



Universidade de Brasília – UnB

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Laboratório Interdisciplinar de Biociências – LabIBC

Ludmilla Melanie Tavares da Silva

DETECÇÃO MOLECULAR DE PROTOZOÁRIOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA EM
***Callithrix penicillata* (GEOFFROY, 1812) DE VIDA LIVRE NO DISTRITO**
FEDERAL

Brasília-DF,

2025

Ludmilla Melanie Tavares da Silva

DETECÇÃO MOLECULAR DE PROTOZOÁRIOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA EM
***Callithrix penicillata* (GEOFFROY, 1812) DE VIDA LIVRE NO DISTRITO**
FEDERAL

Dissertação apresentada como requisito à obtenção do grau Mestre em Biologia das doenças infecciosas e parasitárias, Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade de Brasília - UnB

Orientadora: Prof^a. Dr^a Luciana Hagström

Brasília-DF,

2025

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

TM517d Tavares da Silva, Ludmilla Melanie
 Detecção Molecular de protozoários de importância médica
em *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) de vida livre no
Distrito Federal / Ludmilla Melanie Tavares da Silva;
orientador Luciana Hagström. -- Brasília, 2025.
 168 p.

 Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) --
Universidade de Brasília, 2025.

 1. Primatas. 2. Animais silvestres. 3. Uma Só Saúde. 4.
Brasília. 5. Doenças parasitárias. I. Hagström, Luciana ,
orient. II. Título.

Brasília - DF, 27 de fevereiro de 2025

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Luciana Hagström (Orientadora/Presidente)

Universidade de Brasília – UnB

Prof^a. Dr^a. Aline Machado Rapello do Nascimento (Membro Externo)

Coordenação Geral de Vigilância de Arboviroses do Departamento de Doenças
Transmissíveis – Secretaria de Saúde e Ambiente do Ministério da Saúde

Prof^a. Dr^a. Tamires Emanuele Vital (Membro Externo)

Faculdade Unyleya

Prof. Dr^o. Rodrigo Gurgel Gonçalves (Suplente)

Universidade de Brasília – UnB

DEDICATÓRIA

Em uma carta para Martha, Freud escreveu: *“Como fica forte uma pessoa quando está segura de ser amada.”* Posso afirmar, com certeza, que toda a força necessária para chegar até aqui veio do amor que recebi ao meu redor. Dedico este trabalho, em especial, à minha mãe, Maria Clara, que, mesmo sendo diagnosticada com a doença de Chagas, nunca se deixou vitimar por ela e é a mulher mais forte que conheço. E ao meu pai, José Ribamar, por me amar como sou e, com sua calma, sempre me apoiar. Que este trabalho seja um grão de areia no oceano de conhecimento que busca melhorar a vida de tantos que sofrem com doenças negligenciadas.

AGRADECIMENTOS

A vida só vale a pena quando é compartilhada. Saio desta etapa com o coração carregado de gratidão por todos que estiveram ao meu lado e compartilharam dessa jornada comigo. Este trabalho só foi possível porque tive muito apoio! Não foram anos fáceis, mas sou profundamente grata pela oportunidade de aprender tanto ao longo dos dias.

Agradeço a Deus por sua graça e bondade infinitas, pela oportunidade de ter acesso ao estudo, por realizar meus sonhos e por me dar a força necessária para chegar até aqui.

À minha orientadora, Luciana Hagström, agradeço por, desde o início, ter me acolhido com tanto carinho, mesmo sem me conhecer. Obrigada por todo o apoio, pela parceria, pelos momentos de conforto, disponibilidade e paciência, por caminhar ao meu lado e compartilhar comigo todo o seu conhecimento. Você é uma das pessoas mais inspiradoras e maravilhosas que conheço. Obrigada por tanto!

Às queridas professoras Nadjar Nitz, Mariana Hecht, Dora Rabello e Juliana Lott, meu agradecimento pela constante disponibilidade para oferecer ajuda e por estarem sempre presentes. As sugestões, trocas de ideias e ensinamentos de vocês me inspiram. É um privilégio fazer parte de um laboratório liderado por mulheres tão fortes e admiráveis. Agradeço também ao Bruno Dallago, pela disponibilidade, suporte e parceria.

Agradeço ao Bruno Dallago por disponibilizar seu tempo, suporte e parceria para realizar as análises estatísticas. Agradeço também ao Leonardo Levenhagem que nos auxiliou muito nessa reta final também com as análises estatísticas. Ainda, agradeço também ao meu amigo Fabrício Leal pela ajuda com os resultados, pelos conselhos e pela parceria. Te admiro muito.

Ao professor Márcio Botelho, ao Davi Emanuel Ribeiro de Sousa e a toda a equipe do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília, sou grata pelas análises histológicas. Um agradecimento especial ao Davi, pela ajuda e parceria fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Agradeço imensamente à banca examinadora, Aline Machado Rapello do Nascimento, Tamires Emanuele Vital e Rodrigo Gurgel Gonçalves, por gentilmente aceitarem o convite para participar da construção deste sonho. Obrigada por

contribuírem com suas experiências e conhecimentos de forma tão significativa para a conclusão dessa etapa tão importante da minha vida.

À equipe e amigos sensacionais do LabIBC — Fábio William, Ananda Taba, Filipe Barbalho, Elias Luiz, Amandda Evélin, Marina Barcelos, Emañuella Garcez, Peter Lee e Marcelo —, meu muito obrigada por serem parceiros de trabalho incríveis e por estarem sempre dispostos a me ajudar. Vocês tornam tudo mais leve, e é maravilhoso trabalhar com vocês!

À Vitória Pessoa, por sua paciência e cuidado, sou muito grata por ser sua amiga! Obrigada por ser minha parceira em todos os momentos. Amo você e me orgulho de você! Agradeço também às minhas amigas cientistas — Marina, Maria Victória, Ilana, Stefhani, Antônio Vitor e Giovana Kim (membra honorária do laboratório). Como é lindo e grande o amor que sinto por vocês! Obrigada por me presentear com uma amizade tão especial, por alegrarem meus dias, por me inspirarem e por estarem ao meu lado oferecendo apoio e carinho. Sou grata por aprender com vocês todos os dias. Amo muito vocês e tenho certeza de que ainda teremos muitas aventuras juntas!

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

À FAPDF, pelo financiamento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical pela oportunidade.

Agradeço aos meus gatos, Juca e Luna, por sua fidelidade, amor e companhia. Vocês alegram os meus dias e são essenciais na minha vida.

As minhas amigas Ana Júlia, Tamara e Mayara, agradeço de todo o meu coração pois graças a vocês, estou aqui hoje. Obrigada por me ajudarem a realizar meu sonho, por acreditarem em mim quando eu mesma não acreditava e pelo amor recebido ao longo de todos esses anos. O apoio de vocês é minha motivação. Amo vocês!

Aos meus amigos de longa data — Nina, Tali, Vinicius e Fernando —, meu agradecimento profundo. Em muitos momentos, o cuidado e a companhia de vocês foram a força e a alegria que precisei para continuar. Obrigada por nossa amizade e por serem minha família. Meu amor por vocês é infinito. Agradeço também ao Dante, que, mesmo tão pequeno, é um raio de sol que ilumina a minha vida.

Aos meus pais queridos, Maria Clara e Ribamar, sou grata por todo o amor incondicional. Agradeço a Deus por ter escolhido vocês para serem meus pais.

Obrigada por estarem ao meu lado, por me amarem e, assim, sabendo que sou amada, me sentir segura em ser quem eu sou. Vocês são a vida da minha vida. Amo vocês ao infinito e além.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, seja direta ou indiretamente. E agradeço a mim mesma, por não ter desistido e, mesmo sendo imperfeita, ter conseguido chegar até aqui e concluir essa jornada.

“Nada é maior que a força de um sonho.”

(Lucas Silveira).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Callithrix penicillata*.

Figura 2. Mapa de distribuição da espécie *Callithrix penicillata* em território brasileiro.

Figura 3. Uma Só Saúde.

Figura 4. Distribuição geográfica da doença de Chagas.

Figura 5. Representação esquemática das formas evolutivas do protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Figura 5. Ciclo de vida do protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Figura 7. Número de casos reportados de leishmaniose.

Figura 8. Ciclo de vida de *Leishmania*.

Figura 9. Abordagem interdisciplinar (Uma Só Saúde) para o controle da toxoplasmose.

Figura 10. Soroprevalência global IgM de *Toxoplasma gondii* entre gestantes.

Figura 11. Desenhos esquemáticos de um taquizoíto e um bradizoíto do protozoário *Toxoplasma gondii*.

Figura 12. Ciclo de vida do protozoário *Toxoplasma gondii*.

Figura 13. Localidades com casos de malária de ocorrência natural de 2000 até 2023.

Figura 14. Ciclo de vida do protozoário *Plasmodium*.

Figura 15. Mapa das Regiões Administrativas do Distrito Federal.

Figura 16. Divisão do grupo amostral.

Figura 17. Curva padrão de DNA nuclear de *Trypanosoma cruzi* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações.

Figura 18. Curva padrão de *Leishmania* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações.

Figura 19. Curva padrão de DNA de *Toxoplasma gondii* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações.

Figura 20. Quantitativo de primatas por Região Administrativa.

Figura 21. Resultado das necrópsias dos primatas não humanos avaliados no estudo.

Figura 22. Classificação dos primatas com base no gênero e idade após a morte.

Figura 23. Produtos da amplificação de PCR convencional visualizados em gel de agarose.

Figura 24. Padrão da curva de dissociação obtida na qPCR para quantificação de *Trypanosoma cruzi*.

Figura 25. Número de amostras positivas para *Trypanosoma cruzi* nas Regiões Administrativas do Distrito Federal.

Figura 26. Curvas de dissociação padrão observada nas qPCRs de *Leishmania* spp.

Figura 27. Produtos da amplificação de qPCR com marcador LITS/ITS 5.8S para amplificação do gene de *Leishmania* spp.

Figura 28. Número de amostras positivas para *Leishmania* nas Regiões Administrativas do Distrito Federal.

Figura 29. Padrão da curva de dissociação obtida na qPCR para detecção de *Toxoplasma gondii*.

Figura 30. Curvas de amplificação linear típica das qPCRs para detecção de *Toxoplasma gondii*.

Figura 31. Número de amostras positivas para *Toxoplasma gondii* nas Regiões Administrativas do Distrito Federal.

Figura 32. Análise das curvas obtidas na qPCR com os iniciadores que amplificam o DNA de *Plasmodium* spp.

Figura 33. Diagrama das infecções mistas encontradas em *Callithrix penicillata*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Regiões administrativas do Distrito Federal onde foram encontrados *Callithrix penicillata*.

Tabela 2. Sequência de iniciadores utilizados nas reações em cadeia pela polimerase.

Tabela 3. Quantidade de micos positivos e negativos para *Trypanosoma cruzi* entre 2018 e 2023.

Tabela 4. Dados da carga parasitária das amostras positivas para *Trypanosoma cruzi*.

Tabela 5. Quantidade de micos positivos e negativos para *Toxoplasma gondii* entre 2018 e 2023.

Tabela 6. Dados da carga parasitária das amostras positivas para *Toxoplasma gondii*.

Tabela 7. Regiões administrativas do Distrito Federal onde foram encontrados grupos de *Callithrix penicillata* no mesmo local e ano.

LISTA DE ABREVIATURAS

C. penicillata - *Callithrix penicillata*

CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres

Cq - Ciclo de quantificação, do inglês *Quantification cycle*

DF - Distrito Federal

DIVAL zoonoses - Secretaria de Vigilância Ambiental em Saúde

DPI - Dias pós infecção

DTN - Doença tropical negligenciada

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA - Ensaio imunoenzimático, do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

HE - Hematoxilina e eosina

HCL - Ácido Clorídrico

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LC - Leishmaniose cutânea

LCD - Leishmaniose cutânea difusa

LMC - Leishmaniose mucocutânea

Log – Logaritmo

LPV/UnB - Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília

LT - Leishmaniose tegumentar

LV - Leishmaniose visceral

NaCl - Cloreto de Sódio

nDNA - DNA nuclear

PCR - Reação em cadeia da polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*

PNH - Primata não humano

PNM - Primata do Novo Mundo

qPCR - Reação em cadeia da polimerase quantitativa /em tempo real

RA - Região administrativa

SSC - Citrato de sódio salino

T. cruzi - *Trypanosoma cruzi*

T. gondii - *Toxoplasma gondii*

TRIS - Tris [Hidroximetil] Aminometano ou trometamol

UF - Unidade Federativa

UnB - Universidade de Brasília

UV - Luz ultravioleta

WHO - *World Health Organization*

ÓRGÃOS FINANCIADORES

Este trabalho foi realizado no Laboratório Interdisciplinar de Biociências localizado na Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília.

Financiamento: Fundação de Apoio à Pesquisa (FAPDF); Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	21
1. Urbanização e desmatamento	21
2. Primatas Neotropicais e o gênero <i>Callithrix</i> spp.	24
3. Uma Só Saúde	27
4. Zoonoses e saúde pública	29
5. Doença de Chagas	31
5.1.1. Características gerais	31
5.1.2. Ciclo biológico <i>Trypanosoma cruzi</i>	33
5.1.3. Vias de transmissão.....	36
5.1.4. Diagnóstico	37
5.1.5. <i>Trypanosoma cruzi</i> em primatas não humanos	38
6. Leishmanioses.....	40
6.1.1. Características gerais	40
6.1.2. Ciclo de vida de <i>Leishmania</i>	43
6.1.3. Vias de transmissão.....	46
6.1.4. Diagnóstico	47
6.1.5. <i>Leishmania</i> em primatas não humanos	49
7. Toxoplasmose.....	50
7.1.1. Características gerais	50
7.1.2. Ciclo biológico <i>Toxoplasma gondii</i>	54
7.1.3. Vias de transmissão.....	58
7.1.4. Diagnóstico	60
7.1.5. <i>Toxoplasma gondii</i> em primatas não humanos	60
8. Malária.....	61
8.1.1. Características gerais	61
8.1.2. Ciclo de vida <i>Plasmodium</i>	64
8.1.3. Vias de transmissão.....	67
8.1.4. Diagnóstico	68
8.1.5. <i>Plasmodium</i> em primatas não humanos	69

II. JUSTIFICATIVA.....	72
III. OBJETIVO	73
1. Objetivo Geral.....	73
2. Objetivos Específicos	73
IV. MÉTODOS	74
1. Área do estudo	74
2. Animais	75
3. Coleta de amostras.....	76
4. Extração de ácidos nucleicos	77
4.1. Extração de DNA dos parasitos	77
4.2. Extração de DNA do material biológico <i>Callithrix penicillata</i>	78
4.3. Extração de DNA por fenol-clorofórmio.....	79
4.4. Extração de DNA com kit comercial	80
5. Quantificação e análise da qualidade do DNA extraído	80
6. Reação em cadeia da polimerase em tempo real	81
6.1. Curva padrão para quantificação absoluta da carga parasitária	82
6.2. Curva padrão de <i>Trypanosoma cruzi</i>	83
6.3. Curva padrão de <i>Leishmania</i> spp.	83
6.4. Curva padrão de <i>Toxoplasma gondii</i>	84
6.5. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de <i>Trypanosoma cruzi</i>	85
6.6. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de <i>Leishmania</i> spp.	86
6.7. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de <i>Toxoplasma gondii</i>	86
6.8. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para detecção de <i>Plasmodium</i> spp.....	87
7. Análise estatística.....	87
V. RESULTADOS	88
1. Distribuição das amostras por Região Administrativa.....	88
2. <i>Causa mortis</i> dos animais	89

3. Classificação das amostras por sexo e idade.....	90
4. Análise da qualidade do DNA extraído	91
5. Reação em cadeia da polimerase para <i>Trypanosoma cruzi</i>	92
6. Reação em cadeia da polimerase para <i>Leishmania</i> spp.	95
7. Reação em cadeia da polimerase para <i>Toxoplasma gondii</i>	99
8. Reação em cadeia da polimerase para <i>Plasmodium</i>	102
9. Análise de <i>C. penicillata</i> encontrados em grupos por localidade.....	103
10. Casos de infecção mista entre protozoários.....	104
VI. DISCUSSÃO.....	106
VII. CONCLUSÃO	114
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	116
IX. APÊNDICE 1: VERSÃO PRELIMINAR DE ARTIGO CIENTÍFICO PARA PUBLICAÇÃO	155

RESUMO

A urbanização e o desmatamento têm causado mudanças significativas nas paisagens naturais e rurais. O crescimento populacional e a degradação dos habitats naturais forçam muitos animais silvestres, incluindo primatas não humanos (PNHs) neotropicais, a se adaptarem a áreas semiurbanas e urbanas para garantir sua sobrevivência. Essa crescente proximidade entre fauna silvestre, humanos e animais domésticos pode impactar a saúde pública e veterinária, influenciando a dinâmica de transmissão de doenças. Entre os PNHs que demonstram alta capacidade de adaptação a ambientes periurbanos e urbanos, destaca-se *Callithrix penicillata*, espécie nativa do Cerrado amplamente distribuída no Distrito Federal (DF). Esses saguis podem atuar como hospedeiros e reservatórios de diversos parasitos, contribuindo potencialmente para a transmissão de agentes infecciosos de interesse médico e veterinário. Este estudo teve como objetivo avaliar o papel de *C. penicillata* de vida livre no DF como possível reservatório de doenças parasitárias, com foco na infecção por *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. Além disso, buscou-se mapear a ocorrência dessas infecções em diferentes regiões do DF para identificar possíveis áreas de transmissão. Foi extraído DNA do fígado de *C. penicillata* de vida livre encontrados mortos em diferentes localidades do DF e, posteriormente, a detecção e/ou quantificação da carga parasitária por qPCR. Os resultados indicaram a infecção de saguis por *T. cruzi*, *Leishmania* spp. e *T. gondii* em várias regiões administrativas do DF, evidenciando a ampla circulação desses protozoários na fauna local. Não foi detectado *Plasmodium* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Esses achados reforçam a importância do monitoramento da fauna silvestre para compreender a ecologia desses agentes etiológicos e seus potenciais impactos na saúde pública e animal.

Palavras-chave: primatas; saguis; animais silvestres, Brasília; doenças parasitárias, uma só saúde.

ABSTRACT

Urbanization and deforestation have caused significant changes in natural and rural landscapes. Population growth and the degradation of natural habitats have forced many wildlife species, including neotropical non-human primates (NHPs), to adapt to semiurban and urban areas to ensure their survival. This increasing proximity between wildlife, humans, and domestic animals can impact public and veterinary health, influencing the dynamics of disease transmission. Among the NHPs that demonstrate a high capacity for adaptation to periurban and urban environments, *Callithrix penicillata*, a species native to the Cerrado and widely distributed in the Federal District (DF), stands out. These marmosets can act as hosts and reservoirs for various parasites, potentially contributing to the transmission of infectious agents of medical and veterinary interest. This study aimed to evaluate the role of free-ranging *C. penicillata* in the DF as a potential reservoir of parasitic diseases, focusing on infections caused by *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.*, *Toxoplasma gondii*, and *Plasmodium spp.* Additionally, we aimed to map the occurrence of these infections across different regions of the DF to identify potential transmission areas. DNA was extracted from the liver of dead free-ranging *C. penicillata* found in different locations across the DF, followed by the detection and/or quantification of parasitic load using qPCR. The results indicated *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, and *T. gondii* infections in marmosets from several administrative regions of the DF, highlighting the widespread circulation of these protozoa in the local fauna. *Plasmodium spp.* was not detected in any of the samples analyzed. These findings underscore the importance of monitoring wildlife to understand the ecology of these etiological agents and their potential impacts on public and animal health.

Key words: Primates; marmosets; wildlife; Brasília; parasitic diseases; one health.

I. INTRODUÇÃO

1. Urbanização e desmatamento

Nas últimas décadas, os ambientes naturais e rurais têm passado por grandes mudanças devido à urbanização e o desmatamento. Os impactos humanos na Terra aumentaram gradualmente, principalmente a partir da década de 1970, devido às demandas da população em crescimento (Díaz *et al.*, 2019). A urbanização pode ser definida como o desenvolvimento de áreas urbanas em terras rurais e paisagens naturais, o que causa mudança e expansão no uso do solo com o objetivo de atender o aumento da densidade populacional humana (Schmitt; Burghardt, 2021; Sinha; Vijaykrishnan, 2017).

Em 2008, a população urbana mundial excedeu a rural, evidenciando que grande parte da urbanização é resultado da migração de habitantes das áreas rurais para as urbanas (Satterthwaite; McGranahan; Tacoli, 2010). Isso tem sido o principal responsável pelo aumento do desmatamento e da degradação generalizada da biodiversidade, o que resulta em declínios na extensão e na integridade dos ecossistemas, bem como na redução do número de espécies selvagens e variedades locais (Gainsbury; Santos; Wiederhecker, 2022).

A atual perda global de biodiversidade é impulsionada pela exploração excessiva dos recursos naturais, transformando florestas tropicais e paisagens naturais em áreas para a agricultura e agropecuária, aumentando a expansão das paisagens alteradas pelo homem e pela urbanização (Gainsbury; Santos; Wiederhecker, 2022). De fato, o rápido desenvolvimento das cidades e o crescimento populacional, em conjunto com o aumento das necessidades de mercado local e global, determinam uma pressão sobre os recursos naturais para a obtenção, entre outros, de água e alimentação. Isso tem consequências significativas na degradação de habitats naturais que impactam muitos animais silvestres de vida livre, incluindo os primatas não humanos (PNH) nativos de vida livre, afetando sua distribuição (Estrada; Raboy; Oliveira, 2012).

O crescimento da urbanização trouxe desafios a serem enfrentados na esfera ambiental. De acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas (ONU), a população mundial atingirá 9,7 bilhões de habitantes até 2050 (Nações Unidas Brasil,

2019), amplificando os desequilíbrios ambientais. Com isso, entre as diversas consequências, destaca-se o aparecimento de animais silvestres em áreas urbanas em busca de alimentos e outros recursos (abrigo, água, entre outros) (Zorzenon, 2002). Isso resulta no contato de animais silvestres com o homem e com animais domésticos, colocando as três categorias em risco. Essa interação aumenta a vulnerabilidade de humanos e animais, podendo resultar em acidentes (ataques físicos, por exemplo), transmissão de doenças e até maus-tratos (Kobai, 2022).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), populações humanas e de animais domésticos que habitam regiões próximas aos limites de áreas de conservação estão geograficamente mais suscetíveis ao surgimento de doenças infecciosas novas e recorrentes (Who, 2023). Essa informação é especialmente relevante para o Distrito Federal (DF), localizado na região central do Brasil e situado perto de reservas naturais. Isso favorece ainda mais a proximidade entre animais silvestres, domésticos e seres humanos, afetando, em consequência, a distribuição de PNHs de vida livre (Estrada; Raboy; Oliveira, 2012).

Os PNHs aparentam ter mantido, ao longo da história, uma relação estreita com comunidades humanas em áreas urbanas dentro de suas áreas de distribuição. A rápida busca por recursos naturais resultou na ampla disseminação de várias espécies de PNHs em paisagens antropogênicas, que vão desde áreas rurais e semi-rurais até grandes centros urbanos, especialmente ao longo do último século (Sinha; Vijayakrishnan, 2017).

Muitas populações de PNHs foram extintas localmente por não conseguirem se adaptar a pequenos fragmentos de habitat isolados, ou sobrevivem como populações reduzidas, geneticamente isoladas e em declínio, especialmente em regiões tropicais. Entretanto, algumas espécies demonstram a capacidade de prosperar em ambientes urbanos desde que haja disponibilidade, qualidade e quantidade adequadas de recursos. Os ambientes urbanos geralmente oferecem abundância de recursos comestíveis, como culturas cultivadas e outros alimentos fornecidos pelo homem. Estes recursos são palatáveis e ricos em proteínas e outros nutrientes, especialmente quando comparados aos disponíveis na natureza. Além disso, a ausência de predadores potenciais, como grandes carnívoros ou aves de grande porte, torna esses habitats ainda mais favoráveis à sobrevivência de certas espécies de PNH de vida livre que são particularmente adaptáveis (Sinha; Vijayakrishnan, 2017). A distribuição,

os padrões de atividade, os movimentos, a dieta e a reprodução dos PNHs que habitam ambientes urbanos serão influenciados pelo ecossistema único formado pelas cidades, que inclui tanto elementos naturais, quanto elementos criados ou modificados pela atividade humana (Sinha; Vijayakrishnan, 2017).

Apesar de várias espécies de PNHs de vida livre possuírem notável adaptabilidade aos habitats antropogênicos, esses ambientes também expõem essas populações à mortalidade, frequentemente causadas por infecções parasitárias gastrointestinais, eletrocussão, predação por cães e outros animais e conflitos com humanos (Corrêa *et al.*, 2018; Tartarotti *et al.*, 2004). Os PNHs são particularmente vulneráveis à propagação de infecções parasitárias devido sua sociabilidade e vida em grupo que facilitam a disseminação de parasitos. Em pequenos fragmentos de habitat, os PNHs podem ser forçados a se deslocarem pelo solo, entre a vegetação ou consumir água contaminada, aumentando a probabilidade de contrair doenças. Além disso, a proximidade com comunidades humanas e animais domésticos aumentam a exposição a vetores parasitários ou hospedeiros intermediários, o que, em alguns casos, resulta em altas taxas de mortalidade e morbidade (Estrada; Raboy; Oliveira, 2012).

Portanto, a expansão urbana e a proximidade do homem com PNHs de vida livre podem contribuir para a proliferação de parasitos. De fato, a relação frequente entre humanos e animais (domésticos e silvestres) pode amplificar o risco de disseminação de doenças tropicais (Corrêa *et al.*, 2018; Tartarotti *et al.*, 2004). Isso ressalta a importância de monitorar essas interações para compreender o ciclo das zoonoses e os possíveis impactos decorrentes desse convívio, bem como sobre a possibilidade de transmissão cruzada entre populações de PNHs infectados e humanos (Rylands; Mittermeier, 2008; Sinha; Vijayakrishnan, 2017).

Nesse contexto, os PNHs se destacam como potenciais hospedeiros e reservatórios de agentes etiológicos, tornando-se foco de interesse para estudos com abordagem de Uma Só Saúde (em inglês, *One Health*).

2. Primatas Neotropicais e o gênero *Callithrix* spp.

Os primatas neotropicais, conhecidos como primatas do Novo Mundo (PNM), pertencem a infraordem Platyrrhini que vivem em florestas tropicais na América do Sul e Central (Bicca-Marques; Silva; Gomes, 2011). A família Cebidae reúne a maior diversidade de gêneros entre os PNM. Seus representantes estão amplamente distribuídos pelo território brasileiro e exibem variações significativas em termos de características morfológicas e hábitos alimentares. A subfamília Callitrichinae engloba os menores PNM, conhecidos como saguis e micos (Verona; Pissinatti, 2014).

Entre os PNM de porte pequeno que se adaptam facilmente aos ambientes periurbanos e urbanos, destacam-se os saguis do gênero *Callithrix* (família Cebidae, sub família Callitrichidae) (Teixeira *et al.*, 2015) Este gênero é composto por seis espécies: *C. kuhlli*, *C. flaviceps*, *C. geoffroyi*, *C. aurita*, *C. jacchus* e *C. penicillata*. Eles vivem em grupos familiares composto por quatro a quinze indivíduos e incluem múltiplas gerações (Rylands; Mittermeier, 2008). Cada geração é geralmente composta por um casal reprodutivo e dois a quatro indivíduos subadultos e juvenis, que são seus filhotes (Faria, 1986; Verona; Pissinatti, 2014). Os animais do gênero *Callithrix* possuem ornamentos de cabeça e tufos na região das orelhas, que variam de coloração de acordo com a espécie (Coimbra-Filho; Mittermeier, 1973).

A espécie *Callithrix penicillata* é capaz de viver nos habitats mais desfavoráveis e sazonais, sendo considerada uma das espécies mais bem sucedida ecologicamente, tendo em conta a grande distribuição geográfica, as elevadas densidades populacionais e a sua eficiente exploração de habitats (Miranda; Faria, 2001; Stevenson; Rylands, 1988). Eles são conhecidos como saguis-de-tufos-pretos ou mico-estrela. São PNHs de pequeno porte, pesando entre 300 e 450 gramas, com um comprimento corporal médio de 250 mm e uma cauda que mede cerca de 280 mm. Sua pelagem apresenta uma coloração variada, composta por tons de cinza, preto e avermelhado, sendo caracterizada pela presença de tufos auriculares pretos e uma distinta mancha branca na testa (Bicca-Marques; Silva; Gomes, 2011; Stevenson; Rylands, 1988) (**Figura 1**).



Figura 1. *Callithrix penicillata*. Adaptado de Museu do Cerrado (2021); Pexels (2020) e Shutterstock (2020, 2022).

Esses animais são arborícolas, cuja dieta é diversificada, incluindo frutos, insetos, néctar e exsudados vegetais, como goma, resinas e látex. Além disso, podem consumir sementes, flores, ovos de aves e pequenos vertebrados (Bicca-Marques; Silva; Gomes, 2011; Miranda; Faria, 2001). Eles demonstram grande flexibilidade alimentar, adaptando-se às variações sazonais. Durante a estação seca, fazem maior uso de exsudados, enquanto na estação chuvosa, priorizam o consumo de frutos. Essa preferência ocorre porque, embora ambos sejam fontes energéticas, a extração de goma exige maior gasto de energia, tornando os frutos a opção mais vantajosa quando disponíveis no ambiente. Devido a essa adaptabilidade alimentar, os saguis conseguem colonizar ambientes como o cerradão com maior facilidade (Bicca-Marques; Silva; Gomes, 2011; Miranda; Faria, 2001; Stevenson; Rylands, 1988).

C. penicillata possui a distribuição geográfica mais ampla do gênero, abrangendo aproximadamente 1.300.000 km² (Malukiewicz *et al.*, 2020), ocupando tanto áreas naturais quanto urbanas (Teixeira *et al.*, 2015). Essa espécie é endêmica no Brasil (Rímoli; Gomes; Del Rio Do Valle, 2024) e ocorre predominantemente na

região do cerrado, no Centro-Leste do país, mas também pode ser encontrada na Mata Atlântica e na caatinga (Bicca-Marques *et al.*, 2015). Sua presença é registrada como residente e nativa nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Minas Gerais, Piauí e no norte de São Paulo, ao norte dos rios Tietê e Piracicaba. Além disso, é encontrada como residente introduzida nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Tocantins, Pernambuco e Alagoas (Bicca-Marques *et al.*, 2015; Do Vale; Menini Neto; Prezoto, 2020; Rímoli; Gomes; Del Rio Do Valle, 2024). No DF, a espécie é residente e nativa, sendo sua ocorrência bem documentada (Bouchardet da Fonseca; Lacher, 1984; Faria, 1986; Miranda; Faria, 2001). As matas de galeria representam o habitat típico de *C. penicillata*, possivelmente devido à posição central que os riachos ocupam nesses ambientes (Miranda; Faria, 2001)(**Figura 2**).

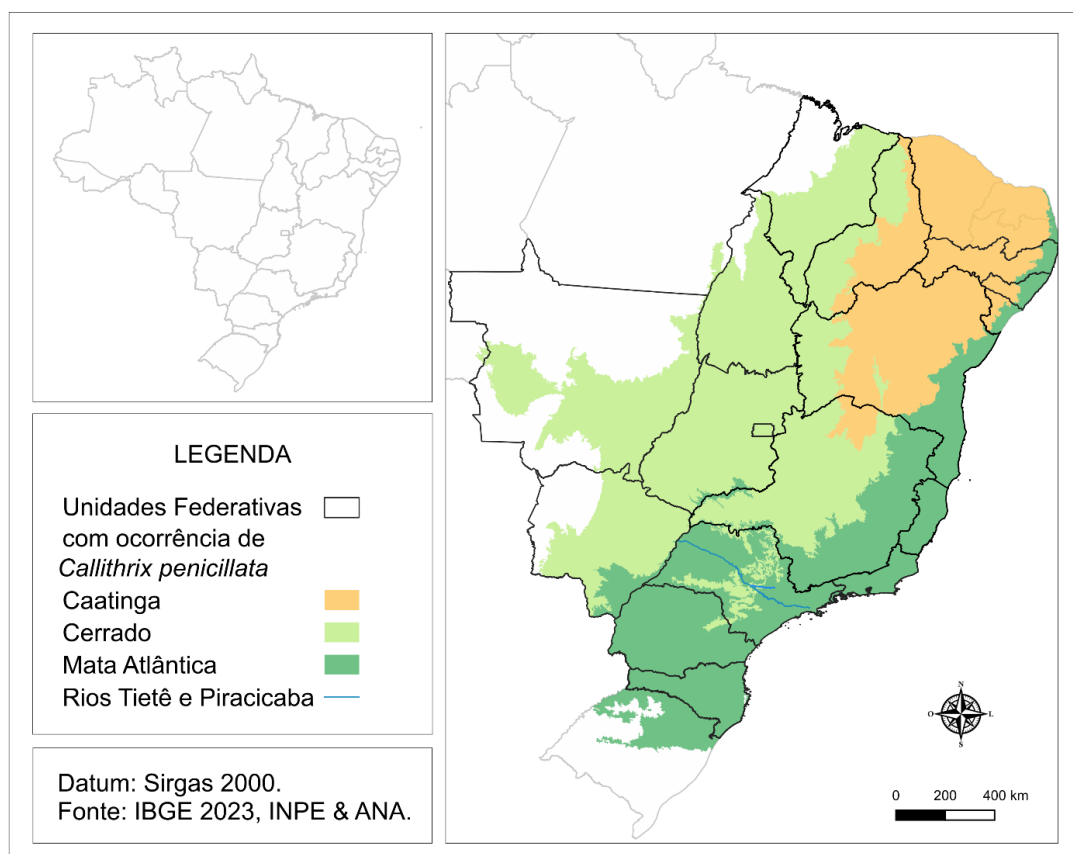


Figura 2. Mapa de distribuição da espécie *Callithrix penicillata* em território brasileiro. Fonte: Elaborado pelo autor no QGIS.

3. Uma Só Saúde

Por volta da metade do século 20, o cirurgião veterinário Calvin Schwabe, dos Estados Unidos da América (EUA), comparou as abordagens voltadas à saúde e ao bem-estar de humanos e animais, propondo o conceito de "One Medicine" (Schwabe, 1969). Ele destacou a importância de uma perspectiva integrada e interdisciplinar, enfatizando como os profissionais de sua área poderiam contribuir para a medicina geral. Schwabe também defendeu o envolvimento das ciências sociais e o aprimoramento das habilidades de comunicação para fortalecer a colaboração com as comunidades nos esforços de controle de doenças infecciosas (Schwabe, 1969). No século 21, essa ideia evoluiu para a perspectiva de Uma Só Saúde, que ampliou o foco para incluir a saúde do ecossistema, abrangendo plantas, animais selvagens e áreas geográficas. Sob essa abordagem, a investigação das doenças infecciosas e zoonóticas passou a considerar as interconexões profundas entre humanos, animais, plantas e o meio ambiente (Schwabe, 1969; Zhou et al., 2024).

Desta forma, Uma Só Saúde, em inglês "*One Health*", é uma abordagem integrada e unificadora que busca equilibrar e otimizar, de forma sustentável, a saúde de pessoas, animais e ecossistemas. Essa abordagem reconhece que a saúde de seres humanos, animais domésticos e selvagens, plantas e do meio ambiente mais amplo (incluindo ecossistemas) está intimamente conectada e é interdependente. Como um benefício global, a Uma Só Saúde incentiva os governantes a promover a saúde humana, animal e ambiental por meio de colaboração interdisciplinar e intersetorial. Estudos de caso ilustram a implementação dessa abordagem, como iniciativas relacionadas a recursos hídricos compartilhados, programas de vigilância de doenças e intervenções sustentáveis de saúde ambiental, destacando o valor agregado de esforços colaborativos entre diferentes setores e regiões. Além disso, considerações éticas desempenham um papel crucial nos governos e na tomada de decisões no contexto da Uma Só Saúde, com ênfase em equidade, inclusão e responsabilidade, fornecendo diretrizes morais para priorizar a saúde de populações e ecossistemas vulneráveis (Adisasmito et al., 2022; Zhou et al., 2024). A **Figura 3** é uma ilustração esquemática da abordagem de Uma Só Saúde.

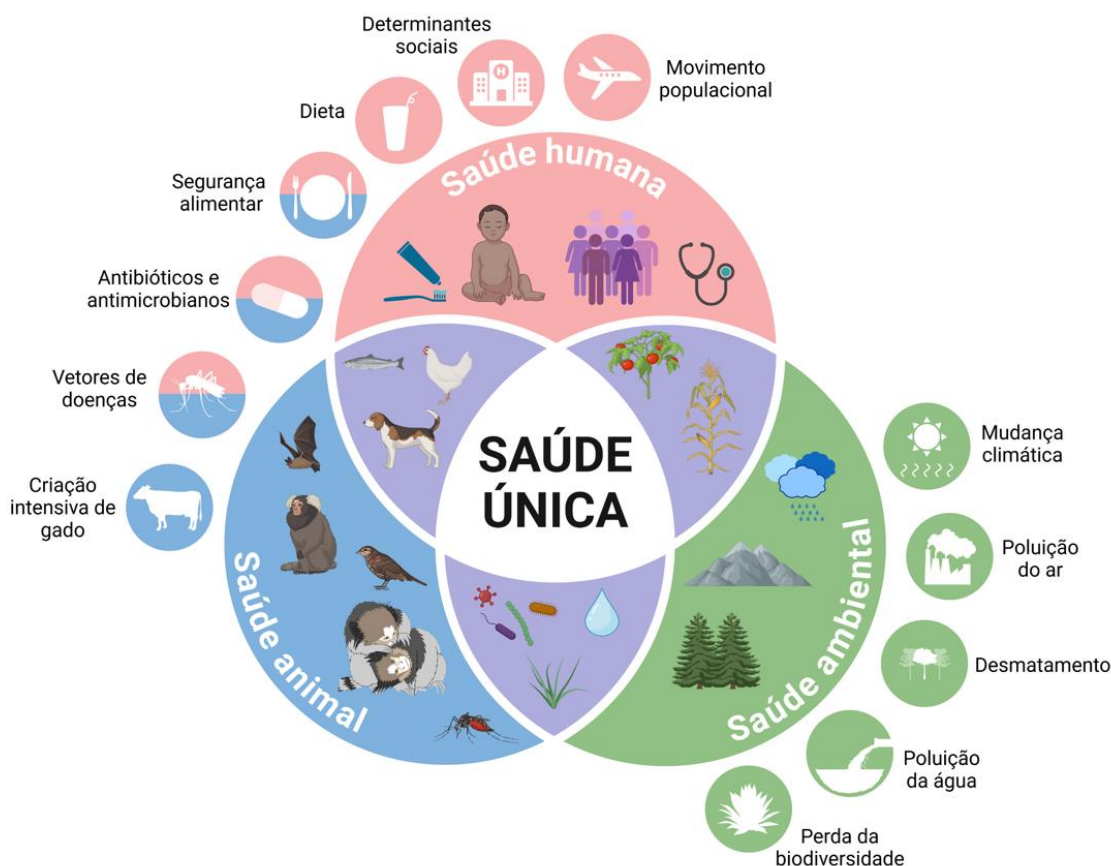


Figura 3. Uma Só Saúde. O conceito Uma Só Saúde propõe abordagens colaborativas, multissetoriais e interdisciplinares com o objetivo de alcançar os melhores resultados de saúde. Ela é integrada e unificadora, visando equilibrar e otimizar de forma sustentável a saúde de pessoas, animais e ecossistemas. Fonte: Adaptado de IsGlobal, criado no Biorender (2024).

Essa integração é especialmente relevante diante do impacto global das doenças infecciosas, incluindo as doenças tropicais negligenciadas (DTNs), classificadas pela OMS como um grupo de 20 enfermidades causadas por vírus, bactérias, fungos e parasitas (Who, 2023c). Essas doenças afetaram pelo menos 1,74 bilhão de pessoas em 2019, resultando em alta taxa de morbidade para a saúde pública, especialmente em comunidades mais pobres de países de baixa e média renda (Magalhães *et al.*, 2023; The Global Health Observatory, 2021; World Health Organization, 2014). Entre os fatores que agravam a disseminação das DTNs estão as condições precárias de vida, o acesso insuficiente à água potável, a baixa qualidade dos alimentos e a moradia inadequada, que aumentam a exposição e a vulnerabilidade dessas populações, impactando desproporcionalmente mulheres e crianças (Cdc, 2023; Mackenzie; Jeggo, 2019; Zinsstag *et al.*, 2011).

Nesse cenário, as infecções zoonóticas representam uma dimensão crítica das DTNs, pois surgem da interação direta ou indireta (como por meio de vetores invertebrados) entre humanos e animais selvagens ou domésticos que hospedam patógenos entre espécies. O controle eficaz dessas infecções depende de uma análise detalhada das dinâmicas dessas interações e dos fatores que permitem a persistência das infecções nos animais, reforçando a importância da abordagem de Uma Só Saúde na diminuição de seus impactos (Cdc, 2023)

Para reduzir o risco de surgimento e propagação de doenças infecciosas, diversas abordagens têm sido desenvolvidas. A iniciativa de Uma Só Saúde enfatiza o monitoramento da transmissão de doenças entre humanos, animais vetores, reservatórios e o ecossistema, integrando os setores de agricultura, saúde e meio ambiente na sociedade (Berthe *et al.*, 2018; Magalhães *et al.*, 2023). Paralelamente, a Agenda de Segurança da Saúde Global (Ghsa, 2018) visa fortalecer a capacidade dos países na prevenção e vigilância de doenças infecciosas. Essas estratégias estão alinhadas com o terceiro objetivo de desenvolvimento sustentável das Nações Unidas, que busca garantir uma vida saudável e promover o bem-estar. A segurança da saúde global depende de um monitoramento eficaz de doenças infecciosas e de uma avaliação espacial precisa dos riscos (Ghsa, 2018; Worsley-Tonks *et al.*, 2022). Assim, a prevenção e o monitoramento emergem como elementos essenciais para assegurar a segurança da saúde global, constituindo também um pilar central nos esforços para alcançar o desenvolvimento sustentável (Berthe *et al.*, 2018; Di Marco *et al.*, 2020; Ghsa, 2018; Magalhães *et al.*, 2023).

4. Zoonoses e saúde pública

As zoonoses são doenças ou infecções transmitidas naturalmente de animais vertebrados para humanos, afetando de maneira interligada animais silvestres, domésticos e o homem (Brasil, 2017; Who, 2018) Elas representam um desafio de grande relevância para a saúde pública e ambiental e seu estudo aprofundado é imprescindível para compreender as dinâmicas de transmissão e os fatores ecológicos envolvidos (Wolfe *et al.*, 1998).

Os PNM têm sido utilizados em pesquisas que abrangem desde distúrbios metabólicos até infecções causadas por diversos parasitos. A ocorrência de infecções naturais em determinadas populações desperta preocupações sobre a conservação da biodiversidade e os impactos na saúde humana (Bicca-Marques; de Freitas, 2010).

