de fezes de felinos contaminadas. Por outro lado, o hábito arborícola e a menor exposição a patógenos presentes no solo, são apontados como possíveis fatores relacionados à alta suscetibilidade de PNHs do Novo Mundo à infecção por *T. gondii* (Innes, 1997; Dubey e Beattie, 1988; Epiphany et al., 2003; Paula et al., 2019; Dubey et al., 2021).

Embora o comportamento arborícola das espécies neotropicais seja considerado um fator de risco importante para a exposição ao *T. gondii*, a alta susceptibilidade desses primatas ainda não é totalmente compreendida e parece variar entre as diferentes espécies do Novo Mundo (Catão-Dias et al., 2013; Dubey et al., 2021). Nos Callitrichidae (*Saguinus*, *Leontopithecus* e *Callithrix* sp), a toxoplasmose é altamente letal. A família Cebidae apresenta uma taxa de sobrevivência mais elevada, enquanto o gênero *Cebus* demonstra maior resistência e níveis mais altos de IgG após a infecção, o que torna a mortalidade rara (Catão-Dias et al., 2013).

A relevância da toxoplasmose em primatas cativos está bem documentada, com descrições contínuas que destacam os efeitos sistêmicos da doença, a gravidade das lesões e a alta mortalidade em surtos, independentemente de sexo ou idade (Casagrande et al., 2013; Santos et al., 2014; Paula et al., 2020; Marian et al., 2024). No entanto, o conhecimento sobre os impactos da toxoplasmose em PNHs de vida livre é escasso, representando uma lacuna importante no entendimento ecológico e epidemiológico da doença nesse contexto (Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023). Estudos sorológicos já foram realizados em saguis e macacos-prego para determinar a soroprevalência da toxoplasmose por meio do teste de aglutinação microscópica (MAT) (Molina et al., 2014; Silva et al., 2014; Bueno et al., 2017; Molina et al., 2017; Niehaus et al., 2020; Lordelo et al., 2024). Contudo, a natureza aguda da doença muitas vezes leva à morte antes que haja uma resposta imune humoral, limitando a utilidade da sorologia para a detecção da toxoplasmose nessa espécie (Sanchez and Besteiro, 2021; Oliveira et al., 2022).

Poucos relatos de toxoplasmose aguda e fatal em PNHs de vida livre foram descritos no Brasil, incluindo um miqui-quê-do-sul (*Brachyteles arachnoides*) em São Paulo (Santos et al., 2018), três bugios (*A. guariba*) no Rio Grande do Sul (Ehlers et al., 2022), 16 calitriquídeos (*Callithrix* sp.) no Rio de Janeiro e um sagui-do-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) no Distrito Federal (Sousa et al., 2023). Além disso, o DNA de *T. gondii* foi detectado no coração de sete saguis-do-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) em Pernambuco, embora a causa da morte não tenha sido determinada e os animais tenham testado negativo para raiva e febre amarela (Melo et al., 2020). Diante desses casos, os possíveis efeitos e consequências da infecção por *T. gondii* em populações não cativas de PNHs permanecem incertos, ressaltando a necessidade de mais estudos que contribuam para o conhecimento da doença, envolvendo medidas de conservação.

Preocupações relacionadas à saúde pública também envolvem a toxoplasmose em PNHs de vida livre. A vigilância de doenças zoonóticas é uma ferramenta crucial no controle e monitoramento de enfermidades que afetam a população humana, especialmente em animais selvagens que habitam áreas antropizadas. Nesse contexto, sugere-se que PNHs de vida livre atuem como potenciais sentinelas ecológicas não apenas para a febre amarela, mas também para a toxoplasmose em ambientes urbanos, auxiliando no monitoramento da doença e na prevenção de possíveis casos em humanos (Sousa et al., 2023).

2.5 Sinais Clínicos

A toxoplasmose em primatas do Novo Mundo é uma doença fatal, sistêmica e aguda, que pode se manifestar de forma assintomática ou com sinais clínicos não específicos, dependendo da susceptibilidade das espécies e das cepas de *T. gondii* envolvidas na infecção (Catão-Dias et al., 2013; Casagrande et al., 2013; Silva et al., 2014). O curso clínico da doença ainda não é completamente compreendido, entretanto, a descrição dos sinais clínicos é mais relatada em animais cativos do que de vida livre, e no Brasil o bugio (*Alouatta* sp.) é a espécie com mais descrições clínicas (Catão-Dias et al., 2013; Casagrande et al., 2013; Santana et al., 2020; Sousa et al., 2023).

