



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS  
DOUTORADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**



**LUCIEN ROBERTA VALENTE MIRANDA DE AGUIRRA**

**Imunodeteccção de *Toxoplasma gondii* em útero gestacional e placenta de  
tayassuídeos silvestres da Amazônia peruana**

**BELÉM  
2020**

**LUCIEN ROBERTA VALENTE MIRANDA DE AGUIRRA**

**Imunodeteccção de *Toxoplasma gondii* em útero gestacional e placenta de  
tayassuídeos silvestres da Amazônia peruana**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde Animal, para obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Washington Luiz Assunção Pereira.

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Ginés Aparicio Mayor

**BELÉM  
2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A284i Aguirra, Lucien Roberta Valente Miranda de  
Imunodeteção de *Toxoplasma gondii* em útero gestacional e placenta de tayassuídeos silvestres da  
Amazônia peruana / Lucien Roberta Valente Miranda de Aguirra. - 2020.  
57 f. : il. color.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA),  
Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2020.

Orientador: Prof. Dr. Washington Luiz Assunção Pereira  
Coorientador: Prof. Dr. Pedro Ginés Aparicio Mayor.

1. Mastofauna. 2. Sistema reprodutor feminino. 3. Protozoonose. I. Pereira, Washington Luiz  
Assunção, *orient.* II. Título

---

CDD 597.00285

**LUCIEN ROBERTA VALENTE MIRANDA DE AGUIRRA**

**Imunodeteccção de *Toxoplasma gondii* em útero gestacional e placenta de  
tayassuídeos silvestres da Amazônia peruana**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde Animal, para obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Washington Luiz Assunção Pereira.

Aprovado em: 28 de fevereiro de 2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Washington Luiz Assunção Pereira - Presidente  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

---

Prof. Dr. Raimundo Nonato Moraes Benigno - 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

---

Dr. Sandro Patroca da Silva - 2º Examinador  
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS – IEC

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Andrea Magalhães Bezerra - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

---

Prof. Dra. Adriana Maciel de Castro Cardoso Jaques - 4º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bárbara do Nascimento Borges - 1º suplente  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ – UFPA

---

Prof. Dr. Ednaldo da Silva Filho - 2º suplente  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZONIA – UFRA

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por estar concluindo mais uma etapa dessa longa jornada percorrida, pois sei que em todos os momentos, principalmente nos difíceis, ele esteve me mostrando o melhor caminho a seguir.

À **Universidade Federal Rural da Amazônia**, a qual tenho muito orgulho de fazer parte.

A todos os **membros do Laboratório de Patologia Animal da UFRA**, em especial a pesquisadora **Marcella Bernal** e as residentes **Natalia Freitas** e **Ranna Taynara**, por todo apoio logístico e psicológico durante essa árdua batalha e por proporcionarem momentos agradáveis e felizes durante o doutorado.

Ao Prof. Dr. **Washington Luiz Assunção Pereira**, por me mostrar o verdadeiro sentido da palavra orientador. Pela sua dedicação, paciência, empenho e amizade. Por sempre aceditar na finalização desse ciclo.

Ao chefe do Laboratório de Doenças Parasitárias em Animais, MVsc, PhD **J. P. Dubey** e sua equipe, em Maryland, USA, por fornecerem o anticorpo utilizado na imuno-histoquímica.

À **equipe** da Seção de Patologia Animal do **IEC** pelo processamento das amostras para IHQ.

Ao meu companheiro, **Francisco de Assis do Nascimento Ribeiro**, que em todos os momentos esteve ao meu lado, me apoiando, incentivando, sendo paciente, me fortalecendo e ajudando a realizar este sonho.

À minha filha **Eva**, que representa a minha força e perseverança diante das dificuldades. É por você e para você que meu mundo gira.

Aos meus pais **Carlos Roberto de Aguirra** e **Vera Lúcia Valente Miranda**, por me permitirem ser eu mesma diante das adversidades e por me apoiarem em todos os momentos.

**Está vitória não é somente minha, é de todos vocês!**

“Quando me tiraram o chão,  
Descobri que tinha asas,  
E podia voar”

**Autor desconhecido**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Geral</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2 Específicos</b> .....	<b>11</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
<b>3.1 O <i>Toxoplasma gondii</i></b> .....	<b>12</b>
3.1.1 Formas infectantes .....	12
<b>3.2 Ciclo biológico</b> .....	<b>14</b>
<b>3.3 Transmissão</b> .....	<b>16</b>
<b>3.4 Lesões induzidas nos tecidos</b> .....	<b>17</b>
<b>3.5 Diagnóstico</b> .....	<b>20</b>
<b>3.6 Resposta imune</b> .....	<b>21</b>
<b>3.7 Epidemiologia</b> .....	<b>24</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>4.1 Preceitos éticos</b> .....	<b>27</b>
<b>4.2 Procedência das amostras</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3 Animais e obtenção das amostras</b> .....	<b>27</b>
<b>4.4 Processamento laboratorial</b> .....	<b>28</b>
4.4.1 Protocolo Histopatológico .....	28
4.4.2 Protocolo de Imuno-histoquímica .....	28
<b>4.5 Análise estatística</b> .....	<b>29</b>
<b>5. RESULTADO</b> .....	<b>30</b>
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
<b>ANEXO 1</b> .....	<b>49</b>
<b>ANEXO 2</b> .....	<b>50</b>
<b>ANEXO 3</b> .....	<b>51</b>
<b>ANEXO 4</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXO 5</b> .....	<b>53</b>
<b>ANEXO 6</b> .....	<b>54</b>
<b>ANEXO 7</b> .....	<b>55</b>
<b>ANEXO 8</b> .....	<b>56</b>
<b>ANEXO 9</b> .....	<b>57</b>

## RESUMO

AGUIRRA, L. R. V. M. **Imunodeteção de *Toxoplasma gondii* em útero gestacional e placenta de tayassuídeos silvestres da Amazônia peruana.** 2020. 58 f. Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, 2020.

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário cosmopolita e intracelular obrigatório que afeta animais endotérmicos, incluindo o homem. A transmissão pode ocorrer pelas vias horizontal e vertical, esta última, em geral, acaba desencadeando patologias reprodutivas. Com isso, objetivou-se investigar a ocorrência de *T. gondii* em espécies da Família Tayassuidae de vida livre da Amazônia peruana, pela imunomarcagem do protozoário em tecido de útero gestacional e placenta. Para tanto, as amostras de tecido uterino e placentário de 36 *Pecari tajacu* e 42 *Tayassu pecari* foram analisadas pelas técnicas de histopatologia e imunohistoquímica, com os resultados correlacionados pelo teste qui-quadrado. Um total de 12 animais foram positivos (06 *P. tajacu* e 06 *T. pecari*). Na IHQ o *T. pecari* exibiu 7,14% de positividade para *T. gondii* em útero gestacional e 9,52% em placenta, enquanto o *P. tajacu* apresentou 11,11% em útero gestacional e 8,33% em placenta. As amostras imunorreativas em IHQ apresentaram intensidade variando de moderada a forte em ambos os órgãos das espécies analisadas, sendo observada as formas parasitárias no epitélio e tecido conjuntivo uterino e placentário, porém sem a observância das lesões características nos tecidos avaliados pelas técnicas de histopatologia e IHQ. Com isso foi possível determinar a existência da circulação do *T. gondii* em espécimes *T. pecari* e *P. tajacu* de vida livre da Amazônia peruana, possibilitando a continuidade do ciclo deste parasito no ecossistema da região e a transmissão vertical do parasito nestas espécies. Além de ser a primeira pesquisa que relaciona a imunodeteção de *T. gondii* em espécimes de *T. pecari* e *P. tajacu* analisando amostras de útero gestacional e placenta com detecção pela IHQ, que mostrou ser uma técnica altamente sensível.

**Palavras-chave:** Sistema reprodutor feminino, Imuno-histoquímica, Mastofauna, Protozoonose, Amazônia ocidental.



## ABSTRACT

AGUIRRA, L. R. V. M. **Immunodetection of *Toxoplasma gondii* in gestational uterus and placenta of wild tayassuids from the Peruvian Amazon.** 2020. 58 f. Doutorado of Animal Health and Production in Amazonia, Federal Rural University of Amazonia, 2020.

*Toxoplasma gondii* is a mandatory cosmopolitan and intracellular protozoan that affects endothermic animals, including humans. Transmission can occur through horizontal and vertical routes, the latter, in general, ends up triggering reproductive pathologies. Thus, the objective was to investigate the occurrence of *T. gondii* in species of the Tayassuidae Family of free life in the Peruvian Amazon, by immunomarking the protozoan in gestational uterus and placenta tissue. For that, the samples of uterine and placental tissue of 36 *Pecari tajacu* and 42 *Tayassu pecari* were analyzed by the techniques of histopathology and immunohistochemistry, with the results correlated by the chi-square test. A total of 12 animals were positive (06 *P. tajacu* and 06 *T. pecari*). In IHC, *T. pecari* exhibited 7.14% positivity for *T. gondii* in gestational uterus and 9.52% in placenta, while *P. tajacu* presented 11.11% in gestational uterus and 8.33% in placenta. The immunoreactive samples in IHC showed intensity varying from moderate to strong in both organs of the analyzed species, with parasitic forms being observed in the epithelium and uterine and placental connective tissue, but without observing the characteristic lesions in the tissues evaluated by the histopathology and IHC techniques. With that, it was possible to determine the existence of the circulation of *T. gondii* in *T. pecari* and *P. tajacu* specimens of free life in the Peruvian Amazon, allowing the continuity of the cycle of this parasite in the region's ecosystem and the vertical transmission of the parasite in these species. In addition to being the first research that links the immunodetection of *T. gondii* in specimens of *T. pecari* and *P. tajacu*, analyzing samples of gestational uterus and placenta with IHC detection, which proved to be a highly sensitive technique.

**Key words:** Female reproductive system, Immunohistochemistry, Mastofauna, Protozoonosis, Western Amazon.

## 1. INTRODUÇÃO

A Amazônia é uma região tropical que possui um clima equatorial quente e úmido associado a elevadas temperaturas e umidade do ar. Essas condições ambientais são propícias para a manutenção de protozoários no ambiente, favorecendo o risco da contaminação de humanos e animais (FRAGOSO, 1994; LEÃO, 1997).

O *Tayassu pecari* e o *Pecari tajacu* são animais que possuem ampla distribuição na Amazônia e podem ser considerados indicadores da qualidade ambiental (MAZZOLLI, 2006), funcionando como animais sentinelas das condições ambientais em que estão inseridos (NAVA, 2008), além de serem duas das espécies mais caçadas nas florestas tropicais para fins de consumo das comunidades locais (BODMER et al., 1996; CULLEN; BODMER; VALLADARES-PADUA, 2000, 2001).

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório causador da toxoplasmose e que possui grande relevância no contexto da saúde pública, ambiental e animal por ser um agente zoonótico de caráter cosmopolita (DUBEY et al., 2012). O parasito, por apresentar baixa especificidade, pode infectar uma ampla gama de hospedeiros endotérmicos, sendo considerado bem-sucedido mundialmente pela diversidade de hospedeiros (MONTROYA; LIESENFELD, 2004; SU et al., 2010).

Pelo fato dessa enfermidade não causar sinais clínicos em muitos casos, acredita-se que um número elevado de habitantes do planeta estejam infectados cronicamente pelo *T. gondii* (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012), cuja epidemiologia é dependente de múltiplos fatores, o que gera variabilidade de prevalência, tanto em animais quanto em humanos, conforme as condições ambientais e socioculturais, nichos ecológicos e hábitos alimentares, entre outros (DIAS; FREIRE, 2005; GONÇALVES et al., 2006).

O ciclo biológico do *T. gondii* é do tipo heteroxênico, desenvolvendo a fase sexuada somente nos membros da Família Felidae que são considerados os hospedeiros definitivos, enquanto a fase assexuada é observada nos hospedeiros definitivos e intermediários (MEIRELES et al., 2004).

A infecção pode ocorrer pelas vias horizontal, principalmente, pela ingestão de oocistos em água ou alimentos contaminados e, por se mostrar multifatorial, é reconhecida como a maior causadora da disseminação do *T. gondii*, ao passo que, a via vertical está relacionada à transmissão congênita via transplacentária (TENTER, HECKEROTH, WEISS, 2000; DUBEY, 2010).

Em muitos casos o *T. gondii* é capaz de causar alterações sistêmicas severas, sendo o período gestacional o de maior ocorrência, podendo levar ao aborto ou ao desenvolvimento de enfermidades congênitas nos hospedeiros. Nos animais de produção, como suínos, ovinos e caprinos, têm sido relatada a ocorrência de morte embrionária e fetal, aborto, mumificação, natimorto e mortalidade de suínos jovens, gerando perdas econômicas aos criadores. Já em animais silvestres, além dos problemas reprodutivos, a enfermidade pode se apresentar fatal para muitas espécies de pássaros, marsupiais, felídeos selvagens, macacos e mamíferos marinhos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; DUBEY, 2010).

A obtenção de diagnóstico laboratorial representa um importante dado para vigilância epidemiológica e saúde única (MONTROYA, 2002). Existem diversas técnicas de diagnóstico, uma delas é a sorologia, que identifica a presença de anticorpos específicos ao *T. gondii*, contudo, em muitos casos é necessária a associação com outras técnicas, tendo em vista que a sorologia indica o contato do hospedeiro, mas não constata a existência de protozoários viáveis à infecção (DUBEY, 2010). Em animais de produção a imuno-histoquímica (IHQ) tem apresentado bons resultados para avaliação do *T. gondii* em casos de abortos (DUBEY, 2009; MESQUITA et al., 2019).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Investigar a ocorrência de infecção por *Toxoplasma gondii* em tecido uterino e placentário de espécies da Família Tayassuidae de vida livre da Amazônia peruana.

### 2.2 Específicos

Detectar a infecção pelo *T. gondii* utilizando o método diagnóstico imunohistoquímico em tecido de útero gestacional e placenta de espécimes de *Tayassu pecari* e *Pecari tajacu*;

Avaliar através da histopatologia a presença de *T. gondii* e possíveis alterações em tecido de útero gestacional e placenta de *Tayassu pecari* e *Pecari tajacu*;

Demandar conhecimento sobre a participação dos tayassuídeos amazônicos na cadeia epidemiológica da toxoplasmose.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O *Toxoplasma gondii*

*T. gondii* é um protozoário pertencente ao Filo Apicomplexa, Gênero *Toxoplasma* e Espécie *Toxoplasma gondii* (SERCUNDES, 2010).

Os primeiros relatos desse parasito ocorreram em 1908, descrito na África por Nicolle e Manceaux em roedor *Ctenodactylus gundi* e, no Brasil, por Splendore em coelho *Oryctolagus cuniculus* (DUBEY, 2008). No Brasil, a primeira descrição em humanos ocorreu em 1927 no Estado do Rio de Janeiro (DUBEY et al., 2012).

Durante anos muitas espécies de *Toxoplasma* possuíram nomenclatura de acordo com o hospedeiro em que eram isolados (TENTER; JOHNSON, 1997). Porém, no ano de 1930, pesquisas biológicas e imunológicas baseadas em isolados de animais e humanos demonstraram que os protozoários analisados eram idênticos ao *T. gondii*, anteriormente descrito. Contudo, sua classificação ainda era instável e os estágios evolutivos não completamente identificados (LEVINE, 1961; TENTER; JOHNSON, 1997).

Em 1942, *T. gondii* foi identificado em gatos e, em 1967, foi observado que o parasito era adquirido pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes desses animais. A descoberta desses animais como hospedeiros definitivos ocorreu em 1970 e levou à elucidação do ciclo biológico completo do protozoário, com a descrição dos estágios sexuais no intestino delgado e os estágios assexuais em hospedeiros intermediários (DUBEY, 2008).