C. penicillata tem sido associado à transmissão de doenças infecciosas relevantes e de interesse médico. Estudos indicam que esses PNHs podem atuar como reservatórios de patógenos zoonóticos (Gillespie; Chapman, 2008; Wolfe *et al.*, 1998).

Casos fatais de infecção pelo Herpesvírus Humano 1 (HHV-1) foram relatados em saguis, incluindo *C. penicillata*. Casagrande *et al.* (2014) examinou 12 saguis mantidos em cativeiro na região metropolitana de São Paulo, destacando os impactos letais dessa infecção viral. Os resultados indicaram que o HHV-1 causa infecção disseminada e fatal em saguis, destacando a importância de medidas preventivas para evitar a transmissão do vírus entre PNHs em cativeiro e o homem (Casagrande *et al.*, 2014).

Outro estudo analisou 86 exames anatomopatológicos de primatas neotropicais entre 1999 e 2009, identificando a toxoplasmose como a doença mais prevalente, com sete casos confirmados. Desses, um caso ocorreu em sagui-de-tufo-preto (*C. penicillata*) e seis em bugios-ruivos (*Alouatta guariba*). Os animais afetados apresentaram sinais clínicos como apatia, anorexia, distensão abdominal e febre. As necropsias revelaram lesões como esplenomegalia, hemorragias no trato digestório, linfonodos e bexiga, além de hepatomegalia. Exames histopatológicos mostraram hepatite necrótica, esplenite, miocardite, enterite e pneumonia intersticial. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* foram detectados em diversos órgãos, confirmados por imunohistoquímica. Concluiu-se que a toxoplasmose pode causar alta mortalidade em colônias de primatas neotropicais, representando uma ameaça à conservação dessas espécies em cativeiro, destacando a necessidade de medidas preventivas para evitar a infecção desses animais (Casagrande *et al.*, 2013).

No DF, foi investigado a infecção por *Trypanosoma cruzi* em 25 primatas neotropicais de cinco espécies mantidas em cativeiro no Zoológico de Brasília. Foi detectado DNA de *T. cruzi* em 20% dos animais, com infecções confirmadas em *C. penicillata* e *Sapajus apella*. Além disso, foram capturados triatomíneos no local. 13% deles estavam infectados, indicando transmissão vetorial do parasito. Esses achados

sugerem que *C. penicillata* pode atuar como reservatório de *T. cruzi* em ambientes cativos, destacando a necessidade de monitoramento e controle vetorial para prevenir a disseminação da doença de Chagas (DC) em zoológicos e áreas urbanas (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016).

Paiz *et al.* (2019) investigaram a infecção natural por *Leishmania infantum* em saguis das espécies *C. penicillata* e *C. jacchus* em uma área de proteção ambiental no município de Campinas, no estado de São Paulo. Anticorpos contra *L. infantum* foram detectados em sete dos 26 animais testados (26,9%), incluindo cinco *C. penicillata*. O DNA de *L. infantum* também foi encontrado em uma amostra de pele de *C. penicillata*, marcando o primeiro relato dessa detecção molecular em pele de saguis. Esses resultados sugerem que os saguis podem desempenhar um papel no ciclo de transmissão da leishmaniose visceral, especialmente em áreas de intensa modificação ambiental. Isso destaca a importância de monitorar a interação entre PNHs, humanos e animais domésticos para entender melhor a dinâmica epidemiológica e os riscos para a saúde pública (Paiz *et al.*, 2019).

Uma pesquisa realizada em 2015 investigou a presença natural de *Plasmodium* spp. em primatas neotropicais na Ilha de São Luís, Maranhão. Foram analisados 70 PNHs. A detecção de *Plasmodium* sp. foi realizada por microscopia óptica e reação em cadeia da polimerase (PCR). Embora o estudo não tenha identificado infecções em *C. penicillata*, a presença do parasito na espécie *C. jacchus* sugere a possibilidade de infecção em *Callithrix* spp., especialmente em áreas endêmicas (Figueiredo *et al.*, 2015).

5. Doença de Chagas

5.1.1. Características gerais

Descrita pelo médico sanitarista e parasitologista brasileiro Carlos Justiniano Ribeiro, a DC, também conhecida como Tripanossomíase Americana, foi descoberta na pequena cidade de Lassance, no interior de Minas Gerais, em 1909. A pesquisa pioneira de Carlos Chagas elucidou a progressão clínica da doença, identificando

tanto seu agente etiológico, o protozoário flagelado *T. cruzi*, quanto o vetor, o inseto hematófago triatomíneo, popularmente conhecido como "barbeiro". Além disso, ele conduziu estudos epidemiológicos abrangentes, ressaltando o impacto significativo da DC na saúde pública (Chagas, 1909). Entretanto, mesmo com contribuições científicas significativas, a doença permanece uma grande preocupação para a saúde coletiva, sobretudo devido à insuficiência de investimentos em pesquisa.

Apesar de mais de 115 anos desde sua descoberta, a DC ainda é considerada uma enfermidade endêmica de natureza parasitária nos países da América do Sul, América Central (exceto as Ilhas do Caribe) e partes da América do Norte (México e sul dos Estados Unidos), apresentando alta morbidade e mortalidade (Rassi; Marcondes, 2012). Estima-se que entre 6 e 7 milhões de pessoas estejam infectadas por *T. cruzi* em todo o mundo (Who, 2023). Além disso, presume-se que aproximadamente 70 milhões de pessoas vivam em áreas de risco, onde estão expostas e suscetíveis à infecção pelo parasito (Who, 2024). Além das regiões endêmicas, casos da doença também foram relatados em outras partes do mundo, como nos EUA, na Europa e na região do Pacífico Ocidental. Esse fenômeno está principalmente associado ao fluxo migratório de pessoas infectadas (Lidani *et al.*, 2019; Sangenito; Branquinha; Santos, 2020). A **Figura 4** ilustra a distribuição mundial da DC.



Figura 4. Distribuição geográfica da doença de Chagas. Distribuição epidemiológica da doença de Chagas em diferentes regiões do mundo. Fonte: Adaptado de Sangenito *et al.* (2020).

No Brasil, estima-se que entre 1,9 a 4,6 milhões de pessoas sejam afetadas pela DC. Contudo, acredita-se que esses números estejam subestimados, e que, na realidade, de 2,3 a 5,2 milhões de pessoas estejam infectadas por *T. cruzi*, correspondendo a 1,0 a 2,4% da população brasileira. Essa elevada prevalência da DC no país se reflete em uma alta taxa de mortalidade. Nas duas últimas décadas, foram registrados cerca de 16 mil óbitos por ano no Brasil e entre 10.000 a 20.000 novos casos surgem anualmente, consolidando a DC como uma das quatro principais causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias no país (Brasil, 2022; Reiche *et al.*, 1996; Westphalen; Bisugo; Ereno, 2012).

Apesar dos avanços, menos de 10% dos casos de DC no mundo são diagnosticados. Até o momento, não foram desenvolvidas vacinas ou medicamentos realmente eficazes para o tratamento da DC em sua fase crônica, o que reforça sua condição de doença tropical negligenciada (Opas, 2023a).

5.1.2. Ciclo biológico *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi é um protozoário hemoflagelado da ordem Kinetoplastida, pertencente à família Trypanosomatidae (Brener, 1997). Apresenta um ciclo de vida heteroxênico alternando entre diferentes formas evolutivas nos hospedeiros invertebrados e vertebrados (Zingales *et al.*, 2012). O parasito possui um único flagelo e uma mitocôndria tubular única, que abriga o cinetoplasto, uma estrutura composta por uma rede de DNA extranuclear, denominada DNA do cinetoplasto (kDNA) (Brener, 1997). Possui uma ampla distribuição na natureza, com circulação ocorrendo principalmente entre insetos vetores e mamíferos silvestres (Dias, 2006a).

Em relação a morfologia, o parasito apresenta três estágios principais de desenvolvimento (**Figura 5**). No hospedeiro vertebrado, pode se apresentar como amastigota, que são formas intracelulares e replicativas, ou como tripomastigotas, formas altamente infecciosas. Já no hospedeiro invertebrado, assume as formas epimastigotas e tripomastigotas metacíclicos (Teixeira *et al.*, 2012).

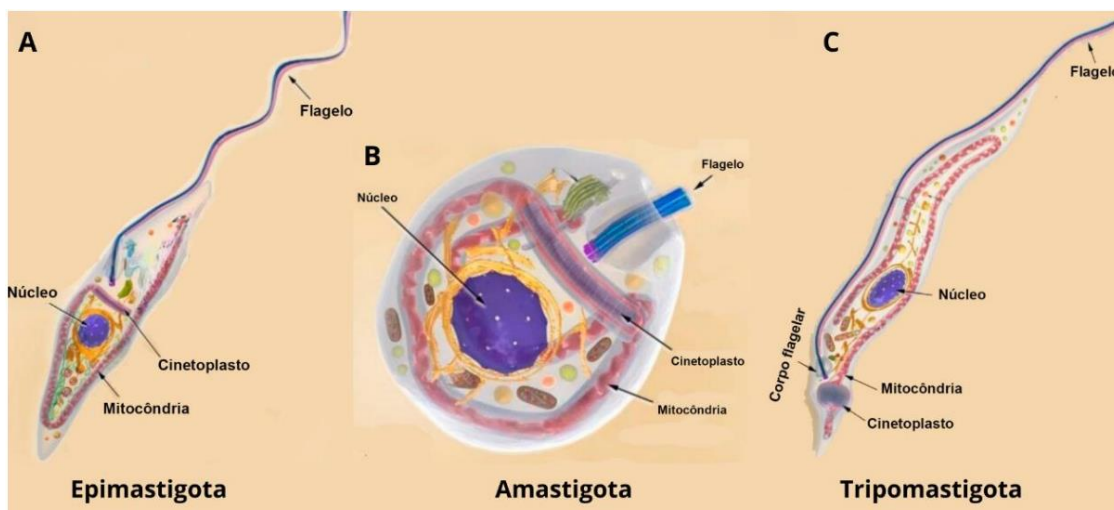


Figura 5. Representação esquemática das formas evolutivas do protozoário *Trypanosoma cruzi*. (a) Epimastigota: forma multiplicativa que ocorre no inseto. (b) Amastigota: forma de divisão celular no hospedeiro vertebrado. (c) Tripomastigota: forma infectiva. Fonte: Adaptado de Teixeira *et al.* (2012).

O ciclo de vida do protozoário se inicia durante o repasto sanguíneo do vetor triatomíneo em um hospedeiro mamífero infectado. Durante a hematofagia, o vetor ingere formas tripomastigotas. No trato digestivo do inseto, esses tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas, que se reproduzem por fissão binária no intestino. Após um período de aproximadamente três a quatro semanas, na porção final do intestino do vetor, os epimastigotas se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos, processo conhecido como metaciclogênese. Essas formas metacíclicas são altamente infectantes para hospedeiros vertebrados (Henao-Martínez *et al.*, 2024; Rassi; Marin-Neto, 2010) (**Figura 6**).

A transmissão da infecção por *T. cruzi* ocorre após o repasto sanguíneo do vetor infectado, quando fezes contaminadas com tripomastigotas metacíclicos entram em contato com mucosas ou escoriações do hospedeiro vertebrado. No organismo do hospedeiro vertebrado, o parasito invade células endoteliais e do tecido conjuntivo próximas ao local da infecção inicial, por um mecanismo mediado por lisossomos, onde se diferenciam em amastigotas. Esses amastigotas iniciam uma intensa multiplicação por fissão binária até preencherem completamente as células infectadas. Quando as células ficam repletas, os amastigotas se diferenciam novamente em tripomastigotas, causando lise celular e liberando essas formas na corrente sanguínea. Os tripomastigotas circulantes podem então migrar para outros tecidos, infectando novas células, ou reiniciar o ciclo caso sejam ingeridos por um

vetor durante a hematofagia (Bern, 2015; Burleigh; Andrews, 1995; Teixeira *et al.*, 2006) (Figura 6).

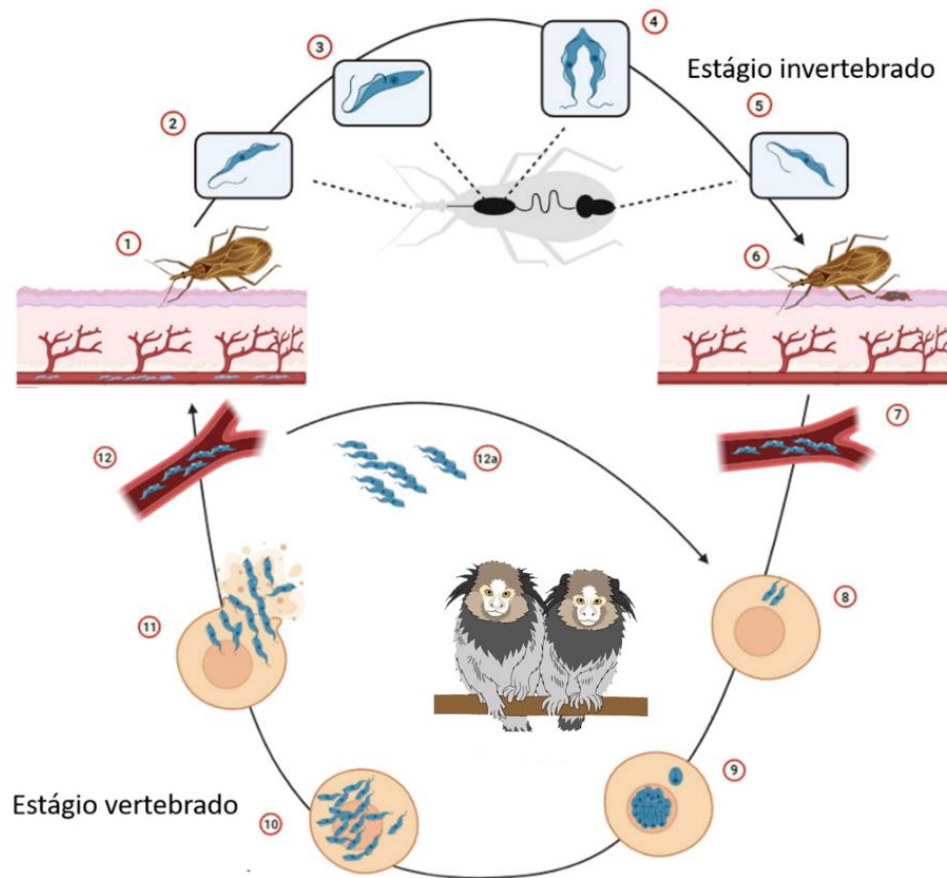


Figura 6. Ciclo de vida do protozoário *Trypanosoma cruzi*. (1) Durante a hematofagia em um hospedeiro mamífero infectado, o triatomíneo ingere tripomastigotas presentes no sangue. (2) No intestino médio do vetor, os tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas. (3) Os parasitos se multiplicam e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos. (4) Esses tripomastigotas se alojam na porção final do intestino do vetor. (5) Durante o repasto sanguíneo, o vetor libera tripomastigotas em suas fezes próximo ao local da picada. (6) Os tripomastigotas entram no hospedeiro através da lesão da picada ou de mucosas intactas e/ou feridas prévias. (7) Na corrente sanguínea, os tripomastigotas invadem células nucleadas. (8) Dentro dessas células, eles se diferenciam em amastigotas que se multiplicam por fissão binária. (9) Os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas. (10) Esses tripomastigotas causam a lise celular e invadem a corrente sanguínea, podendo infectar novas células. (11) Se o inseto vetor realizar um repasto sanguíneo novamente, o ciclo recomeça. (12) No hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas invadem células de diferentes tecidos, onde se transformam em amastigotas intracelulares, estabelecendo novos locais de infecção. Fonte: Adaptado de Pessoa (2024).

5.1.3. Vias de transmissão

A principal via de transmissão do *T. cruzi* é a vetorial. As várias espécies de triatomíneos vetores da DC são pertencentes à família Hemiptera. Os gêneros *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius* possuem maior importância epidemiológica na América Latina (Sathler-Avelar *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2018). A transmissão vetorial pode ser indicada por sinais de entrada do parasito pela pele, que produz o chagoma, uma área endurecida de eritema e inchaço (Rassi; Marcondes, 2012). Além desse tipo de transmissão, há também vias secundárias que acontecem fora do ciclo biológico natural do parasita. Essas vias incluem: transmissão congênita, via oral, transplante de órgãos e sangue contaminados e exposição ocupacional (Dias; Neto; de Albuquerque, 2011).

A transmissão congênita ocorre quando a mãe transmite parasitos vivos (que persistem após o nascimento) ao feto através do cordão umbilical (Dias; Amato Neto; Luna, 2011). De acordo com a OMS (WHO, 2019), estima-se que 1.124.930 mulheres entre 15 e 44 anos estejam infectadas por *T. cruzi* na América Latina. O risco geral de infecção congênita em crianças nascidas de mães infectadas é de aproximadamente 5% (Carlier; Truyens, 2017).

A infecção por via oral ocorre pela ingestão de alimentos contaminados por triatomíneos infectados, tais como, cana-de açúcar, banana, milho, feijão e açaí (Tartarotti *et al.*, 2004). No Brasil diferentes surtos já foram documentados. Isso já aconteceu, por exemplo, em regiões do Nordeste e, de forma mais significativa, na Amazônia através do consumo de suco de açaí contaminado (Barroso; Branquinho; Cardarelli-Leite, 2014; Bruneto *et al.*, 2021). Nos últimos anos, a via oral apresentou crescimento epidemiológico significativo no Brasil, sendo responsável por 70% dos novos casos (Dias, 2006; Fernandes Magalhães-Santos, 2014).

A transmissão por transplante de órgãos pode ocorrer quando o doador está infectado por *T. cruzi*. Os primeiros registros começaram no início da década de 1980 e já foi documentada em transplantes de fígado, coração, medula óssea, rim e pâncreas (Dias; Neto; de Albuquerque, 2011). Desde 2009, a regulamentação de transplantes no Brasil passou a restringir a aceitação de pacientes com DC como doadores de órgãos. Essa medida foi implementada com base na triagem sorológica

sistemática, a qual impede a doação por indivíduos infectados por *T. cruzi*. Dessa forma, os casos de DC transfusional são raros no Brasil (Dias, 2006).

Embora menos frequentes, também são reportados casos de transmissão devido a acidentes em laboratórios ou exposição ocupacional. Esses casos geralmente envolvem profissionais que lidam com animais infectados ou trabalham diretamente com os vetores (Dias; Neto; de Albuquerque, 2011; Rassi; Marcondes, 2012).

Alguns estudos indicam ainda a possibilidade de transmissão sexual (Hecht *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2015; Vianna, 2009). Esse modo de transmissão foi evidenciado em modelos murinos, manifestando-se tanto na fase aguda quanto na fase crônica da infecção (Ribeiro *et al.*, 2016).

5.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da DC pode ser realizado em qualquer estágio da doença e envolve a análise de dados clínicos e epidemiológicos que, segundo as diretrizes do Ministério da Saúde, devem ser confirmadas por meio de testes laboratoriais (Brasil, 2019; Umezawa; Shikanai-Yasuda; Stolf, 1996). A seleção dos exames laboratoriais adequados depende da fase da doença em que o paciente se encontra. Esses exames podem ser classificados em duas categorias principais: testes parasitológicos e testes sorológicos (Ministério da Saúde, 2019).

A identificação de parasitos nos tecidos dos indivíduos afetados é a base do diagnóstico parasitológico da DC. Esse método se mostra especialmente eficaz durante a fase aguda da doença, devido à alta parasitemia, o que possibilita a detecção microscópica direta dos parasitos no sangue. As técnicas parasitológicas diretas mais utilizadas incluem a observação à fresco de *T. cruzi* sob microscópio óptico, a técnica de gota espessa e métodos que concentram os parasitos para facilitar sua identificação. Além disso, há abordagens parasitológicas indiretas tradicionais, como o xenodiagnóstico, que consiste em alimentar ninfas de triatomíneos não infectadas com o sangue do paciente potencialmente infectado por *T. cruzi*. Posteriormente, as amostras são mantidas em meio de cultura para permitir a possível identificação do parasito (Brasil, 2019; Teixeira *et al.*, 2018).

Os testes de biologia molecular destacam-se entre os métodos parasitológicos, sendo considerados uma boa opção para complementar o diagnóstico e amplamente utilizados em centros de pesquisa (Brasil, 2019). O principal deles é a PCR, que apresenta alta sensibilidade e especificidade. Por meio das técnicas de PCR, seja na forma convencional (cPCR) ou em tempo real (qPCR), torna-se possível identificar o parasito em amostras biológicas do hospedeiro, uma vez que esses métodos de amplificação de ácidos nucleicos têm como alvo sequências específicas de DNA do *T. cruzi*. Além disso, a qPCR permite a quantificação da carga parasitária, ampliando as possibilidades de avaliação diagnóstica (Hagström *et al.*, 2019).

Já o diagnóstico sorológico da DC é realizado por meio de testes imunológicos, que, apesar de serem métodos indiretos, não são os mais indicados para a fase aguda. No entanto, podem ser utilizados nos casos em que os exames parasitológicos apresentem resultados negativos e a suspeita clínica persista. Os métodos mais frequentemente empregados incluem a hemaglutinação indireta (HAI), a imunofluorescência indireta (IFI) e o método imunoenzimático ELISA (do inglês, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). A confirmação da infecção é estabelecida quando pelo menos dois testes distintos apresentam reatividade, sendo recomendável que o ELISA seja um deles (Ministério da Saúde, 2019; Opas, 2023).

5.1.5. *Trypanosoma cruzi* em primatas não humanos

Historicamente, *C. penicillata* foi a primeira espécie de PNH utilizada como modelo experimental para a DC. Em 1909, Oswaldo Cruz e Carlos Chagas demonstraram que esses saguis desenvolviam a infecção aguda após exposição a triatomíneos infectados, apresentando parasitemia significativa entre 20 e 30 dias pós-infecção (dpi) (Chagas, 1909).

Estudos realizados em diversos biomas brasileiros sobre a infecção por *T. cruzi* em PNHs têm contribuído significativamente para a compreensão dos danos clínicos causados pela DC em primatas neotropicais, tanto em liberdade quanto em cativeiro. Além disso, também têm sido fundamentais para elucidar o papel desses hospedeiros na manutenção do ciclo de vida do parasita (Bahia *et al.*, 2017; Coimbra *et al.*, 2020; Lisboa *et al.*, 2004, 2000; Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Reis *et al.*, 2020a).

Em um estudo realizado no Zoológico de Brasília, localizado no Cerrado brasileiro, foi investigada a transmissão vetorial de *T. cruzi* em primatas neotropicais mantidos em cativeiro. Foram encontrados primatas da espécie *C. penicillata* infectados, com resultados positivos em análises de qPCR, incluindo casos com alta parasitemia. Além disso, amostras de necropsia de um *C. penicillata* que morreu durante o estudo também confirmaram a presença de DNA de *T. cruzi* em órgãos como coração, baço e intestino. A alta taxa de infecção entre os primatas (65,4%) e triatomíneos (*Panstrongylus megistus*, 88%) sugere transmissão ativa dentro da unidade de pequenos primatas, possivelmente associada à proximidade de uma floresta-galeria. Esses achados reforçam a relevância de *C. penicillata* como modelo para estudos de identificação de protozoários, bem como a necessidade de medidas preventivas para mitigar os riscos de transmissão em ambientes de cativeiro (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016).

Estudos apontam que PNHs também podem desenvolver manifestações clínicas muito semelhantes às observadas na DC humana, tanto na fase aguda quanto na crônica. (Bommineni *et al.*, 2009; Bonecini-Almeida *et al.*, 1990; Carvalho *et al.*, 2012; Espinola *et al.*, 2003; Sathler-Avelar *et al.*, 2018; Zabalgotia *et al.*, 2003). Na fase aguda, sinais e sintomas característicos incluem chagoma de inoculação, alta parasitemia, presença de anticorpos IgM e IgG específicos para *T. cruzi*, leucocitose e linfocitose. Dados histopatológicos revelam intenso parasitismo cardíaco, infiltrado inflamatório significativo e fibrose miocárdica com depósitos de colágeno (Carvalho *et al.*, 2012; Sathler-Avelar *et al.*, 2018). Alterações cardíacas também foram observadas, incluindo anormalidades no eletrocardiograma e diferentes graus de dano nas células do músculo cardíaco (Espinola *et al.*, 2003; Sathler-Avelar *et al.*, 2018).

Algumas espécies de PNHs neotropicais de vida livre são importantes hospedeiros silvestres de *T. cruzi* (Jansen; Xavier; Roque, 2018; Lisboa *et al.*, 2004, 2015). A infecção natural é descrita em PNHs do Novo e do Velho Mundo em cativeiro em áreas onde os vetores são encontrados (Bahia *et al.*, 2017; Bommineni *et al.*, 2009; Dorn *et al.*, 2012; Hodo *et al.*, 2018; Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Reis *et al.*, 2020a; Williams *et al.*, 2009). Além disso, pouco se sabe sobre a interface ecológica entre a transmissão do *T. cruzi* entre PNHs em cativeiro e a vida selvagem no ambiente silvestre circundante. A infecção por *T. cruzi* em PNHs em serviços de pesquisa

biomédica tem implicações importantes para a saúde dos animais e para sua utilização como modelos experimental (Hodo *et al.*, 2018).

6. Leishmanioses

6.1.1. Características gerais

Em 1903, o gênero *Leishmania* foi descrito de forma independente pelo patologista escocês William Boog Leishman e pelo médico irlandês Charles Donovan, quando ambos identificaram corpos ovóides (formas intracelulares) em esfregaços obtidos a partir de organismos vivos e de autópsias de pacientes com esplenomegalia (Donovan, 1903; Leishman, 1903). Ainda naquele ano, Ronald Ross reconheceu que esses corpos ovóides pertenciam a um novo protozoário causador de uma infecção cujo quadro clínico se assemelhava ao calazar, nomeando-o como *Leishmania* (Ross, 1903). No Brasil, em 1922, os casos de leishmaniose tegumentar (LT) observados durante um surto no Rio de Janeiro foram associados à presença de grande quantidade de flebotomíneos infectados por *Leishmania braziliensis*. Os sinais clínicos da doença foram reproduzidos experimentalmente por meio da inoculação de flebotomíneos infectados no focinho de cães, o que permitiu a observação das formas intracelulares do parasita. Posteriormente, esses flebotomíneos foram identificados e classificados como *Lutzomyia longipalpis* (Akhoundi *et al.*, 2016; Altamirano-Enciso *et al.*, 2003)

As leishmanioses constituem um conjunto de doenças parasitárias e zoonóticas (Altamirano-Enciso *et al.*, 2003). A OMS classifica a leishmaniose como uma das DTN mais graves e estima a ocorrência de mais de um milhão de novos casos anuais no mundo (Gupta *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2021). Os protozoários do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae (Maia-Elkhoury *et al.*, 2017; WHO, 2019). Em escala global, mais de doze milhões de pessoas estão atualmente infectadas por *Leishmania* spp., enquanto outras 350 milhões vivem em áreas de risco de contrair a infecção (Lockard; Wilson; Rodríguez, 2019).

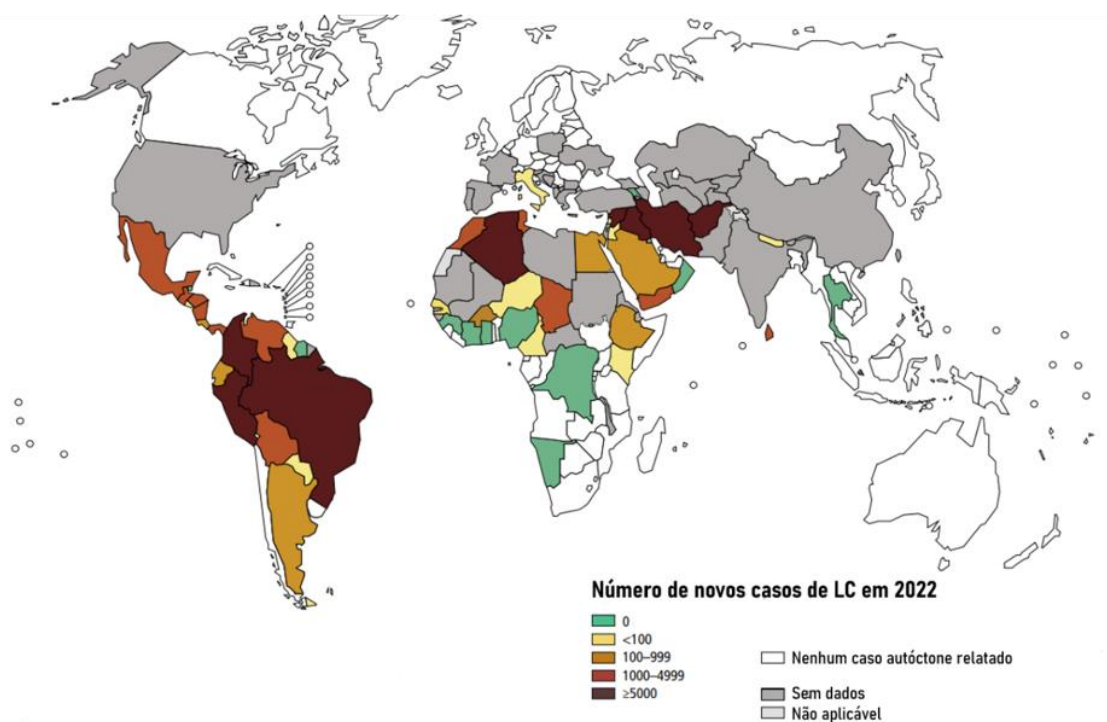
As manifestações clínicas das leishmanioses são classificadas em dois principais grupos: a LT e a leishmaniose visceral (LV). A LT afeta principalmente a pele

e, em casos excepcionais, as mucosas das vias aéreas superiores, apresentando-se sob diferentes formas: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose cutânea difusa (LCD). Por outro lado, a LV, considerada a forma mais grave da doença, compromete órgãos internos como baço, fígado, linfonodos e medula óssea, sendo caracterizada por alta incidência e elevada letalidade quando não tratada (Altamirano-Enciso *et al.*, 2003; WHO, 2017).

Aproximadamente 20 espécies de *Leishmania* são capazes de causar leishmaniose, sendo transmitidas por diferentes espécies de flebotomíneos. A doença é altamente prevalente, especialmente em populações de baixa renda em países subdesenvolvidos, onde os programas de controle recebem financiamento insuficiente, a infraestrutura de saúde é inadequada e há pouco ou nenhum interesse das indústrias farmacêuticas em investir no tratamento (Choi *et al.*, 2021; Knight *et al.*, 2023).

A estimativa anual de incidência da leishmaniose varia entre 0,9 a 1,6 milhões de casos, dos quais cerca de 0,7 a 1,2 milhões são representados pela forma cutânea (**Figura 7A**), enquanto 0,2 a 0,4 milhões correspondem à forma visceral (**Figura 7B**) (Who, 2023b).

A



B

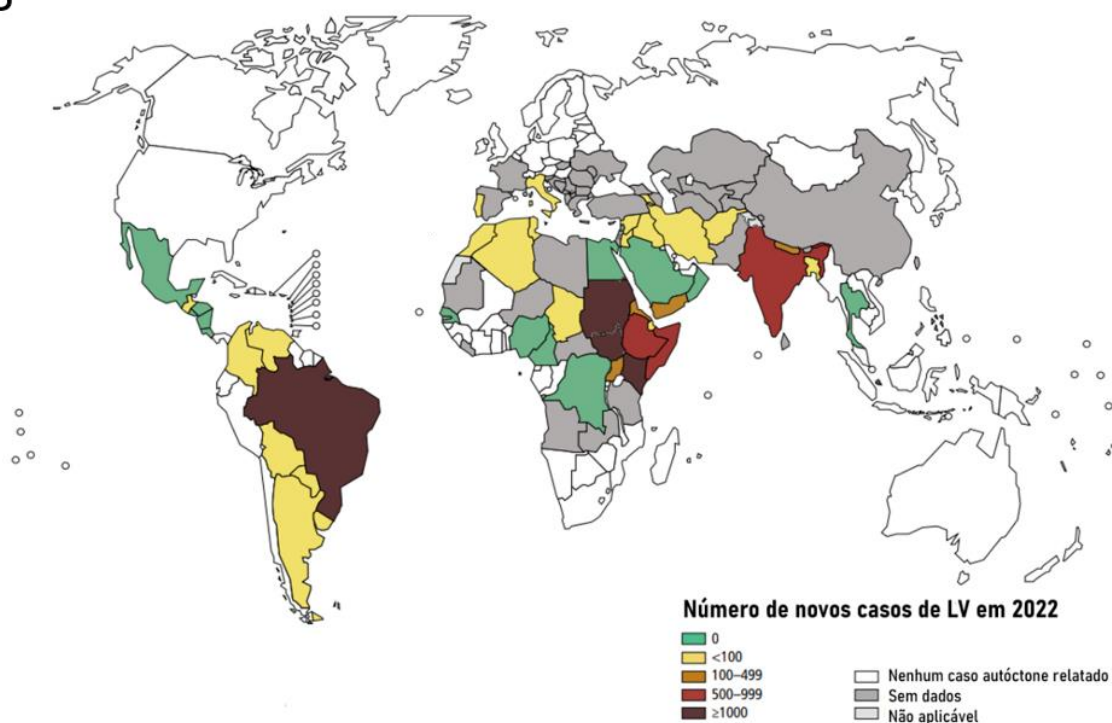


Figura 7. Número de casos reportados de leishmaniose. 7A: Leishmaniose cutânea (LC) no ano de 2022. **7B:** Leishmaniose visceral (LV) no ano de 2022. Fonte: Adaptado de WHO (2022).

Nas Américas, a distribuição e a expansão das leishmanioses são monitoradas por meio do Sistema de Informação Regional (SisLeish). Conforme a Organização

Pan-Americana da Saúde, entre 2001 e 2021, foram registrados 1.105.545 casos de LC e LMC, com o Brasil representando mais de 37% desse total. A pandemia de doença do coronavírus 2019 (COVID-19, do inglês *coronavirus 19 disease*) impactou significativamente as ações de vigilância e controle das leishmanioses, prejudicando atividades como a busca ativa, a detecção precoce e o tratamento dos casos, devido às limitações nas atividades de campo (Who, 2023b). Em relação a LV, o Brasil é o país da América do Sul que concentra a maior parte dos casos, com 90% das notificações realizadas através dos sistemas oficiais (Alvar et al., 2012; Who, 2023b).

No DF, até a semana epidemiológica 52 de 2022, foram confirmados dez casos de LV, dos quais sete em residentes locais e três em moradores de outras Unidades Federativas (UF). Não houve registro de óbitos pela doença nesse período. Em relação à LTA, foram confirmados 53 casos, sendo 37 em residentes do DF — incluindo duas recidivas — e 16 em moradores de outras UF, sem registro de óbitos. Esses dados destacam a importância da vigilância epidemiológica contínua e sistemática no DF (Subsecretaria de Vigilância à Saúde, 2022).

6.1.2. Ciclo de vida de *Leishmania*

A leishmaniose é uma doença transmitida pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas, insetos dípteros pertencentes à família Psychodidae, conhecidos como mosquito-palha. Esses insetos podem ser classificados em dois gêneros de relevância médica: *Phlebotomus*, encontrado no Velho Mundo (Europa, África e Ásia), e *Lutzomyia*, presente no Novo Mundo (Américas) (Steverding, 2017). O parasito *Leishmania* apresenta um ciclo de vida digenético, envolvendo um inseto vetor e um hospedeiro mamífero, com dois estágios principais: amastigota e promastigota. Esses protozoários parasitas obrigatórios alternam entre um vetor invertebrado (flebotomíneo) e um hospedeiro vertebrado, que pode incluir humanos, cães, roedores e outras espécies (Claborn, 2010; Gupta et al., 2022; Torres-Guerrero et al., 2017).

Diversas espécies das ordens Didelphimorphia (marsupiais, como gambás), Pilosa (tamanduás e preguiças), Cingulata (tatus), Rodentia (roedores), Carnivora (carnívoros, como cães e gatos), Primata (primatas e macacos) e Chiroptera (morcegos) foram recentemente classificadas como hospedeiros ou potenciais reservatórios (Roque; Jansen, 2014). Entre os reservatórios, os cães domésticos

(*Canis familiaris*) são considerados os principais, devido à sua importância como fonte de infecção para os flebotomíneos, à elevada suscetibilidade à infecção e ao frequente alto parasitismo observado nessa espécie. Além disso, sua estreita convivência com os seres humanos, tanto em áreas urbanas quanto rurais, desempenha um papel crucial na manutenção das endemias nos grandes centros urbanos (Dantas-Torres; Brandão-Filho, 2006; Medeiros; Nascimento; Hinrichsen, 2005; Silva *et al.*, 2001).

A forma promastigota, caracterizada por sua estrutura alongada e móvel com cerca de 10–20 µm de diâmetro, possui um flagelo anterior que pode atingir até 20 µm de comprimento e está presente no vetor flebotomíneo, onde passa por várias etapas de diferenciação até se transformar na forma promastigota metacíclica infecciosa. Esta é transmitida aos hospedeiros mamíferos durante a picada do flebotomíneo fêmea (Gupta *et al.*, 2022; Lainson; Ryan; Shaw, 1987). A forma amastigota apresenta uma estrutura oval, com dimensões entre 3–7 µm de diâmetro, sendo a forma encontrada nos hospedeiros mamíferos. Esses parasitos intracelulares sobrevivem principalmente em células fagocíticas (Gupta *et al.*, 2022).

O ciclo de vida da *Leishmania* inicia-se quando a fêmea de um flebotomíneo ingere formas amastigotas junto com o sangue de um hospedeiro vertebrado infectado. As amastigotas diferenciam-se em promastigotas ao atingir o intestino médio do vetor, um processo que ocorre entre zero e dois dias após o repasto sanguíneo. Durante esse período, o sangue é envolvido por uma matriz composta de proteínas, glicoproteínas e quitina, denominada matriz peritrófica (Gupta *et al.*, 2022; Torres-Guerrero *et al.*, 2017).

Inicialmente, as promastigotas assumem a forma procíclica, com intensa atividade replicativa dentro do revestimento intestinal do vetor. Após cerca de três dias, essas formas rompem a membrana peritrófica e migram para a porção anterior do intestino médio, onde aderem às células epiteliais. Nesse estágio, ocorre a metaciclogênese, processo em que as promastigotas procíclicas transformam-se em promastigotas metacíclicas, formas infecciosas, porém incapazes de se replicar. As promastigotas metacíclicas migram então para as glândulas salivares e a cavidade bucal do vetor (Bahrami; Harandi; Rafati, 2018; Filemon; Cabreira; Costa, 2012; Gupta *et al.*, 2022; Kaufer *et al.*, 2017).

Durante um novo repasto sanguíneo, o flebotomíneo inocula as formas promastigotas metacíclicas no local da picada, auxiliadas pelo anticoagulante

presente na saliva do inseto, que impede a coagulação do sangue. No hospedeiro mamífero, as promastigotas são prontamente fagocitadas por macrófagos, neutrófilos ou células dendríticas, onde, no interior do fagolisossoma, diferenciam-se novamente em amastigotas. Essa diferenciação é desencadeada por estímulos como o pH ácido e o aumento da temperatura (Esch; Petersen, 2013; Filemon; Cabreira; Costa, 2012; Gupta *et al.*, 2022; Kaufer *et al.*, 2017; Real *et al.*, 2014).

As amastigotas se adaptam ao ambiente ácido e hostil do fagolisossoma, onde se replicam por divisão binária. À medida que se multiplicam, rompem a membrana celular dos macrófagos, liberando novas amastigotas que podem infectar células adjacentes ou disseminar-se para outras regiões do organismo por meio da circulação sanguínea. Em infecções cutâneas, as células e os tecidos circundantes são acometidos; em infecções viscerais, o parasito atinge órgãos ricos em macrófagos, como medula óssea, o fígado e o baço (Esch; Petersen, 2013; Gupta *et al.*, 2022; Real *et al.*, 2014).

O ciclo se completa quando outro flebotomíneo ingere amastigotas livres ou macrófagos infectados durante um novo repasto sanguíneo, reiniciando o ciclo (Kaufer *et al.*, 2017). A **Figura 8** ilustra de forma esquemática o ciclo de vida da *Leishmania*.

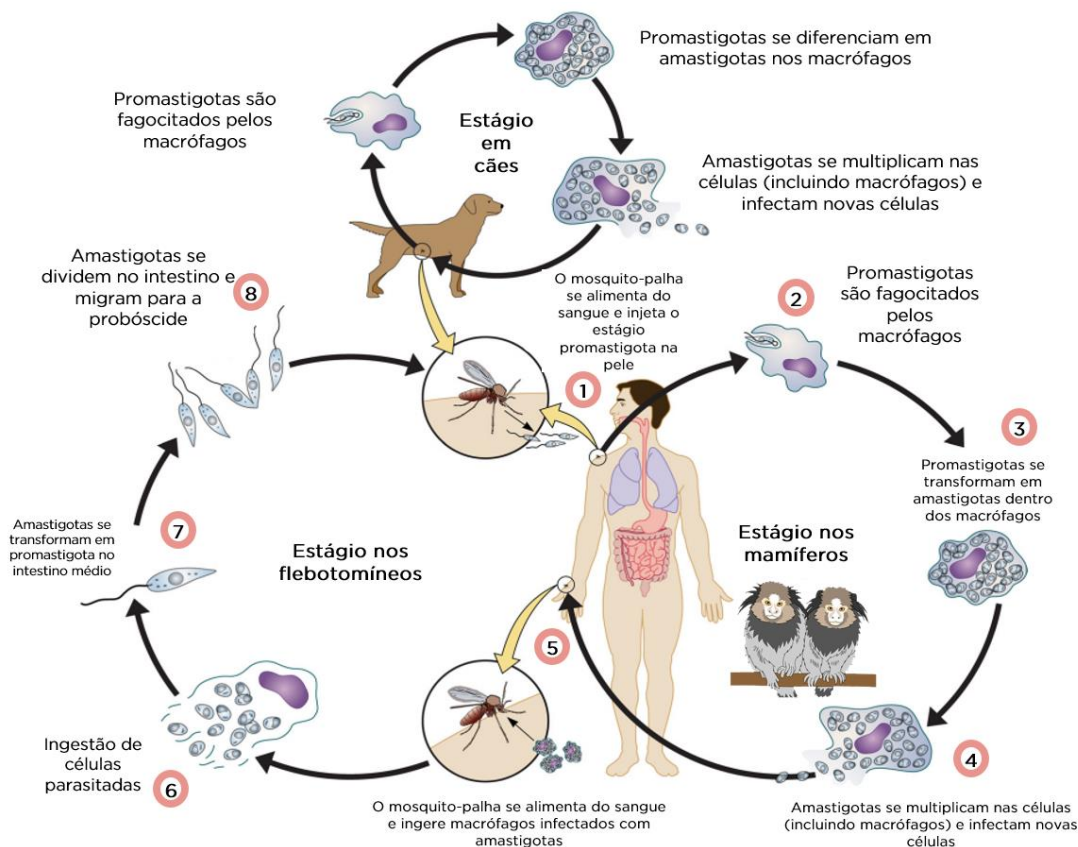


Figura 8. Ciclo de vida *Leishmania*. (1) Os flebotomíneos inoculam promastigotas infecciosos em mamíferos suscetíveis (como por exemplo, o homem, os cães ou primatas não humanos) durante a alimentação. (2) No hospedeiro mamífero, os promastigotas são fagocitados por células fagocíticas residentes e (3) se diferenciam em amastigotas que se multiplicam no interior dessas células por divisão binária. (4) O parasito continua a infectar células fagocíticas no local da infecção cutânea ou em órgãos linfoides secundários, podendo levar à parasitemia. (5 e 6) Os flebotomíneos podem se infectar ao se alimentarem de um hospedeiro mamífero com uma lesão cutânea ativa (no caso de leishmaniose cutânea) ou com parasitos circulantes (em leishmaniose visceral). Os cães domésticos são os principais reservatórios. (7) No intestino médio do vetor, os parasitos se diferenciam em promastigotas, (8) que migram para a cavidade bucal e se diferenciam em promastigotas metacíclicos, altamente infecciosos. Fonte: Adaptado de Esch *et al.* (2013).

