

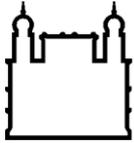
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Medicina Tropical

ESTUDO DE FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR
Toxoplasma gondii (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM PRIMATAS
NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS *Saimiri* spp. (LINNAEUS, 1758) NO
ICTB FIOCRUZ, RJ, BRASIL

CAROLINA ANDRADE DE OLIVEIRA

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2020



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

CAROLINA ANDRADE DE OLIVEIRA

Estudo de fatores de risco para a infecção por *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos neotropicais *Saimiri* spp. no ICTB, Fiocruz, RJ, Brasil

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical

Orientadora: Profa. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira

RIO DE JANEIRO
Fevereiro de 2020

de Oliveira, Carolina Andrade.

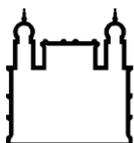
ESTUDO DE FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS *Saimiri* spp. (LINNAEUS, 1758) NO ICTB FIOCRUZ, RJ, BRASIL / Carolina Andrade de Oliveira. - Rio de Janeiro, 2020.
xx, 80f. f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2020.

Orientadora: Maria Regina Reis Amendoeira.

Bibliografia: f. 60-68

1. Infecção toxoplásmica. 2. *Saimiri* spp.. 3. RIFI. 4. MAT. 5. *T. gondii*. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: CAROLINA ANDRADE DE OLIVEIRA

Estudo de fatores de risco para a infecção por *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) em primatas não humanos neotropicais *Saimiri* spp. (LINNAEUS, 1758) no ICTB, Fiocruz, RJ, Brasil

ORIENTADORA: Profa. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira

Aprovada em: 18/02/2020

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Martha Cecilia Suarez-Mutis – Presidente (IOC-Fiocruz)

Profa. Dra. Márcia Cristina Ribeiro Andrade – Membro Titular (ICTB-Fiocruz)

Prof. Dr. Daniel de Almeida Balthazar – Membro Titular (UFRRJ)

Profa. Dra. Celeste da Silva Freitas de Souza – Membro Suplente (IOC-Fiocruz)

Profa. Dra. Claudia Maria Antunes Uchôa do Souto Maior – Membro Revisor/Suplente (Instituto Biomédico-UFF)

Rio de Janeiro, 18 de fevereiro de 2020.

Dedicatória

Ao meu Tio, Otávio Salustino de Andrade (*in memoriam*), pelas suas histórias e pelo amor e respeito pela vida, por ter vivido a palavra de Deus com tamanha retidão e ter me ensinado sobre ela.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu o sopro de vida, me sustenta e que está acima de todas as coisas.

À minha orientadora, Dra. Maria Regina Reis Amendoeira, por sua enorme colaboração para a ciência sendo uma grande pesquisadora e por te me dado a oportunidade de sua orientação.

À Médica Veterinária Thalita Pissinatti, que me recebeu de braços abertos e me acolheu. Também por sua generosa colaboração neste trabalho, sua paciência e por compartilhar seu conhecimento profissional com simplicidade e humildade.

À equipe do ICTB do setor de primatas da colônia de primatas do gênero *Saimiri*, técnicos, colaboradores, chefes e tecnólogos que me receberam tão bem e fizeram-me sentir parte da equipe. E também a equipe da Coordenação de Pesquisa e Experimentação Animal (CPEA-ICTB), especialmente a Dra. Márcia Andrade e o Mestre Igo Vieira.

Aos queridos alunos de iniciação científica do LabTOXO Felipe Vellozo, Mariana Pedrosa de Paula Guimarães e Thamires Bonifácio, que colocaram a mão da massa e me ajudaram a tornar esse trabalho possível. Desejo que vocês sejam completa e totalmente felizes e realizados profissional e pessoalmente.

À toda equipe do LabTOXO, principalmente à Dra. Ginette Villar Echarte, uma pessoa iluminada e uma Médica Veterinária maravilhosa. Obrigada, minha querida amiga.

À equipe do Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia, especialmente ao professor Luiz Otávio Pereira Carvalho pela contribuição valiosa e seus ensinamentos.

Ao programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, principalmente à coordenadora Dra. Martha Suarez Mutis, que é um ser humano ímpar.

Aos meus amigos da turma de pós-graduação, os melhores companheiros que eu poderia ter para caminhar esse percurso com mais leveza e força, principalmente Aline Monteiro e Priscilliana de Oliveira, minha “irmãzinha”.

À Fiocruz, por ser essa instituição de excelência e qualificar profissionais que são a força da ciência no Brasil, por lutar por eles e pela ciência nesses tempos sombrios.

À minha mãe, Maria José Andrade, que me cerca de amor, compreensão e me dá força e apoio para que eu prossiga buscando conhecimento e crescimento profissional e pessoal. Uma mulher sem igual a quem me espelho.

Ao meu pai, José Francisco de Oliveira, por ser um pai extraordinário.

Ao meu amor, Eliakim Costa Queiroz, que me ajudou em todo o período da pós-graduação, me deu apoio psicológico, compreensão, muito amor e todo o suporte. Você acreditou em mim mais do que eu mesma, obrigada. Você sabe do orgulho que sinto de você e da sorte grande que é ter você em minha vida. Obrigada pela vida compartilhada. Eu te amo.

À minha amiga Bruna Martins de Albuquerque, minha irmã de alma e de profissão, que me lembrava para observar as coisas boas durante a jornada.

À minha prima, Andreza Carvalho, a quem admiro e me faz ver que o caminho é esse, seguindo em frente.

Aos primatas que fizeram parte dessa pesquisa, sem eles não haveria projeto, não haveria ciência e não haveria esse desejo de fazer um mundo melhor para eles.

À Aisha, minha melhor companheira “de quatro patas do universo”, obrigada pelos momentos, por ter transformado o meu mundo e ter me dado o seu coração.

Ao Fred, pelos cantos, por me fazer rir e por ser tão grandioso mesmo dentro desse “pequeno corpo com penas”.

Às minhas pequenas grandes garotas, “Pipoca” e “Brisa”, por quem eu enfrento o mundo e por secarem minhas lágrimas.

Às minhas crianças emprestadas, “Paloma”, “Paçoca” e “Pituca”, por me ensinarem que a vida também é divertida e por me mostrarem que, às vezes, uma lambida é mais eficiente que um curativo.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para e realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Ausência de evidência não é evidência de ausência.”
– Carl Sagan



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ESTUDO DE FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS *Saimiri* SPP. (LINNAEUS, 1758) NO ICTB, FIOCRUZ, RJ, BRASIL

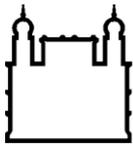
RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Carolina Andrade de Oliveira

Antes da década de 1950, a utilização de primatas não humanos (PNH) para pesquisas foi pouco explorada, ganhando força, principalmente após a criação de centros primatológicos. A criação desses centros mostrou-se necessária para o aprimoramento de estudos relacionados ao desenvolvimento de vacinas e compreensão das patogenias de doenças infecciosas, além da conservação, reprodução e manejo dos animais. O macaco-de-cheiro (*Saimiri* spp.) é um primata neotropical muito utilizado em pesquisas biomédicas, principalmente devido ao seu tamanho, fácil manejo e baixo custo de criação e manutenção. O gênero *Saimiri* demonstra uma grande suscetibilidade por *Toxoplasma gondii* e a presença da infecção toxoplásmica dentro de uma colônia é muito preocupante devido a possibilidade de surto. A alta mortalidade que a toxoplasmose causa nesses animais, pode dizimar toda uma população que é utilizada em diversos projetos de pesquisa. Levando em consideração as informações apresentadas, este estudo transversal descritivo teve como objetivo identificar fatores de risco para infecção por *T. gondii* na colônia de primatas do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), na cidade do Rio de Janeiro/RJ, Brasil, associado a levantamento sorológico para verificar a ocorrência da infecção em *Saimiri* spp.. Foi utilizado roteiro investigativo e entrevista estruturada aplicada aos funcionários da colônia, para identificar a presença de possíveis fatores de risco associados à infecção. A detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foi realizada por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e pela técnica de aglutinação modificada (MAT) em 125 animais. Apesar da identificação de fatores de risco para a infecção toxoplásmica por dados obtidos por meio do roteiro investigativo, não foi possível correlacionar esses fatores com a soropositividade encontrada. A entrevista estruturada revelou que 57% (4/7) dos trabalhadores da colônia já ouviram falar da toxoplasmose e 28% (2/7) conhecem aspectos básicos sobre a doença por meio de formação acadêmica e 29% (2/7) por meio da família. Neste estudo, 61,60% (77/125) das amostras eram de primatas fêmeas e 38,40% (48/125) eram machos. Os animais foram divididos em quatro faixas etárias: 4,80% (6/125) infantis (0 a 18 meses), 11,20% (14/125) juvenis (18 a 36 meses), 15,20% (19/125) subadultos (36 a 48 meses) e 68,80% (86/125) adultos (mais de 48 meses). Foi evidenciada soropositividade em 7,20% dos animais pela RIFI e 12,00% na MAT. Não foi observada diferença estatística significativa na associação entre a positividade sorológica e sexo, faixa etária e espécie, embora, tais variáveis sejam pontos importantes na discussão sobre o manejo para a redução dos fatores de risco e prevenção da toxoplasmose no plantel de primatas estudado.

Palavras-chave: Infecção toxoplásmica, *Saimiri* spp., RIFI, MAT, *T. gondii*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

STUDY OF RISK FACTORS FOR *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) INFECTION IN NEOTROPICAL NONHUMAN PRIMATES *Saimiri* SPP. (LINNAEUS, 1758) AT ICTB, FIOCRUZ, RJ, BRAZIL

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN MEDICINA TROPICAL

Carolina Andrade de Oliveira

Before the 1950s, the use of non-human primates (PNH) for research was little explored, gaining strength, especially after the establishment of primatological centers. The creation of these centers was necessary for the improvement of studies related to the development of vaccines and understanding of the pathogens of infectious diseases, besides the conservation, reproduction and management of animals. The squirrel monkey (*Saimiri* spp.) it is a neotropical primate widely used in biomedical research, mainly due to its size, easy handling and low cost of creation and maintenance. The genre *Saimiri* demonstrate a high susceptibility to *Toxoplasma gondii* and presence of toxoplasmic infection within a colony is very worrying due to a possibility of outbreak. High mortality that causes toxoplasmosis in animals can affect an entire population that is used in various research projects. Taking into account the available information, this cross-sectional study described the risk factor for *T. gondii* infection in the primate colony of the Institute of Science and Technology in Biomodels (ICTB) of the Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) in Rio de Janeiro / RJ, Brazil, associated with a serological survey to verify the occurrence of infection in *Saimiri* spp.. An investigative test and a structured interview with colony employees were used to identify the presence of possible risk factors associated with the infection. The detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies was performed by indirect immunofluorescence reaction (IFAT) and modified agglutination technique (MAT) in 125 animals. Although of the identification of risk factors for toxoplasmic infection by data obtained through the investigative script, it was not possible to correlate these factors with the seropositivity found. The structured interview revealed that 57% (4/7) of colony workers have heard of toxoplasmosis and 28% (2/7) know basic aspects of the disease through academic training and 29% (2/7) through of the family. In this study, 61.60% (77/125) of the species were female primates and 38.40% (48/125) were male. The animals were divided into four age groups: 4.80% (6/125) children (0 to 18 months), 11.20% (14/125) juveniles (18 to 36 months), 15.20% (19 / 125) sub-adults (36 to 48 months) and 68.80% (86/125) adults (over 48 months). Seropositivity was evidenced in 7.20% of animals by RIFI and 12.00% in MAT. No statistically significant difference was observed in the association between serological positivity and gender, age range and species, however, such variables is important in the discussion of the reduction of risk factors and the prevention of toxoplasmosis in the planting of primates studied.

Key words: Toxoplasmic infection, *Saimiri* spp., RIFI, MAT, *T. gondii*

ÍNDICE

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	1
1.1.1 Histórico do parasita.....	1
1.1.2 Taxonomia	2
1.1.3 Morfologia	3
1.1.4 Ciclo de vida.....	6
1.1.5 Mecanismo de transmissão	8
1.1.6 Fatores de risco para infecção por <i>T. gondii</i>	9
1.1.7 Patogenia e virulência	11
1.1.8 Diagnóstico	13
1.1.9 Epidemiologia.....	15
1.1.10 Ocorrência em primatas	17
1.2 <i>Saimiri</i> spp.	18
1.2.1 Manifestações clínicas da toxoplasmose.....	19
1.2.2 Tratamento.....	20
1.2.3 Prevenção e controle	22
1.3 Colônia de primatas do ICTB.....	23
1.4 Justificativa.....	24
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo Geral	25
2.1.1 Objetivos Específicos	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Considerações éticas	26
3.2 Delineamento do estudo.....	26
3.3 População estudada.....	27
3.4 Contenção animal	28
3.5 Coleta de sangue	29
3.6 Exames sorológicos	30
3.6.1 RIFI	31
3.6.2 MAT	32
3.7 Aplicação de TCLE e entrevista estruturada.....	34
3.8 Identificação de fatores de risco	34

3.9	Análise de fragmentos de tecido biológico - Histologia	35
3.10	Análise estatística dos dados	41
4	RESULTADOS	43
4.1	Exames sorológicos	43
4.1.1	Imunofluorescência indireta (RIFI)	43
4.1.2	Técnica de aglutinação modificada (MAT)	45
4.2	Fatores de risco identificados pela entrevista	47
4.3	Roteiro de identificação de risco	49
4.4	Histologia	52
5	DISCUSSÃO	53
6	PERSPECTIVAS	59
7	CONCLUSÕES	60
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
9	APÊNDICES E ANEXOS	71
	APÊNDICE I: Formulário I (Apoio técnico).....	71
	APÊNDICE II: Formulário II (Manejador alimentar).....	73
	APÊNDICE III: Formulário III (Responsável Veterinário)	75
	APÊNDICE IV: Roteiro de Identificação de Riscos	77
	ANEXO I: LICENÇA CEUA/ FIOCRUZ.....	78
	ANEXO II: Protocolo de Submissão CEP/ IOC	79
	ANEXO III: Comprovante de Cadastro no SisGen.....	81
	ANEXO IV: Autorização SisBio.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desenho esquemático da ultraestrutura do taquizoíta (à esquerda) e do bradizoíta (à direita) de <i>Toxoplasma gondii</i> (Adaptado – Fonte: Dubey <i>et al.</i> , 1998).	4
Figura 2. Desenho esquemático da ultraestrutura do esporozoíta de <i>Toxoplasma gondii</i> . (Adaptado – Fonte: Dubey <i>et al.</i> , 1998).....	5
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> . Esquema mostrando a biologia, infecção e replicação do parasito em seus hospedeiros (Adaptado – Fonte: Robert-Gangneux; Dardé, 2012).....	8
Figura 4. Fontes de infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> para outros animais, humanos e contaminação do meio ambiente (Adaptado – Fonte: Robert-Gangneux; Dardé, 2012).	9
Figura 5. (A) e (B) Primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. dentro de recinto na colônia do ICTB-Fiocruz. Fonte: autor.....	27
Figura 6. Contenção física de primata não humano do gênero <i>Saimiri</i> spp. Fonte: Thalita Pissinatti	28
Figura 7. Procedimento de coleta de amostra de sangue em <i>Saimiri</i> spp. Fonte: Thalita Pissinatti	29
Figura 8. (A) Fluxograma resumido da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta. Fonte: autor	310
Figura 8. (B) Sensibilização da lâmina com adição de antígeno <i>T. gondii</i> . Fonte: Autor. (C) Microscópio de epi-fluorescência Nikon® eclipse 400 para leitura das lâminas de RIFI. Fonte: Autor.....	31
Figura 8. (D) Leitura em microscópio de epi-fluorescência de lâmina de RIFI positiva. Fonte: Autor (E) – Leitura em microscópio de lâmina de RIFI positiva. Fonte: Autor.....	32
Figura 9. (A) Fluxograma resumido da reação de Aglutinação Modificada. Fonte: autor. (B) Diluição de controles negativo e positivo e de amostras em placa em fundo chato. Fonte: Autor. (C) Leitura de MAT em contraste escuro ao da placa de fundo em “u”. Fonte: Autor.....	32

Figura 10. Frascos com solução de formaldeído à 10% tamponado, devidamente identificados contendo fragmentos de órgãos coletados em necropsia. Fonte: Autor.....366

Figura 11. (A) Cassetes histológicos em cesta para processamento automático das etapas de desidratação e clarificação. Fonte: Autor **(B)** Processador Lupetec PT05 para histologia. Fonte: Autor**Erro! Indicador não definido.**

Figura 12. Impregnação em parafina utilizando o compartimento aquecido da central de inclusão e realização de aferição periódica da temperatura com termômetro de mercúrio para controle da faixa térmica. Fonte: Autor**Erro! Indicador não definido.**

Figura 13. (A) Microtomia dos blocos histológicos. Fonte: Autor **(B)** Imersão em banho Maria das fitas de parafina com cortes histológicos feito em micrótopo para esticar eventuais dobras formadas no corte. Fonte: Autor38

Figura 14. Bateria de reagentes para coloração de hematoxilina-eosina. Fonte: Autor.....389

Figura 15. Secagem em temperatura ambiente das lâminas após selagem com etellan® e montagem com sobreposição de lamínulas. Fonte: Autor.....40

Figura 16. (A) Proximidade da colônia *Saimiri* spp. com a rede de esgoto e córrego com deposição de dejetos. Fonte: Autor. **(B)** Limpeza diária dos recintos com jato de água pressurizada. Fonte: Autor. **(C)** Animais de vida livre em proximidade ao recintos dos primatas *Saimiri* spp. Fonte: Autor40.....51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo sexo, RJ, 2020	43
Tabela 2. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo faixa etária, RJ, 2020	44
Tabela 3. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo espécie, RJ, 2020	44
Tabela 4. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por MAT em 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo sexo, RJ, 2020	45
Tabela 5. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por Teste de Aglutinação Modificado (MAT) em 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo faixa etária, RJ, 2020	45
Tabela 6. Soroprevalência anti-IgG- <i>Toxoplasma gondii</i> por teste de aglutinação modificado (MAT) em 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz segundo espécie, RJ, 2020	46
Tabela 7. Resultados da sorologia para pesquisa de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> por meio das técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e teste de Aglutinação Modificado (MAT) de 125 primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB – Fiocruz, RJ, 2020.....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Fármacos e suas respectivas posologias sugeridos para o tratamento da infecção por <i>T. gondii</i> em primatas não humanos.....	211
Quadro 2. Fórmula de Kappa	411
Quadro 3. Valores de referência para interpretação do coeficiente Kappa, segundo Landis e Koch, 1977	42
Quadro 4. Fatores de risco para infecção por <i>Tooplasma. gondii</i> avaliados na colônia de primatas não humanos <i>Saimiri</i> spp. do ICTB-Fiocruz, RJ, segundo roteiro aplicado em visitação à colônia.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Conhecimento dos sete Funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp. sobre a Toxoplasmose.....47
- Gráfico 2.** Fontes pelas quais os sete Funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp. obtiveram informações sobre a toxoplasmose..47
- Gráfico 3.** Formas de transmissão da toxoplasmose segundo os sete funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp.....48
- Gráfico 4.** Local de atuação dos sete Funcionários do ICTB-Fiocruz setor de Primatas não humanos *Saimiri* spp. que trabalham em outras colônias488
- Gráfico 5.** Frequência de visitas à outras colônias dos funcionários do ICTB-Fiocruz setor de primatas não humanos *Saimiri* spp.....49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

µL	Microlitros
µm	Micrometros
mg	Miligramas
mL	Mililitros
g	Gramas
cm	Centímetros
2-ME	2-beta-mercaptoetanol
BID	Duas vezes ao dia, a cada 12 h (do latim “ <i>bis in die</i> ”)
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAPRIM	Centro Argentino de Primatas
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CENP	Centro Nacional de Primatas
CEUA	Comitê de Ética do Uso de Animais
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPEA	Coordenação de Pesquisa e Experimentação Animal
CPRJ	Centro de Primatologia do Rio de Janeiro
CP-UnB	Centro de Primatologia da Universidade de Brasília
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática (do inglês “ <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> ”)
EUA	Estados Unidos da América
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
HD	Hospedeiro definitivo
HI	Hospedeiro intermediário
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ICTB	Instituto de Ciências e Tecnologia em Biomodelos
IFAT	<i>Indirect fluorescent antibody</i>
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M

IHA	Inibição da hemaglutinação
IM	Via de administração intramuscular
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
IPR	<i>Institute for Primate Research</i>
LabTOXO	Laboratório de Toxoplasmose e outras protozooses
LAT	Técnica de aglutinação em Látex (do inglês " <i>Latex Fixation Test</i> ")
LTDA	Limitada
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MAT	Técnica de Aglutinação Modificada (do inglês " <i>Modified Agglutination Test</i> ")
MS	Ministério da Saúde
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
P.A.	Puro para análise
PBS	Solução tampão de fosfato (do inglês " <i>phosphate buffered solution</i> ")
PCR	Reação em cadeia da Polimerase (do inglês " <i>polymerase chain reaction</i> ")
PNH	Primatas Não Humanos
PO	Via de administração oral (do latim " <i>per os</i> ")
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RJ	Rio de Janeiro
<i>S. scireus</i>	<i>Saimiri sciricus</i>
<i>S. ustus</i>	<i>Saimiri ustus</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
spp	Espécies
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Toxoplasma gondii*

O protozoário *Toxoplasma gondii* é um coccídio intracelular obrigatório responsável pela toxoplasmose, uma infecção que acomete diversas espécies de mamíferos e aves, atingindo também o ser humano, sendo portanto, uma zoonose (Amendoeira *et al.*, 2012; Frenkel; Bermudez, 2015).

1.1.1 Histórico do parasito

A descrição de *T. gondii* ocorreu quase que concomitantemente em dois continentes e em espécies de animais diferentes. Em 1908, Splendore descreveu o parasito em coelhos, em São Paulo, Brasil. No mesmo ano, o protozoário foi isolado na Tunísia, África do Norte, pelos pesquisadores Nicolle e Manceaux em um roedor e o denominaram de *Leishmania gondii*. Em 1909, Nicolle e Manceaux nomearam o protozoário de *Toxoplasma gondii* (Amendoeira *et al.*, 2012; Frenkel; Bermudez, 2015).

Por muitos anos, o parasito foi detectado em humanos e coelhos, camundongos, macacos, frangos e outros mamíferos e aves de diferentes espécies, pensando-se que o protozoário apresentava espécies distintas para cada hospedeiro. Essa conduta manteve-se até que em 1939, foram desenvolvidas estratégias que possibilitaram comparações biológicas e imunológicas e forneceram evidências de que várias espécies, de origem humana e de outros animais como coelhos e camundongos, eram idênticas entre si, indicando pertencer a uma única espécie, *T. gondii* (Sabin, 1939; Tenter; Johnson, 1997).

Em levantamento bibliográfico realizado no Brasil de 1908 a 1975, foi observado um aumento de informações sobre a doença humana a partir de 1950, propiciada pelo aprimoramento de técnicas de diagnóstico, tornando evidente a importância da toxoplasmose como doença zoonótica. Durante esse período foram esclarecidas diversas questões referentes ao ciclo biológico do parasito por diferentes pesquisadores, que possibilitou a conclusão de que o gato e outros felídeos seriam os hospedeiros definitivos de *T. gondii* (Hyakutake; Mearim, 1976).

