

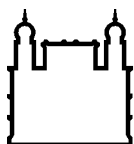
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Saúde

**DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE COCCÍDIOS
(APICOMPLEXA, EIMERIIDAE) EM *AKODON MONTENSIS*
(RODENTIA, SIGMODONTINAE) NO PARQUE NACIONAL DA SERRA
DOS ÓRGÃOS, RJ**

MARCOS TOBIAS DE SANTANA MIGLIONICO

Rio de Janeiro
Agosto de 2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

MARCOS TOBIAS DE SANTANA MIGLIONICO

**Descrição de novas espécies de coccídios (Apicomplexa, Eimeriidae) em
Akodon montensis (Rodentia, Sigmodontinae) no Parque Nacional da Serra
dos Órgãos, RJ**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Saúde

Orientador (es): Prof. Dr. Paulo Sérgio D'Andrea
Prof. Dr. Edwards Frazão-Teixeira

RIO DE JANEIRO

Agosto de 2018

MIGLIONICO, MARCOS TOBIAS DE SANTANA.

DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE COCCÍDIOS (APICOMPLEXA, EIMERIIDAE) EM AKODON MONTENSIS (RODENTIA, SIGMODONTINAE) NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS, RJ / MARCOS TOBIAS DE SANTANA MIGLIONICO. - Rio de Janeiro, 2018.

xiv, 62f. f.; il.

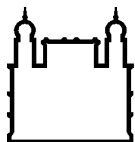
Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, 2018.

Orientador: PAULO SÉRGIO D'ANDREA .

Co-orientador: EDWARDS FRAZÃO-TEIXEIRA.

Bibliografia: f. 48-53

1. Akodon montensis. 2. Eimeriidae. 3. Cricetidae. 4. Ciclo de vida. 5. Floresta Atlântica. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

MARCOS TOBIAS DE SANTANA MIGLIONICO

**DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE COCCÍDIOS (APICOMPLEXA,
EIMERIIDAE) EM *AKODON MONTENSIS* (RODENTIA, SIGMODONTINAE) NO
PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS, RJ**

**ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Paulo Sérgio D'Andrea
Prof. Dr. Edwards Frazão-Teixeira**

Aprovada em: ____/____/____

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira – Presidente (IOC, Fiocruz)

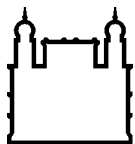
Prof. Dr. Bruno Pereira Berto (ICBS, UFRRJ)

Prof. Dr. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira (CCTA, UENF)

Profa. Dra. Laís de Carvalho (IB, UERJ)

Prof. Dr. Rubem Figueiredo Sadok Menna Barreto (IOC, Fiocruz)

Rio de Janeiro, 24 de agosto de 2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Anexar a cópia da Ata que será entregue pela SEAC já assinada.

Agradecimentos

Primeiramente aos meus orientadores, Dr. Paulo Sérgio D'Andrea e Dr. Edwards Frazão-Teixeira por terem confiado a mim essa missão.

À Dra. Helene Santos Barbosa pelo apoio precioso dos equipamentos utilizados nas análises.

À Dra. Ester Maria Mota e a equipe do laboratório de Patologia do IOC pelo empenho e dedicação.

À equipe que esteve envolvida nas coletas de campo no PARNASO. Uma boa análise começa por uma boa coleta.

Ao Dr. Sócrates Fraga da Costa Neto e ao Dr. Lúcio André Viana pela amizade e a confiança nesses anos de trabalho, e por terem aberto as portas do IOC.

Ao Dr. Arnaldo Maldonado Júnior pelo apoio que me foi dado nos momentos mais difíceis.

Ao amigo Venicio Féo pelos treinamentos na microscopia realizados ainda na graduação e que me ajudaram a seguir esse trabalho com maior qualidade.

Ao programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz (IOC).

Ao PPBio Rede Bioma por ceder as amostras que foram utilizadas nesse projeto de pesquisa.

À minha esposa e filhos por terem aturado a minha ausência por vários finais de semana....

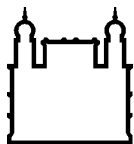
Por fim, agradeço ao apoio financeiro das seguintes entidades: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Programa de Apoio Estratégico à Pesquisa (PAPES VI-Fiocruz), CNPq e IOC.

No Meio do Caminho

No meio do caminho tinha uma pedra
tinha uma pedra no meio do caminho
tinha uma pedra
no meio do caminho tinha uma pedra.

Nunca me esquecerei desse acontecimento
na vida de minhas retinas tão fatigadas.
Nunca me esquecerei que no meio do caminho
tinha uma pedra
tinha uma pedra no meio do caminho
no meio do caminho tinha uma pedra.

(Carlos Drummond de Andrade)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

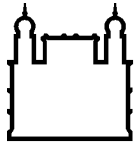
DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE COCCÍDIOS (APICOMPLEXA, EIMERIIDAE) EM *AKODON MONTENSIS* (RODENTIA, SIGMODONTINAE) NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS, RJ

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Marcos Tobias de Santana Miglionico

Coccídios pertencem ao infra-filo Apicomplexa e são protozoários intracelulares obrigatórios que parasitam animais domésticos e silvestres e também seres humanos, causando doença aparente ou assintomática. A principal característica dos coccídios é a formação do oocisto, produto do ciclo sexuado no hospedeiro definitivo, e que é liberado no ambiente com as suas fezes. Apenas três espécies de coccídios parasitam roedores da subfamília Sigmodontinae no Brasil representados por 109 espécies, sendo que 10 delas são do gênero *Akodon* com importância epidemiológica, atuando como reservatórios de agentes causadores de zoonoses. Existe uma lacuna sobre coccídios parasitas de roedores do gênero *Akodon* e o objetivo do presente trabalho foi investigar a diversidade e o parasitismo de coccídios de espécimes destes animais no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. Foram capturados 53 espécimes do roedor silvestre *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) e coletadas amostras de fezes do intestino grosso durante as necropsias. As amostras foram conservadas com 2,5% Dicromato de potássio e mantidas à temperatura ambiente sob oxigenação por cinco dias, para esporulação dos oocistos e processadas como de rotina para análises morfológica e morfométricas por microscopia óptica com contraste de interferência. Espécimes com positividade nas fezes para coccídios tiveram o intestino segmentado e processado para análise histopatológica visando identificar os estágios evolutivos. Foram identificados cinco morfotipos e descritas quatro novas espécies de *Eimeria* Schneider, 1875, a saber: *Eimeria montensis* n.sp, *Eimeria uricanensis* n.sp e *Eimeria parnasiensis* n.sp, sendo que o desenvolvimento endógeno no intestino delgado da nova espécie, *Eimeria akodonensis* n. sp. Miglionico et al 2017, foi descrito parcialmente, observando-se gametogonia no jejuno do hospedeiro. As prevalências dessas espécies foram de 5,7% (3/53), 3,8% (2/53), 1,9% (1/53) e 7,5% (4/53), respectivamente. Adicionalmente, a espécie *E. zygodontomyis*, foi descrita pela primeira vez em *A. montensis* com prevalência de 3,8% (2/53). Este trabalho contribuiu com a identificação de quatro novas espécies de coccídios e representa o primeiro relato de *Eimeria* em espécimes de *Akodon montensis* no Brasil.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

DESCRIPTION OF NEW SPECIES OF COCCIDIA (APICOMPLEXA, EIMERIIDAE) IN *AKODON MONTENSIS* (RODENTIA, SIGMODONTINAE) IN SERRA DOS ÓRGÃOS NATIONAL PARK, RJ

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN BIODIVERSITY AND HEALTH

Marcos Tobias de Santana Miglionico

Coccidia belong to the infra-phylum Apicomplexa and are obligate intracellular protozoa that parasitize domestic and wild animals as well as humans, causing apparent or asymptomatic disease. The main characteristic of coccidia is the formation of the oocyst, a product of the sexed cycle in the definitive host, which is released into the environment with its feces. Only three species of coccidia parasite rodents of the subfamily Sigmodontinae in Brazil represented by 109 species, 10 of which are of the genus *Akodon* with epidemiological importance, acting as reservoir of agents causing zoonosis. There is a gap on information of *Coccidia* parasites of rodents of the genus *Akodon* and the objective of the present work was to investigate the diversity and parasitism of *Coccidia* in specimens of these animals in Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro. 53 Specimens of the wild rodent *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) were captured and stool samples collected from the large intestines during necropsies. The samples were treated with 2.5% potassium dichromate and kept at room temperature under oxygenation during five days for sporulation of the oocysts and processed as routine for morphological and morphometric analysis by Interference Contrast Microscopy. Specimens with positivity for *Coccidia* in the feces had the intestines segmented and processed for histopathological analysis aiming to identify the developmental stages. Five morphotypes were identified and four new species of *Eimeria* Schneider, 1875 described, namely: *E. montensis* n. sp., *E. uricanensis* n. sp., *E. parnasiensis* n. sp., and endogenous development in the small intestine of the new species *E. akodonensis* n. sp. was partially described, with observation of gametogony in the host's duodenum. The prevalence of these species were 5.7% (3/53), 3.8% (2/53), 1.9% (1/53) and 7.5% (4/53), respectively. Additionally, species *E. zygodontomyis* was first described in *A. montensis* with prevalence of 3.8% (2/53). This work contributed to the identification of four new species of *Coccidia* and represents the first account of *Eimeria* in specimens of *Akodon montensis* in Brazil.

ÍNDICE

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Taxonomia e ciclo biológico de <i>Eimeria</i> spp.....	1
1.2 Coccídios em mamíferos silvestres no Brasil	6
1.3 Roedores do gênero <i>Akodon</i>	8
1.4 <i>Akodon montensis</i>	10
1.5 O Bioma Mata Atlântica.....	10
1.6 Critérios para a descrição de novas espécies de <i>Eimeria</i>	12
1.7 justificativa.....	15
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 CAPÍTULOS/RESULTADOS.....	17
3.1 ARTIGO I	
A new species of <i>Eimeria</i> Schneider, 1875 from the Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro, Brazil, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, <i>Akodon montensis</i> Thomas, 1913 (Rodentia: Sigmodontinae).....	18
3.2 ARTIGO II	
Three new species of <i>Eimeria</i> Schneider 1875 in the Montane Grass Mouse, <i>Akodon montensis</i> (Rodentia: Sigmodontinae), and new record of <i>Eimeria zygodontomyis</i> Lainson and Shaw 1990 from southeastern Brazil.....	25
4. CONCLUSÕES	46
5 PERSPECTIVAS.....	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

7. ANEXO I	54
8. ANEXO II	55
9. ANEXO III.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

- 1** . Complexo apical de um protozoário Apicomplexa. 1. anéis polares; 2. conóide; 3. fibras do conóide; 4. membrana externa; 5. complexo membranar interno; 6. microtúbulos subpeliculares; 7, rópria. Adaptado de De Souza (1974)..... 1
- 2** . Ciclo biológico de *Eimeria* sp. 1, Esporozoíto; 2, Trofozoíto em células epiteliais do intestino; 3, Esquizonte ou meronte; 4, Merozoíto; 5, Merozoíto livre; 6, Macrogametócito; 7, Macrogameta; 8, Microgametócito; 9, Microgametas; 10, Zigoto; 11, Oocisto maduro; 12, Oocisto liberado no lúmen do intestino junto com as fezes; 13, Oocisto com esporoblasto em divisão, formando esporocistos; 14, Oocisto esporulado com 4 esporocistos contendo 2 esporozoítas cada. Adaptado de Lucius e Loos-Frank (1997).....3
- 3** . Ciclo biológico de *Caryospora* spp. Linhas sólidas representam sequências de desenvolvimento conhecidas para um ou mais espies de *Caryospora* como relatado por Cawthorn & Stockdale (1982), Wacha e Christiansen (1982) e ou Upton et al.(1984). Linhas grossas representam sequências principais prováveis do ciclo de vida: linhas mais finas sequências menos comuns. Linhas quebradas representam partes do ciclo de vida que foram sugeridas (Upton et al., 1984). Desenho adaptado de Upton et al. (1986).....5
- 4** . Distribuição das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) no Brasil (Bonvicino et al ., 2008).....9
- 5** .Espécime de *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) proveniente do Parque Nacional da Serra dos Órgãos.Foto: C. R. Bonvicino; J. A. de Oliveira e P. S. D'Andrea (2008)..... 10
- 6** . Estruturas de oocistos esporulados de Eimeriidae a serem observadas para descrição de novas espécies. A. Oocisto esporulado de *Eimeria* e estruturas essenciais: ow, largura do oocisto; ol, comprimento do oocisto; pg, grânulo polar; or, resíduo do oocisto; row, parede exterior áspera. B. Topo de um oocisto com micrófila, tampa de micrófila e parede lisa de camada simples; sow, parede externa lisa; mw, largura da microfila; mcw, largura da tampa de microfila; mcd, profundidade

(= altura) da tampa do micrófilo. C. Esporocisto esporulado de um oocisto de *Eimeria* sp.: sw, largura do esporocisto; sl, comprimento do esporocisto; sb, corpo de Stieda; ssb, corpo substieda; psb, corpo parastieda; sr, resíduo de esporocisto; sp, esporozoíta; srb, corpos de refração; D. Composição do esporocisto esporulado: fil, filamentos emitidos da área do corpo de Stieda; spop, sporopodia; mem, membrana; n, núcleo (às vezes visível); str, estrias; embora alguns esporozoítos tenham apenas 1 corpo refrátil (Fig. C), outros têm corpos refráteis anteriores (a) e posteriores (p), como mostrado aqui..... 13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 <i>Eimeria</i> spp (Apicomplexa, Eimeriidae) e seus respectivos hospedeiros roedores descritos no Brasil.....	7
--	---

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ow	diâmetro menor
OI	diâmetro maior
Pg	grânulo polar
Ro	resíduo do oocisto
Row	parede exterior áspera
Sow	parede exterior lisa
Mw	largura da microfila
Mcw	largura da tampa da micrófila
Mcd	profundidade da tampa do microfilo
Sw	largura do esporocisto
Sl	comprimento do esporocisto
Sb	corpo stieda
Ssb	corpo de substieda
Psb	corpo de parastieda
Sr	resíduo do esporocisto
Sp	esporozoíta
Srb	corpos de refração
Fil	filamentos
Spop	esporopodia
Mem	cobertura membranosa
N	núcleo
Str	estrias anteriores
Parnaso	Parque Nacional da Serra dos Órgãos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Taxonomia e ciclo biológico de *Eimeria* spp.

Coccídios formam um grupo diverso de protozoários parasitas intracelulares obrigatórios. Pertencem ao filo Apicomplexa, com mais de 5000 espécies, cuja principal característica é a presença da estrutura conhecida como complexo apical, localizada na região anterior do corpo do parasito, responsável pela sua adesão e invasão à célula hospedeira. Na figura 1 observa-se um esquema da ultraestrutura de um típico complexo apical, onde se identificam os anéis polares, o conóide, microtúbulos subpeliculares e róptrias. Dependendo do gênero do parasito e do hospedeiro, a célula infectada pode ser sanguínea, entérica ou da vesícula biliar. A característica principal dos coccídios é a formação do oocisto, que é produto do seu ciclo sexuado no (Roberts e Janovy 2009).

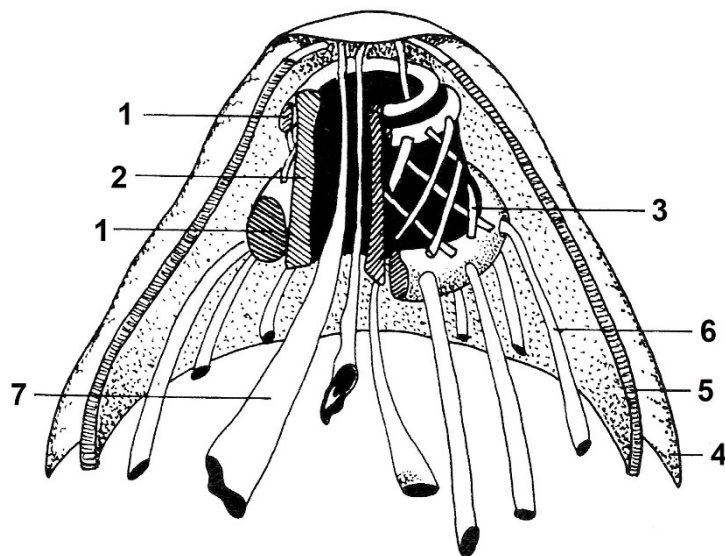


Figura 1. Complexo apical de um protozoário Apicomplexa. 1. anéis polares; 2. Conóide; 3. Fibras do conóide; 4. Membrana externa; 5. Complexo membranar interno; 6. Microtúbulos subpeliculares; 7, róptria. Adaptado de De Souza (1974)

A família Eimeriidae é constituída por quatro gêneros: *Eimeria*; *Isospora*; *Cyclospora* e *Caryospora*, que possui a seguinte classificação taxonômica segundo Ruggiero e colaboradores (2015).

Reino: Chromista Caval.-Sm.(1981)
Filo: Miozoa Cavalier-Smith, 1987
Infra-filo: Apicomplexa Levine, 1970
Classe: Coccidiomorpha Doflein, 1901
Sub-classe: Coccidia Leuckart, 1879
Ordem: Eimeriida Léger, 1911
Família: Eimeriidae Minchin, 1903
Gênero: Eimeria Schneider, 1875

Os coccídios destes gêneros são parasitos de todos os grupos de vertebrados: mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Eles podem infectar diversas células de sítios específicos como: intestino, vesícula biliar, sangue e fígado, e possuem na sua maioria ciclo biológico do tipo monoxênico, em que todas as fases do desenvolvimento parasitário ocorrem no mesmo hospedeiro (Roberts e Janovy, 2009). A maioria das espécies do gênero *Eimeria* apresentam ciclos de vida similares, com fases parasitárias e ambientais (oocistos), geralmente hospedeiro-específicas e se desenvolvem nas células da mucosa intestinal (Dauguschies e Najdrowski, 2005) (Figura 2).