Em um surto de toxoplasmose em sete bugios (*Alouatta* sp.), o intervalo entre as mortes dos animais variou de 2 a 15 dias. Dois animais foram encontrados mortos e os demais apresentavam prostração, apatia, decúbito, tosse, edema pulmonar e vômito, sendo submetidos a tratamento clínico com morte em até aproximadamente 4 dias (Santana et al., 2020). Em Santa Catarina, dois surtos de toxoplasmose envolvendo seis bugios ruivos (*Alouatta gaurabira*) foram acompanhados e os animais apresentaram sinais clínicos variados como febre, anorexia, letargia, apatia, mucosas pálidas, distensão abdominal, constipação, estertores pulmonares e

tosse improdutiva. Todos os animais morreram poucos dias após a manifestação dos sinais clínicos (Casagrande et al., 2013). Em um surto de toxoplasmose em cinco calitriquídeos (*Callithrix penicillata*) no parque botânico no Estado de Santa Catarina, um dos animais apresentou prostração com severa taquipneia (Marian et al., 2024).

No Zoológico do Parque Estadual Dois Irmãos Recife-PE, um bugio-de-mãos-vermelhas (*Alouatta belzebul*) morreu 5 dias após apresentar prostração, diarreia e hipertermia (Pena et al., 2011). respiratória e sintomas neurológicos como incoordenação, ataxia, paralisia progressiva e convulsões (Antoniassi et al., 2011; Santos et al., 2014; Santana et al., 2020).

Sinais neurológicos são pouco descritos em PNHs com toxoplasmose, no Brasil um único relato refere-se a um macaco da noite (*Aotus nigriceps*) no Estado do Mato Grosso que apresentou depressão, anorexia, incoordenação com evolução para paralisia progressiva e o animal foi eutanasiado 10 dias após o aparecimento dos sinais clínicos (Antoniassi et al., 2011).

Os macaco-esquilo (*Saimiri sciureus*) são considerados os mais suscetíveis à toxoplasmose clínica e podem morrer repentinamente sem sinais clínicos específicos (Dubey et al., 2010). Um surto envolvendo quatro animais no Japão os sinais clínicos incluíam tremor, depressão e taquipneia. Na Guiana Francesa dois surtos de toxoplasmose em anos diferentes levaram a morte de 50 macacos-esquilos utilizados na pesquisa de malária, entretanto a fonte de infecção não foi estabelecida. Em contraste, a toxoplasmose clínica ainda não foi descrita em PNHs do Velho Mundo, com uma descrição de infecção experimental em babuínos-oliva (*Papio anubis*) que desenvolveram oftalmite bilateral e sinais neurológicos (Kamau et al., 2020; Dubey et al., 2021).

Diferente dos humanos, a toxoplasmose transplacentária não é considerada uma forma de infecção relevante da doença em PNHs. Até o momento nenhuma descrição de toxoplasmose transplacentária ocorreu em primatas neotropicais (Dubey et al., 2021). Um único

relato de toxoplasmose gestacional ocorreu na Espanha em uma lêmure-de-cauda-anelada (*Lemur catta*), cativa com quatro fetos natimortos (Juan-Sallés et al., 2011; Dubey et al., 2021).

Considerando que a toxoplasmose ainda é subdiagnosticada e negligenciada em PNHs de vida livre, as manifestações clínicas observadas nesses animais são pouco exploradas na literatura veterinária. Isso ocorre porque, com frequência, esses animais são encontrados já mortos, o que contribui para a escassez de dados epidemiológicos robustos sobre a doença (Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023).

2.6 Patologia

Os achados patológicos da toxoplasmose fatal em primatas neotropicais variam em intensidade e distribuição e frequentemente se apresentam de forma sistêmicas, sendo observados tanto em animais de vida livre quanto em cativeiro, refletindo a susceptibilidade elevada dessa espécie à infecção por *T. gondii* (Epiphany et al., 2003, Catão-Diaz et al., 2013).

Primatas do Novo Mundo com toxoplasmose, podem desenvolver lesões patológicas em vários órgãos com destaque para fígado, baço, pulmão e coração (Santos et al., 2018; Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023). As lesões clássicas da toxoplasmose em PNHs são observadas no fígado e incluem hepatomegalia com palidez difusa, acentuação do padrão lobular e petéquias multifocais com raras descrições de envolvendo lipídose (Epiphany et al., 2003; Santos et al., 2018). Histologicamente, a hepatite necrotizante randômica é a lesão histológica mais marcante encontrada nos casos de toxoplasmose aguda em PNHs cativos em Israel, no Japão, na Coreia do Sul e no Brasil (Slant et al., 2009; Antoniasse et al., 2011; Santos et al., 2014; Oh, et al., 2018; Nishimura et al., 2019; Santana et al., 2020), como também em calitriquídeos de vida livre na mata atlântica e no cerrado brasileiro (Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023).