Atualmente sabe-se que a toxoplasmose é uma zoonose em que o ser humano é um dos hospedeiros intermediários, juntamente com aves e mamíferos. Os hospedeiros definitivos, tanto domésticos quanto silvestres, pertencem a Família Felidae que eliminam oocistos nas fezes, contaminando o ambiente e, conseqüentemente, seres humanos e animais (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

##### 3.1.1 Formas infectantes

O *T. gondii* desenvolve três formas infectantes: os taquizoítos, que ocorrem na infecção aguda; os bradizoítos, que são produzidos no interior de cistos teciduais na infecção crônica; e os esporozoítos, que se desenvolvem no interior dos oocistos presentes no meio ambiente (KAWAZOE, 2005).

O taquizoíta possui aspecto morfológico de arco, com uma das extremidades mais afilada e núcleo em posição aproximadamente central. Mede entre 2 $\mu$ m e 6 $\mu$ m e apresenta complexo apical formado de róptrias, micronemas e microtúbulos, conóide e anel polar (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; DUBEY, 2004).

O protozoário possui forma móvel que infecta, por penetração ativa da membrana, qualquer célula do hospedeiro intermediário e células epiteliais não intestinais de hospedeiros definitivos. Uma vez no citoplasma celular o taquizoíta gera o vacúolo parasitóforo que fornece a proteção necessária contra os mecanismos de defesa do hospedeiro (HIRAMOTO et al., 2001). Após infectarem as células, os taquizoítos iniciam uma multiplicação rápida e assexuada, por endodiogenia, onde ocorrem sucessivas divisões binárias até a ruptura da célula do hospedeiro e disseminação hematogênica (MONTROYA; LIENSENFELD, 2004; DUBEY; MORALES; LEHMANN, 2014).

Os taquizoítos são sensíveis à ação do suco gástrico e a desidratação osmótica, permanecendo viáveis por um período aproximado de duas horas sob a ação da enzima pepsina (DUBEY et al., 2002; KAWAZOE, 2002). Sobrevivem poucas horas no meio ambiente e em carcaças de animais devido ao decréscimo do pH durante a fase de transformação do músculo em carne (ARAUJO et al., 1998).

O bradizoíta é a forma de resistência observada em diversos tecidos de hospedeiros infectados. Possui morfologia de arco, contudo, é mais delgado que o taquizoíta, medindo entre 1,5 $\mu$ m a 7 $\mu$ m, com núcleo localizado na direção da extremidade posterior. Essa forma se desenvolve no interior do vacúolo parasitóforo da célula, em que a membrana serve como apoio para a produção da cápsula do cisto tecidual que, dependendo da célula parasitada e do percentual de bradizoítos em seu interior, pode atingir até 200 $\mu$ m (HUSKINSON-MARK; ARAUJO; REMINGTON, 1991; LEÃO, 1997).

Essa forma do *T. gondii* se multiplica lentamente por endopoligenia dentro do cisto tecidual, cuja parede é resistente e elástica, isolando os bradizoítos das reações imunológicas do hospedeiro. Apesar de serem associados à fase crônica, em algumas cepas, os bradizoítos são capazes de desenvolverem e serem encontrados ainda na fase aguda da infecção (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os cistos têm alta afinidade pelo tecido nervoso e muscular, podendo persistir ao longo da vida do hospedeiro de modo inofensivo (LEÃO, 1997) e raramente são encontrados em órgãos viscerais como fígado, pulmões e rins (FELICIO, 2010). Os bradizoítos, quando comparados ao taquizoítos, se mostram altamente resistentes à tripsina e à pepsina, permitindo-se permanecer viáveis nos tecidos por muitos anos. É possível que os cistos se

rompam e os bradizoítos se transformem em taquizoítos, invadindo novas células dos hospedeiros e podendo formar cistos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; TENTER et al., 2000; ROUGIER, MONTOYA, PEYRON, 2016).

Os oocistos são gerados durante a reprodução sexuada do *T. gondii* por gametogonia no interior das células do epitélio intestinal de felídeos não imunes, domésticos ou silvestres, representando uma das formas infectantes do parasito. O oocisto não esporulado é subsférico, com parede dupla, medindo entre 10µm e 12µm de diâmetro e que são eliminados imaturos junto com as fezes (DUBEY; THULLIEZ, 1993).

A esporulação ocorre no meio ambiente, entre um e cinco dias após a excreção. O oocisto esporulado é elíptico, possui entre 11µm e 13µm de diâmetro e cada um contém dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada, sendo uma forma infectante e altamente resistente do parasito (DUBEY, 1993; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; DUBEY; MORALES; LEHMANN, 2014).

Em condições ideais de oxigenação, umidade e temperatura, o poder de infectividade dos oocistos pode durar até dezoito meses, principalmente durante o período chuvoso, que favorece uma ampla e rápida dispersão. Além disso, os oocistos podem permanecer viáveis no solo, em áreas sombreadas com temperatura de 4°C, por período superior a um ano (VARGAS, 2010).

### **3.2 Ciclo biológico**

O *T. gondii* possui ciclo biológico heteroxênico, com reprodução assexuada nas células do hospedeiro intermediário, incluindo anfíbios, mamíferos, répteis, aves e peixes, já a reprodução sexuada ou coccidiana ocorre nas células epiteliais do intestino de felídeos, domésticos ou silvestres, jovens e não imunes (NEVES, 2003).

Na fase assexuada, os hospedeiros intermediários se infectam ao ingerirem os oocistos ou os cistos teciduais. Os taquizoítos são capazes de penetrar ativamente nas células da mucosa oral, contudo apresentam sensibilidade ao suco gástrico, sendo destruídos ao atingirem o estômago. Enquanto os oocistos e cistozoítos passam pelo estômago e liberam no intestino os esporozoítos e os bradizoítos, respectivamente, permitindo que estas formas realizem a invasão das células intestinais (KASPER; BOTHPOYD, 1993; NEVES, 2003).

A penetração do *T. gondii* nas células do hospedeiro ocorre de forma rápida e ativa, realizando movimentos de flexão, rotação e deslizamento, levando aproximadamente 15 a 75

segundos para adentrar a célula, tendo a estrutura do conóide sempre aderida na membrana celular do hospedeiro (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

Com a invasão das células do novo hospedeiro, o vacúolo citoplasmático inicia o processo de reprodução assexuada por endodiogenia, que expressa uma multiplicação rápida e caracteriza a fase aguda da enfermidade e a fase proliferativa do *T. gondii*, promovendo a ruptura das células e liberando os taquizoítos para invasão das células nas proximidades ou à distância, através da circulação linfática e sanguínea. O que determina a duração dessa fase é: o quantitativo de formas infectantes ingeridas, o estado imunitário do hospedeiro e a patogenicidade da cepa (NEVES, 2003).

Posteriormente ao quadro proliferativo agudo, a reprodução do parasito sofre redução expressiva pela ação do sistema imune do hospedeiro, de modo que os taquizoítos presentes no sangue, linfa ou órgãos viscerais desaparecem, dando início a formação dos cistozoítos que abrigam os bradizoítos no seu interior, definindo a fase de multiplicação lenta do parasito e a fase crônica da doença. Os cistozoítos podem ser formados em diversos tecidos, contudo, são mais observados no sistema nervoso central, músculos, retina e placenta, podendo permanecer viáveis no hospedeiro ao longo da vida (LANGONI et al., 2001).

A fase sexuada do protozoário ocorre de forma exclusiva nas células intestinais das espécies da Família Felidae, que são os hospedeiros definitivos do protozoário *T. gondii*, e se infectam por meio da ingestão de oocistos esporulados contendo esporozoítos, de cistos teciduais com bradizoítos ou de taquizoítos presentes nos órgãos e tecidos de hospedeiros intermediários, ao se alimentarem deles (TENTER et al., 2000; LANGONI et al., 2001).

Após a ingestão dos cistos teciduais, os zoítos liberados invadem as células da parede intestinal e iniciam sua reprodução por endodiogenia seguida de merogonia para a formação dos merontes, que em seguida rompem a célula e liberam os merozoítos que após sucessivas merogônias penetram em outras células intestinais para formação dos gametócitos masculino e feminino, iniciando à reprodução sexuada. A fusão dos gametas gera o zigoto que produz uma membrana cística rígida de parede dupla que rompe a célula, sendo eliminado com as fezes, como oocisto não esporulado. No ambiente esses oocistos esporulam e tornam-se infectivos (ARAMINI et al., 1999; TENTER et al., 2000; MAROBIN; FLORES; RIZZA, 2004)

A eliminação de oocistos pelos hospedeiros definitivos acontece geralmente na primo-infecção, tornando-se imunes por toda a vida, mesmo nos casos em que o hospedeiro definitivo se torna imunodeficiente ao se infectar com o Vírus da Leucemia Felina e o Vírus



da Imunodeficiência Felina, contudo, permanece o risco desses animais reagudizarem e, por conseguinte, excretarem oocistos (MONTAÑO et al., 2010).

Além disso, dependendo da forma infectante ingerida, do tempo decorrido entre a infecção e a eliminação do oocisto ainda imaturo em suas fezes, um felídeo pode eliminar por volta de 100 milhões de oocistos no ambiente no período de uma a duas semanas (HILL; SREEKUMAR; DUBEY, 2005; INNES et al., 2009). Essa forma esporulada pode sobreviver no ambiente por anos, conservando sua habilidade de infectar, quando colocados sob condições apropriadas e podendo ser carregados para outros lugares por invertebrados, como insetos (MONTAÑO et al., 2010).

A dispersão hematogena pode ocorrer concomitante com a invasão dos enterócitos, na fase sexuada, com estágios de multiplicação rápida pelo taquizoíto ou de multiplicação lenta com os bradizoítos, após a invasão de células do hospedeiro (DUBEY, 2004; MONTOYA; LIENSENFELD, 2004).

### 3.3 Transmissão

O *T. gondii* pode ser transmitido pelas vias horizontal e vertical. A via horizontal ocorre pela ingestão de oocistos esporulados ou cistos contendo bradizoítos ou taquizoítos. A via vertical está relacionada a passagem de taquizoítos da mãe para o feto através da placenta, principalmente na primo-infecção, podendo promover lesões de diferentes intensidades, bem como abortos ou natimortos, entre outras complicações (BIRCHARD; SHERDING, 2003; OLIVEIRA; BEVILACQUA; PINTO, 2004).

Os animais comumente se infectam ao ingerir oocistos esporulados presentes nas pastagens, plantas, fezes de felídeos ou água (MILLAR et al., 2008). Insetos e anelídeos auxiliam na dispersão dos oocistos, uma vez que são atraídos pelas fezes de felídeos e ao serem ingeridos por outros animais, como pássaros, galináceos e roedores, disseminam o protozoário na sua musculatura. O carnivorismo de animais infectados também é uma fonte importante de contaminação dos animais (TENTER et al., 2000; LANGONI et al., 2001; DUBEY, 2009).

Em humanos a transmissão ocorre de várias formas e o consumo da carne de animais selvagens como javali, porco do mato, lebre, urso, cervídeos e cangurus, tem se apresentado como uma fonte alternativa de infecção (OLIVEIRA; BEVILACQUA; PINTO, 2004).

Diversos autores, ao longo dos anos, relataram que a forma mais comum de surtos de contaminação em humanos ocorre pela ingestão de carne crua ou mal cozida e água ou

verduras contaminadas (RAWAL, 1959; NAVARRO et al., 1994; BONAMETTI et al., 1997; DIAS; FREIRE, 2005). Além disso, o risco da transmissão do *T. gondii* nos humanos está diretamente relacionado à soroprevalência existente nas espécies de animais de cada região e o hábito alimentar da população (COOK et al., 2000).

A infecção pode ser adquirida, inclusive, pelo consumo de leite não pasteurizado de animais contaminados em fase aguda da infecção (SPALDING et al., 2003) ou mesmo para bebês durante o aleitamento materno (POWELL; BREWER; LAPPIN, 2001).

Para o feto a transmissão ocorre pela via vertical. A fêmea gestante ao se infectar com *T. gondii* e desenvolver a fase aguda da enfermidade poderá transmitir o protozoário, uma vez que o mesmo se multiplica no tecido placentário e difunde para os tecidos fetais (ARAÚJO et al., 1998). Na fase crônica pode ocorrer o rompimento de cistos presentes no endométrio através da ação lítica das vilosidades coriônicas da placenta ou pela distensão mecânica, liberando os bradizoítos ou taquizoítos que infectam o feto (KAWAZOE, 2005).

A infecção congênita está relacionada, também, com a idade gestacional da mãe, a carga parasitária, sua competência imunológica durante a parasitemia e a virulência da cepa (RORMAN et al., 2006). Nos casos em que a infecção materna ocorre no terço inicial da gestação, existem grandes chances de ocorrer morte fetal, aborto espontâneo ou desenvolvimento de enfermidades fetais (CAMARGO, 1996; ACHA; SZYFRES, 2003; MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

### **3.4 Lesões induzidas nos tecidos**

O *T. gondii* acomete diversos animais, contudo, independente da espécie hospedeiro as lesões desencadeadas, em geral, são similares. O que as diferencia é a localização do parasita, pelo seu caráter intracelular (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Após a entrada do protozoário no organismo do hospedeiro, diversos sistemas podem ser afetados, como o nervoso, muscular, linfático, ocular ou placentário, entre outros (DUBEY; LAPPIN, 2006).

No globo ocular o *T. gondii* pode causar diversas alterações, comprometendo o trato uveal, retina e nervo óptico, causando uveíte, neurite óptica e retinocoroidite (SOUZA; 2003; LAPPIN, 2004). Além disso, em felinos já foram relatados precipitados ceráticos, descolamento de retina, iridociclite, irite, coriorretinite, flare aquoso, luxação de cristalino e glaucoma (DUBEY; LAPPIN, 2006; DUBEY, 2010). Em caninos, edema de pupila, edema perivascular temporal e exsudato peripapilar bilateral (ABREU et al., 2002).

O sistema nervoso central (SNC) é afetado quando o parasito ultrapassa a barreira hematoencefálica, infectando as células endoteliais do SNC, principalmente capilares, desencadeando edema e vasculite. A evolução da injúria tecidual pode levar ao desenvolvimento de hemorragia e necrose (McGAVIN; ZACHARY, 2012). O comprometimento pode se manifestar em diversas áreas, como nervos ou medula espinhal, córtex unilateral e cerebelo (PLUGGE et al., 2011). Em pequenos animais, Dubey e Lappin (1998), já observaram lesões como a descoloração do tecido nervoso, necrose cerebral e atrofia e necrose cerebelar.

Os taquizoítos podem ser observados em vacúolos parasitóforos presentes em neurônios, astrócitos, macrófagos e em fibroblastos, causando necrose e a formação de granulomas. As lesões histopatológicas mais comuns no SNC incluem malácia, gliose e encefalite ou meningoencefalomielite não supurativa (BJERKAS; PRESTHUS, 1989; DUBEY; LAPPIN, 1998; GROVES; HARRINGTON; TABOADA, 2004).

No sistema respiratório as lesões são variadas e multifocais, onde o parasito induz necrose intersticial com proliferação de pneumócitos do tipo II e infiltrado de células neutrofílicas e macrófagos (McGAVIN; ZACHARY, 2012), desencadeando uma pneumonia necrosante aguda (LAPPIN, 2006).