No ano de 1972, a família *Felidae* foi considerada a única em que o parasito desenvolve seu ciclo sexuado, descoberta segundo Hyakutake; Mearim (1976) por meio de estudos desenvolvidos por Jewel, Miller e Jamitschke, que consideraram como característica da fase sexuada do protozoário a excreção de oocistos nas fezes. Em contrapartida, os hospedeiros intermediários apresentavam somente o ciclo assexuado por endodiogenia e esquizogonia. Desse modo, a classificação taxonômica de *T. gondii*, que até aquela data era incerta, passou a ser situada no filo *Protozoa* e subfilo *Apicomplexa* e por sua forma de reprodução bem particular (por endodiogenia), foi criada a subordem *Endodiococcidia*, (Hyakutake; Mearim, 1976).

1.1.2 Taxonomia

Há duas classificações para o protozoário, ambas são utilizadas atualmente uma baseada em características evolucionárias e outra em informações filogenéticas. Segundo Levine *et al.* (1980), *Toxoplasma gondii* é classificado em:

- Filo: Apicomplexa (Levine, 1970)
- Classe: Sporozoea (Leuckart ,1879)
- Subclasse: Coccidia (Leuckart ,1879)
- Ordem: Eucoccidiida (Leger e Duboscq, 1910)
- Subordem: Eimeriina (Leger, 1911)
- Gênero *Toxoplasma* (Nicolle e Manceaux, 1909)
- Espécie: *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909)

Considerando informações filogenéticas, de acordo com Adl *et al.* (2012), a classificação do parasito, insere-se em:

Super grupo: SAR (Adl *et al.*, 2012);

- Alveolata (Cavalier-Smith, 1991);
- Apicomplexa (Levine 1980, emend. Adl et al. 2005) ;
- Conoidasida (Levine, 1988) ;
- Coccidia (Leuckart, 1879) ;
- Eucoccidiorida (Leuckart, 1879);
- Eimeriorina (Léger, 1911);
- Toxoplasma (Nicolle e Manceaux, 1909);

●●●●●●●●●● *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909)

1.1.3 Morfologia

O parasito apresenta diversas formas evolutivas em seu ciclo biológico, sendo descritos três estágios infectivos de *T. gondii*, nomeados por taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

Taquizoítos

São formas evolutivas de reprodução rápida do protozoário, que geralmente caracterizam a infecção aguda em hospedeiros intermediários. Também denominados de endozoítos ou forma proliferativa, multiplicam-se por sucessivas endodiogenias, onde há a formação de novos organismos por brotamento interno em células filhas no interior de células mãe no vacúolo parasitóforo, dentro da célula hospedeira. Possuem formato alongado, brevemente arqueado e podem medir de 2 a 4 µm de largura e entre 4 a 8 µm de comprimento (Amendoeira *et al.*, 2012; Frenkel; Bermudez, 2015).

Os taquizoítos apresentam a extremidade anterior mais delgada do que a posterior e diversas estruturas internas características do Filo Apicomplexa (**Figura 1**) que auxiliam o protozoário durante a invasão celular como roptrias, micronemas, microporo, mitocôndrias, microtúbulos subpediculares, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, ribossomos, núcleo e vacúolo de glicogênio (Amendoeira *et al.*, 2012; Frenkel; Bermudez, 2015).

Os taquizoítos podem se reproduzir em qualquer célula nucleada de mamíferos ou aves, o que torna o parasito pouco específico em relação as estruturas que são afetadas pelo mesmo (Amendoeira *et al.*, 2012).

Bradizoítos

São formas de reprodução lenta do parasito, correlacionadas à fase crônica da infecção e podem ser encontradas dentro de cistos teciduais. Sua reprodução é

de forma assexuada, por meio da endodiogenia no interior de cistos (Amendoeira *et al.*, 2012).

Os cistos, que por vezes chegam até 100 μm , contendo bradizoítos se desenvolvem, principalmente, em tecido nervoso, retina, músculo cardíaco e esquelético, mas podem ser observados em qualquer tecido. Os bradizoítos possuem tamanho aproximado de 2 μm de largura por 7 μm de comprimento e são semelhantes aos taquizoítos (**Figura 1**), no entanto, apresentam grande quantidade de grânulos de amilopectina, ao contrário dos taquizoítos (Dubey *et al.*, 1998).

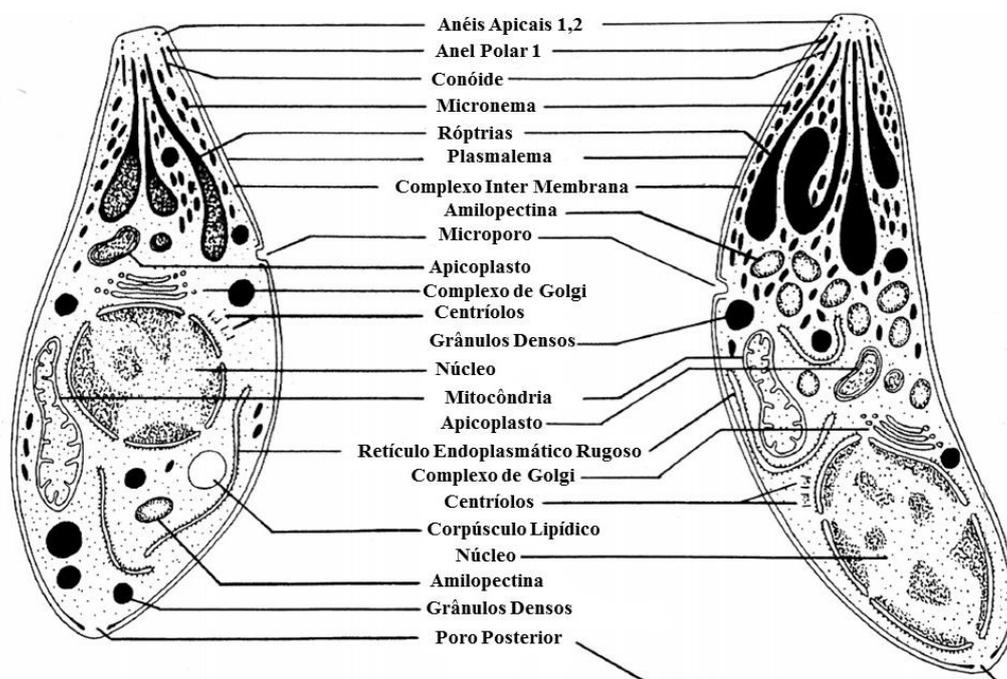


Figura 1. Desenho esquemático da ultraestrutura do taquizoíto (à esquerda) e do bradizoíto (à direita) de *Toxoplasma gondii* (Adaptado – Fonte: Dubey *et al.*, 1998).

Durante a formação dos bradizoítos, o vacúolo citoplasmático passa a compor a cápsula do cisto e não há participação do núcleo da célula hospedeira. Essa cápsula apresenta resistência e elasticidade, sendo uma estrutura que protege os bradizoítos em seu interior das ações de resposta imunológica do organismo do hospedeiro (Frenkel; Bermudez, 2015).

Os bradizoítos são adaptados para sobreviver por longos períodos e dentro dos cistos, que permanecem intracelular. Porém, se ocorre ruptura da célula hospedeira devido a sua morte, os cistos podem se romper e liberar os bradizoítos,

que por serem resistentes a pepsina ácida (de uma à duas horas na pepsina-HCl) possibilitando a sua transmissão por meio da ingestão (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

Esporozoítos

Os oocistos eliminados pelos felídeos não são infectantes (não esporulados) até que permaneçam no ambiente por tempo suficiente (de um a cinco dias) e em condições climáticas ideais (aeração e temperatura) para que esporulem. Em cada oocisto infectante são encontrados dois esporocistos e dentro de cada um desses, há quatro esporozoítos (Hill *et al.*, 2005). O desenho esquemático de um esporozoíto pode ser visto na **figura 2**.

Os oocistos não esporulados podem medir cerca de 11x 13 μm , enquanto que os esporocistos um pouco menores que esses primeiros, medem aproximadamente 6x8 μm (Dubey, 2010) e os esporozoítos, estruturas ainda menores, medem entre 2x6 a 2x8 μm (Hill *et al.*, 2005).

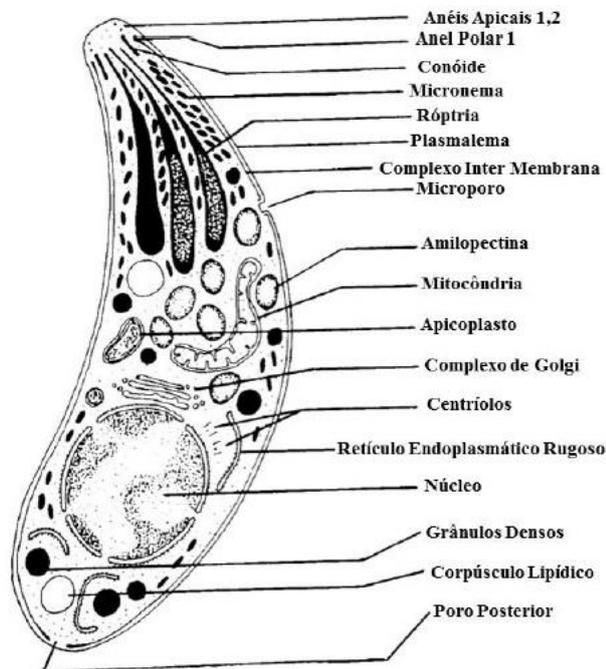


Figura 2. Desenho esquemático da ultraestrutura do esporozoíto de *Toxoplasma gondii*. (Adaptado – Fonte: Dubey *et al.*, 1998).

1.1.4 Ciclo de vida

O ciclo de vida do parasito é heteroxêno facultativo, com dois hospedeiros: hospedeiro definitivo (HD) ou completo e hospedeiro intermediário (HI). Os HDs podem apresentar o ciclo enteroepitelial, de reprodução sexuada e também o ciclo extraintestinal, com formação de cistos contendo bradizoítos ou presença de grupos de taquizoítos em tecidos. Resumindo, no ciclo de vida do parasito dentro do HD podem ser observadas formas sexuadas e assexuadas do protozoário. Nos HIs ocorre apenas o ciclo extraintestinal, em que são observadas as formas assexuadas (Robert-Gangneux; Dardé, 2012; Tenter; Johnson, 1997).

- **No hospedeiro definitivo (HD)**

A infecção por *T.gondii* nos HDs ocorre, principalmente, quando na predação, há ingestão de tecidos de HIs contendo cisto do parasito. No estômago dos HDs, as paredes dos cistos são destruídas por enzimas gástricas e liberam bradizoítos, que penetram nos enterócitos. Nestes, os bradizoítos passam por multiplicação assexuada autolimitante marcada pelo desenvolvimento de esquizontes contendo merozoítos. Esses esquizontes se rompem e liberam os merozoítos, que invadem outros enterócitos, iniciando a reprodução sexuada, que só ocorre nos HDs (felídeos selvagens e gatos domésticos) e pode ser observada na **Figura 3**. Após a formação de gametas femininos e masculinos, ocorre a fertilização, produzindo oocistos não esporulados, que são liberados, com a ruptura dos enterócitos, e excretados nas fezes dos felídeos em um período de três a sete dias após a ingestão do cisto pelo HD, podendo continuar sendo eliminados por até três semanas (Robert-Gangneux; Dardé, 2012). No ambiente, os oocistos esporulam em condições favoráveis, onde há oxigênio, umidade e temperatura ideal (faixa de 20 ° a 30 °C), em um intervalo de um a cinco dias, tornam-se uma das formas infectantes do protozoário podendo infectar uma grande variedade de HIs e contaminar alimentos, solo e a água (Frenkel; Bermudez, 2015; Robert-Gangneux; Dardé, 2012). Além disso, os oocistos podem ser uma fonte de infecção para os felinos, embora de forma menos eficiente (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

Apesar da fragilidade dos taquizoítos e sua fácil destruição por enzimas digestivas e pouca chance de sobrevivência no ambiente, devido a sua alta sensibilidade às condições climáticas, os taquizoítos podem, penetrar a mucosa do hospedeiro caso este consuma alimentos como leite não pasteurizado contendo as formas infectantes. Embora, essa forma de transmissão não seja considerada importante epidemiologicamente (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

- **No hospedeiro intermediário (HI)**

O HI se infecta ao ingerir o oocisto esporulado e no sistema gastrointestinal tem suas paredes destruídas pelas enzimas proteolíticas, liberando os esporozoítos. Por sua vez, os esporozoítos penetram nas células do epitélio intestinal e se diferenciam em taquizoítos, que se replicam de forma acelerada por endodiogenia e penetram indistintamente nas células do hospedeiro (**Figura 3**), disseminando-se por todo organismo do indivíduo (Dubey, 2009; Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

Em um segundo momento, os taquizoítos se diferenciam em bradizoítos, formando os cistos nos tecidos que se replicam por endodiogenia, porém, mais lentamente. Os cistos têm tropismo por tecidos nervosos, principalmente, sistema nervoso central (SNC), mas também se localizam na região ocular, músculos cardíaco e esquelético. Apesar da predileção, os cistos podem ser encontrados em outras regiões do corpo como pulmão, fígado e rins, mas em menores proporções (Dubey, 2010).

Após formados, os cistos já são uma forma infectante caso o HI seja predado pelo HD ou por outros HIs. Essa forma infectante pode permanecer no HI por tempo indeterminado, persistindo durante a vida do hospedeiro. Pode ocorrer a reativação da infecção toxoplásmica devido a ruptura e formação de novos cistos, embora os mecanismos envolvidos diretamente ainda não sejam conhecidos (Dubey, 2010).

A infecção do HI também pode ocorrer pelo consumo de leite e derivados não pasteurizados contendo taquizoítas, que penetram na mucosa do HI e iniciam o ciclo de replicação (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

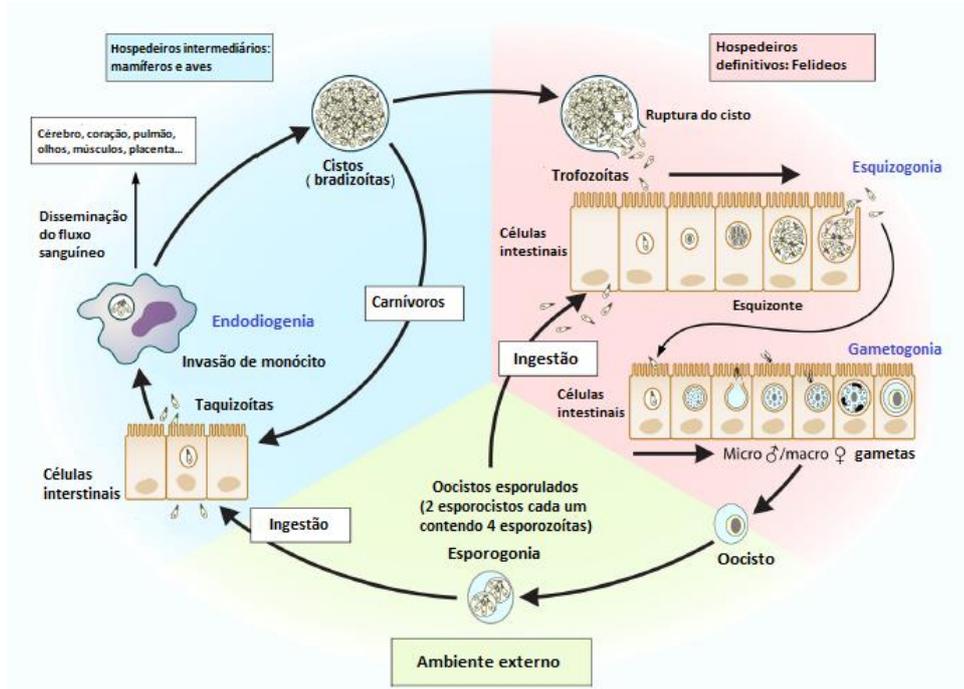


Figura 3. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. Esquema mostrando a biologia, infecção e replicação do parasito em seus hospedeiros (Adaptado – Fonte: Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

1.1.5 Mecanismo de transmissão

A transmissão do parasito (**Figura 4**) pode ocorrer entre o hospedeiro definitivo e o hospedeiro intermediário pela forma evolutiva produzida no ciclo sexuado, mas também pelas formas produzidas no ciclo assexuado, entre hospedeiros intermediários por meio de carnivorismo ou ainda, entre hospedeiros definitivos (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

A ingestão de qualquer uma das três formas infectantes do parasito é classificada em transmissão horizontal: ingestão de oocistos esporulados por qualquer grupo animal devido a contaminação fecal de alimentos e água com oocistos esporulados; ingestão de taquizoítos e ou bradizoítos em cistos teciduais pelos animais predadores ou consumo de carne crua ou malcozida por humanos (Dubey *et al.*, 1998). A transmissão vertical ocorre por meio da transmissão transplacentária de taquizoítos (congênita) ou transmamária (Dubey *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 2006).

Em infecções congênitas de outros animais e humanos, os taquizoítos atravessam a barreira placentária na primoinfecção durante a gravidez e podem

determinar consequências graves como parto prematuro, aborto, morte fetal e mal formações ou diminuição da qualidade de vida para o feto/embrião (Bresciani *et al.*, 2001; Frenkel; Bermudez, 2015).

Outras formas de transmissão do parasito, mesmo que com menor impacto epidemiológico, não podem ser ignorados, como transplante de órgãos infectados com bradizoítos ou taquizoítos, transfusão sanguínea e outros elementos do sangue, acidentes de laboratório envolvendo a manipulação de formas infectantes de *T. gondii*, ingestão de leite ou contato com saliva contaminados e por meio de artrópodes vetores mecânicos de oocistos (Amendoeira *et al.*, 2012).

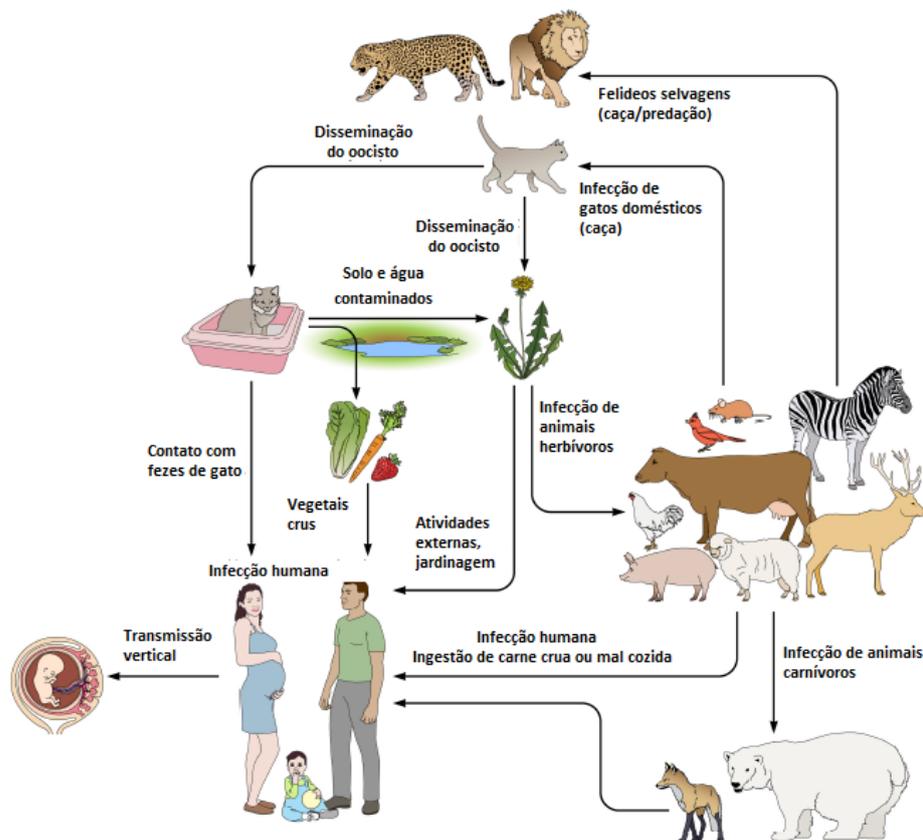


Figura 4. Fontes de infecção por *Toxoplasma gondii* para outros animais, humanos e contaminação do meio ambiente (Adaptado – Fonte: Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

1.1.6 Fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii*

A água e os alimentos contendo formas infectantes do parasito são fontes de infecção para os HDs e HIs, devido a ingestão de oocistos de *T. gondii*. (Hill; Dubey,

2005). A desinfecção de frutas, verduras e vegetais para consumo com cloro não é suficiente para inativar as formas do parasito, por isso, a higienização mecânica é uma etapa importante no processo de preparo dos alimentos. Além disso, deve-se considerar a origem da água para higienização (poço, fornecimento por empresa, caminhão pipa, açudes, entre outros), escolhendo a de melhor qualidade, que tenha tratamento como filtração e floculação capazes de deter a maior quantidade de oocistos possível (Amendoeira *et al.*, 2012; Robert-Gangneux; Dardé, 2012). Como produtos químicos tem baixa eficácia, os meios de desinfecção mais confiáveis e rápidos são água fervente e calor seco (1-2 min entre 55 e 60°C) para destruição de oocistos do solo. Mas em casos de contaminação da pele, mesmo a água e sabão são capazes de descontaminar as formas do parasito presentes (Robert-Gangneux; Dardé, 2012; Frenkel; Bermudez, 2015).

Outro alimento que é potencialmente uma fonte de infecção é a carne a ser consumida, que pode conter cistos do parasito. Por isso é importante que os produtos cárneos servidos aos animais não sejam oferecidos crus ou malcozidos (Cunningham *et al.*, 1992).

A presença de animais sinantrópicos, como roedores e pássaros, pode provocar o comportamento altamente territorialista de alguns animais, principalmente primatas não humanos, que predam e consomem os intrusos dos recintos, se infectando com cistos de *T. gondii* presente nos músculos das presas (Dietz *et al.*, 1997; Bouer *et al.*, 1999; Carme *et al.*, 2009).

Gatos domésticos errantes podem interagir com os primatas não humanos e isso pode levar a infecção do animal e contaminação do ambiente. Outros animais que não HIs ou HDs, como moscas, baratas, besouros, e outros podem disseminar os oocistos por carreamento mecânico por meio de suas patas e pelos (Bouer *et al.*, 1999; Hill; Dubey, 2002).

Um dos riscos de infecção por *T. gondii* em zoológicos e criadouros é o compartilhamento de ferramentas e materiais entre colônias, pois, estes contaminados com as formas infectantes podem possibilitar que, durante o manejo, os oocistos entrem em contato com o corpo do animal e, acidentalmente, sejam ingeridos (Bouer *et al.*, 1999; Dubey, 2010).

O contato entre animais suspeitos da infecção e animais saudáveis pode levar a transmissão de formas do parasito, considerando as diferentes formas de contágio de *T. gondii* (Furuta *et al.*, 2001).