6.1.3. Vias de transmissão

A principal via de transmissão do protozoário *Leishmania* em humanos, cães, PNHs e outros hospedeiros mamíferos ocorre através da picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas (Ministério da Saúde, 2024a). No Brasil, a transmissão da leishmaniose ocorre de forma zoonótica. Nas Américas, as principais espécies de

flebotomíneos envolvidas na transmissão da leishmaniose tegumentar americana incluem *Bichromomyia flaviscutellata*, *Nyssomyia whitmani*, *Nyssomyia umbratilis*, *Nyssomyia neivai*, *Psychodopygus wellcomei* e *Migonemyia migonei*. Por outro lado, o principal vetor da LV nas Américas é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, uma espécie bem adaptada ao ambiente peridoméstico e amplamente distribuída geograficamente (Barbosa *et al.*, 2008; Brasil, 2010; Diniz *et al.*, 2014; Ready, 2013). Desde o início do século XX, quando a doença foi identificada no país e o ciclo de transmissão elucidado, o controle da leishmaniose tem representado um grande desafio para pesquisadores e profissionais de saúde (Gontijo; Melo, 2004; Werneck, 2016).

Devido ao seu caráter zoonótico, as leishmanioses eram, inicialmente, restritas às áreas rurais. No entanto, desde a década de 1980, epidemias começaram a surgir em diferentes estados e capitais (Druzian *et al.*, 2015; Thomaz Soccol *et al.*, 2017; Werneck, 2014). As mudanças no padrão de transmissão estão relacionadas a modificações socioambientais, como o desmatamento, a pobreza e problemas climáticos. Diversos fatores têm contribuído para o aumento do risco de infecção, incluindo as más condições de moradia, a falta de saneamento básico, a ausência de medidas de proteção individual e a maior proximidade dos indivíduos com flebotomíneos infectados em ambientes urbanos e com reservatórios domésticos. O crescimento urbano desordenado, aliado às condições sanitárias precárias, favoreceu o estabelecimento de ciclos de transmissão domésticos e peridomésticos (Brasil, 2014a; Machado *et al.*, 2017; Torres-Guerrero *et al.*, 2017; Vilela *et al.*, 2013; WHO, 2023c).

6.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico das leishmanioses exige a integração de fatores clínicos, epidemiológicos e a aplicação de métodos laboratoriais para a detecção do parasito. A escolha da técnica diagnóstica depende da forma clínica da doença, do estágio de evolução das lesões e da espécie de *Leishmania* envolvida. Os métodos disponíveis incluem testes parasitológicos diretos, sorológicos e moleculares. No entanto, devido às limitações das técnicas rotineiramente utilizadas e à escassez de recursos, a

confirmação diagnóstica nem sempre é viável, tornando necessário o uso combinado de diferentes testes para se obter um diagnóstico mais preciso (Bahrami; Harandi; Rafati, 2018; Ferreira *et al.*, 2013; Peixoto; de Oliveira; Romero, 2015; Rodríguez-Cortés *et al.*, 2010).

Os métodos de diagnóstico parasitológico direto têm como objetivo detectar formas do parasito e isolar promastigotas de *Leishmania*, o que garante 100% de especificidade. No entanto, esses métodos apresentam baixa sensibilidade, dependendo da quantidade e da distribuição do parasito nos tecidos. A detecção pode ser realizada por meio do exame direto de amastigotas em lâminas preparadas a partir de lesões, biópsias ou esfregaços de impressão, utilizando colorações como Giemsa ou hematoxilina-eosina (HE) (Akhoundi *et al.*, 2016; Brasil, 2016; Mello *et al.*, 2016).

Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico das leishmanioses são baseados na detecção de anticorpos anti-*Leishmania* no soro dos pacientes. Entre os principais métodos destacam-se a IFI e o ELISA. Além disso, o Ministério da Saúde também utiliza o teste rápido imunocromatográfico (Brasil, 2014b, 2024a). Embora as técnicas sorológicas convencionais sejam amplamente aplicadas, elas apresentam limitações, especialmente em animais com baixos níveis de anticorpos circulantes, além de possibilitarem reações cruzadas com outras espécies, o que pode levar a resultados falsos positivos. Por esse motivo, os métodos moleculares são indicados, pois oferecem elevada precisão (Borja *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2018; Paiva-Cavalcanti *et al.*, 2015).

Os métodos moleculares identificam o DNA do parasito e utilizam a PCR, uma técnica que se destaca por sua alta sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. (Travi *et al.*, 2018). Na detecção baseada na amplificação de DNA, diversos alvos genômicos podem ser utilizados, com a sensibilidade variando conforme o número de cópias desses alvos no genoma do organismo. Sequências específicas de DNA são amplificadas de forma eficiente, permitindo a aplicação de diferentes alvos para detectar o parasito em amostras biológicas distintas. Técnicas como a qPCR possibilitam a quantificação da carga parasitária e a avaliação da resposta ao tratamento, além de serem úteis para identificar indivíduos assintomáticos ou detectar a infecção antes do surgimento dos sintomas. Essa abordagem desempenha um papel essencial no desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes (Galluzzi *et al.*, 2018; Paiva-Cavalcanti *et al.*, 2015; Travi *et al.*, 2018).

6.1.5. *Leishmania* em primatas não humanos

PNHs são suscetíveis à infecção por *L. infantum* e podem transmitir essa espécie para *L. longipalpis* (Oliveira *et al.*, 2019). Contudo, o papel dos PNHs como reservatórios ainda é pouco compreendido. Existem alguns estudos epidemiológicos sobre a ocorrência de leishmaniose em PNHs, especialmente no gênero *Callithrix* (Paiz *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 1990). Um estudo conduzido no Sudeste do Brasil analisou 26 saguis capturados entre abril de 2014 e março de 2015. Destes, cinco pertenciam à espécie *C. penicillata* e apresentaram sorologia positiva para *L. infantum*. Além disso, este foi o primeiro relato de *L. infantum* detectado na pele de um sagui, sugerindo que a infecção natural desses primatas pelo parasito pode indicar sua participação como hospedeiros no ciclo de transmissão (Oliveira *et al.*, 2019).

PNHs infectados por *Leishmania* spp. apresentam manifestações clínicas e patológicas semelhantes às observadas em humanos, embora possam permanecer assintomáticos em alguns casos (Malta *et al.*, 2010; Paiz *et al.*, 2019; Tinoco *et al.*, 2018). Em um estudo conduzido em uma área endêmica para leishmaniose, PNHs mantidos em cativeiro foram submetidos ao xenodiagnóstico. Dos 52 primatas testados, oito apresentaram resultado positivo, incluindo três *Pan troglodytes* (chimpanzé-comum), três *Leontopithecus rosalia* (mico-leão-dourado), um *Sapajus apella* (macaco-prego-das-guianas) e um *Miopithecus talapoin* (talapoin angolano) (Paiz *et al.*, 2019).

Em fragmentos de floresta tropical urbana em Salvador (nordeste do Brasil) houve uma prevalência de infecção por *Leishmania* em 28 animais silvestres (43% da amostra), sendo 7% do gênero *Callithrix* (Trüeb *et al.*, 2018). Esses animais de vida livre podem abrigar tripanossomatídeos patogênicos, o que destaca a importância de incluí-los em estudos epidemiológicos, especialmente em áreas urbanas de países tropicais que abrigam remanescentes de floresta (Trüeb *et al.*, 2018).

Um estudo na Reserva Biológica de Sooretama (Espírito Santo) identificou, por PCR, a infecção natural por *L. (Viannia) braziliensis* em *Cuniculus paca* (paca) e *Callithrix geoffroyi* (sagui-de-cara-branca) (Venial *et al.*, 2022b). No Zoológico de Brasília (DF), foram detectados flebotomíneos e mamíferos silvestres em cativeiro

infectados por *Leishmania sp.*, destacando a necessidade de avaliar os riscos de disseminação do parasito durante a translocação desses animais (Reis *et al.*, 2020b).

Devido à complexidade da imunopatogênese da leishmaniose, o uso de modelos alternativos, como PNHs, pode ajudar a entender as interações patógeno-hospedeiro nos humanos. Em um estudo com sete macacos Rhesus (*Macaca mulata*) infectados por *Leishmania sp.*, todos desenvolveram lesões cutâneas, inflamação crônica e anticorpos específicos (IgG e IgG1). Esse modelo contribuiu para a compreensão da regulação da resposta imune e dos mecanismos celulares envolvidos na resistência e suscetibilidade à infecção por *Leishmania spp.* (Amaral *et al.*, 2001).

7. Toxoplasmose

7.1.1. Características gerais

O protozoário *Toxoplasma gondii*, agente causador da toxoplasmose, foi identificado pela primeira vez em 1909. Inicialmente, acreditava-se que pertencia ao gênero *Leishmania* (Nicolle; Manceaux, 1908). No entanto, a observação de diferenças morfológicas revelou se tratar de um outro parasito, que foi posteriormente classificado como uma nova espécie, *T. gondii* (Splendore, 1909). A descoberta preliminar ocorreu em outubro de 1908, no Instituto Pasteur, na Tunísia, quando um microrganismo semelhante foi encontrado em células mononucleares do baço e do fígado de um roedor norte-africano (*Ctenodactylus gondii*) (Splendore, 1908). O nome *Toxoplasma*, derivado do grego *toxon* (arco) e *plasma* (corpo), foi escolhido pelos pesquisadores devido à morfologia arqueada característica do parasito (Delgado *et al.*, 2022; Souza; Belfort Jr., 2014). No Brasil, o protozoário foi identificado pela primeira vez em São Paulo, onde foi encontrado parasitando coelhos de laboratório. Nos animais infectados, foram detectadas alterações histopatológicas, além de formas parasitárias livres e intracelulares em diversos tecidos (Splendore, 1909).

T. gondii é um protozoário intracelular com ciclo de vida direto, capaz de infectar uma ampla variedade de animais de sangue quente, que atuam como hospedeiros intermediários, enquanto os felídeos são seus hospedeiros definitivos (Cano-Terriza

et al., 2019; Tenter; Heckeroth; Weiss, 2000; Webster, 2010). Este parasito zoonótico está associado a doenças neuromusculares graves em humanos imunocomprometidos, podendo também causar abortos em mulheres grávidas e, em casos mais severos, levar ao óbito (Cano-Terriza *et al.*, 2019; Webster, 2010).

Devido às suas diferentes formas evolutivas, *T. gondii* apresenta uma notável capacidade de adaptação a ambientes variados. Essa versatilidade permite que o parasito se multiplique e se propague eficientemente no hospedeiro, além de iniciar processos de diferenciação. Sua habilidade de transitar entre a invasão celular, a replicação, a liberação no espaço extracelular e a subsequente reinvasão de outra célula, mesmo em condições ambientais distintas, destaca sua extraordinária adaptabilidade. Estimativas indicam que mais de um terço da população humana global já foi infectada por *T. gondii* (Barros *et al.*, 2022; Delgado *et al.*, 2022; Montoya; Liesenfeld, 2004). Essa capacidade de adaptação rápida e eficiente é um fator determinante para o elevado nível de sucesso desse parasito, o que se reflete em uma taxa de infecção que varia de 30% a 90% da população humana global, consolidando-o como um dos parasitos mais bem-sucedidos (Barros *et al.*, 2022; Delgado *et al.*, 2022).

A toxoplasmose é uma doença parasitária de ampla distribuição geográfica, sendo uma das mais difundidas em escala mundial. No Brasil, a infecção apresenta alta prevalência, com taxas entre as mais elevadas descritas na literatura. Apesar disso, a vigilância epidemiológica específica ainda está em fase de estruturação, sendo prejudicada pela indisponibilidade ou fragilidade das informações, o que compromete a análise situacional da saúde e a tomada de decisões baseadas em evidência (Brasil, 2018, 2021; Oliveira *et al.*, 2022).

Por ser uma infecção zoonótica, a toxoplasmose pode afetar a saúde humana, de animais domésticos e selvagens. O parasito tem a capacidade de infectar uma ampla variedade de espécies, adaptando-se a diferentes ecossistemas, como água, solo e alimentos (Crozier; Schulte-Hostedde, 2014; Jenkins, Emily J. *et al.*, 2015). A **Figura 9** ilustra a abordagem de Uma Só Saúde para o controle da toxoplasmose.

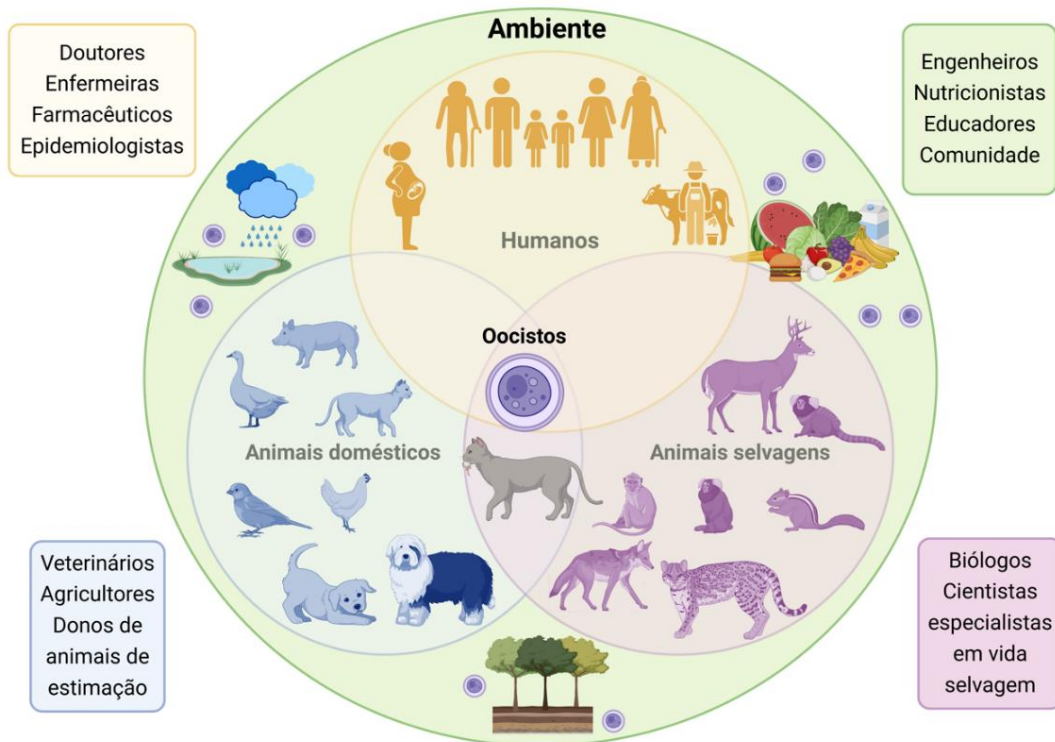


Figura 9. Abordagem interdisciplinar (Uma Só Saúde) para o controle da toxoplasmose. *T. gondii* vive em diferentes ecossistemas, como água, solo e alimento. Devido à sua capacidade de sobreviver em vários habitats e em muitos hospedeiros, tornou-se um dos parasitas mais exitosos do planeta. Intervenções bem-sucedidas de saúde pública requerem a cooperação de parceiros que trabalham com saúde humana e animal, bem como com ações ambientais e de Uma Só Saúde. Esforços para entender melhor a toxoplasmose e sua epidemiologia são cruciais para o controle da infecção. A colaboração entre profissionais de diferentes áreas, como profissionais de saúde humana (médicos, enfermeiros, biólogos, epidemiologistas e outros), saúde animal (veterinários, donos de animais de estimação e agricultores), meio ambiente (biólogos, cientistas especialistas em vida selvagem) e outras áreas de especialização é necessária para coordenar atividades para entender melhor as interações ecológicas e os impactos dessa doença zoonótica. Outros fatores relevantes incluem formuladores de políticas, agricultores e diferentes comunidades. Fonte: Adaptado de Barros *et al.* (2022).

Apesar da elevada soroprevalência global, na maioria dos hospedeiros, a infecção por *T. gondii* é geralmente assintomática, silenciosa ou apresenta apenas sintomas subclínicos. A conversão de taquizoítos em bradizoítos favorece a formação de cistos teciduais que permanecem viáveis no organismo hospedeiro. Embora esses cistos não causem doenças em indivíduos imunocompetentes, eles podem desencadear manifestações graves quando o sistema imunológico do hospedeiro está comprometido (Delgado *et al.*, 2022; Webster, 2010). Em hospedeiros imunossuprimidos, a infecção pode provocar sintomas severos, incluindo lesões

oculares e cerebrais, que, em casos extremos, podem levar ao óbito (Dubey, 2023; Webster, 2010).

Entre os diferentes contextos em que a toxoplasmose se manifesta, a infecção ocular destaca-se pela sua relevância clínica e suas diversas formas de aquisição. Classicamente, mulheres infectadas por *T. gondii* pela primeira vez, seja meses antes ou durante a gravidez, ou quando gravemente imunocomprometidas, podem transmitir a doença ocular ao feto, enquanto gestações subsequentes tendem a ser protegidas da forma congênita (Commodaro *et al.*, 2009; Muccioli; Silveira; Belfort Jr., 2014). Além disso, a via oral é amplamente aceita como a principal forma de infecção ocular, sendo a ingestão de carne contendo cistos e água ou alimentos contaminados com oocistos provenientes de fezes de gato os principais fatores de risco (Balasundaram, 2010; Bowie *et al.*, 1997; Muccioli; Silveira; Belfort Jr., 2014).

Outra manifestação da toxoplasmose que se destaca é a sua forma congênita, que representa um grave problema de saúde pública devido às sérias consequências para o feto e o recém-nascido. A transmissão vertical ocorre quando a infecção primária acontece durante a gravidez. A gravidade varia conforme o período gestacional em que ocorre a infecção. Em muitas regiões brasileiras, é realizado um teste sorológico de rotina na primeira consulta pré-natal. No entanto, em alguns casos, esses exames não são solicitados. Além disso, há situações em que as gestantes não recebem qualquer cuidado pré-natal ou são atendidas apenas no estágio avançado da gravidez (Amendoeira; Camillo-Coura, 2010; Brasil, 2018; Oliveira *et al.*, 2022).

Quando a infecção é adquirida no primeiro trimestre da gravidez, pode levar à morte fetal, enquanto no segundo trimestre há risco de desenvolvimento da chamada Tétrade de Sabin, caracterizada por retinocoroidite, calcificações cerebrais, retardo mental, perturbações neurológicas e hidrocefalia, manifestando-se como macro ou microcefalia (Amendoeira; Camillo-Coura, 2010). Além disso, a toxoplasmose congênita pode causar complicações adicionais, como aborto, danos neurológicos e/ou oculares, incluindo estrabismo, convulsões e a coriorretinite, que é a principal causa de cegueira em crianças afetadas. Muitas crianças nascem assintomáticas, mas desenvolvem sequelas ao longo da infância ou adolescência. Em escala global, a frequência de aquisição da toxoplasmose durante a gravidez varia de um a 14 casos por 1.000 gestações, enquanto a infecção congênita é registrada em 0,2 a 2 recém-

nascidos por 1.000 nascimentos (Gdf, 2022). A **Figura 10** apresenta a soroprevalência global IgM de *T. gondii* entre gestantes.

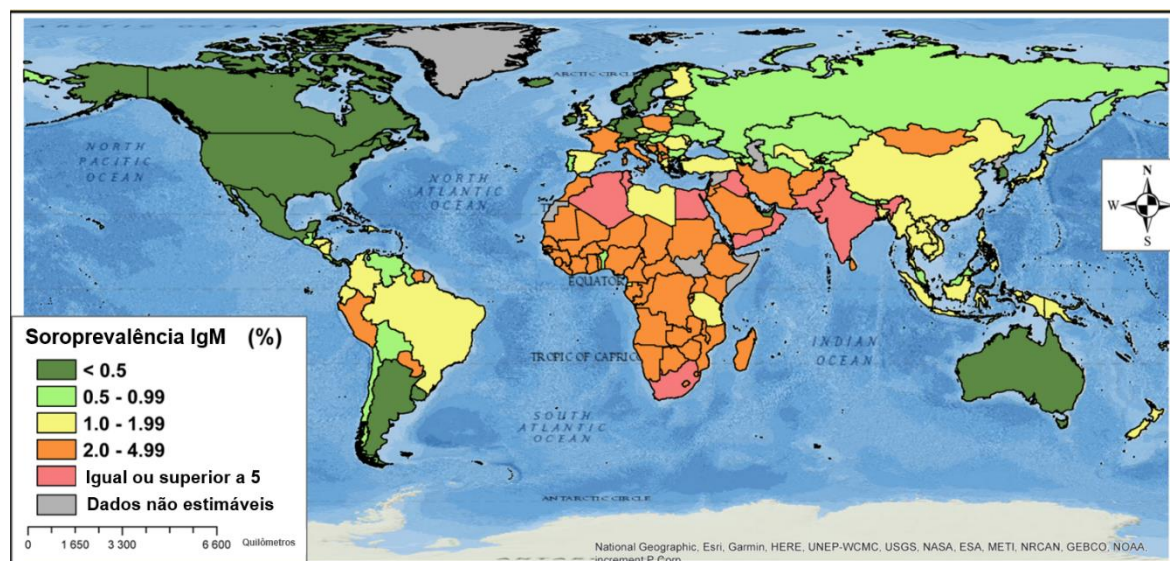


Figura 10. Soroprevalência global IgM de *Toxoplasma gondii* entre gestantes. As estimativas foram baseadas em dados coletados entre 1976 e 2017 e publicados entre 1979 e 2018. Fonte: Adaptado de Bigna *et al.* (2020).

7.1.2. Ciclo biológico *Toxoplasma gondii*

T. gondii é um protozoário parasita intracelular obrigatório, classificado no filo Apicomplexa, que reúne diversos patógenos de relevância médica e veterinária, pertencente à classe Sporozoa, da família Sarcocystidae e subfamília Toxoplasmatinae (Levine *et al.*, 1980). Um aspecto distintivo deste protozoário é a sua capacidade de infectar todos os animais de sangue quente, além de ter o potencial de invadir praticamente todos os tipos de células nucleadas dentro do organismo hospedeiro (Angel; Vanagas; Alonso, 2024). Possui o ciclo de vida heteróximo, envolvendo dois tipos de hospedeiros: o definitivo e o intermediário. Ao longo de seu ciclo, a reprodução ocorre de forma assexuada, predominante no hospedeiro intermediário, que pode ser uma ampla variedade de animais, e de forma sexuada, exclusivamente nos felídeos, que atuam como hospedeiros definitivos (Attias; Vommaro; Souza, 2014; Dubey, 2007; Levine *et al.*, 1980).

T. gondii apresenta três formas evolutivas capazes de causar infecção: taquizoítos, bradizoítos e oocistos. O termo “taquizoíto”, derivado da palavra grega *tachos*, que significa "velocidade" foi introduzido por Frenkel em 1973 para descrever o estágio que se multiplica rapidamente em qualquer célula do hospedeiro intermediário e nas células epiteliais não intestinais do hospedeiro definitivo. Apresenta uma célula polarizada e alongada, com formato de meia-lua, sendo obrigatoriamente intracelular em todas as células nucleadas. Possui uma região anterior afilada e uma região posterior arredondada, com dimensões de aproximadamente 8 µm de comprimento por 2 µm de largura (**Figura 11**) (Attias; Vommaro; Souza, 2014; Dubey; Lindsay; Speer, 1998). Também chamados de trofozoítos, os taquizoítos são responsáveis pela fase aguda da infecção. A sua capacidade de infectar diferentes tipos de células, incluindo células dendríticas ou macrófagos, é crucial para sua disseminação para todo o corpo, incluindo o sistema nervoso central (Mendez; Koshy, 2017). Os taquizoítos penetram nas células do hospedeiro, onde induzem a formação de um vacúolo parasitóforo, protegendo-se contra os mecanismos de defesa celular. No interior da célula hospedeira, crescem e se replicam por divisão binária, culminando no rompimento da célula (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

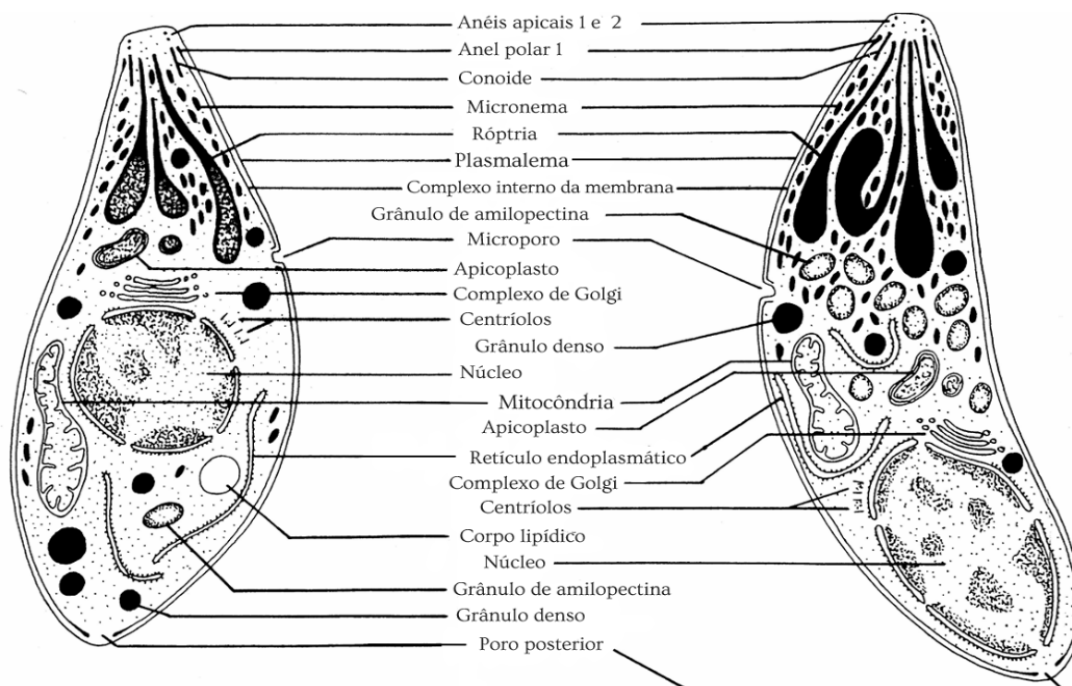


Figura 11. Desenhos esquemáticos de um taquizoíto e um bradizoíto do protozoário *Toxoplasma gondii*. Fonte: Adaptado de Dubey *et al.* (1998).

Estruturalmente, os taquizoítos apresentam diversas organelas e corpos de inclusão, como uma película (cobertura externa), anéis apicais, anéis polares, conóides, róptrias, micronemas, microporos, mitocôndria, microtúbulos subpeliculares, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, ribossomos, retículo endoplasmático rugoso e liso, núcleo, grânulos densos, grânulos de amilopectina (que podem estar ausentes) e uma organela denominada apicoplasto. O núcleo, geralmente é localizado próximo à região central da célula e contém aglomerados de cromatina e um nucléolo central (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Já o termo bradizoíto, derivado da palavra grega *brady*, que significa “lento”, também foi introduzido por Frenkel em 1973 para descrever o organismo que se multiplica lentamente dentro de um cisto tecidual. Os bradizoítos, também conhecidos como cistozoítos, formam cistos teciduais que crescem e permanecem intracelulares à medida que se dividem por endodiogenia. Esses cistos apresentam a parede elástica e fina, com 0,5 µm de espessura, e envolvem centenas de bradizoítos em forma de meia-lua, com variações de tamanho. Os mais jovens podem medir até 5 µm de diâmetro, contendo apenas dois bradizoítos, enquanto os mais maduros podem medir até 1,5 µm (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

No cérebro, os cistos teciduais geralmente são esferoidais e raramente ultrapassam 70 µm de diâmetro, enquanto os cistos intramusculares tendem a ser alongados, podendo atingir até 100 µm de comprimento. Embora os cistos teciduais possam se formar em órgãos viscerais, como pulmões, fígado e rins, eles são mais frequentemente encontrados nos tecidos neural e muscular, incluindo o cérebro, os olhos, os músculos esqueléticos e cardíacos (Dubey, 1988). Cistos teciduais intactos, em geral, não causam danos e podem persistir durante toda a vida do hospedeiro sem desencadear uma resposta inflamatória e são menos suscetíveis à destruição por enzimas proteolíticas do que os taquizoítos (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Jacobs; Remington; Melton, 1960).

A fase de diferenciação dentro do oocisto são os esporozoítos. Eles são a forma infectante contida em oocistos esporulados, que resulta da reprodução sexuada e ocorre no epitélio intestinal de felinos. Representam estágios resistentes que permanecem viáveis e se acumulam no ambiente e desempenham um papel crucial na ampla distribuição e no sucesso parasitário de *T. gondii* (Shapiro *et al.*, 2019).

Os animais da família Felidae, os felídeos, são os hospedeiros definitivos de *T. gondii*, sendo os únicos nos quais ocorre a reprodução sexuada do parasita. A infecção nesses animais ocorre principalmente pela predação de outros animais ou pela ingestão de água contaminada (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Após a ingestão, a parede do cisto é rompida pela ação de enzimas proteolíticas presentes no estômago e no intestino delgado, liberando os bradizoítos. Esses bradizoítos penetram na lâmina própria (camada fina de tecido conjuntivo localizada logo abaixo do epitélio do trato gastrointestinal) ou em células epiteliais do intestino delgado, onde se diferenciam em taquizoítos e desenvolvem várias gerações assexuadas, distribuídas em cinco tipos morfológicos distintos (Dubey, 2004). Essas fases, conhecidas como esquizogônias, culminam na diferenciação em merozoítas, que posteriormente formam gametas masculinos e femininos, iniciando a reprodução sexuada (Dubey, 2004; Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Após a fecundação, inicia-se a formação da parede do oocisto. Os oocistos maduros são liberados no lúmen intestinal após o rompimento das células epiteliais e podem permanecer no hospedeiro definitivo por meses. Contudo, a liberação de oocistos pelos felinos não ocorre indefinidamente, sendo limitada a algumas semanas após a infecção, especialmente em indivíduos jovens ou imunocomprometidos (Dubey, 2004).

Os oocistos são formados exclusivamente nos hospedeiros definitivos e, em fezes frescas, permanecem não esporulados. Para a esporulação, são necessárias condições adequadas de temperatura e aeração, processo que ocorre dentro de um a cinco dias (Dubey; Lindsay; Speer, 1998). Os oocistos esporulados contêm dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. Nos hospedeiros intermediários, os cistos ingeridos invadem enterócitos e alcançam a lâmina própria, onde se multiplicam em diferentes células. Essa multiplicação causa edema, necrose e espessamento da mucosa, caracterizando uma enterite severa (Dubey, 2004). A disseminação dos esporozoítos através da linfa permite que a infecção alcance diversos órgãos (Epiphany; Sinhorini; Catão-Dias, 2003). A **Figura 12** ilustra de forma esquemática o ciclo de vida do protozoário *T. gondii*.

A forma de oocisto, disseminada por felídeos domésticos e silvestres, provoca um impacto significativo no ambiente (Dubey, 2004). Estima-se, por meio de análises moleculares, que em áreas com grandes populações de gatos de vida livre a contaminação ambiental por oocistos seja elevada, o que contribui para o aumento dos casos de toxoplasmose (Afonso *et al.*, 2008). Os oocistos esporulados, devido a sua resistência, podem sobreviver por meses ou até anos em condições adequadas, como em solos úmidos. Além disso, eles também podem persistir por longos períodos em alimentos, como frutas. As formas infectantes podem ser disseminadas por invertebrados, como moscas e baratas (Dubey, 2004; Kniel *et al.*, 2002).

O homem pode se infectar pelo contato direto com fezes de gatos, seja por meio de animais que carregam oocistos ou pelo contato físico sem a devida higienização. No entanto, a forma mais comum de infecção humana ocorre pela ingestão de cistos presentes na musculatura de animais infectados, especialmente através do consumo de carnes cruas, mal cozidas ou embutidos inadequadamente preparados (Dubey, 2004). Os oocistos são amplamente disseminados, mesmo quando apenas um pequeno número de gatos está ativamente liberando essas formas infectantes, o que é suficiente para perpetuar o ciclo ambiental. Filhotes contaminados por via congênita e adultos reinfetados também podem expelir oocistos pelas fezes, porém nesses animais a eliminação ocorre apenas durante algumas semanas, não se estendendo por toda a vida. A infecção e reinfecção dos felinos estão diretamente relacionadas ao alto nível de contaminação de suas presas, geralmente aves e roedores (Dubey, 2004).

O Brasil sofreu diversos surtos de *T. gondii* transmitidos por oocistos, com água ou produtos alimentícios frequentemente identificados como as principais fontes de exposição. Fatores como a infraestrutura deficiente de tratamento de água e esgoto, grandes populações vivendo em condições de pobreza e o acesso limitado a cuidados de saúde provavelmente contribuem para os padrões de transmissão de oocistos no país, refletindo situações semelhantes em outras regiões endêmicas e/ou epidêmicas para *T. gondii* (El Bissati *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2018; Shapiro *et al.*, 2019).

7.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico de *T. gondii* pode ser realizado por ELISA para detecção de imunoglobulinas em fluidos de animais suspeitos de infecção. Além disso, a genotipagem do *T. gondii* é uma ferramenta valiosa para fornecer dados epidemiológicos e auxiliar no controle da transmissão, sendo realizada por meio de PCR e sequenciamento genético (CDC, 2024; Fleck, 1989; Liu *et al.*, 2015).

A detecção de *T. gondii* em amostras fecais, de água e de tecidos biológicos tradicionalmente se baseia no exame microscópico e no diagnóstico histológico. Contudo, a identificação exclusiva por microscopia óptica apresenta baixa sensibilidade e confiabilidade. Para melhorar a análise, os oocistos presentes em fezes, água e no ambiente podem ser concentrados a partir de grandes volumes de amostras utilizando técnicas como filtração ou centrifugação. Já os cistos teciduais podem ser corados, o que facilita a distinção entre os parasitas e as células hospedeiras (Liu *et al.*, 2015). A coloração de fragmentos de tecido com HE é uma técnica simples, econômica e amplamente utilizada para analisar alterações morfológicas celulares (Epiphany; Sinhorini; Catão-Dias, 2003; Fischer *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2015).

A técnica de imunohistoquímica utiliza anticorpos específicos para detectar antígenos de *T. gondii*. A reação é visualizada com um cromógeno que gera uma coloração específica, e contra-corada com HE para visualizar as estruturas. A marcação positiva das formas infectantes confirma o diagnóstico de infecção por *T. gondii* (Kim *et al.*, 2003).

A revisão de Souza *et al.* (2023) avalia a eficiência de diferentes técnicas de diagnóstico da toxoplasmose. A qPCR foi considerada uma das técnicas que apresentou 100% de sensibilidade e especificidade.

7.1.5. *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos

A toxoplasmose é considerada uma doença parasitária fatal em PNHs neotrópicos (Casagrande *et al.*, 2013; Molina *et al.*, 2014). No ciclo da toxoplasmose, os primatas desempenham o papel de hospedeiros intermediários e nos hospedeiros intermediários, o parasito se reproduz de forma assexuada, espalhando-se por todo o

organismo e formando cistos teciduais. Entre os animais selvagens, a toxoplasmose é responsável por um aumento significativo na mortalidade de PNHs, tanto em cativeiro quanto em populações de vida livre, uma vez que esses animais frequentemente desenvolvem infecção aguda e fatal (Casagrande *et al.*, 2013; Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Estudos têm relatado casos de infecção por *T. gondii* em PNHs, destacando sua alta suscetibilidade a lesões agudas e fatais. Essa vulnerabilidade reforça a toxoplasmose como uma doença grave e frequentemente fatal nesses PNHs (Epiphany; Sinhorini; Catão-Dias, 2003; Hadfield; Guy, 2017; Molina *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2018). Diversos surtos de toxoplasmose em colônias de PNHs têm sido registrados ao redor do mundo (Cunningham; Buxton; Thomson, 1992; Dubey; Hodgins; Hamir, 2006; Henrik Dietz *et al.*, 1997; Minervino *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2018).

As espécies neotropicais são particularmente vulneráveis à toxoplasmose, com estudos mostrando que esses animais têm uma susceptibilidade maior quando comparados aos PNHs do Velho Mundo (Cedillo-Peláez *et al.*, 2011; Epiphany; Sinhorini; Catão-Dias, 2003; Innes, 1997; Santos *et al.*, 2018). Embora as infecções por *T. gondii* em PNHs sejam, em geral, subclínicas, a toxoplasmose continua sendo uma preocupação significativa para a conservação dessas espécies. Altos índices de suscetibilidade e mortalidade têm sido relatados em espécies de macacos e lêmures do Novo Mundo em cativeiro em diferentes países (Cano-Terriza *et al.*, 2019).

Além disso, devido à proximidade genética com os seres humanos, os PNHs têm fornecido informações cruciais sobre a resposta imunológica à infecção por *T. gondii*, contribuindo para o avanço na compreensão da toxoplasmose em humanos (Wu *et al.*, 2021).

8. Malária

8.1.1. Características gerais

A malária deriva do termo italiano "mal'aria", que significa "ar ruim", em referência à antiga associação da doença com áreas pantanosas. Trata-se de uma

doença parasitária endêmica, transmitida por vetores e causada por protozoários do filo Apicomplexa, pertencentes ao gênero *Plasmodium*. Sua ocorrência é predominante em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (Escalante; Pacheco, 2019; Fikadu; Ashenafi, 2023; Tuteja, 2007).

O gênero *Plasmodium* abrange mais de 200 espécies de protozoários que podem infectar diversos hospedeiros, incluindo répteis, aves, mamíferos e, entre estes, humanos e PNHs. Entre elas, as cinco espécies que afetam o homem são: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi*. Entre essas, *P. falciparum* é responsável pelos casos mais graves da doença (Antony; Parija, 2016; Fikadu; Ashenafi, 2023; Trop Med Int Health, 2014; White, 2008).

A malária é considerada um grave problema de saúde pública mundial, apesar de ser tratável e curável. Essa doença está entre as principais causas de morbidade e mortalidade nas populações que habitam regiões tropicais e subtropicais. De acordo com a OMS, foram registrados 263 milhões de casos de malária em 2023, distribuídos por 83 países endêmicos (incluindo o território da Guiana Francesa) (**Figura 13**), enquanto em 2022 esse número foi de 252 milhões. Os óbitos causados pela doença apresentaram uma ligeira redução, passando de 600.000 em 2022 para 597.000 em 2023 (Ministério da Saúde, 2024, 2024b; Who, 2023d).

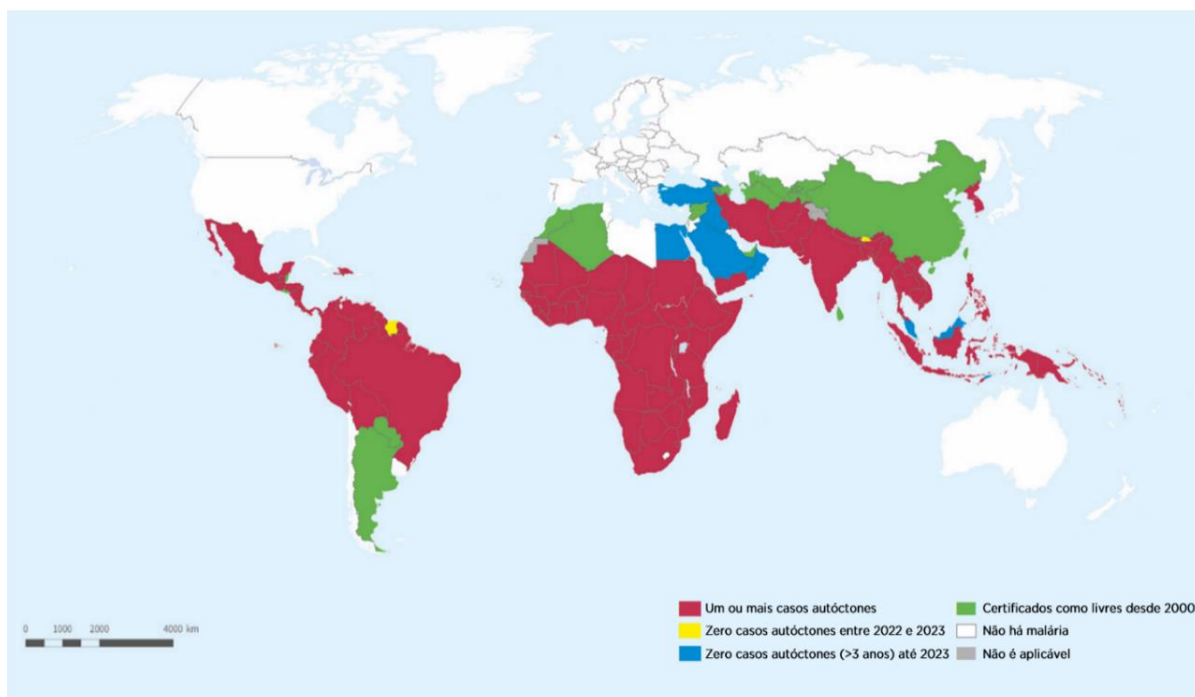


Figura 13. Países com casos de malária de ocorrência natural de 2000 até 2023. Fonte: Adaptado de World Malaria Report (2023).

No Brasil, a região amazônica é considerada área endêmica para a malária, concentrando mais de 99% dos casos autóctones e cerca de 99,98% (139.884) dos casos registrados no país em 2023. Essa região abrange os estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão. Fora da região amazônica, mais de 90% dos casos registrados são de pessoas originárias de estados endêmicos, de outros países que compõem a Amazônia ou do continente africano. Entretanto, ainda ocorre transmissão residual de malária em estados da região extra-amazônica, especialmente em áreas de Mata Atlântica. Entre os casos autóctones registrados no Brasil em 2023, 17,3% foram atribuídos a *P. falciparum* e infecções mistas, enquanto os outros 82,7% foram causados por *P. vivax* e outras espécies. Nas Américas, o Brasil, a Venezuela e a Bolívia concentraram juntos cerca de 73% dos casos mundiais (Ministério da Saúde, 2024; Who, 2023d).