A linfadenopatia e a esplenomegalia são as alterações mais frequentes do sistema linfático (BRESCIANI et al., 2001; DUBEY; LAPPIN, 2006), enquanto no sistema digestório a hepatomegalia, associados a necrose (D'ARC-MORETTI et al., 2002). Nesse sentido, Smart, Downey e Stockdale (1973) e Harvey e Greeffydd-Jones (2010) descreveram a icterícia, colangite, ascite, hepatite e pancreatite relacionadas ao comprometimento do sistema hepatobiliar pela ação do *T. gondii* em felinos. Enquanto, Albuquerque et al. (2002) relataram em codornas, esplenomegalia, hepatomegalia e hipertrofia pulmonar. Já Casagrande et al. (2013) relataram em primatas neotropicais, esplenomegalia, hepatomegalia e hemorragias de estômago, intestino e bexiga.

Manifestações tegumentares já foram descritas em gata, em que o animal apresentou na glândula mamária, um nódulo cuja histopatologia revelou uma paniculite necrosante piogranulomatosa, vasculite e mastite, contendo taquizoítos, que posteriormente, por reação em cadeia da polimerase (PCR), foi confirmado se tratar do *T. gondii* (PARK et al., 2007). Outra descrição se refere a casos em dois cães que apresentaram múltiplos nódulos alopecicos ulcerados com material purulento e dermatite pustular generalizada (HOFFMAN et al., 2012).

A avaliação das alterações placentárias geradas pelo protozoário é dificultada, pelo fato de que geralmente a placenta não é liberada juntamente com o feto ou quando ocorre, muitas vezes já se encontra em autólise (SARTORI, 2011).

Em relação aos tecidos placentários e acometimentos de conceptos, a parasitemia durante a gestação pode levar a placentite e infecção fetal. Em gatas, a transmissão transplacentária pode promover o nascimento de filhotes natimortos ou mortos, abortos ou malformação fetal (LAPPIN, 2006; SAKAMOTO et al., 2009). Em cabras, o protozoário pode comprometer o desenvolvimento do embrião, levando a morte fetal, interferindo na taxa de reabsorção embrionária ou causando mumificação, além de abortos ou nascimento de animais debilitados (BUXTON, 1998; PESCADOR et al., 2007; ABU-DALBOUH et al., 2012; WANDERLEY et al., 2013; UNZAGA et al., 2014).

A descrição da enfermidade em período gestacional é mais discutida em animais de produção, pelo impacto que gera na economia. Em ovinos e caprinos diversos autores descreveram como principais lesões de placenta, as inflamações focais que progridem a necrose dos cotilédones, com focos de diferentes dimensões, em geral pequenos e esparsos, com pontos esbranquiçados ou branco-amarelados dispersos ou em forma de nódulos (BERVERLEY, 1971; SARTORI, 2011; MESQUITA et al., 2019).

As lesões iniciais ocorrem pela necrose de células mesenquimais das vilosidades fetais e infiltração de células mononucleares em conjunto com a hiperplasia e necrose coagulativa focal do epitélio trofoblástico. Taquizoítos solitários ou agrupados podem ser fazer presente nas células mesenquimais e no trofoblasto vizinho aos focos da necrose. Enquanto alterações crônicas exibem focos de necrose envolvendo vilos fetais e maternos, os quais podem apresentar mineralização, nesses casos os taquizoítos podem ser observados nas bordas de áreas que possuem necrose caseosa (SARTORI, 2011; MESQUITA et al., 2019).

Em humanos a transmissão do *T. gondii* durante a gestação pode ocasionar danos de diferentes graus de gravidade, como aborto, morte, restrição do crescimento intrauterino, prematuridade e acometimento de sistemas (JOINER; DUBREMETZ, 2013). Em alguns casos pode ocorrer a malformação Tétrade de Sabin, em que o feto desenvolve calcificações cerebrais, retinocoroidite, retardo mental, hidrocefalia e macro ou microcefalia (SARTORI, 2011).

Em filhotes de gatas infectados por via transplacentária ou durante a lactação foi relatada a presença de processos inflamatórios no fígado, pulmões e SNC, além de uveíte, ascite, encefalite (BRESCIANI et al., 2001; DUBEY; LAPPIN, 2006).

### 3.5 Diagnóstico

Por ser uma zoonose, o diagnóstico da toxoplasmose é de elevada importância para vigilância epidemiológica e saúde única, possuindo uma diversidade de métodos para diagnóstico. O diagnóstico indireto é realizado pela sorologia, já no direto é feita identificação das formas infectantes em tecidos pela histopatologia ou IHQ, ou através do bioensaio, inoculando digeridos de tecidos de hospedeiros suspeitos em camundongos, além da PCR, que permite a identificação pela detecção de segmentos característicos de seus ácidos nucleicos, depois de ampliados (ROSA et al., 2001; SARTORI, 2011).

A análise sorológica visa identificar a presença de anticorpos específicos do *T. gondii*, indicando que o hospedeiro teve contato com o protozoário em algum momento, não sendo possível saber se o mesmo apresenta protozoários viáveis à infecção. Por esse motivo, o exame sorológico, em geral, é associado a outros métodos de diagnóstico, uma vez que os níveis de anticorpos podem se manter elevados durante meses ou anos (MONTROYA, 2002; DUBEY, 2010).

Os testes sorológicos são baseados na pesquisa de anticorpos das classes de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE anti-*T. gondii*, buscando verificar se o curso da infecção pode ser considerado recente ou de latência (CONTRERAS et al., 2000). Os mais utilizados são o teste do corante de Sabin-Feldman, a imunofluorescência indireta (IFI), o ensaio de aglutinação por imunoabsorção de IgM (ISAGA), o teste de hemaglutinação passiva e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (BECK et al., 2013).

O diagnóstico molecular pela técnica da PCR é muito utilizado associado a outros exames, pois identifica o DNA do *T. gondii* em tecidos e secreções de amostras biológicas (SINGH, 1997; CARNEIRO, 2011). Contudo, a positividade não determina se o DNA amplificado se refere a fragmentos do parasito ou a parasitos viáveis. Nesses casos, a confirmação pode ser feita através do bioensaio em animais susceptíveis para indicar a viabilidade do parasito nos tecidos animais, porém esta é uma técnica onerosa e demorada (SILVEIRA, 2009; SARTORI, 2011).

Em animais, especialmente silvestres e de produção, tem sido utilizada a histopatologia e IHQ. A histopatologia permite a identificação de taquizoítos na fase aguda ou cistos teciduais na fase crônica. A qualidade da amostra, nos casos de óbito ou amostra fetal e placentária, é crucial para o diagnóstico correto, pois, nos tecidos em estado de decomposição a detecção é dificultada ou improvável pela autólise das estruturas (HILL; DUBEY, 2002; DUBEY, 2010). As amostras que exibem maiores chances de identificação são as que

apresentam focos necróticos puntiformes no sistema nervoso, fígado, pulmões e linfonodos infartados. Nos casos de aborto ou natimorto, sempre que possível, a placenta e/ou o feto devem ser encaminhados refrigerados para o laboratório (DUBEY, 2010).

Outro ponto importante a ser levado em consideração é que nos cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina a identificação do *T. gondii* é dificultada, tendo em vista que o protozoário não possui características tintoriais próprias que permitam a sua nítida distinção da coloração das células adjacentes, podendo ser confundido com estruturas ou fragmentos nucleares que se coram de forma semelhante (BARBOSA, 1988; VAN MAANEN et al., 2004). Desse modo, a IHQ associada a histopatologia se mostra como uma técnica importante no diagnóstico, visto que os achados histopatológicos podem ser inconclusivos (DA MOTA et al., 2008).

A IHQ tem como base a constatação de antígenos teciduais e apresenta bons resultados mesmo em animais com baixos títulos de anticorpos contra o agente. É uma técnica altamente específica e se mostra tão sensível quanto o bioensaio, sendo muito utilizada para confirmação em causas de aborto (DUBEY, 2009; DAGLEISH; BENAVIDES; CHIANINI, 2010; SILVA et al., 2013).

Nos diagnósticos pós-morte, mesmo em tecido decomposto, a pesquisa do parasito e/ou antígenos, a IHQ pode ser realizada utilizando-se anticorpos específicos e coloração imunofluorescente ou imunoenzimática. Onde o método da peroxidase-antiperoxidase (PAP), desenvolvido por Sternberger et al. em 1970, tem sido amplamente usado na identificação de diversos agentes infecciosos, particularmente o *T. gondii*, bem como a técnica imunoenzimática da avidina-biotina utilizada na detecção de oocistos (DAVIDSON et al., 1993; FALANGOLA; PETITO, 1993; VIOTTI et al., 1995; BUXTON, 1998; CONLEY; JENKINS; REMINGTON, 2001).

### **3.6 Resposta imune**

O conhecimento a respeito da resposta imune produzida pelo hospedeiro durante a infecção pelo *T. gondii*, surgiu principalmente de experimentos conduzidos em camundongos e que contribuíram para a compreensão dos eventos desencadeados a nível celular e humoral (VILLARINO; SCHMIDT, 2013; GERLIC; MASTERS, 2014; YAROVINSKY, 2014).

Esse processo tem início com a invasão do agente no organismo hospedeiro, envolvendo receptores de superfície da célula, formação de vacúolo parasitóforo e liberação

de antígenos de superfície e proteínas pelo *T. gondii*, permitindo sua multiplicação e disseminação (BUXTON; McALLISTER; DUBEY, 2002).

A resposta imune celular, normalmente, é direcionada para combater os parasitos intracelulares, levando ao recrutamento de monócitos, neutrófilos e células dendríticas (CDs) para o local da infecção, sendo um expressivo mecanismo na regulação da infecção, com a participação das células TCD4+, TCD8+, macrófagos e células natural killer (NK) (TIZARD, 2006; MAUBON et al., 2008).

Na fase aguda da infecção os macrófagos infectados produzem interleucina 12 (IL-12) que estimulam as células NK, TCD4+ e TCD8+ na produção de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ). Este processo representa um fator crítico para a sobrevivência do hospedeiro, pelo fato do IFN- $\gamma$  ser o principal mediador da resistência na toxoplasmose, desencadeando diversos mecanismos intracelulares para inibir a replicação e eliminar o parasito. A produção de IL-12 e IFN- $\gamma$  é conhecida como resposta imune Th1, sendo característica da infecção de diversos parasitos intracelulares (DUPONT; CHRISTIAN; HUNTER, 2012).

Para que ocorra a produção de IL-12 durante a infecção toxoplásmica é necessário que o parasito seja primeiro detectado pelo hospedeiro. Os receptores imunes inatos chamados receptores do tipo Toll (TLRs) são fundamentais neste processo, por serem uma família de receptores voltados ao reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (PIFER; YAROVINSKY, 2011; DUPONT; CHRISTIAN; HUNTER, 2012).

O IFN- $\gamma$  atua no desenvolvimento de resposta imune através da ativação de macrófagos e células NK; no aumento da síntese de IL-12 pelos macrófagos expostos aos produtos de taquizoítos; na indução da expressão de receptores de IL-12 nas células T e; na inibição da síntese de IL-4, que está relacionada com a diferenciação entre os fenótipos Th e Th2 (FILISSETTI; CANDOLFI, 2004).

As células TCD8+ produzem IFN- $\gamma$  e proporcionam a ativação de macrófagos, além de serem especializadas em reconhecer e destruir células infectadas, liberando os taquizoítas e possibilitando o acesso dos mecanismos imunológicos como anticorpos, células NK e macrófagos (HEGAB; AL-MUTAWA, 2003; DUPONT; CHRISTIAN; HUNTER, 2012).

As células dendríticas (CDs) são produtoras de IL-12 e polarizam a resposta imune para o tipo Th1 (DENKERS; BUTCHER; BENNOUNA, 2004). Enquanto, as células NK produzem a IL-10 e o IFN- $\gamma$ , que age em sinergia com o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), aumentando a atividade microbicida dos macrófagos e permitindo uma ação tóxica contra o parasito (GAZZINELLI et al., 1993; PIFER; YAROVINSKY, 2011; DUPONT; CHRISTIAN; HUNTER, 2012).

Os monócitos inflamatórios se deslocam dos vasos para a lâmina própria, onde produzem IL-1, em resposta a antígenos solúveis de toxoplasma, atuando de modo sinérgico com a IL-12 para a produção de IFN- $\gamma$  e, onde expressam mecanismos efetores antimicrobianos que contribuem para o controle direto do parasito (DUPONT; CHRISTIAN; HUNTER, 2012).

Os macrófagos infectados são fonte inicial de IL-12 e participam ativamente na destruição dos parasitos por fagocitose e produção de óxido nítrico (GAZZINELLI et al., 1996; TIZARD, 2006).

A citocina IL-10 também se apresenta importante na infecção por *T. gondii* pelo seu efeito inibitório sobre a produção de IFN- $\gamma$ , IL-12, células TCD4+ e TCD8+ e na atividade de macrófagos ativados, realizando uma regulação negativa e evitando uma resposta imune exacerbada (GAZZINELLI et al., 1996).

Os protozoários que não são destruídos pela resposta imune celular ao desenvolverem os cistos teciduais nos hospedeiros, acabam por não estimular uma resposta celular, tornando-se antigênicos e não sendo reconhecidos como estranho, podendo permanecer no organismo do hospedeiro por toda sua vida (TIZARD, 2006).

A imunidade humoral tem início após a multiplicação do *T. gondii* no sítio de entrada e disseminação pela via hematogena, possibilitando o estímulo para produção de anticorpos que atuam em taquizoítos extracelulares liberados após o rompimento das células infectadas, limitando a multiplicação do protozoário pela lise dos parasitos. Outra função desempenhada é a opsonização do parasito, facilitando sua captura e destruição pelas células fagocíticas (FILISSETTI; CANDOLFI, 2004; PETERSEN, 2007; SERRANTI; BUONSENSO; VALENTINI, 2011).

Na toxoplasmose podem ser identificados os anticorpos das imunoglobulinas IgM, IgA, IgE e IgG. A IgM é o primeiro anticorpo a ser produzido, posteriormente sofre declínio até o seu desaparecimento, que pode demorar anos em alguns hospedeiros (VILLARD et al., 2016). Em seguida, surge a IgA cujo tempo de permanência no organismo pode durar seis a sete meses, podendo ocorrer variações conforme o tipo de transmissão (GORGIEVSKI-HRISOHO; GERMANN; MATTER, 1996). Raramente é observada na fase crônica da infecção e não atravessa a barreira placentária, diferente da IgG (FILISSETTI; CANDOLFI, 2004; CORREA et al., 2007).

A IgG é identificada entre uma a duas semanas pós-infecção, com títulos máximos em seis semanas e declínio em alguns meses ou anos, permanecendo estáveis e baixos durante toda a vida do hospedeiro (ELSHEIKHA, 2008; TALABANI et al., 2010). Isto porque,



durante a fase crônica permanecem no hospedeiro apenas os bradizoítos intracelulares que acabam sendo responsáveis pela manutenção dos títulos sorológicos (KAWAZOE, 2002).

### 3.7 Epidemiologia

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita em que o índice de positividade observado varia principalmente de acordo com fatores climáticos, ambientais, socioeconômicos e culturais. Na população mundial, estima-se que mais de um terço esteja infectada cronicamente pelo *T. gondii* (FIALHO; TEIXEIRA; ARAÚJO, 2009; ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012). A prevalência em humanos é mais elevada em veterinários, pessoas que lidam com felídeos e manipuladores de carcaças, vísceras e subprodutos de animais (DIAS; FREIRE, 2005; GONÇALVES et al., 2006).