1.1.7 Patogenia e virulência

O potencial patogênico de *T. gondii* varia de acordo com as diferentes espécies de hospedeiros, variando entre a infecção assintomática e doença fatal ou quadro intermediário entre esses extremos. A interação entre hospedeiro e parasito e os fatores envolvidos definem o curso da infecção toxoplásmica. São fatores relacionados ao parasito: dose infectante, via de infecção, o tipo da linhagem e a patogenicidade do mesmo que determinará o percurso da patogenia. Considerando o hospedeiro, os fatores mais relevantes são: a espécie infectada, idade do hospedeiro e o estado imunológico (Innes, 1997).

Segundo estudos desenvolvidos nos Estados Unidos e na Europa, há linhagens clonais de cepas de *T. gondii*, classificadas em: tipo I, que é mais patogênica; tipos II e III, que são de patogenicidade relativamente baixa (Amendoeira *et al.*, 2012). No Brasil e em outras partes do mundo, ocorrem cepas não clonais, recombinantes ou atípicas observadas em isolados de cães, gatos, gambás e ratos (Dubey *et al.*, 2009; Dubey *et al.*, 2010; Moussa, 2014).

Apesar dos diferentes tipos de cepas, não há confirmação de que um dos tipos seja mais ou menos virulenta que a outra em diferentes hospedeiros. A virulência é relativa, pois uma cepa que pode causar doença grave em um hospedeiro pode ser assintomática para o outro (Boothroyd; Grigg, 2002).

Também pode ocorrer a necrose de tecidos ou o infarto necrosado por comprometimento vascular em consequência da destruição celular ou ruptura de cistos com consequente resposta inflamatória (Bhopale, 2003).

A infecção na maioria dos casos é assintomática, em humanos imunocompetentes e em outros animais, mas em casos de infecção materna e consequente transmissão ao concepto, o feto pode ser gravemente afetado (Randall; Hunter, 2011).

As lesões ocasionadas pelo parasito são principalmente em tecidos de difícil ou nenhuma regeneração como cérebro, músculos e olhos, havendo substituição do tecido lesionado por fibrose (Handall; Hunter, 2011). Em locais como pulmão e fígado, as lesões são de difícil percepção, geralmente achados durante a necropsia (Cunnigham *et al.*, 1992).

Em humanos, a infecção por *T. gondii* geralmente não causa sintomas, mas podem ocorrer manifestações da toxoplasmose em alguns casos, sinais como a apatia, fadiga, dor de cabeça, transpiração excessiva e dores musculares e articulares. Também pode ocorrer febre leve e as erupções dérmicas podem acontecer mais raramente. Quando esses sintomas e sinais clínicos se apresentam acompanhados de linfadenomegalia, a suspeita de toxoplasmose torna-se um dos diagnósticos diferenciais na conduta clínica. O aumento das glândulas linfáticas é considerada uma manifestação característica da doença causada por *T. gondii* e pode perdurar por semanas ou meses (Dubey, 2010).

Um dos sinais clínicos mais frequentes na toxoplasmose adquirida é a doença ocular, uma das principais causas de uveíte posterior e também da cegueira congênita, que é qualificado pela retinocoroidite, importante inflamação ocular (Alves *et al.*, 2010; Dubey, 2010). Em indivíduos imunocomprometidos, a toxoplasmose pode acometer concomitantemente o Sistema Nervoso Central e estruturas oculares (Alves *et al.*, 2010). Os casos de toxoplasmose aguda adquirida em imunocompetentes geralmente são assintomáticos, embora o tratamento deva ser feito em caso onde a infecção ocorreu por acidente laboratorial, pois costumam ser casos mais graves (Frenkel; Bermudez, 2015).

O risco de ocorrência de infecção congênita é menor no primeiro trimestre do que no terceiro trimestre. Porém, os bebês acometidos mais prematuramente são os indivíduos mais gravemente acometidos se comparados aos que são afetados mais tardiamente durante a gravidez (Dubey, 2010; Frenkel; Bermudez, 2015) .

São diversas manifestações que podem ser observadas na infecção congênita, que variam de abortos espontâneos (pouco frequente), nascimento de bebês nascidos mortos, bebês com doença grave ou crianças que nascem assintomáticas. Nos primeiros relatos de infecção toxoplásmica transplacentária, foram observados quadros de encefalomielite, em maioria (Dubey, 2010; Frenkel; Bermudez, 2015).

Apesar de não muito comum, o acúmulo de líquido no cérebro (hidrocefalia) ocorre como resposta do organismo ao parasito. Albert Sabin sugeriu nos primeiros anos da década de 1950, a chamada tríade de sinais para toxoplasmose congênita, que incluía hidrocefalia ou microcefalia, retinocoroidite e calcificação intracraniana. Sendo mais comum a presença de problemas oculares como nistagmo, estrabismo, catarata e possível cegueira (Dubey, 2010; Frenkel; Bermudez, 2015).

A doença congênita, em grande parte, apresenta sinais neurológicos mesmo se subclínica após o parto, aparecendo posteriormente, durante a infância ou mais tarde, na vida adulta e deixando sequelas graves (Dubey, 2010; Frenkel; Bermudez, 2015).

1.1.8 Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose é realizado pela complementação entre a avaliação clínica e os resultados de testes laboratoriais, que podem em conjunto confirmar a presença do protozoário (Hill; Dubey, 2002). Muitas vezes, os sinais clínicos podem ser inespecíficos, nestes casos são utilizadas duas ou mais técnicas laboratoriais associadas entre si (Hill; Dubey, 2002; Dubey, 2010). Desse modo, para que o diagnóstico seja confiável, é necessário o uso de técnicas laboratoriais padronizadas que o confirmem (Amendoeira *et al.*, 1999; Freitas, 2017).

Como métodos de diagnósticos laboratoriais, os métodos indiretos (sorologia) e métodos diretos (bioensaio-inoculação em camundongos, histopatologia e técnicas de biologia molecular - PCR) são utilizados para confirmação de *T. gondii* ou anticorpos contra o parasito (Gomes, 2004).

Comumente o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é baseado em testes sorológicos com a detecção de imunoglobulinas das classes IgG e IgM (Camargo *et al.*, 1995; Amendoeira, 1997; Spalding *et al.*, 2003; Fialho; Araújo, 2003; Jakubek *et al.*, 2006).

É essencial que seja previamente avaliado, de modo criterioso, o teste escolhido para o diagnóstico, pois as diferenças entre as técnicas podem refletir significativamente nos resultados, bem como o número de amostras analisadas, os insumos utilizados para realização das técnicas escolhidas e a interpretação do resultado pelo técnico (Camossi *et al.*, 2010).

A reação de imunofluorescência Indireta (RIFI) tem sido muito utilizada para a detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii* (Gomes, 2004, Batista; Gomes, 2018). A reação baseia-se na ligação entre antígenos íntegros do parasito, de anticorpos presentes no soro analisado e de um conjugado de anti-anticorpo ligado à fluoresceína. Assim, com os marcadores fluorocromos é possível visualizar e

quantificar a reação ocorrida em microscópio de Epifluorescência, sendo considerada como reação positiva aquela que apresenta fluorescência a partir da diluição 1:16 na cor verde (Hill; Dubey, 2002).

A Técnica de Aglutinação Modificada (MAT), se comparada à RIFI, é uma técnica sorológica que leva menos tempo para ser executada e possibilita a análise um maior número de amostras por vez. Porém, a leitura dos resultados demanda um tempo de incubação de 24 horas, diferentemente da RIFI, que é lida logo após a execução da técnica. Apesar disso, a MAT é menos subjetiva, não exige antígenos específicos para cada espécie, equipamento especial para leitura ou a varredura de vários campos em microscópio, tornando-a mais prática (Minho *et al.*, 2004). O antígeno pode ser armazenado durante meses à 4°C e funciona para diversas espécies (Desmonts; Remington, 1980).

A técnica consiste na remoção de IgM com a adição de 2-Mercaptoetanol, para detecção específica de IgG, que quando presentes se aglutinam junto aos taquizoítos inativados por formalina, formando uma rede, como uma malha fina observada no poço da placa. Quando a reação é negativa, há formação de um botão no fundo do poço (Dubey, 2010; Echarte, 2019).

A MAT é um método que demonstra grande sensibilidade para a detecção de infecções tardias ou crônicas. É considerada uma técnica de simples execução, confiável e de concordância satisfatória com a RIFI (Desmonts; Remington, 1980; Seefeldt *et al.*, 1989; Minho *et al.*, 2004).

Outras técnicas como Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e “immunoblot”, por exemplo, são métodos imunoenzimáticos que também são utilizados como ferramentas auxiliares para o diagnóstico da infecção toxoplásmica e têm como princípio a reação antígeno-anticorpo, similar à RIFI, utilizando conjugados de imunoglobulinas ligadas a enzimas que revelam a reação ocorrida por meio de cores (Vidotto *et al.*, 2015).

A histopatologia é mais uma técnica utilizada para diagnóstico laboratorial de *T. gondii*, onde são coletadas amostras de tecido por biópsia ou fragmentos biológicos originados de necropsias (Hill; Dubey, 2002; Dubey, 2010). Esses tecidos são fixados em solução tampão, sendo o de formalina à 10% a solução mais comumente utilizada, e então são processados para que ao final, se obtenham lâminas, que são coradas e analisadas em microscópio ótico, a fim de visualizar estruturas de formas infectantes do parasita. Entretanto, em muitas das pesquisas,

os cistos de *T. gondii* não são facilmente visualizados ou detectados (Esteban-Redondo *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 2006).

O bioensaio também é um método de detecção de formas de *T. gondii*, que consiste na inoculação em camundongo da amostra biológica coletada do indivíduo suspeito da infecção pelo parasito. O biomodelo pode ser substituído por cultura de células, ambos os testes demoram entre quatro e oito semanas, apesar da demora, são métodos eficazes de diagnóstico (Amendoeira *et al.*, 2012).

1.1.9 Epidemiologia

Em humanos, a soroprevalência da infecção por *T. gondii* aumenta com a idade, não varia muito entre os sexos e apresenta menor frequência em regiões frias, áreas quentes e áridas ou em altitudes elevadas. A variação na soroprevalência de *T. gondii* parece estar relacionada aos hábitos alimentares e de higiene, sendo a rota oral a principal fonte de infecção (Montoya; Liesenfeld, 2004). Em revisão sistemática sobre a soroprevalência da toxoplasmose, Pappas *et al.* (2009) evidenciaram frequências entre gestantes ou mulheres em idade reprodutiva no Brasil, variando de 61,1% a 77,5%. Para esses autores, o contato com o solo, roedores ou gatos, o consumo de carne mal cozida e o baixo nível educacional foram os fatores de risco mais relevantes.

Os oocistos podem permanecer viáveis por um longo período no meio ambiente, dependendo das condições favoráveis para sua manutenção. Segundo Dubey (2010), a contaminação de frutas e legumes por *T. gondii*, em natureza, não é um fato confirmado, ou mesmo se há eficácia na remoção de oocistos dos alimentos durante a higienização.

Embora, a infecção por *T. gondii* seja disseminada entre humanos e outros animais em todo o mundo, a frequência da infecção pode variar em diferentes áreas geográficas de um país ou de uma mesma região (Amendoeira *et al.*, 1995). As causas para essas variações ainda são desconhecidas. As condições ambientais e culturais podem determinar o grau de disseminação natural da infecção por *T. gondii*. A prevalência da infecção é maior em regiões com climas tropicais, áreas úmidas e menor altitude do que em climas temperados, áreas secas e altitude maior (Dubey, 2010).

Para a epidemiologia da infecção, a raça e etnia não são fatores que influenciam, a alta frequência em uma determinada população se deve aos seus hábitos e costumes. Por exemplo, na Região Sul do Brasil, onde a prática de ingerir embutidos artesanais é comum, a soroprevalência de *T. gondii* é alta (Spalding et al., 2005). O consumo de carne crua ou mal cozida é um hábito predominantemente ocidental e está relacionado a padrões de vida mais altos, porém essa prática aumenta o risco de ingestão de cistos de *T. gondii* na carne consumida. Enquanto que no oriente, o hábito é de cozinhar bem a carne, diminuindo a viabilidade de cistos que possivelmente estejam presentes na carne e conseqüentemente o risco de infecção pelo protozoário (Dubey, 2010).

Em animais selvagens, o processo que leva à infecção por *T. gondii* é complexo, pois depende das características físicas, biológicas e ecológicas em conjunto para que ocorra. A prevalência da infecção nesses animais é baixa em clima seco e quente, porque não há condições favoráveis para o desenvolvimento do protozoário nesse ambiente, o inverso ocorre em locais de clima tropical e úmido, propiciando as circunstâncias ideais para o parasito (Dubey, 2010).

A ocorrência da infecção pode variar de acordo com a susceptibilidade da espécie do hospedeiro, ou seja, a espécie é fator determinante para que a infecção toxoplásmica ocorra com maior dificuldade ou facilidade. O tamanho e o peso das espécies influenciam nas chances de infecção por *T. gondii*, uma vez que a expectativa de vida diminui nos hospedeiros menores, esses, conseqüentemente, ficam menos tempo expostos a formas infectantes. O comportamento alimentar dos hospedeiros também pode aumentar a possibilidade de infecção pelo protozoário em onívoros ou carnívoros e diminuir em herbívoros (Dubey, 2010).

Apesar da letalidade da infecção toxoplásmica em mamíferos marinhos, a via de infecção ainda é desconhecida, é cogitado que o escoamento da água doce para os oceanos pode ser um fator de risco para a infecção por *T. gondii* nesses animais, os mesmos tem sido considerados como animais sentinelas para identificação de contaminação ambiental por oocistos (Dubey, 2010).

1.1.10 Ocorrência em primatas não humanos

A literatura é escassa no que se refere a informações sobre a prevalência de *T. gondii* em primatas não humanos na natureza (Dubey, 2010). Mas, é sabido que a toxoplasmose é responsável pela mortalidade de animais de vida livre segundo estudo realizado em populações de primatas de pesquisa provenientes de resgate no Amazonas por Andrade *et al* (2007) e por Maluenda *et al.* (2009), em Roraima. A ocorrência de toxoplasmose de forma aguda e fatal em mico-leões-dourados (*Leontopithecus Rosália rosalia*) foi relatada por Pertz *et al.* (1997). Estes autores sugeriram que, no zoológico de Utica, nos Estados Unidos da América (EUA), aparentemente a morte de quatro primatas não humanos estaria relacionada com o compartilhamento de um rato selvagem capturado e predado treze dias antes do primeiro óbito.

Em um estudo realizado por Garcia *et al.* (2005), foi observada uma soropositividade para anticorpos anti-*T. gondii* utilizando MAT (1:16) de 30,2% em *Cebus* spp. (macacos-prego) e 17,6% em *Alouatta* spp. (macacos bugios). Todos os animais foram capturados em regiões remotas da bacia do rio Paraná, no estado do Paraná, Brasil.

Em uma investigação realizada por Valentini *et al.* (2004), foram realizados testes sorológicos em 40 primatas não humanos da espécie *Macaca mulatta* de uma colônia do Instituto Butantan, em São Paulo, que revelou que 17,5% desses foram soropositivos pela MAT. Na RIFI a soropositividade encontrada foi de 20% em relação aos mesmo animais.

Gyimesi *et al.*, (2006) relataram a morte de dois macacos barrigudos causada por toxoplasmose aguda no Jardim Zoológico de Louisville, EUA. Ambos animais apresentaram soropositividade pelas técnicas de MAT, Inibição da Hemaglutinação (IHA) e da Técnica de Aglutinação em Látex (LAT). Pela técnica de PCR foi evidenciado DNA de *T. gondii* nos tecidos. Outros 13 primatas não humanos da mesma espécie, abrigados no zoológico, apresentaram-se soronegativos pelo quatro testes.

Yabsley *et al.* (2007) demonstraram em pesquisa realizada em animais capturados na Ilha de Saint Catherines, no estado da Georgia, EUA, a presença de anticorpos pela MAT (1:50) em 3/52 lêmures de cauda anelada (*Lemur catta*) e 10

animais foram negativos: 4 lêmures preto e branco de colar (*Varecia variegata*) e 6 lêmures pretos de olhos azuis (*Eulemur macaco flavifrons*).

Em 2009, Salant *et al.* detectaram baixos níveis de anticorpos contra *T. gondii* (título MAT 1:16 em 19 e 1:64 em 1/ 24 examinados) em primatas não humanos do gênero *Saimiri* oriundos de um zoológico em Israel, onde havia ocorrido um surto de toxoplasmose.

De acordo com Dubey (2010), os primatas não humanos do Novo Mundo são altamente suscetíveis à toxoplasmose, principalmente os macacos de cheiro. Alguns desses animais podem morrer subitamente, sem apresentar sinais clínicos.

1.2 *Saimiri* spp.

Os primatas do gênero *Saimiri* são conhecidos popularmente por macaco-de-cheiro. Têm como habitat natural as florestas tropicais da América do Sul e da América Central. São animais de pequeno porte, com cerca de 20 a 40 centímetros de altura, com cauda maior que o corpo, entre 35 a 47 cm (Ankel-Simons, 2007). Os animais machos desse gênero, quando adultos, pesam cerca de um quilo e as fêmeas, geralmente, são menores e mais leves, apesar do dimorfismo sexual não ser pronunciado (Bicca-Marques *et al.*, 2006). Suas características fenotípicas variam de acordo com a espécie, tais como: a pelagem, que no geral, apresentam pelo curto de coloração amarelada com extremidades bem próximas a cor preta; formato da orelha e do arco dos olhos (Ankel-Simons, 2007). Esse gênero de PNH pertence à infraordem Platyrrhini, à superfamília Ceboidea, à família Cebidae, à subfamília Cebinae e à tribo Samiriini. Foi descrito pela primeira vez por Voigt, no ano de 1831 (Schneider, 2000).

São animais diurnos, ágeis, muito ativos e passam a maior parte do tempo forrageando, se alimentando ou andando e pouco tempo descansando; exclusivamente arborícolas, alimentando-se de frutas, cereais, vegetais e alguns insetos. Podem formar grupos sociais grandes ou pequenos com hierarquia definida, apresentando machos e fêmeas dominantes. Formam grupos e de acordo com a proximidade da época reprodutiva, machos e fêmeas se aproximam, depois se afastam e os machos ficam periférico às fêmeas (Gonçalves *et al.*, 2010; Kugelmeier *et al.*, 2010).

São animais de sazonalidade reprodutiva, com sistema poligâmico (multimacho-multifêmeas) de reprodução, os PNH apresentam mudanças morfológicas e fisiológicas, como por exemplo: ganho de peso (“fattening”) nos machos e alterações de comportamento nas fêmeas (Kugelmeier *et al.*, 2010). O período reprodutivo das fêmeas tem início com aproximadamente 36 meses de idade. O período de gestacional varia de 148 a 172 dias, com o nascimento de um único filhote, desmamado por volta de seis meses de idade (Kugelmeier *et al.*, 2010). Segundo Rylands; Mittermeier (2009), as espécies descritas no gênero são; *Saimiri sciureus*, *Saimiri boliviensis*, *Saimiri oerstedii*, *Saimiri vanzolinii* e *Saimiri ustus*. Embora, de acordo com Rylands *et al.* (2012), *Saimiri Collinsi* e *Saimiri Macroodon* também são reconhecidas como espécies por alguns autores, porém essa classificação ainda é divergente.

1.2.1 Manifestações clínicas da toxoplasmose em *Saimiri* spp.

A toxoplasmose em PNH neotropicais, no geral, costuma ser aguda e fatal. Os animais geralmente apresentam sinais clínicos variáveis e inespecíficos ou são portadores assintomáticos. Em *Saimiri* spp., os sinais mais frequentemente observados são: apatia, dispneia, hipotermia, secreção nasal sero-sanguínea ou espumosa, anorexia e êmese (Epiphanyo *et al.*, 2003).

A diarreia prolongada é uma sintomatologia bem comum para a doença nos PNH. Além de outros sinais gastrointestinais, como a alteração do apetite (voracidade ou inaptência), perda de peso e polidipsia (Mckissick *et al.*, 1968). Ainda como manifestações clínicas, podem ser observados animais letárgicos, aparentemente muito sonolentos, com pálpebras que caem constantemente, olhos de aparência vítrea e brilhantes, animais prostrados e fracos que não interagem com ambiente (Mckissick *et al.*, 1968).

Sinais neurológicos também são relatados, como incoordenação motora com andar cambaleante, estereotípias (circular e agarrar o couro cabeludo; bater a cabeça repetidamente contra a parede da gaiola; segurar a cabeça com as patas dianteiras) e também a evolução de quadros mais leves até convulsões tônicas (Mckissick *et al.*, 1968). Os PNH apresentam manifestações da doença em um período bastante variável, que pode ser de um a cinco dias, podendo estender-se

até 12 ou 21 dias (Borst; Van Knapen, 1984; Cunningham *et al.*, 1992; Carme *et al.*, 2009).

Os *Samiri* spp. geralmente morrem em decorrência do edema pulmonar, pneumonia e/ou falha do coração ou do fígado, causadas pela toxoplasmose (Salant *et al.*, 2009), incluindo morte súbita. O animal aparenta estar clinicamente saudável e vai a óbito de forma repentina devido às alterações sistêmicas causadas pela toxoplasmose (Mckissick *et al.*, 1968).

1.2.2 Tratamento

O tratamento da doença em HI's, como o cão, visa diminuir os taquizoítos presentes no animal. Apesar disso, a maioria dos fármacos utilizados não evita a formação de cistos do parasito (Vidotto *et al.*, 2015).

Os fármacos mais usados para o tratamento da toxoplasmose, na maioria das espécies animais, são a clindamicina, azitromicina, sulfonamidas e pirimetamina (**Quadro 1**) (Gyimesi *et al.*, 2006; Vidotto *et al.*, 2015).

A clindamicina é o fármaco de eleição, uma vez que é capaz de atravessar as barreiras hematoencefálica e ocular. Por ser administrada por via intramuscular, é considerada mais eficiente por não causar efeitos gastrointestinais adversos (Sherding, 2006; Vidotto *et al.*, 2015). Os fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose precisam de uma dose elevada, próxima a dose tóxica para apresentarem efeitos satisfatórios contra o parasito e, por isso, a administração por via oral é indesejável, pois causa diversos efeitos colaterais (Vidotto *et al.*, 2015).

Associações entre fármacos podem ser realizadas, a fim de potencializar os efeitos terapêuticos para tratar formas que não respondem a um fármaco apenas. A azitromicina em conjunto com a pirimetamina pode ser uma opção com resultado satisfatório para a diminuição da formação de cistos teciduais. Porém, associados ou não, a administração dos fármacos deve ser cuidadosamente monitorada e seus efeitos colaterais amenizados e tratados (Vidotto *et al.*, 2015). Além do uso dos fármacos supracitados, faz-se necessário fornecer tratamento suporte de acordo com os sinais clínicos apresentados pelo animal (Vidotto *et al.*, 2015).

Quadro 1. Fármacos e suas respectivas posologias sugeridos para o tratamento da infecção por *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos.