O hospedeiro ingere oocistos infectantes do ambiente contaminado cuja parede é digerida por proteases, como a tripsina, e sais biliares no trato gastrintestinal, liberando os esporozoítos. Estes penetram nas células do epitélio intestinal e da lâmina própria, geralmente na região do intestino delgado, liberando proteínas produzidas em sua região anterior (micronemas e róptrias), responsáveis pelo seu reconhecimento, penetração e formação do vacúolo parasitóforo (Heise et al., 1990a; 1990b).

No vacúolo parasitóforo, os esporozoítos se diferenciam em formas arredondadas chamadas trofozoítos e posteriormente em merontes (ou esquizontes). Os merontes de primeira geração são grandes estruturas globulares, alcançando mais de 200 μ M de diâmetro em algumas espécies, onde são formados cerca de 100.000 merozoítos por divisão assexuada (Dauguschies e Najdrowski 2005). As células parasitadas se rompem e merozoítos móveis delgados são liberados na luz intestinal

e invadem células vizinhas da mucosa, onde iniciam o desenvolvimento de uma segunda geração de merontes. Em geral ocorrem três ciclos merogônicos e grande parte dos merozoítos oriundos de merontes de segunda e todos de terceira geração infectam novos enterócitos e iniciam a fase chamada gametogonia. Nesta última, os merozoítos se diferenciam em microgametócitos, que produzem uma grande quantidade de microgametas (gametas masculinos), e outros se tornam macrogametócitos e então macrogametas (gametas femininos).

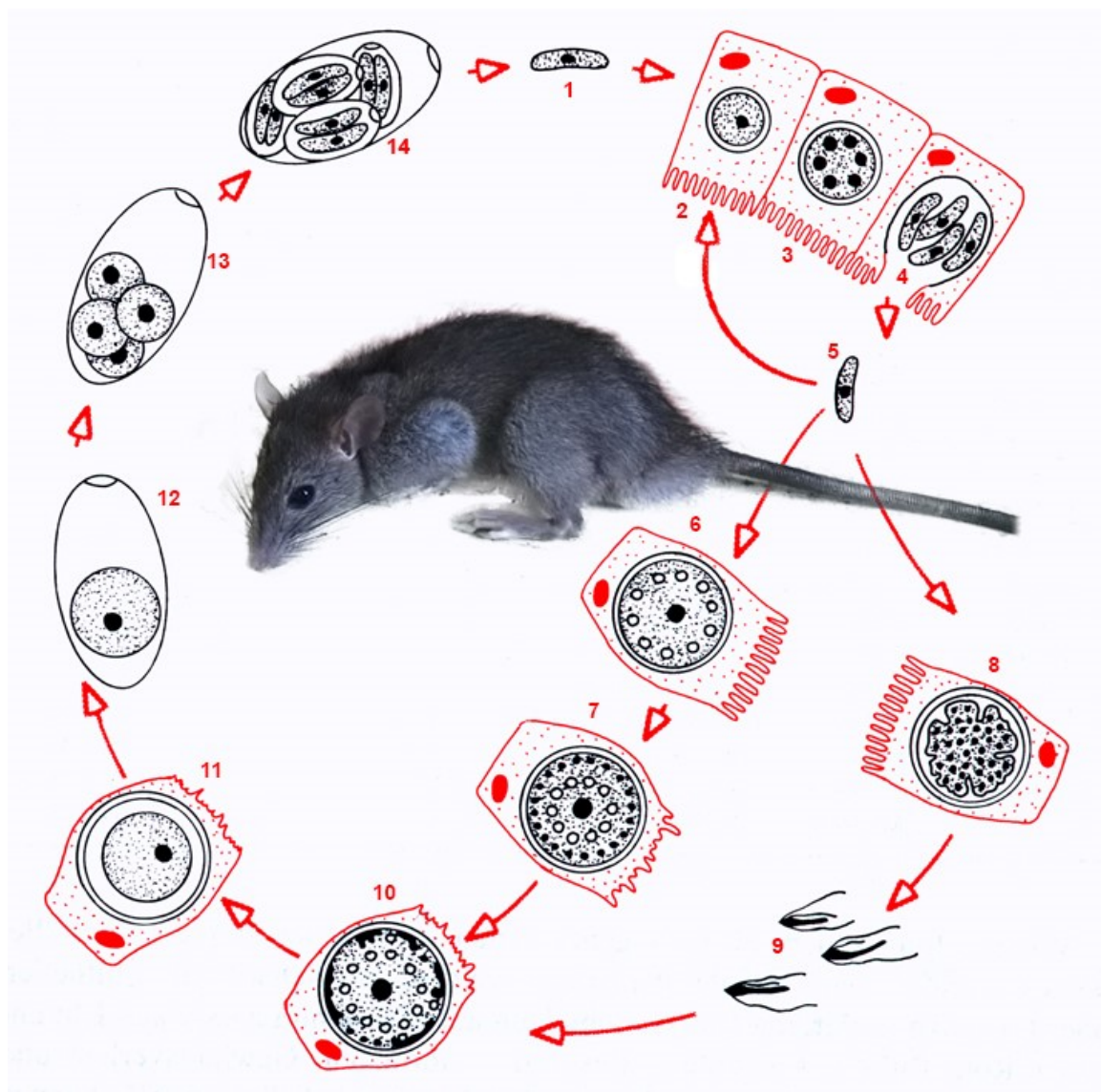


Figura 2. Ciclo biológico de *Eimeria* sp. 1, Esporozoíto; 2, Trofozoíto em células epiteliais do intestino; 3, Esquizonte ou meronte; 4, Merozoítos; 5, Merozoíto livre; 6, Macrogametócito; 7, Macrogameta; 8, Microgametócito; 9, Microgametas; 10, Zigoto; 11, Oocisto maduro; 12, Oocisto liberado no lúmen do intestino junto com as fezes; 13, Oocisto com esporoblasto em divisão, formando esporocistos; 14, Oocisto esporulado com 4 esporocistos contendo 2 esporozoítas cada. Adaptado de Lucius e Loos-Frank (1997).

Os macrogametas são fertilizados pelos microgametas, dando origem aos zigotos e a formação da parede cística, a partir dos corpúsculos formadores de parede presentes nos macrogametas. Os oocistos, ainda não esporulados, alcançam a luz intestinal e são eliminados junto com as fezes do hospedeiro. No meio ambiente o oocisto contendo um esporonte passa por uma divisão nuclear meiótica que origina esporoblastos e em seguida por uma divisão mitótica para a formação de quatro esporocistos, cada um contendo dois esporozoítos (Roberts e Janovy, 2009; Bürger et al., 1983; Svensson, 1994). Dependendo da umidade, temperatura e outros fatores ambientais, os oocistos podem se tornar infectivos em até uma semana dependendo da espécie, e manterem-se viáveis por meses (Kheysin, 1972). A quantidade de oocistos liberados é auto limitante, influenciada pelo chamado “crowding phenomenon”, comum entre os coccídios e possivelmente causado pelo aumento da competição pelas células hospedeiras (Daugshies et al., 2002). A multiplicação considerável do parasito e subseqüentes invasão e destruição de células hospedeiras podem explicar porque a doença clínica é principalmente atribuída à fase de gametogonia (Bürger et al., 1983 ; Svensson, 1994).

O segundo tipo de ciclo de coccídios conhecido é o heteroxênico, que pode apresentar ciclos de vida complexos podendo envolver diferentes hospedeiros finais de várias espécies como répteis, aves e serpentes. Os hospedeiros intermediários são espécies herbívoras ou onívoras e a transmissão ocorre por predação (Upton et al., 1986), tal como ocorre no gênero *Caryospora* Léger, 1904 (Figura 3).

Algumas espécies de coccídios merecem atenção por apresentarem um potencial zoonótico, com impacto direto na saúde pública. Os oocistos liberados com as fezes dos hospedeiros que vivem em habitats antroponóticos podem contaminar o ambiente, incluindo sistemas de abastecimento humano de água, e causar surtos epidêmicos de grande magnitude (Meireles et al., 2007; Silverlås et al., 2012). No tocante à indústria pecuária, é fundamental manter meios de controle da sanidade animal para atender às exigências dos mercados interno e externo. As coccidioses causam grandes prejuízos em vários tipos de criações. Apenas na avicultura o prejuízo mundial estimado é da ordem de US\$1,5 bilhão a cada ano (Ferreira, 2017). Animais domésticos acometidos por coccidioses podem morrer se não forem tratados adequadamente (O'Donoghue, 1995).

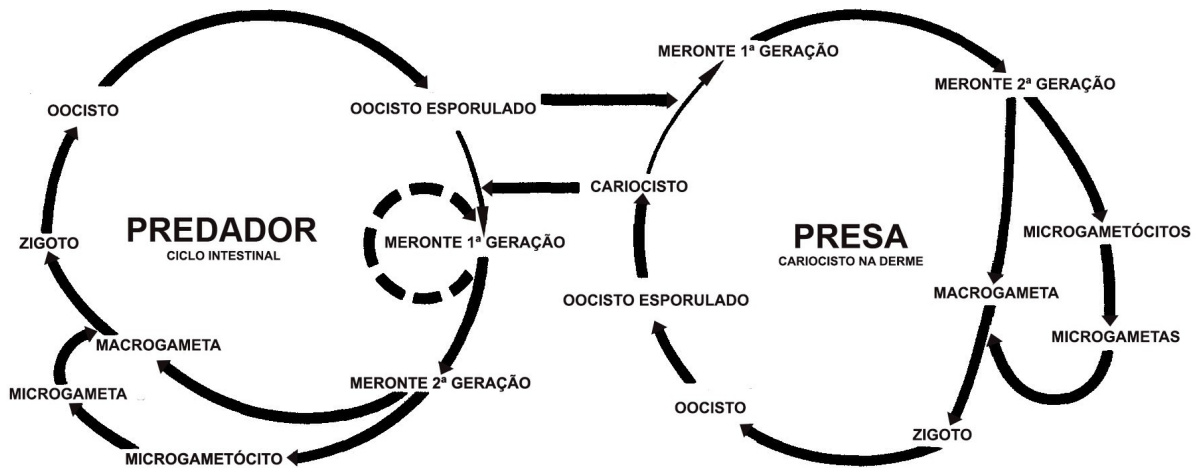


Figura 3. Ciclo biológico de *Caryospora* spp. Linhas sólidas representam sequências de desenvolvimento conhecidas para um ou mais espécies de *Caryospora* como relatado por Cawthorn e Stockdale (1982), Wacha e Christiansen (1982) e ou Upton et al.(1984). Linhas grossas representam sequências principais prováveis do ciclo de vida: linhas mais finas sequências menos comuns. Linhas quebradas representam partes do ciclo de vida que foram sugeridas (Upton et al., 1984). Desenho adaptado de Upton et al. (1986)

1.2 Coccídios em mamíferos silvestres no Brasil

Os primeiros achados de infecção por *Eimeria* spp. em mamíferos silvestres datam da década de 1920 quando Da Cunha e Torres (1923), examinando a parede do intestino delgado de um tatu, *Dasyurus novemcinctus* Linnaeus, 1758, encontraram estruturas semelhantes a pequenas bolhas. Após a observação de cortes histológicos destas estruturas ao microscópio descobriu-se se tratar de duas formas evolutivas de um parasito, que hoje é reconhecida como um espécime de *Eimeria*. Da mesma forma, Cunha e Muniz (1928) descreveram formas evolutivas de um protozoário em cortes histológicos do intestino delgado de duas espécies de tatu, o *Dasyurus novemcinctus* Linnaeus, 1758 e o *Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758 caracterizando-as como microgametócitos e macrogametócitos. Entretanto, apesar de não terem encontrado nenhum oocisto nas fezes examinadas, propuseram a nova espécie *Eimeria travassosi* da Cunha e Muniz, 1928 *nomen nudum*, com base em características taxonômicas e em seu ciclo evolutivo.

Trabalhos também pioneiros conduzidos por Carini (1932, 1935, 1937, 1937) na década de 1930 revelaram uma grande diversidade de mamíferos silvestres no Brasil como sendo hospedeiros de coccídios, tais como: esquilo *Guerlinguetus ingrani* Thomas, 1901, cutia *Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1766, capivara *Hydrochoeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766, quati *Nasua narica* Linnaeus, 1766, irara *Eira barbara* Linnaeus, 1758, cuíca *Caluromys philander* Linnaeus, 1758 e gambá *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826. Outros coccídios, como a *Eimeria trichechi*, também foram descritos em mamíferos aquáticos, no peixe-boi *Trichechus* sp por Lainson e colaboradores no estado do Pará (1983) , e em Chiropteros, a *Eimeria molossi* e *Eimeria bragancaensis* (Lainson e Naiff 1998; 2000). Até o momento, foram descritas 20 espécies de *Eimeria* em roedores (Tabela 1).

Tabela 1 *Eimeria* spp (Apicomplexa, Eimeriidae) e seus respectivos hospedeiros roedores descritos no Brasil.

Espécie	Morfometria	Morfologia	Hospedeiro	Estado	Bioma	Referência
<i>E. carini</i>	(22.1-23.8×22-23)	Esférico/Subsférico	<i>R. norvegicus</i>	SP	Mata Atlântica	Pinto (1928, 1937)
<i>E. oryzomysi</i>	(22-25×17-19)	Elipsoidal/Subsférico	<i>Euryoryzomys</i> sp	SP	Mata Atlântica	Carini (1937)
<i>E. zygodontomyis</i>	16.5 × 12 (13.7-18.7×11.2- 12.5)	Elipsoidal/Cilíndrico	<i>N. lasiurus</i>	PA	Amazônia	Lainson e Shaw (1990)
<i>E. botelhoi</i>	36×28	Oval	<i>G. ingrami</i>	SP	Mata Atlântica	Carini (1932)
<i>E. damnosa</i>	30.2 × 20.0 (18.0 -15.0×40.2- 30.0)	Oval/elipsoidal	<i>S. spadiceus</i>	AC	Amazônia	Lainson et al. (2005)
<i>E. paraensis</i>	(33-40×30-35)	Esférico/subsférico	<i>D. aguti</i>	PA	Amazônia	Carini (1935)
<i>E. cotiae</i>	(29×18)	Oval	<i>D. leporina</i>			
<i>E. aguti</i>	(16×17)	Esférico/subsférico				
<i>E. capibarae</i>	30×26 (25-33×20- 28)	Elipsoidal	<i>H. hydrochaeris</i>	SP	Mata Atlântica	Carini (1937)
<i>E. hidrochoeri</i>	(20-22×16-18)	Elipsoidal				
<i>E. nhecolandensis</i>	27.9×22.7	Oval	<i>T. fosteri</i>	MS	Pantanal	Barreto et al (2017)
<i>E. jansena</i>	31.4×22.6	Elipsoidal				
<i>E. fosteri</i>	25.1×20.1	Oval				
<i>E. nhecolandensis</i>	27.3×21.8	Oval	<i>C. laticeps</i>	MS	Pantanal	Barreto et al (2017)
<i>E. corumbaensis</i>	28.9×20.2	Elipsoidal				
<i>E. laticeps</i>	23.8×21.6	Esférico/subsférico				
<i>E. akodonensis</i>	25.3 × 20.2	Elipsoidal/subsférico	<i>A. montensis</i>	RJ	Mata Atlântica	Miglionico et al. (2017)*
<i>E. montensis</i> n.sp	16.3 × 12.5	Esférico/subsférico				Miglionico et al. (Submetido)*
<i>E. uricanensis</i> n.sp	26.6 × 18.6	Oval/piriforme				
<i>E. pamasiensis</i> n.sp	28.2 × 21.9	Subsférico/elipsoidal				

- *Resultados obtidos nessa pesquisa

1.3 Roedores do gênero *Akodon*

Os roedores do gênero *Akodon* Meyen, 1833 (Rodentia, Sigmodontinae) compreendem 44 espécies distribuídas em toda América do Sul (Musser e Carleton, 2005). No Brasil, foram descritas 10 espécies que ocupam formações florestais, áreas abertas, campos de altitude (Mata Atlântica), campos sulinos, caatinga e cerrado. Estas áreas estão distribuídas desde o estado da Paraíba até o Rio Grande do Sul (Figura 4).

Algumas espécies deste gênero de roedores apresentam importância médica por participarem de ciclos parasitários, sendo hospedeiros de hantavírus, *Schistosoma mansoni* e *Trypanosoma cruzi* (Miglioni et al., 2017; Teixeira et al., 2014; Souza et al., 2009).