A distribuição da população de felídeos no mundo tem mostrado papel fundamental na ocorrência da toxoplasmose em alguns ambientes. Pesquisas relatam que em pequenas ilhas e atóis em que não existem felídeos a presença da enfermidade é nula (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000), locais em que existem poucos felídeos geram baixas prevalências (WALLACE; ZIGAS; GAJDUSEK, 1974) e lugares em que esses animais apresentam número significativo ou a população tem o hábito rotineiro de se alimentarem deles a incidência é elevada (WALLACE; ZIGAS; GAJDUSEK, 1974; AMENDOEIRA et al., 2003).

Nos animais, a infecção gera preocupação pelo fato de ser uma zoonose e por causar diversos prejuízos a produtores (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Fetos abortados têm sido frequentemente descritos em caprinos e/ou ovinos de diversas partes do mundo, como nos Estados Unidos da América (MOELLER, 2001), na Espanha (NAVARRO et al., 2009), na Jordânia (ABU-DALBOUH et al., 2012); na Turquia (ATMACA et al., 2012) e na Argentina (UNZAGA et al., 2014).

No Brasil, a prevalência do *T. gondii* em animais de produção como os ovinos, caprinos e suínos é considerada elevada e o risco de infecção em humanos aumenta pelo consumo de carne mal passada ou cozida desses animais (DUBEY et al., 2012; MARQUES-SANTOS et al., 2017).

A epidemiologia em animais silvestres é um assunto complexo e que correlaciona condições ambientais, nichos ecológicos e hábitos alimentares, entre outros. Diversas pesquisas, em várias partes do mundo, têm buscado identificar animais infectados pelo *T. gondii*. No Brasil foram observados a positividade de javalis (FORNAZARI et al., 2009) e

capivaras (DUBEY, 2010), no Estado de São Paulo, em que os autores mostraram preocupação na transmissão para os humanos devido a existência do consumo da carne desses animais.

Felídeos selvagens mantidos em cativeiro quando infectados representam uma fonte de contaminação para outros animais que compartilham do mesmo ambiente. Silva (2001) ao avaliar o soro de 865 felídeos selvagens de cativeiro, no Brasil, obteve uma positividade de 54,6%. Souza et al. (2006) investigou os mamíferos silvestres de um Parque Nacional em Goiás, identificando que dos felídeos analisados 75% das onças-pintadas e 100% dos gatos-palheiro, jaguatiricas e suçaranas eram positivos. Enquanto, Ullmann et al. (2010), de 57 felídeos neotropicais avaliados oriundos de um Santuário no Paraná, registraram ocorrência de 66,7% de positividade.

Pesquisa realizada em 52 espécies de diferentes grupos foi realizada na China, sendo possível observar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em pássaros, primatas, herbívoros e carnívoros (ZHANG et al., 2000). Os carnívoros silvestres por se alimentarem de outros animais acabam, em geral, possuindo prevalência elevada para a toxoplasmose (DUBEY et al., 1999). Em pequenos roedores as pesquisas mostram grandes oscilações, variando de 0,8% (6/756) (DEFEO et al., 2002) a 59% (118/200) (MARSHALL et al., 2004) de positividade.

Na Guiana Francesa, Thoisy et al. (2003) analisaram o soro de 456 mamíferos silvestres neotropicais e constataram uma soropositividade variada em animais de diversas ordens, como 0,5% a 4% na primatas, 0% a 39% na xenarthra, 8% a 20% na marsupialia, 10% a 72% na carnívora, 0% a 60% na rodentia e 40% a 68% na artiodactyla, além de mencionar que as espécies terrestres podem ser mais susceptíveis ao contato com o *T. gondii* do que outros mamíferos, pela exposição aos oocistos no ambiente e/ou carnivorismo.

Em primatas não-humanos da região Amazônica, Minervino et al. (2017), verificaram resultados sorológicos positivos em 49,2% dos animais, além de relatarem que a maior frequência estava relacionada a animais que viviam de forma doméstica, como animais de estimação, e que a faixa etária considerada jovem apresentava alta frequência, o que indicaria uma exposição ao protozoário em uma idade precoce.

Em gambás já foram identificadas soropositividade de 11% em *Didelphis marsupialis* (BURRIDGE et al., 1979) e 23% em *D. virginiana* (HILL et al., 1998) oriundos dos estados da Florida e Iowa, nos EUA, respectivamente. Em tayassuídeos cativos no Parque Nacional das Emas, Estado de Goiás, a soroprevalência averiguada foi de 20% em *P. tajacu* e 42,3% em *T. pecari* (SOUZA et al., 2006).

Gennari et al. (2010) analisaram 251 amostras biológicas de animais silvestres, entre aves e mamíferos, oriundos de diversas regiões brasileiras, observando que 2,3% das aves e 11,51% dos mamíferos analisados exibiram soropositividade para o agente da toxoplasmose. Dentre os mamíferos com resultado positivo estava o *T. pecari*.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Preceitos éticos**

A presente pesquisa foi aprovada pelo Ministério da Agricultura do Peru, pelo Serviço Nacional Florestal e de Fauna Silvestre do Peru (ANEXO 1 a 6) e pelo CITES e IBAMA, com licença de exportação CITES/IBAMA (ANEXO 7 e 8).

### **4.2 Procedência das amostras**

As amostras de estudo são oriundas da comunidade de Nueva Esperanza (04°19'53" S, 71°57'33" W; UT-5:00) no Distrito de Yavari, Província de Ramón Castilla, localizada na Amazônia peruana entre os rios Yavari e Yavarí-Mirin.

O território fica em uma área remota e pouco explorada, com baixa densidade populacional composta por habitantes da etnia Yagua-Peba e colonos migrantes. Nessa área, as comunidades dependem principalmente da agricultura para obter renda, além realizarem caça e pesca de subsistência.

Pelo fato de serem desenvolvidos diversos projetos na região, como manejo de fauna silvestre e aproveitamento sustentável dos recursos naturais, os caçadores da comunidade foram capacitados para realizarem registro de caça (espécie, sexo, se fêmea – prenhe/não prenhe, data de caça) e colheita de material biológico proveniente da caça de subsistência (remoção adequada dos órgãos torácicos, abdominais e pélvicos, incluindo a região perianal).

É importante destacar que a comunidade envolvida no estudo está inserida em um programa de manejo de recursos de fauna silvestre que assegura a legalidade da caça de subsistência através do artigo 102 da Lei nº 29763 (ANEXO 9), que descreve a atividade florestal e de fauna silvestre no Peru, tornando a caça de subsistência uma atividade cultural com fins alimentícios para as populações ribeirinhas amazônicas.

### **4.3 Animais e obtenção das amostras**

Foram analisadas amostras de útero gestacionais e placentas de fêmeas de tayassuídeos, sendo 36 de *P. tajacu* e 42 de *T. pecari*, totalizando 78 amostras que foram coletadas no período de 2007 a 2014.

As amostras foram doadas de forma voluntária por parte da população caçadora que, após retirar o material de interesse para consumo, forneceu os órgãos para análise. Dessa forma foram obtidos os órgãos genitais de fêmeas de tayassuídeos prenhes sem que houvesse o incentivo a caça.

Após a coleta, o material foi identificado, armazenado em recipientes plásticos contendo formaldeído tamponado a 4% e acondicionados em recipientes herméticos de 100L, na própria comunidade. Posteriormente, os recipientes foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia (LABOPAT/UFRA) em Belém, Pará.

#### **4.4 Processamento laboratorial**

##### 4.4.1 Protocolo Histopatológico

As amostras de útero gestacional e placenta foram preparadas para análise histopatológica no LABOPAT/UFRA, realizando cortes de aproximadamente 3 a 5 mm de espessura em cada tecido, que em seguida foram acondicionados em cassetes previamente identificados e mantidos em formol a 10% tamponado até o processamento histológico, segundo a técnica de rotina descrita por Tolosa, Behmer e Freitas-Neto (2003).

Os blocos foram seccionados em micrótomo, para obtenção de cortes de 5µm de espessura, dispostos em lâminas de vidro que posteriormente foram desparafinizadas, hidratadas e coradas pela Hematoxilina e Eosina (HE). As lâminas foram montadas em lamínulas, analisadas em microscópio óptico e realizado o registro fotomicrografico.

##### 4.4.2 Protocolo de Imuno-histoquímica

As lâminas para IHQ foram processadas na Seção de Patologia do Instituto Evandro Chagas (IEC). Para a preparação do tecido, utilizou-se dois banhos em xilol absoluto (5 min cada) para desparafinizar as lâminas. Em seguida, o material foi reidratado por meio da seguinte bateria: álcool absoluto (2x), álcool 95%, 80%, 70% e água destilada (3 min cada).

A recuperação antigênica foi feita com solução de tampão TRIS + EDTA (pH 9,0) em panela de pressão elétrica digital (Decloaking Chamber, Biocare Medical®) à 110 °C por 12 minutos. Para monitorar o processo foi utilizada uma fita marcadora que visa controlar a temperatura. Em seguida, as lâminas foram resfriadas despejando-se delicadamente um jato de água destilada sobre elas.

Para realizar o bloqueio das proteínas inespecíficas as lâminas foram incubadas em solução de bloqueio “Background Punisher” (Biocare Medical®, Califórnia, CA, EUA) em câmara escura por 10 minutos a temperatura ambiente.

Posteriormente foi realizada a incubação do anticorpo primário, probe e polímero. As lâminas foram incubadas com o anticorpo primário (TC930 Rb28964 99.0414) na diluição de 1:1000, feito em coelho e gentilmente doado pelo chefe do Laboratório de Doenças Parasitárias em Animais, em Maryland, USA, o MVsc, PhD J. P. Dubey.

A incubação foi realizada em câmara escura por 40 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram lavadas duas vezes em solução de TBS, incubadas com anticorpo secundário MACH4 Universal AP-Probe por 10 minutos a temperatura ambiente, lavadas duas vezes em solução de TBS, incubadas com polímero “MACH4 AP-Polymer” (Biocare Medical®, Califórnia, CA, EUA) em câmara escura por 15 minutos a temperatura ambiente e novamente lavada por duas vezes em solução de TBS.

A revelação da reação foi feita utilizando-se o kit HistoMarkRead Phosphatase System (KPL®, Gaithersburg, MD, EUA) por 30 minutos a temperatura ambiente, seguida de três lavagens em água destilada, contracoradas com hematoxilina de Harris por 2 minutos, lavadas por 4 x em água destilada e 1 x em azul de lítio (lithium blue) por 1 minuto. As lâminas secaram a temperatura ambiente e foram cobertas com meio de montagem rápido para microscopia Entellan® e lamínula.

Para o controle positivo foram utilizadas amostras de linfonodo de primata não humano com diagnóstico clínico e anatomopatológico para toxoplasmose. No controle negativo, o anticorpo primário foi omitido. As amostras foram consideradas positivas quando as formas infectantes foram coradas em vermelho e as reações classificadas em leve (+), moderada (++) e forte (+++).

#### **4.5 Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados utilizando estatística descritiva, sendo expressos em absoluto (total) e relativo (percentagem). Os resultados da análise IHQ (positivo/negativo e as reações para marcação positiva) foram analisados pelo teste qui-quadrado para avaliar a ocorrência da toxoplasmose nas espécies e nos tecidos de uma espécie e em ambas as espécies, com diferença significativa nos casos em que  $p < 0,05$ . O programa estatístico SPSS, versão 20.0 foi utilizado para análise.

## 5. RESULTADO

Os resultados mostraram que dos 78 amostras analisadas, 15,38% (12/78) foram positivos para *T. gondii*, sendo seis de cada espécie. Para a positividade relacionada ao órgão analisado pela IHQ, a espécie *T. pecari* exibiu 7,14% (3/42) em útero gestacional e 9,52% (4/42) em placenta, enquanto, o *P. tajacu* apresentou 11,11% (4/36) de positividade em útero gestacional e 8,33% (3/36) na placenta. Em ambas as espécies foi observada positividade tanto em útero gestacional quanto em placenta em um único animal, os demais possuíam reatividade apenas em um dos órgãos. As imunorreatividades apresentaram intensidade variando de moderada a forte em ambos os órgãos das duas espécies analisadas (Tabela 1).

**Tabela 1** – Detecção de *Toxoplasma gondii* e graus de intensidade da imunomarcagem na imuno-histoquímica de útero gestacional e placenta de 42 *Tayassu pecari* e 36 *Pecari tajacu*, oriundos da Amazônia peruana.

ANIMAL	<i>Tayassu pecari</i>		<i>Pecari tajacu</i>	
	ÚTERO	PLACENTA	ÚTERO	PLACENTA
01	-	-	-	-
02	-	-	-	-
03	-	-	-	-
04	-	-	-	-
05	-	-	-	++
06	-	-	-	-
07	+++	++	-	-
08	-	-	-	-
09	-	-	-	-
10	-	-	-	+++
11	++	-	++	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	-	-	-	-
16	-	-	-	-
17	-	++	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	+++	-
20	-	-	-	-
21	+++	-	-	-
22	-	-	++	+++
23	-	-	-	-
24	-	-	-	-
25	-	-	-	-
26	-	-	-	-
27	-	-	-	-
28	-	-	-	-

29	-	-	-	-
30	-	-	-	++
31	++	-	-	-
32	-	-	-	-
33	-	-	-	-
34	-	-	-	-
35	-	+++	-	-
36	-	-	-	-
37	-	-	-	-
38	-	-	-	-
39	-	-	-	-
40	-	-	-	-
41	-	-	-	-
42	-	-	-	-

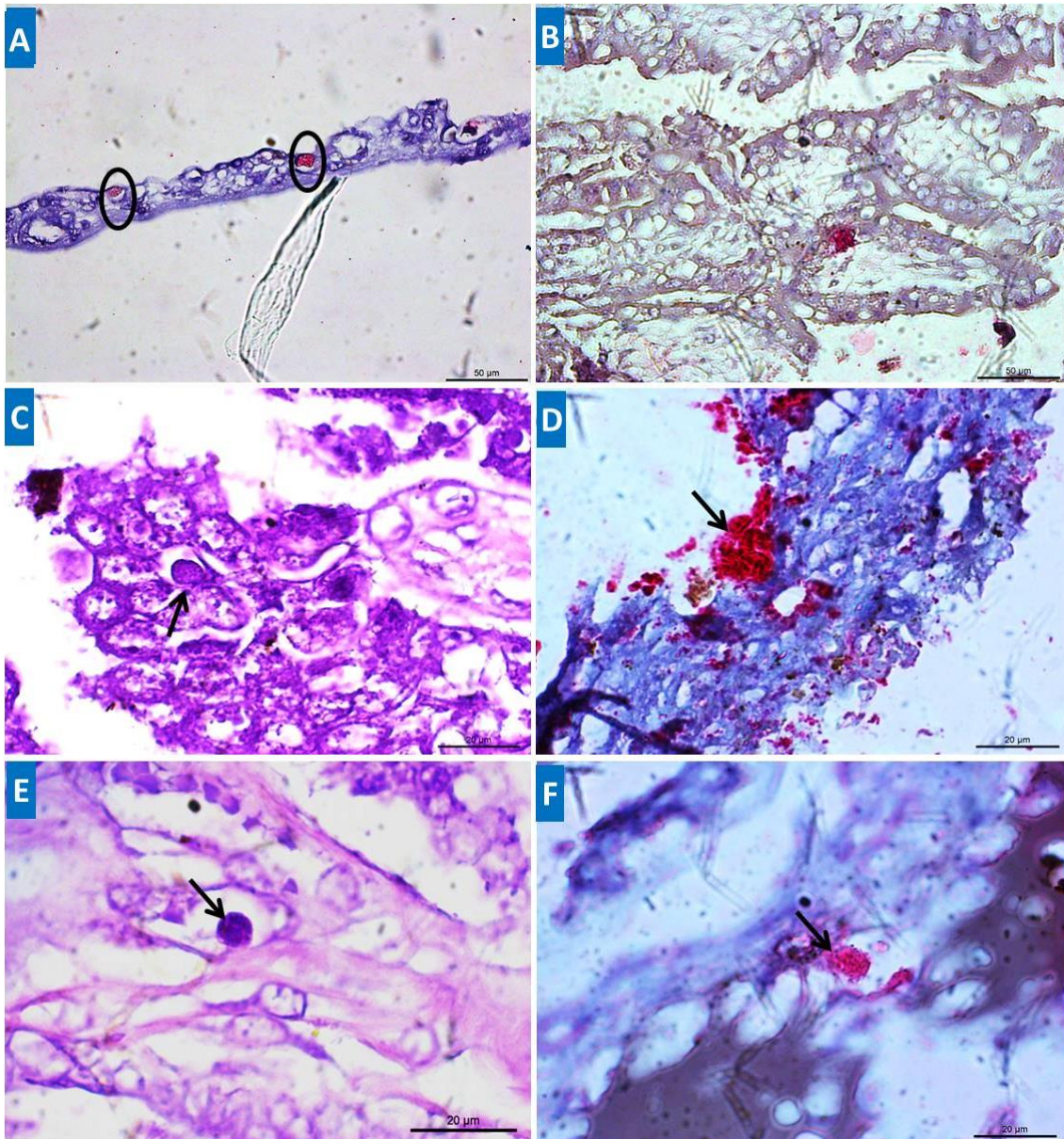
- Negativo; ++ Positivo com reação moderada; +++ positivo com reação forte. IHQ classificada com a intensidade da imunomarcção das células (x400).