FARMACO	POSOLOGIA	REFERÊNCIA
Clindamicina	12,5 mg/Kg PO ou IM a BID durante 28 dias	Sherding, 2006
Azitromicina	10 mg/Kg PO BID durante 7 dias	Sherding, 2006
Trimetropim-sulfadiazina	15 mg/Kg PO a cada 12h durante 28 dias	Sherding, 2006

Fonte: Sherding, 2006

O tratamento da toxoplasmose em humanos também utiliza os fármacos aplicados para o tratamento em outros animais (Hill *et al.*, 2005). Para o caso de gestantes com suspeita da infecção toxoplásmica, o tratamento tem início imediato e é realizado com espiramicina para evitar que formas infectantes do parasito atinjam o feto (Thiébaud *et al.*, 2007; Moura, 2016). Se houver confirmação de infecção toxoplásmica do feto, é recomendado que o tratamento seja adaptado e utilizando a associação de sulfadiazina e pirimetamina com complementação de ácido fólico, afim de prevenir possíveis alterações de células sanguíneas (Montoya; Remington, 2008; Moura, 2016).

A toxoplasmose ocular é tratada com os fármacos comumente utilizados na terapia medicamentosa para o combate das consequências da doença toxoplásmica. E em casos onde há intensa reação inflamatória, são adicionados ao tratamento terapêutico, o uso de corticoesteróides sistêmicos ou tópicos (Correia P; Correia E, 2011).

Por ser uma doença aguda e fatal em PNH neotropicais, dificilmente diagnosticada de forma precoce, considerando a ausência de manifestações clínicas ou a presença de sinais clínicos inespecíficos e, ainda, as mortes súbitas, as tentativas de tratamento também são complexas. A ausência de sinais clínicos dificulta a conclusão do diagnóstico antes do óbito (Mckssick *et al.*, 1968; Cunningham *et al.*, 1992; Epiphano *et al.*, 2003).

1.2.3 Prevenção e controle

A prevenção da infecção por *T. gondii*, baseia-se fundamentalmente no controle da transmissão. Para tanto, é necessário controlar os determinantes que poderiam levar à infecção dos animais ou contaminação das instalações com a padronização das práticas de manejo, dedetização contra roedores, adequada higienização de instalações e fômites, além da realização de programas periódicos de educação sanitária (Vidotto *et al.*, 2015).

É importante também realizar o controle populacional de gatos domésticos errantes que circundam o local, onde os PNH estão alojados, com o intuito de diminuir o risco de contaminação do solo e da água. Além disso, deve-se impedir que felinos errantes, pequenos roedores e insetos tenham acesso ao local de estocagem da comida e da água dos animais (Sherding, 2006). Em criadouros que albergam felídeos selvagens (HD) e outras espécies animais (HIs), como zoológicos, por exemplo, deve-se separar por barreiras físicas designando tratadores distintos para cada espécie (Bouer *et al.*, 1999).

A estrutura das instalações de PNH deve ser adequada e segura, inibindo ao máximo a interação entre eles e animais domésticos errantes, roedores e aves silvestres, evitando que estes atuem como vetores ou HIs, pois uma vez predados pelos PNH, possibilitam a infecção pela ingestão de seus tecidos contendo cistos (Bouer *et al.*, 1999).

É importante que no manejo alimentar dos PNH a higienização mecânica, com auxílio de escovas, deve ser feita em frutas, verduras e vegetais, já que apenas a limpeza com hipoclorito de sódio não é suficiente para inativar os oocistos. Nos criadouros em que a carne é incluída no manejo alimentar, esta deve ser fornecida após tratamento prévio por cozimento (66°C – 30 min) e armazenamento (-12°C – 5 dias) considerando a temperatura interna da carne para inativar os cistos do parasito que por ventura estejam presentes (Kotula *et al.*, 1991; Bouer *et al.*, 1999; Maluenda *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2011).

Os equipamentos de limpeza dos recintos e fômites usados no manejo dos animais devem ser devidamente higienizados e os resíduos devem ser tratados e descartados adequadamente (Dubey, 2010).

Taquizoítos e cistos são bastante suscetíveis a produtos desinfetantes, o que torna fácil a sua destruição, para isso é indicado a utilização de hipoclorito de sódio 1% ou de álcool à 70%. Particularmente, os taquizoítos são formas pouco resistentes e podem ser inativadas pelo congelamento, descongelamento e também pelo suco gástrico (Remington *et al.*, 2001; Instituto Federal Catarinense, 2017). E para os oocistos, devido a grande resistência aos desinfetantes, é indicado o uso de hidróxido de amônio à 5% durante 30 minutos, assim como a solução composta por etanol a 63% e ácido acético a 7 % durante uma hora, pois, são produtos químicos eficientes para inativar essa forma do parasito. Temperaturas maiores que 66°C por mais de 10 minutos também destroem os oocistos de *T. gondii* (Dubey, 2010).

Os resíduos podem ter diferentes destinações: aterros sanitários, compostagem, queima/incineração, pesquisa ou fossas sépticas. Em grande parte das instituições os resíduos são destinados a aterros sanitários, particularmente, as carcaças em maioria passam pelo processo de incineração. Mas, é crescente o número de locais que tem seu próprio sistema de gestão de resíduos respeitando a legislação vigente. A preocupação com a redução de resíduos produzidos e reaproveitamento tem levado a adesão da compostagem, promovendo diminuição do impacto ambiental (Augusto, 2016).

1.3 Colônia de primatas não humanos do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB)

A criação de PNH da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) foi implementada a partir do ano de 1932, para estudos vacinais contra febre amarela conduzidos por Carlos Chagas. O departamento de PNH fazia parte do Centro de Criação de Animais de Laboratório (Cecal), hoje denominado Instituto de Ciências e Tecnologia em Biomodelos (ICTB). Inicialmente, para a criação animal foi estabelecida em um sistema seminatural, na Ilha do Pinheiro, onde hoje é a Vila do João, comunidade no bairro da Maré, na cidade do Rio de Janeiro. Em 1980, a referida colônia foi transferida para o *campus* da Fiocruz, onde é mantida até os dias atuais contando com espécies do Velho Mundo (*Macaca mulatta* e *M. fascicularis*) e do Novo Mundo (*Saimiri sciureus* e *Saimiri ustus*) (Pissinatti; Andrade, 2010).

A colônia de *Saimiri* spp. foi estabelecida no ano de 1987, com animais provenientes de resgate de fauna de áreas desmatadas para a construção das usinas hidrelétricas de Balbina e Samuel, na região Amazônica. Esses animais têm sido utilizados como biomodelos para o desenvolvimento de pesquisas para produção da vacina contra a malária, inicialmente, em colaboração com a Fundação Rockefeller. Posteriormente, alguns exemplares do gênero foram doados pelo Instituto Pasteur, em Cayenne, na Guiana Francesa. O gênero *Saimiri* é considerado modelo adequado para inúmeras pesquisas. Trata-se de um animal de pequeno porte e fácil manejo, sendo ideal para ensaios pré-clínicos para o desenvolvimento de vacinas e drogas contra malária, além de outras doenças (Pissinatti; Andrade, 2010).

1.4 Justificativa

O gênero *Saimiri* demonstra grande suscetibilidade a *T. gondii* e a presença dentro de uma colônia é muito preocupante devido a possibilidade de surto. A alta mortalidade que a toxoplasmose causa nesses animais, pode dizimar toda uma população que é utilizada em diversos projetos de pesquisa (prevenção de hepatites virais e desenvolvimento de vacina contra a malária, por exemplo) (Innes, 1997; Pissinatti; Andrade, 2010). Os símios do Velho Mundo (*M. mulata* e *M. fascicularis*, por exemplo), mesmo compondo outras colônias e com menor suscetibilidade a toxoplasmose, podem contribuir, de alguma maneira, para a transmissão do protozoário aos gêneros mais sensíveis (Innes, 1997; Furuta *et al.*, 2001). Junto a isso, atualmente não se conhece a prevalência do parasito na população de PNH da colônia do ICTB da Fiocruz, o que demonstra a necessidade da pesquisa sorológica e dos possíveis fatores de risco que podem deixar esse universo vulnerável ao protozoário, bem como os riscos ocupacionais da equipe que realiza o manejo.

Levando em consideração o acima exposto, o estudo objetivou analisar a presença de possíveis fatores de risco associados a infecção por *T. gondii*, aliado a um levantamento sorológico para verificar a frequência da infecção em *Saimiri* spp. do criadouro científico do ICTB da Fiocruz no Rio de Janeiro, Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar possíveis fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* na colônia de PNH neotropicais *Saimiri* spp. do ICTB / Fiocruz no município do Rio de Janeiro, Brasil, associado a levantamento sorológico.

2.1.1 Objetivos específicos

- Pesquisar que fatores de risco de contaminação do ambiente possam estar associados à inserção de formas infectantes de *T. gondii* na colônia de PNH do ICTB - Fiocruz (Rio de Janeiro, BR) a partir de um roteiro investigativo.
- Identificar fatores de risco por meio de entrevista estruturada aplicada aos profissionais da equipe de manejo do ICTB/Fiocruz.
- Detectar a presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em PNH da colônia do ICTB - Fiocruz (Rio de Janeiro, BR), utilizando a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e teste de aglutinação modificada (MAT).
- Correlacionar positividade dos resultados sorológicos com sexo, idade e espécie dos PNH da colônia do ICTB da Fiocruz (Rio de Janeiro, BR).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

O projeto que deu origem a este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o registro LW-5/16, protocolo P-8/14.5, em 29 de fevereiro de 2016 e válida até 29 de fevereiro de 2020 (**Anexo I**), para procedimentos já previstos na rotina da colônia para o manejo dos PNH.

Anualmente são programadas coletas de amostras de sangue de todos os animais do plantel do gênero *Saimiri* para a realização de exames de rotina e depósito em banco de material genético. As coletas foram realizadas no período de agosto de 2018 a outubro do mesmo ano, no próprio recinto dos animais, pela médica veterinária responsável. Esta estratégia foi adotada para que os animais não precisassem ser submetidos a um procedimento adicional, evitando o estresse causado devido à manipulação. Alíquotas das amostras sanguíneas coletadas de todo o plantel foram cedidas para uso no estudo em questão.

Para esse projeto foram realizadas entrevistas estruturadas com os funcionários da colônia de *Saimiri* spp. Por isso, também foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) em humanos – IOC/Fiocruz e aprovado sob parecer de número: 3.044.468 e CAAE: 02130918.9.0000.5248 (**Anexo 2 – Parecer consubstanciado CEP/Fiocruz/ IOC**).

Essa estudo foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen sob número: AEEF597 (**Anexo 3 – Cadastro SisGen**) e possui autorização do Sistema de autorização e Informação em Biodiversidade - SisBio nº: 73425-1 (**Anexo 4 – Autorização SisBio**).

3.2 Delineamento do estudo

De agosto de 2018 a novembro de 2019 foi realizado um estudo transversal descritivo, que possibilitou o estudo da infecção por *T. gondii* indicada pela sorologia e avaliação entre o evento e a exposição ao parasita, identificando o que é determinante para a ocorrência da infecção. Este estudo foi realizado com animais

oriundos da colônia de PNH do gênero *Saimiri* spp. do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB).

3.3 População estudada

A colônia de PNH *Saimiri* spp. foi inicialmente formada de animais originários de resgates de fauna na região Amazônica brasileira (Belém do Pará – Brasil) e após alguns anos, recebeu outros primatas do gênero de doações do Instituto Pasteur (Cayenne - Guiana Francesa).

Atualmente a colônia é composta por 133 exemplares de *Saimiri* spp., a maioria é nascida no local, porém alguns dos animais oriundos do Instituto Pasteur ainda fazem parte da colônia. O animais, independente da origem, são alojados divididos em grupos entre 12 e 18 animais, alojados em recintos coletivos, onde podem circular livremente, permitindo contato indireto com o ambiente arborizado e iluminação natural do lado externo aos seus recintos (**Figura 5A e 5B**). Esses grupos estão divididos entre fêmeas e machos adultos, sub-adultos, juvenis e infantis. Considerou-se como infantis animais entre 0 a 18 meses, juvenis de 18 a 36 meses, subadultos de 36 a 48 meses e adultos com mais de 48 meses. A dieta alimentar desses animais consiste em frutas, vegetais e ração extrusada industrializada - oferecidas uma vez por dia; e itens de enriquecimento ambiental (sorvete de frutas, suco de melancia ou melão, e larvas de coleópteros - *Tenebrio molitor*), oferecidos uma vez por semana e quando os animais são submetidos a procedimentos veterinários.



Figura 5. (A) e (B) Recinto dos *Saimiri* spp. procedentes da colônia do ICTB-Fiocruz. Fonte: autor.

Foram coletadas amostras sanguíneas de 125 animais do total de 133 PNH à época da coleta (*Saimiri sciureus* = 121 e *Saimiri Ustus*= 4), a fim de realizar o levantamento da infecção por *T. gondii* nessa colônia. A coleta de sangue não foi realizada em alguns animais em detrimento de questões de manejo, por serem animais muito jovens e com pouco peso corporal ou debilitados, impossibilitando o volume de coleta necessário para a análise e definindo o número amostral por conveniência.

3.4 Contenção animal

A captura e contenção física (**Figura 6**) dos animais foram realizadas por técnicos da colônia, bem como a prestação de auxílio ao médico veterinário, nos casos necessários. A manipulação respeitou a segurança para humano e animal, tendo mantido o nível de estresse o mais baixo possível (Unwin *et al.*, 2011).

Em seguida, o médico veterinário realizou a contenção química, utilizando cetamina (15 mg/kg) e midazolam (0,05-0,09 mg) para animais abaixo de 1 kg; e doses 0,05 – 0,15 mg/kg dos mesmos fármacos para animais com peso acima de 1kg, administrados em seringas de 1 mL, a fim de promover um exame rigoroso, seguro e confortável, tanto para o animal como para o profissional. Desse modo, minimizaram-se os acidentes devido a alterações de comportamento e também, diminuiu-se o estresse de manipulação e agitação que poderiam causar alterações dos padrões fisiológicos (Oliva, 2008).



Figura 6. Contenção física de primata não humano do gênero *Saimiri* spp. Fonte: Thalita Pissinatti

3.5 Coleta de sangue

A coleta de sangue (**Figura 7**) é um procedimento de total responsabilidade do médico veterinário responsável pela colônia. Após a sedação, os espécimes foram posicionados em decúbito dorsal e patas traseiras abertas e flexionadas. A veia de eleição para coleta sanguínea foi a veia femoral, em virtude do calibre do vaso sanguíneo e do seu fácil acesso. Dependendo do tamanho do animal, principalmente nos indivíduos de menor porte, a coleta foi realizada na veia jugular ou veia caudal (coccígea). Foi realizada a antissepsia do local com gaze embebido em álcool etílico 70%. Para melhor identificar as estruturas anatômicas, a palpação procedeu à punção. Esta última foi realizada com seringas de 3 mL descartáveis e estéreis, sendo respeitada a limitação de quantidade imposta conforme o porte e idade da espécie não podendo ultrapassar 10 mL/kg de peso do animal por mês. A agulha utilizada (24 G 20x5mm) foi posicionada e inserida em ângulo de 90° em relação a pele. Imediatamente após a coleta do sangue, para a promoção da hemostasia foi feita a compressão do local com algodão seco por 20 segundos. No caso eventual de formação de hematoma, o mesmo foi tratado com aplicação de Hirudoid® - Daiichi Sankyo Brasil Farmacêutica LTDA (Pissinatti, 2009; Unwin et al., 2011). O rejeito biológico e o material perfuro-cortante gerados foram depositados em seus respectivos contêineres descartes (resíduos biológicos contaminantes e perfuro cortantes).



Figura 7. Coleta de amostra de sangue em *Saimiri* spp. pela veia femoral Fonte: Thalita Pissinatti

Para o estudo foram destinadas alíquotas de 500 μ L, identificadas e acondicionadas em tubos sem anticoagulante Vacuplast® (com gel e ativador de

coágulo – gelatina grau farmacêutico, segundo fabricante). Os tubos foram mantidos em repouso por duas horas e após, transportados em caixas isotérmicas ao laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses (IOC – Fiocruz), onde foram centrifugados a 1029 G por 10 minutos em temperatura ambiente. Os soros obtidos foram armazenados em microtubos do tipo *ependorfs*® e congeladas em *freezer* sob a temperatura de -20°C e posteriormente analisados sorologicamente.

3.6 Exames sorológicos

Para o diagnóstico de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, o soro obtido das amostras foi analisado por meio da reação de imunofluorescência indireta (**Figura 8A**), de acordo com Camargo (1964). Para a técnica foram utilizados antígenos de *T. gondii* - cepa RH (**Figura 8B**) e conjugado anti-Monkey IgG FITC Sigma-Aldrich®. Foi realizada também a técnica de aglutinação modificada (MAT) (**Figura 9A**) conforme Desmonts e Remington (1980), utilizando o antígeno produzido *in house*. Em ambas as técnicas foram feitas diluições seriadas 1:16, 1:64 e 1:256. Os ensaios foram realizados no laboratório de Toxoplasmose e outras Protozooses (LabTOXO) pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz.

3.6.1 Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI

Princípio da técnica: anticorpos de indivíduos infectados se ligam aos antígenos de superfície dos taquizoítos fixados em lâmina de vidro para microscopia. Um anticorpo secundário previamente marcado com conjugado de isotiocianato de fluoresceína se liga ao anticorpo produzido pelo indivíduo infectado. Essa ligação pode ser observada pela fluorescência de coloração esverdeada da superfície dos taquizoítos em microscópio com fonte de luz ultravioleta (Andreotti *et al.*, 2004).

Diluição das amostras em placa de 96 poços de fundo reto



Distribuição das amostras diluídas em lâminas de microscopia específicas previamente sensibilizadas com o antígeno (**Figura 8B**).



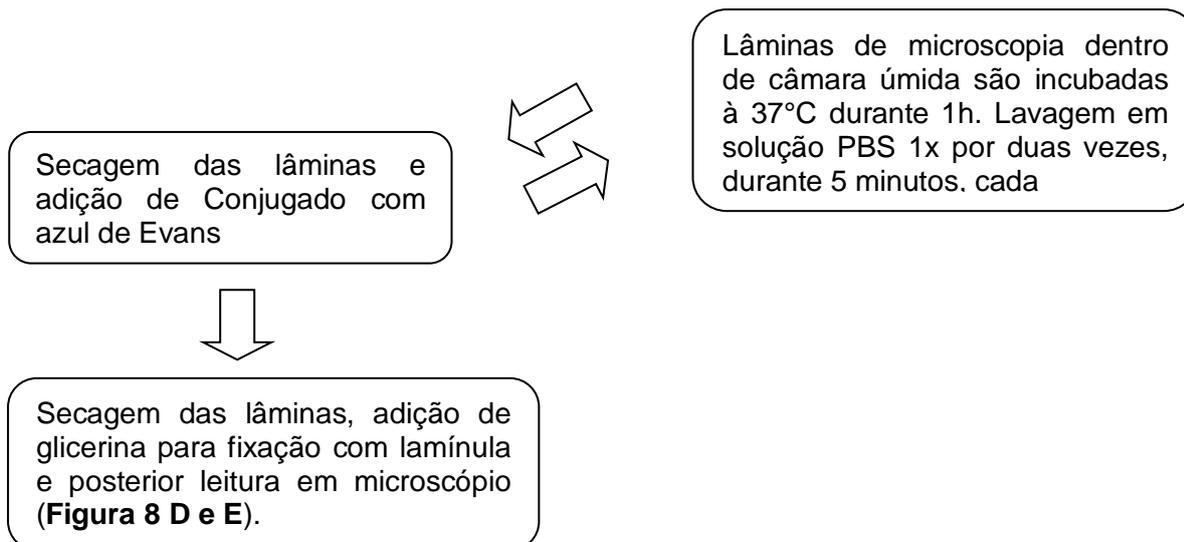


Figura 8. (A) Fluxograma resumido da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta. Fonte: Autor

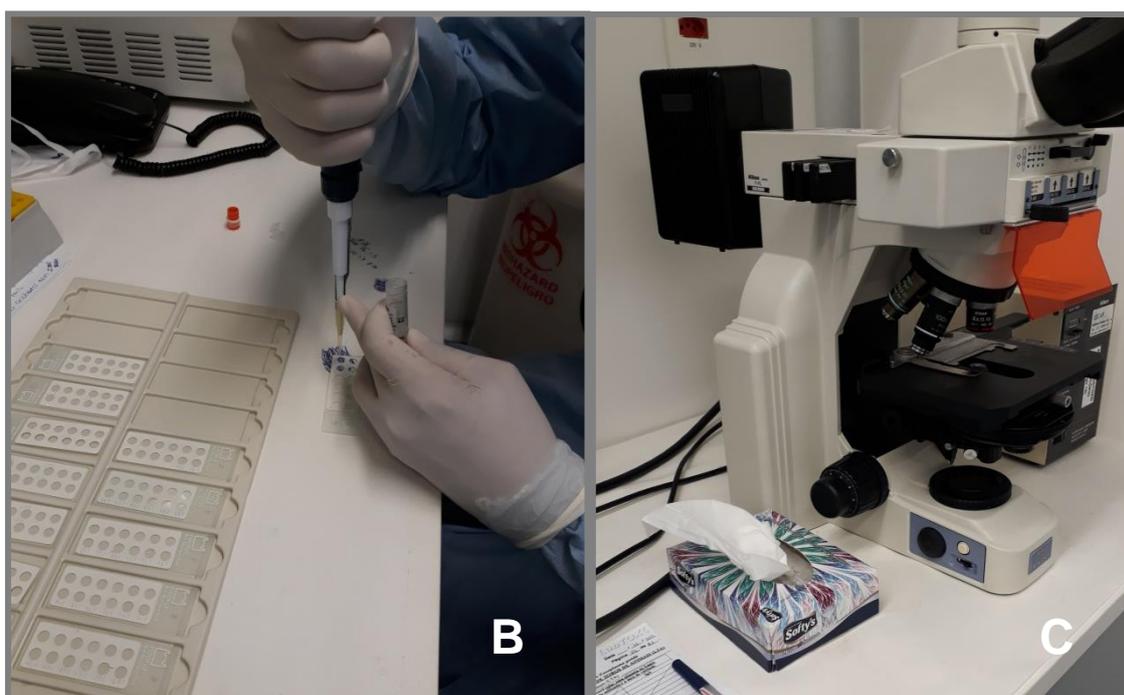


Figura 8. (B) Sensibilização de lâmina com adição de antígeno *T. gondii*. Fonte: Autor.

(C) Microscópio para leitura das lâminas de RIFI. Fonte: Autor.