8.1.2. Ciclo de vida *Plasmodium*

O ciclo de vida do protozoário *Plasmodium* é complexo e ocorre tanto em hospedeiros vertebrados quanto no mosquito vetor, envolvendo mecanismos de reprodução sexuada e assexuada (Guttery; Holder; Tewari, 2012). Os vetores da malária são as fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles*, também conhecidos como carapanã, muriçoca, sovela, mosquito-prego e bicuda. Esses insetos hematófagos pertencem à família Culicidae, com destaque para as espécies *Anopheles gambiae* (predominante na África) e *Anopheles darlingi* (predominante nas Américas) (Brasil, 2023; Emerson *et al.*, 2015; Lopes, 2019; Onyabe; Conn, 2001; Santos *et al.*, 2024).

O estágio inicial da infecção ocorre quando os esporozoítos, presentes na saliva do mosquito, entram na pele e na corrente sanguínea do hospedeiro. Os esporozoítos maduros entram na corrente sanguínea, onde circulam até chegarem ao fígado, dentro de 30 a 60 minutos após a primeira inoculação. Em seguida, esses parasitas invadem os hepatócitos, onde passam por um processo de replicação assexuada (Ansong; Seydel; Taylor, 2020; Chahine; Le Roch, 2022; Fikadu; Ashenafi, 2023). No fígado, os parasitas iniciam uma série de processos de diferenciação e replicação, resultando na formação de milhares de merozoítos. Os estágios hepáticos do ciclo de vida do *Plasmodium* variam entre as espécies. Por exemplo, em *P. vivax* e *P. ovale*, os hipnozoítos, formas dormentes do parasita, podem permanecer inativos no fígado por meses ou até anos antes de serem reativados e liberados na corrente sanguínea. Após um período de 6 a 10 dias (ou mais, dependendo da espécie), os merozoítos deixam o fígado e invadem os glóbulos vermelhos, onde iniciam o ciclo de desenvolvimento assexuado intraeritrocítico (Chahine; Le Roch, 2022; Fikadu; Ashenafi, 2023; Mehra *et al.*, 2022; Merrick, 2021; Mueller *et al.*, 2009).

O ciclo assexuado do *Plasmodium* é marcado por uma série de transformações morfológicas, que vão desde o estágio de anel relativamente dormente até o estágio de trofozoíto, caracterizado por intensa atividade metabólica, e, por fim, ao estágio de esquizonte, no qual ocorre a divisão celular. Durante o estágio de trofozoíto, o parasita descondensa sua cromatina, permitindo uma transcrição intensiva e alta atividade celular, o que culmina na replicação do parasita durante a esquizogonia. Esse ciclo pode durar 24, 48 ou 72 horas, dependendo da espécie, e envolve divisões assimétricas de mitose que produzem entre 16 e 64 novos merozoítos infecciosos

(Chahine; Le Roch, 2022; Fikadu; Ashenafi, 2023; White *et al.*, 2014; Zuccala; Baum, 2011).

Após serem liberados, esses merozoítos invadem novos glóbulos vermelhos, onde continuam o ciclo de replicação assexuada, diferenciando-se novamente em trofozoítos e esquizontes, que irrompem dos eritrócitos para reiniciar o processo (Chahine; Le Roch, 2022; Fikadu; Ashenafi, 2023; White *et al.*, 2014; Zuccala; Baum, 2011). Esta fase do ciclo de vida do parasita é sintomática nos hospedeiros e pode causar febre, dor de cabeça, vômitos, anemia, coma e, eventualmente, morte. Caso o protozoário sofra qualquer privação de nutrientes, mudanças na temperatura ou sinalização de estresse, ele pode mudar do ciclo de desenvolvimento assexuado intraeritrocítico para os estágios sexuais de desenvolvimento (Chahine; Le Roch, 2022; Chawla; Oberstaller; Adams, 2021).

O ciclo de reprodução sexuada do parasita da malária começa quando alguns trofozoítos se diferenciam em gametócitos masculinos e femininos. Esse processo, que pode durar de duas a três semanas e envolve cinco etapas morfológicamente distintas até que os gametócitos atinjam a maturação (Chahine; Le Roch, 2022). Uma vez maduros, os gametócitos percorrem o sistema circulatório do hospedeiro mamífero, até serem ingeridos por um mosquito do gênero *Anopheles* durante hematofagia. Dentro do lúmen intestinal do mosquito, fatores como o aumento dos níveis de cálcio (Ca^{2+}) e a queda no pH e na temperatura, desencadeiam a diferenciação dos gametócitos em gametas (Chahine; Le Roch, 2022; Chawla; Oberstaller; Adams, 2021; Dvorin; Goldberg, 2022). O gametócito feminino se transforma em um macrogameta imóvel, enquanto o gametócito masculino passa por três rodadas de replicação nuclear, formando seis a oito microgametas que são liberados por ex-flagelação. Esses gametas masculinos se movem até o macrogameta para a fusão, formando um zigoto diplóide. O zigoto evolui para um oocineto móvel, que atravessa e penetra a parede do intestino do mosquito, onde se encista, transformando-se em um oocisto. No interior do oocisto, ocorre o desenvolvimento dos esporozoítos, que, ao amadurecerem, rompem o oocisto e migram para as glândulas salivares do mosquito. Durante uma nova picada, os esporozoítos são introduzidos em outro hospedeiro mamífero, reiniciando o ciclo de infecção (Bennink; Kiesow; Pradel, 2016; Chahine; Le Roch, 2022; Chawla; Oberstaller; Adams, 2021; Dvorin; Goldberg, 2022; Ngwa; Rosa; Pradel, 2016; Smith; Barillas-Mury, 2016;

Venugopal *et al.*, 2020). A **Figura 14** ilustra de forma esquemática o ciclo de vida do protozoário *Plasmodium*.

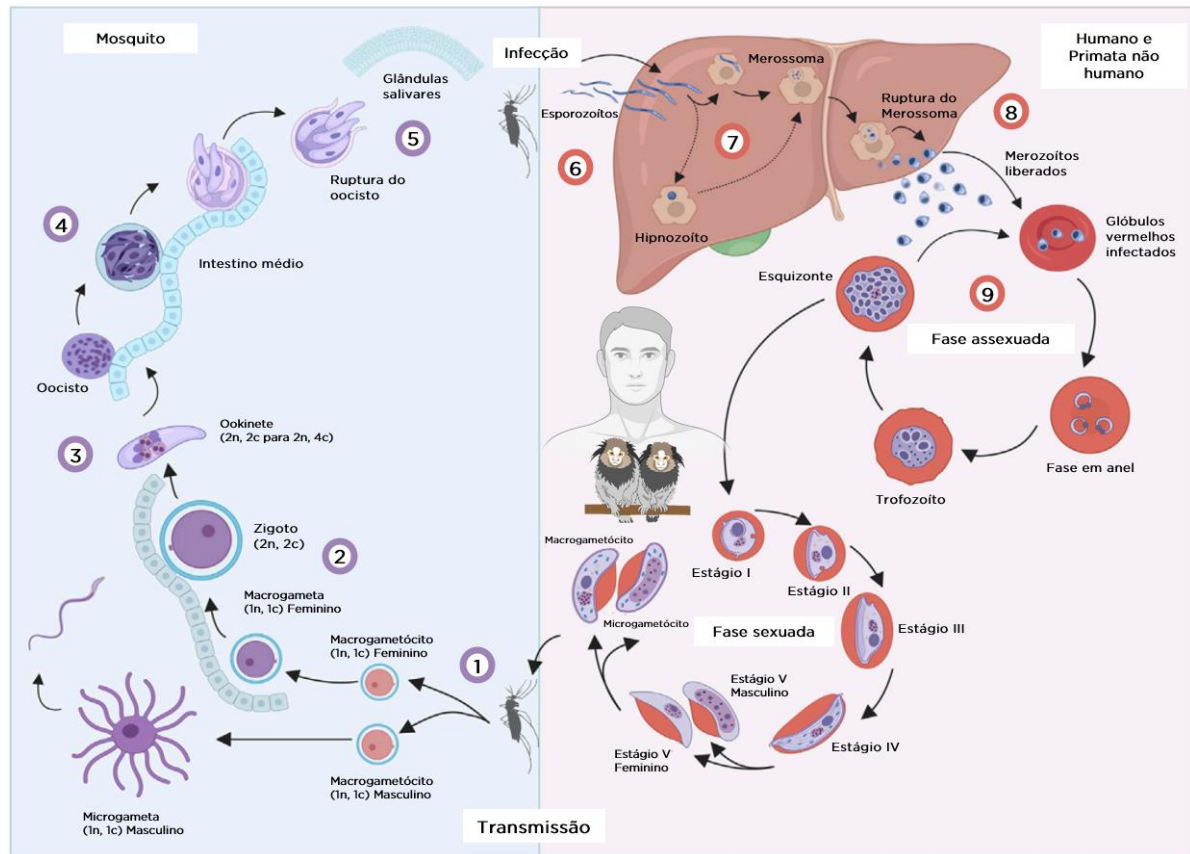


Figura 14. Ciclo de vida do protozoário *Plasmodium*. (1) O mosquito faz a ingestão de sangue do hospedeiro (humano, PNH ou outro) infectado e ingere gametócitos masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos) presentes no sangue. (2) No intestino do mosquito, os microgametas ($1n$) fertilizam os macrogametas ($1n$), formando um zigoto ($2n$). (3) O zigoto se diferencia em um ookinete, uma célula móvel que penetra na parede do intestino do mosquito. (4) O ookinete se desenvolve em um oocisto, que cresce e passa por várias divisões para produzir milhares de esporozoítos (formas infecciosas do parasita). (5) Quando o oocisto rompe, os esporozoítos migram para as glândulas salivares do mosquito. (6) Durante a picada, os esporozoítos presentes na saliva do mosquito entram na corrente sanguínea e migram até o fígado. (7) No fígado, os esporozoítos infectam os hepatócitos, se diferenciam em esquizonte hepáticos e produzem milhares de merozoítos. (8) Os esquizonte hepáticos se rompem e liberam merozoítos no sangue, que infectam os glóbulos vermelhos. (9) Nos glóbulos vermelhos, os merozoítos passam pelas fases: Anel → Trofozoíto → Esquizonte sanguíneo. Alguns merozoítos se diferenciam em gametócitos masculinos e femininos e quando o mosquito realiza a hematofagia no hospedeiro infectado, ele os ingere, reiniciando o ciclo. Fonte: Adaptado de Chahine, *et al.* (2022).

8.1.3. Vias de transmissão

Em áreas endêmicas, a malária é transmitida por meio da picada de fêmeas infectadas de conjunto específico de espécies do gênero *Anopheles*. Até o momento, foram identificadas mais de 400 espécies diferentes de mosquitos, mas apenas 30 são conhecidas por transmitir a doença. A transmissão da malária é influenciada por condições climáticas, como precipitação, temperatura e umidade, que afetam a quantidade e a sobrevivência dos mosquitos. Em muitas regiões, a transmissão é sazonal, alcançando o pico durante ou após a estação chuvosa. No Brasil, especialmente na região amazônica, o clima favorece o desenvolvimento desses vetores, que são mais ativos ao entardecer e ao amanhecer (Campbell et al., 1991-; Fikadu; Ashenafi, 2023; Ministério da Saúde, 2023; Opas, 2023b; Pimenta et al., 2015).

A transmissão da malária é mais intensa em locais onde os mosquitos têm uma vida útil mais longa, permitindo que o parasito complete seu ciclo de desenvolvimento. A alta longevidade e o comportamento antropofílico das espécies de vetores africanos são os principais fatores que explicam porque quase 90% dos casos de malária no mundo ocorrem na África. No Brasil, o principal vetor é o *Anopheles darlingi*, uma espécie amplamente distribuída na América do Sul, com comportamentos que favorecem a transmissão da doença. Altamente antropofílico e endofílico, esse mosquito utiliza o interior das casas para se abrigar e se alimentar de sangue humano. Os criadouros preferidos pelos mosquitos transmissores são coleções de água limpa, sombreada e de baixo fluxo, características comuns na Amazônia brasileira (Escalante; Pacheco, 2019; Ministério da Saúde, 2024; Opas, 2023; Singh; Daneshvar, 2013).

A imunidade humana é outro fator que desempenha um papel crucial, especialmente entre adultos em regiões de transmissão moderada ou intensa. Essa imunidade é parcial e desenvolvida após anos de exposição, não conferindo proteção completa, mas reduzindo o risco de formas graves da doença. Por isso, na África, a maioria das mortes por malária ocorre em crianças pequenas. Em áreas com menor transmissão e baixa imunidade, no entanto, todas as faixas etárias estão vulneráveis (Opas, 2023).

8.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico da malária pode ser realizado por meio da observação clínica de seus sinais e sintomas. Entretanto, na fase inicial, especialmente em crianças, a doença pode ser confundida com outras infecções dos tratos respiratório, urinário e digestivo, de etiologia viral ou bacteriana. Devido a baixa acurácia do diagnóstico clínico, causada pela semelhança dos sintomas com outras doenças tropicais e pela possibilidade de coinfeções, o diagnóstico confirmatório deve, idealmente, ser realizado por métodos laboratoriais (Brasil, 2024; Fikadu; Ashenafi, 2023; Murray; Bennett, 2009).

O esfregaço delgado, também conhecido como esfregaço distendido e a gota espessa são métodos de baixo custo que permitem identificar com precisão o *Plasmodium* e quantificar a parasitemia por volume (μL ou mm^3) de sangue. No entanto, o esfregaço delgado apresenta baixa sensibilidade, sendo cerca de 30 vezes menos eficaz na detecção da infecção malárica em comparação à gota espessa. Apesar disso, o esfregaço delgado facilita a diferenciação específica dos parasitos por meio da análise de sua morfologia e das alterações no eritrócito infectado (Brasil, 2024d; Endeshaw *et al.*, 2008; Fikadu; Ashenafi, 2023). A gota espessa é o método oficialmente adotado no Brasil para o diagnóstico da malária. Mesmo com o avanço das técnicas diagnósticas, continua sendo um método simples, eficaz, de baixo custo e fácil execução. Quando realizado adequadamente, é considerado padrão-ouro pela OMS. A técnica se baseia na visualização do parasito por microscopia óptica, após coloração com corantes vitais, como azul de metileno e Giemsa. Esse procedimento permite a diferenciação específica dos parasitos, a análise de sua morfologia e o reconhecimento dos estágios de desenvolvimento presentes no sangue periférico (Brasil, 2024).

Outra técnica amplamente utilizada para o diagnóstico da malária são os testes rápidos baseados em antígenos. Esses testes detectam, de forma imunológica, diferentes antígenos da malária, como lactato desidrogenase (LDH) e aldolase, em uma pequena amostra de sangue. Com parasitemia superior a 100 parasitos/ μL , apresentam sensibilidade de 95% ou mais em comparação à gota espessa. A maioria dos testes disponíveis atualmente consegue diferenciar especificamente *P. falciparum*

das demais espécies. Devido à sua praticidade e facilidade de execução, esses testes são úteis para a confirmação diagnóstica (Brasil, 2024d; Fikadu; Ashenafi, 2023; Kasetsirikul *et al.*, 2016).

O diagnóstico molecular da malária começou a ser desenvolvido nos anos 1980 e tem avançado significativamente com o aprimoramento e a simplificação das técnicas de extração de DNA. As principais metodologias moleculares utilizadas são a *Nested* PCR, a PCR convencional e a qPCR. Essas técnicas são altamente sensíveis e específicas, superando as técnicas microscópicas e os testes imunocromatográficos, especialmente na detecção de parasitas em pacientes com baixa parasitemia. No entanto, devido ao custo elevado, à necessidade de infraestrutura adequada e à exigência de mão de obra especializada, o uso dessas metodologias ainda é limitado a laboratórios clínicos. A aplicação em larga escala é dificultada pelos altos custos de operação e manutenção desses métodos (Antony; Parija, 2016; Brasil, 2024d; Ciceron *et al.*, 1999; Fikadu; Ashenafi, 2023).

8.1.5. *Plasmodium* em primatas não humanos

A origem do *Plasmodium* em primatas é um tema amplamente discutido, com duas hipóteses principais. A primeira sugere que o parasito provavelmente teve origem em PNHs do Sudeste Asiático, hipótese apoiada pela diversidade atual de espécies de plasmódios encontrada nessa região. Segundo essa perspectiva, *Plasmodium* spp. teria se dispersado posteriormente para a África, onde sofreu mutações para se adaptar a novos hospedeiros, incluindo os seres humanos (Coatney, 1971).

A segunda hipótese propõe que a origem das espécies de *Plasmodium* ocorreu na África, de onde teriam irradiado inicialmente para a Ásia e, em seguida, para a Europa, acompanhando a migração de PNHs (Bruce-Chwatt, 1965). No contexto das Américas, a teoria mais aceita é que o gênero *Plasmodium* tenha chegado ao continente de forma relativamente recente, trazido pelos primeiros colonizadores europeus. Desde o século XIX, existem registros da observação de plasmódios em primatas na América (Carter; Mendis, 2002).

Os estados que compõem a Amazônia, incluindo o Maranhão, concentram 99% dos casos registrados de malária humana no Brasil. Há também indícios de que, nessa

região, ocorra a transmissão de malária de PNHs para humanos. Essa hipótese é sustentada por resultados soroepidemiológicos obtidos de amostras de humanos e de PNHs que coexistem nas mesmas áreas. Embora o papel dos PNHs neotropicais como possíveis reservatórios e sua relevância na cadeia epidemiológica da malária humana tenha sido amplamente discutido, os ciclos naturais de transmissão entre PNHs, vetores e humanos ainda não foram completamente esclarecidos (Arruda *et al.*, 1989; Duarte *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2015; Yamasaki *et al.*, 2011).

O ciclo dos plasmódios em PNHs apresenta semelhanças com o ciclo dos parasitos que infectam o homem. Apesar de os PNHs serem amplamente utilizados como modelos para o estudo da malária humana, ainda são escassos os trabalhos que investigam a dinâmica da doença nesses animais, incluindo aspectos como vetores, hospedeiros naturais, sintomatologia, patologia e tratamento. Estudos indicam que, em infecções experimentais, a doença se manifesta de forma aguda, enquanto, em infecções naturais, assume um caráter crônico (Cerutti *et al.*, 2007; Ozwara *et al.*, 2003).

A análise de amostras de soro de macacos selvagens em três áreas ecológicas do Brasil (Cerrado, Mata Atlântica e Floresta Estacional Semidecidual) registraram malária autóctone: Foram detectados anticorpos contra várias espécies de *Plasmodium*, indicando contato intenso com mosquitos infectados e infecções ativas, especialmente na Mata Atlântica. Os resultados sugerem que os macacos podem atuar como reservatórios de malária em áreas não endêmicas, evidenciando sua importância na dinâmica epidemiológica da doença (Duarte *et al.*, 2006).

A malária em PNHs também constitui uma séria ameaça aos programas de controle da doença. Ao longo da história, foram relatadas diversas infecções experimentais bem-sucedidas em que *Plasmodium* spp. de PNHs foram transmitidos naturalmente ao homem pela picada de mosquitos infectados. No entanto, algumas espécies de *Plasmodium* de PNHs são conhecidas por infectar hospedeiros naturais. Entre as espécies de *Plasmodium* de interesse estão *P. knowlesi*, *P. cynomolgi*, *P. coatneyi*, *P. brasilianum*, *P. simium*, *P. inui*, *P. fieldi*, *P. fragile*, *P. simiovale*, *P. schwetzi*, *P. rodhaini*, *P. pitheci*, *P. eylesi*, *P. jefferyi*, *P. youngi*, *P. hylobati* e *P. silvaticum* (Mewara; Sreenivasan; Khurana, 2023).

As pesquisas com PNHs tem fornecido dados essenciais para o estudo da malária, contribuindo significativamente para o entendimento das diversas espécies

de parasitos, desenvolvimento de medicamentos, vacinas, patogênese e transmissão. Devido às semelhanças com os humanos em termos de fisiologia, neuroanatomia e complexidade social, os PNHs são considerados modelos altamente válidos para esses estudos. Esses avanços têm impulsionado melhorias nos cuidados clínicos e nas metas de controle, eliminação da doença. Estudos recentes sobre infecções crônicas em PNHs também destacam descobertas importantes relacionadas a recaídas, anemia e memória imunológica (Beignon; Le Grand; Chapon, 2014; Craig *et al.*, 2012; Galinski, 2022; Lombardini *et al.*, 2015; Martinelli; Culleton, 2018; Pratt-Riccio *et al.*, 2021; Riccio *et al.*, 2015).

II. JUSTIFICATIVA

A intensificação do desmatamento e da urbanização tem aumentado a interação entre animais silvestres, domésticos e humanos, criando um ambiente propício para a transmissão de doenças infecciosas, muitas vezes negligenciadas, que podem representar sérios riscos à saúde pública. Animais silvestres frequentemente atuam como reservatórios ou hospedeiros de protozoários parasitas, desempenhando um papel significativo na dinâmica de transmissão de zoonoses. Nesse cenário, estudos aprofundados que investiguem essas interações são indispensáveis, especialmente em regiões onde a urbanização altera significativamente os ecossistemas naturais.

O sagui-de-tufo-preto (*C. penicillata*), uma espécie amplamente distribuída no cerrado e muito comum no DF, demonstra uma excelente adaptação às áreas urbanizadas da região. Isso se deve à disponibilidade de locais para abrigo e à oferta de alimentos, resultando em interações frequentes com animais domésticos e com a população humana. Tal proximidade aumenta o risco de transmissão e disseminação de patógenos, como protozoários de interesse médico, que podem causar impactos tanto na saúde das populações humanas quanto na conservação da biodiversidade.

Os PNHs, incluindo *C. penicillata*, são reconhecidos como importantes sentinelas de saúde ecológica, dado seu papel como reservatórios de uma ampla gama de patógenos infecciosos, incluindo protozoários de importância médica como *T. cruzi*, *Leishmania* spp., *T. gondii* e outros parasitas emergentes. Estudos prévios indicam que esses PNHs podem atuar como elo na cadeia de transmissão de zoonoses, especialmente em contextos urbanos, onde barreiras naturais entre as espécies estão cada vez mais atenuadas. A investigação aprofundada da interação entre esses PNHs, o homem e os animais domésticos são essenciais para compreender os riscos envolvidos e identificar potenciais ameaças à saúde pública.

Dessa forma, este estudo justifica-se não apenas pela sua relevância ecológica, mas também pelo impacto potencial em políticas de saúde pública. A análise detalhada da presença de protozoários de importância médica em populações de *C. penicillata* de vida livre no DF fornecerá dados cruciais para entender o papel desse PNH como possível reservatório ou hospedeiro intermediário de zoonoses.

III. OBJETIVO

1. Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o potencial de *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) de vida livre do Distrito Federal (Brasília, Brasil) como reservatórios de patógenos de interesse médico.

2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- Reconhecer possíveis locais de infecção por *T. cruzi*, *Leishmania* spp., *T. gondii* e *Plasmodium* spp. no DF.
- Determinar a ocorrência dessas infecções em *C. penicillata* de vida livre encontrados mortos em diferentes locais do DF.
- Verificar a frequência de infecções mistas por esses protozoários em *C. penicillata*.
- Quantificar a carga parasitária de *T. cruzi*, *Leishmania* spp. e *T. gondii* nos animais positivos.

IV. MÉTODOS

1. Área do estudo

O DF está localizado na região Centro-Oeste entre os paralelos de 15°30' e 16°03' de latitude sul e os meridianos de 47°25' e 48°12' de longitude oeste (CODEPLAN, 2017). Sua área é de 5.760 km², sendo 590 km² de área urbanizada. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população é de 2.817.381 habitantes (censo de 2022), correspondendo a uma densidade geográfica de 489 habitantes por km² (IBGE, 2024). O bioma predominante é o Cerrado, apresentando dois estratos principais: no superior estão presentes árvores e arbustos e no inferior a vegetação rasteira (CODEPLAN, 2017).

O DF é formado pela capital federal Brasília e por 35 Regiões Administrativas (RAs) (Figura 15).

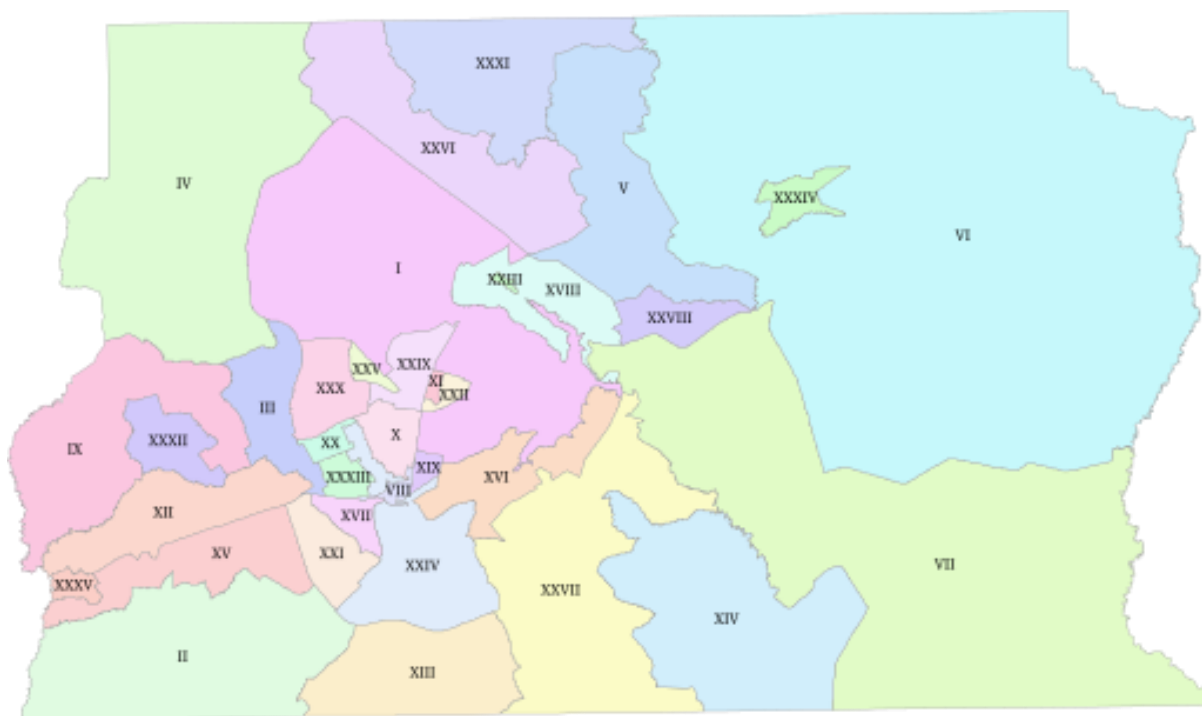


Figura 15. Mapa das Regiões Administrativas do Distrito Federal. I. Plano Piloto. II. Gama. III. Taguatinga. IV. Brazlândia. V. Sobradinho. VI. Planaltina. VII. Paranoá. VIII. Núcleo Bandeirante. IX. Ceilândia. X. Guará. XI. Cruzeiro. XII. Samambaia. XIII. Santa Maria. XIV. São Sebastião. XV. Recanto das Emas. XVI. Lago Sul. XVII. Riacho Fundo. XVIII. Lago Norte. XIX. Candangolândia. XX. Águas Claras. XXI. Riacho Fundo 2. XXII. Sudoeste/Octogonal. XXIII. Varjão. XXIV. Park Way. XXV. Estrutural. XXVI. Sobradinho 2. XXVII. Jardim Botânico. XXVIII. Itapoã. XXIX. SIA. XXX. Vicente Pires. XXXI. Fercal. XXXII. Sol Nascente e Pôr do Sol. XXXIII. Arniqueira. XXXIV. Arapoanga. XXXV. Água Quente. Fonte: Adaptado de IDE – DF (2023).

2. Animais

O estudo de prevalência descritivo foi realizado com amostras biológicas de primatas de vida livre da espécie *C. penicillata*, provenientes de diversas regiões do DF. Os animais foram encontrados mortos e recolhidos pela população de diferentes RAs do DF, pela Secretaria de Vigilância Ambiental em Saúde (DIVAL - zoonoses) ou pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). Em seguida, foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV/UnB), onde foram realizados exames *post mortem* e testagem para febre amarela, uma vez que o LPV/UnB é o laboratório de referência regional do Ministério da Saúde para o diagnóstico de febre amarela em PNH.

Entraram no estudo *C. penicillata* recolhidos entre os anos de 2018 e 2023 em que a informação do local de resgate foi informada e documentada. O n amostral foi de 232 micos distribuídos como indicado na **Figura 16**.

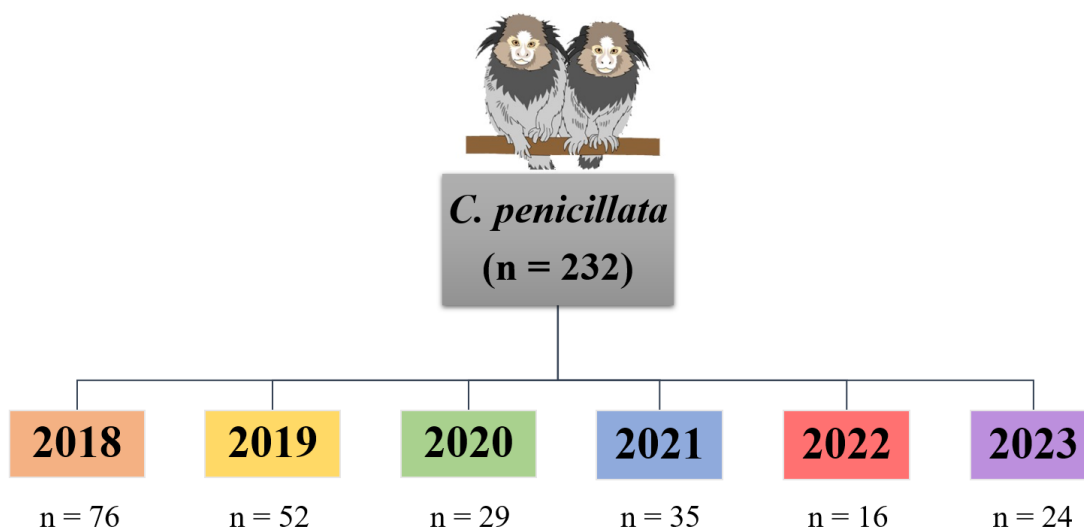


Figura 16. Divisão do grupo amostral. Representação esquemática do número amostral dos primatas não humanos de acordo com os anos de estudo. Fonte: Autoria própria.

A Tabela 1 apresenta o número e o local em que *C. penicillata* foram encontrados mortos.

Tabela 1. Regiões administrativas do Distrito Federal onde foram encontrados *Callithrix penicillata*.

Local	Nº amostral	Local	Nº amostral
Águas Claras	07	Park Way	14
Arniqueiras	01	Planaltina	16
Brazlândia	02	Plano Piloto	14
Candangolândia	04	Recanto das Emas	02
Ceilândia	03	Riacho Fundo I e II	01
Cruzeiro	03	Samambaia Norte e Sul	09
Fercal	01	Santa Maria	02
Gama	08	São Sebastião	03
Guará	19	SIA	02
Itapoã	01	Sol Nascente	01
Jardim Botânico	16	Sobradinho	14
Lago Norte	31	Sudoeste/Octogonal	01
Lago Sul	25	Taguatinga	11
Núcleo Bandeirante	02	Vicente Pires	07
Paranoá	09	Não informado*	03

* 3 das 232 amostras não tiveram sua localidade informada.

3. Coleta de amostras

Após os exames de necropsia realizado no LPV/UnB, o fígado dos PNHs foi coletado e armazenado a -80°C. Além do material biológico, foi registrado informações sobre a data e o local de captura, a possível causa da morte, a faixa etária aproximada e o sexo dos animais. Parte dos fígados coletados (aproximadamente 100 mg) foram armazenados em microtubos de 1,5 mL sem adição de soluções, devidamente acondicionados e transportados para o Laboratório Interdisciplinar de Biociências (LabIBc/UnB) para detecção molecular por qPCR dos protozoários *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, *T. gondii* e *Plasmodium spp.*

No LPV/UnB foi realizado exame histopatológico no fígado dos micos.

4. Extração de ácidos nucleicos

4.1. Extração de DNA dos parasitos

Para a detecção de carga parasitária de *T. cruzi* foram utilizadas formas tripomastigotas da cepa colombiana mantidas em cultura de células musculares esqueléticas de *Rattus norvegicus*, linhagem L6, em meio mínimo essencial (DMEM), pH 7,2 acrescido de soro fetal bovino (SFB) a 10%, 100 UI/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina sob atmosfera de CO₂ a 5% e à temperatura de 37°C, após duas passagens por camundongos C57BL/6.

Após o cultivo, foi realizada a extração de DNA de parasitos em cultura, utilizando o método convencional de fenol-clorofórmio, adaptado e descrito por Sambrook e Russell (2001). Depois de feita a separação de parasitas mortos dos parasitas vivos e contagem, foi adicionado 900 µL de Tampão de extração (10 mM Tris-HCL, pH 8.0, contendo 10 mM NaCl, 20 mM EDTA, 1% SDS e 1% DTT) e 5 µL de proteinase K (20 µg/mL) em um tubo falcon com a solução, que foi homogeneizado em vórtex e incubado a 37° C em banho-maria durante a noite. Após o período de incubação, foi adicionado o mesmo volume de clorofane (em um tubo de 2 mL, o máximo a ser colocado deve ser 1 mL) e misturado por inversão até formar uma emulsão (quanto melhor for realizado esse passo, mais limpo estará o DNA). Logo depois, a solução foi centrifugada a 5000 rpm por 10 min à TA para separar a fase aquosa superior. Essa fase foi transferida para um novo tubo de 2 mL e o procedimento foi repetido três vezes. Em seguida, o mesmo processo foi realizado com a solução de clorofil, com uma lavagem e separação do sobrenadante.

Para a precipitação do DNA, foi adicionado 1 mL de etanol 100% gelado, misturado por inversão até ser observado o DNA enovelado. O DNA foi separado, com o auxílio de uma micropipeta, transferido para um novo tubo de 1,5 mL, lavado com álcool 70% e centrifugado a 14000 g por 2 min à 4°C até o descolamento do precipitado. Foi retirado o sobrenadante a solução foi deixada na capela com fluxo de ar ligado, em temperatura ambiente até que o etanol evaporasse completamente. Depois do período de secagem, foram adicionados 200 µL de solução Tampão de Eluição (10mM Tris-HCl pH 8,0; 1mM EDTA pH 8,0), 2 µL de RNase (200µg/mL) e incubada novamente por 37° C durante a noite. A quantificação do DNA obtido foi

realizada em espectrofotômetro NanoVue (GE) utilizando 3 µL da amostra. 27)

Considera-se a extração como adequada aquela que apresentar a razão A260/280 entre 1,8 e 2,0 e a A230/260 entre 2,0 a 2,2.

Para a obtenção de parasitos *Leishmania*, foram utilizados cultivos de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (IOCC566), gentilmente cedidos pela Fundação Oswaldo Cruz em abril de 2024, condicionadas em meio de cultura Schneider® (Sigma S9895), suplementado com 1% de antibiótico Penicilina-Estreptomicina 100X (Gibco®) e 10% de SFB, mantidas à temperatura ambiente. A manutenção e expansão da cultura foi realizada uma vez por semana e para acompanhar a proliferação, amostras foram coletadas e os parasitos contados utilizando-se câmara de Neubauer. Para a extração de DNA dos parasitos em cultura foi utilizado o mesmo método convencional de fenol-clorofórmio usado para o DNA de *T. cruzi*.

O DNA dos parasitos *T. gondii* foram gentilmente cedidos pela professora Ana Maria de Castro da Universidade Federal do Goiás e de *Plasmodium sp.* foram cedidos pelo professor Sebastien Olivier Charneau do Departamento de Biologia Celular da Universidade de Brasília.

4.2. Extração de DNA do material biológico *Callithrix penicillata*

Inicialmente, as amostras tiveram o material biológico extraído pelo método convencional de fenol-clorofórmio, amplamente reconhecido por sua eficácia na obtenção de DNA com elevada pureza. No entanto, esse método apresenta desvantagens, como maior tempo de execução e a necessidade de uma quantidade significativa de material biológico para atingir uma boa concentração de DNA.

Dessa forma, as amostras que continham maior quantidade de tecido foram processadas por esse método, enquanto aquelas com menor quantidade de material biológico foram submetidas à extração utilizando um kit comercial. Esse procedimento foi escolhido devido à sua rapidez, praticidade e melhor relação custo-benefício, além de permitir o uso de pequenas quantidades de material biológico, resultando em amostras com qualidade satisfatória tanto em pureza quanto em concentração de DNA.

4.3. Extração de DNA por fenol-clorofórmio

Inicialmente foi realizada extração de DNA pelo método convencional de fenol-clorofórmio, adaptado e descrito por (Sambrook; Russell, 2001). Aproximadamente 100 mg de fígado foi macerado para lise tecidual em 5 mL de solução de lavagem (SSC 1x, EDTA 10 mM). Após esse processo, a amostra foi colocada em um tubo falcon de 15 mL e misturada por inversão. Em seguida, foi submetida à centrifugação a 800 x g em temperatura ambiente (TA) com duas etapas de lavagem e descarte do sobrenadante. Para cada 100 mg de tecido, adicionou-se 1,2 mL de solução de digestão (TRIS 10 mM, pH 10,5; EDTA 1 mM; NaCl 0,15 mM), 5% do volume da amostra de SDS 10% estéril e 2,5% do volume da amostra de proteinase K (10 mg/mL), visando à digestão celular completa. As amostras foram então incubadas em banho-maria a 56°C durante 6 h.

Após o período de incubação, foi adicionado o mesmo volume de solução fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (25:24:1). Logo depois, as amostras foram centrifugadas a 2.000 x g por 10 min à 4°C para separar a fase aquosa superior que contém os ácidos nucleicos. Essa fase foi transferida para um novo tubo falcon de 15 mL e o procedimento foi repetido duas vezes. Posteriormente, o mesmo processo foi realizado com a solução de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), também com duas lavagens e separação do sobrenadante. Para precipitar o DNA, foi adicionado o dobro do volume da amostra final de etanol 100% gelado, misturado por inversão e as amostras foram armazenadas a -80°C durante 12 h.

As amostras foram retiradas do -80°C e centrifugadas a 2.000 x g por 10 min a 4°C para a obtenção do precipitado contendo o DNA. O sobrenadante foi descartado e, em seguida, foi adicionado 10 mL de etanol 70% gelado para precipitar o DNA. As amostras passaram por duas etapas de centrifugação (2.000 x g por 10 min à 4°C) e depois foram deixadas na capela com fluxo de ar ligado, em temperatura ambiente até que o etanol evaporasse completamente. Depois do período de secagem, foram adicionados 500µL do tampão de eluição 1X (TE 1X, pH 8,0) e 1µL de RNase ([10ng/mL]) ao DNA. As amostras foram homogeneizadas até que o precipitado se soltasse, seguindo então para a etapa de quantificação do DNA obtido.

4.4. Extração de DNA com kit comercial

Parte das amostras de fígado foi submetida à extração de DNA utilizando o kit comercial *PureLink Genomic DNA Mini Kit* (Invitrogen™, Massachusetts, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Foram usados aproximadamente 40 mg de tecido que foi macerado e adicionado a um microtubo de 1,5 mL contendo 180 µL de *PureLink Genomic Digestion Buffer* e 20 µL de Proteinase K. As amostras foram então incubadas em banho-maria a 55° C, até a lise tecidual completa, o que levou cerca de quatro a seis horas. Logo após, foram adicionadas às amostras 20 µL de RNase A, 200 µL de *PureLink Genomic Lysis/Binding* e 200 µL de etanol 100% gelado. Em todas as etapas as amostras foram homogeneizadas em vórtex para facilitar a lise.

Com o objetivo de ligação do DNA à coluna, as amostras passaram por duas etapas de lavagem com 500 µL de *Wash Buffer* 1 e 2, sendo centrifugadas a 10.000 x g por 2 minutos em temperatura ambiente, com o filtrado descartado em cada etapa. Por fim, para a eluição do DNA, 50 µL de tampão de eluição foram adicionados à coluna contendo o DNA extraído, e as amostras foram encaminhadas para a etapa de quantificação.

5. Quantificação e análise da qualidade do DNA extraído

A quantificação do DNA foi realizada por meio de espectrofotometria com uso do *NanoVue Plus®* (GE Healthcare Life Science, UK). Foram usadas 3µL de cada amostra. A pureza do DNA foi avaliada pela relação de absorbância da luz UV no comprimento de onda 260/280 nm, dentro dos parâmetros de pureza que vão de 1,8 a 2,0. Logo depois, o DNA foi identificado e armazenado a -20°C para utilização posterior.

A qualidade e integridade do DNA das amostras foram analisadas por PCR convencional (cPCR) utilizando a amplificação do gene constitutivo β -actina. Para essa reação, foram empregados os iniciadores BAA e BAS (**Tabela 2**), que amplificam um fragmento de aproximadamente 800 pb (Rossi *et al.*, 1994). A reação foi

padronizada com um volume final de 25 µL, composto por 12,5 µL de Taq Pol Master Mix 2X (Cellco® Biotech, BR), 0,2 µM de cada iniciador e 2,0 µL de DNA.

As condições da PCR foram: 95° C por 5 min, 30 ciclos de desnaturação a 95° C por 30 segundos, anelamento a 60° C por 1 min, extensão a 72° C por 1 min, uma extensão final de 72° C por 5 min e 4°C por tempo indeterminado. Os produtos de PCR foram separados através da corrida eletroforética em gel de agarose (Invitrogen®, USA) a 1%, corado com brometo de etídeo 0,5 µg/mL utilizando tampão TAE 1X (Tris acetato 90mM pH 8,0 e EDTA 25mM) e visualizados sob luz ultravioleta (UV).

Tabela 2. Sequência de iniciadores utilizados nas reações em cadeia pela polimerase convencional e em tempo real.

Iniciador	Alvo	Sequência (5' – 3')	Tamanho do produto
BAA	β-actina	ATCTGGCACCACACCTTCCTACAATGAGCTGCG	800 pb
BAS	β-actina	CGTACTCCTGCTTGCTGATCCACATCTGC	800 pb
TcZ 3	<i>Trypanosoma cruzi</i>	TGCACTCGGCTGATCGTTT	168 pb
TcZ 4	<i>Trypanosoma cruzi</i>	ATTCCTCCAAGCAGCGGATA	168 pb
LITSR	<i>Leishmania spp.</i>	CTGGATCATTTTCCGATG	314 pb
L5.8S-5	<i>Leishmania spp.</i>	TGATACCACTTATCGCACTT	314 pb
TGF	<i>Toxoplasma gondii</i>	GACTACAGACGCGATGCC	233 pb
TGR	<i>Toxoplasma gondii</i>	CTCTTCAATTCTCTCCGCCAT	233 pb
M60	<i>Plasmodium spp.</i>	ACATGGCTATGACGGGTAACG	84 pb
M61	<i>Plasmodium spp.</i>	TGCCTTCCTTAGATGTGGTAGCTA	84 pb

6. Reação em cadeia da polimerase em tempo real

As qPCRs foram realizadas pelo sistema de detecção com o corante intercalante SYBR® Green. Após o período de amplificação, a curva de dissociação (em inglês, *melt curve*) foi realizada através de um ciclo adicional em que a

temperatura aumentou de 60° C para 95° C a uma taxa de 0,3° C por seg. Em todas as reações, foi utilizado 50 ng/μL de DNA molde em um volume final de 20 μL. Foram acrescentados dois controles negativos (branco, ou seja, amostra sem DNA, e uma amostra sabidamente negativa para o alvo da reação) e dois controles positivos (DNA extraído de cultura celular e uma amostra sabidamente positiva para o alvo da reação). Em todas as qPCRs, foi realizada duplicata técnica, garantindo a reprodutibilidade dos resultados por meio da repetição da análise da mesma amostra.