Distribuição do gênero *Akodon* no Brasil:

A. azarae: centro leste do estado do Rio Grande do Sul;

A. cursor: região costeira, do estado da Paraíba ao Paraná, e no leste do estado de Minas Gerais;

A. lindberghi: Distrito Federal e estado de Minas Gerais;

A. montensis: do estado do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul e no leste do estado de Minas Gerais;

A. mystax: endêmico do Maciço do Caparaó, em áreas de altitudes elevadas nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (Hershkovitz, 1998; Gonçalves et al., 2007);

A. paranaensis: do estado do Rio de Janeiro ao norte do Rio Grande do Sul;

A. reigi: sudeste do estado do Rio Grande do Sul (González et al., 1998);

A. sanctipaulensis: nordeste do estado de São Paulo (Hershkovitz, 1990);

A. serrensis: do estado do Espírito Santo ao norte do Rio Grande do Sul;

A. toba: sudoeste do estado do Mato Grosso do Sul (Carmignotto, 2004) .

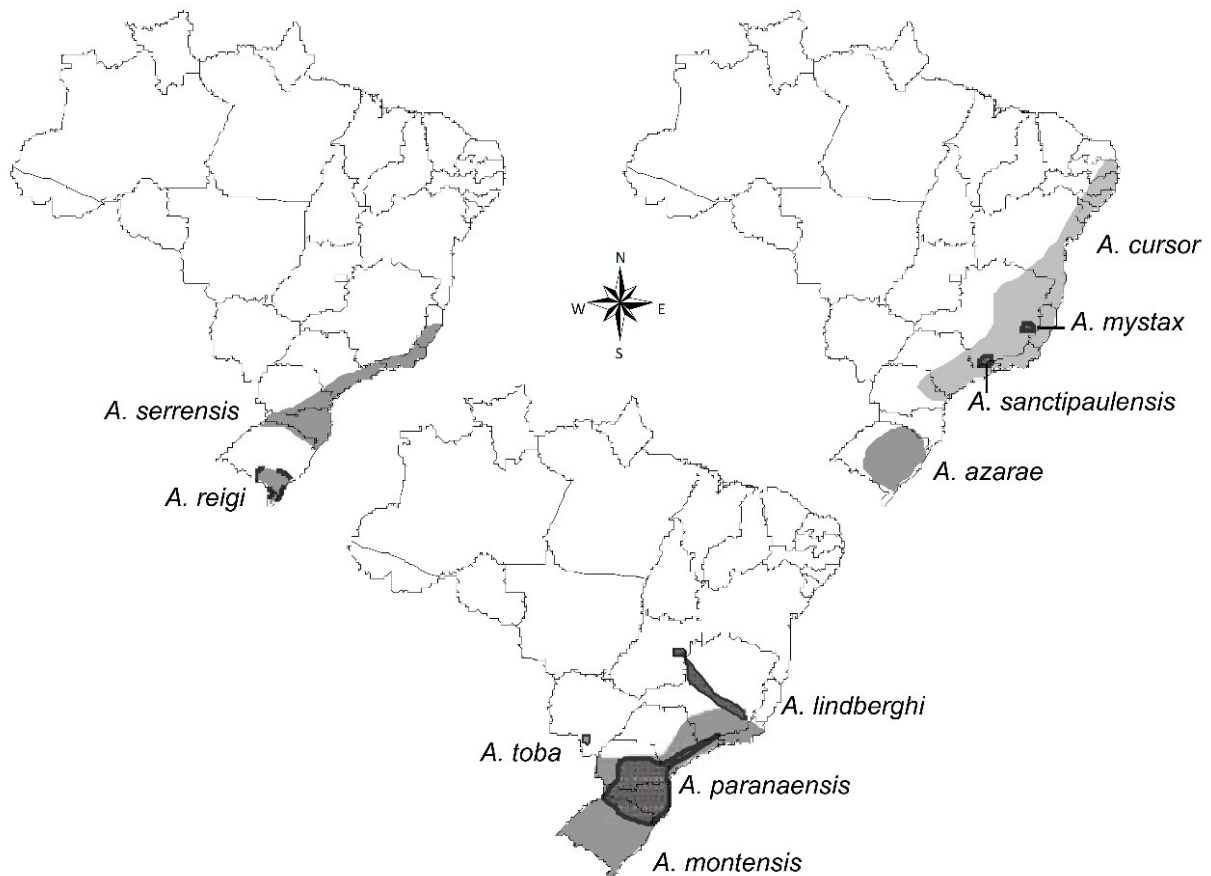


Figura 4. Distribuição das espécies do gênero *Akodon* (Rodentia, Sigmodontinae) no Brasil (Bonvicino et al., 2008)

1.4 *Akodon montensis*

A espécie *A. montensis* (Figura 5) está distribuída na porção nordeste da Argentina, ao longo da costa brasileira, na região Sudeste, e em todo leste do Paraguai (Pardinas et al., 2008). No habitat é encontrado em altitudes iniciais de 800 m, sendo comum encontrá-lo em elevações de 900 m ou mais, em matas de galeria, semidecíduais, ribeirinhas, áreas abertas e pastagens, preferindo áreas cobertas por serapilheira, onde constroem túneis (Pardinas et al., 2008; Jordão et al., 2010; Gonçalves et al., 2007). É um animal onívoro e sua dieta é composta por insetos, artrópodes, raízes, tubérculos, sementes, grãos e fungos (Talamoni et al., 2008; Vieira et al., 2006).



Figura 5. Espécime de *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) proveniente do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. Foto: C. R. Bonvicino; J. A. de Oliveira e P. S. D'Andrea (2008)

Esse roedor possui comprimento entre 90 a 136 mm, com peso entre 19 a 57 g e média de 42 g. Os machos são ligeiramente maiores que as fêmeas, possuem uma pelagem dorsal castanha avermelhada tornando-se mais clara nas laterais (Talamoni et al., 2008; Redford e Eisenberg, 1989; Gentile et al., 2000). A reprodução ocorre o ano todo e está relacionada com a disponibilidade de recursos, mas a atividade reprodutiva diminui nos meses mais frios (Gentile et al., 2000, Bergallo e Magnusson, 1999). A gestação dura 23 dias gerando uma prole com, em média, 3-5 filhotes, mas que pode chegar a 10 e ter duas ninhadas por ano (Gentile et al., 2000; Bergallo e Magnusson, 1999; Eisenberg e Redford, 1999).

1.5 O Bioma Mata Atlântica

A Mata Atlântica é considerada um dos biomas com maior biodiversidade e grau de endemismo, sendo também um dos mais ameaçados (Myers et al., 2000). Atualmente, existem apenas 8,5% de remanescentes florestais acima de 100 hectares, que se somados aos fragmentos com mais de três hectares representam cerca de 12,5% da formação original de Mata Atlântica, em diversos estágios de regeneração (Fundação SOS Mata Atlântica 2013). Este bioma é formado por um conjunto de fitofisionomias como: Floresta Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta. A Mata Atlântica também está associada com alguns ecossistemas, como as restingas, manguezais e campos de altitude, que no passado ocupavam cerca de 130.000.000 hectares em 17 estados do Brasil (ICMBio, 2018).

Atualmente, o que se conhece da diversidade da fauna da Mata Atlântica, feita por meio de levantamentos, indica que abriga 849 espécies de aves, 370 espécies de anfíbios, 200 espécies de répteis, 261 de mamíferos e 350 espécies de peixes (ICMBio, 2018). Sua conservação deve ser prioridade, tendo em vista o grande número de espécies endêmicas, grande diversidade de vertebrados e muitas espécies ameaçadas de extinção (Myers et al., 2000; Rocha, 2000). Além disto, é considerado um *hotspot* de espécies, sofrendo com o alto grau de pressão antrópica (Myers et al., 2000).

No estado do Rio de Janeiro, os maiores remanescentes de Mata Atlântica estão localizados nas regiões da Costa Verde, pertencentes a Serra da Bocaina, e nas regiões serranas, como a Serra da Mantiqueira e a Serra dos Órgãos (Bergallo et al., 2009).

No Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ (Parnaso), a Mata Atlântica varia sua fisionomia vegetal de acordo com a altitude, que vai de 50 m a 2.000 m, sendo composta pela floresta pluvial baixo Montana e Montana até 1.500 m, pela floresta alto Montana até 2.000 m, e pelos campos de altitude acima de 2.000 m. Já foram registradas cerca de 750 espécies de vertebrados, sendo 105 de mamíferos, dos quais 24 roedores; algumas dessas espécies foram somente identificadas a nível de gênero (ICMBio, 2018).

1.6 Critérios para descrição de novas espécies de *Eimeria*

De acordo com a revisão realizada por Berto e colaboradores (2014) a caracterização morfológica dos oocistos é usada para o diagnóstico, descrição de espécies e estudos de sistemática. Além disso, outras abordagens têm sido complementares para identificação, incluindo as análises de sequências nucleotídicas. Para o gênero *Eimeria*, seus oocistos, que contêm quatro esporocistos com dois esporozoítos cada, apresentam um complexo formado por corpo de Stieda e de substieda. É importante salientar a alta espécie-especificidade das Eimerias.

Para uma correta identificação taxonômica foi proposto por Lom e Arthur (1989) alguns passos importantes que devem ser seguidos para se propor uma nova espécie, e que foram adaptados por Duszynski e Wilber (1997) para o estudo de coccídios da família Eimeriidae. Atualmente, novas ferramentas existentes podem ampliar esses estudos taxonômicos, como foi abordado por Berto e colaboradores (2014) e Slapeta (2013).

Em relação ao hospedeiro: este deve ser corretamente identificado, sua localização e respectiva prevalência do parasito registrados e o espécime preferencialmente depositado em uma coleção de museu credenciada (Frey et al., 1992). É recomendado, ainda, que se registre também quaisquer outros dados ecológicos ou genéticos relevantes.

Em relação aos oocistos: devem ser fornecidas medidas médias do comprimento e largura do oocisto e esporocistos, além da razão comprimento / largura de uma amostra de 30-50 oocistos esporulados (Figuras 6 A e C). Deve-se observar as características da parede oocística externa e quaisquer camadas internas como textura (áspera ou lisa) (Figura 6 A e B), presença de espinhos, número relativo de camadas e suas respectivas espessuras aproximadas. Além da presença ou ausência das seguintes estruturas dentro e sobre o oocisto, fornecendo medidas, localização e descrição: micrófila, medida de sua largura (Figura 6 B), capuz da micrófila, sua largura e profundidade (Figura 6 B), resíduo, seu diâmetro e descrição (Figura 6 A), grânulo(s) polar(es), seu(s) diâmetro(s) e sua forma (Figura 6 A), verificando sua possível junção à superfície interna da parede (Duszynski e Wilber, 1997).

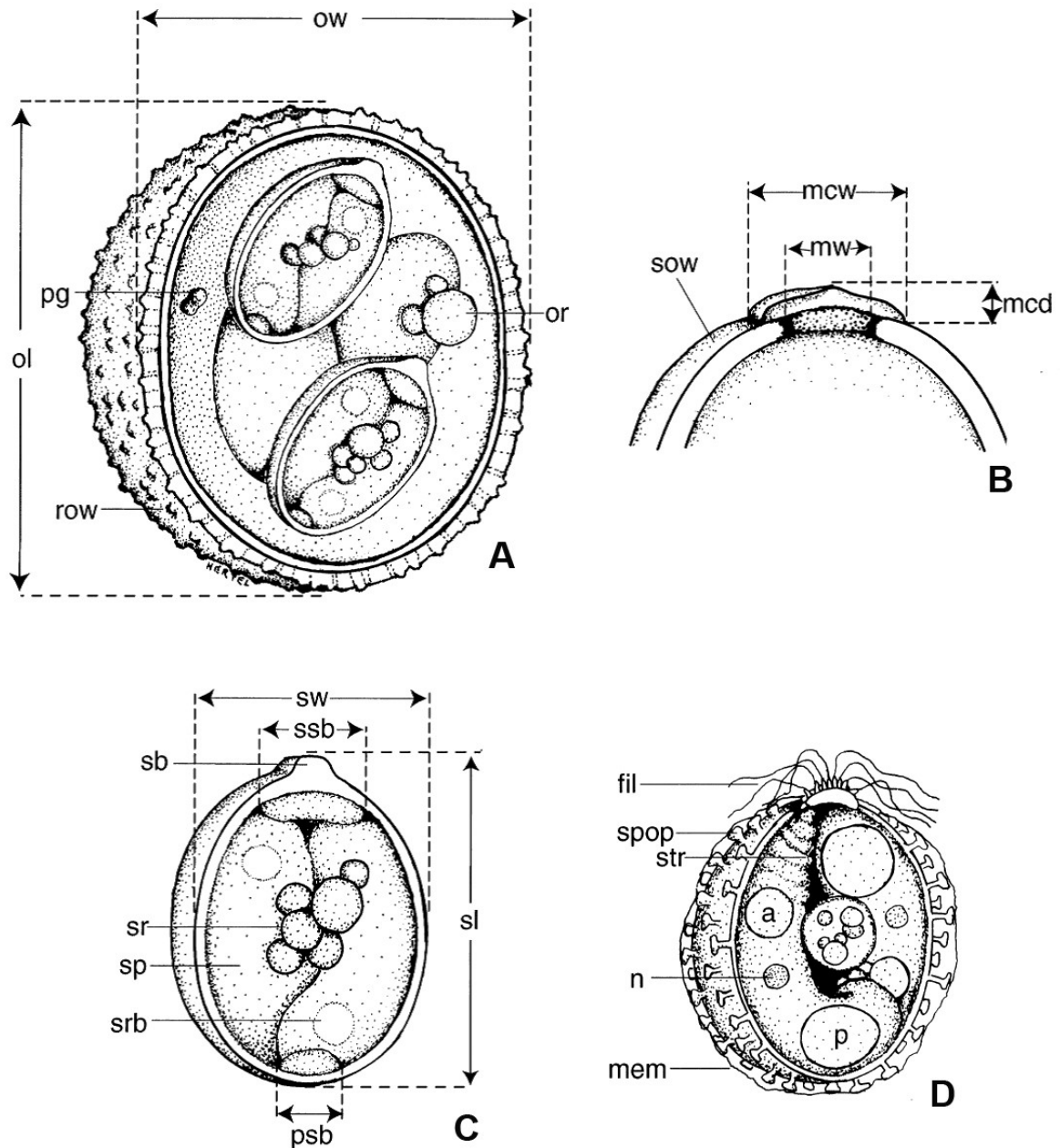


Figura 6. Estruturas de oocistos esporulados de Eimeriidae a serem observadas para descrição de novas espécies. A. Oocisto esporulado de *Eimeria* e estruturas essenciais: ow, largura do oocisto; ol, comprimento do oocisto; pg, grânulo polar; or, resíduo do oocisto; row, parede exterior áspera. B. Topo de um oocisto com micrófila, tampa de micrófila e parede lisa de camada simples; sow, parede externa lisa; mw, largura da micrófila; mcw, largura da tampa de micrófila; mcd, profundidade (= altura) da tampa do micrófilo. C. Esporocisto esporulado de um oocisto de *Eimeria* sp.: sw, largura do esporocisto; sl, comprimento do esporocisto; sb, corpo de Stieda; ssb, corpo substieda; psb, corpo parastieda; sr, resíduo de esporocisto; sp, esporozoíta; srb, corpos de refração; D. Composição do esporocisto esporulado: fil, filamentos emitidos da área do corpo de Stieda; spop, sporopodia; mem, membrana; n, núcleo (às vezes visível); str, estrias; embora alguns esporozoítos tenham apenas 1 corpo refrátil (Fig. C), outros têm corpos refráteis anteriores (a) e posteriores (p), como mostrado aqui. Adaptado de Duszynski e Wilber (1997).

Em relação aos esporocistos: deve-se observar características superficiais, como esporopodias (Figura 6 D), membranas aderentes (Figura 6 D), crostas (Box et al., 1980) ou suturas (Molnár, 1996); resíduo, seu diâmetro e descrição; corpo de Stieda (Figura 6 C) e filamentos associados (Figura D), corpo de substieda (Figura 6 C) e / ou parastieda (Figura 6 C).

Em relação aos esporozoítos: observar a presença das seguintes estruturas dentro e sobre o esporozoíta: corpo refrátil, (Figura 6 C) e sua quantidade, diâmetro e forma, núcleo (Figura 6 D) e estrias anteriores (Figura 6 C).

Deve-se depositar pelo menos um fotótipo (Bandoni e Duszynski, 1988) de um oocisto esporulado em coleção reconhecida, como a do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde que pertence a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (<http://r1.ufrj.br/labicoc/index.html>) e dependendo da revista deve-se também enviar para um museu, fornecer a composição de um desenho com as novas espécies descritas e todas as características estruturais que as caracterizam como novas espécies. O manuscrito publicado deve incluir pelo menos uma fotomicrografia do oocisto esporulado, seu número de catálogo, além do desenho científico.

As novas espécies devem ser comparadas em detalhes com as espécies mais estruturalmente semelhantes a elas e que parasitam hospedeiros do mesmo gênero. Caso a amostra utilizada na descrição seja "pura" – com apenas uma espécie e morfotipo - alguns oocistos devem ser preservados em etanol a 70% e arquivados em um museu credenciado para futura amplificação e sequenciamento do DNA do parasito (Relman et al., 1996). Deve-se ainda indicar se algum órgão foi examinado em busca de estágios endógenos da nova espécie.

1.7 Justificativa

Os coccídios são parasitos encontrados em vários grupos de vertebrados e causam doença aparente ou assintomática em animais domésticos e silvestres, mas também em seres humanos. Em geral são espécie-específicos, mas há registros de infecção interespecífica.

Os roedores são o grupo mais diversos de mamíferos do Brasil, com 235 espécies descritas. No entanto, apenas três espécies de coccídios são conhecidamente parasitas de roedores da subfamília Sigmodontinae no Brasil. O gênero *Akodon* tem 44 espécies distribuídas em toda a América do Sul, das quais 10 espécies são encontradas no Brasil. As espécies deste gênero estão entre as mais estudadas, com ampla distribuição e abundância em vários biomas brasileiros e grande importância epidemiológica como reservatórios de agentes causadores de zoonoses. Quatro espécies foram registradas no Estado do Rio de Janeiro, incluindo *A. montensis*.