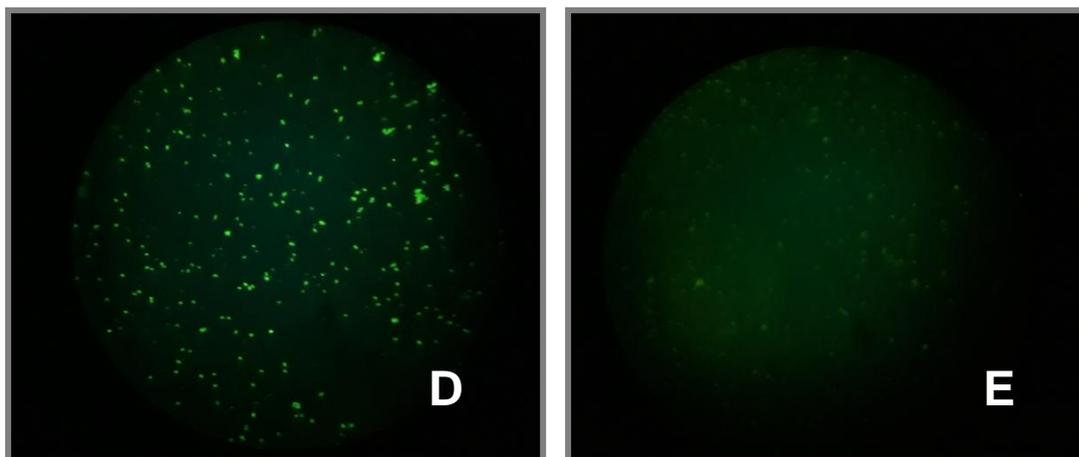


Figura 8. (D) Leitura em microscópio de lâmina de RIFI positiva. Fonte: Autor (E) Leitura em microscópio de lâmina de RIFI positiva. Fonte: Autor

3.6.2 Técnica de Aglutinação Modificada - MAT

Princípio da técnica: baseia-se na ligação antígeno-anticorpo. Quando a reação ocorre, há aglutinação, sendo possível visualizar a partir de uma malha que se forma dentro do poço da placa.

Em placa de 96 poços com fundo em reto contendo 150 μL de PBS 1x, foi adicionado 10 μL de soro dos controles e das amostras em poços alternados, obtendo-se a diluição 1:16 de amostras e controles (**Figura 9B**).

Os poços que permaneceram sem amostra/controla foram utilizados para testagem das amostras em diluição subsequente. Foi retirado 50 μL dos poços com diluição 1:16 e adicionado ao poço seguinte. Feita a homogeneização, foram retirados 50 μL e descartados.

Foram adicionados 25 μL de 2ME (2- Mercapto-etanol) diluídos para a quebra das pontes de sulfeto de IgM e IgA, para identificação de apenas IgG

Dos soros diluídos foram retirados 25 μL e colocados em uma placa de 96 poços com fundo em "v"

Após 15 minutos, tempo necessário para reação do 2ME, foram adicionados 50 μL de antígenos

A placa foi coberta com folha de alumínio deixada em incubadora à 37°C *overnight* para leitura posterior

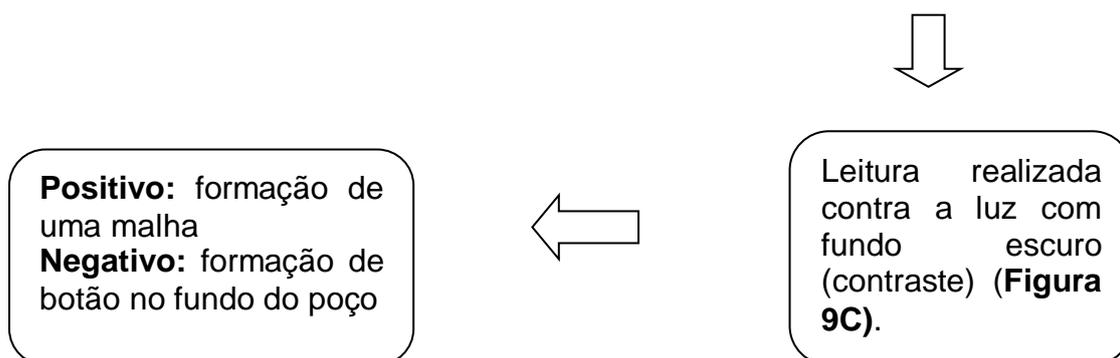


Figura 9 (A). Fluxograma resumido da reação de Aglutinação Modificada. Fonte: autor

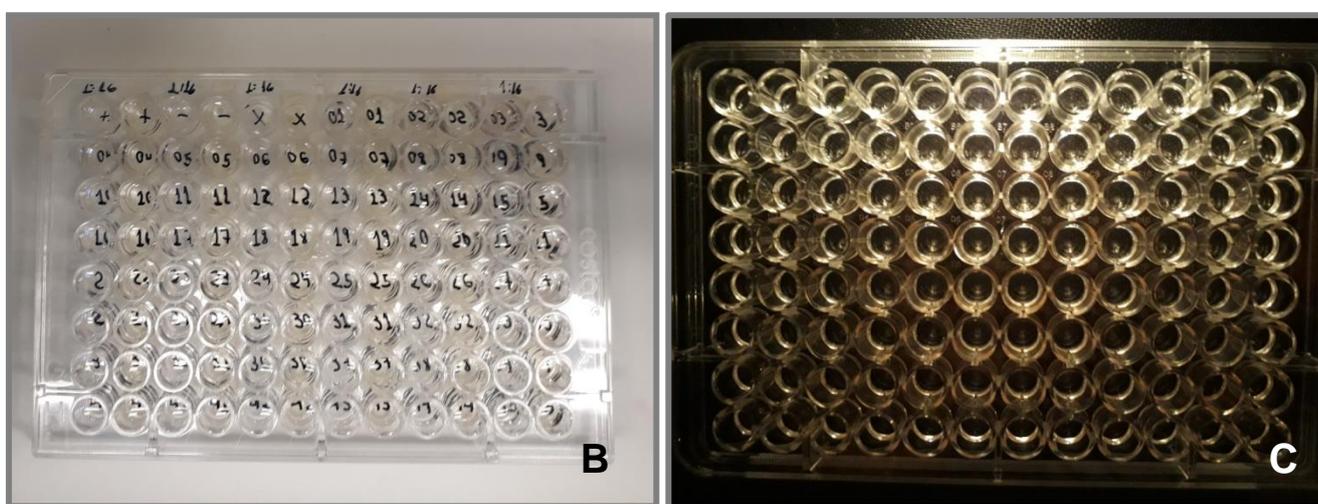


Figura 9. (B) Diluição de controles negativo e positivo e de amostras em placa em fundo chato. Fonte: Autor. **(C)** Leitura de MAT em contraste escuro ao da placa de fundo em "u". Fonte: Autor.

3.7 Aplicação de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Entrevista estruturada

Os funcionários do setor, sete no total, foram convidados a participar do estudo por meio de apresentação oral do projeto seguido da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), onde houve explicação sobre o projeto, a participação voluntária do funcionário e a importância da entrevista para o estudo. A recusa ou desistência da participação não acarretou nenhum ônus ou prejuízo ao trabalhador. Após a concordância da pessoa, a mesma participou de uma única entrevista estruturada, realizada em local reservado, garantindo sua privacidade e sigilo relacionado a qualquer informação pessoal. Foi utilizado um formulário com perguntas abertas de roteiro pré-definido, aos funcionários técnicos que realizam serviços de limpeza de gaiolas, captura e contenção física dos animais para realização de procedimentos (**Apêndice I** – Formulário I); ao responsável pelo manejo alimentar (**Apêndice II** – Formulário II); e a responsável pelo manejo veterinário e manutenção do plantel de PNH (**Apêndice III** – Formulário III), em busca de identificar possíveis fatores de risco que poderiam estar nos alimentos ou ambiente e levar a infecção por *T. gondii* dos PNH e até da equipe de manipulação desses animais. A coleta das informações fornecidas foi feita por meio de anotações manuais em folha de resposta para posterior transposição para planilha do programa Excel® (Microsoft Office®).

3.8 Identificação de fatores de riscos

Elaborou-se um roteiro investigativo (**Apêndice IV** – roteiro de identificação de riscos) para observação de possíveis fatores de risco associados à inserção de formas infectantes *T. gondii* no ambiente da colônia. Foram considerados como fatores de risco pontos discutidos na literatura relacionados ao ambiente, manejo alimentar e manejo animal. Os fatores considerados no estudo foram:

- **Ambientais:** presença de gatos, presença de aves, presença de roedores, presença de insetos, tratamento da água, proximidade do recinto à rede de esgoto, limpeza de recintos, limpeza de caixas d'água, compartilhamento de materiais entre

colônias, medidas de prevenção contra roedores, possibilidade de interação entre PNH e animais em vida livre;

- **Manejo Alimentar:** higienização de frutas e vegetais, origem de frutas e vegetais, exposição de alimentos ao ambiente, consumo de carne na dieta; e
- **Manejo animal:** suspeita de toxoplasmose, diagnóstico de toxoplasmose, local de isolamento de animais doentes.

3.9 Análise de fragmentos de tecido biológico - Histologia

Durante a execução do estudo, ocorreu o óbito de um animal que estava clinicamente saudável e foi encontrado morto, dentro do recinto durante a vistoria. À observação clínica, o animal apresentava apenas sialorréia, sem outras alterações ou lesões que explicassem o motivo do óbito.

Foi levantada a suspeita de toxoplasmose devido à ausência de sintomas e morte súbita do primata não humano. Levando em conta que o risco de ocorrência da toxoplasmose, se confirmada, poderia causar um surto dentro da colônia, realizou-se a necropsia, sendo utilizadas técnicas que poderiam auxiliar no diagnóstico da *causa mortis* do animal e evitar o surto ou infecção de outros animais.

A necropsia do animal foi realizada por um Médico Veterinário do setor, cerca de uma semana após a morte, a carcaça foi armazenada em congelador (-70°C) até que fosse realizado o procedimento. Foram coletados fragmentos de dois centímetros de espessura de tecidos do pulmão, coração, rim, diafragma, fígado e cérebro.

Os fragmentos de tecidos foram armazenado em frascos contendo solução de formaldeído à 10% tamponado (**Figura 10**). Os frascos foram devidamente etiquetados e permaneceram em refrigeração (2° - 8°C) até que fossem processados.



Figura 10. Frascos com solução de formaldeído à 10% tamponado, devidamente identificados contendo fragmentos de órgãos coletados em necropsia. Fonte: Autor

Os fragmentos foram retirados dos frascos com solução de formaldeído e lavados em água corrente durante 10 minutos para retirar o excesso da solução dos tecidos. Em seguida, os fragmentos foram clivados manualmente com navalha de aço de microtomia a fim de deixá-los com formato mais regular e uniforme, diminuindo suas dimensões e tornando mais fácil a manipulação.

Os cassetes histológicos contendo os fragmentos de tecido com a identificação do animal e do órgão foram colocados em uma cesta (**Figura 11A**). Esta foi içada de um recipiente e imersa no recipiente seguinte do processador automático (Lupetec PT 05) (**Figura 11B**) permanecendo por 40 minutos em cada um.

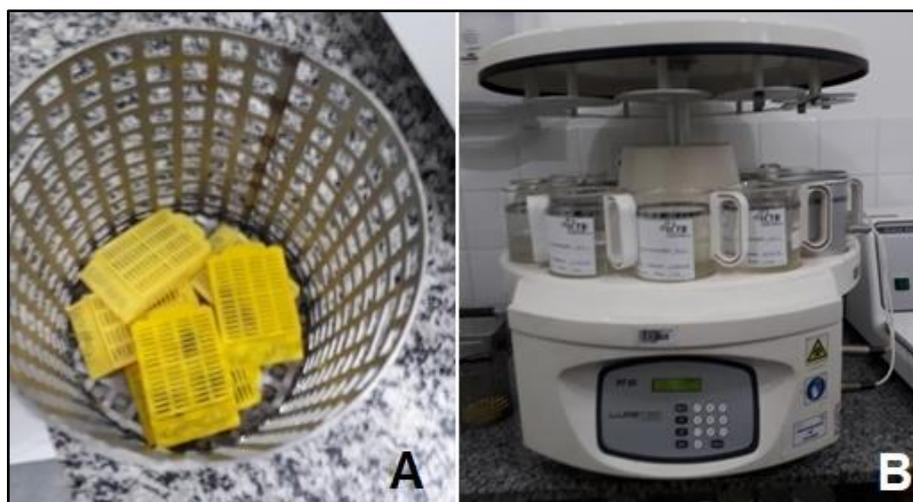


Figura 11. (A) Cassetes histológicos em cesta para processamento automático das etapas de desidratação e clarificação. Fonte: Autor **(B)** Processador Lupetec PT05 para histologia. Fonte: Autor

Os recipientes contendo as soluções alcoólicas para desidratação do material estavam dispostos em ordem crescente de concentração. Havia oito recipientes contendo álcool etílico, quatro nas concentrações de 70%, 80%, 90%, 95%, respectivamente e mais quatro em concentrações iguais de 100%. Além destes, havia dois recipientes com xilol (I e II) para clarificação das amostras.

Os tecidos foram imersos em parafina derretida (marca Alphatec) dentro de um compartimento aquecido (58 e 60°C) da central de inclusão durante uma hora, para remoção de xilol dos tecidos (**Figura 12**).



Figura 12. Impregnação em parafina utilizando o compartimento aquecido da central de inclusão e realização de aferição periódica da temperatura com termômetro de mercúrio para controle da faixa térmica. Fonte: Autor

Os cassetes que continham os tecidos impregnados em parafina foram abertos e sobrepostos em moldes metálicos, onde receberam parafina.

Para cada tecido foram feitos quatro cortes no bloco histológico em micrótomo (Leica RM2125 RT) medindo cinco micrometros (5 μm) de espessura cada um, originando quatro lâminas histológicas por órgão (**Figura 13A**). Os cortes foram submetidos à banho-maria (45°C) para a distensão dos mesmos com auxílio de pinça, caso houvesse dobras (**Figura 13B**).



Figura 13. (A) Microtomia dos blocos histológicos. Fonte: Autor **(B)** Imersão em banho Maria das fitas de parafina com cortes histológicos feito em micrótomo para esticar eventuais dobras formadas no corte. Fonte: Autor

Para a fixação dos cortes nas lâminas, foi realizado um pré-tratamento das lâminas com um preparado composto de 50% clara de ovo e 50% glicerina P.A. Os cortes foram aderidos às lâminas de microscopia de vidro previamente identificadas e mantidos em estufa à temperatura de 58°- 60°C durante 24 horas. Após esta etapa, as lâminas foram armazenadas em estufa à 37°C até a sua coloração.

a) Coloração Hematoxilina-eosina (HE)

As lâminas histológicas inclusas em parafina foram submersas, consecutivamente, em três recipientes contendo xilol, permanecendo por 20 minutos em cada um destes (**Figura 14**).

Após a retirada da parafina, o material foi submetido à uma sequência de álcool etílico em concentrações decrescentes para a hidratação do tecido: em um primeiro recipiente contendo álcool etílico absoluto PA (Dinâmica®), as lâminas permaneceram durante 15 minutos e foram submetidas à mais dois recipientes com álcool na mesma concentração por mais 10 minutos em cada um deles. Depois, as lâminas passaram por mais duas soluções de álcool etílico de 90% e 80% de concentração, respectivamente, com tempo de permanência de 10 minutos em cada solução. Em sequência, as lâminas foram lavadas em água corrente durante cinco minutos (**Figura 14**).

A hematoxilina de Harris previamente filtrada foi adicionada às lâminas de maneira a recobrir toda a superfície das mesmas, onde permaneceu durante 10 minutos. As lâminas foram mergulhadas rapidamente em diferenciador (1% de ácido clorídrico em álcool etílico 70%) por duas vezes, lavadas em água corrente até apresentarem coloração azul e submersas em álcool etílico 80% durante dois minutos. Então, o material foi submetido à eosina, onde permaneceu também durante dois minutos.

As lâminas foram submetidas a concentrações crescentes de álcool: um recipiente contendo álcool etílico 95% e três contendo álcool etílico absoluto PA (Dinâmica®), permanecendo em cada um deles durante 10 minutos (**Figura 14**).

As lâminas foram submetidas à solução xilol-álcool etílico absoluto PA (Dinâmica®) de proporção 1:1 durante cinco minutos. Consecutivamente, o material foi submerso em três recipientes contendo xilol PA (Merck®), onde permaneceu durante cinco minutos em cada um (**Figura 14**).



Figura 14. Bateria de reagentes para coloração de hematoxilina-eosina. Fonte: Autor

b) Coloração Giemsa

As lâminas histológicas previamente preparadas foram então submersas em corante de Giemsa durante 20 minutos e lavadas em água destilada. Foram submetidas à diferenciação com álcool etílico PA (marca) ao passarem por três mergulhos de três minutos, cada.

O material passou por três baterias de xilol PA, permanecendo em cada recipiente durante cinco minutos.

c) Coloração de Ziehl-Neelsen

As lâminas histológicas previamente preparadas para coloração foram cobertas com fucsina fenicada e aquecidas por 5 minutos até a emissão de vapores.

As lâminas foram lavadas em água corrente, descoradas completamente em álcool-ácido 1:1 e lavadas em água corrente novamente. As lâminas foram coradas em azul de metileno (Reagen®) por 30 segundos, lavadas em água corrente e deixadas para secar em temperatura ambiente (18°C – 21°C).

Foram adicionadas gotas de Etellan® (Merck®) meio de montagem rápido para microscopia sem água sobre as lâminas histológicas para garantir a fixação entre estas e as lamínulas (24X24 mm) que as sobrepuseram (**Figura 15**). O material permaneceu em temperatura ambiente para secagem e posterior observação em microscópio óptico (Nikon®, Eclipse 200) em aumento de 400 vezes.



Figura 15. Secagem em temperatura ambiente das lâminas após selagem com etellan® e montagem com sobreposição de lamínulas. Fonte: Autor

3.9 Análise estatística

As informações obtidas a partir da entrevista à equipe, do roteiro investigativo e da análise sorológica foram analisados nos programa EpiInfo® versão 7.2.2. 16 (CDC) para cálculos de frequência, de média, desvio padrão, associações e correlações.

Para as variáveis que apresentaram distribuição normal, foram empregados testes paramétricos. Para determinantes fora da curva normal a análise se deu por meio de testes não-paramétricos. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para nível de significância de $p < 0,05$, com intervalo de confiança de 95%.

A associação entre duas variáveis categóricas foi avaliada pelo qui-quadrado (χ^2) e pelo teste exato de Fisher para nível de significância de 5%.

Para avaliação da associação entre os resultados obtidos por meio da RIFI e da MAT, foi realizado o cálculo do coeficiente de Kappa (**Quadro 2**). A partir deste, determinou-se o cutt-off para a utilização de MAT como técnica de diagnóstico de detecção de anticorpos anti-*T. gondii* (Cohen, 1960).

A interpretação dos valores do coeficiente de Kappa foi realizada segundo Landis e Koch (1977 (**Quadro 3**)).

Quadro 2. Fórmula de Kappa

	Positivo	Negativo	Total
Positivo	A	B	A + B
Negativo	C	D	C + D
Total	A + B	B + D	N

Fonte: Landis e Koch (1977)

$$P_a = \frac{A + D}{N}$$

$$P_e = \frac{(A+B) \times D}{N} + \frac{(C+D) \times B}{N}$$

$$K = \frac{P_a - P_e}{1 - P_e}$$

Pa – Probabilidade de concordância geral

Pe – Probabilidade esperada de concordância

Quadro 3. Valores de referência para interpretação do coeficiente Kappa, segundo Landis e Koch, 1977

K	CONCORDÂNCIA
<0,00	Sem concordância
0,00 – 0,21	Fraca
0,21 – 0,41	Ligeiramente fraca
0,41 – 0,61	Moderada
0,61 – 0,81	Substancial
0,81 – 1,00	Quase perfeita (excelente)

4 RESULTADOS

4.1 Exames sorológicos

Dos 125 animais inseridos no estudo, 61,60% (77/125) eram fêmeas e 38,40% (48/125) machos. Os animais foram divididos em quatro faixas etárias dos quais: 4,80% (6/125) foram inseridos na categoria infantis (0 a 18 meses), 11,20% (14/125) juvenis (18 a 36 meses), 15,20% (19/125) subadultos (36 a 48 meses) e 68,80% (86/125) adultos (mais de 48 meses).

4.1.1 Imunofluorescência indireta (RIFI)

Por meio da RIFI foi evidenciado que 7,20% da população estudada de PNH foram soropositivas. A **Tabela 1** apresenta as porcentagens dos animais soropositivos e soronegativos de acordo com o sexo, não sendo observada diferença estatística significativa ($p > 0,05$). As fêmeas apresentam OR= 0,1835 (IC 95% 0,0222 – 1,5162) não representando risco de aquisição ou proteção quanto à infecção.

Tabela 1. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo sexo, RJ, 2020

Sexo	RIFI			Total
	Negativo	Positivo	Titulação	
Fêmeas	69 (89,61%)	8 (10,39%)	1:16	77 (61,60%)
Machos	47 (97,92%)	1 (2,08%)	1:16	48 (38,40%)
Total	116 (92,80%)	9 (7,20%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fisher P= 0,1514149418 O.R. = 0,1835 (IC 95% 0,0222 – 1,5162)

Com relação à faixa etária (**Tabela 2**), foi observada maior frequência de soropositividade entre os animais mais velhos, sendo de 9,30% entre adultos e 5,26% entre subadultos, havendo diferença estatística significativa.

Tabela 2. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo faixa etária, RJ, 2020

Faixa etária	RIFI			
	Negativo	Positivo	Titulação	Total
Adulto	78 (90,70%)	8 (9,30%)	1:16	86 (68,80%)
Subadulto	18 (94,74%)	1 (5,26%)	1:16	19 (15,20%)
Juvenil	14 (100%)	0 (0%)	-	14 (11,20%)
Infantil	6 (100%)	0 (0%)	-	6 (4,80%)
Total	116 (92,80%)	9 (7,20%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fisher $p = 0,8329$

Na **tabela 3**, foi observada soropositividade somente entre indivíduos da espécie *Saimiri sciureus* (7,20%), porém sem diferença significativa.

Tabela 3. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo espécie, RJ, 2020

Espécie	Negativo	Positivo	Titulação	Total
<i>S. sciureus</i>	112 (92,56%)	9 (7,44%)	1:16	121 (96,80%)
<i>S. ustus</i>	4 (100%)	0 (0%)	-	4 (3,20%)
Total	116 (92,80%)	9 (7,20%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fisher $P = 1,0$ Odds Ratio = 0 (IC 95% indefinido)

4.1.2 Técnica de aglutinação modificada (MAT)

A MAT demonstrou que 12,00% da população animal estudada foi soropositiva para *T. gondii*. Na **Tabela 4** são apresentadas porcentagens frequência de animais soropositivos de acordo com o sexo, sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Não foi evidenciado o sexo como fator de proteção ou risco para aquisição de infecção (odds ratio 1,4726 (IC 95% 0,4973 – 4,3603).

Tabela 4. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por MAT em 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo sexo, RJ, 2020

Sexo	MAT			
	Negativo	Positivo	Titulação	Total
Fêmeas	69 (89,61%)	8 (10,39%)	1:16/1:64	77 (61,60%)
Machos	41 (85,42%)	7 (14,58%)	1:16/1:64	48 (38,40%)
Total	110 (88,00%)	15 (12,00%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fischer $p=0,5743916485$ Odds Ratio = 1,4726 (IC 95% 0,4973 – 4,3603)

A **Tabela 5** apresenta a faixa etária, onde observa-se que as faixas de animais com mais idade apresentaram resultados soropositivos que variaram de 12,79% em adultos, 10,53% em subadultos e 14,29% em juvenis, sem diferença estatística significativa.