Os pulmões geralmente se apresentam inflados, difusamente avermelhados, com impressão das costelas e graus variáveis de edema (Santos et al., 2018; Nishimura et al., 2019; Santana et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023). O derrame pleural foi descrito em um surto de toxoplasmose em uma colônia de macacos-esquilos (*Saimiri sciureus*) em Israel (Slant et al., 2009). A pneumonia intersticial linfocítica multifocal a difusa e variando de moderada a severa é a lesão pulmonar mais marcante nos PNHs. A presença de edema, macrófagos alveolares, hemorragia, deposição de membranas hialinas e hiperplasia de pneumócitos tipo II também são descritas em surtos de toxoplasmose em bugios e macacos esquilos cativos (Nishimura et al., 2019; Santana et al., 2020) e em calitriquídeos de vida livre (Oliveira et al., 2022).

O baço geralmente apresenta-se com aumento leve a grave (esplenomegalia), com bordas irregulares, e moderada a acentuada congestão, ocupando grande parte da cavidade abdominal. Na histologia, a polpa vermelha está difusamente expandida por infiltrado histiocítico, com necrose dos folículos linfóides, também observada nos linfonodos. As alterações pulmonares são comumente descritas em surtos de toxoplasmose tanto em animais cativos quanto em PNHs de vida livre (Santos et al., 2018; Nishimura et al., 2019; Santana et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023).

Lesões menos frequentes foram descritas no coração de calitriquídeos de vida livre na mata atlântica brasileira e em *Saimiri sciureus* cativos n Coréia do Sul, caracterizadas por miocardite histiocítica e linfocítica e necrose de cardiomiócitos (Oh et al., 2018; Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023). A gastroenterite ulcerativa e fibrinohemorrágica foi relatada em muriquis do sul (*Brachyteles arachnoides*) em São Paulo, além das lesões no trato digestivo, os animais também apresentaram linfadenomegalia mesentérica, hemoperitônio e hemorragia nas adrenais (Santos et al., 2014). Lesões no sistema nervoso central são raras e, diferente dos humanos e outros hospedeiros intermediários, a lesões macroscópicas associadas a

neurotoxoplasmose ainda não foram descritas em PNHs de vida livre e relatada apenas em um macaco da noite (*Aotus nigriceps*) cativo, caracterizada por hemorragias na região temporal (Antoniassi et al., 2011). Histologicamente, o sistema nervoso central, apresentava meningoencefalite necrotizante, com presença de macrófagos espumosos, focos de malácia e gliose (Antoniassi et al., 2011).

Em meio as lesões histológicas observadas, a presença de cistos esféricos contendo zoítos, medindo de 10 a 20 µm de diâmetro, e zoítos piriformes a ovalados, basofílicos, medindo aproximadamente 2 a 3 µm de diâmetro, livres ou no citoplasma de macrófagos, são frequentemente descritos em PNHs cativos e livres com toxoplasmose fatal (Slant et al., 2009; Antoniasse et al., 2011; Santos et al., 2014; Oh, et al., 2018; Nishimura et al., 2019;). Esses organismos são comumente detectados por marcação com anticorpos anti-*T. gondii* (Santos et al., 2018; Nishimura et al., 2019; Santana et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Sousa et al., 2023).

2.7 Patogenia

Além do mecanismo de invasão, as estratégias de evasão do sistema imunológico do hospedeiro são um dos principais mecanismos que demonstram o sucesso do *T. gondii* em sua sobrevivência, disseminação e adaptação a diversas espécies (Sanchez e Besteiro, 2021). Após a invasão do hospedeiro, macrófagos e células dendríticas (células apresentadoras de antígenos) reconhecem o *T. gondii* principalmente por receptores *Toll-like* (TLRs), lectinas do tipo C e receptores Nod-like (Khan e Moretto, 2022).

Macrófagos e células dendríticas são as principais células que reagem aos produtos do protozoário via TLRs, e desempenham um papel importante na demonstração de atividade antiparasitária contra a infecção por *T. gondii*. Essas células iniciam a produção de IL-12 e TNF-α, que estimulam a proliferação das células natural killers (NK) e desencadeiam uma

resposta imune inata Th1 (T CD4) dependente de IFN- γ , o principal mediador inflamatório responsável pela resistência ao *T. gondii*. Apesar do papel dos macrófagos no controle da replicação do toxoplasma, os parasitas são capazes de atingir essas células e alterar sua função, impedindo o recrutamento de GTPases relacionadas à imunidade (IRGs) para a membrana do vacúolo parasitóforo. Esta atividade é mediada pelas ROP5, 17 e 18, secretadas pelo parasita nas células infectadas, onde formam um complexo e impedem a ativação da resposta IRG induzida por IFN γ , fundamental o controle imunológico do parasita. (Dupont et al., 2012; Sanchez e Besteiro, 2021; Khan e Moretto, 2022).