Após as qPCRs, a especificidade da reação foi avaliada através da análise da curva de dissociação formada. A quantificação do número de cópias de DNA foi feita utilizando a curva padrão. A quantidade de DNA detectada foi dada em parasitos equivalentes/100 ng de DNA genômico (par. eq./100 ng de DNA).

6.1. Curva padrão para quantificação absoluta da carga parasitária

Para calcular a concentração absoluta de uma amostra e estabelecer o número de ciclos necessários para a detecção de fluorescência com o corante intercalante *SYBR® Green* é preciso elaborar uma curva padrão que relacione os valores do ciclo de quantificação (Cq) com o logaritmo do número inicial de cópias, que são inversamente proporcionais. O valor de Cq corresponde ao ciclo em que a amplificação exponencial alcança uma intensidade de fluorescência acima do limite de detecção (*threshold*).

Foi realizada a curva padrão para *T. cruzi*, *Leishmania spp.* e *T. gondii*. Para validação das curvas foi necessário que a eficiência de cada uma delas estivesse entre 90 e 110%. As curvas foram armazenadas e utilizadas para quantificação da carga parasitária através da equação da reta ($y = ax + b$); onde y representa o Cq da amostra; x corresponde à quantidade do produto amplificado a ser determinada; a é o coeficiente angular da reta e b é o coeficiente linear. Para evitar diferenças entre as placas de diferentes qPCRs, uma amostra de DNA total de cada parasito foi incluída em cada corrida e utilizadas como calibrador, aplicando um fator de correção entre cada ensaio, de acordo com Ruijter *et al.* (2015).

6.2. Curva padrão de *Trypanosoma cruzi*

A curva padrão de *T. cruzi* foi realizada através da diluição seriada (1:10) do DNA do parasito para obter amostras contendo 10^6 a 10^{-1} parasitos por mL (par./mL). A qPCR foi realizada com os iniciadores TcZ 3 e TcZ 4 (**Tabela 2**) que são direcionados às sequências repetitivas do DNA nuclear (nDNA) de *T. cruzi* gerando um produto de aproximadamente 168 pb (Ndao *et al.*, 2000). A eficiência da curva padrão foi 105% e o coeficiente de regressão linear (R^2) foi de 0,96 (**Figura 17**). As condições de amplificação estão descritas no item 6.5.

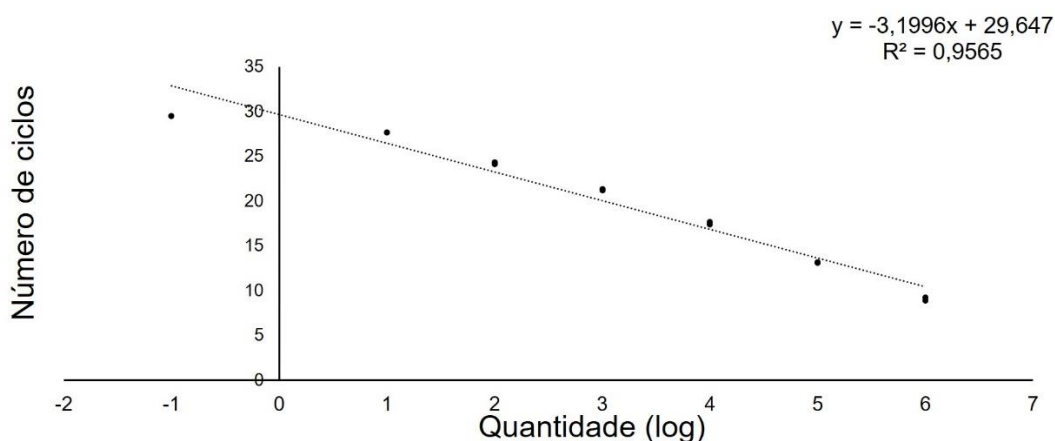


Figura 17. Curva padrão de DNA nuclear de *Trypanosoma cruzi* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações. À direita do gráfico está a equação da reta e o coeficiente de regressão linear (R^2). A eficiência da curva foi de 105%. Os círculos pretos representam cada amostra de *T. cruzi* (10^6 a 10^{-1} parasitos/mL, em log 6 a -1 par. eq./mL). A eficiência da curva foi de 97,5%. Os círculos pretos representam cada amostra de *T. cruzi* (10^9 a 10^3 parasitos/mL, em log 9 a 3 par. eq./mL).

6.3. Curva padrão de *Leishmania* spp.

A curva padrão para quantificação da carga parasitária absoluta de *Leishmania* spp. foi realizada com diferentes concentrações de DNA de *Leishmania braziliensis* em diluições seriadas (1:10) para obter amostras contendo 10^6 a 10 par./mL. Foram utilizados iniciadores direcionados a região espaçador transcrito interno 1 (ITS1), com os primers LITSR e L5.8S que amplificam um produto de aproximadamente 314 pb

(El Tai *et al.*, 2000) (**Tabela 2**). A eficiência da curva padrão foi de 97,5% e o R^2 de 0,99 (**Figura 18**). As condições da reação estão descritas no item 6.6.

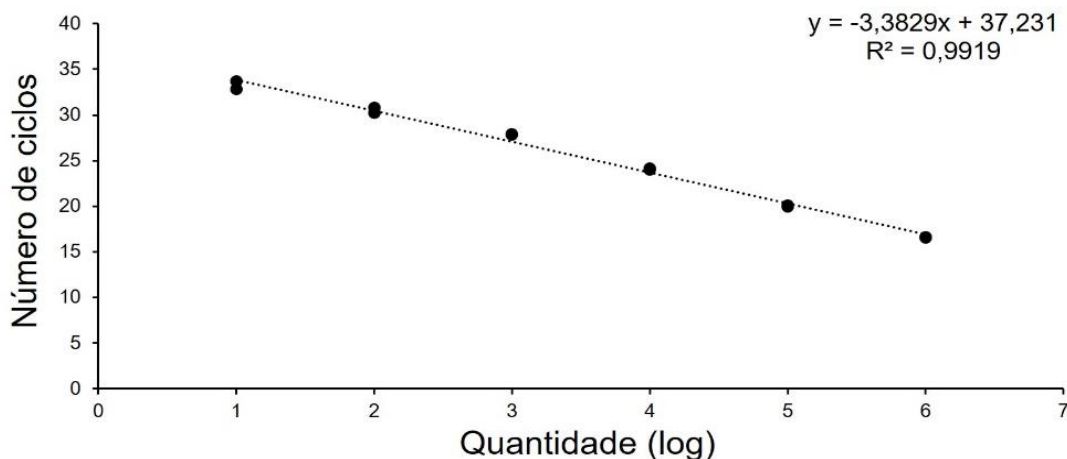


Figura 18. Curva padrão de *Leishmania* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações. À direita do gráfico está a equação da reta e o coeficiente de regressão linear (R^2). A eficiência da curva foi de 97,5%. Os círculos pretos representam cada amostra de *L. braziliensis* (10^6 a 10 parasitos/mL, em log 6 a 1 par. eq./mL).

6.4. Curva padrão de *Toxoplasma gondii*

Foi elaborada uma curva padrão para a quantificação absoluta do DNA de *T. gondii* dos fígados dos PNHs. Para isso, foram obtidas diferentes concentrações de DNA do parasito em diluições seriadas (1:10) até que se atingisse amostras contendo 10^6 a 10^2 par./mL. Foi realizada a qPCR com os iniciadores TG F e TG R para amplificação do DNA alvo gerando um produto de aproximadamente 233 pb (Wu *et al.*, 2021) (**Tabela 2**). A eficiência da curva padrão foi de 109,3% e o R^2 de 0,98 (**Figura 19**). A amplificação foi realizada de acordo com as condições descritas no item 6.7.

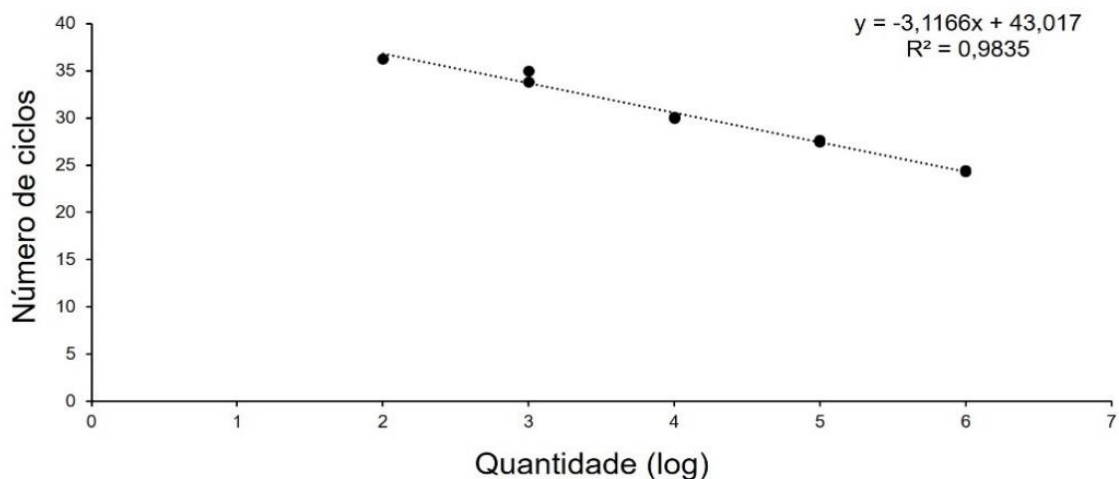


Figura 19. Curva padrão de DNA de *Toxoplasma gondii* gerada a partir de amostras do parasito com diferentes concentrações. À direita do gráfico está a equação da reta e o coeficiente de regressão linear (R^2). A eficiência da curva foi de 109,3%. Os círculos pretos representam cada amostra de *T. gondii* (10^6 a 10^2 parasitos/mL, em log 6 a 2 par. eq./mL).

6.5. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de *Trypanosoma cruzi*

Para as reações de qPCR foi utilizado 2 μ L de DNA dos PNH com concentração de 50 ng/ μ L; 0,2 μ M de cada iniciador (TCZ 3 e 4) e 10 μ L 1X *GoTaq® qPCR Master Mix*, 2X (*Promega*), totalizando um volume final de 20 μ L. As condições da qPCR foram: 50°C durante 2 min (devido a presença de dUTP no master mix), 95° C durante 10 min, 40 ciclos a 95° C durante 15 seg, 60° C por 45 seg e 72° C durante 10 seg. Após a amplificação, a curva de dissociação (*melting curve*) foi realizada com desnaturação inicial de 95° C por 15 seg, seguidos por 60°C durante 1 min e 95° C por 15 seg. As amplificações foram realizadas em duplicata, em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®*), no termociclador StepOne Plus (*Applied Biosystems, CA, USA*). Em todas as reações foram incluídos dois controles negativos e dois controles positivos (DNA de amostra sabidamente positiva e DNA de *T. cruzi* – diluição usada na construção da curva padrão). As amplificações foram realizadas em duplicata, em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®*), no termociclador StepOne Plus (*Applied Biosystems, CA, USA*).

6.6. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de *Leishmania* spp.

Em todas as qPCRs foi utilizado 2 µL de DNA dos PNH na concentração de 50ng/µL. Além disso, as reações foram preparadas com a adição de 0,2 µM de cada iniciador (LITSR e L5.8S) e 10 µL 1X de *PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix* (*Applied Biosystems, CA, USA*), em um volume final de 20 µL. As condições de amplificação foram: 50° C durante 2 min, 94° C durante 15 seg, 40 ciclos a 94° C por 10 min, 53° C durante 40 seg e 72° C por 10 seg. Após a amplificação, a curva de dissociação foi feita conforme descrito anteriormente. As reações foram realizadas em duplicata, em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®*), no termociclador StepOne Plus (*Applied Biosystems, CA, USA*). Em todas as reações foram incluídos dois controles negativos e dois controles positivos (DNA de cão sabidamente positivo e DNA de *L. braziliensis*).

6.7. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para quantificação de *Toxoplasma gondii*

Para as reações de qPCR foram utilizados 2 µL de DNA dos PNH com concentrações de 50 ng/µL; 0,2 µM de cada primer (TOXO-F e TOXO-R) e 10 µL de *PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix 1X* (*Applied Biosystems, CA, USA*), totalizando um volume final de 20 µL. As condições da qPCR foram: 50° C durante 2 min e 95° C durante 10 min, seguidos por 40 ciclos a 95° C durante 15 seg, 60° C durante 45 seg e 72° C durante 10 seg. Após a amplificação, a curva de dissociação foi feita com desnaturação inicial de 95° C por 15 seg, seguidos por 60° C durante 1 min e 95° C por 15 seg. As amplificações foram realizadas em duplicata, em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®*) e em termociclador *Applied Biosystems™* QuantStudio 3. Em todas as reações foram incluídos dois controles negativos (amostra sem DNA e amostra sabidamente negativa para *T. gondii*) e um controle positivo (DNA do parasito).

6.8. Reação em cadeia da polimerase em tempo real para detecção de *Plasmodium* spp.

Para as reações de qPCR foi utilizado 2 µL de DNA dos PNH. As amostras estavam com concentrações de 50 ng/µL. Além disso, foi usado 0,2µM de cada iniciador (M60 e M61) e 10µL 1X de *PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix* (Applied Biosystems, CA, USA), em um volume final de 20 µL. As condições da qPCR foram: 50°C durante 2 min, 95° C durante 10 min, 40 ciclos a 94° C por 30 seg, 61° C durante 30 seg e 72° C por 30 seg. Após a amplificação, a curva de dissociação foi feita com desnaturação inicial de 95° C por 15 seg, seguidos por 60° C durante 1 min e 95° C por 10 seg. As amplificações foram realizadas em duplicata, em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®*), em termociclador *Applied Biosystems™* QuantStudio 3. Em todas as reações foram incluídos dois controles negativos (amostra sem DNA e amostra sabidamente negativa para *Plasmodium* spp.), além de um controle positivo (DNA do parasito).

7. Análise estatística

Foi realizada análise de frequência utilizando-se o teste do Qui-Quadrado e para a variável quantificação foi feito o teste de Kruskal-Wallis visto que a distribuição das amostras apresentou comportamento não-normal. As análises foram realizadas no software SAS® (v 9.4, Cary, North Carolina) em nível de significância de 5%.

V. RESULTADOS

1. Distribuição das amostras por Região Administrativa

O estudo foi realizado com amostras colhidas entre os anos de 2018 e 2023, totalizando 232 amostras de *C. penicillata* nas diversas RAs do DF. Destas, 229 amostras possuem registro de localidade, enquanto 3 amostras não possuem essa informação. O Lago Norte (RA XVIII) apresentou a maior quantidade de amostras (31/232; 13.36% do total), seguido pelo Lago Sul (RA XVI) (25/232; 10.78%) e Guará (RA X) (19/232; 8.19%). Regiões como Planaltina (RA VI) e Jardim Botânico (RA XXVII) contribuíram com dezesseis amostras cada (6.90% cada uma), enquanto Sobradinho (RA V), Plano Piloto (RA I) e Park Way (RA XXIV) registraram quatorze amostras cada (6.03% cada uma). Em menor proporção, locais como Águas Claras (RA XX) e Vicente Pires (RA XXX) tiveram sete amostras (3.02% cada), e áreas como Núcleo Bandeirante, Recanto das Emas e Santa Maria (RA XIX e RA XIII) registraram duas amostras cada (0.86% cada uma). Algumas localidades, incluindo Itapoã (RA XXVIII), Arniquireiras (RA XXXIII), Sol Nascente (RA XXXII), e Riacho Fundo I (RA XVII) e II (RA XXI), apresentaram apenas uma amostra (0.43% do total cada uma) (**Figura 20**).

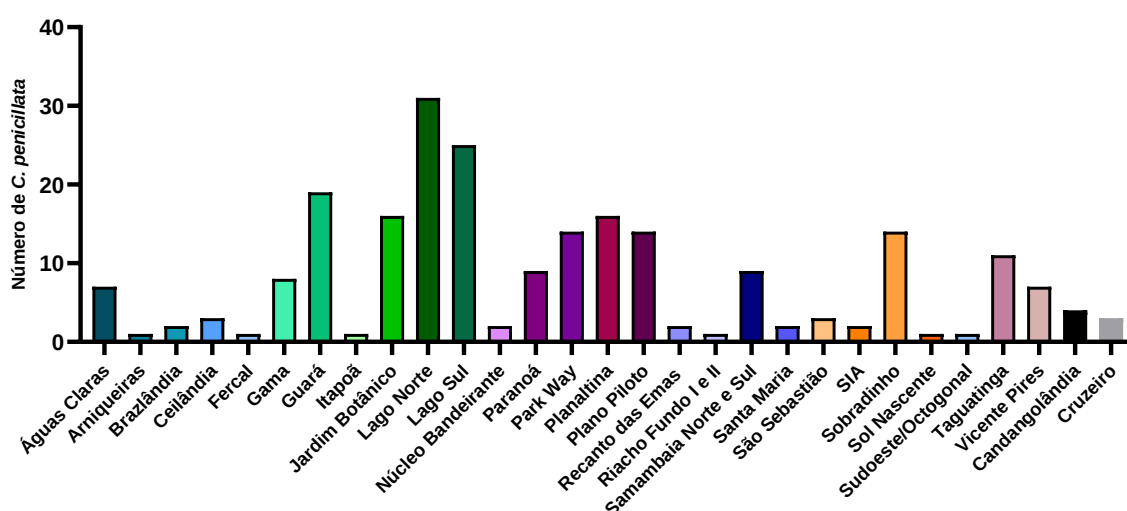


Figura 20. Quantitativo de *Callithrix penicillata* por Região Administrativa do Distrito Federal.

2. Causa mortis dos animais

A autólise difusa acentuada foi a causa de morte mais prevalente entre *C. penicillata*, representando 15,09% dos casos (35 amostras). Politraumatismos também apresentou alta incidência, correspondendo a 15,95% (37 amostras). Algumas necrópsias foram inconclusivas devido à ausência de alterações morfológicas significativas. Alguns animais apresentaram mais de um fator relacionado ao falecimento, como politraumatismo associado à eletrocussão. Ambos os casos apareceram 9,48% vezes (22 amostras). Causa mortis desconhecida aconteceu em 9,91% de *C. penicillata* (23 amostras). Trauma crânio encefálico (TCE) e eletrocussão apresentaram proporções de 7,76% (18 amostras) e 7,33% (17 amostras), respectivamente.

Outras causas relevantes incluíram predação, que representou 3,88% dos casos (nove amostras), e meningoencefalite herpética, com 3,45% (oito amostras). Alterações secundárias, como broncopneumonia e trauma com outras alterações, ocorreram em proporções iguais, cada uma abrangendo 2,16% (cinco amostras). Resultados da necrópsia como pneumonia, platinossomíase e infecções sistêmicas (incluindo paramyxovírus, linfoma/leucemia e sepse) variaram entre 1,72% e 1,29% (quatro a três amostras cada). Por fim, conclusões menos frequentes e mais específicas, como miocardite moderada multifocal, ferimento por projétil, plexo coróide linfoplasmocitário (alterações inflamatórias no plexo coróide, com infiltração de linfócitos e plasmócitos), perivascularite linfohistiocítica e plasmocítica (inflamação localizada ao redor dos vasos sanguíneos) e meningite bacteriana, corresponderam a menos de 0,5% dos casos (uma amostra cada) (**Figura 21**).

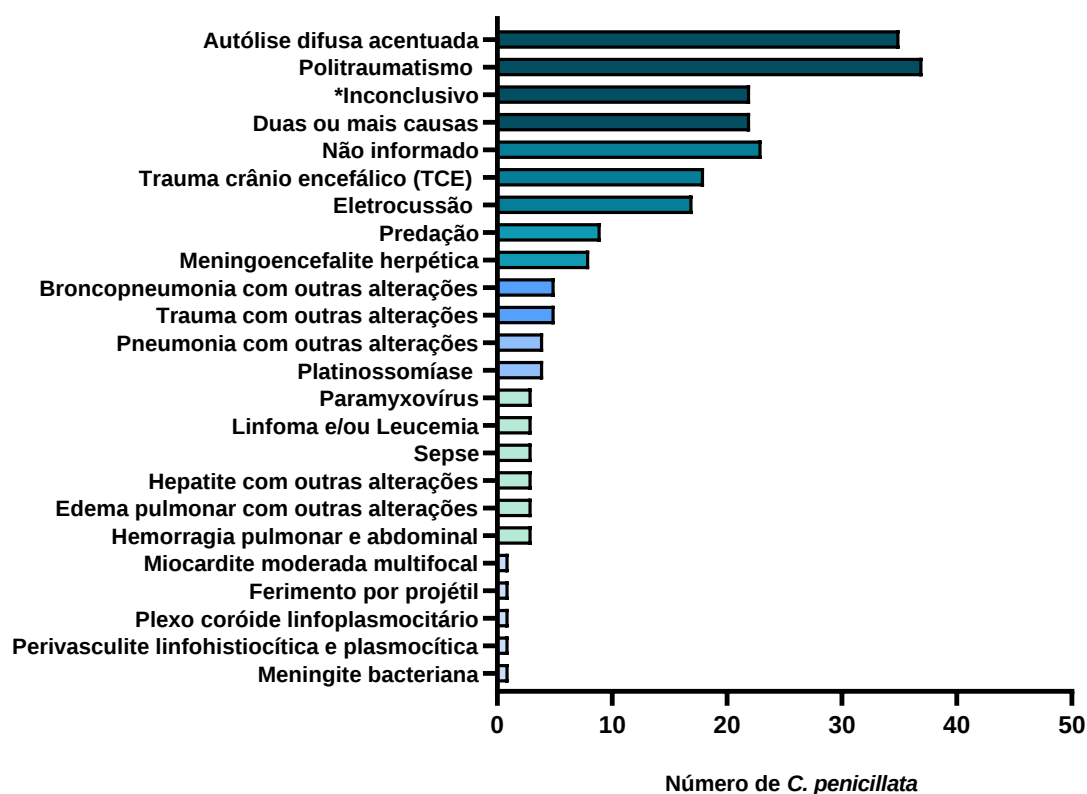


Figura 21. Resultado das necrópsias dos primatas não humanos avaliados no estudo. A *causa mortis* foi determinada após necropsia conduzidas por médicos veterinários patologistas especializados. *Sem alterações morfológicas dignas de nota

3. Classificação das amostras por sexo e idade

As amostras analisadas também foram classificadas de acordo com sexo e a idade dos PNHs. Entre os indivíduos com sexo identificado, a maioria foi de fêmeas, representando 51,29% dos casos (119 amostras), enquanto os machos corresponderam a 41,81% (97 amostras). Um total de 16 amostras (6,90%) não tiveram o gênero informado. Em relação à idade, os adultos foram predominantes, abrangendo 65,95% dos casos (153 amostras), seguidos pelos jovens, com 26,29% (61 amostras), e pelos filhotes, que representaram apenas 4,31% (10 amostras). Apenas oito amostras (3,45%) não tiveram a idade informada (**Figura 22**).

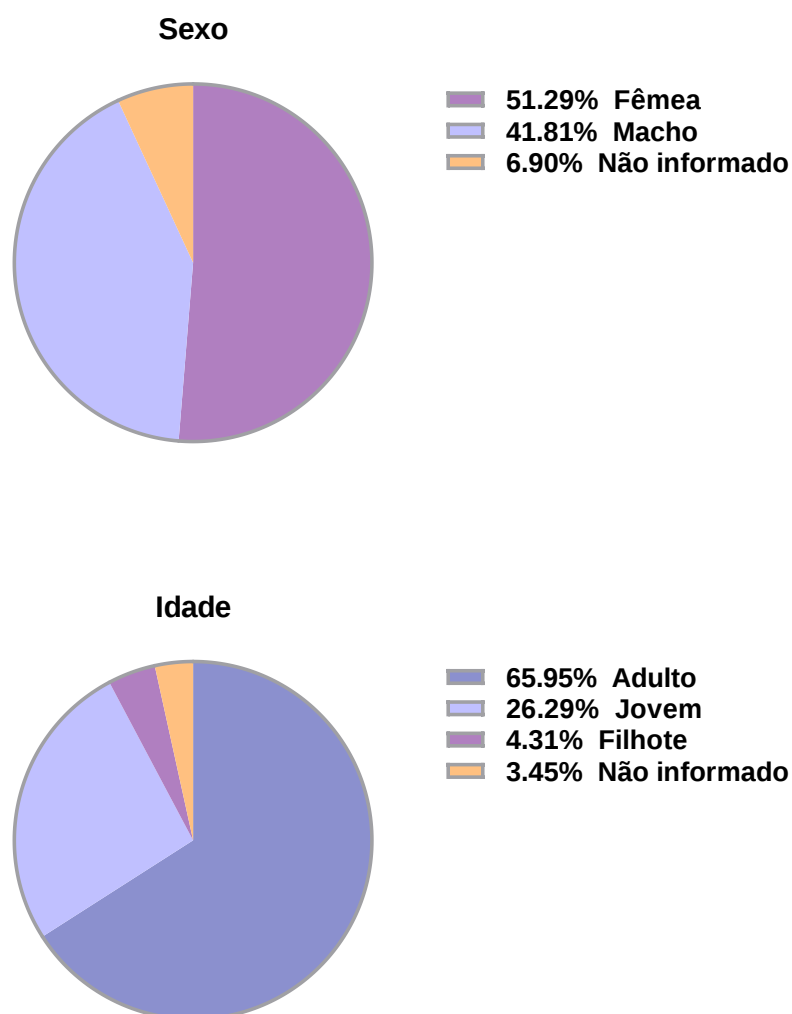


Figura 22. Classificação dos primatas não humanos com base no sexo e idade. As informações de gênero e idade foram determinadas durante as necropsias conduzidas por médicos veterinários patologistas especializados.

4. Análise da qualidade do DNA extraído

A qualidade e integridade dos ácidos nucleicos extraídos foi avaliada por meio da amplificação do gene constitutivo β -actina, seguida de visualização em gel de agarose. A extração de DNA de qualidade foi confirmada quando foi detectada banda na altura esperada (800 pb) e quando os controles negativos e positivos apresentaram resultados satisfatórios. A **Figura 23** ilustra os resultados esperados.

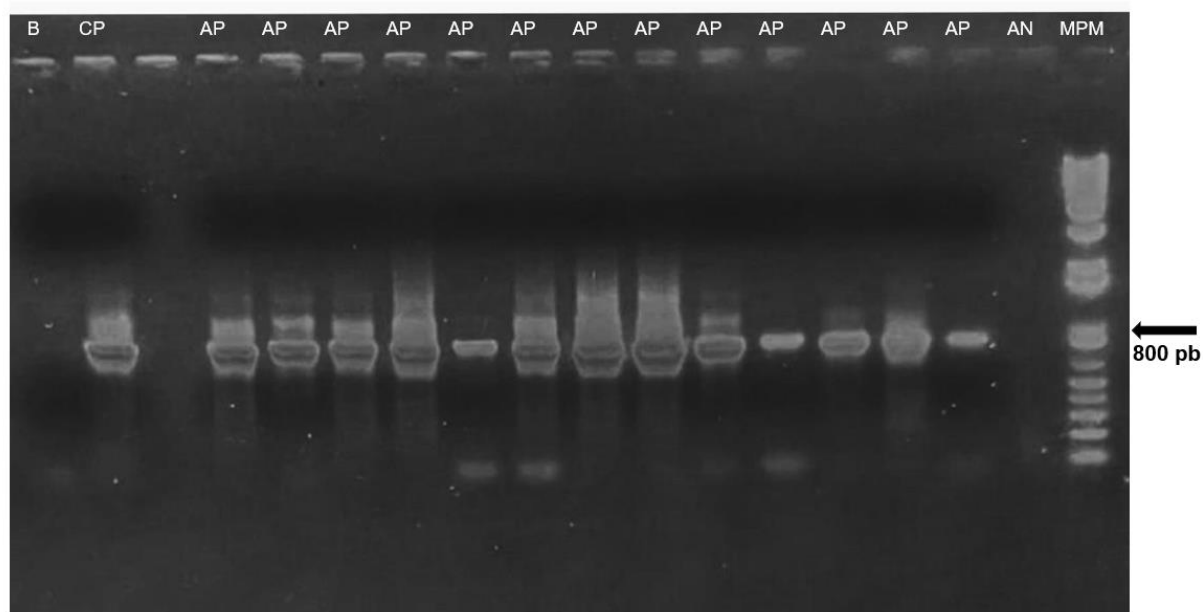


Figura 23. Produtos da amplificação de PCR convencional visualizados em gel de agarose. A banda esperada possui 800 pb. B: Branco; CP: Controle positivo; AP: Amostra positiva; AN: Amostra negativa; MPM: Marcador de peso molecular.

5. Reação em cadeia da polimerase para *Trypanosoma cruzi*

Das 232 amostras, 223 foram testadas para *T. cruzi*. Destas, 47 foram positivas (20,80%) e 178 foram negativas (79,20%). A **Tabela 3** indica o número de animais positivos e negativos em função do ano em que eles foram encontrados mortos.

Tabela 3. Quantidade de micos positivos e negativos para *Trypanosoma cruzi* entre 2018 e 2023.

Infectado			
Ano	Não	Sim	Total
2018	61	15	76
2019	34	13	47
2020	24	05	29
2021	28	04	32
2022	12	04	16
2023	17	06	23
Total	176	47	223

A análise da curva de dissociação confirmou a amplificação específica do nDNA de *T. cruzi* em todas as amostras consideradas positivas. A **Figura 24** ilustra as curvas de dissociação de uma amostra de *T. cruzi* (em vermelho), do controle positivo (em rosa), três amostras experimentais positivas (em tons de azul) e três negativas (em tons de verde) além dos controles negativos (em laranja).

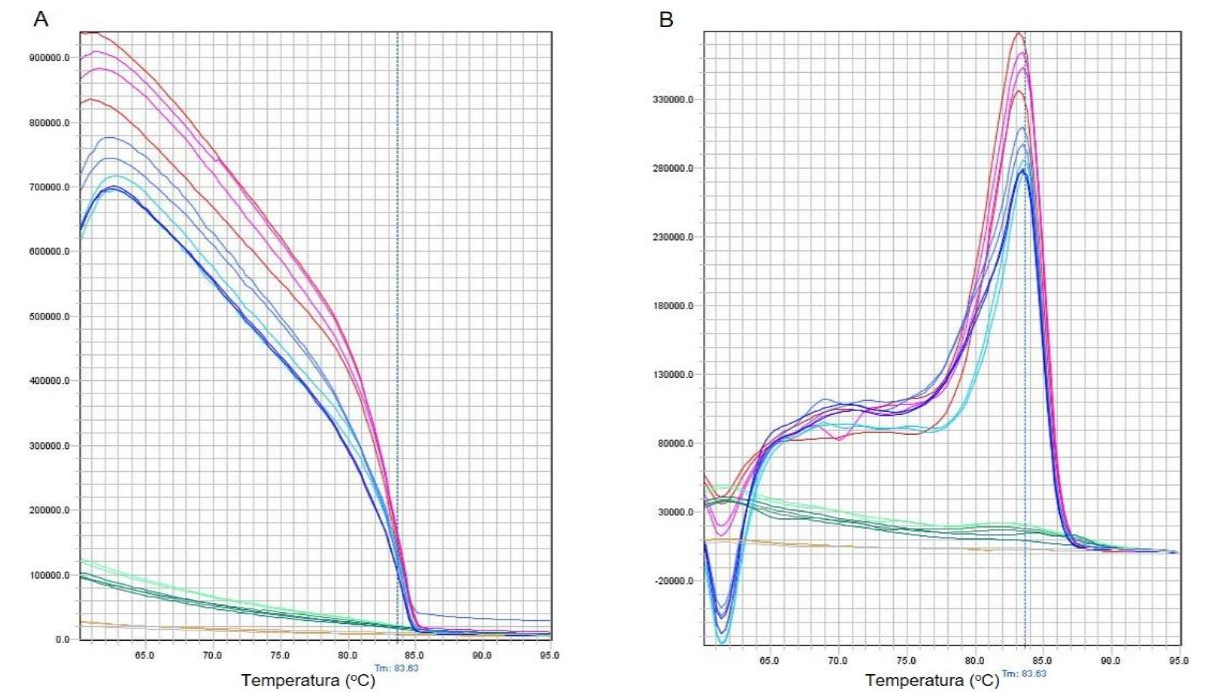


Figura 24. Padrão da curva de dissociação obtida na qPCR para quantificação de *Trypanosoma cruzi*. A: Curvas de dissociação normalizadas. B: Curvas de dissociação derivadas. As amostras estão em duplicata. Em vermelho: amostra de *T. cruzi*. Em rosa: controle positivo. Em diferentes tons de azul: amostras de *C. penicillata* positivas. Em diferentes tons de verde: amostras de *C. penicillata* negativas. Em tons de laranja: controles negativos.

A carga parasitária apresentou uma variação de 0,09 a 2572,18 par. eq./100 ng DNA. Os valores mínimos e máximos foram de amostras recebidas no ano de 2018. A **Tabela 4** apresenta o resumo dos valores de carga parasitária encontrados.

Tabela 4. Dados da carga parasitária das amostras positivas para *Trypanosoma cruzi*.

Ano	n	Mínimo*	Máximo*	Média e desvio-padrão*
2018	15	0,09	2572,18	244,63 ±654,17 ^a
2019	13	0,25	8,70	3,08 ±3,17 ^b
2020	05	0,13	23,31	5,00 ±10,24 ^{b,c}
2021	04	0,45	0,78	0,63 ±0,14 ^b
2022	04	1,51	21,97	7,29 ±9,81 ^{a,c}
2023	06	0,43	4,03	1,94 ±1,38 ^b

*par. eq./100 ng DNA.

Na mesma coluna, letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$ ou menos).

As amostras positivas para *T. cruzi* ($n = 47$) foram encontradas em diferentes RAs do DF. A maior concentração de micos infectados por *T. cruzi* foi observada no Lago Norte (seis *C. penicillata*, correspondendo a 12,77% das amostras), seguido pelo Lago Sul, com sete casos positivos (14,89%). Planaltina apresentou cinco casos (10,64%). Outras regiões com números relevantes incluíram o Jardim Botânico, com quatro PNHs (8,51%) positivos para *T. cruzi*. Guará, Plano Piloto, Gama, Vicente Pires e Samambaia, com três casos cada (6,38% cada). Park Way registrou dois micos positivos (4,26%), enquanto Taguatinga teve um caso (2,13%). As outras RAs apresentaram entre um a três animais infectados por *T. cruzi* (**Figura 25**).

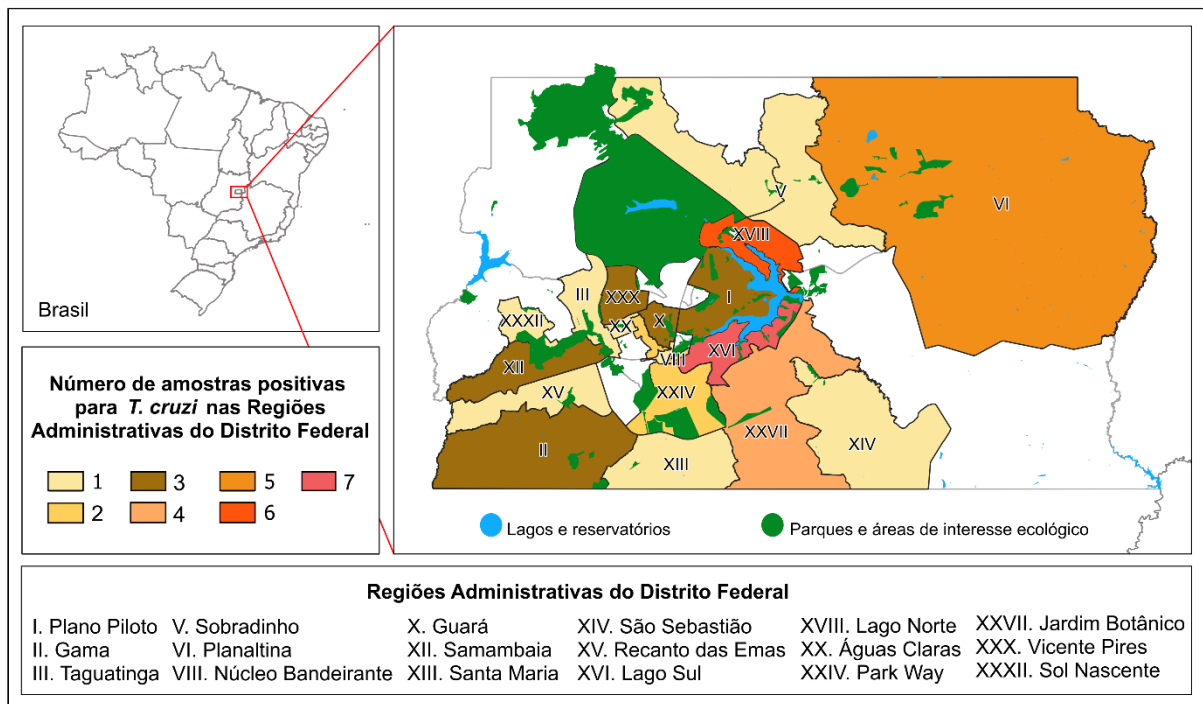


Figura 25. Número de amostras positivas para *Trypanosoma cruzi* nas Regiões Administrativas do Distrito Federal. O mapa apresenta a distribuição das amostras positivas conforme a Região Administrativa (RA) em que foram identificadas. Além disso, destaca regiões com lagos, reservatórios, parques e áreas de interesse ecológico, que são locais onde *C. penicillata* encontra maior facilidade de ambientação. RA XVI. Lago Sul: 7 amostras; RA XVIII. Lago Norte: 6 amostras; RA VI. Planaltina: 5 amostras; RA XXVII. Jardim Botânico: 4 amostras; RA X, I, II, XXX E XII. Guará, Plano Piloto, Gama, Vicente Pires e Samambaia: 3 amostras; RA XXIV. Park Way: 2 amostras; RA III, XX, V, XIV, XIII, XXXII, XV e VIII. Taguatinga, Águas Claras, Sobradinho, São Sebastião, Santa Maria, Sol Nascente, Recanto das Emas e Núcleo Bandeirante: 01 amostra.

6. Reação em cadeia da polimerase para *Leishmania* spp.

Das 232 amostras, 172 foram testadas para *Leishmania* spp. A quantificação absoluta da carga parasitária não pôde ser realizada, pois as curvas de dissociação derivada das amostras experimentais que apresentaram pico na temperatura esperada (84,37°C) apresentaram também um ou mais picos em temperaturas não previstas. Como a técnica utilizada foi o corante SYBR Green que se liga em qualquer fita dupla de DNA formada durante a qPCR, incluindo dímeros de iniciadores e produtos inespecíficos, a quantificação de amostras apresentando dois picos será incorreta, já que a fluorescência detectada não será unicamente resultante da

amplificação do DNA alvo (Hagström et al., 2020). Exceção foi a amostra 53/23, representada em azul escuro na **Figura 26** que apresentou pico único na temperatura estimada na curva de dissociação derivada. A carga parasitária desta amostra foi de 43,08 par. eq./100 ng de DNA genômico. Considerando que os controles positivos (DNA extraído de cultura de parasito *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum* e amostra de cão sabidamente positivo para *Leishmania sp.*) mostraram pico único na curva de dissociação derivada (temperatura de dissociação – Tm - de 84,37°C), acredita-se que os outros picos observados nas amostras experimentais sejam inespecíficos (**Figura 26**). O uso dos controles negativos (amostra sem DNA e amostra sabidamente negativa para *Leishmania sp.*) e positivos ajudaram a validar os resultados.

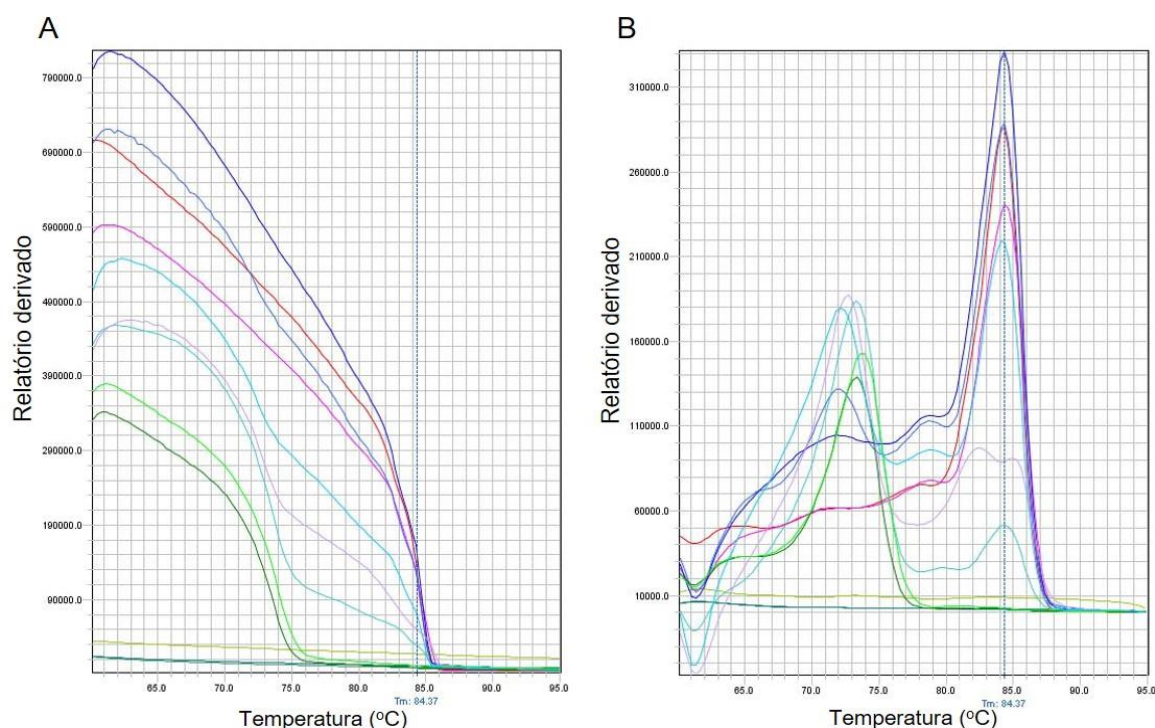


Figura 26. Curvas de dissociação padrão observada nas qPCRs de *Leishmania sp.* **A:** Curvas de dissociação normalizadas. **B:** Curvas de dissociação derivadas. Em vermelho e rosa escuro: controles positivos mostrando a temperatura esperada (84,37°C). Em tons de azuis: amostras positivas. Em tons de verde: controles negativos e amostras negativas. Em lilás: amostra negativa apresentando segundo pico na temperatura esperada. Nos gráficos foi omitido as duplicatas para facilitar a visualização.