Formas parasitárias de contorno circular ou levemente ovalados, algumas fragmentadas e de coloração púrpura forte foram identificadas ao analisar as amostras positivas para anticorpo anti-*Toxoplasma* na IHQ. Contudo, nas análises histopatológicas não foram observadas lesões características de infecção nos tecidos avaliados.

Em relação à localização das imunomarcções para *T. gondii*, as formas parasitárias localizaram-se predominantemente no epitélio de revestimento das vilosidades trofoblásticas (Figura 2A) e tecido conjuntivo coriônico placentário (Figura 2D). No útero gestacional foram observadas reações positivas no epitélio (Figura 2B e 2C) e tecido conjuntivo de ambas as espécies. Em uma amostra de *T. pecari* a imunomarcção de bradizoíta ocorreu no interior de vasos sanguíneos presentes no útero do Animal 7 (Figura 2E e 2F).



**Figura 1** – Fotomicrografias de imunomarcações para *T. gondii* em tecido de útero gestacional e placenta de tayassuídeos provenientes da Amazônia peruana. **A.** Imunorreatividade de bradizoita *T. gondii* (círculos) presente em epitélio trofoblástico de *T. pecari*. Barra= 50 µm. **B.** Imunomarcção em epitélio uterino de *P. tajacu*. Barra= 50 µm. **C.** Bradizoita (seta) em epitélio uterino de *P. tajacu*. H.E. Barra= 20 µm. **D.** Bradizoita (seta) e fragmentos no tecido conjuntivo coriônico placentário de *T. pecari*. Barra= 20 µm. Barra= 20 µm. **E.** Bradizoita (seta) em vaso de útero gestacional de *T. pecari*. H.E. Barra= 20 µm. **F.** imunoreatividade de bradizoita em vaso útero gestacional de *T. pecari* (seta). Barra= 20 µm. A coloração imuno-histoquímica foi revelada com Diaminobenzidina (DAB) e contraroadas com hematoxilina de Herris.



## 6. DISCUSSÃO

Dos 78 espécimes analisados 12 foram positivos na IHQ, seis *T. pecari* e seis *P. tajacu*, o que confirma a circulação do toxoplasma nessas espécies de vida livre oriundas da Amazônia peruana e indica a participação destes animais como elos na cadeia epidemiológica da enfermidade por ocasião da ingestão de carne contaminada pela população ou animais.

Considerando o presente momento, estudos envolvendo a ocorrência de protozoonoses em órgãos reprodutivos de animais silvestres são escassos, não havendo publicações relacionadas à identificação IHQ da presença de *T. gondii* em tecido uterino e placentário nas espécies *T. pecari* e *P. tajacu*, sendo importante salientar que esta é a primeira pesquisa relacionada a esse assunto. Contudo, a identificação de anticorpos anti-*T. gondii* no soro de tayassuídeos tem sido relatada em diversas regiões. Solorio et al. (2010) ao analisarem o soro de 101 *T. pecari* oriundos do Peru obtiveram 89,1% de positividade. No entanto, a detecção da presença de anticorpos significa apenas que o animal foi exposto ao agente por um período de tempo e não que ele esteja com a infecção.

No Brasil, Vitalino (2012) relatou positividade em 18 animais dentre 54 amostras de soro de aves e mamíferos de vida livre e de cativeiro, incluindo quatro *T. pecari* de vida livre, dos quais três eram positivos. Na Guiana Francesa, Thoisy et al. (2003) analisaram o soro de 456 mamíferos silvestres neotropicais e dos 22 animais da espécie *T. pecari*, 68% apresentaram titulação para o *Toxoplasma*. Thoisy e colaboradores citam, inclusive, a existência de uma correlação de susceptibilidade das espécies terrestres devido à exposição aos oocistos no ambiente e/ou carnivorismo.

A presença do *T. gondii* foi observada em ambos os órgãos analisados pela IHQ do presente estudo, não havendo diferença estatística significativa na ocorrência de positividade entre útero gestacional e placenta para cada espécie e entre as espécies. A ocorrência da infecção por *T. gondii* em placenta foi investigada por Khalil et al. (2016) em 135 mulheres que sofreram aborto espontâneo, utilizando os testes ELISA, ELFA e IHQ, obtendo a positividade de 21,5% no ELISA, 22,96% no ELFA e 25,2% na IHQ e relatando que além da presença do protozoário nas placentas de abortos sem correlação clínica com a doença, a técnica IHQ foi a mais sensível.

Em animais, estudo desenvolvido por Mesquita et al. (2019) para identificação de toxoplasma em 27 amostras de placenta de cabras naturalmente infectadas e com sorologia positiva, observaram 85,2% casos positivos na IHQ. Já Juan-Sallés et al. (2011) relataram

positividade em três placentas de lêmure-de-cauda-anelada (*Lemur catta*), bem como presença do parasita em coração, fígado, rim, adrenal, baço, cérebro, pulmão, linfonodos e intestino de quatro fetos natimortos.

A presença do parasito na IHQ, em mais de um tecido, também já foi descrita em ovelhas por Dagleish, Benavides e Chianini (2010) com imunomarcção em cérebro, pulmões, cotilédones e musculatura (esquelética e cardíaca) e Silva et al. (2013) em cérebro, musculo cardíaco e fígado.

A localização das imunomarcções para as formas parasitárias do *T. gondii* se deram no epitélio de revestimento das vilosidades trofoblásticas e tecido conjuntivo coriônico placentário, bem como no epitélio e tecido conjuntivo uterino de ambas as espécies. Para Barragan e Sibley (2002) a ocorrência do *T. gondii* em monocamadas epiteliais e matriz extracelular indica que a migração do parasito pode ser um processo ativo, além de relatar que a penetração ativa pelo parasita poderia explicar uma das vias em que se dá a infecção transplacentária, tendo em vista que as células maternas não trafegam rotineiramente para o feto.

Em uma amostra de *T. pecari* (Animal 7) a imunomarcção de bradizoíta ocorreu no interior de vasos sanguíneos de útero gestacional, indicando a presença do parasito e a possibilidade de realizar transmissão vertical devido inter-relação deste órgão com a placenta. Neste contexto, alguns estudos relataram a ocorrência do parasito em vasos sanguíneos placentários de cabras (MESQUITA et al., 2019) e lêmure-de-cauda-anelada (JUAN-SALLÉS et al., 2011). Neste último houve ainda a identificação de toxoplasma disseminada em quatro fetos natimortos.

A transmigração de barreiras biológicas, incluindo a placenta, é considerada por Barragan e Sibley (2003) um pré-requisito para o estabelecimento de infecções por *T. gondii*, permitindo que os parasitos tenham acesso a órgãos biologicamente restritos e levando à disseminação no hospedeiro. Tal afirmação pode ser correlacionada ao fato de que um espécime de *T. pecari* e um de *P. tajacu* exibiram imunomarcção positiva tanto em útero gestacional quanto na placenta, o que reforça a possibilidade de transmissão vertical.

As reações observadas na IHQ deste estudo foram do tipo moderada e forte, independente do tecido e espécie hospedeiro (Tabela 1). Diferentemente, Mesquita et al., (2019) obtiveram na IHQ para toxoplasmose reações discretas em 4,4%, moderadas em 60,8% e severas em 34,8% das amostras de placenta analisadas. Para Costa et al. (2014), a predominância de reações moderadas e severas caracterizam habitualmente a presença de danos causados pelo protozoário no órgão.

A presença de lesões histopatológicas, como infiltrado inflamatório e necrose, características da infecção por *T. gondii* não foram observadas nos locais de imunodeteção do parasita. Este fato também foi relatado em algumas amostras de placenta de cabras com imunomarcagem positiva analisadas por Mesquita et al. (2019).

Cistos teciduais e *Toxoplasma* em quiescência como observados no presente estudo, de acordo com Reis, Tessaro e D’Azevedo (2006) pode significar que a infecção ocorreu antes da gestação e o ciclo de vida do parasita em gestantes pode se reiniciar em mulheres imunodeprimidas e, em casos raros, em gestantes imunocompetentes, o que pode em parte explicar porque a infecção em tayassuídeos não promoveu lesões útero-placentárias.

Convém ressaltar que a existência de degradação nos tecidos avaliados neste estudo pode ter mascarado a presença de alterações, o que demonstra a importância da realização da análise IHQ para detecção do parasito. Segundo Mota et al. (2008), a IHQ é uma técnica segura para diagnóstico da toxoplasmose, considerando que os achados histopatológicos sugestivos da infecção para *T. gondii* podem ser inconclusivos. Ademais, esse método se mostra sensível à detecção do parasito (NAVARRO et al., 2009; KALIL et al., 2016), mesmo em tecido decomposto (BUXTON, 1998). Tal situação é corroborada na presente pesquisa, uma vez que os tecidos analisados possuíam grau moderado de degradação dos tecidos.

## 7. CONCLUSÕES

Foi observada a circulação do *Toxoplasma gondii* em espécimes *Tayassu pecari* e *Pecari tajacu* de vida livre da Amazônia peruana consumidos como caça de subsistência pela população local, possibilitando a continuidade do ciclo deste parasito no ecossistema da região e a sua transmissão horizontal.

O *Toxoplasma* foi localizado no epitélio e tecido conjuntivo de útero gestacional e placenta de ambas as espécies e em vaso sanguíneo de útero gestacional de *T. pecari*, demonstrando que existe uma migração do parasito nos tecidos, possibilitando a ocorrência de transmissão vertical.

Não foram observadas lesões histopatológicas características da presença do toxoplasma no tecido.

A IHQ se apresentou como excelente ferramenta para detecção do *T. gondii*, confirmando a presença do parasito em tecidos com moderada degradação.

Está é a primeira pesquisa que relaciona a imunodeteccção de *T. gondii* em espécimes de *T. pecari* e *P. tajacu* analisando amostras de útero gestacional e placenta.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. B.; NAVARRO, I. T.; REIS, A. C. F.; SOUZA, M. S. B.; MACHADO, R.; MARANA, E. R. M.; PRUDÊNCIO, L. B.; MATTOS, M. R.; TSUTSUI, V. S. Toxoplasmose ocular em cães jovens inoculados com *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, v. 32, p. 807-812, 2002.
- ABU-DALBOUH, M. A.; ABABNEH, M. M.; GIADINIS, N. D.; LAFI, S. Q. Ovine and caprine toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) in aborted animals in Jordanian goat and sheep flocks. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 49-54, 2012.
- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3. Ed. Paho: Washington. 2003. 395p.
- ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; OLIVEIRA, F. C. R.; PINTO, A. R. S.; LOPES, C. W. G. Alterações patológicas na infecção experimental de codornas (*Coturnix japonica*) com taquizoítas de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: toxoplasmatinae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 11, n. 1, p. 43-46, 2002.
- AMENDOEIRA, M. R. R.; SOBRAL, C. A. Q.; TEVA, A.; DE LIMA, J. N.; KLEIN, C. H. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 671-676, 2003.
- ARAMINI, J. J.; STEPHEN, C.; DUBEY, J. P.; ENGELSTOFT, C.; SCHWANTJE, H.; RIBBLE, C. C. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Epidemiology and Infection**, v. 122, p. 305-315, 1999.
- ARAÚJO, F. R.; CARVALHO, C. M. E.; BALBUENA, C. B. Levantamento sorológico para *Toxoplasma gondii* em bovinos de corte do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, p. 201-203, 1998.
- ATMACA, H. T.; OCAL, N.; BABUR, C. et al. Reactivated and clinical *Toxoplasma gondii* infection in young lambs: clinical, serological and pathological evidences. **Small Ruminant Research**, v. 105, p. 335-340, 2012.
- BARBOSA, A. J. A. As técnicas de imunoperoxidase no estudo da etiologia das doenças infectuosas e parasitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 1988.
- BARRAGAN, A.; SIBLEY, D. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. **Trends in Microbiology**. v. 11, n. 9, p. 462-467, 2003.
- BECK, S.; KONOPKA C. K.; SILVA, A. K.; DIEHL F. P. Importância do rastreamento sorológico da toxoplasmose em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal de alto risco. **Revista Saúde**, v. 36, n. 1, p. 29-36, 2013.
- BERVERLEY, K. A. The pathology of the placenta in ovine abortion due toxoplasmose. **Veterinary Record**, v. 88, p. 124-128, 1971.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca. p.1835-1836. 2003.

BJERKAS, I.; PRESTHUS, J. The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoon in dogs. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 97, n. 5, p. 459-468, 1989.

BODMER, R. E.; AQUINO, R.; PUERTAS, P.; REYES, C.; FANG, T.; GOTTDENKER, N. Manejo y uso sustentable de Pecuaries en la Amazonia Peruana. **Ocasional paper nº 18 De la Comisión de Supervivencia de Espécies**. 1996.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; DA SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 21-25, 1997.

BRESCIANI, K. D. S.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; SABATINI, G. A.; MORAES, F. R. Clinical parasitological and obstetric observation in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. **Ciência Rural**, v. 31, p. 1039-1043, 2001.

BURRIDGE, M. J.; BIGLER, W. J.; FORRESTER, D. J.; HENNEMANN, J. M. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 175, n. 9, p. 964-967, 1979.

BUXTON, D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances. **Veterinary Research**, v. 29, p. 289-310, 1998.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 544-552, 2002.

CAMARGO, M. E. Toxoplasmose, diagnostic sorológico. **Boletim de Medicina Laboratorial Bronstein**, v. 5, p. 4, 1996.

CARNEIRO, A. C. A. V. **Caracterização molecular de isolados de *Toxoplasma gondii* obtidos de crianças com toxoplasmose congênita no Estado de Minas Gerais**. 2011. 191 f. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte. 2011.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 1, n. 33, p. 94-98, 2013.

CONLEY, F. K.; JENKINS, K. A.; REMINGTON, J. S. Toxoplasma. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 68, n. 1, p. 13-17, 2001.