Um dos desfechos problemáticos da infecção por *T. gondii* em humanos e animais é a encefalite, especialmente em indivíduos com sistema imunológico comprometido (Dupont et al., 2012). A resposta imune inata desempenha um papel crucial no controle da multiplicação dos parasitas no cérebro e os monócitos inflamatórios desempenham um papel crítico na atividade protetora estimulando a produção de TNF α , óxido nítrico, IL-1 e IL-6 (Sanchez e Besteiro, 2021; Khan e Moretto, 2022). Além disso, monócitos inflamatórios têm a capacidade de se converter em células dendríticas que tem um papel significativo no controle da encefalite mediada por toxoplasmose no cérebro (Dupont et al., 2012; Khan e Moretto, 2022).

Curiosamente a toxoplasmose cerebral em PNHs é incomum e pouco relatada especialmente em primatas não cativos (Oliveira et al., 2022). Embora a patogênese das lesões cerebrais por *T. gondii* permaneça obscura, uma possível justificativa pode estar relacionada com o quadro agudo da doença nesses animais e uma atividade de proteção imunológica mais intensa no SNC, semelhante aos humanos. Entretanto, mais estudos são necessários para caracterizar completamente a progressão clínica nos casos de toxoplasmose em PNHs.

Em resposta à ativação da resposta imune inata, o protozoário adota contramedidas para regular a atividade imunológica por meio da formação do vacúolo parasitóforo e de organelas secretoras de proteínas efetoras, como ROP16, ROP18 e ROP38 (Dupont et al., 2012;

Hunter & Sibley, 2012; Khan e Moretto, 2022). Essas proteínas se disseminam pelo citoplasma e são exportadas para o núcleo da célula hospedeira, subvertendo a transdução de sinal e controlando a sinalização de citocinas, a ativação de macrófagos, a produção de óxido nítrico (ON) e a apoptose (Hunter & Sibley, 2012; Sanchez & Besteiro, 2021).

Embora bem caracterizado, os estudos sobre a modulação parasitária da resposta imune do hospedeiro são limitados ao modelo murino e muitas vezes extrapolados para outras espécies. Apesar das semelhanças com humanos, os PNHs podem desenvolver respostas imunológicas específicas que ainda não são eficazes contra o parasita, evidenciando a necessidade de estudos direcionados para essa espécie.

2.8 Métodos de diagnóstico

Devido a elevada susceptibilidade, a toxoplasmose representa um obstáculo ecológico significativo para as populações de PNHs Novo Mundo. Diante da alta mortalidade dos indivíduos infectados, estudos focados no diagnóstico da enfermidade se destacam e evidenciam a complexidade devido as particularidades presentes nas respostas imunológicas dos PNHs (Dubey et al., 2021). Métodos diagnósticos como a histopatologia, a imunohistoquímica (IHC), os testes sorológicos como imunofluorescência indireta (IFAT), ELISA, hemaglutinação indireta (IHA), teste de aglutinação modificada (MAT) e a PCR (com posterior genotipagem por PCR-RFLP) têm sido amplamente utilizados para confirmar infecções por *T. gondii* em PNH, principalmente em indivíduos cativos (Santos et al., 2013; Molina et al., 2014; Paula et al., 2020; Dubey et al., 2021; Oliveira et al., 2022).

No Zoológico de Belo Horizonte (MG), seis *Sapajus apella* foram testados por ELISA, IFAT e IHA com resultados concordantes, mostrando positividade sorológica sem toxoplasmose clínica, reforçando a resistência da família Cebidae a doença. Entretanto, em um

surto de toxoplasmose em bugios (*Alouatta* spp.) que compartilharam o mesmo ambiente, não apresentaram soropositividade, sugerindo maior sensibilidade do gênero a doença (Paula et al., 2020).

A visualização de taquizoítos e cistos teciduais de *T. gondii* nos exames histopatológicos e imunohistoquímicos confirmaram o diagnóstico de toxoplasmose em quatro *Leontopithecus chrysomelas* e quatro *Saguinus imperator* no Parque Zoológico de São Paulo, e a provável fonte de infecção foi a ingestão acidental de oocistos em ambientes contaminados (Epiphany et al., 2000).