Nas qPCRs de *Leishmania sp*, os controles negativos não apresentaram curva de amplificação e nem curva de dissociação, como ilustrado na **Figura 26 A, B**. Um grande número de amostras experimentais apresentou pico único na curva de dissociação derivada, porém em uma temperatura diferente dos controles positivos. Isso indica que essas amostras eram negativas para *Leishmania sp*. Duas dessas amostras negativas estão ilustradas em verde na **Figura 26** (T_m de 73,5°C).

Das 172 amostras de *C. penicillata* testadas, 20 foram positivas (11,63%). A maioria delas possuía dois picos na curva de dissociação derivada, como as amostras em azul claro na **Figura 26**. Essas amostras ilustradas na figura apresentaram um primeiro pico com T_m de 72,17 e 73,35°C, respectivamente, e o segundo com T_m 84,37°C, temperatura prevista. Para verificar se as amostras com pelo menos um pico na temperatura esperada era de fato positivas, o produto da qPCR foi aplicado em gel de agarose e realizada a corrida de eletroforese. As amostras que possuíam banda na altura esperada (aproximadamente 314 pb) foram consideradas positivas (**Figura 27**). Na **Figura 27** podemos observar amostras negativas (por exemplo, 51/23 e 71/23) com banda em altura abaixo do esperado (cerca de 150 pb) e amostras positivas, como 232/18, 341/18 e 364/18 que exibiram duas bandas, sendo uma delas específica (314 pb), e ainda amostras com banda única na altura estimada (por exemplo, 343/18 com banda de 314 pb).

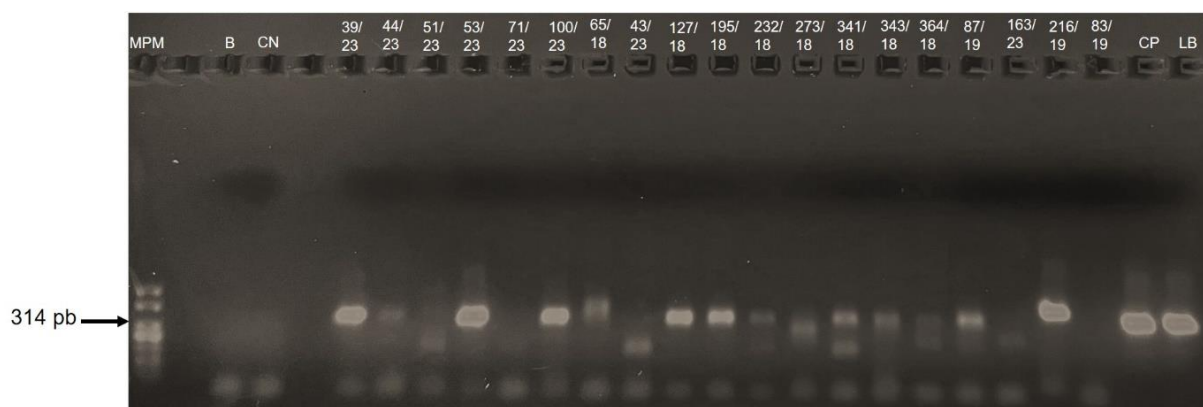


Figura 27. Produtos da amplificação de qPCR com marcador LITS/ITS 5.8S para amplificação do gene de *Leishmania sp*. Gel de agarose corado com brometo de etídio dos produtos de qPCR de diferentes amostras experimentais. A banda esperada possui aproximadamente 314 pb. MPM: marcador de peso molecular, B: branco, CN: controle negativo, CP: controle positivo, LB: DNA de *Leishmania braziliensis*.

7. Reação em cadeia da polimerase para *Toxoplasma gondii*

Foi realizada a detecção e quantificação da carga parasitária de *T. gondii* de 229 unidades amostrais entre os anos de 2018 a 2023. Foi possível identificar positividade para o protozoário *T. gondii* em 91 micos (39,77%) (**Tabela 5**).

Tabela 5. Quantidade de micos positivos e negativos para *Toxoplasma gondii* entre 2018 e 2023.

Infectado			
Ano	Não	Sim	Total
2018	57	19	76
2019	31	21	52
2020	15	11	29
2021	09	26	35
2022	08	08	16
2023	18	06	24
Total	138	91	232

A análise da curva de dissociação das qPCRs confirmou a amplificação específica do DNA alvo nas amostras positivas. A **Figura 29** ilustra as curvas de dissociação do branco (amostra sem DNA), de uma amostra de *C. penicillata* com resultado negativo e outra com resultado positivo, do controle positivo (amostra de mico sabidamente positivo para *T. gondii*) e do controle positivo usado para realização da curva padrão (DNA de *T. gondii* extraído de cultura celular).

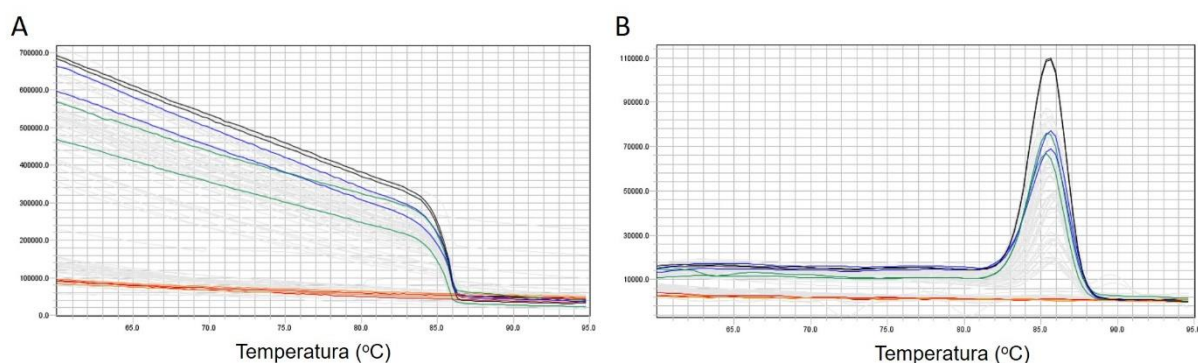


Figura 29. Padrão da curva de dissociação obtida na qPCR para detecção de *Toxoplasma gondii*.

A: Curvas de dissociação normalizadas. B: Curvas de dissociação derivadas. As amostras estão em duplicata. Em preto: amostra de *T. gondii*. Em azul: controle positivo. Em verde: amostras de *C. penicillata* positiva. Em laranja: amostras de *C. penicillata* negativa. Em vermelho: controle negativo.

A **Figura 30** ilustra a curva de amplificação linear. É possível observar o mesmo padrão de amplificação em amostras positivas e no controle positivo.

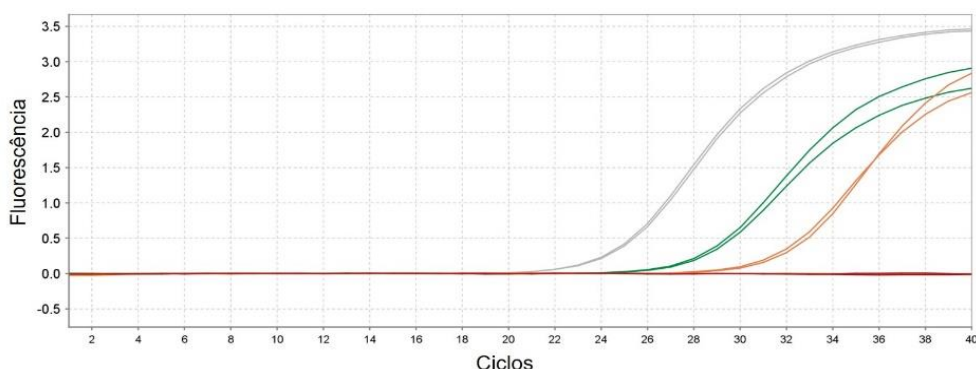


Figura 30. Curvas de amplificação linear típica das qPCRs para detecção de *Toxoplasma gondii*.

Em vermelho: controle negativo. Em marrom claro: amostra de *C. penicillata* negativa para *T. gondii*. Em cinza: DNA de *T. gondii*. Em verde: controle positivo. Em laranja: amostra de *C. penicillata* positiva para *T. gondii*.

Em relação a carga parasitária, ela variou de 43 (ano 2018) a 278.193.315 par. eq./100 ng de DNA (ano 2021). Foram identificados 15 valores discrepantes extremos (valores fora do intervalo $[Q1 - 1,5 \times IQR; Q3 + 1,5 \times IQR]$, onde Q1 é o primeiro quartil, Q3 é o terceiro quartil e IQR é amplitude interquartílica), três em 2018, cinco em 2019, dois em 2020 e cinco em 2021. A **Tabela 6** apresenta o resumo dos valores

de carga parasitária encontrados. Não houve diferença estatística na carga parasitária entre os anos 2018 a 2023, justificado pelo alto desvio-padrão encontrado.

Tabela 6. Dados da carga parasitária das amostras positivas para *Toxoplasma gondii*.

Ano	n	Mínimo*	Máximo*	Média± desvio padrão*
2018	19	0,09	43	514.420,79 ±125854,10
2019	21	364	91.695.031	4.783.642,38 ±19.996.165,25
2020	11	222	84.965	11839,27 ±24706,71
2021	26	308	278.193.315	15.740.570,38± 59.321.468,99
2022	08	324	37.237	10.574,25± 14.555,07
2023	06	905	16.666	8.931,33± 6.118,97

*par. eq./100 ng DNA.

A maior concentração de micos infectados por *T. gondii* foi observada no Lago Norte (12 *C. penicillata*, correspondendo a 12,37% das amostras), seguido pelo Guará e Plano Piloto, com nove casos positivos (9,28% cada). O Lago Sul apresentou oito casos (8,25%). Outras regiões com números relevantes incluíram o Jardim Botânico, com sete PNHs (7,22%) positivos para *T. gondii*, Taguatinga com seis (6,19%) e Paranoá, Planaltina e Park Way registrando cinco micos positivos (5,15% cada). As outras RAs apresentaram entre um a quatro animais infectados por *T. gondii* (**Figura 31**).

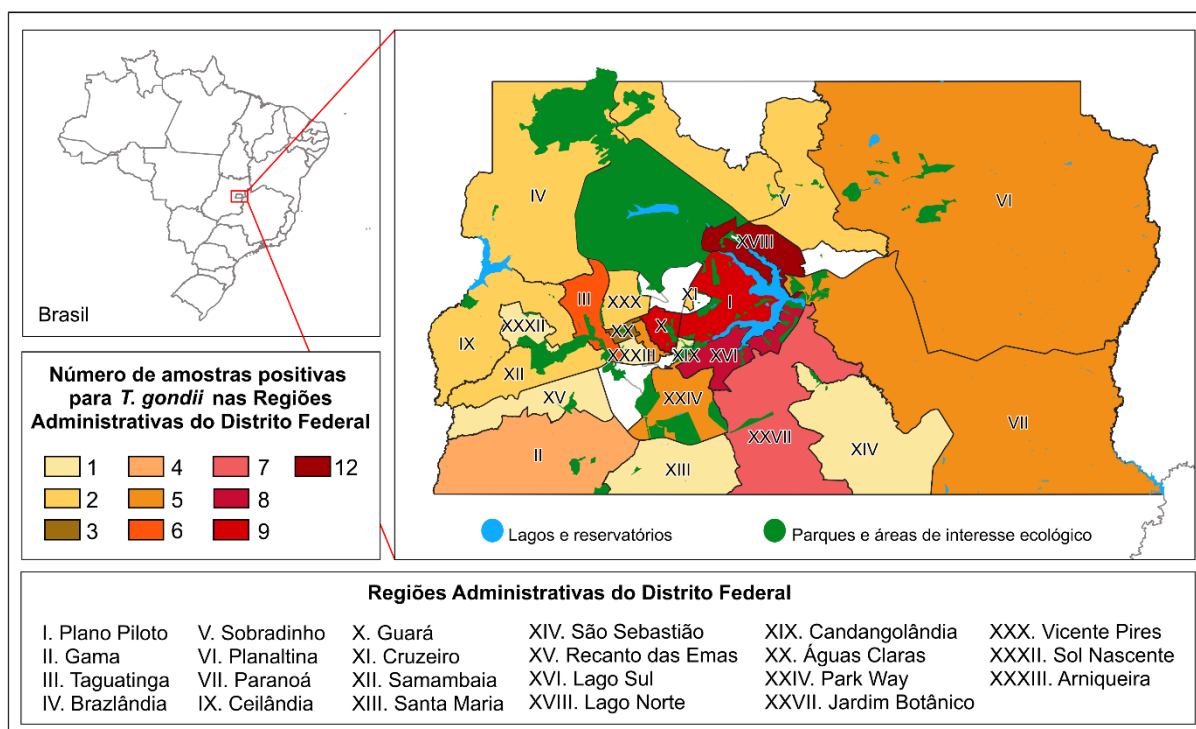


Figura 31. Número de amostras positivas para *Toxoplasma gondii* nas Regiões Administrativas do Distrito Federal. O mapa apresenta a distribuição das amostras positivas conforme a Região Administrativa (RA) em que foram identificadas. Além disso, destaca regiões com lagos, reservatórios, parques e áreas de interesse ecológico, que são locais onde *C. penicillata* encontra maior facilidade de ambientação. RA XVIII. Lago Norte: 12 amostras; RAs X e I. Guará e Plano Piloto: 9 amostras; RA XVI. Lago Sul: 8 amostras; RA XXVII. Jardim Botânico: 7 amostras; RA III. Taguatinga: 6 amostras; RAs VII, VI e XXIV. Paranoá, Planaltina e Park Way: 5 amostras; RA II. Gama: 4 amostras; RA XX. Águas Claras: 3 amostras; RAs IX, IV, V, XXX, XI e XII. Ceilândia, Brazlândia, Sobradinho, Vicente Pires, Cruzeiro e Samambaia: 2 amostras; RAs XXXIII, XIV, XVII, XIII, XIX, XXXII e XV. Arnequeiras, São Sebastião, Santa Maria, Candangolândia, Sol Nascente e Recanto das Emas: 1 amostra.

8. Reação em cadeia da polimerase para *Plasmodium*

Nossa hipótese era que não seriam detectados *C. penicillata* infectados por *Plasmodium sp.* Por essa razão, a curva padrão para quantificação da carga parasitária não foi realizada. Desta forma, a qPCR foi empregada para determinar a presença ou ausência de *Plasmodium sp.* nas 232 amostras. Nenhuma amostra experimental apresentou resultado positivo para este parasito.

A **Figura 32** ilustra as curvas de amplificação (linear e logarítmica), assim como as curvas de dissociação (normalizada e logarítmica) de uma das qPCRs realizadas.

Todas as corridas tiveram o mesmo padrão mostrado na figura. É possível observar a amplificação do DNA de *Plasmodium sp.* extraído de cultura celular (controle positivo, curvas vermelhas) e nenhuma amplificação no branco (amostra sem DNA; curvas cinzas), no controle negativo (amostra de *T. gondii*; curvas cinzas) e nas amostras de *C. penicillata* (curvas coloridas; cada cor representa uma amostra diferente).

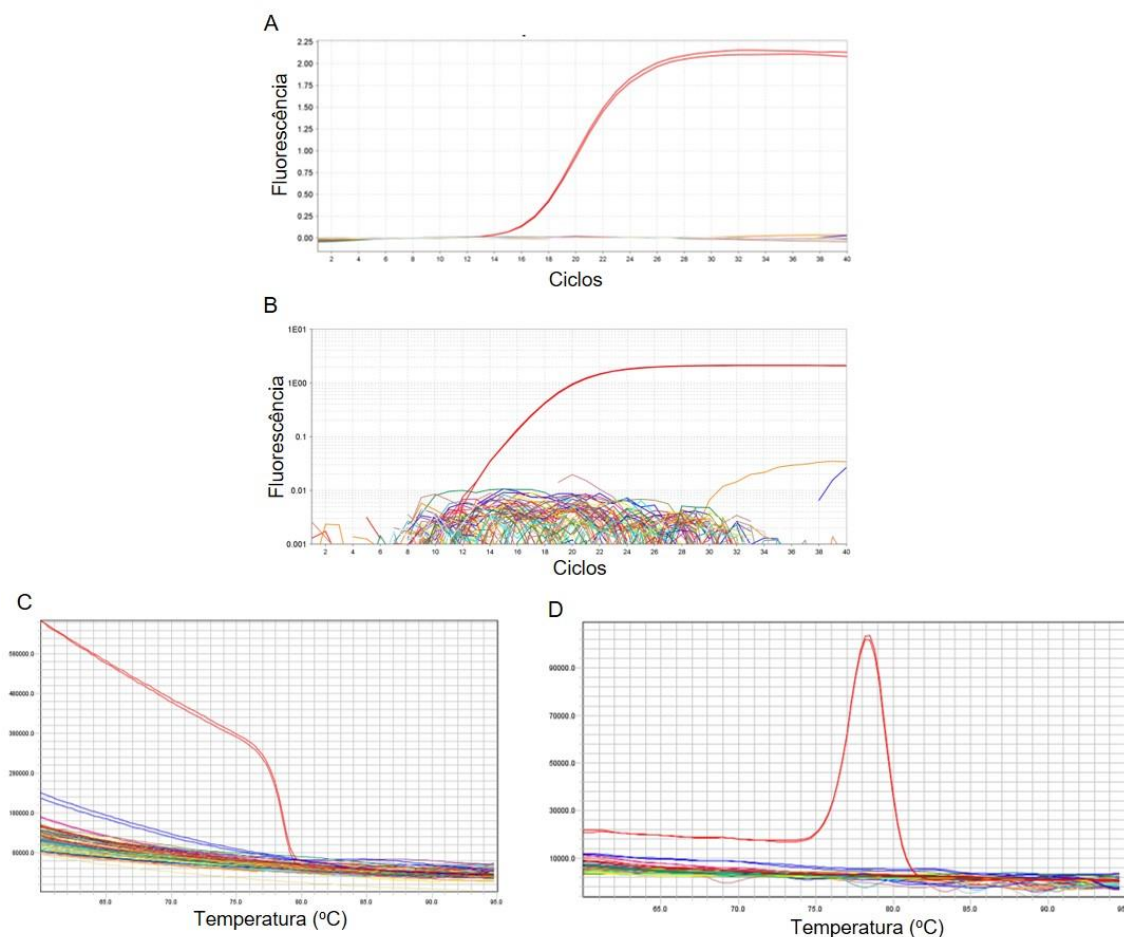


Figura 32. Análise das curvas obtidas na qPCR com os iniciadores que amplificam o DNA de *Plasmodium sp.* A: Curvas de amplificação linear. B: Curvas de amplificação em escala logarítmica. C: Curvas de dissociação normalizadas. D: Curvas de dissociação derivadas. Em vermelho: DNA de *Plasmodium sp.* extraído de cultura celular. Demais cores: amostras experimentais.

9. Análise de *C. penicillata* encontrados em grupos por localidade

Foi observado que 12 primatas foram encontrados em grupos, no mesmo local e ano. Esse padrão foi observado em diferentes RAs do DF. Em Taguatinga, foram registradas duas amostras (16,67%), enquanto no Paranoá houve uma concentração

maior, com três amostras (25,00%). De forma semelhante, o Gama também apresentou três amostras (25,00%). Já em Planaltina e no Jardim Botânico, foram identificadas duas amostras em cada região, representando 16,67% do total para cada localidade (**Tabela 7**).

Tabela 7. Regiões administrativas do Distrito Federal onde foram encontrados grupos de *Callithrix penicillata* no mesmo local e ano.

Ano	ID* da Amostra	Endereço encontrado	RA ^{&}
2019	PNH 79-19	DIVAL- Núcleo Rural Taguatinga, chácara 27, Taguatinga - DF	XXI. Taguatinga
2019	PNH 80-19	DIVAL- Núcleo Rural Taguatinga, chácara 27, Taguatinga - DF	XXI. Taguatinga
2019	PNH 86-19	DIVAL- Fazenda tanani, Br 251, km 01, Paranoá, PAD-DF	XII. Paranoá
2019	PNH 87-19	DIVAL- Fazenda tanani, Br 251, km 01, Paranoá, PAD-DF	XII. Paranoá
2019	PNH 89-19	DIVAL- Fazenda tanani, Br 251, km 01, Paranoá, PAD-DF	XII. Paranoá
2019	PNH 178-19	Hospital Regional do Gama-DF	VII. Gama
2019	PNH 180-19	Hospital Regional do Gama-DF	VII. Gama
2019	PNH 181-19	Hospital Regional do Gama-DF	VII. Gama
2021	PNH 131-21	DF 130 Km 15 NR Rajadinha - Planaltina DF	XIV. Planaltina
2021	PNH 132-21	DF 130 Km 15 NR Rajadinha - Planaltina DF	XIV. Planaltina
2021	PNH 155-21	Condomínio Solar da Serra, Quadra 14, Lote. 35, Jardim Botânico - DF	IX. Jardim Botânico
2021	PNH 156-21	Condomínio Solar da Serra, Quadra 14, Lote. 35, Jardim Botânico - DF	IX. Jardim Botânico

*ID: identidade da amostra. [&]RA: Região administrativa

10. Casos de infecção mista entre protozoários

A avaliação da frequência de infecções mistas por *T. cruzi*, *Leishmania spp.* e *T. gondii* nos PNHs revelou que 9,10% (21/232) das amostras analisadas apresentaram infecção por mais de um protozoário. As infecções mistas mais comuns foram causadas por *T. cruzi* e *T. gondii*, com 12 casos (57,14% dos casos de infecções mistas). A coinfecção por *Leishmania spp.* e *T. gondii* aconteceu em sete saguis

(33,33% das infecções mistas) e por *T. cruzi* e *Leishmania* spp em um caso (4,76%). Um indivíduo *C. penicillata* estava infectado pelos três parasitos.

A maior prevalência de infecções mistas foi encontrada em indivíduos encontrados mortos em 2019 e 2021, ocorrendo seis casos em cada ano; seguido por 2022, com três casos e 2018, 2020 e 2023 com dois casos cada. A **Figura 33** ilustra de forma esquemática os casos de infecção mista.

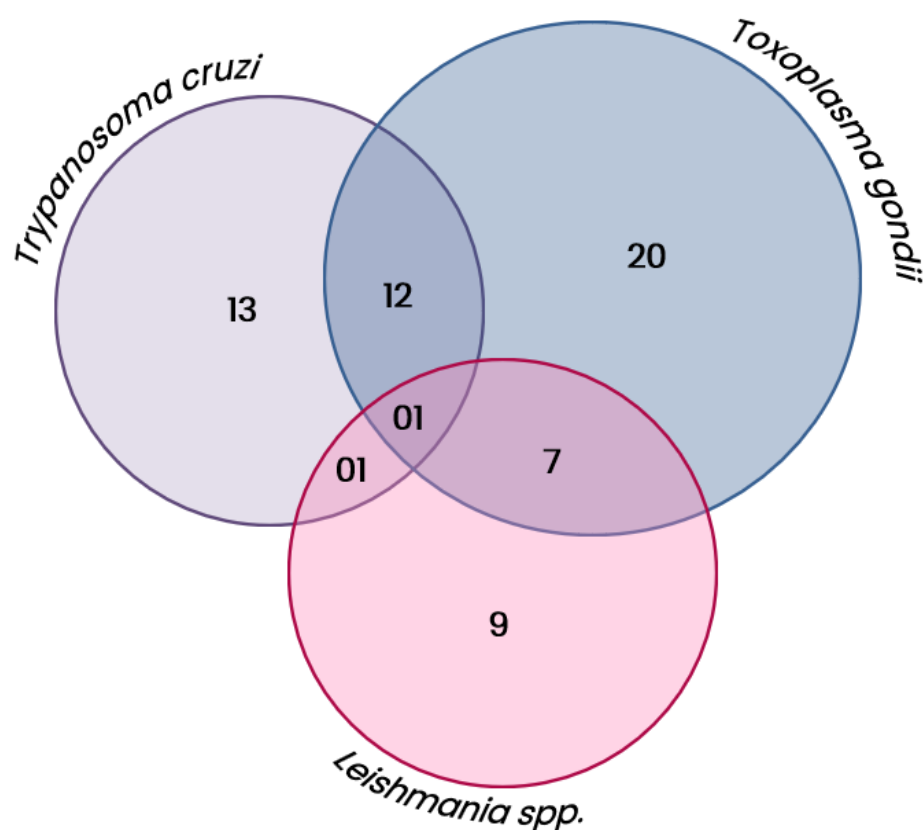


Figura 33. Diagrama das infecções mistas encontradas em *Callithrix penicillata*.

VI. DISCUSSÃO

C. penicillata foi escolhido neste trabalho devido a sua ampla distribuição no DF e, em consequência, sua proximidade com fauna silvestre, animais domésticos e a população local. Isso gera uma série de questionamentos sobre o impacto ecológico desses PNHs em Brasília (DF). De fato, os saguis-de-tufo-preto demonstram uma notável capacidade de adaptação, sendo capazes de residir em ambientes desfavoráveis, como habitats desfragmentados. *C. penicillata* é considerada uma espécie invasora em certas áreas do Brasil impactando a biodiversidade local (Do Vale; Menini Neto; Prezoto, 2020). Alexandrino et al. (2012), por exemplo, descreveram a predação de ninho de *Icterus pyrrhopterus* por *C. penicillata* em Piracicaba (SP). Esta ave é endêmica na região, enquanto o sagui-de-tufo-preto é invasora.

Diversas doenças infecciosas tropicais têm origem e/ou são transmitidas por PNHs. Além disso, animais atuando como reservatórios de patógenos são mais frequentes nas regiões tropicais do que em zonas temperadas (Wolfe; Dunavan; Diamond, 2007). (Gómez; Nunn; Verdú, 2013) usou PNHs como modelo para gerar redes hospedeiro-parasito que permitiram identificar primatas que compartilham parasitos com o homem. Tudo isso destaca a relevância dos PNHs como reservatórios zoonóticos. Desta forma, a ocorrência de infecções naturais em populações de PNHs gera preocupações em relação não só à conservação da biodiversidade, mas aos possíveis impactos na saúde humana (Bicca-Marques; de Freitas, 2010).

Com o intuito de contribuir para o entendimento dessas interações, o presente estudo investigou o potencial de *C. penicillata* de vida livre do DF atuarem como reservatórios de *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, *T. gondii* e *Plasmodium spp.* Nesse contexto, foram analisados saguis-de-tufo-preto encontrados em diferentes RAs do DF. *C. penicillata* é tanto residente quanto nativa dessa região (Bouchardet; Fonseca; Lacher, 1984; Faria, 1986; Miranda; Faria, 2001). Vale destacar que o DF está situado no Planalto Central, uma área caracterizada por uma grande diversidade de paisagens naturais (CODEPLAN, 2017), incluindo parques ecológicos, como o Parque Nacional de Brasília e o Parque Ecológico do Lago Norte, além de corpos hídricos como o Lago Paranoá e margens de córregos urbanos que possuem faixas de vegetação ripária fundamentais para a manutenção da biodiversidade (Miranda; Faria, 2001). Esses

ambientes oferecem condições propícias para a sobrevivência de *C. penicillata* (Bicca-Marques; Freitas; Fialho, 2015). Foi demonstrado que essa espécie explora tanto habitats naturais quanto ambientes urbanos e periurbanos, se beneficiando da disponibilidade de recursos alimentares e da conectividade entre fragmentos de vegetação nativa (Bernardes Dias *et al.*, 2022). No presente estudo houve um maior número animais encontrados nas Ras do Lago Norte, Guará, Lago Sul, Jardim Botânico e Planaltina. Isso pode estar relacionado à presença de pequenos fragmentos florestais dentro dessas áreas urbanas, que proporcionam abrigo para grandes grupos de saguis (Bernardes Dias *et al.*, 2022). A proximidade dessas RAs com áreas arborizadas também contribui para uma população mais abundante de *C. penicillata* em comparação a outras regiões do DF, proporcionando corredores ecológicos e fontes adicionais de alimento e abrigo. Entretanto, essa hipótese não pode ser confirmada, pois a população avaliada neste estudo foi composta por animais encontrados mortos e entregues em pontos de coleta, o que não reflete com precisão a população de micos que habita essas áreas.

Ademais, a expansão urbana desordenada e a fragmentação do Cerrado no DF têm favorecido o estabelecimento de *C. penicillata* em novos nichos ecológicos, incluindo áreas de preservação permanente e remanescentes de matas ciliares, que desempenham um papel crucial para a manutenção de populações silvestres (Alexandrino *et al.*, 2012). Desta forma, a presença desses saguis em diferentes regiões do DF pode ser explicada pela disponibilidade de refúgio e alimento proporcionada por essas paisagens, bem como à influência de fatores antrópicos que impactam a distribuição da espécie (Alexandrino *et al.*, 2012; Vilela; Faria, 2002).

O espaço no qual *C. penicillata* se movimenta regularmente em busca de recursos varia de 0,005 a 0,355 km² (Rylands; Faria, 1993). Com base nessa informação, é possível inferir que a capacidade desses PNHs de se deslocarem de uma RA para outra é bastante limitada. Dessa forma, a restrição espacial observada reforça a ideia de que os PNHs são de fato residentes de cada região, em vez de transitarem livremente entre diferentes áreas do DF. Esse padrão de movimentação evidencia a importância das condições locais em cada RA, como a proximidade de áreas arborizadas e a disponibilidade de recursos, para a permanência desses primatas em habitats específicos.

Foi utilizado a biologia molecular para a detecção dos parasitos de interesse médico nos *C. penicillata*. O uso da PCR vem sendo utilizada no diagnóstico de várias doenças. Essa técnica permite a detecção e quantificação de parasitos mesmo em casos em que a carga parasitária é baixa, além de apresentar alta sensibilidade e poder ser feita com diversos tipos de tecidos (Hagström *et al.*, 2019). A amostra biológica usada foi o fígado, pois ele possibilita a detecção dos quatro alvos deste estudo (*T. cruzi*, *Leishmania sp.*, *T. gondii* e *Plasmodium sp.*).

Com o crescimento populacional, a urbanização e o desmatamento, a proximidade do homem com animais silvestres aumentou. Isso traz problemas tanto para os seres humanos, tornando as zoonoses mais frequentes, quanto para os animais domésticos e silvestres, podendo impactar a biodiversidade. A Uma Só Saúde é uma abordagem interdisciplinar e intersetorial que se preocupa com a saúde e bem-estar do homem, animais e ecossistemas de maneira interligada. Essa abordagem visa, entre outras coisas, prevenir ameaças à saúde pública e ambiental, evitando, por exemplo, surtos e epidemias de zoonoses (Jenkins, Clinton N. *et al.*, 2015). Investigar a infecção por protozoários de interesse médico em *C. penicillata* faz parte das ações da Uma Só Saúde, possibilitando a prevenção de doenças transmissíveis, mitigando o impacto ambiental e estimulando a gestão de recursos naturais e financeiros relacionadas à saúde. Ademais, a Uma Só Saúde enfatiza a necessidade de vigilância parasitária em animais silvestres de vida livre (Thompson, 2013).

Na família Trypanosomatidae, é possível citar dois gêneros de parasitos que podem causar doenças graves no homem, animais domésticos e também em PNHs: *Trypanosoma* (Coimbra *et al.*, 2020; Ziccardi *et al.*, 2000) e *Leishmania* (Carneiro *et al.*, 2012; Paiz *et al.*, 2019). No gênero *Trypanosoma*, destaca-se *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da doença de Chagas (WHO, 2024). Em 1909, Carlos Chagas encontrou uma espécie de *Trypanosoma* no sangue de *C. penicillata* (Chagas, 1909) e desde então, os PNHs neotropicais de vida livre ou de cativeiro são encontrados naturalmente infectados por *T. cruzi* (Coimbra *et al.*, 2020; Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Ziccardi *et al.*, 2000). Embora a infecção em PNH geralmente seja subclínica, manifestações clínicas e doença grave já foram relatados em PNHs (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Sathler-Avelar *et al.*, 2018).

Foram encontrados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Brasil), localizado em área de alta densidade populacional, sete saguis de vida livre do gênero *Callithrix*

infectados por *Trypanosoma sp.* (33% da amostra) (Coimbra *et al.*, 2020). Em nosso estudo, 20,80% (47/223) *C. penicillata* tiveram resultado positivo na qPCR para *T. cruzi*. Reservatórios silvestres de *T. cruzi* foram documentados pela primeira vez no DF em 2004 (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2004).

Mais tarde, a infecção por este parasito também foi detectada por qPCR em 65,38% (17/26) PNHS de cativeiro de oito espécies diferentes no Zoológico de Brasília, sendo três deles *C. penicillata*. Foi observado transmissão vetorial do *T. cruzi*, pois foram encontrados tanto triatomíneos infectados, quanto PNHS positivos nascidos de mães negativas no zoológico. Um *C. geoffroyi* se infectou por *T. cruzi* durante o período do estudo (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016). Os autores sugerem que os vetores e os parasitos sejam originários de mata de galeria próxima ao zoológico. Vale ressaltar que embora esses PNHS sejam de cativeiro, eles representam risco para outros animais do zoológico e também para a população humana, em particular os tratadores e veterinários (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016). Posteriormente, outro estudo realizado no mesmo local, detectou mamíferos infectados por *T. cruzi*, dentre eles, 60,7% eram PNHS. De 11 primatas da família Callitrichidae testados, oito estavam infectados. Além disso, foram encontrados cinco triatomíneos infectados por *T. cruzi*, sugerindo mais uma vez, transmissão vetorial no local (Reis *et al.*, 2020). Em conjunto, todos esses resultados evidenciam a circulação ativa do *T. cruzi* na área urbana e periurbana do DF.

A transmissão silvestre do *T. cruzi* foi demonstrada em um estudo na Colômbia, no qual foram encontrados triatomíneos extradomiciliares da espécie *Rhodnius prolixus* infectados, assim como mamíferos sinantrópicos, cães domésticos e humanos envolvidos no ciclo de transmissão (Cantillo-Barraza *et al.*, 2022). Esse trabalho destaca a existência da transmissão vetorial não domiciliar de *T. cruzi*, reforçando a necessidade de monitoramento e vigilância epidemiológica, visto que animais silvestres que vivem próximos do ambiente urbano podem se infectar e atuar como reservatórios do parasito na natureza.

Já o gênero *Leishmania* possui 54 espécies, sendo que cerca de 21 delas são patogênicas para o homem. As leishmanioses podem ser zoonoses, antroponoses ou antropozoonoses. Elas afetam mamíferos e as manifestações clínicas e o grau de patogenicidade variam bastante (para revisão, Akhoundi *et al.*, 2016). O estudo de PNHS infectados por *Leishmania spp.* é fundamental para a compreensão da ecologia

e epidemiologia das leishmanioses, especialmente em áreas onde habitats naturais e urbanos se sobrepõem.

Roque e Jansen (2014) fazem uma importante revisão sobre hospedeiros/reservatórios mamíferos não humanos responsáveis pela manutenção de diferentes espécies de *Leishmania* na natureza, incluindo os PNHs. De fato, alguns estudos têm investigado a presença de *Leishmania sp.* em mamíferos silvestres (Cardoso *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2019; Paiz *et al.*, 2019; Venial *et al.*, 2022b). No DF, falta conhecimento sobre a possibilidade de animais sinantrópicos, em especial PNHs, atuarem como reservatório de *Leishmania sp.*

Em terra indígena do estado do Amapá, foi registrado a infecção por *L. infantum* em dois roedores silvestres, um deles proveniente de caça para subsistência da população local e outro coletado no peridomicílio (Moreno *et al.*, 2020). Em uma área de proteção ambiental do sudeste do Brasil, a infecção por *L. infantum* foi demonstrada em sete saguis do gênero *Callithrix*, sendo cinco deles indivíduos da espécie *C. penicillata* (Paiz *et al.*, 2019). Em nosso estudo, foram encontrados 11,63% (20/172) *C. penicillata* infectados por *Leishmania sp.*

Assim como utilizamos PNHs de vida livre encontrados mortos, (Venial *et al.*, 2022) investigaram a infecção por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em 12 espécies de animais silvestres de uma reserva biológica no Espírito Santo mortos por atropelamento ou de maneira natural. Resultado semelhante ao nosso foi observado, a saber, 8,5% dos animais avaliados foram positivos, sendo três *Callithrix geoffroyi*.

No DF, um trabalho anterior realizado no Zoológico de Brasília demonstrou que 23 mamíferos de 15 espécies estavam infectados por *Leishmania sp.* (taxa de infecção de 31,1%), sendo um deles um PNH da família *Callithrichidae* (Reis *et al.*, 2020b). Em animais silvestres em área endêmica para LV no estado da Bahia, de cinco *Callithrix sp.*, dois estavam infectados por *Leishmania sp.* (Trüeb *et al.*, 2018).

A detecção do DNA de *Leishmania* por meio PCR, devido à sua alta sensibilidade e especificidade, tem sido bastante utilizada. Essa metodologia pode ser aplicada a diferentes tipos de tecido, como baço, fígado, pele e sangue, sem a necessidade de isolamento exaustivo do parasito, sendo amplamente usada para detectar infecções em animais silvestres provenientes de áreas endêmicas. Isso permite a identificação de potenciais reservatórios (Brandão-Filho *et al.*, 2003; Lima *et*

al., 2012; Malta *et al.*, 2010; Venial *et al.*, 2022a). No presente estudo dificuldades metodológicas na qPCR foram encontradas.

A quantificação absoluta de carga parasitária por qPCR com a técnica de *SYBR Green* é confirmada a partir da análise da curva de dissociação (*melt curve*) que permite verificar a especificidade do produto amplificado. Tradicionalmente a curva de dissociação deve apresentar um único pico na temperatura prevista. A presença de dois ou mais picos sugere a presença de produtos distintos, um específico, se este estiver na temperatura esperada e os outros inespecíficos, resultados de amplificação não desejada. Como o *SYBR Green* é um intercalante de DNA, ele irá se ligar a qualquer dupla fita, gerando uma fluorescência proporcional (Arya *et al.*, 2005; Navarro *et al.*, 2015). Desta forma, em casos de mais de um pico na curva de dissociação a quantificação dada estará superestimada. Diante disso, só foi possível realizar a detecção da *Leishmania spp.* e não a quantificação da carga parasitária no fígado dos animais. Foi realizada eletroforese dos produtos amplificados pela qPCR para confirmar os resultados. Os produtos serão encaminhados para sequenciamento, possibilitando uma segunda confirmação da positividade e a identificação das espécies de *Leishmania* circulantes no DF.

Apicomplexa é um grupo taxonômico de protozoários que inclui *Plasmodium sp.* e *Toxoplasma gondii*. Este último é encontrado nas fezes de gatos e outros felinos, que são os hospedeiros definitivos da doença, podendo afetar também pássaros, humanos e outros mamíferos, como os PNHs, que são os hospedeiros intermediários (para revisão, Aguirre *et al.*, 2019).

Um estudo realizado no estado de Santa Catarina com 86 PNHs neotropicais encontrados mortos mostrou que 25,6% dos casos com resultados conclusivos nos exames anatomopatológicos (22/86) apresentavam doenças infecciosas ou parasitárias. A mais prevalente foi a toxoplasmose, detectada em 11,6% dos casos (7/60). De 17 indivíduos da espécie *C. penicillata* avaliados, um deles apresentava infecção por *T. gondii* (Casagrande *et al.*, 2013).

Já em um fragmento florestal do Cerrado brasileiro no estado de São Paulo, 16,6% (8/48) de *Callithrix penicillata* investigados foram positivos para *T. gondii* (Molina *et al.*, 2014). No DF, a taxa de infecção por *T. gondii* em *C. penicillata* foi bem maior, correspondendo a 39,77% (91/229). Vale ressaltar que através da necrópsia dos animais foi concluído que a *causa mortis* não foi a toxoplasmose, pois não foi

observado lesões no fígado características da doença (dados não mostrados). Entretanto, a falta de alterações hepáticas significativas pode ser devido ao alto número de *C. penicillata* que apresentou autólise difusa acentuada. Esta é um processo de degradação celular e tecidual que acontece naturalmente como parte da decomposição e pode dificultar a interpretação dos achados histopatológicos.

A toxoplasmose é uma doença potencialmente grave em PNHs (Casagrande *et al.*, 2013) e *Callithrix sp.* são extremamente susceptíveis ao *T. gondii*, podendo morrer rapidamente após a infecção inicial (Casagrande *et al.*, 2013). Segundo Marian *et al.*, 2024 relataram um surto de toxoplasmose que afetou cinco *C. penicillata*, resultando em 100% de letalidade. O contato dos saguis-de-tufo-preto com *T. gondii* pode ser decorrência das interações com fezes de felinos (Molina *et al.*, 2014). Como *C. penicillata* no DF vive em ambientes fragmentados periurbanos e urbanos, o contato com gatos domésticos e selvagens pode acontecer facilmente, justificando nossos achados.

A investigação da presença de *T. gondii* em PNHs é crucial para ampliar o entendimento sobre a ecologia e a transmissão desse protozoário. Fatores como a grande diversidade de felídeos silvestres no país, aliada à alta soropositividade desses animais para *T. gondii*, podem contribuir para a infecção de PNHs e outros hospedeiros intermediários, tanto na natureza quanto em centros de conservação e zoológicos (Marian *et al.*, 2024; Robert-Gangneux; Dardé, 2012). Diversas pesquisas demonstraram a prevalência de *T. gondii* em animais selvagens não cativos em todo o mundo. Isso confirma a possibilidade de zoonoses humanas transmitidas por animais selvagens, representando risco tanto para a saúde animal quanto para a população humana que pode estar em contato esses animais e, dentro do contexto deste trabalho, com PNHs.

Ademais, vale ressaltar que apesar das evidências de que *T. gondii* infecta diversas espécies de mamíferos de vida livre, foi sugerido que a prevalência deste parasito é maior em ambientes fragmentados quando comparado a habitats naturais (Pérez-Grisales *et al.*, 2021). Isso justifica a alta porcentagem de animais infectados em nosso estudo.

Protozoários do gênero *Plasmodium* infectam PNHs de regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo. O conhecimento a respeito das espécies que infectam esses animais pode fornecer informações importantes para a malária

humana e para o risco zoonótico potencial dos PNHs. De fato, este parasito pode ultrapassar as barreiras entre as espécies e infectar o homem. *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*, duas das principais espécies responsáveis pela malária humana, tiveram origem a partir da transmissão entre uma espécie de *Plasmodium* de PNH para o homem (para revisão, Faust; Dobson, 2015).