Tendo em vista a escassez de informações sobre coccídios parasitas de roedores Sigmodontinae no Brasil e que não existe registro de infecções por coccídios em roedores do gênero *Akodon*, a proposta deste trabalho para investigação do parasitismo em espécimes destes animais se justifica

2. Objetivo Geral

Investigar a diversidade e parasitismo de coccídios em *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro.

2.1 Objetivos Específicos

- Identificar, em nível específico, os coccídios que ocorrem em *Akodon montensis*;
- Caracterizar histopatologicamente os estágios evolutivos dos parasitos no intestino dos roedores;
- Estimar a prevalência da infecção por coccídios em *Akodon montensis*.

3 ORGANIZAÇÃO DOS CAPÍTULOS/RESULTADOS

A metodologia, resultados e discussão desta dissertação foram redigidas no modelo em forma de artigo científico, conforme previsto no Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, IOC, Fiocruz. Seguindo-se este modelo, dividiu-se a redação em dois capítulos, correspondentes aos artigos já submetidos à revista *Parasitology Research*; um deles já publicado. Os manuscritos foram inseridos na íntegra de sua formatação de submissão e no idioma Inglês nessa seção e o comprovante de submissão do artigo 2 está anexado ao final da dissertação (ANEXO I).

No **Capítulo 1** foram descritos aspectos morfológicos e prevalência de oocistos de uma nova espécie de *Eimeria* no roedor silvestre *Akodon montensis*, denominada *E. akodonensis*, com uma breve descrição do seu ciclo endógeno.

No **Capítulo 2** foram descritas três novas espécies de *Eimeria* no roedor *Akodon montensis*, denominadas *E. montensis*, *E. uricanensis* e *E. parnasiensis*, e mais uma espécie descrita anteriormente no roedor *Necromys lasiurus*. Além dos aspectos morfológicos e prevalência são descritos aspectos histopatológicos das lesões observadas no intestino do hospedeiro.

3.1 CAPÍTULO I:

Título do artigo 1 (publicado): “A new species of *Eimeria* Schneider, 1875 from the Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro, Brazil, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Rodentia: Sigmodontinae)”



A new species of *Eimeria* Schneider, 1875 from the Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro, Brazil, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Rodentia: Sigmodontinae)

Marcos Tobias de Santana Miglionico^{1,5} · Lúcio André Viana² · Helene Santos Barbosa³ · Ester Maria Mota⁴ · Sócrates Fraga da Costa Neto^{1,5} · Edwards Frazão-Teixeira^{1,3} · Paulo Sergio D'Andrea^{1,5}

Received: 10 October 2017 / Accepted: 1 December 2017 / Published online: 11 December 2017
© The Author(s) 2017. This article is an open access publication

Abstract

A total of 53 specimens of the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 were collected in the Serra dos Órgãos National Park (SONP) in November 2014 and July 2015. The fecal material was analyzed, and a prevalence of 7.5% was recorded for a new coccidian species of the genus *Eimeria* Schneider, 1875, with part of its endogenous development recorded in the small intestine. The oocysts of a new coccidian species of genus *Eimeria* are ellipsoidal to subspherical. The wall is bi-layered, c. 1.5 μm (1.3–1.6 μm) thick, outer layer rough. Oocyst ($n = 126$) mean length is 25.3 μm (21.0–28.0 μm), with a width of 20.2 μm (17.0–22.0 μm) and mean length/width (L:W) ratio of 1.3 (1.2–1.4). Polar granule is present, with the oocyst residuum as a large spherical to subspherical globule. Sporocyst shape ($n = 126$) is ellipsoidal, with a mean length of 11.8 μm (9.3–14.4 μm), width of 7.9 μm (6.7–9.3 μm), and mean L:W ratio of 1.5 (1.4–1.7). Sporocysts with nipple-like Stieda body and sub-Stieda body are absent. A sporocyst residuum formed by several globules, usually along the sporocyst wall. This is the first record of *Eimeria* in the montane grass mouse from Brazil.

Keywords Rodents · Coccidia · *Akodon montensis* · Atlantic Forest · Histopathology · Cricetidae

Introduction

Eimeria spp. are protozoan parasites with worldwide distribution that might cause enteritis in many vertebrate species

(Duszynski and Upton 2001). In Brazil, only three species are known to infect Sigmodontinae rodents: *Eimeria oryzomyisi* Carini, 1937 from specimens of Oryzomyini rodents; *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw, 1990 in *Zygodontomys lasiurus* [= *Necomys lasiurus* (Lund, 1840)], and *Besnoitia akodoni* Dubey, Sreekumar, Rosenthal, Lindsay, Grisard and Vitor, 2003 in *Akodon montensis*.

The rodent family Cricetidae has 130 genera encompassing 681 species, 55 of which are endemic in Brazil. The cricetid genus *Akodon* Meyen, 1833 has 44 species distributed throughout South America (Musser and Carlenton 2005), with 10 species being found in Brazil, on the east coast between Paraíba and Rio Grande do Sul, and inland in highland areas of Minas Gerais, and in the southwest of the state of Mato Grosso do Sul (Bonvicino et al. 2008). The ecology and taxonomy of some common *Akodon* species are well known. They are found in a range of different environments, both pristine and impacted, in addition to their epidemiological importance, as reservoirs of zoonoses (Oliveira et al. 2012; Müller et al. 2013; Teixeira et al. 2014). Four species are

✉ Marcos Tobias de Santana Miglionico
miglionio@gmail.com

¹ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil

² Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP 68903-419, Brazil

³ Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil

⁴ Laboratório de Patologia, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil

⁵ Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil

found in the Brazilian state of Rio de Janeiro—*Akodon cursor* (Winger, 1887), *Akodon serrensis* (Thomas, 1902), *Akodon paranaensis* Christoff et al., 2000, and *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Paglia et al. 2012). These rodents are terrestrial insectivore-omnivores (Graipel et al. 2003).

The present study describes a new species of *Eimeria*, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, *Akodon montensis*.

Material and methods

Study area

The study area encompasses a continuous tract of well-preserved Brazilian Atlantic Forest, isolated from human settlements or urban zones. The rodents were captured in the Serra dos Órgãos National Park (SONP), in the municipality of Petrópolis, Rio de Janeiro State, Brazil (22° 27' 49" S, 43° 05' 14.09" W). This park is located near the center of the Serra do Mar Ecological Corridor (Aguiar et al. 2005) and is one of the principal remnants of Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro.

Capture of the rodents

Rodents were captured in November 2014 and July 2015 along ten transects in each expedition. The specimens were captured in Tomahawk® (16 × 5 × 5 in.) and Sherman® traps set on the ground, a total of 90 live traps set per day. Additionally, 20 pitfall traps, made of 100-l buckets, were buried in the ground, along four transects, a capture effort of 80 pitfalls traps set per day. Each trapping session lasted for ten consecutive days. All animals were captured alive and euthanized a posteriori for sample collection. Voucher specimens were deposited in the scientific collection of the National Museum (Museu Nacional) at the Universidade

Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). All collected during the Rede Bioma (Bio "Inventories: Patterns of Diversity Endemism of Mammals, Birds, Amph Parasites in the Atlantic Forest," wh consortium of Brazilian research a CNPq PPBio Rede Bioma.

Collection and morphological ana

Samples were collected during necro large intestine. The fecal material was ical centrifuge tube containing a 2. $K_2Cr_2O_7$ and maintained at room tem secutive days, the tube was opened stirred vigorously to oxygenate it and f of any oocyst present in the faces. T essed in a saturated sugar solution by t method (Sheather's method), placed on a microscope at a magnification of : Wilber 1997). Morphological observat were obtained using a Carl Zeiss Ax microscope with an apochromatic oi lens and AxioVision imaging system. amined with an Imager.A2 light micr with Nomarski interference contrast m tive lenses, and the images captured w All measurements are given as the mea followed by the range of values in par

Histopathological analysis

To determine the site of infection, the s imens positive for oocysts in their fecal fixed overnight in Carson Millonig for ples were subsequently dehydrated in ethyl alcohol concentrations, diaphor



4

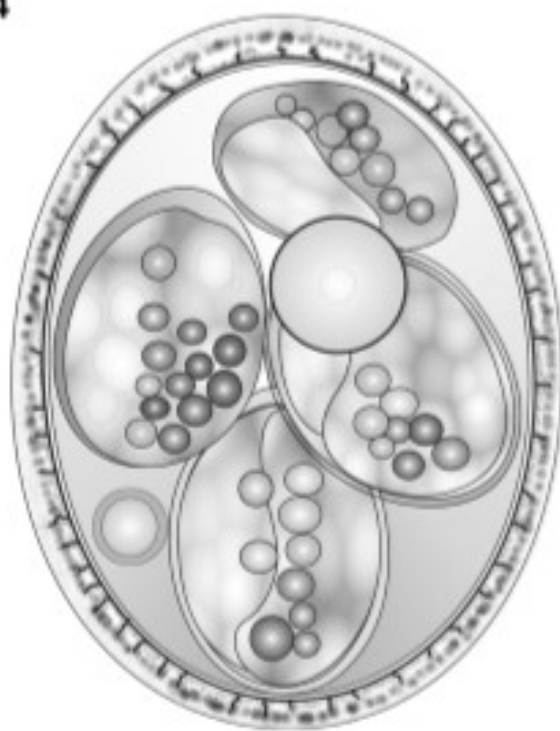


Fig. 4 Composite line drawing of the sporulated oocyst of *Eimeria akodonensis* n. sp. Scale bar = 10 µm

then embedded in paraffin blocks for the preparation of serial sections of 5 µm. The tissue sections were stained with hematoxylin and eosin and examined under a light microscope Carl

Zeiss (Humason 1979). The developmental stages were photographed and measured, and the species was identified and described based on the scheme of

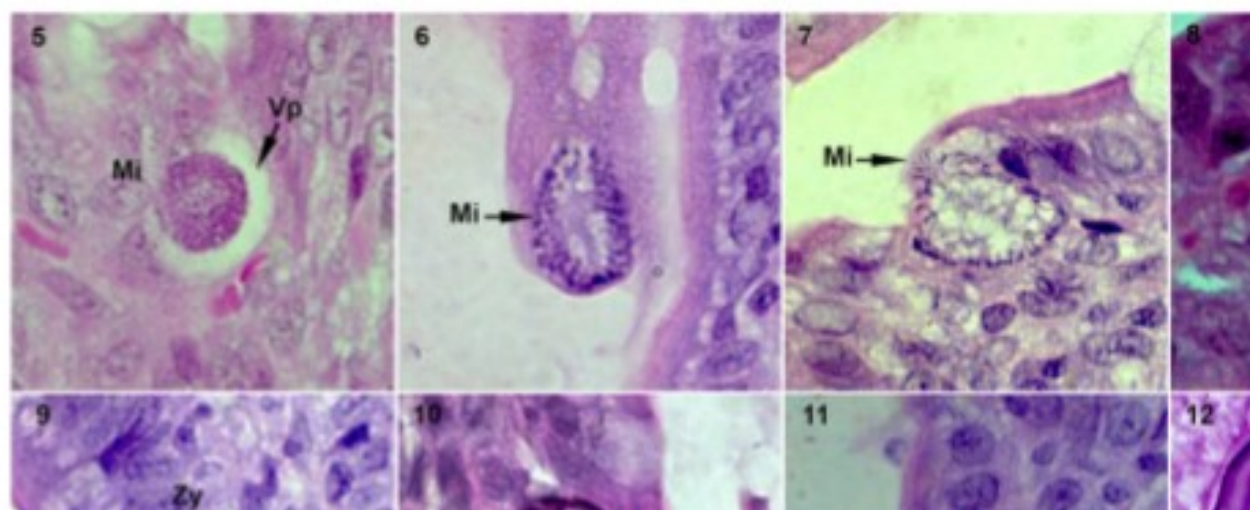
Results

Four (7.5%) of the 53 *A. montensis* sp. infected by an undescribed form of *Eimeria* analyses revealed the endogenous stages in the small intestine of the mice, including macrogametocytes, microgametocytes and oocysts of *Eimeria akodonensis* n. sp.

Type host: *Akodon montensis* (Thomomys, Sigmodontinae), Symbiotype host (holotype and skeleton, deposited in the National Museum of Rio de Janeiro (adult males, MNRJ nos. 83777).

Type-locality: Serra dos Órgãos National Park, Petrópolis, in the state of Rio de Janeiro, Brazil (S, 43° 05' 14.09" W).

Type-material: The oocysts were prepared based on Duszynski and Gardner (1968) and deposited in the Parasite Collection of the Institute of Animal Parasitology (<http://rl.ufrj.br>), Federal Rural University of Rio de Janeiro,



Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings were deposited together with the specimens. The catalog number is P-77/2017.

Sporulation time: Unknown.

Site of infection: Small intestine.

Prevalence: 4 of 53 (7.5%).

Etymology: The specific epithet is derived from the name of the host genus.\

Exogenous stage

Description (Figs. 1–3 and 4)

Sporulated oocyst

Oocyst shape ($n = 126$) is ellipsoidal to subspherical, wall bi-layered, 1.5 μm (1.3–1.6) thick, outer layer rough. Oocyst length is 25.3 μm (21.0–28.0), with a width of 20.2 μm (17.0–22.0) and length/width (L/W) ratio of 1.3 μm (1.2–1.4). Polar granule is present, with oocyst residuum as a large spherical to subspherical globule.

Sporocyst

Sporocyst shape ($n = 126$) is ellipsoidal with length of 11.8 μm (9.3–14.4), width of 7.9 μm (6.7–9.3), and (L/W) ratio of 1.5 μm (1.4–1.7). Sporocysts with nipple-like Stieda body and sub-Stieda body are absent. A sporocyst residuum formed by several globules, usually along the sporocyst wall.

Endogenous stages

Description (Fig. 5–12)

The histological analysis revealed the endogenous development of the parasite in the jejunum portion of the small intestine. The infected cells of the lamina propria contained only parasites in the gametogenic phase, with the immature microgametocytes being enveloped by the parasitophorous vacuole, and having a rounded shape, approximately 10.9 μm (5.4–16.8) in length and 11.8 μm (5.5–17.3) in width (Fig. 5). Free immature micro-gametocytes and microgametes were also observed (Figs. 6–7), as were macrogametes at different stages of development, including the formation of the oocyst wall from the granules, approximately 20.9 μm (15.9–25.7) in length and 16.2 μm (12.6–19.9) in width, subspherical to ellipsoidal in shape (Figs. 8–10). Mature and immature oocysts were also observed (Figs. 11–12).

Discussion

In Brazil, the coccidian diversity found in wild rodents is still

ology of *Eimeria akodonensis* n. sp. and other *Eimeria* species recorded from rodents from Brazil and Venezuela. The metrical data are given in micrometers as the mean values. When no data were provided, or the data are inadequate for comparisons, the variable is shown as NR = Not Reported

Reference, country	Oocyst shape	Oocyst size L × W	Oocyst wall thickness	Oocyst shape index	Polar granule	Sporocyst size L × W	Stieda body /sub-Stieda body
Present study, Brazil	Ellipsoidal to subspherical	25.3 × 20.2 (21.0–28.0 × 17.0–22.0)	Bi-layered 1.5 (1.3–1.6)	1.3 (1.2–1.4)	Present	11.8 × 7.9 (9.3–14.4 × 6.7–9.3)	Present /absent
Carfani (1937), Brazil	Ellipsoidal to subspherical	NR (22–25 × 17–19)	Bi-layered NR	1.25	Absent	11 × 8 NR	Present /absent
Arcy-de-Peraza (1964)	Ellipsoidal	17.4 × 13.2 NR	Bi-layered NR	NR	NR	7.5 × 5.9 NR	Absent/absent

Arcay-de-Peraza, 1964 was recorded from *Nephelomys albigularis* Tomes, 1860 (Arcay-de-Peraza, 1964).

The morphology and morphometry of *Eimeria akodonensis* n. sp. were compared with data for coccidia of the family Eimeriidae described from other cricetid hosts in Brazil and Venezuela (Table 1). In the case of the study of Arcay-de-Peraza (1964), some data were missing, although they were not crucial to the comparison with *Eimeria akodonensis* n. sp.. *Eimeria oryzomysi* (Carini 1937) has the same shape as *Eimeria akodonensis* n. sp., but is slightly smaller, on average (22–25 $\mu\text{m} \times 17$ –19 μm vs. 21–28 $\mu\text{m} \times 17$ –22 μm), and does not have a polar granule, its wall is smooth and not very thick, and the residua of the sporocysts are made up of fine granules. *Eimeria ojustii* (Arcay-de-Peraza, 1964) is considerably smaller (17.4 \times 13.2 vs. 25.3 \times 20.2), ellipsoidal in shape, and its sporocyst does not have a Stieda body; no data were presented on the presence or absence of a polar granule. *Eimeria zygodontomyis* (Lainson and Shaw 1990) is also much smaller (16.5 $\mu\text{m} \times 12 \mu\text{m}$ vs. 25.3 $\mu\text{m} \times 20.2 \mu\text{m}$), significantly different in shape, and have a fine, single-layered wall (0.6 vs. 1.5 μm) in comparison with the rough double wall of *Eimeria akodonensis* n. sp.