Exames histopatológico, IHC e PCR-RFLP, foram utilizados para diagnóstico e identificação do genótipo #21 de *T. gondii*, (não previamente descrito em humanos ou outros animais no Brasil) em um *Brachyteles arachnoides* (muriqui-do-sul) de vida livre. Este caso ocorreu no estado de São Paulo em uma área, próxima a fragmento florestal urbano, que apresentava histórico de contato com restos de alimentos humanos e gatos errantes, sugerindo uma possível infecção oral (Santos et al., 2017). O teste de aglutinação modificada (MAT) detectou a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em 75% de exemplares de *Alouatta caraya* e em 16,6% de *Callithrix penicillata* de vida livre no estado de São Paulo. Esses dados indicam infecção ativa na fauna silvestre, que podem conter implicações significativas para programas de reintrodução e conservação, especialmente em áreas sob forte influência antrópica (Molina et al., 2014).

Dessa forma, a toxoplasmose representa não apenas um desafio sanitário para PNHs cativos e de vida livre, mas também um problema de saúde pública e conservação, dada a importância do agente e o potencial de disseminação em áreas de interface homem-fauna. O aprimoramento dos protocolos de diagnóstico como a triagem sorológica, vigilância ambiental e genotipagem do agente são medidas essenciais para melhor caracterizar a integração de dados da ocorrência da enfermidade em humanos e animais.

2.9 Estratégias de controle

Em áreas urbanas e periurbanas, a presença de felinos domésticos, que são os hospedeiros definitivos do parasito, associada à fragmentação de habitats naturais e à ocupação desordenada do solo, favorece a contaminação ambiental por oocistos esporulados, aumentando o risco de infecção para os hospedeiros intermediários como os PNHs (Lélu et al., 2010).

A abordagem “One Health” propõe estratégias integradas de prevenção que envolvem vigilância ambiental, controle populacional e sanitário de felinos, educação em saúde pública e monitoramento de espécies sentinelas. Além disso, o fácil acesso a informações sobre a higiene alimentar, o consumo de água tratada, o manejo seguro de fezes de gatos e a restrição do acesso de felinos a áreas de conservação e fragmentos urbanos também são consideradas medidas ambientais preventivas eficazes no controle da doença (Aguirre et al., 2019).

Ainda no contexto da Saúde Única, é imprescindível a adoção de medidas coordenadas entre os setores de saúde humana, saúde animal e meio ambiente para mitigar a disseminação do parasita. A utilização de animais como bioindicadores da contaminação ambiental por oocistos, reforça a viabilidade da utilização de múltiplas espécies sentinelas em diferentes nichos ecológicos (Lélu et al., 2010; Aguirre et al., 2019; Dubey et al., 2020). Essa abordagem contribui para identificar áreas críticas de risco, além de orientar ações de saúde pública e conservação da fauna silvestre (Dubey et al., 2020). PNHs de vida livre, particularmente os que habitam regiões urbanizadas e fragmentos florestais periurbanos, têm se mostrado sentinelas valiosos para a vigilância da toxoplasmose. Devido à sua elevada susceptibilidade à infecção, PNHs do Novo Mundo protagonizam surtos de mortalidade aguda, indicando intensa circulação do parasito nesses ambientes, reforçando a importância desses

animais como indicadores de saúde ambiental e de riscos zoonóticos emergentes (Aguirre et al., 2019; Sousa et al., 2023).

Por fim, a compreensão das dinâmicas de transmissão ao longo de gradientes urbano-rurais reforça a necessidade de monitoramento contínuo da toxoplasmose em PNHs. Esses animais atuam como bioindicadores da qualidade sanitária do ambiente, refletindo diretamente o nível de contaminação ambiental por patógenos zoonóticos como o *T. gondii*, auxiliando no controle da eficácia das ações de vigilância em determinados ambientes (Lélu et al., 2010). A incorporação de dados oriundos do monitoramento de PNHs de vida livre em sistemas de vigilância integrada parece ser uma estratégia colaborativa viável na detecção precoce de surtos, a avaliação do risco zoonótico e a proteção de espécies ameaçadas.