Embora o risco de infecção zoonótica da malária seja um problema de saúde pública e preocupação para o conceito Uma Só Saúde, esse tema permanece pouco estudado. Por essa razão, foi verificado se a população de micos deste estudo estava infectada por *Plasmodium spp.* Contrariamente a Rondón et al., 2019 que detectaram três espécies diferentes de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax/simium* e *P. malariae/brasilianum*) em várias espécies de PNHs de florestas fragmentadas da Colômbia, não houve amplificação de DNA deste parasito em nenhum animal do presente estudo, o que sugere que este protozoário não circula no DF.

Em 2015 foi reportado pela primeira vez 12 indivíduos infectados por *P. brasilianum* na região do Alto Orinoco na Venezuela, perto da fronteira com o Brasil. Essa espécie é encontrada em PNHs do Novo Mundo e se assemelha geneticamente ao *P. malariae* humano (Lalremruata et al., 2015). No Brasil, estudos têm encontrado diferentes espécies de PNHs infectadas por *Plasmodium spp.* no Brasil. (Abreu et al., 2019), por exemplo, encontram *Alouatta clamitans* da região Sudeste infectados por *P. simium* e *P. brasilianum/malariae*. Entretanto, todos os PNHs testados foram negativos para *P. falciparum*. Esses resultados sugerem que essa espécie de PNH atue como reservatório de *Plasmodium spp.* no Sudeste do Brasil. Isso reforça, mais uma vez, o potencial zoonótico da malária.

Nossos resultados trouxeram casos de coinfecção por protozoários em *C. penicillata*, um achado que corrobora a compreensão de que PNHs frequentemente abrigam diversos patógenos simultaneamente. Esses achados ressaltam a necessidade de investigar as interações entre diferentes parasitas em PNHs, considerando tanto os impactos na saúde das populações selvagens e sinantrópicas quanto os potenciais riscos de zoonoses. Esse cenário torna-se ainda mais preocupante em ambientes fragmentados, como os do DF, onde a proximidade entre populações de PNHs e atividades humanas pode intensificar a transmissão de patógenos. Esse contato favorece a ocorrência de infecções mistas, ampliando a diversidade das comunidades parasitárias nesses hospedeiros.

VII. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa são de extrema relevância dentro da abordagem Uma Só Saúde e trazem achados únicos no DF sobre a prevalência de *T. cruzi*, *Leishmania sp.*, *T. gondii* e *Plasmodium sp.* em PNHs de vida livre que habitam áreas urbanas e periurbanas da região. As descobertas contribuem para o entendimento das infecções parasitárias em *C. penicillata* no DF, abordando aspectos como prevalência, distribuição geográfica e carga parasitária. Os achados geraram dados relevantes para a compreensão da saúde desses PNHs e suas implicações na dinâmica ecológica local.

Constatou-se a ampla distribuição geográfica de *C. penicillata* em quase todas as regiões administrativas do DF, o que indica uma população considerável de hospedeiros potenciais interagindo com ambientes urbanos e periurbanos. Esse dado é crucial para entender o risco de transmissão zoonótica, especialmente devido à presença de protozoários de interesse médico na fauna local.

A quantificação dos parasitos *T. cruzi* e *T. gondii* permitiu identificar a intensidade das infecções, gerando questionamentos sobre a importância da carga parasitária para a saúde dos *C. penicillata*, mas também para eventual transmissão para outros animais de vida livre, animais domésticos e para a população humana. A positividade de *C. penicillata* para *T. cruzi* e *T. gondii* sugere que no DF pode haver alta taxa de infecção por estes parasitos em animais silvestres.

A presença de saguis-de-tufo-preto infectados por *Leishmania sp.* exige o sequenciamento para definição das espécies e investigação dos perigos para a fauna local e para o homem. A ausência de casos positivos para *Plasmodium spp.* sugere a não circulação desse parasita nas regiões estudadas.

Os dados de *C. penicillata* do DF naturalmente infectados demonstram que esses PNHs podem estar envolvidos na manutenção de *T. cruzi*, *Leishmania* e *T. gondii* na natureza. A alta prevalência de infecções mistas encontradas representa um perigo para a saúde dos PNHs avaliados e para o ecossistema local. Os resultados reforçaram o papel de *C. penicillata* como hospedeiros e vetores de protozoários de interesse médico, podendo trazer sérios riscos à saúde, especialmente para grupos vulneráveis, como crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos. Destacamos, então, a relevância de estudos mais aprofundados sobre as interações parasitárias.

Investigar essas coinfeções pode fornecer informações valiosas sobre a dinâmica dos patógenos em ambientes urbanos e semiurbanos.

Os mapas de georreferenciamento confirmaram a distribuição geográfica das infecções no DF, evidenciando áreas de risco e potenciais pontos de transmissão. Este resultado reforça a importância de um monitoramento epidemiológico contínuo para mitigar riscos zoonóticos e preservar a saúde da fauna local.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F. V. S. *et al.* Howler monkeys are the reservoir of malarial parasites causing zoonotic infections in the Atlantic forest of Rio de Janeiro. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 13, n. 12, 2019.

ADISASMITO, W. B. *et al.* One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. e1010537, 2022. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1010537>.

AFONSO, E. *et al.* Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 38, n. 8–9, p. 1017–1023, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751908000234>.

AGUIRRE, A. A. *et al.* The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. **EcoHealth**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 378–390, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10393-019-01405-7>.

AKHOUNDI, M. *et al.* A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. e0004349, 2016. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004349>.

ALEXANDRINO, E. R. *et al.* Nest stolen: the first observation of nest predation by an invasive exotic marmoset (*Callithrix penicillata*) in an agricultural mosaic. **Biota Neotropica**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 211–215, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-06032012000200021&lng=en&tlng=en.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J. *et al.* Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 853–882, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702003000300004&lng=pt&tlng=pt.

ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. e35671, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035671>.

AMARAL, V. F. *et al.* *Leishmania (Leishmania) major*-infected Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*) Develop Varying Levels of Resistance against Homologous Re-infections. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 96, n. 6, 2001.

AMENDOEIRA, M.; CAMILLO-COURA, L. Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação - A brief review on toxoplasmosis in pregnancy. **Scientia Medica (Porto Alegre)**, [s. l.], v. 20, n. 1, 2010.

ANGEL, S. O.; VANAGAS, L.; ALONSO, A. M. Mechanisms of adaptation and evolution in *Toxoplasma gondii*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, [s. l.], v. 258, p. 111615, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166685124000082>.

ANSONG, D.; SEYDEL, K. B.; TAYLOR, T. E. Malaria. *In*: RYAN, Edward *et al.* (org.). **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases**. 10. ed. [S. l.]: Elsevier, 2020. p. 734–754. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323555128002222>.

ANTONY, H. A.; PARIJA, S. C. Antimalarial drug resistance: An overview. **Tropical Parasitology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 30, 2016. Disponível em: <http://www.tropicalparasitology.org/text.asp?2016/6/1/30/175081>.

ARRUDA, M. *et al.* Sero-Epidemiological Studies of Malaria in Indian Tribes and Monkeys of the Amazon Basin of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 379–385, 1989. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/41/4/article-p379.xml>.

ARYA, M. *et al.* Basic principles of real-time quantitative PCR. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 209–219, 2005. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14737159.5.2.209>.

ATTIAS, M.; VOMMARO, R. C.; SOUZA, W. A Organização Estrutural de *Toxoplasma gondii*. In: SOUZA, Wanderley de; BELFORT JR., Rubens (org.). **Toxoplasmose & Toxoplasma gondii**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. p. 11–23.

BAHIA, M. *et al.* *Trypanosoma cruzi* infection in captive Neotropical primates in the Brazilian Amazon. **American Journal of Primatology**, [s. l.], v. 79, n. 2, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajp.22590>.

BAHRAMI, F.; HARANDI, A. M.; RAFATI, S. Biomarkers of Cutaneous Leishmaniasis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 8, n. JUN, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2018.00222/full>.

BALASUNDARAM, M. B. Outbreak of Acquired Ocular Toxoplasmosis Involving 248 Patients. **Archives of Ophthalmology**, [s. l.], v. 128, n. 1, p. 28, 2010. Disponível em: <http://archophth.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archophthalmol.2009.354>.

BARBOSA, M. G. V. *et al.* Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em um foco de leishmaniose tegumentar americana na área periurbana de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 485–491, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822008000500010&lng=pt&tlng=pt.

BARROS, R. A. M. *et al.* Toxoplasmosis in Human and Animals Around the World. Diagnosis and Perspectives in the One Health Approach. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 231, p. 106432, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X22001309>.

BARROSO, F. R. T.; BRANQUINHO, M. R.; CARDARELLI-LEITE, P. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate**, [s. l.], v. 2, n. 4, 2014. Disponível em: <https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/358>.

BEIGNON, Anne-Sophie; LE GRAND, Roger; CHAPON, Catherine. In vivo imaging in NHP models of malaria: Challenges, progress and outlooks. **Parasitology International**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 206–215, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383576913001323>.

BENNINK, Sandra; KIESOW, Meike J.; PRADEL, Gabriele. The development of malaria parasites in the mosquito midgut. **Cellular Microbiology**, [s. l.], v. 18, n. 7, p. 905–918, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12604>.

BERN, Caryn. Chagas' Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 373, n. 5, p. 456–466, 2015. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1410150>.

BERNARDES DIAS, Ana Claudia *et al.* Distribution, activity patterns and diet of *Callithrix penicillata* (Primates: Callithrichidae) in an urban area in central Brazil. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. e14811830717, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/30717>.

BERTHE, FCJ *et al.* One Health: Operational framework for strengthening human, animal and environmental public health systems at their interface. **World Bank Group**, Washington, D.C, 2018.

BICCA-MARQUES, C *et al.* ***Callithrix penicillata***. [S. l.: s. n.], 2015. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/41519/17935797>.

BICCA-MARQUES, Júlio César; DE FREITAS, David Santos. The Role of Monkeys, Mosquitoes, and Humans in the Occurrence of a Yellow Fever Outbreak in a Fragmented Landscape in South Brazil: Protecting Howler Monkeys is a Matter of Public Health. **Tropical Conservation Science**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 78–89, 2010. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/194008291000300107>.

BICCA-MARQUES, J; FREITAS, D. S.; FIALHO, M. A primatologia no Brasil: panorama atual e perspectivas futuras. *In*: A PRIMATOLOGIA NO BRASIL . [S. l.]: Sociedade Brasileira de Primatologia, 2015. v. 10, p. 3–28.

BICCA-MARQUES, J. C; SILVA, V. M; GOMES, D. F. Ordem Primates. *In*: REIS, N. R *et al.* (org.). **Mamíferos do Brasil**. 2. ed. Londrina: Gráfica Oficial do Estado do Paraná e Sociedade Brasileira de Zoologia, 2011. p. 107–132. Disponível em: https://www.academia.edu/70163413/Mam%C3%ADferos_do_Brasil.

BOMMINENI, Yugendar R. *et al.* Fatal acute Chagas disease in a chimpanzee. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 247–251, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0684.2009.00348.x>.

BONECINI-ALMEIDA, M. G. *et al.* Experimental Chagas' disease in rhesus monkeys. I. Clinical, parasitological, hematological and anatomo-pathological studies in the acute and indeterminate phase of the disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 85, n. 2, 1990.

BORJA, Lairton Souza *et al.* **Correction: High accuracy of an elisa test based in a flagella antigen of Leishmania in serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis with potential to improve the control measures in Brazil—A phase II study (PLoS Negl Trop Dis, (2018) 12, 10, 10.1371/journal.pntd.0006871).** [S. l.: s. n.], 2020.

BOUCHARDET DA FONSECA, Gustavo A.; LACHER, Thomas E. Exudate-feeding by *Callithrix jacchus penicillata* in semideciduous woodland (Cerradão) in central Brazil. **Primates**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 441–449, 1984. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF02381667>.

BOUCHARDET, Gustavo A; FONSECA, D A; LACHER, Thomas E. **Exudate-feeding by Callithrixjacchus penicillata in Semideciduous Woodland (Cerrad~o) in Central BrazilPRIMATES**. [S. l.: s. n.], 1984.

BOWIE, William R *et al.* Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **The Lancet**, [s. l.], v. 350, n. 9072, p. 173–177, 1997. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673696111053>.

BRANDÃO-FILHO, Sinval P. *et al.* Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine**

and Hygiene, [s. l.], v. 97, n. 3, p. 291–296, 2003. Disponível em:
[https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/S0035-9203\(03\)90146-5](https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/S0035-9203(03)90146-5).

BRASIL. **Leishmaniose Visceral**. [S. l.], 2024a.

BRASIL. Boletim Epidemiológico Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica. **Ministério da Saúde**, BRASIL, 2022.

BRASIL. **Caracterização da malária em áreas especiais da região amazônica**. Brasília: [s. n.], 2024b.

BRASIL. **Entenda o comportamento do mosquito vetor da malária e saiba como se proteger**. [S. l.], 2023.

BRASIL. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela**. Brasília: [s. n.], 2017.

BRASIL. **Guia De Vigilância Em Saúde Ministério Da Saúde**. [S. l.]: Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. *In*: 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. p. 180.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. [S. l.], 2014a.

BRASIL. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. **Ministério da Saúde**, [s. l.], n. 1, 2014b.

BRASIL. Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses. **Ministério da Saúde**, [s. l.], 2016.

BRASIL. **Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita.** [S. l.], 2018.

BRASIL. **Situação Epidemiológica da Malária.** [S. l.], 2024c.

BRASIL. **Tipos de diagnósticos - Malária.** [S. l.], 2024d.

BRASIL. **Toxoplasmose Adquirida na Gestação e Toxoplasmose Congênita.** [S. l.], 2021.

BRENER, Zigman. *Typanosoma cruzi*: morfologia e ciclo evolutivo. In: DIAS, João Carlos Pinto *et al.* (org.). **Doença de Chagas e seus aspectos socioeconômicos.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1999. p. 15–30.

BRUCE-CHWATT, L.J. PALEO-GENESIS AND PALEO-EPIDEMIOLOGY OF PRIMATE MALARIA. In: PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL CONGRESS OF PARASITOLOGY. [S. l.]: Elsevier, 1966. v. 32, p. 220–221. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781483229133501842>.

BRUNETO, Eduardo G *et al.* Case-fatality From Orally-transmitted Acute Chagas Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 72, n. 6, p. 1084–1092, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/72/6/1084/5890106>.

BURLEIGH, Barbara A.; ANDREWS, Norma W. The mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. **Annual Review of Microbiology**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 175–200, 1995. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.mi.49.100195.001135>.

CAMPBELL, Carlos C. Malaria: Obstacles and Opportunities. In: OAKS, SC *et al.* (org.). **New England Journal of Medicine.** Washington, D.C.: National Academy Press, 1993. v. 328, p. 668–668. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199303043280920>.

CANO-TERRIZA, David *et al.* Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive nonhuman primates in zoos in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [s. l.], v. 65, p. 54–57, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957119300712>.

CANTILLO-BARRAZA, Omar *et al.* Enzootic *Trypanosoma cruzi* infection by *Rhodnius prolixus* shows transmission to humans and dogs in Vichada, Colombia. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 12, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.999082/full>.

CARDOSO, R. M. *et al.* Expanding the knowledge about *Leishmania* species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 171, 2015. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0780-y>.

CARLIER, Y.; TRUYENS, C. Maternal–fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*. In: AMERICAN TRYPANOSOMIASIS CHAGAS DISEASE. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 517–559. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128010297000241>.

CARNEIRO, Liliane Almeida *et al.* Susceptibility of peritoneal macrophage from different species of neotropical primates to Ex vivo *Leishmania (L.) infantum chagasi*-infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 95–102, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652012000200007&lng=en&tlng=en.

CARTER, Richard; MENDIS, Kamini N. Evolutionary and Historical Aspects of the Burden of Malaria. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 564–594, 2002. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.15.4.564-594.2002>.

CARVALHO, Flávio Luiz Nunes *et al.* Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. **Epidemiology and Infection**, [s. l.], v. 146, n. 5, p. 571–576, 2018. Disponível em: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268818000225/type/journal_article.

CARVALHO, Cristiano Marcelo Espinola *et al.* Inducible Nitric Oxide Synthase in Heart Tissue and Nitric Oxide in Serum of *Trypanosoma cruzi*-Infected Rhesus Monkeys: Association with Heart Injury. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. e1644, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001644>.

CASAGRANDE, Renata A. *et al.* Fatal Human herpesvirus 1 (HHV-1) infection in captive marmosets (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*) in Brazil: clinical and pathological characterization. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 34, n. 11, p. 1109–1114, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2014001100013&lng=en&tlng=en.

CASAGRANDE, Renata A. *et al.* Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 94–98, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000100017&lng=pt&tlng=pt.

CDC. **One Health** . [S. l.], 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/one-health/index.html> .

CDC. **Toxoplasmosis**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/toxoplasmosis/hcp/clinical-overview/index.html> .

CEDILLO-PELÁEZ, Carlos *et al.* Acute toxoplasmosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Mexico. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 180, n. 3–4, p. 368–371, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401711001798>.

CERUTTI, Crispim *et al.* Epidemiologic aspects of the malaria transmission cycle in an area of very low incidence in Brazil. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 33, 2007. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-6-33>.

CHAGAS, C. New human trypanosomiasis. Morphology and life cycle of *Schyzotrypanum cruzi*, the cause of a new human disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 47, p. 159–218, 1909.

CHAHINE, Zeinab; LE ROCH, Karine G. Decrypting the complexity of the human malaria parasite biology through systems biology approaches. **Frontiers in Systems Biology**, [s. l.], v. 2, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsysb.2022.940321/full>.

CHAWLA, Jyotsna; OBERSTALLER, Jenna; ADAMS, John H. Targeting Gametocytes of the Malaria Parasite *Plasmodium falciparum* in a Functional Genomics Era: Next Steps. **Pathogens**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 346, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/3/346>.

CHOI, Hye Lynn *et al.* The global procurement landscape of leishmaniasis medicines. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. e0009181, 2021. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0009181>.

CICERON, Liliane *et al.* Development of a *Plasmodium* PCR for Monitoring Efficacy of Antimalarial Treatment. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 35–38, 1999. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.37.1.35-38.1999>.

CLABORN, DavidM. The biology and control of leishmaniasis vectors. **Journal of Global Infectious Diseases**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 127, 2010. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.4103/0974-777X.62866>.

COATNEY, G. Robert. The Simian Malaras: Zoonoses, Anthroponoses, or Both?. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 795–803, 1971. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/20/6/article-p795.xml>.

CODEPLAN. **Atlas do Distrito Federal**. Brasília: [s. n.], 2017. Disponível em: <https://www.codeplan.df.gov.br/atlas-do-distrito-federal/>. .

COIMBRA, Diogo P. *et al.* Molecular and morphometric identification of *Trypanosoma* (Megatrypanum) minasense in blood samples of marmosets (*Callithrix*: *Callithrichidae*) from the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitology International**, [s. l.], v. 75, p. 101999, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383576919303502>.

COIMBRA-FILHO, Ademar F.; MITTERMEIER, Russell A. New Data on the Taxonomy of the Brazilian Marmosets of the Genus *Callithrix*; Erxleben, 1777. **Folia Primatologica**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 241–264, 1973. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/155577>.

COMMODARO, Alessandra G *et al.* Ocular toxoplasmosis: an update and review of the literature. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 345–350, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762009000200030&lng=en&tling=en.

CORRÊA, Fabiana M. *et al.* Surviving in the urban–rural interface: Feeding and ranging behavior of brown howlers (*Alouatta guariba clamitans*) in an urban fragment in southern Brazil. **American Journal of Primatology**, [s. l.], v. 80, n. 6, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajp.22865>.

CRAIG, Alister G. *et al.* The Role of Animal Models for Research on Severe Malaria. **PLoS Pathogens**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. e1002401, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1002401>.

CROZIER, G.K.D.; SCHULTE-HOSTEDDE, Albrecht I. The ethical dimensions of wildlife disease management in an evolutionary context. **Evolutionary Applications**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 788–798, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eva.12171>.

CUNNINGHAM, A.A.; BUXTON, D.; THOMSON, K.M. An epidemic of toxoplasmosis in a captive colony of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). **Journal of Comparative Pathology**, [s. l.], v. 107, n. 2, p. 207–219, 1992. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002199759290037U>.

DANTAS-TORRES, Filipe; BRANDÃO-FILHO, Sinval Pinto. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 151–156, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652006000300007&lng=en&tlng=en.

DELGADO, I. L. S. *et al.* The Apicomplexan Parasite *Toxoplasma gondii*. **Encyclopedia**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 189–211, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8392/2/1/12>.

DI MARCO, Moreno *et al.* Sustainable development must account for pandemic risk. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 117, n. 8, p. 3888–3892, 2020. Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2001655117>.

DIAS, João C. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 28, n. 2, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000200003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

DIAS, João Carlos Pinto. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 370–375, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822006000400010&lng=pt&tlng=pt.

DIAS, João Carlos Pinto; AMATO NETO, Vicente; LUNA, Expedito José de Albuquerque. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 375–379, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822011000300022&lng=pt&tlng=pt.

DÍAZ, Sandra *et al.* Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. **Science**, [s. l.], v. 366, n. 6471, 2019. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aax3100>.

DINIZ, Morgana Michele Cavalcanti de Souza *et al.* Host-biting rate and susceptibility of some suspected vectors to *Leishmania braziliensis*. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 139, 2014. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-139>.

DO VALE, Caroline Almeida; MENINI NETO, Luiz; PREZOTO, Fábio. Distribution and invasive potential of the black-tufted marmoset *Callithrix penicillata* in the Brazilian territory. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 16, n. 5, 2020. Disponível em: <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/5135>.

DORN, Patricia L. *et al.* Low prevalence of chagas parasite infection in a nonhuman primate colony in Louisiana. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [s. l.], v. 51, n. 4, 2012.

DRUZIAN, Angelita F. *et al.* Risk Factors for Death from Visceral Leishmaniasis in an Urban Area of Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. e0003982, 2015. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003982>.

DUARTE, Ana Maria Ribeiro de Castro *et al.* Natural Plasmodium infections in Brazilian wild monkeys: Reservoirs for human infections?. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 107, n. 2, p. 179–185, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X08001654>.

DUARTE, Ana Maria R.De C. *et al.* Widespread occurrence of antibodies against circumsporozoite protein and against blood forms of Plasmodium vivax, P. falciparum and P. malariae in Brazilian wild monkeys. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 35, n. 2, 2006.

DUBEY, J. P. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. **American journal of veterinary research**, [s. l.], v. 49, n. 6, p. 910–913, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3400928/>.

DUBEY, J.P. The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: WEISS, Louis M; KIM, Kami (org.). **Toxoplasma gondii: The Model Apicomplexan – Perspectives and Methods**. Londres: Academic Press, 2007. p. 1–17.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 126, n. 1–2, p. 57–72, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401704004078>.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. [S. l.: s. n.], 2023.

DUBEY, J. P.; HODGIN, E. C.; HAMIR, A. N. Acute Fatal Toxoplasmosis in Squirrels (*Sciurus carolensis*) with Bradyzoites in Visceral Tissues. **Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 658–659, 2006. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1645/GE-749R.1>.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 267–299, 1998. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.11.2.267>.

DVORIN, Jeffrey D.; GOLDBERG, Daniel E. *Plasmodium* Egress Across the Parasite Life Cycle. **Annual Review of Microbiology**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 67–90, 2022. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-micro-041320-020659>.

EL BISSATI, Kamal *et al.* Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. **Emerging Microbes & Infections**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–14, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1038/s41426-018-0164-4>.

EL TAI, N.O. *et al.* Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 94, n. 5, p. 575–579, 2000. Disponível em: [https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/S0035-9203\(00\)90093-2](https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/S0035-9203(00)90093-2).

EMERSON, Kevin J. *et al.* Brazilian *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) Clusters by Major Biogeographical Region. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. e0130773, 2015. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0130773>.

ENDESHAW, Tekola *et al.* Evaluation of light microscopy and rapid diagnostic test for the detection of malaria under operational field conditions: a household survey in Ethiopia. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 118, 2008. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-7-118>.

EPIPHANIO, S; SINHORINI, I.L; CATÃO-DIAS, J.L. Pathology of Toxoplasmosis in Captive New World Primates. **Journal of Comparative Pathology**, [s. l.], v. 129, n. 2–3, p. 196–204, 2003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997503000355>.

ESCALANTE, Ananias A.; PACHECO, M. Andreína. Malaria Molecular Epidemiology: An Evolutionary Genetics Perspective. **Microbiology Spectrum**, [s. l.], v. 7, n. 4, 2019. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.AME-0010-2019>.

ESCH, Kevin J.; PETERSEN, Christine A. Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 58–85, 2013. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00067-12>.

ESPINOLA, Cristiano Marcelo Carvalho *et al.* Chronic Chagas' disease in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): Evaluation of parasitemia, serology, electrocardiography, echocardiography, and radiology. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 68, n. 6, p. 683–691, 2003. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/68/6/article-p683.xml>.

ESTRADA, ALEJANDRO; RABOY, BECKY E.; OLIVEIRA, LEONARDO C. Agroecosystems and Primate Conservation in The Tropics: A Review. **American Journal of Primatology**, [s. l.], v. 74, n. 8, p. 696–711, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajp.22033>.

FARIA, DS. Tamanho, composição de um grupo social e a área de vivência (home-range) do sagüi *Callithrix jacchus penicillata* na mata ciliar do córrego Capetinga, Brasília, DF. *In*: M. T. DE MELLO (org.). **A primatologia no Brasil - Sociedade Brasileira de Primatologia**. Brasília: [s. n.], 1986. v. 2, p. 87–105.

FAUST, Christina; DOBSON, Andrew P. Primate malarias: Diversity, distribution and insights for zoonotic Plasmodium. **One Health**, [s. l.], v. 1, p. 66–75, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352771415000105>.

FERREIRA, Sidney de Almeida *et al.* Nasal, Oral and Ear Swabs for Canine Visceral Leishmaniasis Diagnosis: New Practical Approaches for Detection of Leishmania infantum DNA. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. e2150, 2013. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002150>.

FERREIRA, Fernanda Pinto *et al.* The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s. l.], v. 27, n. 3, 2018. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612018005010105&lng=en&tlng=en.

FIGUEIREDO, Mayra Araguaia Pereira *et al.* Natural Plasmodium infection in neotropical primates in the island of São Luís, state of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 122–128, 2015. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612015000200122&lng=en&tlng=en.

FIKADU, Muluemebet; ASHENAFI, Ephrem. Malaria: An Overview. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. Volume 16, p. 3339–3347, 2023. Disponível em: <https://www.dovepress.com/malaria-an-overview-peer-reviewed-fulltext-article-IDR>.

FILEMON, PPP; CABREIRA, VF; COSTA, NFS. A Interação do Protozoário Leishmania com seus Insetos Vetores. *In*: TÓPICOS AVANÇADOS EM ENTOMOLOGIA MOLECULAR. [S. l.]: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular , 2012.

FISCHER, Andrew H. *et al.* Hematoxylin and Eosin Staining of Tissue and Cell Sections. **Cold Spring Harbor Protocols**, [s. l.], v. 2008, n. 5, p. pdb.prot4986, 2008. Disponível em: <http://www.cshprotocols.org/lookup/doi/10.1101/pdb.prot4986>.

FLECK, D G. Annotation: Diagnosis of toxoplasmosis. **Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 191–193, 1989. Disponível em: <https://jcp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jcp.42.2.191>.

FRENKEL, J. K. Toxoplasma in and around Us. **BioScience**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 343–352, 1973. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioscience/article-lookup/doi/10.2307/1296513>.

GAINSBURY, Alison M.; SANTOS, Eduardo Guimarães; WIEDERHECKER, Helga. Does urbanization impact terrestrial vertebrate ectotherms across a biodiversity hotspot?. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 835, p. 155446, 2022.

GALINSKI, Mary R. Systems biology of malaria explored with nonhuman primates. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 177, 2022. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-022-04199-2>.

GALLUZZI, Luca *et al.* Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 273, 2018. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2859-8>.

GDF. **Situação Epidemiológica da toxoplasmose gestacional e congênita, 2020/2021**. Brasília: [s. n.], 2022.

GHSA. **Global Health Security Agenda (GHSA) 2024 Framework** . [S. l.], 2018.

GILLESPIE, Thomas R.; CHAPMAN, Colin A. Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host-parasite interactions relative to an unfragmented forest. **American Journal of Primatology**, [s. l.], v. 70, n. 3, 2008.

GÓMEZ, José María; NUNN, Charles L.; VERDÚ, Miguel. Centrality in primate-parasite networks reveals the potential for the transmission of emerging infectious diseases to humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 110, n. 19, 2013.

GONTIJO, Célia Maria Ferreira; MELO, Maria Norma. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 338–349, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2004000300011&lng=pt&tlng=pt.

GUPTA, Anand Kumar *et al.* The pathogenicity and virulence of *Leishmania* - interplay of virulence factors with host defenses. **Virulence**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 903–935, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2022.2074130>.

GURGEL-GONÇALVES, Rodrigo *et al.* Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 323–330, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652004000600005&lng=en&tlng=en.

GUTTERY, David S.; HOLDER, Anthony A.; TEWARI, Rita. Sexual Development in *Plasmodium*: Lessons from Functional Analyses. **PLoS Pathogens**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. e1002404, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1002404>.

HADFIELD, Stephen J.; GUY, Edward C. Toxoplasmosis. **Medicine**, [s. l.], v. 45, n. 12, p. 763–766, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303917302530>.

HAGSTRÖM, Luciana *et al.* The use of qPCR in human Chagas disease: a systematic review. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 875–894, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737159.2019.1659729>.

HECHT, Mariana M. *et al.* Inheritance of DNA Transferred from American Trypanosomes to Human Hosts. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. e9181, 2010. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0009181>.

HENAO-MARTÍNEZ, Andrés F. *et al.* American Trypanosomiasis: Chagas Disease. *In: MANSON'S TROPICAL DISEASES*. [S. l.]: Elsevier, 2024. p. 636–645. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978070207959700052X>.

HENRIK DIETZ, Hans *et al.* Toxoplasmosis in a colony of New World monkeys. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 68, n. 4, p. 299–304, 1997. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401796010886>.

HODO, Carolyn L. *et al.* *Trypanosoma cruzi* Transmission Among Captive Nonhuman Primates, Wildlife, and Vectors. **EcoHealth**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 426–436, 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10393-018-1318-5>.

IBGE. **Distrito Federal - Brazil**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/panorama>.

INNES, Elisabeth A. Toxoplasmosis: Comparative species susceptibility and host immune response. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 131–138, 1997. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957196000380>.

JACOBS, Leon; REMINGTON, Jack S.; MELTON, Marjorie L. The Resistance of the Encysted Form of *Toxoplasma gondii*. **The Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 11, 1960. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3275325?origin=crossref>.

JANSEN, Ana Maria; XAVIER, Samanta Cristina das Chagas; ROQUE, André Luiz Rodrigues. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 502, 2018. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3067-2>.

JENKINS, Clinton N. *et al.* Patterns of Vertebrate Diversity and Protection in Brazil. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. e0145064, 2015. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0145064>.

JENKINS, Emily J. *et al.* Wildlife parasites in a One Health world. **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 174–180, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492215000033>.

KASETSIRIKUL, Surasak *et al.* The development of malaria diagnostic techniques: a review of the approaches with focus on dielectrophoretic and magnetophoretic methods. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 358, 2016. Disponível em: <http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-016-1400-9>.

KAUFER, Alexa *et al.* The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 287, 2017. Disponível em: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2204-7>.

KIM, Seok Hyung *et al.* An Improved Protocol of Biotinylated Tyramine-based Immunohistochemistry Minimizing Nonspecific Background Staining. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 129–132, 2003.

KNIEL, Kalmia E. *et al.* Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. **Journal of Parasitology**, [s. l.], v. 88, n. 4, 2002.

KNIGHT, Chinyere A. *et al.* Leishmaniasis: Recent epidemiological studies in the Middle East. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 13, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1052478/full>.

KOBAL, MF. Fauna Silvestre: uma pauta na agenda das cidades inteligentes?. **Revista de Humanidades y Ciencias sociales**, [s. l.], p. 147–178, 2022. Disponível em: <http://orcid.org/0000-0002-8741-8754>.

LAINSON, R.; RYAN, L.; SHAW, J. J. Infective stages of *Leishmania* in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 82, n. 3, 1987.

LALREMRUATA, Albert *et al.* Natural infection of *Plasmodium brasilianum* in humans: Man and monkey share quartan malaria parasites in the Venezuelan Amazon. **EBioMedicine**, [s. l.], v. 2, n. 9, 2015.

LEISHMAN, W. B. **On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in india**. [S. l.: s. n.], 1903a.

LEISHMAN, W. B. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **BMJ**, [s. l.], v. 1, n. 2213, p. 1252–1254, 1903b. Disponível em: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.1.2213.1252>.

LEVINE, N. D. *et al.* A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, [s. l.], v. 27, n. 1, 1980.

LIDANI, Kárita Cláudia Freitas *et al.* Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. **Frontiers in Public Health**, [s. l.], v. 7, n. 6, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2019.00166/full>.

LIMA, Valéria Marçal Felix *et al.* Molecular diagnosis of *Leishmania amazonensis* in a captive spider monkey in Bauru, São Paulo, Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 943–945, 2012. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1638/2012-0059R1.1>.

LISBOA, Cristiane Varella *et al.* Infection with *Trypanosoma cruzi* TcII and TcI in free-ranging population of lion tamarins (*Leontopithecus* spp): An 11-year follow-up. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 110, n. 3, 2015.

LISBOA, Cristiane V *et al.* *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 95, n. 4, p. 445–452, 2000. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762000000400002&lng=en&tlng=en.

LISBOA, Cristiane Varella *et al.* Trypanosoma cruzi transmission in a captive primate unit, Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 97–106, 2004.

LIU, Quan *et al.* Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 292, 2015. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/8/1/292>.

LOCKARD, Ryan D.; WILSON, Mary E.; RODRÍGUEZ, Nilda E. Sex-Related Differences in Immune Response and Symptomatic Manifestations to Infection with *Leishmania* Species. **Journal of Immunology Research**, [s. l.], v. 2019, p. 1–14, 2019. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2019/4103819/>.

LOMBARDINI, E. D. *et al.* A Review of *Plasmodium coatneyi* –Macaque Models of Severe Malaria. **Veterinary Pathology**, [s. l.], v. 52, n. 6, p. 998–1011, 2015. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985815583098>.

LOPES, Gabriel. Anopheles gambiae no Brasil: antecedentes para um “alastramento silencioso”, 1930-1932. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 823–839, 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702019000300823&tlng=pt.

MACHADO, Tâmara Dias Oliveira *et al.* The role of gallery forests in maintaining Phlebotominae populations: potential *Leishmania spp.* vectors in the Brazilian savanna. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 112, n. 10, p. 681–691, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762017001000681&lng=en&tlng=en.

MACKENZIE, John S.; JEGGO, Martyn. **The one health approach-why is it so important?**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2414-6366/4/2/88>.

MAGALHÃES, Arthur Ramalho *et al.* Neglected tropical diseases risk correlates with poverty and early ecosystem destruction. **Infectious Diseases of Poverty**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 32, 2023. Disponível em: <https://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-023-01084-1>.

MAGALHÃES-SANTOS, Isis Fernandes. Transmissão oral da Doença de Chagas: breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 226, 2015. Disponível em: <https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/10034>.

MAIA-ELKHOURY, Ana N. S. *et al.* SisLeish: A multi-country standardized information system to monitor the status of Leishmaniasis in the Americas. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. e0005868, 2017. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005868>.

MALTA, Marcelo Campos Cordeiro *et al.* Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 169, n. 1–2, p. 193–197, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401709007390>.

MALUKIEWICZ, Joanna *et al.* An Introduction to the *Callithrix* Genus and Overview of Recent Advances in Marmoset Research. **ILAR Journal**, [s. l.], v. 61, n. 2–3, p. 110–138, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article/61/2-3/110/6474502>.

MARIAN, Lucas *et al.* Toxoplasmosis outbreak caused by north American genotypes in captive black-tufted marmosets in southern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, [s. l.], v. 47, p. 100960, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405939023001302>.

MARTIN, Diana L. *et al.* Potential sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in mice. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 149, p. 15–18, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X15001369>.

MARTINELLI, Axel; CULLETON, Richard. Non-human primate malaria parasites: out of the forest and into the laboratory. **Parasitology**, [s. l.], v. 145, n. 1, p. 41–54, 2018. Disponível em:

https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0031182016001335/type/journal_article.

MEDEIROS, IM; NASCIMENTO, ELT; HINRICHSEN, SL. Leishmanioses (visceral e tegumentar). *In*: DIP – DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS. Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan, 2005. p. 398–409.

MEHRA, Somya *et al.* Hypnozoite dynamics for *Plasmodium vivax* malaria: The epidemiological effects of radical cure. **Journal of Theoretical Biology**, [s. l.], v. 537, p. 111014, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022519322000121>.

MELLO, Cintia Xavier *et al.* Thick Smear is a Good Substitute for the Thin Smear in Parasitological Confirmation of Canine Visceral Leishmaniasis. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 95, n. 1, p. 99–103, 2016. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/95/1/article-p99.xml>.

MENDEZ, Oscar A.; KOSHY, Anita A. *Toxoplasma gondii*: Entry, association, and physiological influence on the central nervous system. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. e1006351, 2017. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1006351>.

MERRICK, Catherine J. Hypnozoites in Plasmodium: Do Parasites Parallel Plants?. **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 273–282, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492220302993>.

MEWARA, Abhishek; SREENIVASAN, Priya; KHURANA, Sumeeta. Primate malaria of human importance. **Tropical Parasitology**, [s. l.], v. 13, n. 2, 2023.

MINERVINO, Antonio Humberto Hamad *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 343–346, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jmp.12314>.

MINUZZI-SOUZA, Thaís Tâmara Castro *et al.* Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 39, 2016. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/9/1/39>.

MIRANDA, GHB; FARIA, DS. Ecological aspects of black-pinellated marmoset (*Callithrix penicillata*) in the cerrado and dense cerrado of the Brazilian Central Plateau. **Brazilian Journal of Biology**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 397–404, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842001000300008&lng=en&tlng=en.

MOLINA, C. V. *et al.* Sero-epidemiological survey for brucellosis, leptospirosis, and toxoplasmosis in free-ranging *A. louatta caraya* and *C. allithrix penicillata* from São Paulo State, Brazil. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 197–201, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jmp.12112>.

MONTOYA, JG; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, [s. l.], v. 363, n. 9425, p. 1965–1976, 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067360416412X>.

MORENO, Eduardo Stramandinoli *et al.* Evidence of a sylvatic enzootic cycle of leishmania infantum in the State of Amapá, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 53, 2020.

MUCCIOLI, C; SILVEIRA, C; BELFORT JR., R. Toxoplasmose Ocular. In: SOUZA, W; BELFORT JR., R (org.). **Toxoplasmose & Toxoplasma gondii**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. p. 181–196.

MUELLER, Ivo *et al.* Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 555–566, 2009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S147330990970177X>.

MURRAY, Clinton K.; BENNETT, Jason W. Rapid Diagnosis of Malaria. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, [s. l.], v. 2009, p. 1–7, 2009. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ipid/2009/415953/>.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **População mundial deve chegar a 9,7 bilhões de pessoas em 2050, diz relatório da ONU**. [S. l.], 2019. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/83427-popula%C3%A7%C3%A3o-mundial-deve-chegar-97-bilh%C3%B5es-de-pessoas-em-2050-diz-relat%C3%B3rio-da-onu>. Acesso em: 16 dez. 2024.

NAVARRO, E. *et al.* Real-time PCR detection chemistry. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 439, p. 231–250, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898114004483>.

NGWA, Che Julius; ROSA, Thiago F. de A.; PRADEL, Gabriele. The Biology of Malaria Gametocytes. *In*: CURRENT TOPICS IN MALARIA. [S. l.]: InTech, 2016. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/current-topics-in-malaria/the-biology-of-malaria-gametocytes>.

NICOLLE, Charles; MANCEAUX, Louis Herbert. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences**, [s. l.], v. 147, 1908.

OLIVEIRA, Rodrigues Ayisa *et al.* Competence of non-human primates to transmit *Leishmania infantum* to the invertebrate vector *Lutzomyia longipalpis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. e0007313, 2019.

OLIVEIRA, VS *et al.* **Documento Técnico de Vigilância Epidemiológica da Toxoplasmose**. São Paulo: [s. n.], 2022.

ONYABE, David Y; CONN, Jan E. The distribution of two major malaria vectors, *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis*, in Nigeria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 96, n. 8, p. 1081–1084, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000800009&lng=en&tlng=en.

OPAS. Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease. **Organização Pan-Americana de Saúde**, Washington, D.C, 2023a.

OPAS. **Malária - Transmissão**. [S. l.], 2023b.

OZWARA, Hastings *et al.* Experimental infection of the olive baboon (*Papio anubis*) with *Plasmodium knowlesi*: severe disease accompanied by cerebral involvement. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, [s. l.], v. 69, n. 2, 2003.

PAIVA-CAVALCANTI, Milena de *et al.* Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of immunological and molecular tools. **Cell & Bioscience**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 31, 2015. Disponível em:
<https://cellandbioscience.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13578-015-0021-2>.

PAIZ, Laís Moraes *et al.* Antibodies and Molecular Detection of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in Samples of Free-Ranging Marmosets (Primates: Callitrichidae: *Callithrix* spp.) in an Area of Canine Visceral Leishmaniasis in Southeastern Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 249–254, 2019. Disponível em:
<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2018.2348>.

PEIXOTO, Henry Maia; DE OLIVEIRA, Maria Regina Fernandes; ROMERO, Gustavo Adolfo Sierra. Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 334–352, 2015. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tmi.12429>.

PÉREZ-GRISALES, Luis Javier *et al.* *Toxoplasma gondii* infection in Colombia with a review of hosts and their ecogeographic distribution. **Zoonoses and Public Health**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 38–53, 2021. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/zph.12787>.

PIMENTA, P. F. P. *et al.* An overview of malaria transmission from the perspective of Amazon Anopheles vectors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 110, n. 1, p. 23–47, 2015. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762015000100023&lng=en&tlng=en.

PRATT-RICCIO, Lilian Rose *et al.* Uso de modelos de primatas neotropicais para pesquisa em malária: um histórico dos 25 anos de colaboração entre o Laboratório de Pesquisa em Malária (IOC, Fiocruz) e o Centro Nacional de Primatas (IEC, SVS). **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [s. l.], v. 12, n. esp, 2021. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232021000200051&lng=pt&nrm=iso.

RASSI, Anis; MARCONDES, Joffre. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 275–291, 2012.

RASSI, Anis; MARIN-NETO, José Antonio. Chagas disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 375, n. 9723, p. 1388–1402, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361060061X>.

READY, Paul D. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 227–250, 2013. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-ento-120811-153557>.

REAL, F. *et al.* Cell-to-cell transfer of *L. eishmania amazonensis* amastigotes is mediated by immunomodulatory LAMP-rich parasitophorous extrusions. **Cellular Microbiology**, [s. l.], v. 16, n. 10, p. 1549–1564, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12311>.

REICHE, Edna Maria Vissoci *et al.* Seropositivity for anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors of the “Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná”, Londrina, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 233–240, 1996. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651996000300014&lng=en&tlng=en.