CONTRERAS, M. D.; SANDOVAL, M. L.; SALINAS, P.; MUÑOZ, P.; VARGAS, S. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG/IgM/IgA y ELISA avidéz de IgG em toxoplasmosis reciente y crônica. **Boletim Chileno de Parasitologia**, v. 55, n. 1/2, p. 1-10, 2000.

COOK, A. J. C.; GILBERT, R. E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P. A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E.; DUNN, D. T. Sources of Toxoplasma

infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **British Medical Journal**, v. 321, n. 7254, p. 142-147, 2000.

CORREA, D.; CAÑEDO-SOLARES, I.; ORTIZ-ALEGRÍA, L. B.; CABALLERO-ORTEGA, H.; TORRES, C. P. Congenital and acquired toxoplasmosis: diversity and role of antibodies in different compartments of the host. **Parasite Immunology**, v. 29, p. 651-660, 2007.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C.N. M. **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, p. 757-766. 1992.

CULLEN, L.; BODMER, R. E.; VALLADARES-PADUA, C. Ecological consequences of hunting in Atlantic forest patches, São Paulo, Brazil. **Oryx**. v. 35, n. 2, p. 137-144, 2001.

CULLEN, L.; BODMER, R. E.; VALLADARES-PADUA, C. Effects of hunting in habitat fragmentes of the Atlantic forests, Brazil. **Biological Conservation**. v. 95, p. 49-56, 2000.

D'ARC-MORETTI, L.; UENO, T. E.; RIBEIRO, M. G.; AGUIAR, D. M.; PAES, A. C.; PEZERICO, S. B.; SILVA, A. V. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 85-91, 2002.

DA MOTA, A. C.; VIEIRA, M. I. B.; BONDAN, C. ADRIANA C.; EDELWEISS, M. I. A.; DAMETTO, M. A.; GOMES, A. Aborto em ovinos associado à toxoplasmose: caracterização sorológica, anátomo-patológica e imunoistoquímica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 204-208, 2008.

DAGLEISH, M. P.; BENAVIDES, J.; CHIANINI, F. Immunohistochemical diagnosis of infectious diseases of sheep. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 19-35, 2010.

DAVIDSON, M. G.; LAPIN, M. R.; ENGLISH, R. V.; TOMPKINS, M. B. A feline model of ocular toxoplasmosis. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 12, n. 34, p. 3653-3660, 1993.

DEFEO, M. L.; DUBEY, J. P.; MATHER, T. N.; RHODES III, R. C. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 2, p. 1714-1717, 2002.

DENKERS, E. Y.; BUTCHER, B. A.; BENNOUNA, S. Neutrophils, dendritic cells and *Toxoplasma*. **International Journal of Parasitology**, v. 34, p. 411-421, 2004.

DIAS, R. A. F.; FREIRE, R. L. Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, p. 239-248, 2005.

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

DUBEY, J. P. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis* and other tissue cyst-forming of human and animals. In: KRIER, J. P. **Parasitic Protozoa**. 2. ed. San Diego: Academic Press, p. 1-157. 1993.



- DUBEY, J. P. **Toxoplasmoses of animals and humans**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 52-71. 2010.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57–72, 2004.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in sheep-the last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 1-14, 2009.
- DUBEY, J. P.; GAMBLE, H. R., HILL, D.; SREEKUMAR C.; ROMAND S., THUILLEZ P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. **The Journal of Parasitology**. v. 88, n. 6, p. 1234-1238, 2002.
- DUBEY, J. P.; LAGO, E. G.; GENNARI, S. M., SU, C., JONES, J. L. Review Article. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375-1424, 2012.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 2. ed. W.B. Saunders Company: Philadelphia. p. 493- 503. 1998.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3. ed. Saunders Elsevier: St Louis. p.754- 775. 2006.
- 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**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.
- DUBEY, J. P.; MORALES, E. S.; LEHMANN, T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from México. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 2, p. 411-413, 2014.
- DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 270–273, 1993.
- DUPONT, C. D.; CHRISTIAN, D. A.; HUNTER, C. A. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. **Semina Immunopathology**, v. 34, p. 793-813, 2012.
- ELSHEIKHA, H. M. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. **Public Health**, v. 122, p. 335-353, 2008.
- FALANGOLA, M. F.; PETITO, C. K. Choroid plexus infection in cerebral toxoplasmosis in AIDS patients. **Neurology**, v. 10, p. 2035-2040, 1993.
- FELICIO, P. S. **Infecção por *Toxoplasma gondii* em rebanhos exclusivos de criação de ovinos e consorciados com bovinos e contaminação ambiental por oocistos**. 2010. 47f. Dissertação (Mestrado) Instituto Biológico – Programa de Pós-Graduação. São Paulo. 2010.

FIALHO, C. G.; TEIXEIRA, M. C.; ARAUJO, F. A. P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 1, p. 1-23, 2009.

FILISSETTI, D.; CANDOLFI, E. Immune response to *Toxoplasma gondii*. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 40, p. 71-80, 2004.

FORNAZARI, F.; LANGONI, H.; DA SILVA, R. C.; GUAZZELI, A.; RIBEIRO, M. G.; CHIACCHIO, S. B. *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p. 333-334, 2009.

FRAGOSO, J. M. **Large mammals and the Community dynamics of na amazoniam rain forest**. 1994. 209 f. Dissertação, University of Florida. Florida, 1994.

GAZZINELLI, R. T.; AMICHAY, D.; SCHARTON-KERSTEN, T.; GRUNVALD, E.; FABER, J. M.; SHER, A. Role of macrophage-derived cytokines in the induction and regulation of cell mediated immunity to *Toxoplasma gondii*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 219, p. 127-140, 1996.

GAZZINELLI, R. T.; HIENY, S.; WYNN, T. A.; WOLF, S.; SHER, A. Interleukin 12 is required for the T lymphocyte-independent induction of interferon  $\gamma$  by na intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, p. 6115-6119, 1993.

GERLIC, M.; MASTERS, S. L. A healthy appetite for *Toxoplasma* at the cellular level. **Immunology Cell Biology**, v. 92, p. 813-814, 2014.

GONÇALVES, D. D.; TELES, P. S.; REIS, C. R.; LOPES, M. R.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T.; ALVES, L. A.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 48, n. 3, 2006.

GORGIEVSKI-HRISOHO, M.; GERMANN, D.; MATTER, L. Diagnostic implications of kinetics of immunoglobulin M and A antibody responses to *Toxoplasma gondii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 6, p. 1506-1511, 1996.

GROVES, M. G.; HARRINGTON, K. S. H.; TABOADA, J. Questões frequentes sobre zoonoses. In: ETTINGER S. J.; FELDMAN E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária Doenças do cão e do gato**. 5. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p. 409-410, 2004.

HARVEY, A. M.; GREEFFYDD-JONES, T. J. Feline Inflammatory liver disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.). **Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and the cat**. 7. ed. Minissouri: Elsevier Saunders, p. 1643-1648. 2010.

HEGAB, S. M.; AL-MUTAWA, S. A. Immunopathogenesis of toxoplasmosis. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 3, p. 84-105, 2003.

HILL, D. E.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, p. 634-640, 2002.

HILL, D.; SREEKUMAR, C.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, p. 41-62, 2005.

HILL, R. E.; ZIMMERMAN, J. J.; WILLS, R. W.; PATTON, S.; CLARK, W. Seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in free-ranging mammals in Iowa. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 4, p. 811-815, 1998.

HIRAMOTO, R. M.; MAYRBAURL-BORGES, M.; GALISTEO JR, A. J.; MEIRELES, L. R.; MACRE, M. S.; ANDRADE JR, H. F. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 113-118, 2001.

HOFFMAN, A. R.; CADIEU, J.; KIUPEL, M.; LIM, A.; BOLIN, S. R.; MANSELLI, J. Cutaneous toxoplasmosis in two dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 3, p. 636-640, 2012.

HUSKINSON-MARK, J.; ARAUJO, F. G.; REMINGTON, J. S. Evaluation of the effect of drugs on the cyst form of *Toxoplasma gondii*. **The Journal Infectious Diseases**, v. 164, p. 170-1, 1991.

INNES, E. A. BARTLEY, P. M.; BUXTON, D.; KATZER, F. Ovine toxoplasmosis. **Parasitology**, v. 136, n. 14, p. 1887-1894, 2009.

JOINER, K. A.; DUBREMETZ, J. F. *Toxoplasma gondii*: a protozoan for the nineties. **Infection and Immunity**, v. 61, n. 2(1), p. 69-72, 2013.

JUAN-SALLÉS, C.; MAINEZ, M.; MARCO, A.; SANCHÍS, A. M. M. Localized toxoplasmosis in ring-tailed lemur (*Lemur catta*) causing placentitis, stillbirths, and disseminated fetal infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 23, n. 5, p. 1041-1045, 2011.

KASPER, L. H. BOOTHROYD, J. C. *Toxoplasma gondii* and Toxoplasmosis. In: WARREN, K. S. **Immunology and molecular biology of parasitic infections**. 3. Ed. Blackwell Scientific Publications: Boston. 1993. 610p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: **Parasitologia Humana**. 11. Ed. Atheneu: São Paulo. p. 163-172. 2005.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: **Parasitologia Humana**. 10. Ed. Atheneu: São Paulo. p. 147-156. 2002.

KHALIL, H. I.; MERDAW, M. A.; ABDLLAH, A. M.; EL-HASIMI, W. K.; AL-BASHIER, N. M.; MOHEMMAD, H. J. Estimation of *Toxoplasma gondii* infection by serological and immunohistochemical methods in Bagdad City-Iraq. **International Journal of Advanced Research**. v. 4, n. 4, p. 272-278, 2016.

LANGONI, H.; SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; CUNHA, E. L. P.; CUTOLO, A. A. Prevalência de Toxoplasmosose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 38, n. 5, p. 243-244, 2001.

LAPPIN, M. R. Toxoplasmose Felina. In: CHANDLER E. A.; GASKELL C. J.; GASKELL, R. M. **Clínica e Terapêutica em Felinos**. 3. ed. Roca Ltda: São Paulo, p. 537-43, 2006.

LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis felina. **Waltham focus**. v. 4, p. 2-8, 2004.

LEÃO, R. N. Q. **Doenças infecciosas e Parasitárias – Enfoque Amazônico**. Universidade do Estado do Pará. Instituto Evandro Chagas. Belém. 1997.

LEVINE, N. D. **Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man**. 1961. 412p.

MAROBIN, L.; FLORES, M. L.; RIZZA, T. T. I. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em emas (*Rhea americana*) em diferentes criatórios do Estado do Rio Grande do Sul. **The Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 5-9, 2004.

MARQUES-SANTOS, F.; AMENDOEIRA, M. R. R.; CARRIJO, K. F.; SANTOS, J. P. A. F.; ARRUDA, I. F.; SUDRÉ, A. P.; BRENER, B.; MILLAR, P. R. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and risk factors for infection in pigs raised and slaughtered in the Triângulo Mineiro region, Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 570-576, 2017.

MARSHALL, P. A.; HUGHES, J. M.; WILLIAMS, R. H.; SMITH, J. E.; MURPHY, R. G. Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. **Parasitology**, v. 128, p. 39-42, 2004.

MAUBON, D.; AJZENBERG, D.; BRENIER-PINCHART, M. P.; DARED, M. L.; PELLOUX, H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? **Trends in Parasitology**, v. 24, p. 299-303, 2008.

MAZZOLLI, M. **Persistência e riqueza de mamíferos focais em sistemas agropecuários no planalto meridional Brasileiro**. 2006. 105 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rio Grande do sul, 2006.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 5. ed. Elsevier: St. Louis, 2012. 1321p.

MEIRELES, L. R.; GALISTEO JUNIOR, A. J.; POMPEU, E.; ANDRADE, H. F. J. R. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Tropical Medicine & International Health**, v. 9, n. 8, p. 876-881, 2004.

MESQUITA, E. P.; OLIVEIRA, J. M. B.; SILVA, G. M.; TORRES, S. M.; OLIVEIRA, A. A. F.; SILVA JÚNIOR, V. A.; MOTA, R. A.; AMORIM, M. J. A. A. L. Imunodeteção de *Toxoplasma gondii* em tecido placentário de cabras naturalmente infectada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.1, p.86-92, 2019.

MILLAR, P. R.; SOBREIRO, L. G.; BONNA, I. C. F.; AMENDOEIRA, M. R. R. Importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 693-706, 2008.

MINERVINO, A. H. H.; CASSINELLI, A. B. M.; DE SOUZA, A. J. S.; ALVES, M. M.; SOARES, M. C. P.; FERREIRA, D. A. C.; PEREIRA, W. L. A.; GENNARI, S. M. Detection

of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. **Journal of Medical Primatology**, v. 46, p. 343-346, 2017.

MOELLER, R. B. Causes of caprine abortion: diagnostic assessment of 211 cases (1991-1998). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, p. 265-270, 2001.

MONTAÑO, P. Y.; CRUZ, M. A.; ULLMANN, L. S.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W. Contato com gatos: um fator de risco para a Toxoplasmose congênita? **Clínica Veterinária**, v. 86, p. 78-84, 2010.

MONTOYA, J. G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 185 p. 73-82, 2002.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, 2004.

NAVA, A. F. D. **Espécies sentinelas para a Mata atlântica: as consequências epidemiológicas da fragmentação florestal no Pontal do Paranapanema, São Paulo**. 2008. 147 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2008.

NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em linguças de suínos. **Boletim de Oficina Sanitária Panamericana**, v. 112, p. 138-143, 1994.

NAVARRO, J. A.; ORTEGA, N.; BUENDIA, A. J.; GALLEGU, M. C.; MARTÍNEZ, C. M.; CARO, M. R.; SÁNCHEZ, J.; SALINAS, J. Diagnosis of placental pathogens in small ruminants by immunohistochemistry and PCR on paraffin-embedded samples. **Veterinary Records**, v. 165, p. 175178, 2009.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. Editora Atheneu: São Paulo. 2003. 177 p.

OLIVEIRA, A. A.; BEVILACQUA, P. D.; PINTO, P. S. A. Principais protozoários transmissíveis por produtos de origem animal. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, v. 43, p. 5-14, 2004.

PARK, C. H.; IKADAI, E.; YOSHIDA, H. ISOMURA, H.; INUKAI, H.; OYAMADA, T. Cutaneous toxoplasmosis in a female japanese cat. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 5, p. 683-687, 2007.

PESCADOR, C. A.; OLIVEIRA, E. C.; PEDROSO, P. M. O.; BANDARRA, P. M.; OKUDA, L. H., CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D. Perdas reprodutivas associadas com infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 167-171, 2007.

PETERSEN, E. Toxoplasmosis. **Seminars in Fetal et Neonatal Medicine**, v. 12, p. 214-223, 2007.

PIFER, R.; YAROVINSKY, F. Innate responses to *Toxoplasma gondii* in mice and humans. **Trends in Parasitology**, v. 27, p. 388-393, 2011.

PLUGGE, N. F.; FERREIRA, F. M.; RICHARTZ, R. R. T. B.; SIQUEIRA, A.; LOCATELLI-DITTRICH, R. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and/ or *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 202-206, 2011.

POWELL, C. C.; BREWER, M.; LAPPIN, M. R. Dtection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactanting cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 29-33, 2001.

RAWAL, B. D. Toxoplasmosis: a dye-test on era from vegetarians and meat in Bombay. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, p. 61-63, 1959.

REIS, M. M.; TESSARO, M. M.; D'AZEVEDO, P. A. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 28, n. 3, p. 158-64, 2006.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, p. 264-296, 2012.

RORMAN, E.; ZAMIR, C. S.; RILKIS, L.; BEN-DAVID, H. Congenital Toxoplasmosis-prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Reproductive Toxicology**, v. 21, p. 458-472, 2006.