**CAPÍTULO 2 – INSIGHTS INTO THE THREATS OF TOXOPLASMOSIS FOR
FREE-RANGING BLACK-TUFTED MARMOSETS LIVING IN OUR
NEIGHBORHOOD**

Capítulo publicado na revista *Nature Scientific Reports*. 2025; 15: 16047; 1 of 14
e disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s41598-025-00495-4>

**CAPÍTULO 3 – URBANIZED NON-HUMAN PRIMATES AS SENTINELS FOR
HUMAN ZOONOTIC DISEASES: A CASE OF ACUTE FATAL TOXOPLASMOSIS IN
A FREE-RANGING MARMOSET IN COINFECTION WITH YELLOW FEVER
VIRUS)**

Capítulo publicado na revista *Frontiers in Public Health*. 2023; 11:1236384; 1 of 5
e disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1236384>

CAPÍTULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A toxoplasmose é uma doença infecciosa emergente de grande impacto na saúde de PNHs, neotropicais e a elevada sensibilidade de diversas espécies de PNHs ao *T. gondii* já é bem estabelecida e documentada, sobretudo em indivíduos cativos, onde mortes em surtos são observados. No entanto, a compreensão sobre a dinâmica da doença em populações de vida livre, especialmente em ambientes urbanizados e fragmentados, ainda é embrionária e nebulosa. Este trabalho visou preencher parte dessa lacuna, explorando a presença e os impactos da toxoplasmose em primatas de vida livre, contribuindo significativamente para o entendimento epidemiológico da doença em cenários naturais.

Espécimes como saguis (*Callithrix* spp.), vivem frequentemente em estreita proximidade com ambientes antropizados, tornando-se altamente suscetíveis à infecção por *T. gondii*, pela ingestão de oocistos quando descem ao solo para a alimentação. A urbanização desordenada e o avanço das cidades sobre áreas de mata nativa têm potencializado essa interação entre fauna silvestre, doméstica e humanos, criando um ambiente propício para a disseminação de agentes zoonóticos. Neste contexto, os PNHs não apenas adoecem, mas também atuam como sentinelas ecológicos, sinalizando a presença e a circulação do protozoário no ambiente urbano.

Diante do quadro agudo da doença e da dificuldade de visualização dos sinais clínicos em PNHs de vida livre, a caracterização detalhada dos achados epidemiológicos e patológicos nos casos investigados reforça a importância de se considerar a toxoplasmose como um diagnóstico diferencial em situações de mortalidade aguda e inexplicada em primatas. A semelhança entre os achados epidemiológicos e as alterações anatopatológicas causadas pela

toxoplasmose e pela febre amarela, por exemplo, demanda o uso de metodologias diagnósticas específicas, como a histopatologia e as técnicas moleculares complementares. A diferenciação entre essas enfermidades é crucial em regiões endêmicas para ambas, como o Sudeste brasileiro, onde surtos de febre amarela ocorreram nas últimas décadas.

Embora nossos resultados forneçam subsídios importantes para a vigilância epidemiológica em PNHs de vida livre, lacunas significativas persistem e necessitam ser completadas. A escassez de estudos sistemáticos com primatas de vida livre é eminente e limita a capacidade de compreensão do verdadeiro impacto da toxoplasmose sobre a saúde populacional de primatas neotropicais. Além disso, a identificação das fontes de infecção, os mecanismos de resistência entre espécies e a variabilidade genética das cepas circulantes de *T. gondii* continuam obscuros e pouco explorados. Tais informações são fundamentais para o delineamento de estratégias preventivas e de manejo, especialmente em áreas onde a conservação de primatas ameaçados de extinção se sobrepõe aos riscos de zoonoses.

Do ponto de vista da Saúde Única, a toxoplasmose em PNHs representa um elo importante entre saúde ambiental, saúde animal e saúde humana. A presença de primatas infectados em áreas urbanas deve ser interpretada como um indicativo da contaminação ambiental generalizada por oocistos de *T. gondii*, e pode refletir falhas no saneamento básico e controle populacional de felídeos domésticos e errantes. A inclusão dos PNHs na vigilância ambiental, como já ocorre com a febre amarela, e pode ser estendida para a toxoplasmose, favorecendo-se do papel sentinela desses animais por sua alta sensibilidade ao *T. gondii*.

Diante do cenário apresentado, é notório ampliar os esforços de pesquisa voltados para a ecologia envolvendo toxoplasmose em primatas de vida livre. Estudos envolvendo

caracterização da doença permitirão mapear a distribuição da infecção, identificar fatores de risco ambientais, prevenir casos e elucidar o potencial da doença nessas populações. Simultaneamente, deve-se promover a capacitação técnica de profissionais da saúde animal e humana para o diagnóstico precoce e o manejo adequado de casos suspeitos, reforçando a importância da interdisciplinaridade nas ações de vigilância.