Morphologically, the most similar of the four species to *Eimeria akodonensis* n. sp. is *E. akodoni*, which was described by Arcay-de-Peraza (1981) parasitizing *N. urichi*. The two species are similar in size (27 $\mu\text{m} \times 18 \mu\text{m}$ vs. 25.3 $\mu\text{m} \times 20.2 \mu\text{m}$) and both have a polar granule, although the sporocysts are slightly different in their morphology and size (14 $\mu\text{m} \times 7 \mu\text{m}$ vs. 11.8 $\mu\text{m} \times 7.9 \mu\text{m}$). Arcay-de-Peraza (1981) describes the oocysts of *E. akodoni* as fusiform, and when they were observed in immersion, their thick wall was apparent along their whole length except for the extremities, where they become thinner, taking on the appearance of “false opercules,” in the words of the author. This characteristic is not observed in *Eimeria akodonensis* n. sp., and the oocysts are not fusiform in shape. Arcay-de-Peraza describes the presence of three walls in *E. akodoni* and the absence of residuum in the oocyst, whereas in *Eimeria akodonensis* n. sp., the oocyst has a double wall, with a large residuum. Despite these broad morphological similarities, the endogenous development of *Eimeria akodonensis* n. sp. occurs in different portions of the intestine in comparison with *E. akodoni*. Whereas *Eimeria akodonensis* n. sp. develops in the small intestine, Arcay-de-Peraza (1981) found *E. akodoni* in the large intestine. According to Arcay-de-Peraza (1981),

11.7 μm (L/W ratio: 1.6 μm). The *Eimeria akodonensis* n. sp. on the int *montensis* varied considerably, from a and diffuse infiltration distributed in the posed of neutrophils and mononuclear filtration was not found in association selves, but rather in the epithelium Overall, the set of morphological and istics found in *Eimeria akodonensis* n. ly its description as a new species.

Acknowledgements We are grateful for the team of LABPMR/IOC-Fiocruz and LabVc by CNPq and FAPERJ.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval All trapping procedures for capture, handling, and care of animals were approved by the Institutional Review Board of the Committee on the Use of Animals in Research at the Fundação Fiocruz, Rio de Janeiro, under protocol number LW81/12. The capture of wild animals was authorized by Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CMBD) authorization number 45839-1, based on Brazilian legislation.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

- Aguir AP, Chiarello AG, Mendes SL, Matos J, Leal C, Câmara IG (eds) Mata Atlântica: Perspectivas. Fundação SOS Mata Atlântica, Belo Horizonte, pp 119–126
- Arcay-de-Peraza L (1964) Tres nuevas especies de Coccidia (Eimeriidae) de Roedores Silvestres. *Biol Venez* 4:185–203
- Arcay-de-Peraza L (1981) Nuevos coccidios de Venezuela: *Eimeria guerlingueti* sp. n. y *Eimeria akodonensis* n. sp. nov. de *Sciurus (Guertlinguetus) oriz*

3. 2 CAPÍTULO II

Título do artigo submetido: “Three new species of *Eimeria* Schneider 1875 in the Montane Grass Mouse, *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae), and new record of *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw 1990 from southeastern Brazil “

Marcos Tobias de Santana Miglionic^{1, 5}, Lúcio André Viana², Helene Santos Barbosa³, Ester Maria Mota⁴, Sócrates Fraga da Costa Neto^{1, 5}, Paulo Sergio D'Andrea ^{1, 5} and Edwards Frazão-Teixeira^{1, 3}

Three new species of *Eimeria* Schneider 1875 in the Montane Grass Mouse, *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae), and new record of *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw 1990 from southeastern Brazil

¹ Graduate Program in Biodiversity and Health, Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil

² Department of Biological Sciences and Health, Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP, 68903-419, Brazil

³ Laboratory of Structural Biology, Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil

⁴ Laboratory of Pathology, Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil

⁵ Laboratory of the Biology and Parasitology of Wild Mammal Reservoirs (LABPMR), Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil

Correspondence to:

Marcos Tobias de Santana Miglionic, LABPMR/IOC/Fiocruz

Tel.: +55-2125621325

E-mail: miqlioni@gmail.com

Acknowledgements: We are grateful to the field teams of LABPMSR/IOC-Fundação Oswaldo Cruz and the Vertebrates Laboratory at Universidade Federal do Rio de Janeiro for their help with fieldwork. This study was supported by CNPq and FAPERJ.

Abstract: We describe three new coccidian species of the genus *Eimeria* Schneider 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) and report a new locality for *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw, 1990 in the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 from the Serra dos Órgãos National Park in southeastern Brazil. The oocysts of *Eimeria montensis* n. sp. (n = 30) are spherical to subspherical, with a length of 16.3 μm (14.9–17.4) and width of 12.5 μm (13.3–15.4), and a length/width (L/W) ratio of 1.3 (1.0–1.4), a 1.2 μm (1.0–1.4) thick bi-layered wall with rough outer layer, and polar granules, but no oocyst residuum. The sporocysts (n=30) are ellipsoidal, 7.2 μm (6.1–7.8) in length, 5.1 μm (4.3–5.7) in width, L/W 1.4 (1.2–1.6), Stieda body nipple-like, substieda body absent, residuum granulate. The oocysts of *Eimeria uricanensis* n. sp. (n = 40) are oval to piriform, with a 1.4 μm (1.3–1.6) thick bi-layered wall with a rough outer layer, length 26.6 μm (23.0–30.0), width 18.6 μm (17.0–20.0), L/W ratio 1.4 (1.3–1.6), polar granule present, oocyst residuum absent. The sporocyst (n = 40) is ellipsoidal, 13.3 μm (10.0–15.5) in length, 8.0 μm (7.4–9.2) in width, L/W ratio 1.7 (1.5–1.9). Stieda and substieda bodies absent. The sporocyst residuum is composed of a cluster of granules forming a spherical mass. The oocysts of *Eimeria parnasiensis* n. sp. (n = 54) are cylindrical, 1.8 μm (1.3–2.4) thick, bi-layered wall with a rough outer layer. Oocyst length is 28.2 μm (25.5–31.5), width 21.9 μm (19.0–28.1), and the L/W ratio is 1.3 (1.2–1.4). A polar granule is present and the oocyst residuum is composed of a cluster of granules of varying thickness. The sporocysts (n = 54) are ovoidal, tapering toward the Stieda body, 12.2 μm (10.0–13.3) long, 7.6 μm (6.3–8.5) wide, with a L/W ratio of 1.6 (1.4–1.9). The sporocysts have a nipple-like Stieda body but no substieda body, and the sporocyst residuum is composed of an aggregate of fine granules. This is the second record of *Eimeria* in the Montane Grass Mouse from Brazil.

Keywords: Rodents, Coccidia, *Akodon montensis*, Atlantic Forest, Cricetidae

Introduction

The Serra dos Órgãos National Park (PARNASO) is located centrally within the Serra do Mar Ecological Corridor (Aguiar et al. 2005). Four species of grass mouse, *Akodon* (Cricetidae: Sigmodontinae), are known to occur in the Brazilian state of Rio de Janeiro, and three of these are found in the PARNASO: *Akodon cursor* Winger, 1887, *Akodon serrensis* Thomas, 1902, and *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Olifiers et al. 2007). These mice are terrestrial, have a varied insectivore-omnivore diet (Graipel et al. 2003), and are known to host a range of organisms, including viruses and helminths, in the Atlantic forest biome (Silva and Casteleti 2005; Simões et al. 2014; Teixeira et al. 2014). We recently described the first coccidian parasite of *A. montensis* in this biome (de Santana Miglionico et al. 2018), and part of its endogenous development. At the same time, Barreto et al. (2017) described the first coccidian species found in two rodents of the family Echimyidae. More than 1200 species of protozoan parasites of the genus *Eimeria* Schneider, 1875 have been described to date, and are known to infect a number of different types of host, although few data are available on the cricetid rodent hosts of the Brazilian Atlantic Forest biome. The present study describes four *Eimeria* species found in specimens of *A. montensis* captured in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. Three of these species were new to science, and are described here for the first time. The fourth species observed in the present study, *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw, 1990, was originally described in the rodent *Necomys lasiurus* Lund, 1840 (Cricetidae: Sigmodontinae).

Material and methods

Study area

The study area was the Serra dos Órgãos National Park (PARNASO) in Rio de Janeiro state, Brazil (22°27'49" S, 43°05'14.09" W). This national park is a continuous tract of well-preserved Brazilian Atlantic Forest, and is one of the state's principal remnants of this forest biome (Aguiar et al. 2005).

Trapping

Rodents were trapped in the PARNASO during 10 consecutive days in November 2014 and July 2015. Traps were set along 10 transects during each expedition. Tomahawk® (16 × 5 × 5 inches) and Sherman® traps were set on the ground along these transects, with a total of 90 traps being set each night. Pitfall traps, made of 100-liter buckets buried in the ground, were placed along four transects, with 20 traps on each transect and a total of 80 pitfall traps per night. Voucher specimens were deposited in the scientific collection of the National Museum (Museu Nacional), at the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ). The field team was proficient in biosafety practices and techniques, and used personal protective equipment during all animal handling and biological procedures, in accordance with the recommendations of the Brazilian Ministry of Health (Lemos and D'Andrea 2014). Samples were collected during the Rede Bioma (Biome Network) project "Inventories: Patterns of Diversity, Biogeography, and Endemism of Mammals, Birds, Amphibians, Fruit Flies, and Parasites in the Atlantic Forest", which is supported by a consortium of Brazilian research agencies, and financed by CNPq-PPBio Rede Bioma.

Collection of oocysts and morphological analysis

The fecal samples were placed in 15 mL conical centrifuge tubes containing a 2.5% (w/v) solution of $K_2Cr_2O_7$, and maintained at room temperature. During the following five days, the tubes were opened and stirred vigorously to oxygenate their content and promote the sporulation of any oocysts present in the feces. The samples were processed in a saturated sugar solution, following the centrifugal flotation procedure (Sheather's method), transferred to slides, and examined under a microscope at a magnification of 400× (Duszynski and Wilber 1997). Morphological analyses and measurements were conducted using a Carl Zeiss Axio Scope.A1 binocular microscope with an apochromatic oil immersion objective lens and AxioVision imaging system. The oocysts were examined with a Zeiss Imager.A2 light microscope equipped with Nomarski interference contrast microscopy and 100× objective lenses, with the images being captured with an AxioCam MRc. All measurements are given as mean values in micrometers, followed by the range of values in parentheses.

Histopathological analysis

To investigate infection sites and lesions, the small intestine of each specimen that had oocysts in its feces was segmented and fixed overnight in Carson Millonig formalin. These tissue samples were then dehydrated in a progressive series of ethyl alcohol, diaphanized in xylol, embedded in paraffin blocks, cut into 5 µm sections, stained with hematoxylin and eosin, and examined under a Carl Zeiss light microscope (Humason 1979).

Results

Six (11.4 %) of the 53 *A. montensis* specimens analyzed were infected with *Eimeria*, and three of these specimens were infected with two species simultaneously. The histopathology of the small intestine could only be evaluated in one specimen, in which several lesions were detected. These lesions were approximately 9.3 μm (7.2–10.8) in width and 17.5 μm (13.7–20.8) deep, but no parasite developmental stages were observed. The fecal sample obtained from this specimen contained oocysts of two of the new *Eimeria* species. The three new *Eimeria* species are described below, and the features of the *E. zygodontomyis* specimens observed in *A. montensis*, a new host for this parasite, are also described.

***Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw 1990**

The fecal samples of two of the *A. montensis* specimens mentioned above (MNRJ nos. 83769 and 83771) also contained oocysts of a second *Eimeria* species (prevalence 3.8%; 2/53), which was diagnosed as *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw, 1990. The oocysts were preserved as for the new species and deposited in the parasite collection at the UFRRJ Institute of Biological Sciences and Health (<http://r1.ufrj.br/labicoc/index.html>), under repository number 83/2017.

The microscopic examination (see Fig. 1–3) recorded the following features. Oocyst shape (n = 49) is ellipsoidal to cylindrical, bi-layered, very thin wall, 0.6 μm thick (0.5–0.8). Oocyst length is 18.3 μm (15.8–20.0), width 12.5 μm (10.8–13.1), and the L/W ratio is 1.4 (1.2–1.6). Polar granules occasionally present, oocyst residuum absent. The sporocyst shape (n = 49) is ellipsoidal, length 8.5 μm (7.7–10.7), width

5.2 μm (4.5-6.2), L/W ratio 1.5 (1.3-1.7). Stieda body prominent, substieda body absent. Compact sporocyst residuum.



Fig. 1–3. Nomarski interference-contrast photomicrographs of *Eimeria zygodontomyis* Lainson and Shaw 1990 from the rodent *Akodon montensis*. Stieda body (Sb); Sporocyst residuum (Sr); Oocyst wall (Ow); Sporozoite (Sp). Scale bar = 10 μm .

***Eimeria montensis* n. sp.**

Type-host: *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae), symbiotype hosts (Frey et al. 1992), skin and skeleton, are deposited in the National Museum in Rio de Janeiro (adult males, MNRJ no. 83769, MNRJ no. 837770, adult female, MNRJ no. 83775)

Type-locality: Serra dos Órgãos National Park in Petrópolis, in the state of Rio de Janeiro, Brazil (22°27'49" S, 43°05'14.09" W).

Type-material: The oocysts were preserved in 70% ethanol, following Duszynski and Gardner (1991). The samples were deposited in the parasite collection at the Institute of Biological Sciences and Health (<http://r1.ufrj.br/labicoc/index.html>) of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ) in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings were deposited together with the specimens. The repository number is P-82/2017.

Sporulation time: Unknown.

Site of infection: Small intestine.

Prevalence: 3 of 53 (5.7%)

Etymology: The specific epithet "*montensis*" is derived from the species name of the rodent host (*Akodon montensis*).

Exogenous stage

Description (Fig. 4 -6 and 13)

Sporulated oocyst

Oocyst shape (n = 30) is spherical to subspherical, wall bi-layered, 1.2 μm (1.0–1.4) thick with rough outer layer. Oocyst length 16.3 μm (14.9–17.4), width 12.5 μm (13.3–15.4), Length/Width (LW) ratio 1.3 (1.0–1.4). Polar granule present, oocyst residuum absent.

Sporocyst

Sporocyst shape (n = 30) is ellipsoidal, length 7.2 μm (6.1–7.8), width 5.1 μm (4.3–5.7), L/W ratio 1.4 (1.2–1.6). Stieda body nipple-like, substieda body absent, sporocyst residuum granular.

***Eimeria uricanensis* n. sp.**

Type-host: *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae), symbiotype hosts (Frey et al. 1992), skin and skeleton, are deposited in the National Museum in Rio de Janeiro (young male, MNRJ no. 83771; adult female, MNRJ no. 83775)

Type-locality: Serra dos Órgãos National Park in Petrópolis, Rio de Janeiro state, Brazil (22°27'49" S, 43°05'14.09" W).

Type-material: The oocysts were preserved in 70% ethanol, following Duszynski and Gardner (1991). The samples were deposited in the parasite collection at the Institute of Biological Sciences and Health (<http://r1.ufrj.br/labicoc/index.html>) of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ) in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings were deposited together with the specimens. The repository number is P-81/2017.

Sporulation time: Unknown.

Site of infection: Unknown.

Prevalence: 2 of 53 (3.8%)

Etymology: The specific epithet "*uricanensis*" is derived from Uricanal, which is the locality inside PARNASO where the host was captured.

Exogenous stage

Description (Fig. 7- 9 and 14)

Sporulated oocyst

Oocyst shape (n = 40) is ovoidal to pyriform, wall bi-layered, 1.4 μm (1.3–1.6) thick, outer layer rough. Oocyst length 26.6 μm (23.0–30.0), width 18.6 μm (17.0–20.0), L/W ratio 1.4 (1.3–1.6). Polar granule present, oocyst residuum absent.

Sporocyst

Sporocyst shape (n = 40) ellipsoidal, length 13.3 μm (10.0-15.5), width 8.0 μm (7.4-9.2), L/W ratio 1.7 μm (1.5-1.9). Stieda and substieda bodies absent, residuum composed of a cluster of granules, forming a spheroid mass.

***Eimeria parnasiensis* n. sp.**

Type-host: *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae), symbiotype host (Frey et al. 1992), skin and skeleton, are deposited in the National Museum in Rio de Janeiro (adult male, MNRJ no. 83773)

Type-locality: Serra dos Órgãos National Park in Petrópolis, Rio de Janeiro state, Brazil (22°27'49" S, 43°05'14.09" W).

Type-material: The oocysts were preserved in 70% ethanol, following Duszynski and Gardner (1991). The samples were deposited in the parasite collection at the Institute of Biological Sciences and Health (<http://r1.ufrrj.br/labicoc/index.html>) of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ) in Seropédica, Rio de Janeiro,

Brazil. Phototypes and line drawings were deposited together with the specimens.

The repository number is P-80/2017.

Sporulation time: Unknown.

Site of infection: Unknown.

Prevalence: 1 of 53 (1.9%)

Etymology: The specific epithet is derived from the Portuguese acronym of the study area (PARNASO; *Parque Nacional da Serra dos Órgãos*).

Exogenous stage

Description (Fig. 10 -12 and 15)

Sporulated oocyst

Oocyst shape (n = 54) subspheroidal to ellipsoidal with bi-layered wall 1.8 μm (1.3-2.4) thick, and rough outer layer. Oocyst length is 28.2 μm (25.5–31.5), width 21.9 μm (19.0–28.1), L/W ratio 1.3 (1.2-1.4). Polar granule present, oocyst residuum consisting of a cluster of granules of varying thickness.

Sporocyst

Sporocyst shape (n = 54) ovoidal, tapering toward Stieda body, length 12.2 μm (10.0–13.3), width 7.6 μm (6.3–8.5), L/W ratio 1.6 (1.4–1.9). Stieda body nipple-like, substieda body absent, residuum composed of aggregate of thin granules.