ROSA, C.; KASAI, N.; SOUZA, S. L. P.; GUERRA, J. L.; REGO, A. A.; GENNARI, S. M. Comparação das técnicas de imuno-histoquímica e bioensaio em camundongos para pesquisa de *Toxoplasma gondii* em tecidos de caprinos, experimentalmente inoculados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 1, p. 13-17, 2001.

ROUGIER, S; MONTOYA, J. G; PEYRON, F. Lifelong Persistence of Toxoplasma Cysts: A Questionable Dogma? **Trends in Parasitology**. v. 33, n. 2, p. 93-101, 2016.

SAKAMOTO, C. A. M.; COSTA, A. J.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F.; TONIOLLO, G. H.; LOPES, W. D.; BICHUETTE, M. A.; BETINI, M. A.; AMARANTE, A. F.; BRESCIANI, K. D. S. Experimental infection of pregnant queens with two major Brazilian clonal lineages of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, v. 105, n. 5, p. 1311-1316, 2009.

SARTORI, A. L. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 33, n. 2, p. 93-98, 2011.

SERCUNDES, M. K. **Filogenia molecular dos protozoários pertencentes à subfamília Toxoplasmatinae pela análise de genes mitocondriais e de apicoplasto**. 2010. 94 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses) - Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo. 2010.

SERRANTI, D.; BUONSENSO, D.; VALENTINI, P. Congenital toxoplasmosis treatment. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 15, p. 193-198, 2011.

SILVA, A. F.; OLIVEIRA, F. C. R.; LEITE, B. J. S.; MELLO, M. F.; BRANDÃO, F. Z.; LEITE, R. I.; FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; LILENBAUM, W.; FONSECA, A. B.; FERREIRA, A. M. Immunohistochemical identification of *Toxoplasma gondii* in tissues from modified agglutination test positive sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 191, p. 347-352, 2013.

SILVA, J. C. R. **Soroprevalência e fatores de risco associados à presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em felídeos neotropicais do Brasil mantidos em cativeiro**. 2001. 61 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2001.

SILVEIRA, L. H. **Caracterização biológica e genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* obtidos de galinhas de criação livre do Pantanal do Mato Grosso do Sul**. 2009. 136 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 10, p. 1135-1145, 1997.

SMART, M. E.; DOWNEY, R. S.; STOCKDALE, P. H. Toxoplasmosis in cat associated with cholangitis and progressive pancreatitis. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 14, n. 122, p. 313-316, 1973.

SOUZA, H. J. M. **Coletânea em medicina cirúrgica e felina. Zoonoses: mitos e verdades**. Livros de Veterinária: Rio de Janeiro, 2003. 477p.

SOUZA, S. L. P.; MARVULO, M. F. V.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; JACOMO, A. T. A.; SILVEIRA, L.; FERRO, C.; RAGOZO, A. M. A.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M.; SILVA, J. C. R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mamíferos silvestres do Parque Nacional das Emas, GO. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Simpósio Latino-Americano de Parasitologia Veterinária. Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses**. Ribeirão Preto, 2006. p. 311.

SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; RIBEIRO, L. C.; SILVEIRA, C.; GARCIA, A. P.; COURA, L. C. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão da Toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 483-491, 2003.

SU, C.; SHWAB, E. K.; ZHOU, P.; ZHU, X. Q.; DUBEY, J. P. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 137, p. 1-11, 2010.

TALABANI, H.; MERGEY, T.; YEAR, H.; DELAIR, E.; BREZIN, A. P.; LANGSLEY, G.; DUPOUY-CAMET, J. Factors of occurrence of ocular toxoplasmosis. A review. **Parasite**, v. 17, p. 177-182, 2010.

TENTER, A. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal Parasitology**, v. 30, p. 1217-58, 2000.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

TENTER, A. M.; JOHNSON, A. M. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. **Advances in Parasitology**, v. 39, p. 69–139, 1997.

THOISY, B.; DEMAR, M.; AZNAR, C.; CARME, B. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging neotropical mammals. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 39, n. 2, p. 456-459, 2003.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2006.

TOLOSA, E. M. C.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Barueri - SP: Manole, 2003. 331 p.

ULLMANN, L. S.; GRAVINATTI, M. L.; YAMATOOGI, R. S.; SANTOS, L. C.; MORAES, W.; CUBAS, Z. S.; CAMOSSO, L. G.; FILHO, I. R. B.; LANGONI, H.; VIEIRA, R. F. C.; BIONDO, A. W. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 172, p. 144–146, 2010.

UNZAGA, J.M.; MORÉ, G.; BACIGALUPE, D.; RAMBEAUD, M.; PARDINI, L.; DELLARUPE, A.; FELICE, L. D.; GOS, K. L.; VENTURINI, M. C. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. **Parasitology International**, v. 63, p. 865-867, 2014.

VAN MAANEN, C.; WOUDA, W.; SCHARES, G.; VON BLUMRODER, D.; CONRATHS, F. J. An interlaboratory comparison of immunohistochemistry and PCR methods for detection of *Neospora caninum* in bovine foetal tissues. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 351-364, 2004.

VARGAS, C. S. G. **Títulos de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii* (NICOLE; MANCEAUX, 1908) e de oocistos em fezes de gatos de rua (*Felis catus* – LINNAEUS, 1758) em Curitiba, Paraná**. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado) Instituto Biológico – Programa de Pós-Graduação. São Paulo. 2010.

VILLARD, O.; CIMON, B.; L'OLLIVIER, C.; FRICKER-HIDALGO, H.; GODINEAU, N.; HOUZE, S.; PARIS, L.; PELLOUX, H.; VILLENA, I.; CANDOLFI, E. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 84, p. 22-23, 2016.

VILLARINO, N.; SCHMIDT, N. W. CD8 T cell responses to and intracellular parasites. **Current Immunology Reviews**, v. 9, p. 169-178, 2013.

VIOTTI, N. M. A.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O. Avaliação das técnicas de Hematoxilina-Eosina, imunofluorescência e peroxidase anti-peroxidase no diagnóstico post-mortem da Toxoplasmose suína. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, p. 107-1141, 1995.

VITALINO, S. N. **Isolamento e caracterização biológica e genotípica de *Toxoplasma gondii* em animais selvagens do Brasil**. 2012. 100 f. Tese (Doutorado) – Universidade de



São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2012.

WALLACE, G. D.; ZIGAS, V.; GAJDUSEK, D. C. Toxoplasmosis and cats in New Guinea. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 23, p. 8-13, 1974.

WANDERLEY, F. S.; PORTO, W. J. N.; CÂMARA, D. R.; DA CRUZ, N. L.; FEITOSA, B. C.; FREIRE, R. L.; DE MORAES, E. P.; MOTA, R. A. Experimental vaginal infection of goats with semen contaminated with the "CPG" strain of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 99, p. 610-613, 2013.

YAROVINSKY, F. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* infection. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, p. 109-121, 2014.

ZHANG, S. Y.; WEI, M. X.; ZHOU, Z. Y.; YU, J. Y.; SHI, X. Q. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sera of rare wildlife in the Shanghai zoological garden, People's Republic of China. **Parasitology International**, v. 49, p. 171-174, 2000.

## ANEXO 1



MINISTERIO DE AGRICULTURA

INSTITUTO NACIONAL DE RECURSOS  
NATURALES

*"Decenio de las personas con discapacidad en el Perú"*

*"Año del Deber Ciudadano"*

**Autorización N° 041-2007-INRENA-IFFS-DCB**

Vista la solicitud presentada por el Sr. Pedro Ginés Mayor Aparicio, investigador de la Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona y el informe N° 227-2007-INRENA-IFFS-DCB, se autoriza la investigación científica en fauna silvestre (despojos de fauna silvestre (cráneos y tejidos de órganos reproductivos) provenientes de la caza de subsistencia), fuera de Areas Naturales Protegidas en la Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo, en el departamento de Loreto, como parte del proyecto denominado: "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de Subsistencia", por el período comprendido entre junio del 2007 a junio del 2008, a:

PEDRO GINES MAYOR APARICIO  
MANUEL LOPEZ BEJAR  
MONICA ROMERO SOLORIO

PAS N° M933994  
PAS N° 38510887-P  
DNI N° 10317247

Los investigadores se comprometen a:

- a) Colectar despojos de fauna silvestre provenientes de la caza de subsistencia únicamente.
- b) No ceder a terceros los especímenes o parte de éstos (tejido, cromosomas u otros) para investigaciones relacionadas con acceso a recursos genéticos con fines de bioprospección.
- c) Si por razones científicas acotadas, se requiere enviar al extranjero parte del material colectado, los interesados deberán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante el INRENA, así como pasar el control respectivo.
- d) Entregar el 50% del material colectado por especie a una entidad científica nacional, incluyendo los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos, los cuales sólo podrán ser exportados en calidad de préstamo.
- e) Entregar al INRENA tres (03) copias del informe final como resultado de la autorización otorgada, copias del material fotográfico y/o slides que puedan ser utilizadas para difusión. Asimismo entregar cinco (05) copias de las publicaciones producidas a partir de la investigación realizada.




Se expide la presente, de conformidad con la Resolución Jefatural N° 099-2006-INRENA que aprueba la publicación del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del Instituto Nacional de Recursos Naturales - INRENA aprobado por Decreto Supremo N° 014-2004-AG y sus modificatorias, la Ley Orgánica del Ministerio de Agricultura aprobada por Decreto Ley N° 25902, que crea el Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA) y el Decreto Supremo N° 002-2003-AG que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del INRENA.

Calle Diecisiete N° 355  
San Isidro- Lima: 27  
Apartado Postal 4452


Teléfono (511) 224-3298  
Facsímile (511) 224-3218  
LIMA-PERÚ

## ANEXO 2



REPÚBLICA DEL PERÚ

MINISTERIO DE AGRICULTURA



INRENA

INSTITUTO NACIONAL DE RECURSOS NATURALES

"Decenio de las personas con discapacidad en el Perú"

"Año de las Cumbres Mundiales del Perú"


**Autorización N° 008-2008-INRENA-IFFS-DCB**

Vista la solicitud presentada por el Sr. Pedro Gines Mayor Aparicio, Profesor Lector de la Universidad Autónoma de Barcelona, y el informe N° 455-2008-INRENA-IFFS-DCB, se autoriza la investigación científica y la colecta de fauna silvestre (según lista adjunta); fuera de Áreas Naturales Protegidas en el Centro de Investigación Wayqecha, en el Valle de Kosñipata, provincia de Paucartambo, departamento de Cusco; como parte del proyecto "Diversidad de *Besleria* L. (Gesneriaceae) en el bosque nublado de Wayqecha – Cusco y la implicancia de la morfología floral en la atracción de los polinizadores", por el periodo comprendido entre agosto del 2008 y julio del 2009 en la Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo, departamento de Loreto; como parte del proyecto "Programa de Conservación de mamíferos silvestres en la Amazonía Peruana: evaluación de la sostenibilidad de la caza de subsistencia", por el periodo de septiembre del 2008, a:

PEDRO GINES MAYOR APARICIO	PAS N° AC721849
ERIC CHAVEZ BETANCOURT	DNI N° 40382429

Los investigadores se comprometen a:

- a) No coleccionar ejemplares de especies no autorizadas.
- b) No ceder a terceros los especímenes, parte de éstos, material genético o sus productos derivados con fines diferentes de los científicos, taxonómicos o de filogenia.
- c) Realizar estudios moleculares en coordinación con instituciones peruanas y/o con la participación de investigadores peruanos especializados.
- d) Si por razones científicas acotadas, se requiere enviar al extranjero parte del material colectado, los interesados deberán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante el INRENA, así como pasar el control respectivo.
- e) Entregar el 50% del material colectado por especie a una entidad científica nacional, incluyendo los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos, los cuales sólo podrán ser exportados en calidad de préstamo.
- f) El material depositado en las instituciones nacionales, debe ser entregado debidamente preparado e identificado.
- g) Entregar al INRENA tres (03) copias del informe final como resultado de la autorización otorgada, copias del material fotográfico y/o slides que puedan ser utilizadas para difusión. Así mismo entregar seis (06) copias de las publicaciones, producto de la investigación realizada en formato impreso y electrónico, que incluya la lista taxonómica de las especies de fauna objeto de la autorización de colecta con las respectivas coordenadas (en formato excel).





Calle Diecisiete N° 355  
San Isidro- Lima: 27  
Apartado Postal 4452

Teléfono (511) 224-3298  
Facsimile (511) 224-3218  
LIMA-PERÚ



## ANEXO 3

**RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0127-2010-AG-DGFFS-DGEFFS**

Lima, 26 MAR. 2010

**VISTA:**

La solicitud de autorización para realizar investigación científica con colecta de flora y/o fauna silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas por el período de hasta un año con código único de trámite N° 50984 recepcionada el 06 de octubre de 2009 presentada por el Señor Pedro Ginés Mayor Aparicio, identificado con PAS N° AC721849; y,

**CONSIDERANDO:**

Que, en fecha 06 de octubre de 2009, el Señor Pedro Gines Mayor Aparicio, Profesor Lector de la Universidad Autónoma de Barcelona, solicitó autorización para realizar investigación científica con colecta de flora y/o fauna silvestre para desarrollar el proyecto "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de subsistencia"; fuera de Áreas Naturales Protegidas en la comunidad de Nueva Esperanza, Distrito Ramón Castilla, Departamento de Loreto, por el período de hasta un año comprendido entre noviembre de 2009 hasta noviembre de 2010;


Que, el Decreto Supremo N° 014-2001-AG, Reglamento de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, establece en el artículo 328° que la investigación científica o estudio que implique colección de especímenes o elementos de la flora y fauna silvestre no vedados y la obtención de datos e información de campo, requiere autorización del INRENA;

Que, la tercera disposición final del D.S. N° 003-2009-MINAM, que eleva a rango de Decreto Supremo a la R.M. N° 087-2008-MINAM y ratifica la aprobación del Reglamento de Acceso a los Recursos Genéticos, indica que la obtención de permisos, autorizaciones y demás documentos que otorguen entidades públicas, tales como el MINAG y que amparen la investigación, obtención, provisión, transferencia u otro de recursos biológicos, con fines distintos a su utilización como fuente de recursos genéticos, no faculta a sus titulares a utilizar dichos recursos como medio para acceder a los recursos genéticos, ni determinan ni presumen autorización de acceso;

Que, la Resolución Ministerial N° 698-2007-AG que aprueba la publicación del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del ex Instituto Nacional de Recursos Naturales – INRENA, establece en su numeral 65, los requisitos para la Autorización para realizar extracción de flora y/o fauna silvestre con fines de investigación científica;

Que, en aplicación del último párrafo del artículo 6° de la Resolución Ministerial N° 084-2007-PCM, resulta aplicable el Texto Único de Procedimientos Administrativos a que se hace referencia en el considerando precedente, en tanto el Ministerio de Agricultura culmine con la actualización de su propio Texto Único de Procedimientos Administrativos;

Que, el Informe N° 0948-2010-AG-DGFFS-DGEFFS del 25 de marzo del presente año de la Dirección de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre concluye que el estudio reviste de importancia puesto que brindará información que coadyuvará en la mejora de varios mecanismos y normas para el manejo de los animales sujetos a caza de subsistencia en la Región Amazónica;



## ANEXO 4



## RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0229 -2011-AG-DGFFS-DGEFFS

Lima, 15 ABR. 2011

## VISTA:

La solicitud de Autorización para realizar investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas con colecta de flora y/o fauna silvestre por el período de hasta un año con código único de trámite N° 37621, recepcionada el 30 de marzo de 2011 presentada por el Doctor Pedro Ginés Mayor Aparicio, identificado con PAS N° AAB896491; y,