Diante disso, a toxoplasmose em primatas neotropicais de vida livre deve ser reconhecida como uma ameaça concreta à conservação da biodiversidade e à saúde pública. A abordagem integrada, aliando pesquisa científica, políticas públicas e educação ambiental, parece ser uma via capaz de mitigar os riscos e promover uma convivência sustentável entre o homem e a fauna silvestre. Este trabalho representa uma etapa inicial, mas fundamental, na construção desse caminho, e aponta para um futuro no qual os PNHs deixem de ser apenas vítimas silenciosas da toxoplasmose e passem a ocupar seu lugar estratégico como agentes centrais na vigilância ecológica de zoonoses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre AA, et al. The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *Ecohealth*. 2019, 16(2):378–390. doi: 10.1007/s10393-019-01405-7.
2. Antoniassi NA, et al. Granulomatous meningoencephalitis due to *Toxoplasma gondii* in a black-headed night monkey (*Aotus nigriceps*). *J Zoo Wildl Med*. 2011, 42(1):118–120. doi: 10.1638/2009-0104.1.
3. Attias M, et al. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasit Vectors*. 2020, 13(1):588. doi: 10.1186/s13071-020-04445-z.
- Boothroyd JC, Dubremetz JFF. Kiss and spit: the dual roles of *Toxoplasma* rhoptries. *Nat Rev Microbiol*. 2008, 6:79–88.
4. Bradley PJ, Sibley LD. Rhoptries: an arsenal of secreted virulence factors. *Curr Opin Microbiol*. 2007, 10:582–587.
5. Bueno MG, et al. Infectious Diseases in Free-Ranging Blonde Capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. *Int J Primatol*. 2017, 38(6):1017–1031.
- Bülow R, Boothroyd JC. Protection of mice from fatal *Toxoplasma gondii* infection by immunization with p30 antigen in liposomes. *J Immunol*. 1991, 147(10):3496–3500.
6. Burg JL, et al. Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 1988, 141(10):3584–3591.
7. Carrillo-Bilbao G, Martin-Solano S, Saegerman C. Zoonotic Blood-Borne Pathogens in Non-Human Primates in the Neotropical Region: A Systematic Review. *Pathogens*. 2021, 10(8):1009. doi: 10.3390/pathogens10081009.
8. Casagrande RA, et al. Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. *Pesq Vet Bras*. 2013, 33(1):94–98.

9. Catão-Dias JL, et al. Neotropical primates and their susceptibility to *Toxoplasma gondii*: new insights for an old problem. In: *Primates, Pathogens, and Evolution*. New York: Springer; 2013. p. 253–289.
10. Coppens I, Romano JD. Hostile intruder: *Toxoplasma* holds host organelles captive. *PLoS Pathog*. 2018, 14(9):e1006893.
11. Dubey JP, et al. Recent epidemiologic, clinical, and genetic diversity of *Toxoplasma gondii* infections in non-human primates. *Res Vet Sci*. 2021, 136:631–641. doi: 10.1016/j.rvsc.2021.04.017.
12. Dubey JP, et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 2012, 139(11):1375–1424. doi: 10.1017/S0031182012000765.
13. Dubey JP, et al. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev*. 1998, 11(2):267–299.
14. Dubey JP. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*. 2009, 39(8):877–882. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.01.005.

Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Boca Raton: CRC Press; 1988.
15. Dupont CD, et al. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. *Semin Immunopathol*. 2012, 34(6):793–813. doi: 10.1007/s00281-012-0339-3.
16. Epiphany S, Sinhorini IL, Catão-Dias JL. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. *J Comp Pathol*. 2003, 129(2–3):196–204. doi: 10.1016/s0021-9975(03)00035-5.

17. Ferguson DJ, et al. Ultrastructural study of early stages of asexual multiplication and microgametogony of *Toxoplasma gondii* in the small intestine of the cat. *Acta Pathol Microbiol Scand B Microbiol Immunol*. 1974, 82:167–181.
18. Galal L, et al. A unique *Toxoplasma gondii* haplotype accompanied the global expansion of cats. *Nat Commun*. 2022, 13(1):5778. doi: 10.1038/s41467-022-33556-7.
19. Galal L, Hamidović A, Dardé ML, et al. Diversity of *Toxoplasma gondii* strains at the global level and its determinants. *Food Waterborne Parasitol*. 2019, 15:e00052.
20. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis*. 1995, 172(6):1561–1566.
21. Hunter CA, Sibley LD. Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nat Rev Microbiol*. 2012, 10(11):766–778. doi: 10.1038/nrmicro2858.
- Hutchison WM, et al. The life cycle of the coccidian parasite, *Toxoplasma gondii*, in the domestic cat. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1971, 65(3):380–399.
22. Innes EA. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1997, 20(2):131–138. doi: 10.1016/s0147-9571(96)00038-0.
23. Jiang T, et al. A partition of *Toxoplasma gondii* genotypes across spatial gradients and among host species, and decreased parasite diversity towards areas of human settlement in North America. *Int J Parasitol*. 2018, 48(8):611–619.
- Kamau DM, et al. Physico-clinical and haematological changes in olive baboon (*Papio anubis*) model of latent toxoplasmosis and toxoplasmic encephalitis. *Int J Primatol*. 2020, 41(1):1–9.
24. Khan A, et al. Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. *Int J Parasitol*. 2011, 41(6):645–655.