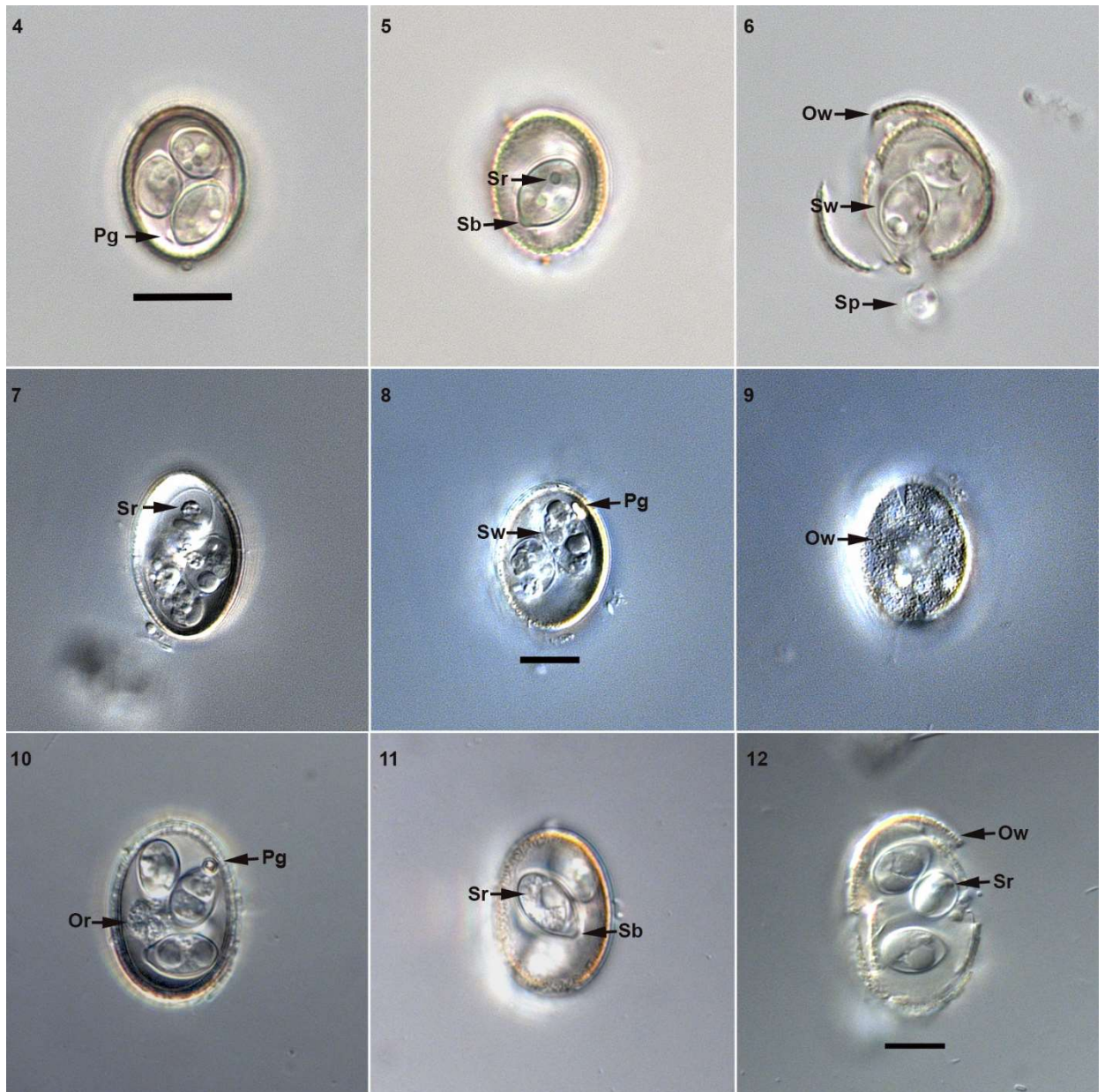


Fig. 4–12. Nomarski interference-contrast photomicrographs of *Eimeria montensis* n. sp. (4–6), *Eimeria uricanensis* n. sp (7–9) and *Eimeria parnasiensis* n. sp (10–12). Note the highly refractile Polar granule (Pg); Oocyst wall (Ow); Oocyst residuum (Or); Sporocyst residuum (Sr); Stieda body (Sb); Sporozoite (Sp); Sporocyst wall (Sw). Scale bar = 10 μ m.

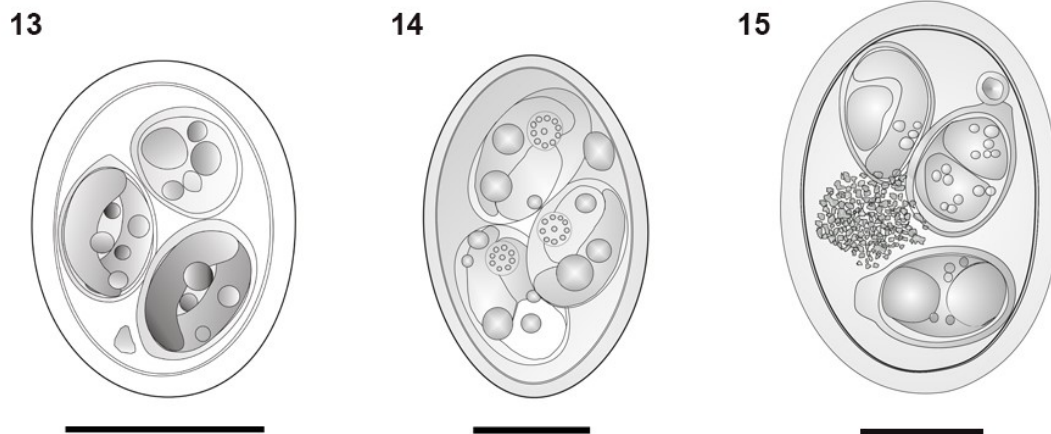


Fig. 13–15. Composite line drawing of the sporulated oocysts of the new coccidian species described from *Akodon montensis*. Scale bar = 10 μm . *Eimeria montensis* n. sp. (13), *Eimeria uricanensis* n. sp. (14) and *Eimeria parnasiensis* n. sp. (15).

Discussion

Eimeria zigodontomyis Lainson and Shaw, 1990 was originally described in the hairy-tailed bolo mouse, *Necomys lasiurus* (= *Zygodontomys lasiurus*), from Serra dos Carajás, in the northern Brazilian state of Pará. This locality is more than 2000 km north of the Serra dos Órgãos National Park. Morphologically, the oocysts found in *A. montensis* are identical to those described in *N. lasiurus*, with only minor differences in size. The oocysts from the two rodents share a number of characteristics, such as the thin wall, sporocyst residuum, curved sporozoite, and the presence of prominent Stieda bodies, with polar granules extremely rare and the typical cylindrical shape of the oocyst. The oocysts retrieved from *N. lasiurus* by Lainson and Shaw, 1990 measured 16.5 x 12 μm (13.7-18.7 x 11.2-12.5), in comparison with 18.3 x 12.5 μm (15.8–20.0 x 10.8–13.1), recorded in the present study. The measurements of the sporocysts were even more similar, with those from *N. lasiurus* measuring 8.4 x 5.5 μm (7.4-8.7 x 5.0-6.2), and those recorded in the present study, 8.5 x 5.2 μm (7.7–10.7 x 4.5–6.2). It is interesting to note that

Akodon and *Necropsy* are very closely related phylogenetically (D'Elía et al. 2003, 2008).

All the *Eimeria* specimens identified in the present study were compared systematically with one another, and with the other species encountered previously in cricetid rodents (Table 1), including three species from Brazil – *Eimeia akodonensis* de Santana Miglionico et al. 2018, recorded in *A. montensis*, *E. zygodontomyis* Lainson and Shaw, 1990, and *Eimeria oryzomysi* Carini, 1937, found in *Euryoryzomys* sp. Weksler, Percequillo and Voss, 2006 - and two from Venezuela, *Eimeria ojastii* Arcay, 1964, found in *Oryzomys albigularis* (= *Nephelomys albigularis*) Tomes, 1860 and *Eimeria akodoni* Arcay, 1981, recorded in *Akodon urich venezuelensis* Allen and Chapman, 1897.

The oocysts of *Eimeria montensis* n. sp. are similar in size and morphology to those of *E. zygodontomyis* and *E. ojastii*. However, while the oocyst of *Eimeria montensis* n. sp. has a bi-layered wall, that of *E. zygodontomyis* is mono-layered. Similarly, the sporocysts of *Eimeria ojastii* lack a Stieda body, which is present in *Eimeria montensis* n. sp.

The subspherical/ellipsoidal shape and the size of the oocysts of *Eimeria uricanensis* n. sp. are similar to those of *E. akodoni*, *Eimeria parnasiensis* n. sp., *E. akodonensis*, and *E. oryzomysi*. However, the sporocysts of *Eimeria uricanensis* n. sp. lack a Stieda body, which is present in all the other four species. In addition, while the oocysts of *E. akodoni* have a tri-layered wall, those of *Eimeria uricanensis* n. sp. are bi-layered.

The oocysts and sporocysts of *Eimeria parnasiensis* n. sp. are similar in size and morphology to those of *E. akodoni*, *E. oryzomysi*, and *E. akodonensis*. However, while the oocysts of *E. akodoni* have a tri-layered wall, the wall of the oocysts of *Eimeria parnasiensis* n. sp. is bi-layered. Similarly, *E. oryzomysi* has no polar granule, which is present in *Eimeria parnasiensis* n. sp. Of all the *Eimeria* species

known to parasitize cricetid rodents, *E. akodonensis* is the most similar to *Eimeria parnasiensis* n. sp., although it has a thicker wall (1.8 μm vs. 1.5 μm in the new species), a different-shaped sporocyst residuum, and much thicker spherical granules. The oocyst residuum is a large spherical to subspherical globule in *E. akodonensis*, forming a bulky aggregate of fine granules.

The histological examination of the lesions found in the lamina propria of the small intestine of one *A. montensis* specimen revealed characteristics compatible with the release of oocysts. The same pattern of lesions was observed in the histological sections of *E. akodonensis* De Santana Miglionico et al. 2018, indicating that they were caused by the development of the oocysts in the cells of the small intestine (Fig. 16).

The sum of the evidence thus supports emphatically the description of three new species, *Eimeria montensis* n. sp., *Eimeria uricanensis* n. sp., and *Eimeria parnasiensis* n. sp. that parasitize the montane grass mouse, *Akodon montensis*, in the Serra dos Órgãos National Park in Rio de Janeiro state, Brazil. We also found *E. zygodontomyis* parasitizing this rodent, more than 2000 km south of its type locality.

Table 1 Comparative morphology of *Eimeria* spp. recorded in *Akodon montensis* and others Cricetidae rodents from Brazil and Venezuela. Metrical data given in micrometres as the mean followed by the range in parentheses, some publications do not provide adequate information on the measures (not reported= NR).

Host	<i>Eimeria</i> species	Reference/ country	Oocyst shape	Oocyst size (L/W)	Oocyst wall thickness	Oocyst shape index	Polar granule	Sporocyst size (L/W)	Stieda body/ Sub-Stieda body
<i>Akodon montensis</i>	<i>E. montensis</i> n.sp	Present study/ Brazil	Spherical to subspherical	16.3 × 12.5 (14.9–17.4 × 13.3–15.4)	Bi-layered 1.2 (1.0–1.4)	1.3 (1.0–1.4)	Present	7.2 × 5.1 (6.1–7.8 × 4.3–5.7)	Present/Absent
*	<i>E. uricanensis</i> n.sp	Present study/ Brazil	Ovoidal to pyriform	26.6 × 18.6 (23–30 × 17–20)	Bi-layered 1.4 (1.3– 1.5)	1.4 (1.3–1.6)	Present	13.3 × 8.0 (10.0–15.5 × 7.4–9.2)	Absent/Absent
*	<i>E. parnasiensis</i> n.sp	Present study/ Brazil	Subspheroidal to ellipsoidal	28.2 × 21.9 (25.5–31.5 × 19.0–28.1)	Bi-layered 1.8 (1.3–2.4)	1.3 (1.2–1.4)	Present	12.2 × 7.6 (10.0–13.3 × 6.3–8.5)	Present/Absent
*	<i>E. akodonensis</i>	de Santana Miglionico et al. (2018)/Brazil	Subspheroidal to ellipsoidal	25.3 × 20.2 (21.0–28.0 × 17.0–22.0)	Bi-layered 1.5 (1.3–1.6)	1.3 (1.2–1.4)	Present	11.8 × 7.9 (9.3–14.4 × 6.7–9.3)	Present/Absent
<i>Akodon urichi venezuelensis</i>	<i>E. akodoni</i>	Arcay (1981)/ Venezuela	Fusiform to Ellipsoidal	27 × 18 NR	Tri-layered (1.5)	NR	Present	14 × 7 NR	Present/Absent
<i>Euryoryzomys</i> sp	<i>E. oryzomysi</i>	Carini (1937)/ Brazil	Subspheroidal to ellipsoidal	NR (22–25 × 17–19)	Bi-layered NR	1.25	Absent	11 × 8 (NR)	Present/Absent
<i>Necomys lasiurus</i>	<i>E. zygodontomyis</i>	Lainson and Shaw (1990)/ Brazil	Ellipsoidal to cylindroidal	16.5 × 12 (13.7–18.7 × 11.2–12.5)	Single layer 0.6	1.4 (1.2–1.5)	Present	8.4 × 5.5 (7.4–8.7 × 5.0–6.2)	Present /Absent
<i>Nephelomys albigularis</i>	<i>E. ojustii</i>	Arcay (1964)/ Venezuela	Ellipsoidal	17.4 × 13.2 NR	Bi-layered NR	NR	NR	7.5 × 5.9 NR	Absent/Absent

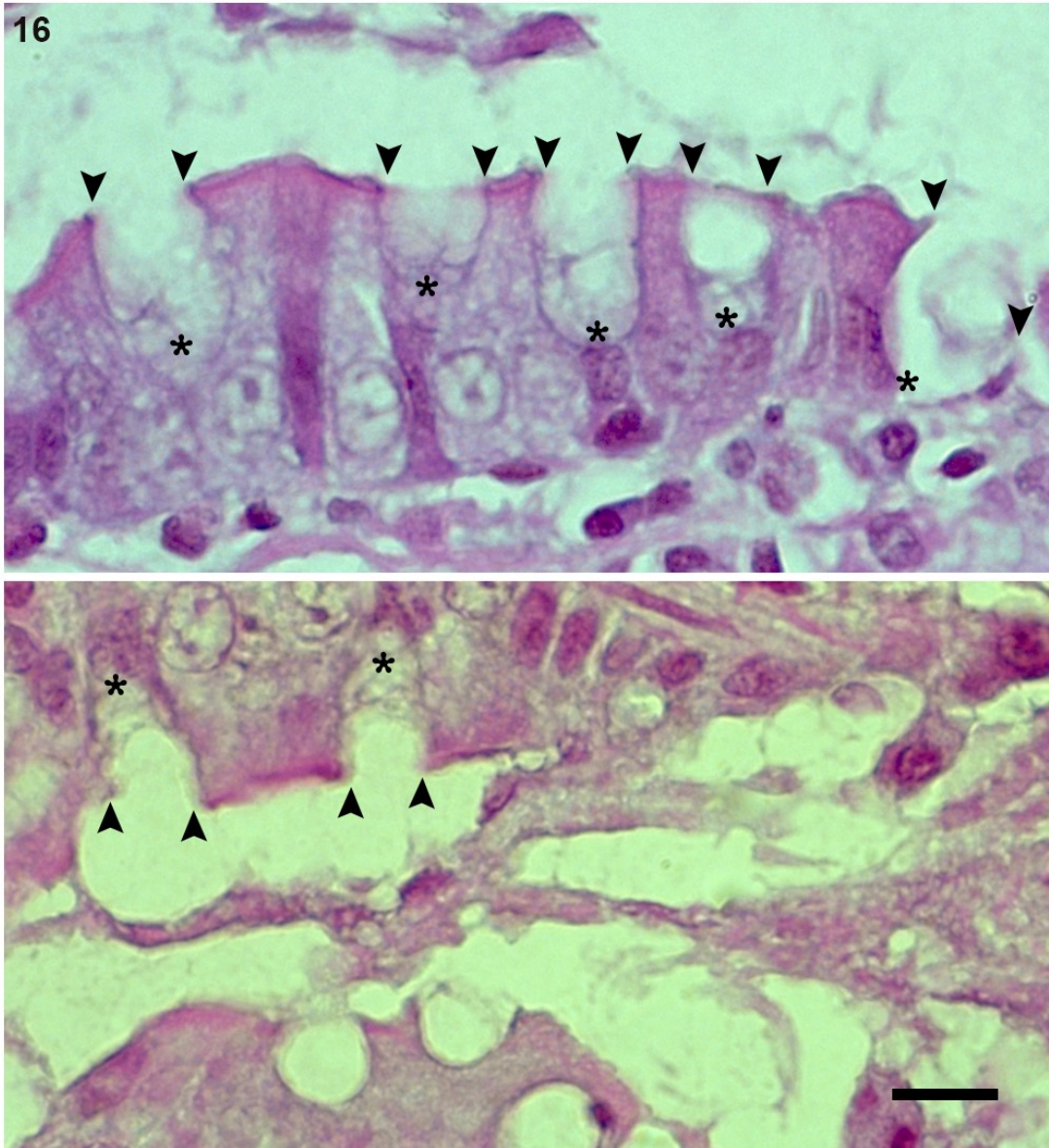


Fig. 16. Lesions observed on the small intestine of a specimen of *Akodon montensis*, shedding oocysts of *Eimeria montensis* n. sp. and *Eimeria uricanensis* n. sp. The arrow heads indicate the aperture of the lesions, and the asterisks, their depth.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval: All trapping procedures followed the guidelines for the capture, handling, and care of animals established by the Ethics Committee on the Use of Animals in Research of the Oswaldo Cruz Institute/Fundação Oswaldo Cruz in Rio de Janeiro, and authorized under license numbers L-049/08 and LW81/12. The capture of wild animals was authorized by the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio), through authorization number 45839-1, in accordance with the pertinent Brazilian legislation.