Tabela 5. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por Teste de Aglutinação Modificado (MAT) em 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo faixa etária, RJ, 2020

Faixa etária	MAT			
	Negativo	Positivo	Titulação	Total
Adulto	75 (87,21%)	11 (12,79%)	1:16/1:64	86 (68,80%)
Subadulto	17 (89,47%)	2 (10,53%)	1:64	19 (15,20%)
Juvenil	12 (85,71%)	2 (14,29%)	1:16	14 (11,20%)
Infantil	6 (100%)	0 (0%)	-	6 (4,80%)
Total	110 (88,00%)	15 (12,00%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fisher $p= 1,0$

Ao que se refere à espécie (**Tabela 6**), apenas PNH *S. sciureus* foram soropositivos, com frequência de 12,40%.

Tabela 6. Soroprevalência anti-IgG-*Toxoplasma gondii* por teste de aglutinação modificado (MAT) em 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz segundo espécie, RJ, 2020

Espécie	MAT			Total
	Negativo	Positivo	Titulação	
<i>S. sciureus</i>	106 (87,60%)	15 (12,40%)	1:16/1:64	121 (96,80%)
<i>S. ustus</i>	4 (100%)	0 (0%)	-	4 (3,20%)
Total	110 (88,00%)	15 (12,00%)	-	125 (100%)

Teste exato de Fisher P = 1,00 Odds Ratio= 0 (IC 95% indefinido)

Os resultados da sorologia pelas técnicas de imunofluorescência indireta e Aglutinação modificada estão apresentados na Tabela 7. Por meio do coeficiente Kappa pode-se evidenciar concordância moderada entre as técnicas utilizadas.

Tabela 7. Resultados da sorologia para pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* por meio das técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e teste de Aglutinação Modificado (MAT) de 125 primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB – Fiocruz, RJ, 2020

	RIFI (+)	RIFI (-)	TOTAL
MAT (+)	9 (%)	15 (%)	24 (%)
MAT (-)	0 (%)	101 (%)	101 (%)
TOTAL	9 (%)	116 (%)	125 (%)

Kappa = 0,492

4.2 Fatores de risco Identificados nas entrevistas

Como demonstra o **Gráfico 1**, 57% (4/7) dos trabalhadores da colônia possuíam algum conhecimento sobre a toxoplasmose.

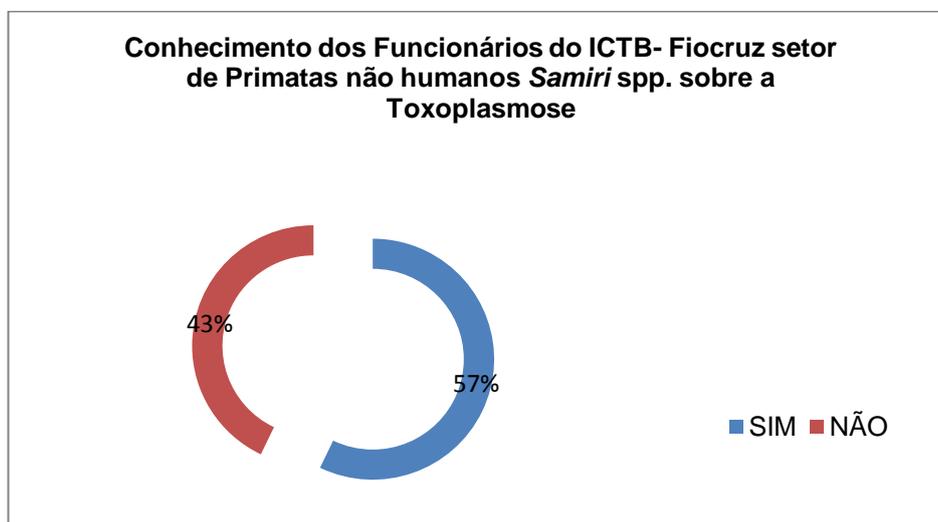


Gráfico 1. Conhecimento dos sete Funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp. sobre a Toxoplasmose

O **gráfico 2**, demonstra que dentre os trabalhadores da colônia que sabem o que é toxoplasmose, 28% souberam da doença por meio da formação acadêmica e 29% por meio da família. Dos funcionários, 43% desconheciam a doença.

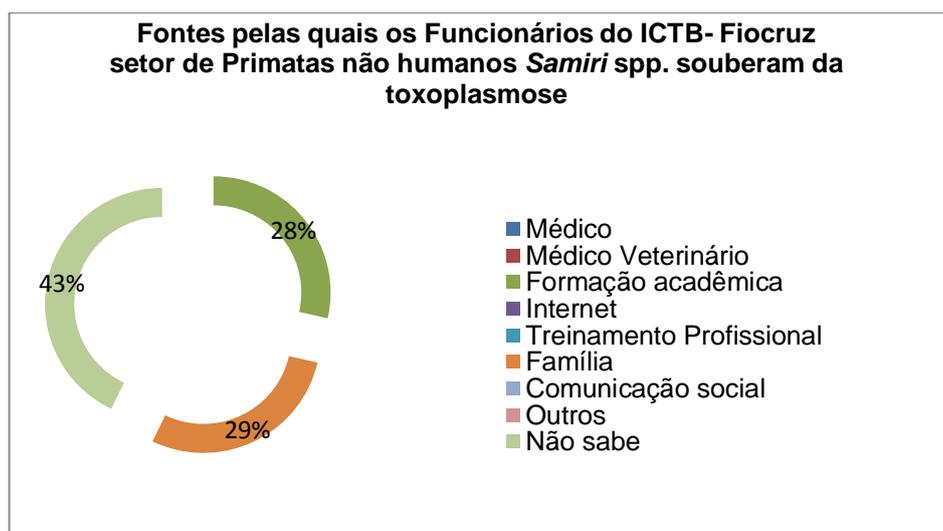


Gráfico 2. Fontes pelas quais os sete Funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp. obtiveram informações sobre a toxoplasmose

Dos trabalhadores, 29% indicaram que a transmissão ocorre pelo consumo da carne, 14% por meio do consumo de frutas e vegetais mal lavados e 14 % por brincar com gatos. Dos respondentes 43% indicaram desconhecer sobre a transmissão (Gráfico 3).

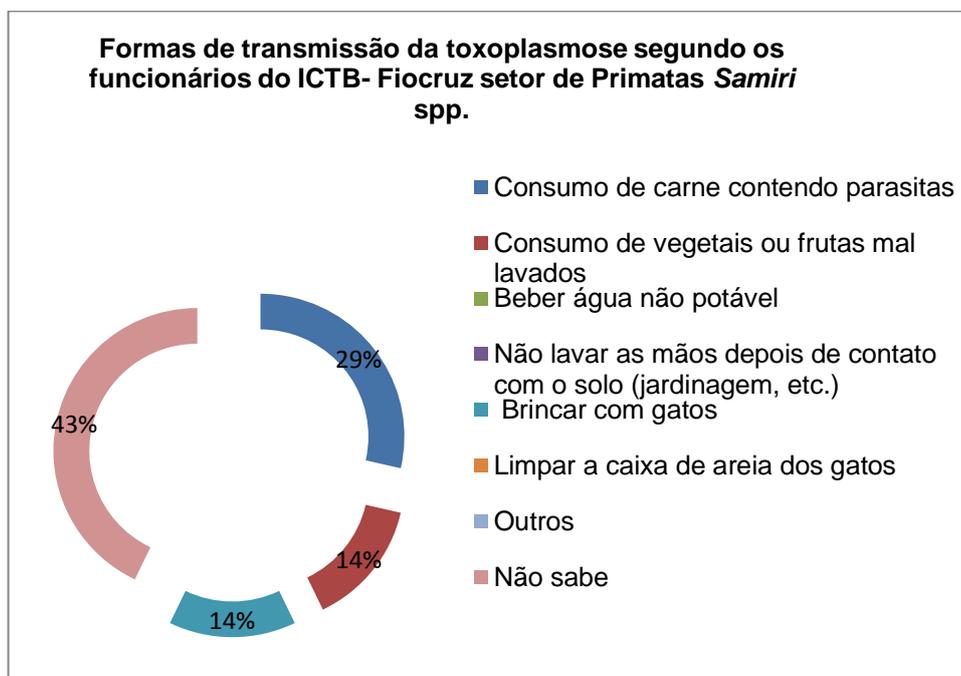


Gráfico 3. Formas de transmissão da toxoplasmose segundo os sete funcionários do ICTB- Fiocruz setor de Primatas não humanos *Samiri* spp.

A maioria dos trabalhadores da colônia de *Saimiri* spp. (57%) só atendem outras colônia de PNH em uma eventual emergência. Dos funcionários, 14% frequentam outras colônias semanalmente e 29% não realizam visitação à outras colônias (Gráfico 4 e 5).

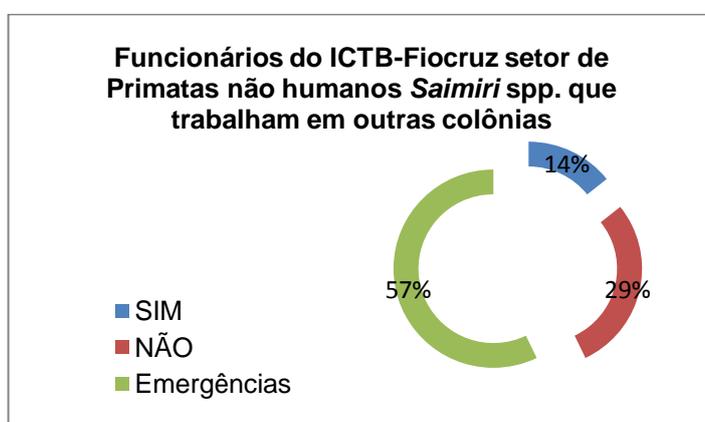


Gráfico 4. Local de atuação dos sete funcionários do ICTB-Fiocruz setor de Primatas não humanos *Saimiri* spp. que trabalham em outras colônias

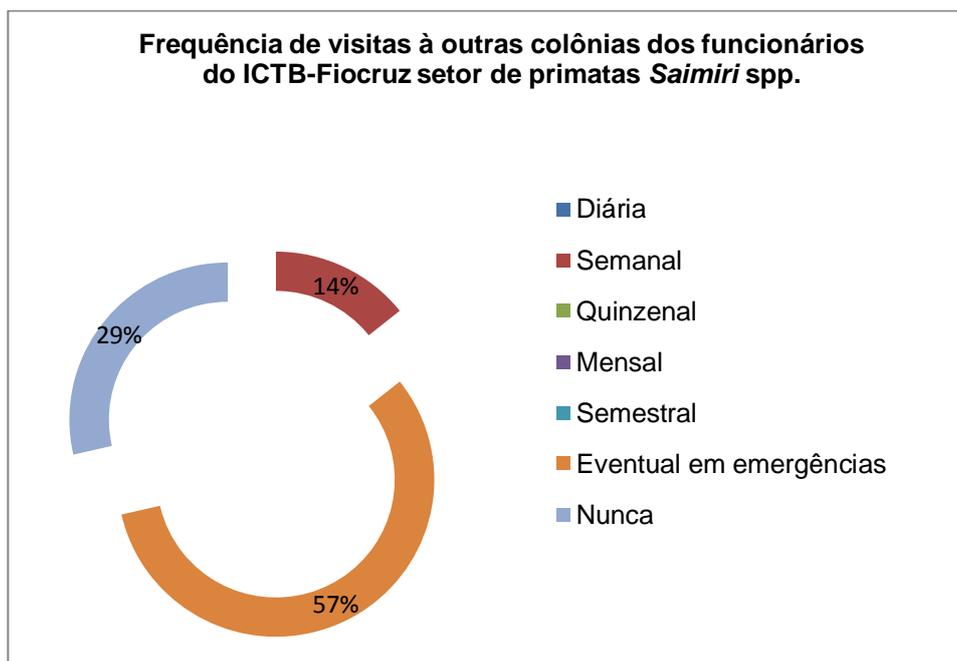


Gráfico 5. Frequência de visitas à outras colônias dos funcionários do ICTB-Fiocruz setor de primatas não humanos *Saimiri* spp.

4.3 Roteiro de identificação de risco

O Quadro 4 apresenta os fatores de risco ambientais, alimentares e de manejo animal, identificados na colônia de *Saimiri* spp. Dos 18 determinantes avaliados, oito estavam presentes na colônia de PNH.

Quadro 4. Fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* avaliados na colônia de primatas não humanos *Saimiri* spp. do ICTB-Fiocruz, RJ, segundo roteiro aplicado em visita à colônia

Fator	Risco associado	Situação do fator na colônia de <i>Saimiri</i> spp.
Presença de gatos	Liberação de oocistos nas fezes contaminando o ambiente com formas do parasito	Presente
Presença de aves e roedores	Possíveis carreadores de oocistos para os recintos e ocasionalmente, se infectados, os cistos no tecido poderiam ser ingeridos ao serem e predados pelos primatas	Presente

Presença de insetos	Possíveis carreadores de oocistos para dentro dos recintos	Presente
Tratamento da água	A água pode ser uma fonte de infecção. É necessário saber sua origem e o tratamento que a água recebe antes de ser fornecida Mas na colônia de <i>Saimiri</i> spp, a água passa por filtragem adicional em filtro de cada caixa d'água	N.A.
Recinto próximo à rede de esgoto (Figura 16A)	Transbordamento da rede de esgoto durante as chuvas carreando formas infectantes do parasito além de bactérias e outros microorganismos	Presente
Limpeza de recintos (Figura 16B)	A falta de limpeza poderia manter as formas resistentes do parasito no ambiente, casos existentes, e aumentar a exposição dos primatas	N.A. Limpeza com água pressurizada e hipoclorito
Limpeza de caixas d'água	Se contaminada, a água poderia ser fonte de contaminação dos primatas que a ingerissem. Necessária limpeza das caixas d'água para eliminar possibilidade de formas do parasito	N. A Realizada mensalmente
Compartilhamento de materiais entre colônias	Se contaminadas, as ferramentas poderiam servir de fonte de infecção para outros animais	Ausente
Prevenção contra roedores	Roedores podem ser carreadores de oocistos de <i>T. gondii</i> e podem atuar como HI	N.A. Medidas de prevenção aplicadas
Possibilidade de interação entre primatas e animais em vida livre (Figura 16C)	Animais infectados (como pequenos primatas) em contato com <i>Saimiri</i> spp. podem transmitir formas de <i>T. gondii</i>	Presente
Falta de higienização mecânica de frutas e vegetais	Alimentos não higienizados podem carrear em sua superfície oocistos do parasito	Presente
Origem desconhecida de frutas e vegetais conhecida	Locais de cultivo de alimentos onde há presença de felídeos podem estar contaminados com oocistos eliminados pelos animais	N.A. Origem conhecida
Comida fica exposta no	Atrair roedores e outros animais que	Ausente

ambiente	podem carrear oocistos ou eventualmente, servir de presas sendo HI do <i>T. gondii</i>	
Consumo de carne na dieta	A carne contendo cistos do parasito levariam a infecção dos primatas	Ausente
Suspeita de toxoplasmose (há mais de 5 anos)	Poderia levar os animais a exposição de formas infectantes	Presente
Suspeita de toxoplasmose recente (menos de 4 anos)	Poderia levar os animais a exposição de formas infectantes	Presente
Diagnóstico de toxoplasmose	Em casos confirmados, poderia levar ao risco de transmissão de outros em primatas em contato	Ausente
Sem local de isolamento de animais doentes	A falta de um local de isolamento força o contato do animal doente com outros animais sadios e pode ocorrer transmissão de formas infectantes de <i>T. gondii</i>	Presente

* N.A. – Não Aplicável

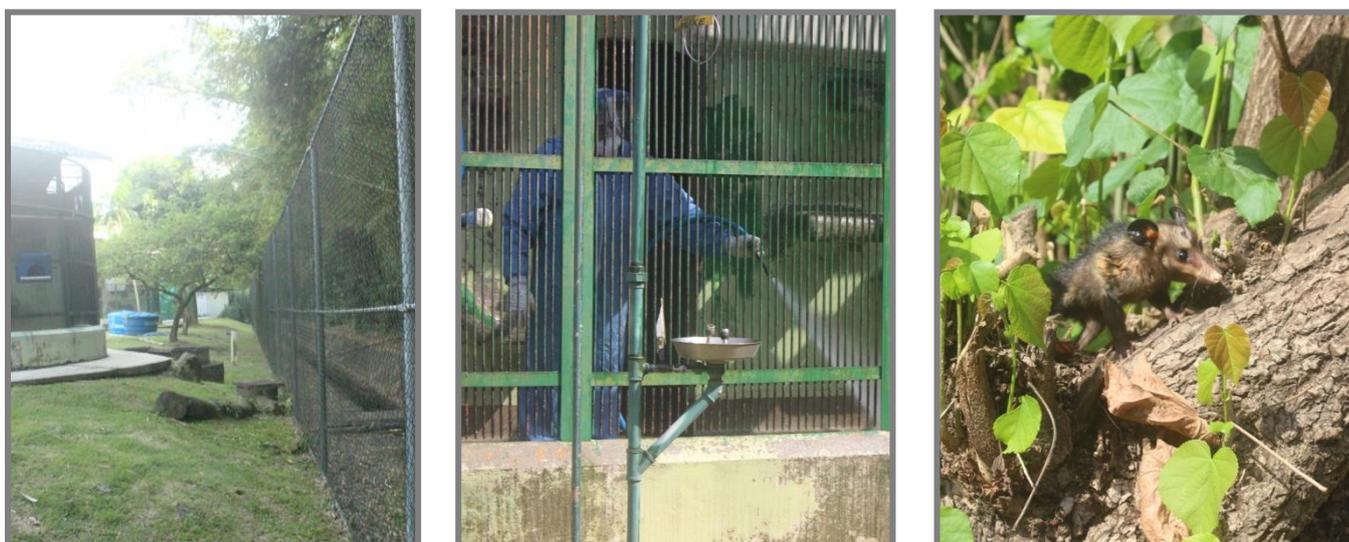


Figura 16. (A) Proximidade da colônia *Saimiri* spp. com a rede de esgoto e córrego com deposição de dejetos. Fonte: Autor. **(B)** Limpeza diária dos recintos com jato de água pressurizada. Fonte: Autor. **(C)** Animais de vida livre em proximidade ao recintos dos primatas *Saimiri* spp. Fonte: Autor.

4.4 Histologia

Foram observados na microscopia tecidos (pulmões) com regiões significativas de autólise, áreas com infiltrados pulmonares e edema considerável. Por meio da histologia não foram observadas formas de *Toxoplasma gondii*, bem como foi descartada a possibilidade da ocorrência de tuberculose na amostra analisada, hipótese levantada após a verificação de achados semelhantes aos causados pelo microorganismo durante a microscopia.

5 DISCUSSÃO

Os resultados sugerem que os PNH da colônia do ICTB foram expostos ao *T. gondii*, em razão da detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em soros de 24 animais somando as duas técnicas sorológicas que está em concordância. É importante ressaltar que, apesar do resultado obtido no presente estudo, os animais estavam aparentemente saudáveis à época da coleta de sangue e que até o momento, não foram relatados sinais de doença.

Apesar de existirem artigos sobre *T. gondii* relacionado a *Samiri* spp., as publicações são geralmente sobre relatos de casos e surtos em zoológicos (Carne *et al.*, 2009; Salant *et al.*, 2009; Furuta *et al.*, 2001; Cedillo-Peláez *et al.*, 2011; Carneiro *et al.*, 2014; Hanseul *et al.*, 2018). No entanto, estudos que fazem levantamento sorológico são bastante escassos se relacionados com o gênero avaliado nesse estudo, reforçando sua relevância.

A soropositividade de 7,20% (9/125) encontrada por meio da RIFI e de 12% (15/125) pela MAT da população de PNH da Fiocruz se mostrou inferior a de 31,8% (7/22) observado por Casagrande *et al.*(2013) em Lages, Santa Catarina e de 23,3% (10/43) encontrados no estudo de Silva (2016) em Baurú, São Paulo, ambos realizados com primatas neotropicais de diferentes espécies em zoológicos.

A baixa soroprevalência pode ser devido à alta letalidade da toxoplasmose para os “macacos de cheiro”, uma vez que a sensibilidade desses animais a *T. gondii* é tão alta que torna difícil verificar a sua sorologia. Segundo Cedillo-Peláez *et al.* (2011) e Dubey (2010) quando a maioria dos indivíduos é exposta ao parasito morre rapidamente, sem tempo hábil para que seu organismo produza resposta humoral

As amostras soropositivas desse estudo apresentaram baixa titulação (1:16) de anticorpo IgG anti-*T.gondii*, Titulações superiores (1:256) foram evidenciadas em estudo realizado por Cunningham *et al.* (1992) em um surto no Zoológico de Londres. Segundo Bouer *et al.*(1999), alguns animais se infectam a cada ano, não demonstrando sinais clínicos e mesmo sem tratamento, desenvolvem imunidade após a infecção inicial e só adoecem caso sofram imunossupressão ou passem por uma situação de muito estresse. Tal fato, pode ter ocorrido na população estudada, uma vez que um dos animais soropositivos morreu subitamente pertencente a

espécie *saimiri sciureus*, apesar de até o momento não ter sido identificada a causa *mortis*.

Em relação às análises realizadas a partir dos tecidos do animal, a qualidade dos cortes histológicos tornou difícil a observação das estruturas celulares, pois durante o exame, os tecidos apresentaram características de autólise avançadas. Apesar disso, foram observados infiltrados pulmonares e edema considerável, indicando possível tuberculose na amostra. Por isso, foi feita a coloração de Ziehl-Neelsen, que refutou a possibilidade dessa ocorrência. Além disso, de acordo com a microscopia, não foi observada a presença de *Toxoplasma gondii*, fato corroborado pelo resultado negativo obtido com a prova de imunohistoquímica, que foi realizada por outro laboratório em razões de dificuldades técnicas e de insumos.

O sexo, a faixa etária e a espécie dos PNH não foram evidenciados como fatores que pudessem estar favorecendo ou servindo de fator de proteção a infecção por *T.gondii*, uma vez que não houve diferença estatística significativa.

Apesar de não representar fator de proteção ou risco, observou-se maior positividade entre fêmeas, tanto pela RIFI quanto pelo MAT. Resultados com proporções de soropositividade maior em fêmeas e menor em machos também foram verificadas em um estudo em zoológico (Silva, 2016) utilizando MAT como método sorológico. Uma explicação para este fato poderia ser porque as fêmeas têm forte interação social entre elas e cooperam para competir agressivamente por recursos com outros integrantes do grupo (Boinski.1999). Devido a isso, podem ter maior contato com fontes da infecção ao lutar por alimentos ou ao percorrer pelo recinto em busca dos mesmos ou de outras ferramentas que lhes é de interesse (objetos de enriquecimento ambiental, por exemplo). Sugere-se que tal fato também pode ter ocorrido devido ao maior número de fêmeas na colônia.

De acordo com os resultados relacionados à faixa etária, animais adultos e subadultos demonstraram maior soropositividade, o que sugere que o fato de terem vivido mais tempo no local, aumentaria a possibilidade de exposição, conseqüentemente, mais chances de contato com as fontes de transmissão de *T. gondii*. Esta maior positividade em indivíduos mais velhos também foi observado em humanos (Sobral *et al.*, 2005, Spalding *et al.*, 2005). Outro fator que deveria ser levado em consideração foi que a quantidade de animais adultos e subadultos (representando 84 % da população total) era aproximadamente cinco vezes maior

que a de juvenis e infantis juntos, o que pode ter interferido na análise estatística relacionada a esta variável.