- Khan IA, Moretto M. Immune responses to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin Immunol*. 2022, 77:102226. doi: 10.1016/j.coi.2022.102226.
25. Lélú M, et al. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* along an urban-rural gradient. *Theor Popul Biol*. 2010, 78(2):139–147. doi: 10.1016/j.tpb.2010.05.005.
 26. Lordelo RP, et al. Assessment of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in free-ranging golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) in Southern Bahia, Brazil. *Int J Primatol*. 2024, 45(1):1–5.
 27. Marian L, et al. Toxoplasmosis outbreak caused by North American genotypes in captive black-tufted marmosets in southern Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2024, 47:100960. doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100960.
 28. Melamed J. Contributions to the history of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009, 104(2):358–363. doi: 10.1590/s0074-02762009000200032.
 29. Melo RPB, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in heart tissue from common marmoset (*Callithrix jacchus*) monitored for yellow fever and rabies in Pernambuco State, Northeastern Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2020, 21:100447. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100447.
 30. Molina CV, et al. Sero-epidemiological survey for brucellosis, leptospirosis, and toxoplasmosis in free-ranging *Alouatta caraya* and *Callithrix penicillata* from São Paulo State, Brazil. *J Med Primatol*. 2014, 43(3):197–201.
 31. Molina CV, et al. Negative serosurvey of *Toxoplasma gondii* antibodies in golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*) from Niterói, RJ, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2017, 26(1):115–118.

32. Monteiro VG, et al. Morphological changes during conoid extrusion in *Toxoplasma gondii* tachyzoites treated with calcium ionophore. *J Struct Biol.* 2001, 136(2):181–189.
33. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet.* 2004, 363(9425):1965–1976. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16412-X.
34. Mukhopadhyay D, et al. Influence of the host and parasite strain on the immune response during *Toxoplasma* infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020, 10:580425.
35. Niehaus C, et al. Environmental factors associated with *Toxoplasma gondii* exposure in Neotropical primates of Costa Rica. *Front Vet Sci.* 2020, 7:583032.
36. Nishimura M, et al. Outbreak of toxoplasmosis in four squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Japan. *Parasitol Int.* 2019, 68(1):79–86. doi: 10.1016/j.parint.2018.10.008.
37. Paula NF, et al. Host range and susceptibility to *Toxoplasma gondii* infection in captive Neotropical and Old-World primates. *J Med Primatol.* 2020, 49(4):202–210. doi: 10.1111/jmp.12470.
38. Pena HF, et al. 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. *Vet Parasitol.* 2011, 175(3–4):377–381. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.10.015.
39. Salant H, Weingram T, Spira DT, Eizenberg T. An outbreak of toxoplasmosis amongst squirrel monkeys in an Israeli monkey colony. *Vet Parasitol.* 2009, 159(1):24–29. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.011.
40. Sanchez SG, Besteiro S. The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. *Virulence.* 2021, 12(1):3095–3114. doi: 10.1080/21505594.2021.2012346.

41. Santos SV, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in two southern woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides*) from the Rio de Janeiro primate center, Brazil. *J Med Primatol*. 2014, 43(2):125–129. doi: 10.1111/jmp.12093.
42. Schwab EK, et al. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. *Parasitology*. 2014, 141(4):453–461.
43. Silva RC, et al. Detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals in Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2014, 20(1):41. doi: 10.1186/1678-9199-20-41.
44. Souza W, Attias M. New views of the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole as revealed by helium ion microscopy (HIM). *J Struct Biol*. 2015, 191(1):76–85.
45. Tong WH, et al. Behavioral biology of *Toxoplasma gondii* infection. *Parasit Vectors*. 2021, 14(1):77. doi: 10.1186/s13071-020-04528-x.
46. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol*. 2009, 39(8):895–901. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.02.004.
47. Epiphanio S, et al. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. *J Zoo Wildl Med*. 2000, 31(2):231–235.
48. Dubey JP, et al. Epidemiologic significance of *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): the past decade. *Parasitology*. 2020, 147(12):1263–1289. doi: 10.1017/S0031182020001134.