REIS, Filipe C. *et al.* Trypanosomatid infections in captive wild mammals and potential vectors at the Brasília Zoo, Federal District, Brazil. **Veterinary Medicine and Science**, [s. l.], v. 6, n. 2, 2020a.

REIS, Filipe C. *et al.* Trypanosomatid infections in captive wild mammals and potential vectors at the Brasilia Zoo, Federal District, Brazil. **Veterinary Medicine and Science**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 248–256, 2020b.

RIBEIRO, Marcelle *et al.* Sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. **Experimental Parasitology**, [s. l.], v. 162, p. 1–6, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014489415300801>.

RICCIO, Evelyn KP *et al.* Molecular and immunological tools for the evaluation of the cellular immune response in the neotropical monkey *Saimiri sciureus*, a non-human primate model for malaria research. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 166, 2015. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-015-0688-1>.

RÍMOLI, J.; GOMES, D.; DEL RIO DO VALLE, R. **Ficha técnica de *Callithrix penicillata* (sagui-de-tufo-preto) (É. Geoffroy, 1812) no Brasil**. Brasília: [s. n.], 2024. Disponível em: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/primatas-brasileiros/arquivos/fichas_primatas/CALLITRICHIDAE/ficha_callithrix_penicillata.pdf. Acesso em: 7 dez. 2024.

ROBERT-GANGNEUX, Florence; DARDÉ, Marie-Laure. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 264–296, 2012. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.05013-11>.

RODRÍGUEZ-CORTÉS, Alhelí *et al.* Leishmania Infection: Laboratory Diagnosing in the Absence of a “Gold Standard”. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 82, n. 2, p. 251–256, 2010. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/82/2/article-p251.xml>.

RONDÓN, Silvia *et al.* Prevalence of Plasmodium parasites in non-human primates and mosquitoes in areas with different degrees of fragmentation in Colombia. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 18, n. 1, 2019.

ROQUE, André Luiz R.; JANSEN, Ana Maria. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 251–262, 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213224414000273>.

ROSS, R. Further notes on leishman's bodies. **BMJ**, [s. l.], v. 2, n. 2239, p. 1401–1401, 1903. Disponível em: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.2.2239.1401>.

ROSSI, Gian Paolo *et al.* Gene expression, localization, and characterization of endothelin A and B receptors in the human adrenal cortex. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 94, n. 3, 1994.

RYLANDS, Anthony B; FARIA, Doris S de. Habitats, feeding ecology, and home range size in the genus *Callithrix*. *In*: MARMOSETS AND TAMARINS. [S. l.]: Oxford University PressOxford, 1993. p. 262–272. Disponível em: <https://academic.oup.com/book/53699/chapter/422165318>.

RYLANDS, Anthony B.; MITTERMEIER, Russell A. The Diversity of the New World Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. *In*: SOUTH AMERICAN PRIMATES. [S. l.]: Springer New York, 2008. p. 23–54.

SAMBROOK, J; RUSSELL, David W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3th edn, Cold Spring Harbor Laboratory, New York,. **Cold Spring, Harbor Laboratory, New York, 3th edn**, [s. l.], v. 1, n. 8, 2001.

SANGENITO, Leandro S.; BRANQUINHA, Marta H.; SANTOS, André L.S. Funding for Chagas Disease: A 10-Year (2009-2018) Survey. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, [s. l.], v. 5, n. 2, 2020.

SANTOS, Fátima dos *et al.* Characterization of larval habitats of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* and associated species in malaria areas in western Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 119, 2024. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762024000101128&tlng=en.

SANTOS, Stéfanie Vanessa *et al.* Fatal toxoplasmosis in a southern marmoset (*Brachyteles arachnoides*) from São Paulo state, Brazil: Pathological, immunohistochemical, and molecular characterization. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 124–127, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jmp.12326>.

SATHLER-AVELAR, R. *et al.* Trypanosoma cruzi Infection in Non-Human Primates. In: PRIMATES. [S. l.: s. n.], 2018.

SATTERTHWAITE, David; MCGRANAHAN, Gordon; TACOLI, Cecilia. Urbanization and its implications for food and farming. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 365, n. 1554, p. 2809–2820, 2010.

SCHMITT, Lauren; BURGHARDT, Karin T. Urbanization as a disrupter and facilitator of insect herbivore behaviors and life cycles. **Current Opinion in Insect Science**, [s. l.], v. 45, p. 97–105, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214574521000249>.

SCHWABE, Calvin W. **Veterinary medicine and human health**. London: Ballière, Tindall and Cassell: Ballière, Tindall and Cassell, 1969. v. 2

SHAPIRO, K. *et al.* Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. **Food and Waterborne Parasitology**, [s. l.], v. 15, p. e00049, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405676618300428>.

SILVA, Eduardo S *et al.* Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 96, n. 3, p. 285–291, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000300002&lng=en&tling=en.

SILVEIRA, Fernando T. *et al.* Leishmaniose cutânea experimental. III- Aspectos histopatológicos do comportamento evolutivo da lesão cutânea produzida em Cebus apella (Primates: Cebidae) por *Leishmania (Viannia) lainsoni*, L. (V.) *braziliensis* e L. (*Leishmania*) *amazonensis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São**

Paulo, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 387–394, 1990. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651990000600001&lng=pt&tlng=pt.

SINGH, Om Prakash *et al.* Xenodiagnosis to evaluate the infectiousness of humans to sandflies in an area endemic for visceral leishmaniasis in Bihar, India: a transmission-dynamics study. **The Lancet Microbe**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. e23–e31, 2021. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S266652472030166X>.

SINGH, Balbir; DANESHVAR, Cyrus. Human Infections and Detection of *Plasmodium knowlesi*. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 165–184, 2013. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00079-12>.

SINHA, Anindya; VIJAYAKRISHNAN, Sreedhar. Primates in Urban Settings. In: THE INTERNATIONAL ENCYCLOPEDIA OF PRIMATOLOGY. [S. l.]: Wiley, 2017. p. 1–8. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119179313.wbprim0458>.

SMITH, Ryan C.; BARILLAS-MURY, Carolina. *Plasmodium* Oocysts: Overlooked Targets of Mosquito Immunity. **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 32, n. 12, p. 979–990, 2016. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492216301428>.

SOUZA, Wanderley de; BELFORT JR., Rubens. ***Toxoplasmoses & Toxoplasma gondii***. [S. l.]: Editora FIOCRUZ, 2014. Disponível em:
<http://books.scielo.org/id/p2r7v>.

SPLENDRE, A. Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin: deuxième note préliminaire. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, [s. l.], v. 2, 1909.

SPLENDRE, A. Un nuovo protozoa parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. Nota preliminare per. **Rev Soc Sci Sao Paulo**, [s. l.], v. 3, 1908.

STEVENSON, M. F; RYLANDS, A. B. The marmosets, genus *Callithrix*. In: COIMBRA-FILHO, A. F; FONSECA, G. A. B (org.). **Ecology and behavior of Neotropical primates**. Washington: [s. n.], 1988. v. 2, p. 131–222.

STEVERDING, Dietmar. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 82, 2017. Disponível em: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2028-5>.

SUBSECRETARIA DE VIGILÂNCIA À SAÚDE. **Cenário epidemiológico das leishmanioses, no Distrito Federal, até a semana epidemiológica nº52, 2022**. Brasília/DF: [s. n.], 2022.

TARTAROTTI, Ester *et al.* **Problemática vetorial da Doença de Chagas Vectorial problematic of the Chagas disease**. [S. l.: s. n.], 2004. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-402398>. Acesso em: 8 dez. 2024.

TEIXEIRA, A R L *et al.* Chagas disease. **Postgraduate Medical Journal**, [s. l.], v. 82, n. 974, p. 788–798, 2006.

TEIXEIRA, Bruno *et al.* Good neighbours: distribution of black-tufted marmoset (*Callithrix penicillata*) in an urban environment. **Wildlife Research**, [s. l.], v. 42, n. 7, p. 579, 2015. Disponível em: <http://www.publish.csiro.au/?paper=WR14148>.

TEIXEIRA, Dirceu E. *et al.* Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. e1749, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001749>.

TEIXEIRA, A *et al.* Prevention and Control of Chagas Disease – An Overview. **International STD Research & Reviews**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 1–15, 2018. Disponível em: <https://journali-srr.com/index.php/I-SRR/article/view/7>.

TENTER, Astrid M.; HECKEROTH, Anja R.; WEISS, Louis M. *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 30, n. 12–13, 2000.

THE GLOBAL HEALTH OBSERVATORY. **Reported number of people requiring interventions against NTDs.** [S. l.], 2021.

THOMAZ SOCCOL, Vanete *et al.* More than the eyes can see: The worrying scenario of canine leishmaniasis in the Brazilian side of the triple border. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 12, p. e0189182, 2017. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189182>.

THOMPSON, R.C. Andrew. Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 43, n. 12–13, p. 1079–1088, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751913001793>.

TINOCO, Herlandes Penha *et al.* Visceral leishmaniasis in an infant gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*): Clinical signs, diagnosis, and successful treatment with single-dose liposomal amphotericin B. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 416–418, 2018.

TORRES-GUERRERO, Edoardo *et al.* Leishmaniasis: a review. **F1000Research**, [s. l.], v. 6, p. 750, 2017. Disponível em: <https://f1000research.com/articles/6-750/v1>.

TRAVI, Bruno L. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. e0006082, 2018. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0006082>.

TROP MED INT HEALTH. Severe Malaria. **Tropical Medicine & International Health**, [s. l.], v. 19, n. s1, p. 7–131, 2014. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tmi.12313_2.

TRÜEB, Indira *et al.* *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania sp.* infection in wildlife from urban rainforest fragments in northeast Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 76, 2018. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jwd/article/54/1/76/194751/TRYPANOSOMA-CRUZI-AND-LEISHMANIA-SP-INFECTION-IN>.

TUTEJA, Renu. Malaria – an overview. **The FEBS Journal**, [s. l.], v. 274, n. 18, p. 4670–4679, 2007.

UMEZAWA, Eufrosina S.; SHIKANAI-YASUDA, Maria Aparecida; STOLF, Anna Maria S. Changes in isotype composition and antigen recognition of anti-Trypanosoma cruzi antibodies from acute to chronic Chagas disease. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 407–413, 1996.

VENIAL, Henrique Jordem *et al.* Investigation of Leishmania (Viannia) braziliensis Infection in Wild Mammals in Brazil. **Acta Parasitologica**, [s. l.], v. 67, n. 2, 2022a.

VENIAL, Henrique Jordem *et al.* Investigation of Leishmania (Viannia) braziliensis Infection in Wild Mammals in Brazil. **Acta Parasitologica**, [s. l.], v. 67, n. 2, p. 648–657, 2022b.

VENUGOPAL, Kannan *et al.* Plasmodium asexual growth and sexual development in the haematopoietic niche of the host. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 177–189, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41579-019-0306-2>.

VERONA, C. E; PISSINATTI, A. Primates – Primatas do novo mundo (sagui, macaco-prego, macaco-aranha, bugio e muriqui). *In*: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C; CATÃO DIAS, J. L (org.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Rocaed. [S. l.: s. n.], 2014. v. 2, p. 807–810.

VIANNA, G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da “moléstia de Carlos Chagas” (esquizotripanose humana de tireoidite parasitária). *In*: CARVALHEIRO, José da Rocha *et al.* (org.). **Clássicos em Doença de Chagas: histórias e perspectivas no centenário da descoberta**. [S. l.]: Editora FIOCRUZ, 2009. p. 149–178. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/zb2bg/pdf/carvalheiro-9786557081013-09.pdf>.

VIEIRA, Caroline Barreto *et al.* **Triatomines: Trypanosomatids, Bacteria, and Viruses Potential Vectors?**. [S. l.: s. n.], 2018.

VILELA, Maurício Luiz *et al.* The phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) of Guaraí, state of Tocantins, with an emphasis on the putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in rural settlement and periurban areas. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 108, n. 5, 2013.

VILELA, Sinara Lopes; FARIA, Dóris Santos. Dieta do *Callithrix penicillata*; (Primates, Callitrichidae) em áreas de cerrado no Distrito Federal, Brasil. **Neotropical Primates**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 17–20, 2002. Disponível em: <https://primate.socgen.ucla.edu/index.php/multivitaminic/article/view/499>.

WEBSTER, Joanne P. Dubey, J.P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 112, 2010. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-3-112>.

WERNECK, Guilherme L. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo?. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 32, n. 6, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2016000600201&lng=pt&tlng=pt.

WERNECK, Guilherme Loureiro. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista de Saúde Pública**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 851–856, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102014000500851&lng=en&tlng=en.

WESTPHALEN, E; BISUGO; ERENO. Aspectos epidemiológicos e históricos do controle da doença de Chagas no Continente Americano. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, p. 17–34, 2012.

WHITE, Nicholas J *et al.* Malaria. **The Lancet**, [s. l.], v. 383, n. 9918, p. 723–735, 2014.

WHITE, N. J. *Plasmodium knowlesi*: The Fifth Human Malaria Parasite. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 172–173, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/524889>.

WHO. **World Malária report 2018**. [S. l.], 2018.

WHO. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. [S. l.], 2024. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 11 dez. 2024.

WHO. **Environment and One Health**. [S. l.], 2023a.

WHO. **Global leishmaniasis surveillance, 2022: assessing trends over the past 10 years**. [S. l.], 2023b.

WHO. **Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance**. [S. l.], 2017.

WHO. **Leishmaniasis**. [S. l.], 2023c.

WHO. **Menos de 10% das pessoas com Chagas recebem um diagnóstico - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde**. [S. l.], 2023d. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/13-4-2023-menos-10-das-pessoas-comchagas-recebem-um-diagnostico>>. Acesso em: 11 dez. 2024.

WHO. **Neglected tropical diseases**. [S. l.], 2019.

WHO. **Neglected tropical diseases**. [S. l.], 2023e.

WHO. **World Malaria Report 2023**World Health Organization. Geneva: [s. n.], 2023f.

WILLIAMS, Jeff T. *et al.* Natural Chagas disease in four baboons. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 107–113, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0684.2008.00308.x>.

WOLFE, Nathan D. *et al.* Wild Primate Populations in Emerging Infectious Disease Research: The Missing Link?. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 149–158, 1998. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/4/2/98-0202_article.

WOLFE, Nathan D.; DUNAVAN, Claire Panosian; DIAMOND, Jared. **Origins of major human infectious diseases**. [S. l.: s. n.], 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **A global brief on vector-borne diseases**. [S. l.], 2014.

WORSLEY-TONKS, Katherine E L *et al.* Strengthening global health security by improving disease surveillance in remote rural areas of low-income and middle-income countries. **The Lancet Global Health**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. e579–e584, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214109X22000316>.

WU, Yun *et al.* Detection of *Pneumocystis jirovecii* and *Toxoplasma gondii* in patients with lung infections by a duplex qPCR assay. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. e0010025, 2021. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0010025>.

YAMASAKI, Tasciane *et al.* Detection of etiological agents of malaria in howler monkeys from Atlantic Forests, rescued in regions of São Paulo city, Brazil. **Journal of Medical Primatology**, [s. l.], v. 40, n. 6, p. 392–400, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0684.2011.00498.x>.

ZABALGOTIA, MIGUEL *et al.* Morphologic and functional characterization of chagasic heart disease in non-human primates. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 248–252, 2003. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/68/2/article-p248.xml>.

ZHOU, Yinling *et al.* One Health governance: theory, practice and ethics. **Science in One Health**, [s. l.], v. 3, p. 100089, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2949704324000283>.

ZICCARDI, Mariangela *et al.* Trypanosomes of non-human primates from the National Centre of Primates, Ananindeua, State of Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 95, n. 2, p. 157–159, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762000000200004&lng=en&tlng=en.

ZINGALES, Bianca *et al.* The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 240–253, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134811004564>.

ZINSSTAG, J. *et al.* From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. **Preventive Veterinary Medicine**, [s. l.], v. 101, n. 3–4, p. 148–156, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587710002023>.

ZORZENON, Francisco José. Noções sobre as principais pragas urbanas. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 231–234, 2002.

ZUCCALA, Elizabeth S.; BAUM, Jake. **Cytoskeletal and membrane remodelling during malaria parasite invasion of the human erythrocyte**. [S. l.: s. n.], 2011.

IX. APÊNDICE 1: VERSÃO PRELIMINAR DE ARTIGO CIENTÍFICO PARA PUBLICAÇÃO

“Marmosets in urban environments: the role of *Callithrix penicillata* as a reservoir of parasites in the Federal District of Brazil”

Ludmilla Melanie^a, Vitória França dos Santos Pessoa^a, Davi E.R. Sousa^b, Isabel L. Macêdo^b, Liz A. Cerqueira, Marcio B. Castro^b, Nadjar Nitz^a, Bruno Dallago^a, Mariana Hecht^a, Luciana Hagström^{a,c*}

^aInterdisciplinary Laboratory of Biosciences, Faculty of Medicine, University of Brasília, Brasília, Brazil

^bVeterinary Pathology and Forensics, Via L4 Norte, University of Brasília, Brasília, Federal District, Brazil

^cFaculty of Physical Education, University of Brasília, Brasília, Brazil

*hagstrom@unb.br

Abstract

Urbanization and deforestation have caused significant changes in natural and rural landscapes. Population growth and the degradation of natural habitats have forced many wildlife species, including neotropical non-human primates (NHPs), to adapt to semiurban and urban areas to ensure their survival. This increasing proximity between wildlife, humans, and domestic animals can impact public and veterinary health, influencing the dynamics of disease transmission. Among the NHPs that demonstrate a high capacity for adaptation to periurban and urban environments, *Callithrix penicillata*, a species native to the Cerrado and widely distributed in the Federal District (FD), stands out. These marmosets can act as hosts and reservoirs for various parasites, potentially contributing to the transmission of infectious agents of medical and veterinary interest. This study aimed to evaluate the role of free-ranging *C. penicillata* in the FD as a potential reservoir of parasitic diseases, focusing on infections caused by *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.*, *Toxoplasma gondii*, and *Plasmodium spp.* Additionally, we aimed to map the occurrence of these infections across different regions of the FD to identify potential transmission areas. DNA was extracted from the liver of dead free-ranging *C. penicillata* found in different locations across the FD, followed by the detection and/or quantification of parasitic load using qPCR. The results indicated *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, and *T. gondii* infections in marmosets from several administrative regions of the FD, highlighting the widespread circulation of these protozoa in the local fauna. *Plasmodium spp.* was not detected in any of the samples analyzed. Of interest, 9.10% of the animals exhibited mixed infections, with the most common being *T. cruzi* and *T. gondii*, observed in 12 marmosets. These findings underscore the importance of monitoring wildlife to understand the ecology of these etiological agents and their potential impacts on public and animal health.

Key words: Primates; wildlife; Brasília; parasitic diseases; one health.

1. Introduction

Urbanization associated with deforestation are factors that contribute to wildlife adapting to periurban and urban environments, areas that typically offer more food resources than their natural habitats. The presence of wildlife in urbanized areas brings them closer to domestic animals and humans. In addition to concerns about the biodiversity of species less adaptable to fragmented habitats, this can have significant impacts on both veterinary and human health, altering the transmission of numerous diseases (for review, Mackenstedt *et al.*, 2015). In this context, it is estimated that over 75% of diseases affecting humans are zoonotic in origin and are linked to both wild and domestic animals (Taylor *et al.*, 2001).

Among the wildlife species that easily adapt to periurban and urban environments are some non-human primates (NHP). One such species is *Callithrix penicillata* (family Callitrichidae), commonly known as black-tufted marmoset or star marmoset, endemic to Brazil, and readily found in the Brazilian Cerrado, particularly in the Federal District (FD), Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, and Minas Gerais (Rylands and Mittermeier, 2009).

Like other NHPs, *Callithrix* species are sentinel species for zoonoses and may serve as reservoirs for various protozoa (Wolfe *et al.*, 1998; Gillespie and Chapman, 2008). Within the family Trypanosomatidae, two genera of parasites that can cause severe diseases in humans, domestic animals, and NHPs can be highlighted: *Trypanosoma* (Ziccardi *et al.*, 2000; Coimbra *et al.*, 2020) and *Leishmania* (Carneiro *et al.*, 2012; Paiz *et al.*, 2018). In the genus *Trypanosoma*, *Trypanosoma cruzi* stands out as the etiological agent of Chagas disease (WHO, 2019). In 1909, Carlos Chagas discovered a species of *Trypanosoma* in the blood of *C. penicillata* (Chagas, 1909), and since then, free-living and captive NHPs have been naturally infected with *T. cruzi* (Ziccardi *et al.*, 2000; Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Coimbra *et al.*, 2020). In this regard, Minuzzi-Souza *et al.*, (2016) reported the vectorial transmission of *T. cruzi* in captive primates at the Brasília Zoo (FD). A subsequent study by Reis *et al.*, (2020), conducted in the same location, detected *T. cruzi*-infected mammals, of which 60.7% were NHPs. Of 11 primates from the Callitrichidae family tested, eight were infected (Reis *et al.*, 2020). These studies highlight the importance of NHPs as hosts for *T. cruzi* and

suggest that there may be a high infection rate for this parasite in wildlife in the FD region.

The genus *Leishmania* comprises 54 species, 21 of which are pathogenic to humans. Leishmaniasis can be zoonotic, anthroponotic, or anthroponozoonotic. It affects mammals, and the clinical manifestations and degree of pathogenicity vary widely (for review, Akhoundi *et al.*, 2017). Paiz *et al.*, (2019) demonstrated natural infection by *L. infantum*, the agent of visceral leishmaniasis (VL), in five *C. penicillata* and two *C. jacchus* NHPs from an environmental protection area (APA) in southeastern Brazil. Venial *et al.*, (2023) investigated *L. braziliensis* infection in mammals, finding *Callithrix* species positive for the protozoan. Another study in the urban forest of Salvador by Trüeb *et al.*, (2018) investigated *T. cruzi* and *Leishmania sp.* infections in wildlife, identifying *Callithrix* species infected with *Leishmania sp.* In the FD, Reis *et al.*, (2020) also identified *Leishmania spp.* infected NHPs.

Apicomplexa is a taxonomic group of protozoa that includes *Plasmodium sp.* and *Toxoplasma gondii*. The latter is the causative agent of toxoplasmosis, an infectious disease that represents a major public health concern worldwide and imposes a high medical-social cost. It affects not only human health but also that of domestic and wild animals. The parasite is found in the feces of cats and other felids, the definitive hosts of the disease, and can also affect birds, humans, and other mammals, such as NHPs, which are intermediate hosts (for review, Aguirre *et al.*, 2019). In this regard, toxoplasmosis is a potentially severe disease in NHPs (Casagrande *et al.*, 2013). Casagrande *et al.* (2013) identified *T. gondii* infection in a *C. penicillata* found dead in Santa Catarina state. In the study by Molina *et al.*, (2014), 16.6% of *C. penicillata* examined tested positive for *T. gondii*.

Another disease of significance is malaria, which also has a major impact on public health in tropical and subtropical regions. Different *Plasmodium* species can infect birds, reptiles, rodents, NHPs, and humans. The main species that infect humans are *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, and *P. knowlesi* (for review, Su *et al.*, 2019), and at least 15 species infect NHPs (Leclerc *et al.*, 2004). NHPs are considered important hosts for *Plasmodium sp.* (Krief *et al.*, 2010). Some studies highlight the possibility that non-human *Plasmodium* species can infect humans, presenting a high risk of infection, disease, and death (for review, Baird, 2009). Given this, deepening our understanding of zoonotic malaria and identifying other

Plasmodium species that can cause zoonoses is critical to better assess the risks to human health.

Considering the evidence that wildlife serves as reservoirs or hosts for protozoa, and that with deforestation and urbanization the contact between NHPs, domestic animals, and humans is increasing, it is crucial to gather more information about this interaction to understand the risks to species, which may affect biodiversity and human health. In particular, the black-tufted marmoset (*C. penicillata*), a species widely found in the FD, has shown excellent adaptation to the urbanized areas of this region with close contact with domestic animals and the human population. Thus, this study is justified by ecological and public health concerns, aiming to evaluate the potential of free-living *C. penicillata* in the FD as a reservoir for parasitic diseases. The investigation of medically important protozoa in free-living *C. penicillata* in the FD will provide data on the potential transmission and spread of parasitic diseases, particularly from this NHP to humans, in this region of Brazil. Moreover, the results may be useful for implementing prophylactic measures aimed at the prevention and control of zoonoses.

2. Material and methods

Marmosets samples

A descriptive prevalence study was conducted using biological samples from free-living *C. penicillata* primates collected from various regions of the Federal District (FD). The animals were found dead and retrieved by the local population from different Administrative Regions (ARs) of the FD, the Environmental Health Surveillance Secretariat (DIVAL - Zoonoses), or the Wild Animal Rescue Center (CETAS). Subsequently, the animals were sent to the Veterinary Pathology Laboratory at the University of Brasília (LPV/UnB), where post-mortem examinations and yellow fever testing were performed, as LPV/UnB is the regional reference laboratory of the Ministry of Health for yellow fever diagnosis in NHPs. The study included *C. penicillata* collected between 2018 and 2023, for which the rescue location information was provided and documented. The sample size consisted of 232 marmosets.

DNA extraction procedures and parasite load

Liver samples was subjected to DNA extraction using the commercial kit PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen™, Massachusetts, USA), following the manufacturer's recommendations. The quality and integrity of the DNA samples were assessed by conventional PCR (cPCR) using amplification of the constitutive β -actin gene (Rossi *et al.*, 1994).

The qPCRs (*Real-time polymerase chain reaction*) were performed using a detection system with the intercalating dye SYBR® Green. In all reactions, 50 ng/ μ L of template DNA was used in a final volume of 20 μ L. Negative and positive controls were included in all reactions. Technical duplicates were performed for all qPCRs. After the qPCRs, the specificity of the reaction was evaluated through the analysis of the dissociation curve formed. The quantification of DNA copy numbers of *T. cruzi* and *T. gondii* was carried out using a standard curve previously established with successive dilutions of the parasites. For *Leishmania spp.* and *Plasmodium spp.*, only parasite detection was performed.

Trypanosoma cruzi quantification

It was used 0.2 μ M of each primer (TcZ 3 and 4) and 10 μ L of 1X GoTaq® qPCR Master Mix, 2X (Promega), and 2 μ L template DNA, totaling a final volume of 20 μ L. The qPCR conditions were as follows: 50°C for 2 minutes (due to the presence of dUTP in the master mix), 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles of 95°C for 15 seconds, 60°C for 45 seconds, and 72°C for 10 seconds. The amplifications were performed in duplicates, using 96-well plates (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®), in the StepOne Plus thermocycler (Applied Biosystems, CA, USA).

Toxoplasma gondii quantification

For the qPCR reactions, 2 μ L of DNA from the NHPs, 0.2 μ M of each primer (TOXO-F and TOXO-R), and 10 μ L of PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix 1X

(Applied Biosystems, CA, USA) were used, totaling a final volume of 20 μ L. The qPCR conditions were as follows: 50°C for 2 minutes and 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles at 95°C for 15 seconds, 60°C for 45 seconds, and 72°C for 10 seconds. The amplifications were performed in duplicates, using 96-well plates (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®) and the Applied Biosystems™ QuantStudio 3 thermocycler.

Leishmania spp. detection

In all qPCRs, 2 μ L of template DNA, 0.2 μ M of each primer (LITSR and L5.8S), and 10 μ L of 1X PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, CA, USA) were used. The amplification conditions were as follows: 50°C for 2 minutes, 94°C for 15 seconds, followed by 40 cycles at 94°C for 10 seconds, 53°C for 40 seconds, and 72°C for 10 seconds. The reactions were performed in duplicates, using 96-well plates (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®), in the StepOne Plus thermocycler (Applied Biosystems, CA, USA).

Plasmodium spp. Detection

For the qPCR reactions, 2 μ L of DNA from the NHPs, 0.2 μ M of each primer (M60 and M61), and 10 μ L of 1X PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, CA, USA) were used. The qPCR conditions were as follows: 50°C for 2 minutes, 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles at 94°C for 30 seconds, 61°C for 30 seconds, and 72°C for 30 seconds. The amplifications were performed in duplicates, using 96-well plates (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®), in the Applied Biosystems™ QuantStudio 3 thermocycler.

3. Results

Out of the 232 samples, 223 were tested for *T. cruzi*. Of these, 47 were positive (20.80%) and 178 were negative (79.20%). The analysis of the dissociation curve confirmed the specific amplification of *T. cruzi* nDNA in all samples considered positive. The parasitic load ranged from 0.09 to 2572.18 par. eq./100 ng DNA.

Detection and quantification of *T. gondii* parasitic load were performed on 229 sample units from 2018 to 2023. *T. gondii* positivity was identified in 91 marmosets (39.77%). The analysis of the dissociation curve from the qPCRs confirmed the specific amplification of the target DNA in the positive samples. Regarding the parasitic load, it ranged from 43 (in 2018) to 278,193,315 par. eq./100 ng of DNA (in 2021).

Out of the 232 samples, 172 were tested for *Leishmania spp.* Of these, 20 were positive (11.63%). No experimental sample showed a positive result for *Plasmodium spp.*

The evaluation of the frequency of mixed infections by *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, and *T. gondii* in NHPs revealed that 9.10% (21/232) of the analyzed samples were infected by more than one protozoan. The most common mixed infections were caused by *T. cruzi* and *T. gondii*, with 12 cases (57.14% of mixed infections). Co-infection by *Leishmania spp.* and *T. gondii* occurred in seven monkeys (33.33% of mixed infections), and by *T. cruzi* and *Leishmania spp.* in one case (4.76%). One *C. penicillata* individual was infected by all three parasites. The highest prevalence of mixed infections was found in individuals found dead in 2019 and 2021, with six cases in each year, followed by 2022 with three cases, and 2018, 2020, and 2023 with two cases each.

4. Discussion

The present study investigated the potential of free-living *C. penicillata* from the FD to act as reservoirs of *T. cruzi*, *Leishmania spp.*, *T. gondii*, and *Plasmodium spp.* In this context, black-tufted marmosets found in different administrative regions of the FD were analyzed. *C. penicillata* is both resident and native to this region (Bouchardet; Fonseca; Lacher, 1984; Faria, 1986; Miranda; Faria, 2001). It is worth highlighting that

the FD is in the Central Plateau, an area characterized by a great diversity of natural landscapes (CODEPLAN, 2017), which offer favorable conditions for the survival of *C. penicillata* (Bicca-Marques; Freitas; Fialho, 2015). It has been demonstrated that this species inhabits both natural habitats and urban and periurban environments, benefiting from the availability of food resources and the connectivity between fragments of native vegetation (Bernardes Dias *et al.*, 2022).

Molecular biology was used for the detection of medically important parasites in *C. penicillata*. PCR has been used in the diagnosis of several diseases. This technique allows for the detection and quantification of parasites even in cases where the parasitic load is low, in addition to having high sensitivity and being applicable to various types of tissues (Hagström *et al.*, 2019). The biological sample used was the liver, as it enables the detection of all four targets of this study (*T. cruzi*, *Leishmania spp.*, *T. gondii*, and *Plasmodium spp.*).

With population growth, urbanization, and deforestation, the proximity between humans and wildlife has increased. This brings problems both for humans, making zoonoses more frequent, and for domestic and wild animals, potentially impacting biodiversity. One Health is an interdisciplinary and multisectoral approach that concerns the health and well-being of humans, animals, and ecosystems in an interconnected way. This approach aims, among other things, to prevent public and environmental health threats, avoiding, for example, outbreaks and epidemics of zoonoses (Jenkins, Clinton N. *et al.*, 2015). Investigating protozoan infections of medical importance in *C. penicillata* is part of One Health actions, enabling the prevention of transmissible diseases, mitigating environmental impact, and promoting the management of natural and financial resources related to health. Moreover, One Health emphasizes the need for parasitic surveillance in wild, free-living animals (Thompson, 2013).

In 1909, Carlos Chagas found a species of *Trypanosoma* in the blood of *C. penicillata* (Chagas, 1909), and since then, free-living or captive neotropical NHPs have been naturally infected with *T. cruzi* (Coimbra *et al.*, 2020; Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Ziccardi *et al.*, 2000). Although infection in NHPs is usually subclinical, clinical manifestations and severe disease have been reported in NHPs (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016; Sathler-Avelar *et al.*, 2018). Seven free-living marmosets of the genus *Callithrix* infected with *Trypanosoma sp.* (33% of the sample) were found in the Botanical Garden

of Rio de Janeiro (Brazil), located in a high-population-density area (Coimbra *et al.*, 2020). In our study, 20.80% (47/223) of *C. penicillata* tested positive in qPCR for *T. cruzi*. Wild reservoirs of *T. cruzi* were first documented in the FD in 2004 (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2004).

Later, infection by this parasite was also detected by qPCR in 65.38% (17/26) of captive NHPs from eight different species at the Brasília Zoo, including three *C. penicillata*. Vector transmission of *T. cruzi* was observed, as both infected triatomines and positive NHPs born to negative mothers were found at the zoo. One *C. geoffroyi* became infected with *T. cruzi* during the study period (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016). The authors suggest that both the vectors and the parasites originate from gallery forests near the zoo. It is worth noting that although these NHPs are in captivity, they pose a risk to other animals at the zoo and to the human population, particularly the caretakers and veterinarians (Minuzzi-Souza *et al.*, 2016). Subsequently, another study conducted at the same location detected mammals infected with *T. cruzi*, of which 60.7% were NHPs. Of the 11 primates from the *Callitrichidae* family tested, eight were infected. Additionally, five triatomines infected with *T. cruzi* were found, once again suggesting vector transmission at the site (Reis *et al.*, 2020). Together, all these results highlight the active circulation of *T. cruzi* in the urban and periurban areas of the FD.

Roque and Jansen (2014) provide an important review on non-human mammalian hosts/reservoirs responsible for maintaining different species of *Leishmania* in nature, including NHPs. In fact, several studies have investigated the presence of *Leishmania sp.* in wild mammals (Cardoso *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2019; Paiz *et al.*, 2019; Venial *et al.*, 2022). In the FD, there is a lack of knowledge regarding the possibility of synanthropic animals, particularly NHPs, acting as reservoirs for *Leishmania spp.*

In an indigenous land in the state of Amapá, *L. infantum* infection was recorded in two wild rodents, one of which was obtained through subsistence hunting by the local population, and the other was collected from the peridomestic area (Moreno *et al.*, 2020). In a protected environmental area in southeastern Brazil, *L. infantum* infection was demonstrated in seven marmosets of the genus *Callithrix*, five of which were individuals of the species *C. penicillata* (Paiz *et al.*, 2019). In our study, 11.63% (20/172) of *C. penicillata* were found to be infected with *Leishmania spp.*

In the FD, a previous study conducted at the Brasília Zoo demonstrated that 23 mammals from 15 species were infected with *Leishmania sp.* (infection rate of 31.1%), one of which was a non-human primate (NHP) from the Callithrichidae family (Reis *et al.*, 2020). In wild animals in an endemic area for LV in the state of Bahia, two out of five *Callithrix sp.* were infected with *Leishmania sp.* (Trüeb *et al.*, 2018).

Apicomplexa is a taxonomic group of protozoa that includes *Plasmodium sp.* and *Toxoplasma gondii*. The latter is found in the feces of cats and other felines, which are the definitive hosts of the disease, and can also affect birds, humans, and other mammals, such as NHPs, which are the intermediate hosts (for review, Aguirre *et al.*, 2019).

In a forest fragment of the Brazilian Cerrado in the state of São Paulo, 16.6% (8/48) of *C. penicillata* investigated were positive for *T. gondii* (Molina *et al.*, 2014). In FD the infection rate for *T. gondii* in *C. penicillata* was much higher, corresponding to 39.77% (91/229). It is important to note that through necropsy of the animals, it was concluded that the cause of death was not toxoplasmosis, as no liver lesions characteristic of the disease were observed (data not shown). However, the lack of significant hepatic alterations may be due to the high number of *C. penicillata* that showed pronounced diffuse autolysis. This is a process of cellular and tissue degradation that occurs naturally as part of decomposition and can complicate the interpretation of histopathological findings.

Protozoa of the *Plasmodium* genus infect NHPs (non-human primates) in tropical and subtropical regions around the world. Knowledge about the species that infect these animals can provide important information for human malaria and the potential zoonotic risk of NHPs. In fact, this parasite can cross species barriers and infect humans. *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*, two of the main species responsible for human malaria, originated from transmission between an NHP *Plasmodium* species and humans (for review, Faust; Dobson, 2015).

Our results revealed cases of co-infection by protozoa in *C. penicillata*, a finding that supports the understanding that NHPs often harbor multiple pathogens simultaneously. These findings highlight the need to investigate the interactions between different parasites in NHPs, considering both the impacts on the health of wild and synanthropic populations, as well as the potential risks of zoonoses. This scenario becomes even more concerning in fragmented environments, such as those in the FD,

where the proximity between NHP populations and human activities can intensify pathogen transmission. This contact promotes the occurrence of mixed infections, increasing the diversity of parasitic communities in these hosts.

5. Conclusions

The results obtained in this research are of great relevance within the One Health approach and provide unique findings in the FD regarding the prevalence of *T. cruzi*, *Leishmania sp.*, *T. gondii*, and *Plasmodium sp.* in free-living NHPs inhabiting urban and peri-urban areas of the region. The discoveries contribute to the understanding of parasitic infections in *C. penicillata* in the FD, addressing aspects such as prevalence, geographic distribution, and parasitic load. These findings have generated valuable data for understanding the health of these NHPs and their implications for local ecological dynamics.

6. References

Aguirre, A.A.; Longcore, T.; Barbieri, M.; Dabritz, H.; Hill, D.; Klein, P.N.; Lepczyk, C.; Lilly, E.L.; McLeod, R.; Milcarsky, J.; Murphy, C.E.; Su, C.; VanWormer, E.; Yolken, R.; Sizemore, G.C. The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. **Ecohealth**. 16(2):378-90, 2019.

Akhoundi, M.; Downing, T.; Votýpka, J.; Kuhls, K.; Lukeš, J.; Cannet, A.; Ravel, C.; Marty, P.; Delaunay, P.; Kasbari, M.; Granouillac, B.; Gradoni, L.; Sereno, D. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. **Mol Aspects Med**. 57:1-29, 2017.

Baird, J.K. Malaria zoonoses. *Travel Med Infect Dis*. 7(5):269-77, 2009.
Carneiro, L.A.; Laurenti, M.D.; Campos, M.B.; Gomes, C.M.C.; Corbett, C.E.P.; Silveira, F.T. Susceptibility of peritoneal macrophage from different species of neotropical primates to ex vivo *Leishmania (L.) infantum* chagasi-infection. **Rev Inst Med Trop**. 54(2):95-101, 2012.

Casagrande, R.A.; Da Silva, T.C.E.; Pescador, C.A.; Borelli, V.; Souza Jr, J.C.; Souza, E.R.; Traverso, S.D. Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. **Pesq Vet Bras**. 33(1):94-8, 2013.

Coimbra, D.P.; Penedo, D.M.; Silva, M.O.M.; Abreu, A.P.M.; Silva, C.S.; Ierona, C.E.; Heliodoro, G.C.; Massard, C.L.; Nogueira, D.M. Molecular and morphometric identification of *Trypanosoma* (Megatrypanum) minasense in blood samples of marmosets (*Callithrix*: Callithrichidae) from the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitol Int**. 75:101999, 2020.

Gillespie, T.R.; Chapman, C.A. Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host–parasite interactions relative to an unfragmented forest. **Am J Primatol**. 70:222–30, 2008.

Krief, S.; Escalante, A.A.; Pacheco, MA.; Mugisha, L.; André, C.; Halbwax, M.; Fisher, A.; Krief, J.M.; Kasenene, J.M.; CranFDield, M.; Cornejo, O.E.; Chavatte, J.M., Lin, C.; Letourneur, F.; Grüner, A.C.; McTchan, T.F.; Rénia, L.; Snounou, G. On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *Plasmodium falciparum* from Bonobos. **PLoS Pathog**. 6:e1000765, 2010.

Leclerc, M.C.; Hugot, J.P.; Durand, P.; Renaud, F. Evolutionary relationships between 15 *Plasmodium* species from new and old-world primates (including humans): an 18S rDNA cladistic analysis. **Parasitology**. 129(Pt 6):677-84, 2004.

Mackenstedt, U.; Jenkins, D.; Romig, T. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. **Int J Parasitol Parasites Wild**. 4(1):71-9, 2015.

Paiz, L.M.; Motoie, G.; Richini-Pereira, V.B.; Langoni, H.; Menozzi, B.D.; Tolezano, J.E.; Donalisio, M.R. Antibodies and Molecular Detection of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in Samples of Free-Ranging Marmosets (Primates: Callitrichidae: *Callithrix* spp.) in an Area of Canine Visceral Leishmaniasis in Southeastern Brazil. **Vector Borne Zoonotic Dis**. 9(4):249-54, 2019.

Reis, F.C.; Minuzzi-Souza, T.T.C.; Neiva, M.; Timbó, R.V.; Morais, I.O.B.; Lima, T.M.; Hecht, M.; Nitz, N.; Gurgel-Gonçalves, R. Trypanosomatid infections in captive wild mammals and potential vectors at the Brasilia Zoo, Federal District, Brazil. **Vet Med Sci**. 6(2):248–56, 2020.

Rylands A.B.; Mittermeier, R.A. The Diversity of the New World Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. *Developments in Primatology: Progress and Prospects*. **Springer**, 2009.

Su, X.Z.; Lane, K.D.; Xia, L.; Sá, J.M.; Wellems, T.E. *Plasmodium* Genomics and Genetics: New Insights into Malaria Pathogenesis, Drug Resistance, Epidemiology, and Evolution. **Clin Microbiol Rev**. 32(4) :e00019-19, 2019.

Taylor, L.H.; Latham, S.M.; Woolhouse, M.E. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol Sci.* 356(1411):983–99, 2001.

Trüeb, I.; Portela, R.D.; Franke, C.R.; Carneiro, I.O.; Ribeiro Jr, G.J.; Soares, R.P.; Barrouin-Melo, S.M. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. Infection in wildlife from urban rainforest fragments in Northeast Brazil. *J Wildl Dis.* 54(1):76-84, 2018.

Venial, H.J.; Montoya, A.; Checa, R.; Miró, G.; Uzai, G.J.S.; Silva, M.A.; Nunes, L.C.; Silveira, R.L.; Carvalho, E.C.Q. Investigation of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* Infection in Wild Mammals in Brazil. *Acta Parasitol.* 67(2):648-57, 2022.

WHO, 2019. Media centre: chagas disease (American trypanosomiasis). **Fact sheet** 1–6.

Wolfe, N.D.; Escalante, A.A.; Karesh, W.B.; Kilbourn, A.; Spielman, A.; Lal, A.A. Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link? **Emerg Infect Dis.** 4:149–58, 1998.

Ziccardi, M.; Lourenço-de-Oliveira, R.; Lainson, R.; Brigido, M.C.O.; Muniz, J.A.P.C. Trypanosomes of non-human primates from the National Centre of Primates, Ananindeua, State of Pará, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 95(2):157–59, 2000.