A espécie *Saimiri sciureus* apresentou soropositividade, diferentemente da espécie *Saimiri ustus*, onde não se encontrou nenhum indivíduo sororreagente, o que pode indicar que a espécie *S. sciureus* pode ser mais suscetível do que a *S. ustus*. Apesar disso, deve-se levar em consideração que dentro da colônia, a quantidade *S. sciureus* é consideravelmente maior que *S. ustus*, o que pode ser um fator de interferência para a análise. A menor quantidade de indivíduos dessa espécie pode ter ocasionado menor exposição a fatores de risco. Além do mais, a susceptibilidade pode ser diferente entre as espécies de PNH neotropicais como sugerido por Borst; Van Knapen (1984) e Cunningham *et al.*(1992).

A sorologia positiva dos PNH poderia ser explicada pelo contato desses animais com oocistos no ambiente proveniente de fezes de gatos infectados com acesso a colônia. Apesar de não ser possível definir o momento da exposição e infecção ao parasito, durante o estudo não foi observada a presença de felinos no local, mas há relatos de felinos e suas crias dentro da colônia. Outra possibilidade seria de que roedores e aves (hospedeiros intermediários) infectados por *T. gondii*, poderiam ter sido predados ao adentrar algum recinto, embora não tenham sido encontrados indícios desses animais na colônia. Além dessas situações, formas infectantes de *T. gondii* podem ter sido levadas à colônia por meio dos sapatos de prestadores de serviço, que ocasionalmente realizam trabalhos de jardinagem ou reparos de infraestrutura na colônia. Estes trabalhadores podem ter tido contato com solos contaminados em outros locais, sendo esta, a rota mais provável para exposição dos PNH a *T. gondii*, fato referido por Hanseul *et al.*, (2018) em colônias de PNH.

Todos os animais soropositivos pela RIFI foram oriundos de um mesmo recinto, onde a maioria dos PNH que lá estavam alocados eram provenientes do Instituto Pasteur. Sugere-se que esses animais tenham sido expostos ao parasito antes de chegarem à colônia. Mas, não há exames sorológicos específicos anteriores que possam ser comparados para definição de quando ocorreu a exposição e infecção dos animais ao *T. gondii*, o eu reforça a necessidade desses exames como rotina. Apesar da soropositividade reduzir as chances de doença, os primatas estudados, são animais utilizados para pesquisa biomédica, sendo desejável a ausência de infecção por quaisquer agentes infecciosos, a fim de

interferir o mínimo possível nos estudos em que são utilizados como biomodelos. Este resultado aponta para a importância de estudos soroepidemiológicos em colônias de PNH utilizados como biomodelos.

Foi verificado, por meio das entrevistas estruturadas que a maioria dos funcionários da colônia possuía algum conhecimento sobre a toxoplasmose, sendo que, aproximadamente metade dos que conheciam a enfermidade, aprendeu sobre ela em sua formação acadêmica. O conhecimento pode ajudar a evitar a aquisição de infecções, representando um ponto positivo. Porém cabe ressaltar que 43% não sabiam sobre a doença. Este fato ressalta a importância do desenvolvimento de atividades educativas em saúde no tema toxoplasmose com estes funcionários, de forma a melhorar a qualidade e vida dos PNH e dos próprios funcionários, pois apesar de receberem constantes treinamentos e atualizações para aperfeiçoamento, ainda não foi incluso em seus cronogramas a educação continuada sobre *Toxoplasma gondii*. Um estudo realizado por Rodrigues (2015) para avaliação do conhecimento das mulheres sobre zoonose e toxoplasmose em Mossoró, RN, revelou que 60,93% das mulheres que responderam as questões já ouviram falar sobre toxoplasmose e 16,15% dessa população de mulheres tinha algum conhecimento sobre a doença. E segundo Moura *et al.* (2016), 42,7% (173/405) das gestantes entrevistadas em seu estudo sabiam sobre a doença causada pelo protozoário. Desse percentual, as porcentagens maiores indicaram que 24,3% (42/173) das gestantes foram informadas sobre a toxoplasmose por meio de amigos e 19,6% (34/173) por médicos.

Outro fator importante detectado no presente estudo foi o fato de que alguns dos funcionários realizam trabalhos em outras colônias em situações emergenciais ou com alguma frequência, se tratando do manejo alimentar. Esta atividade poderia possibilitar a contaminação cruzada entre as colônias de primatas do ICTB. Apesar disso, todos alegaram não utilizar as mesmas ferramentas para diferentes colônias e realizar a troca da paramentação (fato observado durante visita à colônia) se necessário o atendimento de outro setor da primatologia, pois, jalecos e botas são instrumentos de uso exclusivo de cada colônia. Essas hipóteses foram levantadas em estudo feito por Bouer *et al.* (1999). Esses fatores contribuem para reduzir a transmissão além da execução de medidas preventivas contra roedores. Bouer *et al.* (1999) e Salant *et al.* (2009), discorrem sobre a possibilidade de roedores

infectados com o protozoário serem responsáveis pela propagação da infecção toxoplásmica.

A presença de gatos, aves, roedores e de insetos, que poderiam atuar no ciclo do parasito servindo como hospedeiros intermediários ou carreadores mecânicos de oocistos infectantes, no caso dos insetos, foi confirmada durante a visitação à colônia, fato que também foi observado por Salant *et al.* (2009) e por Carme *et al.* (2009). A interação dos PNH com outros animais de vida livre também é possível no local, já que devido à curiosidade aguçada, acabam puxando os animais que circundam os recintos para dentro dos mesmos ou estes animais entram nos recintos espontaneamente a procura de alimentos (Bouer *et al.*, 1999).

Outro ponto positivo, relacionado a esse estudo, foi o fato de que os alimentos eram calculados de acordo com a necessidade diária de ingestão de nutrientes e com a quantidade de animais em cada recinto. Isto permite que não haja alimentos excedentes após as refeições, evitando a contaminação dos mesmos ao diminuir o tempo de exposição destes ao ambiente. A contaminação de alimentos tem sido apontada como um fator importante na transmissão do *T. gondii* (Almeida *et al.*, 2011), porém sugere-se baseado no observado que não parece estar contribuindo com a positividade encontrada.

No presente estudo, a limpeza das caixas d'água e dos recintos além do tratamento adicional da água com filtros instalados individualmente em cada recinto podem estar contribuindo para reduzir o risco de transmissão do parasito. Carme *et al.* (2009), em seu estudo sobre surto ocorrido em colônia reprodutiva de micos-de-cheiro, minimizaram a transmissão de oocistos pela água devido ao tratamento que as fontes hídricas recebiam.

Já a proximidade dos recintos da rede de esgoto, no ICTB, possibilitaria o carreamento e contato com oocistos do ambiente ao levar efluentes para dentro dos recintos com os transbordamentos da rede de esgoto causada pelas chuvas, porém não há maneiras de avaliar a contribuição desse fator para o risco de infecção toxoplásmica em PNH. Sabe-se que a contaminação da água e a transmissão de formas infectantes de *T. gondii* por esse meio é um risco para vida aquática e para a saúde pública e que a avaliação da presença do parasito na água tratada ou não é um desafio, considerando-se o despejo de esgoto e má utilização dos recursos hídricos disponíveis, é necessário o desenvolvimento de métodos mais eficientes de investigação (Galvani, 2016).

Foi verificada a higienização de frutas e verduras com água e hipoclorito de sódio na colônia do ICTB, mesmo assim, é desejável adicionar à etapa de higienização a limpeza mecânica, a fim de eliminar as formas do parasita que estivessem presentes nos alimentos. Dùmètre e Dardé (2003) alertaram sobre a resistência ao hipoclorito de sódio, detergentes e outras soluções desinfetantes.

A dieta alimentar dos *Saimiri* spp. da colônia do ICTB, não incluí a ingestão de carne, esse fato diminui o risco de ingestão de cistos de *T. gondii* contidos em tecidos de HI's e baseia a alimentação em ração, frutas e folhas (Carne *et al.*, 2009; Dubey, 2010).

No passado, há cerca de cinco anos, houve a suspeita de toxoplasmose na colônia, segundo a médica veterinária, Thalita Pissinatti, que atualmente é responsável pela colônia de *Saimiri* spp., o que pode ter exposto alguns animais ao parasito, já que o caso não foi confirmado ou refutado. Recentemente, ocorreu mais um caso suspeito de toxoplasmose, esse fato pode ser indicativo que há um fator principal dentro os já citados que necessita ser combatido, como os gatos domésticos que invadem o local e até dão à luz e criam suas ninhadas lá, período mais propenso à eliminação de oocistos no ambiente por HD. Porém, segundo o roteiro de identificação de riscos, nenhum PNH teve o diagnóstico de toxoplasmose confirmado até os dias atuais.

A falta de um local de isolamento para animais doentes, sem diagnóstico confirmado também é um fator de risco, já que esses animais, se infectados com *T. gondii* poderão servir de fonte de infecção para outros animais que estejam saudáveis, podendo, eventualmente, causar um surto dentro da colônia, como foi relatado por Furuta *et al.* (2001).

Os resultados do presente estudo identificaram vários fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* na colônia de PNH *Saimiri* spp. do ICTB/Fiocruz, bem como soropositividade em alguns indivíduos. Identificou-se também necessidade de educação continuada dos funcionários e demais colaboradores quanto ao tema toxoplasmose, propiciando a conscientização e aquisição de condutas protetivas para humanos e outros animais. Estes resultados são de grande importância visto que a colônia é utilizada como biomodelos e a ausência do parasitismo poderá determinar maior qualidade no desenvolvimento de projetos em que estes animais são utilizados.

6 PERSPECTIVAS

- A possível análise de PCR dos tecidos de órgãos coletados do primata não humano que foi a óbito durante a pesquisa a fim de fazer a detecção de DNA de *T. gondii* após implementação e padronização da técnica no laboratório.
- Monitorar os animais que tiveram resultados negativos em ambas as técnicas para identificar se permanecem negativos. Testagem a ser feita em intervalos regulares de tempo.
- Caso o protozoário não seja detectado por nenhuma das técnicas, procurar possíveis causas que expliquem a morte súbita do animal.
- Dar continuidade a pesquisa em PNH, encontrando meios de prevenir doenças evitáveis com o manejo.
- Programa de educação continuada em forma de palestras semestrais aos trabalhadores da colônia. Distribuição de cartazes pelas dependências da colônia e produção de folders informativos à equipe.

7 CONCLUSÕES

- O roteiro investigativo e a entrevista estruturada conseguiram mostrar a presença de fatores de risco para ocorrência de infecção toxoplásmica na colônia de *Saimiri* spp do ICTB, Fiocruz.
- Com o roteiro investigativo foi possível identificar a presença de fatores que contribuem para o risco de ocorrência da infecção toxoplásmica. Entretanto, não foi verificada associação entre esses fatores e a infecção em PNH *Saimiri* spp. da colônia do ICTB.
- Por meio do roteiro também foi possível verificar a necessidade da criação de um local de isolamento para animais doentes ou em convalescência. Evitando contato desses com animais saudáveis.
- Apesar da entrevista estruturada aplicada aos profissionais da colônia de *Saimiri* spp. do ICTB permitiu a identificação de fatores de risco para a ocorrência da infecção toxoplásmica, não foi evidenciada a atuação dos mesmos na transmissão por *T. gondii*.
- Com a entrevista estruturada evidenciou-se a necessidade de educação continuada sobre a toxoplasmose entre funcionários e colaboradores que atuam nas colônias de PNH do ICTB, Fiocruz.
- Por meio das técnicas de RIFI e MAT foi possível detectar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* indicando a exposição dos PNH da colônia ao protozoário.
- A frequência de animais sororreagentes na população de PNH estudada não está correlacionada com as variáveis sexo, idade e espécie não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adl SM, Simpson AG, Lane CE, Lukes J, Bass D, Bowser SS, et al. The revised classification of eukaryotes. *J Eukaryot Microbiol* 2012; 59 (5): 429-493.

Almeida MJ, Oliveira LHH, Freire RL, Navarro IT. Aspectos sociopolíticos da epidemia de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí (PR). *Ciencia & Saúde Coletiva* 2011; 16 (1): 1363-1373.

Alves JM, Magalhães V, Matos MAG. Retinocoroidite toxoplásmica em pacientes com AIDS e neurotoxoplasmose. *Arq Bras Oftalmol* 2010; 73 (2): 150-154.

Amendoeira MRR. Mecanismos de transmissão da toxoplasmose. *An Acad Nac Med* 1995; 155 (4): 224-225.

Amendoeira MRR. Toxoplasmosis research approach. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92 (suppl I): 38-39.

Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. *Revista Souza Marques* 1999; 1 (1): 15-29.

Amendoeira MRR, Mattos DPBG, Carreira JCA, Silva AVM, Goulart PRM. Protozoologia. In: Molinaro EM, Caputo LFG, Amendoeira MRR. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. Volume 5. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC; 2012. p. 21-190.

Andrade MCR; Coelho JMCO; Amendoeira MRR; Vicente RT; Cardoso CVP; FerreiraPCB; Marchevsky RS. Toxoplasmosis in squirrel monkeys: histological and immunohistochemical analysis. *Ciência Rural* 2007; 37 (6): 1724-1727.

Andreotti R, Mattos MFC, Oliveira JM, Locatelli-Dittrich R. Teste sorológico de imunofluorescência indireta para o diagnóstico da neosporose em bovinos. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte; 2004. Comunicado técnico, 86.

Ankel-Simons F. *Primate Anatomy*. 3rd ed. Durham, North Carolina: Elsevier; 2007. p. 1-32.

Batista GLLR. Diagnóstico sorológico e molecular da toxoplasmose. Monografia [Graduação – Biomedicina] Centro Universitário São Lucas, 2018.

Bicca-Marques JC, Silva VM, Gomes DF. Ordem Primates. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP, editores. Mamíferos do Brasil. Londrina: Sema, Universidade Estadual de Londrina; 2006. p. 101-148.

Bhopale GM. Pathogenesis of toxoplasmosis. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 2003; 26: 213–222.

Boinski S. The social organizations of squirrel monkeys: Implications for ecological models of social evolution. *Evol Anthropol* 1999; 8 (3): 101-112.

Boothroyd JC, Grigg M. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection - do different strains cause different disease? *Current Opinion in Microbiology* 2002; (5): 438–442

Borst GHA, Van Knapen F. Acute acquired toxoplasmosis in primates in a zoo. *J Zoo An Med* 1984; 15: 60-62.

Bouer A, Werther K, Catão-Dias JL, Nunes AL. Outbreak of toxoplasmosis in *Lagothrix lagotricha*. *Folia Primatol* 1999; 70 (5): 282-285.

Bresciani KDS, Toniollo GH, Costa AJ, Sabatini GA, Moraes FR. Toxoplasmose experimental em cadelas gestantes – observações clínicas, parasitológicas e obstétricas. *Ciência Rural* 2001; 31 (6): 1039-1043.

Camargo M. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1964; 6 (3): 117-118.

Camargo MCV, Antunes CMF, Chiari CA. Epidemiologia da Infecção por *Toxoplasma gondii* no município de Ribeirão das Neves, MG. Importância dos animais domésticos como fonte de infecção do *T. gondii* para o homem. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995; 28 (3): 211-214.

Camossi LG, Silva AV, Langoni H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2010; 62 (2): 484-488.

Carme B, Ajzenberg D, Demar M, Simon S, Dardé ML, Maubert B, et al. Outbreaks of toxoplasmosis in a captive breeding colony of squirrel monkeys. *Vet Parasitol* 2009; 163: 132- 135.

Carneiro BF, Miranda MM, Neto OJS, Linhares GFC, Araújo LBM. Inquérito sorológico para *Toxoplasma gondii* em mamíferos neotropicais mantidos no Centro de Triagem de Animais Silvestres, Goiânia, Goiás. *Ver Patol Trop* 2014; 43 (1): 69-78.

Casagrande RA, Silva TCE, Pescador CA, Borelli V, Souza Junior JC, Souza ER, et al. Toxoplasmose em primatas neotropicais: Estudo retrospectivo de sete casos. *Pesq Vet Bras* 2013; 33 (1): 94-98.

Cedillo-Peláez C, Rico-Torres CP, Salas-Garrido CG, Correa D. Acute toxoplasmosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Mexico. *Vet Parasitol* 2011; 180: 368-371.

Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and psychological measurement* 1960; 20 (1): 37-46.

Correia PC, Correia EJ. Toxoplasmose ocular adquirida. *Rev Fac Ciênc Méd* 2011; 13 (2): 28-29.

Cunningham AA, Buxton D, Thomson KM. An epidemic of toxoplasmosis in a captive colony of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Comp Pathol* 1992; 107: 207-219.

Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of toxoplasma infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* 1980; 11 (6): 562-568.

Dietz HH, Henriksen P, Bille-Hansen V, Henriksen SA. Toxoplasmosis in a colony of new world monkeys. *Vet Parasitol* 1997; 68: 299-304.

Dubey JP, Mattix ME, Lipscomb TP. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Vet Pathol* 1996; 33: 290-295.

Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11 (2): 267-299.

Dubey JP. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol 2009; 39: 877-882.

Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. Beltsville: CRC Press; 2010.

Dubey JP, Rajendran C, Costa DG, Ferreira LR, Kwok OCH, Qu D, et al. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. J Parasitol 2010; 96: 709-12.

Dùmetre A, Dardé ML. FEMS Microbiol Rev 2003; 27: 651- 661.

Echarte G. Estudo comparativo da prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres em cativeiro e fatores de risco para a saúde humana associados com o risco ocupacional no Zoológico Nacional de Cuba e no Zoológico do Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Medicina Tropical] – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz; 2019.

Epiphanyo S, Senhorini IL, Catão-Dias JL. Pathology of toxoplasmosis in captive new world primates. J Comp Pathol 2003; 129: 196-204.

Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, et al. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet Parasitol 1999; 86: 155–171.

Fialho CG, Araújo FAP. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil. Cienc Rural 2003; 33 (5): 893-97.

Freitas WA. Sorologia para *Toxoplasma gondii* em equídeos abatidos sob serviço de inspeção federal em abatedouro no estado de Minas Gerais, Brasil. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] – Universidade Federal de Uberlândia; 2017.

Frenkel JK, Bermudez JEV. Toxoplasmose. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. Tratado de Infectologia. 5. ed. São Paulo: Atheneu; 2015. p. 1945-1964.

Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science 1970; 167: 893-896.

Furuta T, Une Y, Omura M, Matsutani N, Nomura Y, Kikuchi T, et al. Horizontal transmission of *Toxoplasma gondii* in squirrel monkeys (*saimiri sciureus*) in Japan. *Exp Anim* 2001; 50 (4): 299-306.

Galvani AT Quantificação de oocistos de *Toxoplasma gondii* em amostras de água superficiais do Estado de São Paulo. Dissertação [Mestrado em Ciências] – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2016.

Garcia JL, Svoboda WK, Chryssafidis AL, Malanski LS, Shiozawa MM, Aguiar LM, et al. Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus* spp.; *Alouatta caraya*) at the Paraná river basin, Paraná State, Brazil. *Vet Parasitol* 2005; 133: 307-311.

Garcia JL, Gennari SM, Machado RZ, Navarro IT. *Toxoplasma gondii*: Detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Exp Pathol* 2006; 113: 267-271.

Golçalves MAB, Silva SL, Tavares MCH, Grosmann NV, Cipreste CF, Castro PHG. Comportamento e bem-estar animal: o enriquecimento ambiental. In: Andrade A, Andrade MCR, Marinho AM, Ferreira Filho J, organizadores. *Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica*. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz; 2010. p. 137-160.

Gomes MCO. Sorologia para toxoplasmose. *Rev Fac Ciênc Méd* 2004; 6: (2): 8 – 11.

Gyimesi ZS, Lappin MR, Dubey JP. Application of assays for the diagnosis of toxoplasmosis in a colony of woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*). *J Zoo Wildl Med* 2006; 37: 276–280.

Hanseul O, Kyung-Yeon E, Gumber S, Jung Joo H, C-Yoon K, Hyun-Hoo L, et al. An outbreak of toxoplasmosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in South Korea. *J Med Primatol* 2018; 47 (4): 238-246.

Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 634–640.

Hill D, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev* 2005 ; 6 (1) : 41–6.

Hyakutake S, Mearim AB. Toxoplasmose no Brasil: Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975. Rev Inst Adolfo Lutz 1976; 36: 103-125.

Innes EA. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1997; 20 (2): 131-138.

Instituto Federal Catarinense. Toxoplasmose: infecção por Toxoplasmose [acesso em 18 ago 2020]. Disponível em: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pt/toxoplasmosis-PT.pdf>.

Jakubek EB, Lundén A, Aggla A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. Infections in Swedish horse. Vet Parasit 2006; 138: 194-9.

Jones JL, Muccioli C, Belfort RJ, Holland JN, Roberts JM, Silveira C. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. Emerg Infect Dis 2006; 12 (4): 582-587.

Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Food Prot 1991; 54 (9) : 687-690.

Kugelmeier T, Valle RR, Monteiro FOB. Biologia da Reprodução. In: Andrade A, Andrade MCR, Marinho AM, Ferreira Filho J, organizadores. Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2010. p. 57-108.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; 33 (1): 159-174.

Levine ND, Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Honigberg BM. A newly revised classification of the protozoa. J Protozool 1980; 27 (1): 37-58.

Maluenda ACH, Casagrande RA, Nemer VC, Kanamura CT, Kluyber D, Teixeira RHF, Matushima ER. Infecção aguda fatal por *Toxoplasma gondii* em macaco-barrigudo (*Lagothrix lagotricha*) - relato de caso. Clínica Veterinária. 2009 ; 14(81): 100-104.

McKissickh GE, Ratcliffe L, Koestner A. Enzootic Toxoplasmosis in caged squirrel monkeys *Saimiri sciureus*. Pathol Vet 1968; 5: 538-560.

Minho AP, Freire RL, Vidotto O, Gennari SM, Marana EM, Garcia JL, et al. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for

detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in experimentally infected pigs. *Pesq Vet Bras* 2004; 24 (4): 199-202.

Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004; 363: 1965–76.

Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clin Infect Dis* 2008; 47:554–66.

Moura FL, Goulart PRM, Moura APP, Souza TS, Fonseca ABM, Amendoeira MRR. Fatores associados ao conhecimento sobre a toxoplasmose entre gestantes atendidas na rede pública de saúde do município de Niterói, Rio de Janeiro, 2013-2015. *Epidemiol. Serv. Saude* 2016; 25 (3): 655-661.

Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis* 2006; 12 (2): 326 –329.

Moussa MAAD. Estudo clínico, laboratorial e epidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres, bovinos, suínos e comunidades rurais da região de Nhecolândia, Pantanal, Brasil. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Ciências] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz; 2014.

Oliva VNLS. Contenção química de cães e gatos. In: Feitosa FLF. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. 2. ed. São Paulo: Roca; 2008. p. 48-62.

Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 2009; 39: 1385–1394.