References

- Aguiar AP, Chiarello AG, Mendes SL, Matos EN (2005). Os corredores central e da Serra do Mar na Mata Atlântica brasileira. *Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas*. Belo Horizonte: Fundação SOS Mata Atlântica, Conservação Internacional e Centro de Ciências Aplicadas à Biodiversidade. cap. 11, 119-132
- Arcay-de-Peraza L (1964) Tres nuevas especies de *Eimeria* (Protozoa, Coccidia Eimeriidae) de Roedores Silvestres de Venezuela. *Acta Biol Venez* 4 , 185-203
- Arcay-de-Peraza L (1981) Nuevos coccidia de roedores silvestres de Venezuela: *Eimeria guerlingueti* sp. nov. y *Wenyonella maligna* sp. nov. de *Sciurus* (*Guerlinguetus*) *granatensis* y *Eimeria akodoni* sp. nov. de *Akodon urichi venezuelensis* (Rodentia, Myomorpha, Cricetidae, Cricetinae). *Acta Biol Venez* 11(2): 125-148
- Barreto WTG, Viana LA, Santos FM, et al (2017) New species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from *Thrichomys fosteri* and *Clyomys laticeps*

- (Rodentia: Echimyidae) of the Brazilian Pantanal. *Parasitol Res* 116(11):2941-2956. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5602-z>
- Carini A (1937) Sobre uma nova *Eimeria* (*E. oryzomysi* n. sp.) do intestino de um ratinho do campo. *Arch Biol*, 21:47-49
- D'elía G, González EM, Pardiñas UFJ (2003) Phylogenetic analysis of sigmodontine rodents (Muroidea), with special reference to the akodont genus *Deltamys*. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 68(2):351-364. <https://doi.org/10.1078/1616-5047-00104>
- D'elía G, Pardiñas UFJ, Jayat JP, Salazar-Bravo J (2008) Systematics of *Necromys* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae): Species Limits and Groups, with Comments on Historical Biogeography. *J Mammal* 89(3):778-790. <https://doi.org/10.1644/07-MAMM-A-246R1.1>
- de Santana Miglionico MT, Viana LA, Barbosa HS, Mota EM, da Costa Neto SF, Frazão-Teixeira E, D'Andrea PS (2018). A new species of *Eimeria* Schneider, 1875 from the Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro, Brazil, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Rodentia: Sigmodontinae). *Parasitol Res.* 117(2):371-376. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5707-4>
- Duszynski D, Gardner SL (1991) Fixing coccidian oocysts is not an adequate solution to the problem of preserving protozoan type material. *J Parasitol* 77(1):52-57. <https://doi.org/10.2307/3282555>
- Duszynski DW, Wilber PG (1997) A guidelines for the preparation of species description in the Eimeriidae. *J Parasitol* 83(2):333-336. <https://doi.org/10.2307/3284470>
- Frey JK, Yates TL, Duszynski DW, Gannon WL, Gardner SL (1992) Designation and curatorial management of type host specimens (symbiotypes) for new

- parasite species. *J Parasitol* 78(5):930-932. <https://doi.org/10.2307/3283335>
- Graipel ME, Miller PRM, Glock L (2003) Padrão de atividade de *Akodon montensis* e *Oryzomys russatus* na Reserva Volta Velha, Santa Catarina, sul do Brasil. *J Neotrop Mammal* 10(2):255-260
- Humason GL (1979) Animal tissue techniques, 4th edn. W.H. Freeman. San Francisco, CA, USA
- Lainson R, Shaw JJ (1990) Coccidia of Brazilian Mammals: *Eimeria corticulata* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the anteater *Tamandua tetradactyla* (Xenarthra: Myrmecophagidae) and *Eimeria zygodontomyis* n. sp. from the cane mouse *Zygodontomys lasiurus* (Rodentia: Cricetidae). *J Protozool* 37(1):51-54. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1990.tb01115.x>
- Kheysin YM (2013) Life cycles of coccidia of domestic animals. University Park Press, Baltimore
- Olifiers N, Cunha A, Grelle C, et al (2007) Lista de espécies de pequenos mamíferos não-voadores do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. In: Cronemberger, C. & Viveiros de Castro, E.B.(eds). (Org.). Ciência e conservação na Serra dos Órgãos pp 186-192
- Sheather AL (1923) The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique. *J Comp Pathol Therap* 36:266-275. [https://doi.org/10.1016/S0368-1742\(23\)80052-2](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(23)80052-2)
- Silva JMC, (2003) Status of the biodiversity of the Atlantic Forest of Brazil. In: Carlos Galindo-Leal & Ibsen de Gusmão Câmara. (Org.). The Atlantic Forest of South America. Washington: Island Press pp 43-59.
- Simões RO, Luque JL, Maldonado A (2014) Additional Data on the Synlophe of *Stilestrongylus aculeata* (Travassos, 1918) and *Stilestrongylus eta* (Travassos, 1937) (Heligmonellidae) Parasitic in *Akodon montensis*

(Sigmodontinae) from the Atlantic Forest. *J Parasitol* 100(1):151-153.

<https://doi.org/10.1645/12-88.1>

Teixeira BR, Loureiro N, Strecht L, et al (2014) Population ecology of hantavirus rodent hosts in Southern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 91(2):249-257.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0465>

4 CONCLUSÕES

- Há alta diversidade de parasitos do gênero *Eimeria* em roedores da espécie *Akodon montensis* capturados no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ;
- Existem quatro novas espécies de *Eimeria* denominadas *Eimeria akodonensis*, *E. montensis*, *E. uricanensis* e *E. parnasiensis*, e estas são parasitas do roedor *A. montensis*;
- *Akodon montensis* é hospedeiro de *E. zygodontomyis*;
- Desenvolvimento endógeno característico de coccídios ocorre em células da lâmina própria do jejuno de espécimes de *A. montensis* positivos para a presença de oocistos de *E. akodonensis* em suas fezes.
- A prevalência de coccídios do gênero *Eimeria* spp em roedores da espécie *Akodon montensis* nesse estudo ficou em um total de 19%.

5 PERSPECTIVAS

O gênero *Akodon* possui ampla distribuição geográfica no Brasil, mas até a realização da presente pesquisa nenhuma investigação sobre a ocorrência de infecção por coccídios havia sido realizada. Somente parte do ciclo endógeno do parasito *E. akodonensis* n. sp. hospedeiro *A. montensis* foi descrita no exame histológico realizado nesta pesquisa, o que suscita o desenvolvimento de outros estudos para descrição completa do ciclo.

No entanto, os resultados gerados demonstram a grande diversidade de espécies de *Eimeria* em roedores deste gênero e abrem perspectivas para que outras investigações sobre ocorrência e parasitismo por coccídios em *Akodon* spp. sejam realizadas. Soma-se a isso a imensa escassez de informações sobre a diversidade coccídios da família Eimeriidae em roedores silvestres. Se considerarmos a diversidade da família Cricetidae, com 55 espécies descritas no Brasil, constatamos que pouco mais de 5% dessas espécies foram estudadas acerca da sua ecologia de coccídios. Estudos como este podem ajudar a formular hipóteses sobre o papel dos coccídios em processos relacionados à regulação de hospedeiros, estudos de regulação de predadores e população de presas, ou como um bioindicador de qualidade ambiental (Thomas e Renaud 2007; Yun-Fen et al 1986).

Marquardt estudou especificamente na *Eimeria zurnii* os efeitos de agentes físicos (radiação solar, oxigênio, pH), químicos (cloreto de mercúrio) e biológicos (bactérias) no processo de esporulação desses oocistos no ambiente (Marquardt et al., 1960). Quais seriam os resultados desses efeitos em regiões tropicais ou biomas como a Mata Atlântica, que apresentam várias fitofisionomias e estágios de sucessão ecológica. Frente a esse cenário de possibilidades, alguns questionamentos podem ser levantados. Será que há espécies de parasitos restritas a estes habitats? Ou uma única espécie em vários habitats? Será que a mesma espécie de hospedeiro apresenta perfil de espécies de parasitos similar em distintas áreas geográficas? Novos estudos devem ser continuados para que se possa conhecer a diversidade de coccídios não só em roedores, mas nas diferentes espécies de mamíferos silvestres do Brasil e assim, responder a esses questionamentos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cawthorn RJ, Stockdale PHG. Eimeriidae) in the great horned owl , *Bubo virginianus* (Gmelin). Canadian Journal of Zoology. 1982;60:152–7.
2. Wacha RS, Christiansen JL. Development of *Caryospora bigenetica* n. sp. (Apicomplexa, Eimeriidae) in Rattlesnakes and Laboratory Mice. Journal of Parasitology. 1982;29(2):272–8.
3. Upton SJ, Current WL, Ernst J V, Barnard SM. Extraintestinal Development of *Caryospora simplex* (Apicomplexa: Eimeriidae) in Experimentally Infected Mice, *Mus musculus*. Journal of Protozoology. 1984;31(3):392–8.
4. Upton SJ, Current WL, Barnard SM. A review of the genus *Caryospora* Léger, 1904 (Apicomplexa: Eimeriidae). Systematic Parasitology. 1986;8(1):3–21.
5. Roberts LS, John Janovy J. Foundations of parasitology. 8th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York, NY: McGraw-Hill; 2009. 720 p.
6. Souza W de. Aspectos ultraestruturais do processo de divisão do *Toxoplasma gondii*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1974 Feb;8(1):45–65.
7. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC, et al. Correction: A higher level classification of all living organisms. PLoS ONE. 2015;10(6):1–54.
8. Dauschies A, Najdrowski M. Eimeriosis in cattle: Current understanding. Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health. 2005;52(10):417–27.
9. Heise A, Peters W, Zahner H. Microneme antigens of *Eimeria bovis* recognized by two monoclonal antibodies. Parasitology Research. 1999;85(6):457–67.
10. Heise A, Peters W, Zahner H. Phosphocholine epitopes in *Eimeria bovis*. Exp Parasitol[Internet]. 1999;92(4):279–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10425156> %5Cnhttp://ac.els-
11. Lucius R, Loos-Frank B. Parasitologie, Grundlagen für Biologen, Mediziner und Veterinärmediziner, Heidelberg - Berlin: Spektrum Akademischer Verlag. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 1997.
12. Bürger H. *Eimeria*-Infektionen beim Rind. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1983;96:350–7.
13. Svensson C, Uggla A, Pehrson B. *Eimeria alabamensis* infection as a cause of diarrhoea in calves at pasture. Veterinary Parasitology. 1994;53(1–2):33–43.
14. Kheysin YM. Life Cycles of Coccidia of Domestic Animals. Baltimore, Maryland,

U.S.A.: University Park Press; 1972. 268 p.

15. Dauschies A, Böse R, Marx J, Teich K, Friedhoff KT. Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. *Veterinary Parasitology*. 2002;103(4):299–308.
16. Meireles MV, Soares RM, Bonello F, Gennari SM. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in *Capybara* (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2007;147(1–2):166–70.
17. Silverlås C, Mattsson JG, Insulander M, Lebbad M. Zoonotic transmission of *Cryptosporidium meleagridis* on an organic Swedish farm. *International Journal for Parasitology*. 2012;42(11):963–7.
18. Ferreira AJP. Coccidiose Aviária. *Avicultura Industrial* [Internet]. 2017;1268:22–5. Available from: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/impactos-economicos-da-coccidiose/20170818-150137-m645>
19. O’donoghue PJ. *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis* of Man and Animals. *International Journal for Parasitology*. 1995;25(2):139–95.
20. Cunha AM, C. M. Torres. Sur un nouveau Globidium, *G. tatusi* Cunha e Torres, 1923, parasite de l’armadillo. *Comptes Rendus de la Société Brésilienne de Biologie*. 1924;90:242.
21. Cunha AM., Muniz AJ. Sur un nouveau sporozoaire, parasite de Tatou. *Comptes Rendus de la Société Brésilienne de Biologie*. 1928;98:624–7.
22. Carini A. Eimeriose intestinal de um serelepe por *Eimeria botelhoi* n. sp. *Revista de Biologia e Higiene*. 1932;3:80–2.
23. Carini A. Sur trois nouvelles *Eimeria* de Cotia vermelha. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1935;13(4):342–4.
24. Carini A. Sur deux nouvelles *Eimeria* D’*Hydrochoerus capibara*. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1937;15(5):453–5.
25. Carini A, Grechi D. Sobre uma nova *Eimeria*, parasita do *Nasua nasica*. *Archivos de Biologia*. 1938;22:104–5.
26. Lainson R, Naiff RD, Best RC, Shaw JJ. *Eimeria trichechi* n. sp. from the Amazonian manatee, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). *Systematic Parasitology*. 1983;05:287–9.
27. Lainson R, Naiff RD. *Eimeria peltoccephali* n. sp., (Apicomplexa:Eimeriidae) from the Freshwater Turtle *Peltocephalus dumerilianus* (Chelonia: Pelomusidae) and *Eimeria molossi* n. sp., from the Bat, *Molossus ater* (Mammalia: Chiroptera). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [Internet]. Fundação Oswaldo Cruz; 1998 Jan [cited 2017 Aug 27];93(1):81–90. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761998000100015&lng=en&tlng=en

28. Lainson R, Naiff RD. On *Eimeria bragancaensis* n. Sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) and tissue-cysts of an unidentified protozoan in the Bat *Peropteryx macrotis* (Chiroptera: Emballonuridae) from Amazonian Brazil. *Parasite*. 2000;7:123–9.
29. Pinto C. *Eimeria carinii* nova espécie. Parasita de *Mus (E.) norwegicus* do Brasil. *Bol Biol*. 1928;11(14):127–8.
30. Carini A. Sobre uma nova *Eimeria* (*E. oryzomysi* n. sp.) do intestino de um ratinho do campo. *Arch Biol*. 1937;21:47.
31. Lainson R, Shaw JJ. Coccidia of Brazilian Mammals: *Eimeria corticulata* N. Sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Anteater *Tamandua tetradactyla* (Xenarthra: Myrmecophagidae) and *Eimeria zygodontomyis* N. Sp. from the Cane Mouse *Zygodontomys lasiurus* (Rodentia: Cricetidae). *J Protozool*. 1990;37:51–4.
32. Lainson R, O BMC, T SF. Parasites of the Squirrel *Sciurus Spadiceus* (Rodentia: Sciuridae) from Amazonian Brasil, with particular reference to *Eimeria damnosa* n. sp (Apicomplexa: Eimeriidae). *Parasite*. 2005;12:305–15.
33. Barreto WTG, Viana LA, Santos FM, de Oliveira Porfírio GE, Perdomo AC, da Silva AR, et al. New species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from *Thrichomys fosteri* and *Clyomys laticeps* (Rodentia: Echimyidae) of the Brazilian Pantanal. *Parasitology Research*. *Parasitology Research*; 2017;1–16.
34. Miglionico MTS, Viana LA, Barbosa HS, Mota EM, da Costa Neto SF, Frazão-Teixeira E, et al. A new species of *Eimeria* Schneider, 1875 from the Serra dos Órgãos National Park, Rio de Janeiro, Brazil, with notes on its endogenous development in the montane grass mouse, *Akodon montensis* Thomas, 1913 (Rodentia: Sigmodontinae). *Parasitology Research* [Internet]. 2018;117(2):371–6. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5707-4>
35. Musser GG, Carleton. Superfamily Muroidea. In *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. D.E. Wilson & D.M. Reeder, editor. Baltimore; 2005. v. 2, pp.894-1531.
36. Teixeira BR, Loureiro N, Strecht L, Gentile R, Oliveira RC, Guterres A, et al. Population ecology of hantavirus rodent hosts in Southern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2014;91(2):249–57.
37. Souza JGR, Simões RO, Thiengo SARC, Lima WS, Mota EM, Rodrigues-Silva R, et al. A New Metastrongilid Species (Nematoda: Metastrongylidae): A Lungworm from *Akodon montensis* (Rodentia: Sigmodontinae) in Brazil. *Journal of Parasitology* [Internet]. 2009;95(6):1507–11. Available from: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1645/GE-2013.1>
38. Hershkovitz P. Report on some sigmodontine rodents collected in southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner*