Pertz C, Dubielzig RR, Lindsay DS. Fatal *Toxoplasma gondii* infection in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia rosalia*). *J Zoo Wild Med* 1997; 28 (4): 491-493.

Pissinatti TA. Avaliação das fases do ciclo ovariano e anestro de *Cebus Xantosternos* (Wied-Neuwied, 1826) e *Cebus Robustus* (Kuhl, 1820) através da ultrassonografia, citologia vaginal e dosagem hormonal. *Cebidae-primates*. Dissertação [Mestrado em Clínica e Reprodução Animal - Medicina Veterinária] - Universidade Federal Fluminense; 2009.

Pissinatti A, Andrade MCR. Histórico. In: Andrade A, Andrade MCR, Marinho AM, Ferreira Filho J, organizadores. *Biologia, Manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2010. p. 21-40.

Randall LM, Hunter CA. Parasite dissemination and the pathogenesis of toxoplasmosis. *Eur J Microbiol Immunol* 2011; 1: 3 –9.

Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein J, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. 205-346.

Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25 (2): 264-296.

Rodrigues DNJ. Avaliação do conhecimento da população sobre formas de transmissão e medidas preventivas da toxoplasmose em Mossoró-RN. Dissertação [Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade] – Universidade Federal Rural do Semi-Árido; 2015.

Rylands AB, Mittermeier RA. The diversity of the new world primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy. In: Garber PA, Estrada A, Bicca-Marques JC, Heymann EW, Strier KB. *South american primates: comparative perspectives in the study of behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago; 2009. p. 23-54.

Sabin AB. Biological and immunological identity of *Toxoplasma* of animal and human origin. In: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 41.1; 1939; New York, (NY). 75-80.

Salant H, Weigram T, Spira DT, Eizenberg T. An outbreak of toxoplasmosis amongst squirrel monkeys in an Israeli monkey colony. *Vet Parasitol* 2009; 159: 24–29.

Schneider H. The current status of the new world monkey phylogeny. *An Acad Bras Cienc* 2000; 72 (2): 165-172.

Seefeldt SL, Kirkbride CA, Dubey JP. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody test, and direct agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally aborted ovine fetuses. *J Vet Diagn Invest* 1989; 1: 124-127.

Sherding RG. Toxoplasmosis and other systemic protozoal infections. In: Sherding RG, Birchard SJ. Saunders Manual of Small Animal Practice. 3th ed. Saint Louis: Elsevier; 2006. p. 220-229.

Silva DB. Diagnóstico sorológico e molecular de *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos em parque zoológico. Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária] - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp; 2016.

Sobral CA, Amendoeira MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous brazilian populations. Am J Trop Med Hyg 2005; 72 (1): 37-41.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Prospective study of pregnant women and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul. Rev Soc Bras de Med Trop 2003; 31 (4): 483-91.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in south of Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38 (2):173-177.

Stone AI. Responses of Squirrel Monkeys to seasonal changes in food availability in an eastern amazonian forest. Am J Primatol 2007; 69:142–157.

Tenter AM, Johnson AM. Phylogeny of the tissue cyst forming coccidia. Adv Parasitol 1997; 39: 70-141.

Thiébaud F, Leproust S, Chêne G. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet 2007; 369: 115–22.

Uchôa CMA, Duarte R, Laurentino-Silva V, Alexandre GMC, Ferreira HG, Amendoeira MMR. Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de imunofluorescência indireta. Rev Soc Bras Med Trop 1999; 32 (6): 661-669.

Unwin S, Ancrenaz M, Bailey MW. Handling, anaesthesia, health evaluation and biological sampling. In: Setchell JM, Curtis DJ. Field and laboratory methods in

primatology: A practical guide. 2th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2011. p. 147-168.

Valentini EJM, Caprara A, Souza SLP, Mattaraia VGM, Gennari SM, Rodrigues UP. Investigação sorológica de infec o por *Toxoplasma gondii* em colônia de macacos da espécie macaca mulatta. Arq Inst Biol 2004; 71 (4): 507-510.

Vidotto O, Navarro IT, Freire RL, Garcia JL. Toxoplasmose. In: Jericó MM, Neto JPA, Kogika MM. Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos. Rio de Janeiro: Roca; 2015. p. 703-712.

Yabsley MJ, Jordan CN, Mitchell SM, Norton TM, Lindsay DS. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, *sarcocystis neurona*, and *encephalitozoon cuniculi* in three species of lemurs from St. Catherines Island, GA, USA. Vet Parasitol 2007; 144: 28–32.

9 APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE I – Formulário I (Apoio Técnico)



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Oswaldo Cruz
 Laboratório de Toxoplasmose e outras
 Protozooses



Formulário I (Apoio técnico)

Inquérito: “Pesquisa de fatores de risco associados a infecção por *Toxoplasma gondii* na colônia *Saimiri* spp.”

Este inquérito possui caráter anônimo, que tem por objetivo a produção de uma dissertação de Mestrado em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

A intenção desta entrevista é obter informações necessárias para correlacioná-las e entender se existem indicativos de possíveis riscos referentes ao local, hábitos dos animais, alimentação ou manejo que levem à infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*.

Bloco I – Conhecimento sobre a toxoplasmose

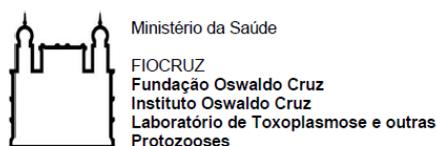
1. Você sabe o que é a toxoplasmose?
2. Como soube da doença?

<input type="checkbox"/> Médico	<input type="checkbox"/> Médico veterinário	<input type="checkbox"/> Formação Acadêmica	<input type="checkbox"/> Internet
<input type="checkbox"/> Treinamento Profissional	<input type="checkbox"/> Família	<input type="checkbox"/> Outros	
<input type="checkbox"/> Comunicação social	<input type="checkbox"/> Não sabe		
3. Quais formas de transmissão você conhece?

<input type="checkbox"/> Consumo de carne contendo parasitas
<input type="checkbox"/> Consumo de vegetais ou frutas mal lavados
<input type="checkbox"/> Beber água não potável
<input type="checkbox"/> Não lavar as mãos depois de contato com o solo (jardinagem, etc.)
<input type="checkbox"/> Brincar com gatos
<input type="checkbox"/> Limpar a caixa de areia dos gatos
<input type="checkbox"/> Outros
<input type="checkbox"/> Não sabe

Bloco II – Limpeza e organização da colônia

4. O local de armazenamento da água que abastece a colônia recebe algum tipo de limpeza?
5. De quanto em quanto tempo essa limpeza é realizada?
6. Qual é o intervalo de tempo entre as limpezas dos recintos?
7. E dos comedouros e bebedouros (caso o recinto seja provido dessas estruturas)?
8. Que água é utilizada para a limpeza dos recintos?
9. Quais produtos são utilizados para a limpeza?
10. O chão é limpo com fricção mecânica por meio da utilização de escovões ou vassouras?

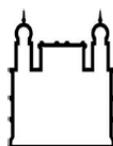


11. O material de limpeza utilizado é compartilhado com outras colônias?
12. Após a limpeza, aonde são armazenados os dejetos e lixo gerado na colônia até serem coletados?
13. Em que intervalo de tempo são realizadas coletas de lixo? (toda semana, a cada 2 dias, mensal, ...)
14. Para onde é enviado esse material? (Qual o destino dele)
15. Os instrumentos utilizados no manejo dos animais como puçás, caixas de transporte, etc, são compartilhados com outra colônia?
16. Em um eventual atendimento a outras colônias, as roupas utilizadas durante o manejo são as mesmas do manejo anterior?
17. Você realiza trabalho em outras colônias?
18. Qual a frequência das visitas (caso sejam realizadas) a outras colônias?

Bloco III – Outros

19. São avistadas aves pela colônia?
20. As aves entram nos recintos?
21. Outros animais (gatos, ratos, outros pequenos roedores) são vistos na colônia?
22. Quais medidas são tomadas pra prevenir ou evitar isso?
23. Gostaria que fossem disponibilizados materiais informativos sobre a toxoplasmose e o parasita que a transmite?
24. Informações adicionais e/ou observações pertinentes (opcional).

APÊNDICE II – Formulário II (Manejador alimentar)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Toxoplasmose e outras
Protozooses



Formulário II

Inquérito: “Pesquisa de fatores de risco associados a infecção por *Toxoplasma gondii* na colônia *Saimiri* spp.”

Este inquérito possui caráter anônimo, que tem por objetivo a produção de uma dissertação de Mestrado em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

A intenção desta entrevista é obter informações necessárias para correlacioná-las e entender se existem indicativos de possíveis riscos referentes ao local, hábitos dos animais, alimentação ou manejo que levem à infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*.

Bloco I – Conhecimento sobre a toxoplasmose

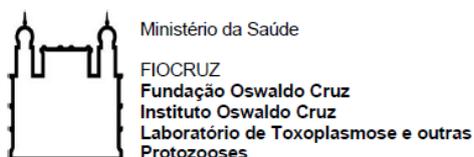
1. Você sabe o que é a toxoplasmose?
2. Como soube da doença?

<input type="checkbox"/> Médico	<input type="checkbox"/> Médico veterinário	<input type="checkbox"/> Formação acadêmica	<input type="checkbox"/> Internet
<input type="checkbox"/> Treinamento Profissional	<input type="checkbox"/> Família	<input type="checkbox"/> Outros	
<input type="checkbox"/> Comunicação social	<input type="checkbox"/> Não sabe		
3. Quais formas de transmissão você conhece?

<input type="checkbox"/> Consumo de carne contendo parasitas
<input type="checkbox"/> Consumo de vegetais ou frutas mal lavados
<input type="checkbox"/> Beber água não potável
<input type="checkbox"/> Não lavar as mãos depois de contato com o solo (jardinagem, etc.)
<input type="checkbox"/> Brincar com gatos
<input type="checkbox"/> Limpar a caixa de areia dos gatos
<input type="checkbox"/> Outros

Bloco II – Sobre o manejo alimentar

4. Qual o tipo de alimentação que é oferecida aos animais?
5. Qual origem das frutas ofertadas?
6. As frutas passam por alguma higienização?
7. Qual procedimento é feito para higienizar as frutas?
8. Por quanto tempo as frutas são higienizadas?
9. Após procedimentos veterinários, são oferecidos petiscos aos animais como forma de recompensa?
10. Qual a origem desses petiscos?

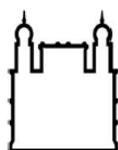


11. É feito algum tratamento (térmico, químico, etc) antes de ofertá-los?
12. Os alimentos fornecidos são os mesmo para todas as colônias?
13. Os alimentos ficam à disposição dos animais o tempo todo ou são ofertados em horários determinados?
14. E a água? (disponível todo o tempo ou ofertada e retirada)
15. Em que recipiente é oferecido a água para os animais?
16. Qual é a origem da água para hidratação dos animais?
17. Qual o intervalo de tempo indicado para troca da água e da comida (caso fiquem disponíveis)?

Bloco III – Outros

18. Na colônia, existe algum local utilizado para estocagem de alimentos?
19. Existe a possibilidade de que algum animal errático ou rato tenham acesso a essas instalações?
20. Existe a possibilidade de que animais erráticos ou ratos tenham acesso a água dos primatas?
21. Existe uma horta próxima à colônia? Os produtos dessa horta são consumidos pela colônia?
22. Em caso afirmativo para a pergunta anterior, você saberia a origem da água utilizada para a irrigação da horta?
23. Você saberia se o solo utilizado para a horta recebe tratamento com fertilizantes?
24. As roupas utilizadas durante o manejo são as mesmas para todas as colônias?
25. Você realiza trabalho em outras colônias?
26. As visitas a outras colônias é frequente?
27. Gostaria que fossem disponibilizados materiais informativos sobre a toxoplasmose e o parasita que a transmite?
28. Informações adicionais e/ou observações pertinentes (opcional).

APÊNDICE III – Formulário III (Responsável Veterinário)



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Oswaldo Cruz
 Laboratório de Toxoplasmose e outras
 Protozooses



Formulário III

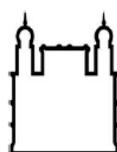
Inquérito: “Pesquisa de fatores de risco associados a infecção por *Toxoplasma gondii* na colônia *Saimiri* spp.”

Este inquérito possui caráter anônimo, que tem por objetivo a produção de uma dissertação de Mestrado em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz.

A intenção desta entrevista é obter informações necessárias para correlacioná-las e entender se existem indicativos de possíveis riscos referentes ao local, hábitos dos animais, alimentação ou manejo que levem à infecção pelo protozoário *Toxoplasma gondii*.

Bloco I – Conhecimento sobre a estrutura da colônia

1. O que está próximo da área da colônia?
2. Qual a topografia do local?
3. Qual a distância entre uma colônia e outra?
4. Existe comunicação entre as colônias?
5. Qual origem dos animais da colônia?
6. Qual o número de recintos da colônia?
7. Quantos animais por recinto?
8. Qual a temperatura e umidade (condições climáticas) predominante dos recintos?
9. Qual a origem da água potável da colônia?
10. Essa água recebe algum tratamento específico antes de ser disponibilizada para uso?
11. Aonde ficam localizados os recipientes que comportam essa água?
12. Algum animal errático pode ter acesso a esse local?
13. No caso de utilizarem bebedouros, qual o tipo? (cimento, madeira, pneu, ausente, outro, não aplicável)
14. Como é oferecida a comida? (comedouros dentro das instalações, comedouros fora das instalações, diretamente no solo, não é oferecido comida, outros, ...)
15. No caso da utilização de comedouros, qual o material destes? (cimento, madeira, pneu, ausente, outro, não aplicável)
16. Como é feita a entrega de alimentos, medicamentos, etc para as colônias pelos fornecedores?



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Oswaldo Cruz
 Laboratório de Toxoplasmose e outras
 Protozooses



Bloco II – Atividades médico-veterinárias

17. Em caso de doença sem diagnóstico clínico confirmado, esses animais ficam em locais separados dos animais saudáveis?
18. Nos procedimentos veterinários realizados, o lixo gerado que é produzido é armazenado em algum local na colônia antes de ser coletado e levado para o descarte?
19. Algum animal da colônia já foi diagnosticado com toxoplasmose?
20. Já houve alguma suspeita clínica de toxoplasmose na colônia?
21. Se a resposta a pergunta anterior for afirmativa, quais procedimentos foram adotados?
22. O que é feito para a prevenção dessa doença na colônia?
23. Em caso de eutanásia ou morte natural, qual o destino da carcaça?

Bloco III - Outros

24. As roupas utilizadas durante o manejo são as mesmas para todas as colônias?
25. Você realiza trabalho em outras colônias?
26. Próximo existe uma horta que fornece algum produto para a colônia?
27. Você saberia qual a procedência da água utilizada para irrigar a horta?
28. Materiais médicos, medicamentos e outros instrumentos de uso profissional são compartilhados entre as colônias?
29. As visitas a outras colônias é frequente?
30. É feito algum controle na população de ratos na colônia?
31. Em caso positivo, qual o tipo de controle é aplicado para a população de ratos?
32. Há Pessoas que circulam nas dependências da colônia que não os funcionários (visitantes, fornecedores)?
33. Gostaria que fossem disponibilizados materiais informativos sobre a toxoplasmose e o parasita que a transmite?
34. Informações adicionais e/ou observações pertinentes (existe rede de esgoto próximo as estruturas físicas da colônia, ...).

APÊNDICE IV – Roteiro de Identificação de Riscos



Ministério da Saúde

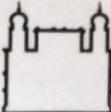
FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Oswaldo Cruz
 Laboratório de Toxoplasmose e outras
 Protozooses



ROTEIRO DE IDENTIFICAÇÃO DE RISCOS

	Sim	Não
Ambiente		
Presença de gatos	X	
Presença de aves	X	
Presença de roedores	X	
Presença de insetos	X	
Tratamento da água	X	
Recinto próximo a rede de esgoto	X	
Limpeza de recintos	X	
Limpeza de caixas d'água	X	
Compartilhamento de materiais entre colônias		X
Medidas de prevenção contra roedores	X	
Possibilidade de interação entre primatas e animais em vida livre	X	
Manejo alimentar		
Frutas e vegetais são higienizados	X	
Origem de frutas e vegetais conhecida	X	
Comida fica exposta no ambiente	X	
Carne na dieta		X
Manejo animal		
Suspeita de toxoplasmose passada (há mais de cinco anos)	X	
Suspeita de toxoplasmose recente		X
Diagnóstico de toxoplasmose		X
Local de isolamento de animais doentes		X

ANEXO I – LICENÇA CEUA/FIOCRUZ

 Ministério da Saúde

 FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Vice-presidência de Pesquisa e
Laboratórios de Referência

 CEUA
FIOCRUZ

Comissão de Ética
no Uso de Animais

LICENÇA **LW-5/16**

Certificamos que o protocolo (P-8/14.5), intitulado "CRIAÇÃO, PRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DE PRIMATAS NÃO HUMANOS NO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO/CECAL PARA ATENDER AOS PROGRAMAS E PROJETOS DESENVOLVIDOS NA FIOCRUZ", sob a responsabilidade de CARLA DE FREITAS CAMPOS 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.

Informamos que todos os animais encaminhados para experimento devem ser testados previamente para tuberculose e os proponentes deverão informar imediatamente à Comissão de Ética no Uso de Animais da FioCruz o surgimento de animais positivos para a doença.

Esta licença tem validade até 29/02/2020 e inclui o uso total de:

Macaca mulatta

- 163 machos.
- 335 fêmeas.

Macaca fascicularis

- 19 machos.
- 39 fêmeas.

Saimiri sciureus

- 91 machos.
- 145 fêmeas.

Saimiri ustus

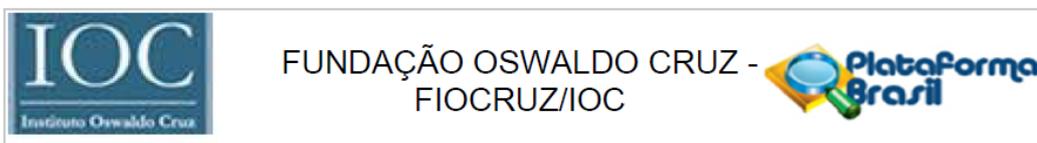
- 10 machos.
- 04 fêmeas.



Rio de Janeiro, 29 de fevereiro de 2016.

Etelcia M. Molinaro
Vice - Coordenadora
CEUA/FIOCRUZ
SIAPE 0483096

ANEXO II – Protocolo de Submissão CEP/IOC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Pesquisa da infecção por *Toxoplasma gondii* e de fatores de risco associados na colônia de Saimiri spp.

Pesquisador: Maria Regina Reis Amendoeira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 02130918.9.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.044.468

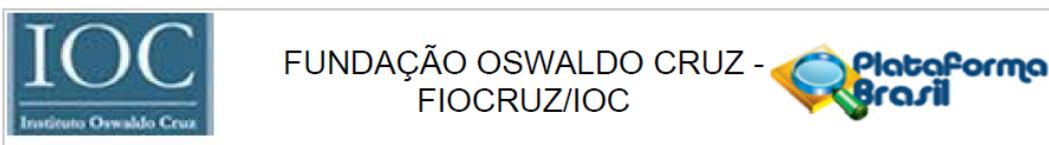
Apresentação do Projeto:

Os primatas não humanos do novo mundo *Saimiri* spp. demonstram uma grande suscetibilidade ao *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) e a ocorrência da infecção toxoplásmica dentro de uma colônia é muito preocupante devido a possibilidade de surto. A alta mortalidade que a toxoplasmose causa nesses animais, pode dizimar toda uma população que é utilizada em diversos projetos de pesquisa. Levando em consideração o acima exposto, pretende-se realizar um estudo transversal observacional descritivo com o objetivo de produzir um levantamento sorológico para verificar a ocorrência da infecção por *T.gondii* em primatas neotropicais do gênero *Saimiri* sp. da colônia de primatas do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), na cidade do Rio de Janeiro/RJ, Brasil, detectando anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e pela técnica de aglutinação modificada (MAT). E analisar por meio dos dados obtidos com a entrevista dos funcionários da colônia, a presença de possíveis fatores de risco associados a infecção. Com este estudo, espera-se obter dados sobre a situação epidemiológica atual da colônia de *Saimiri* spp do ICTB, que permitam melhorar o manejo, possibilitando assim que haja a redução dos fatores de risco, na expectativa da prevenção da toxoplasmose no plantel de primatas da Fiocruz.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo da Pesquisa:

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 3.044.468

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, em sua 244ª Reunião Ordinária, realizada em 13.11.2018, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 decidiu sobre a APROVAÇÃO, deste protocolo de Pesquisa dentro dos moldes apresentados. Informamos que há necessidade de apresentar Relatórios semestrais ao CEP sobre o desenvolvimento do Projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1243947.pdf	31/10/2018 16:07:39		Aceito
Outros	termoconf.pdf	29/10/2018 16:13:35	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Outros	termoanuencia.pdf	29/10/2018 16:12:58	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Outros	QuestionariInqueritoRespveterinario.pdf	29/10/2018 16:11:05	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Outros	QuestionariInqueritoManejalimentar.pdf	29/10/2018 16:10:37	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Outros	QuestionariInqueritoApoiotecnico.pdf	29/10/2018 16:10:04	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	29/10/2018 16:07:23	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetomestradoPrimatas.pdf	29/10/2018 16:06:45	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	29/10/2018 16:04:18	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderostoassinada.pdf	29/10/2018 16:03:40	Maria Regina Reis Amendoeira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

ANEXO III – Comprovante de Cadastro no SisGen



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO
Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº AEEF597

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

Número do cadastro: **AEEF597**
 Usuário: **Fiocruz**
 CPF/CNPJ: **33.781.055/0001-35**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Saimiri sciureus
Saimiri ustus

Título da Atividade: **Identificação de fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos neotropicais *Saimiri* spp. no ICTB Fiocruz, RJ, Brasil**

Equipe

Maria Regina Reis Amendoeira	Fiocruz
Carolina Andrade de Oliveira	Fiocruz
Thalita de Abreu Pissinatti	Fiocruz
Marcelo Leitão de Vasconcellos	Fiocruz
Igor Falco Arruda	Fiocruz

Data do Cadastro: **22/11/2019 13:01:33**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **16:26** de **10/12/2019**.



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

ANEXO IV – Autorização SisBio



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: 73425-1	Data da Emissão: 09/12/2019 18:33:18	Data da Revalidação*: 09/12/2020
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: Carolina Andrade de Oliveira	CPF: 122.813.057-40
Título do Projeto: Identificação de fatores de risco para infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em primatas não humanos neotropicais <i>Saimiri</i> spp. no ICTB Fiocruz, RJ, Brasil	
Nome da Instituição: Fundação Oswaldo Cruz	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Realização de testes sorológicos	12/2019	12/2019
2	Aplicação de entrevista aos funcionários da colônia de <i>Saimiri</i> spp. do ICTB	12/2019	12/2019
3	Visitação à colônia para identificação de fatores de risco segundo roteiro e fotos	11/2019	11/2019

Observações e ressalvas

1	Esta autorização NÃO exige 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.
2	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 infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 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.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	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.
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/icgen .

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

Código de autenticação: 0734250120191209

Página 1/3