- Zoologischer Beitrage. 1998;47:193–256.
39. González E, Langguth A, Oliveira L de. A new species of *Akodon* from Uruguay and southern Brazil. *Comunicaciones Zoológicas Museo Historia Natural de Montevideo*. 1998;12(191):1–8.
 40. Hershkovitz P. Mice of the *Akodon boliviensis* size class (Sigmodontinae, Cricetidae), with the description of two new species from Brazil. *Fieldiana Zoology*. 1990;57:1–35.
 41. Carmignotto AP. Pequenos mamíferos do bioma Cerrado: padrões faunísticos locais e regionais. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo; 2004.
 42. C R Bonvicino, Oliveira JA, D'Andrea PS. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. De CP-A, OPAS/OMS A-, editors. Rio de Janeiro; 2008. 120 p.
 43. Pardinás, U., G. D'Elia, V. Fagundes, A. Christoff LG. “*Akodon Montensis*” (Online). IUCN Red List of Threatened Species. [Internet]. 2008 [cited 2018 Jul 14]. p. <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/13>. Available from: <http://www.iucnredlist.org/details/136197/0>
 44. Jordão JC, Ramos FN, Da Silva VX. Demographic parameters of *Akodon montensis* (Mammalia: Rodentia) in an Atlantic Forest remnant of Southeastern Brazil. *Mammalia*. 2010;74(4):395–400.
 45. Gonçalves P, Myers P, Vilela J, Oliveira J de. Systematics of species of the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in southeastern Brazil and implications for the biogeography of the Campos de Altitude. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan*. 2007;197(197):1–24.
 46. Talamoni SA, Couto D, Cordeiro Júnior DA, Diniz FM. Diet of some species of Neotropical small mammals. *Mammalian Biology*. 2008;73(5):337–41.
 47. Vieira EM, Paise G, Machado PHD. Feeding of small rodents on seeds and fruits: a comparative analysis of three species of rodents of the Araucaria forest, southern Brazil. *Acta Theriologica*. 2006;51(3):311–8.
 48. Redford K, Eisenberg J. TRIBE AKONDONTINI. Pp. “302” in *Mammals of the Neotropics*. Vol. 2; 1s. Chicago and London: The University of Chicago Press; 1989.
 49. Gentile R, Andrea PS D', Cerqueira R, Maroja LS. Studies on Neotropical Fauna and Environment Population dynamics and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural area : a five-year study Population dynamics and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural area : a five-yea. *Stud Neotrop Fauna & Environm*. 2000;35:1–9.
 50. Bergallo HDG, Magnusson WE. Effects of Climate and food availability on four

- Rodent Species in Southeastern Brazil. *Journal of Mammalogy*. 1999;80(2):472–86.
51. Eisenberg JF, Redford KH. *Mammals of the Neotropics, Vol 3: The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. Vol. 3.* University of Chicago Press; 1999. 624 p.
 52. Myers N, Fonseca GAB, Mittermeier R a, Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature [Internet]*. 2000;403(6772):853–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10706275>
 53. Atlântica FSM, Espaciais IN de P. *ATLAS DOS REMANESCENTES FLORESTAIS DA MATA ATLÂNTICA PERÍODO 2012-2013.* São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais; 2014. p. 1–61.
 54. ICMBio. <http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/mata-atlantica>. 2018.
 55. Rocha CFD. Biogeografia de répteis de Restingas: distribuição , ocorrência e endemismos. *Ecologia de restingas e lagoas costeiras*. 2000;(November 2015):99–116.
 56. Bergallo, H. G.; Fidalgo, E. C. C.; Rocha CFD., Uzêda, M. C.; Costa MB., Alves, M. A. S.; Van Sluys, M.; Santos, M. A.; Costa, T. C. e C. da; Cozzolino AC. *Estratégias e ações para a conservação da biodiversidade no Estado do Rio de Janeiro.* Instituto. Rio de Janeiro; 2009.
 57. Berto BP, McIntosh D, Lopes CWG. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Brazilian journal of veterinary parasitology [Internet]*.2014;23(1):1–15.Availablefrom: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24728354>
 58. Lom J, Arthur JR. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. *Journal of Fish Diseases*. 1989;12:151–6.
 59. Duszynski DW, Wilber PG. A guidelines for the preparation of species description in the Eimeriidae. *The Journal of Parasitology*. 1997;83(2):333–6.
 60. Šlapeta J. Ten simple rules for describing a new (parasite) species. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife [Internet]*. Australian Society for Parasitology; 2013;2(1):152–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2013.03.005>
 61. Frey JK, Yates TL, Duszynski D, Gannon WL, Lyell Gardner S. Critical Comment: Designation and Curatorial Management of Type Host Specimens (Symbiotypes) for New Parasite Species. *J Parasitol [Internet]*. 1992 [cited 2017Aug24];24:930–2.Availablefrom: <http://digitalcommons.unl.edu/parasitologyfacpubs>
 62. Box ED, Marchiondo AA, Duszynski DW, Davis CP. Ultrastructure of

- Sarcocystis Sporocysts from Passerine Birds and Opossums: Comments on Classification of the Genus Isospora. The Journal of Parasitology. 1980;66(1):68–74.
63. Molnár K. Eimerian infection in the gut of the tube-nosed goby *Proterorhinus marmoratus* (Pallas) of the River Danube. Systematic Parasitology. 1996;34(1):43–8.
 64. Bandoni SM, Duszynski DW. A plea for improved presentation of type material for coccidia. The Journal of parasitology [Internet]. 1988;74(4):519–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3294365>
 65. Relman DA, Schmidt TM, Gajadhar A, Sogin M, Cross J, Yoder K, et al. Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggests that it is closely related to *Eimeria* species. Journal of Infectious Diseases. 1996;173(2):440–5.
 66. Thomas F, Renaud F. Parasitism and Ecosystems. Parasitism and Ecosystems. 2007;1–231.
 67. Yun-Fen S, Buikema AI, Yongue WH, Pratt JR, Cairns J. Use of Protozoan Communities to Predict Environmental Effects of Pollutants. The Journal of Protozoology. 1986;33(2):146–51.
 68. Marquardt WC, Senger CM, Seghetti L. The Effect of Physical and Chemical Agents on the Oocyst of *Eimeria zurnii* (Protozoa, Coccidia). The Journal of Protozoology[Internet].1960;7(2):186–9.Availablefrom: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1960.tb00728.x>

ANEXO I



Marcos Miglionico <miglioni@gmail.com>

Your Submission PARE-D-17-01048R1

1 mensagem

From: Parasitology Research <em@editorialmanager.com>
Date: 2018-07-09 13:43 GMT-03:00
Subject: Submission Confirmation - PARE-D-18-00734
To: Marcos Tobias de Santana Miglionico <miglioni@gmail.com>

Dear Mr Miglionico,

Thank you for submitting your manuscript,
"Three new species of Eimeria Schneider 1875 in the Montane Grass Mouse, Akodon montensis (Rodentia: Sigmodontinae), and new record of Eimeria zygodontomyis Lainson and Shaw 1990 from southeastern Brazil", to Parasitology Research

The submission id is: PARE-D-18-00734
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following web site:

<https://pare.editorialmanager.com/>

Your username is: Miglionico

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page.

With kind regards,

Journals Editorial Office PARE
Springer

Now that your article will undergo the editorial and peer review process, it is the right time to think about publishing your article as open access. With open access your article will become freely available to anyone worldwide and you will easily comply with open access mandates. Springer's open access offering for this journal is called Open Choice (find more information on www.springer.com/openchoice). Once your article is accepted, you will be offered the option to publish through open access. So you might want to talk to your institution and funder now to see how payment could be organized; for an overview of available open access funding please go to www.springer.com/oafunding.

Although for now you don't have to do anything, we would like to let you know about your upcoming options.

ANEXO II



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: 45839-1	Data da Emissão: 07/11/2014 17:00	Data para Revalidação*: 07/12/2015
* 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: Rui Cerqueira Silva	CPF: 271.775.487-34
Título do Projeto: Rede BioM.A. Inventários: Padrões de diversidade, biogeografia e endemismo de espécies de mamíferos, aves, anfíbios, drosófilas e parasitos na Mata Atlântica	
Nome da Instituição: UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.663.683/0001-16

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	campanha de amostragem na estação chuvosa (previsão)	11/2014	12/2014
2	campanha de amostragem na estação seca (previsão)	06/2015	07/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Para as espécies presentes na lista brasileira da fauna ameaçada de extinção somente está autorizada a coleta/transporte de 2 indivíduos/espécie. As redes de neblinas deverão ser verificadas no mínimo de 30 em 30 minutos. As armadilhas utilizadas para a captura deverão ser vistoriadas pelo menos duas vezes ao dia (pela manhã e tarde) para minimizar a morte devido a hipó ou hipotermia. Os pit fall devem conter aparatos que diminuam stress (insolação e/ou afogamento) dos animais, os quais devem ser fechados ou retirados quando inativos.
2	1- Observar o previsto na Cartilha do Pesquisador do PARNASO. 2- Mesmo que as atividades ocorram fora das portarias do PARNASO, as datas deverão ser avisadas pelo email pesquisa.parnaso@icmbio.gov.br 3- As armadilhas de queda deverão ser mantidas fechadas entre as campanhas e deverão ser retiradas após a última campanha, caso não haja previsão de reutilização, e os buracos devem ser tampados com terra.

Equipe

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

Código de autenticação: 63173632



Página 1/5



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45839-1	Data da Emissão: 07/11/2014 17:00	Data para Revalidação*: 07/12/2015
* 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: Rui Cerqueira Silva	CPF: 271.775.487-34
Título do Projeto: Rede BioM.A. Inventários: Padrões de diversidade, biogeografia e endemismo de espécies de mamíferos, aves, anfíbios, drosófilas e parasitos na Mata Atlântica	
Nome da Instituição : UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.663.683/0001-16

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Emmanuel Messias Vilar Gonçalves da Silva	Pesquisador	083.915.474-77	7116928 sds-PE	Brasileira
2	Arnaldo Maldonado Junior	Pesquisador	483.865.107-49	03335854-0 I.F.P.-RJ	Brasileira
3	Jonathan Gonçalves de Oliveira	Aluno	128.600.487-07	256511163 DIC-RJ	Brasileira
4	Ana Cláudia Delciellos	pesquisador	082.413.777-97	12230885-1 IFP-RJ	Brasileira
5	Bernardo Rodrigues Teixeira	Pesquisador	083.331.997-39	11566950-9 IFP-RJ	Brasileira
6	Jeiel Gabrir Carvalhaes	Pesquisador	086.576.357-71	11987891-6 IFP-RJ	Brasileira
7	Michele Maria dos Santos	Técnico	057.199.577-23	13233941-7 DIC-RJ	Brasileira
8	Júlia Lins Luz	Pesquisadora	085.087.107-71	118696996 IFP-RJ	Brasileira
9	Luana Delfoente Fernandez	Aluno	120.565.197-71	203893409 Detran-RJ	Brasileira
10	André Campos Santana	Técnico	019.316.197-43	091942953 DETRAN-RJ	Brasileira
11	Fernanda Leite Marinho	Aluno	130.660.327-79	118287184 Detran-RJ	Brasileira
12	Alexander de Oliveira Maia	Aluno	119.824.957-90	113295414 DETRAN-RJ	Brasileira
13	Bruna Marcenos Gomes	Aluno	141.559.027-37	267906204 DICRJ-RJ	Brasileira
14	Camila dos Santos Lucio	Aluno	134.577.197-56	129872941 detran-RJ	Brasileira
15	Thiago dos Santos Cardoso	Aluno	115.803.577-25	215414772 DETRAN-RJ	Brasileira
16	Manoel Comes Muanis	Pesquisador	082.537.357-31	113526776 IFP-RJ	Brasileira
17	Natalie Olifiers	Pesquisadora	082.893.087-28	11416202-7 IFP-RJ	Brasileira
18	ROSANA GENTILE	Pesquisadora	023.643.507-86	081579054 IFP-RJ	Brasileira
19	Fernando de Oliveira Santos	Aluno	141.611.297-93	241839299 DETRAN-RJ	Brasileira
20	Victor Siqueira Pimentel	Aluno	104.459.267-24	208905216 dicrj-RJ	Brasileira
21	reginaldo dos santos honorato	Aluno	124.717.697-56	22503559-1 Detran-RJ	Brasileira
22	Roberto do Val Vilela	Pesquisador	165.927.918-61	14.828.857-1 SSP-SP	Brasileira
23	Letícia Lütke Riski	Aluno	137.974.897-65	21744281-3 Detran-RJ	Brasileira
24	PATRICIA FERNANDES HELIODORO DOS SANTOS	Aluno	100.173.857-84	115542870 DIC-RJ	Brasileira
25	Socrates Fraga da Costa Neto	Técnico	098.931.347-65	126332089 IFP-RJ	Brasileira
26	Suzy Emidio Ribeiro	Pesquisadora	082.878.446-90	280045246 DETRAN-RJ	Brasileira
27	Lucas Henriques de Carvalho Possi	Aluno	143.334.697-40	26.760.300-9 Detran-RJ	Brasileira

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

Código de autenticação: 63173632



Página 2/5



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45839-1	Data da Emissão: 07/11/2014 17:00	Data para Revalidação*: 07/12/2015
* 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: Rui Cerqueira Silva	CPF: 271.775.487-34
Título do Projeto: Rede BioM.A. Inventários: Padrões de diversidade, biogeografia e endemismo de espécies de mamíferos, aves, anfíbios, drosófilas e parasitos na Mata Atlântica	
Nome da Instituição : UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.663.683/0001-16

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		RJ	PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ORGAOS	UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Didelphimorphia, Lagomorpha, Cingulata, Chiroptera, Rodentia
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Chiroptera, Didelphimorphia, Lagomorpha, Rodentia, Cingulata
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Chiroptera (*Qtde: 20), Lagomorpha (*Qtde: 4), Cingulata (*Qtde: 4), Rodentia (*Qtde: 20), Didelphimorphia (*Qtde: 20)
4	Marcação de animais silvestres in situ	Didelphimorphia, Rodentia, Chiroptera

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Fragmento de tecido/órgão, Outras amostras biológicas(orgaos para hantavirozes (FIOCRUZ)), Sangue, Ectoparasita, Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Armadilha de queda "pit fall", Rede de neblina, Armadilha tipo gaiola com atração por iscas ("Box Trap/Tomahawk/Sherman")
3	Método de marcação (Outros mamíferos)	Brinco, Outros métodos de marcação(anilha para morcegos)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	coleção

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

Código de autenticação: 63173632



Página 3/5



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45839-1	Data da Emissão: 07/11/2014 17:00	Data para Revalidação*: 07/12/2015
* 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: Rui Cerqueira Silva	CPF: 271.775.487-34
Título do Projeto: Rede BioM.A. Inventários: Padrões de diversidade, biogeografia e endemismo de espécies de mamíferos, aves, anfíbios, drosófilas e parasitos na Mata Atlântica	
Nome da Instituição : UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.663.683/0001-16

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

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

Código de autenticação: 63173632



Página 4/5



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45839-1	Data da Emissão: 07/11/2014 17:00	Data para Revalidação*: 07/12/2015
* 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: Rui Cerqueira Silva	CPF: 271.775.487-34
Título do Projeto: Rede BioM.A. Inventários: Padrões de diversidade, biogeografia e endemismo de espécies de mamíferos, aves, anfíbios, drosófilas e parasitos na Mata Atlântica	
Nome da Instituição : UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.663.683/0001-16

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

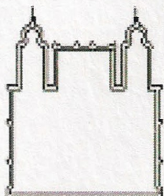
Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet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

Código de autenticação: 63173632



Página 5/5

ANEXO III



MINISTÉRIO DA SAÚDE / FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
VICE-PRESIDÊNCIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA-FIOCRUZ

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado :

" Avaliação da circulação de hantavirus entre roedores silvestres no estado do Rio de Janeiro e no estado do Paraná. "

número P-405/07, proposto por Paulo Sérgio D' Andrea, foi licenciado pelo N° L-049/08.

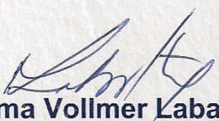
Sua licença de N° L-049/08 autoriza o uso anual de :

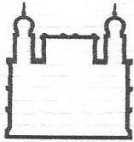
- 1540 *Didelphimorphia*

- 3350 *Rodentia*

Esse protocolo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi APROVADO pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA - FIOCRUZ). Na presente formatação, este projeto está licenciado e tem validade até 9 de junho de 2012.

Rio de Janeiro, 25/09/2008


Dra. Norma Vollmer Labarthe
Coordenadora da CEUA
FIOCRUZ



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Vice-presidência de Pesquisa e
Laboratórios de Referência



**Comissão de Ética
no Uso de Animais**

1

LICENÇA

LW-81/12

Certificamos que o protocolo (P-42/12.1), intitulado "**DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR TRIPANOSOMATÍDEOS EM MAMÍFEROS POTENCIAIS RESERVATÓRIOS NO BRASIL.**", sob a responsabilidade de **ANDRE LUIZ RODRIGUES ROQUE**, atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 26/11/2016 e inclui o uso total de:

Rodentia

- 600 Machos.
- 600 Fêmeas.

Marsupialia

- 600 Machos.
- 600 Fêmeas.

Chiroptera

- 200 Machos.
- 200 Fêmeas.

Carnivora

- 75 Machos.
- 75 Fêmeas.

(continua)


Octavio A. F. Presgrave
Coordenador
CEUA/FIOCRUZ
SIAPE 04626550

Comissão de Ética no Uso de Animais
Vice-presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência - Fundação Oswaldo Cruz
Av. Brasil, 4036 – Prédio da Expansão – sala 200 – Manguinhos – Rio de Janeiro / RJ
Telefone: (21) 3882.9121 e-mail: ceua@fiocruz.br

LICENÇA**LW-81/12**

(continuação da licença LW-81/12 - protocolo 42/12.1)

Cingulata

- 10 Machos.

- 10 Fêmeas.

Pilosa

- 10 Machos.

- 10 Fêmeas.

Canis familiaris

- 460 Machos.

- 460 Fêmeas.

Sus domesticus

- 100 Machos.

- 100 Fêmeas.

Bovinae

- 40 Machos.

- 40 Fêmeas.

Capra aegagrus hircus

- 40 Machos.

- 40 Fêmeas.

Rio de Janeiro, 26 de novembro de 2012.



Octavio Augusto França Presgrave

Coordenador da CEUA/FIOCRUZ

Octavio A. F. Presgrave
Coordenador
CEUA/FIOCRUZ
SIAPE 04626550