## CONSIDERANDO:

Que, en fecha 30 de marzo de 2011, el Doctor Pedro Ginés Mayor Aparicio, solicitó autorización para realizar investigación científica con colecta de fauna silvestre; fuera de Áreas Naturales Protegidas en la comunidad de Nueva Esperanza, Distrito Ramón Castilla, Departamento de Loreto; como parte del proyecto "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de subsistencia", por el período comprendido entre marzo de 2011 hasta marzo de 2012;

Que, el Decreto Supremo N° 014-2001-AG, Reglamento de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, establece en el artículo 328° que la investigación científica o estudio que implique colección de especímenes o elementos de la flora y fauna silvestre no vedados y la obtención de datos e información de campo, requiere autorización del INRENA;

Que, la tercera disposición final del D.S. N° 003-2009-MINAM, que eleva a rango de Decreto Supremo a la R.M. N° 087-2008-MINAM y ratifica la aprobación del Reglamento de Acceso a los Recursos Genéticos, indica que la obtención de permisos, autorizaciones y demás documentos que otorguen entidades públicas, tales como el MINAG y que amparen la investigación, obtención, provisión, transferencia u otro de recursos biológicos, con fines distintos a su utilización como fuente de recursos genéticos, no faculta a sus titulares a utilizar dichos recursos como medio para acceder a los recursos genéticos, ni determinan ni presumen autorización de acceso;

Que, la Resolución Ministerial N° 698-2007-AG que aprueba la publicación del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del ex Instituto Nacional de Recursos Naturales – INRENA, establece en su numeral 65, los requisitos para la Autorización para realizar extracción de flora y/o fauna silvestre con fines de investigación científica;

Que, la referida norma establece en el numeral 5 del artículo 21° que está permitida la caza de la fauna silvestre con fines de subsistencia, destinada al consumo directo de los pobladores de las comunidades nativas y comunidades campesinas;

Que, en aplicación del último párrafo del artículo 6° de la Resolución Ministerial N° 084-2007-PCM, resulta aplicable el Texto Único de Procedimientos Administrativos a que se hace referencia en el considerando precedente, en tanto el Ministerio de Agricultura culmine con la actualización de su propio Texto Único de Procedimientos Administrativos;



## ANEXO 5



## RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0350 -2012-AG-DGFFS-DGEFFS

Lima, 19 OCT. 2012

## VISTA:

La solicitud de Autorización para realizar investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas con colecta de flora y/o fauna silvestre por el período de hasta un año con código único de trámite N° 94116, con fecha de recepción 08 de agosto de 2012 presentada por el señor Pedro Ginés Mayor Aparicio, identificado con PAS N° AAB896491 y el Informe Técnico Legal 3610-2012-AG-DGFFS-DGEFFS; y,

## CONSIDERANDO:

Que, la Resolución Ministerial N° 212-2011-AG que aprueba el Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del Ministerio de Agricultura, establece en su numeral 21, los requisitos para la Autorización para realizar actividades de investigación científica y filmaciones con fines comerciales de flora y fauna silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas;

Que, mediante solicitud de fecha 08 de agosto de 2012, el señor Pedro Ginés Mayor Aparicio, investigador del Wildlife Smart Surveillance (PREDICT) y de la Universidad Autónoma de Barcelona, solicitó autorización para realizar investigación científica con colecta de fauna silvestre; fuera de Áreas Naturales Protegidas en la comunidad de Nueva Esperanza en la Provincia de Mariscal Ramón Castilla, Departamento de Loreto; como parte del proyecto "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de subsistencia", por el período comprendido entre agosto de 2012 hasta agosto de 2015;

Que, la tercera disposición final del D.S. N° 003-2009-MINAM, que eleva a rango de Decreto Supremo a la R.M. N° 087-2008-MINAM y ratifica la aprobación del Reglamento de Acceso a los Recursos Genéticos, indica que la obtención de permisos, autorizaciones y demás documentos que otorguen entidades públicas, tales como el MINAG y que amparen la investigación, obtención, provisión, transferencia u otro de recursos biológicos, con fines distintos a su utilización como fuente de recursos genéticos, no faculta a sus titulares a utilizar dichos recursos como medio para acceder a los recursos genéticos, ni determinan ni presumen autorización de acceso;

Que, el Informe Técnico Legal N° 3610-2012-AG-DGFFS-DGEFFS, de fecha 18 de octubre del presente año, emitido por la Dirección de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre de la Dirección General Forestal y de Fauna Silvestre, señala que la solicitud materia de resolución, cumple con los requisitos establecidos y que se cuenta con la autorización para el desarrollo del proyecto por parte del señor Wellington Linares Paredes, Teniente Gobernador de la Comunidad de Nueva Esperanza, del departamento de Loreto y con la opinión favorable del Ingeniero Pedro Vásquez Ruesta, director del Centro de Datos para la Conservación. Asimismo, que teniendo en cuenta los objetivos y metodologías propuestas, se considera procedente autorizar la investigación y la colecta solicitada.



## ANEXO 6



## RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0249-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS

Lima, 27 AGO. 2013

## VISTA:

La solicitud presentada el 12 de junio de 2013, donde se solicita la modificación de la R.D. N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS de fecha 19 de julio de 2013, en el sentido de incorporar en el estudio "Programa de Conservación de mamíferos silvestres en la Amazonía peruana: Evaluación de la sostenibilidad de la caza de subsistencia" a la Comunidad nativa José Olaya del Pueblo Nativo Achual, ubicada en el río Corrientes, Loreto y las Comunidades Nativas Los Jardines y Nuevo Porvenir del Pueblo Nativo Kitchwa del río Pastaza., Loreto, ingresada con Código Único de Trámite N° 74658-2013, presentada por Pedro Ginés Mayor Aparicio identificado con Pasaporte N° AAB896491, y, el Informe Técnico N° 2841-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS, y;

## CONSIDERANDO:

Que, mediante Resolución Directoral N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS del 19 de julio de 2012, se resuelve autorizar al señor Pedro Ginés Mayor Aparicio la investigación científica y la colecta de especímenes de fauna silvestre provenientes de la caza de subsistencia, de acuerdo al anexo 1 de la mencionada Resolución, fuera de Áreas Naturales Protegidas en la comunidad de Nueva Esperanza, Distrito Yavari, Provincia de Mariscal Ramón Castilla, Departamento de Loreto; como parte del proyecto "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de subsistencia", por el período de hasta tres (03) años contado a partir de la emisión de dicha Resolución.

Que, mediante Solicitud presentada el 12 de junio de 2013, el señor Pedro Ginés Mayor Aparicio, solicita la modificación de la R.D. N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS de fecha 19 de julio de 2013, en el sentido de incorporar en el estudio "Programa de Conservación de mamíferos silvestres en la Amazonía peruana: Evaluación de la sostenibilidad de la caza de subsistencia" a la Comunidad nativa José Olaya del Pueblo Nativo Achual, ubicada en el río Corrientes, Loreto y las Comunidades Nativas Los Jardines y Nuevo Porvenir del Pueblo Nativo Kitchwa del río Pastaza, Loreto.

Que, el Informe Técnico N° 2841-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, de fecha 21 de agosto de 2013, de la Dirección de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre, señala que se ha cumplido con remitir la documentación para solicitar la modificación de la Resolución Directoral N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS y que la presente solicitud de modificatoria se enmarca dentro de los objetivos propuestos para el estudio titulado "Programa de Conservación de Mamíferos Silvestres en la Amazonía Peruana: Evaluación de la Sostenibilidad de la Caza de subsistencia" autorizado con R.D. N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS.

Que, el precitado Informe recomienda modificar el artículo 1° de la R.D. N° 0350-2012-AG-DGFFS-DGEFFS, en el sentido que se deberá incorporar para el desarrollo del siguiente estudio a las Comunidades Nativas Los Jardines y Nuevo Porvenir ubicadas a orillas del río Pastaza en el departamento de Loreto y la Comunidad Nativa José Olaya, ubicada a orillas del río Corrientes en el departamento de Loreto;

En uso de las atribuciones conferidas por el artículo 61° del Decreto Supremo N° 031-2008-AG, que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Agricultura; que en su inciso n) precisa como funciones de la Dirección de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre la de autorizar la extracción de especímenes de flora, fauna silvestres y microorganismos con fines de investigación.





ANEXO 7

CONTINUACIÓN PERMISO/CERTIFICADO N° 14PE000049/SP

PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre

**CITES** CONVENCIÓN SOBRE EL COMERCIO INTERNACIONAL DE ESPECIES AMENAZADAS DE FAUNA Y FLORA SILVESTRES

EXPORTACIÓN  
 REEXPORTACIÓN  
 IMPORTACIÓN  
 OTRO

Original  
 2. Válido hasta el 01/04/2015

3. Importador (nombre y dirección) Pedro G. Mayor Aparicio / Diva Anelie de Araújo Guimaraes Laboratorio de Reproducción Animal Instituto de Ciencias Biológicas Universidad Federal de Para (ICB/UFGPA)		4. Exportador (nombre, dirección y país) PEDRO GINES MAYOR APARICIO Instituto Veterinario de Investigaciones de Trópico y de Altura (IVITA) -UNMSM Iquitos, Loreto Perú		
3a. País de importación BRASIL	5a. Fin de la transacción S	5b. Estampilla de Seguridad N° 1326404		
7/8. Nombre científico y Nombre común	9. Descripción de especímenes	10. Apéndice y origen	11. Cantidad	11a. Total exp. Cupo
a. <i>Lagothrix poeppigii</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en frascos herméticos con formol al 10%	II-W	180 g.	
b. <i>Lagothrix poeppigii</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en bloques de parafina	II-W	115 g.	
c. <i>Cacajao calvus</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en frascos herméticos con formol al 10%	II-W	20 g.	
d. <i>Cacajao calvus</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en bloques de parafina	II-W	20 g.	
e. <i>Pithecia monachus</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en frascos herméticos con formol al 10%	II-W	20 g.	
f. <i>Pithecia monachus</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en bloques de parafina	II-W	41 g.	
g. <i>Pecari tajacu</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en frascos herméticos con formol al 10%	II-W	400 g.	
h. <i>Pecari tajacu</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en bloques de parafina	II-W	29 g.	
i. <i>Tayassu pecari</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en frascos herméticos con formol al 10%	II-W	400 g.	
j. <i>Tayassu pecari</i>	muestras de órganos reproductores femeninos en bloques de parafina	II-W	72 g.	
k.				
l.				
m.				
n.				

13. Permiso expedido por: BLGA. ROSA VENTO VALENCIA  
 AUTORIDAD ADMINISTRATIVA CITES-PERU  
 Lima, 01/10/2014  
 Lugar Fecha

Estampilla de seguridad, firma y sellos oficiales





14. Aprobación de la exportación

Sección	Cantidad	Sección	Cantidad
a.		h.	
b.		i.	
c.		j.	
d.		k.	

15. N° de conocimiento de embarque/carta de porte aéreo



ANEXO 8

 <b>REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL</b> MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA SCEN Trecho 2 - Ed. Sede - Caixa Postal nº 09870 - CEP 70818-900 - Brasília-DF		 <b>CONVENÇÃO SOBRE O          COMÉRCIO INTERNACIONAL          DE ESPÉCIES DA FLORA          E FAUNA SELVAGEM          EM PERIGO DE EXTINÇÃO</b>		<b>CONVENTION ON          INTERNATIONAL TRADE          IN ENDANGERED SPECIES          OF WILD FAUNA          AND FLORA</b>		1) Pag. Nº 1/1 2) Data Emissão/Issuing Date: 09/12/2014 3) Válido Até/Valid Until: 09/06/2015																																	
4) Licença nº/Permit n°: <b>14BR015991/DF</b>		6) Selo nº/Stamp n°: 1236953 		8) Controle/Check 1: NGYYDFD1KAIDZM5X		9) Autoridade Adm. Emitente/Issuing Management Authority  Assinatura/Signature																																	
5) Licença de/Permit for <b>Importação/Import</b>		10) Importador/Importer DIVA ANELIE DE ARAUJO GUIMARAES RUA AUGUSTO CORREA - UFPA, INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, LABORATÓRIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL BELEM - 66075110 fone: 09132017773 - diva@ufpa.br Brasil - BR		11) Exportador(Re-exportador)/Exporter(Re-exporter) PEDRO GINÉS MAYOR APARICIO OFICINA DE REPRODUÇÃO ANIMAL Iquitos - 575 fone: - Peru - PE		Maria Izabel Soares Gomes CITES Management Authority IBAMA/BRASIL																																	
12) País Importador/Country of Import Brasil - BR		13) País Exportador(Re-exportador)/Country of Export(Re-export) Peru - PE		14) Objetivo da Operação/Purpose of the transaction S - Científico/Fins científicos...																																			
15) Condições Especiais/Special Conditions For live animals, this permit or certificate is only valid if the transport conditions conform to the Guidelines for Transport and preparation for shipment of live wild animals and plants or, in the case of air transport, to the IATA Live Animals Regulations		16) Dados do Transporte/Transportation Data Local/Place: ALF/AI São Paulo Data Provável/Probable Date: 10/12/2014																																					
Local/Place: ALF/AI São Paulo Data Provável/Probable Date: 10/12/2014				ESTA LICENÇA É VÁLIDA SOMENTE PARA UMA OPERAÇÃO/ THIS PERMIT OR CERTIFICATE IS ONLY VALID FOR ONE SHIPMENT.																																			
17) Item 20) Espécie: nome científico nome vulgar/ Species: scientific name common name		21) Anexo/Origem Appendix/Source		18) Produto/Product 22) Descrição: Parte Quantidade-Unidade-Marcação Description: Part Quantity-Unit-Mark		19) Quantidade-Unidade Medida/Quantity Unit 23) Cód. País de Origem-Comprovante-Data Country of Origin-Permit-Data 24) Cód. País de reexportador-Certificado-Data Country reexportation-Certificate-Data																																	
17) I		18) ANIMAL MORTO - PARTE/BODY - PIECE		19) - - 1,48 KG - -																																			
20) 1. Cacajao calvus Uacari Uakari		21) I   W		22) genitalia/genitalia 0,04 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 2. Cebus albifrons Capuchinho-de-cara-branca Brown-pale-fronted-capuchin		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,09 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 3. Cebus apella Macaco-prego Brown-capuchin		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,10 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 4. Lagothrix poeppigii Macaco-barrigudo Woolly-monkey		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,30 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 5. Pithecia monachus Parauacú Saki		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,06 KG -		23) PE - 14PE000049SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 6. Tayassu pecari Cateto White-lipped-peccary		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,47 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
20) 7. Tayassu tajacu Cateto, caritu, porco-do-mato		21) II   W		22) genitalia/genitalia 0,43 KG -		23) PE - 14PE000049/SP - 01/10/2014 24) - -																																	
----- Fim dos Itens/Items End -----																																							
25) Endosso da Aduana/Customs Endorsement <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td><td>Item</td><td>Qtd./Qty</td> </tr> <tr> <td colspan="16" style="height: 50px;"> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">           ASSINATURA/SIGNATURE         </div> </td> </tr> </table>								Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	<div style="text-align: center; margin-top: 20px;">           ASSINATURA/SIGNATURE         </div>															
Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty	Item	Qtd./Qty																								
<div style="text-align: center; margin-top: 20px;">           ASSINATURA/SIGNATURE         </div>																																							
1 Verificar/Verify: <a href="http://ibama.gov.br/cites/verificar">http://ibama.gov.br/cites/verificar</a> E-mail: <a href="mailto:cites.sede@ibama.gov.br">cites.sede@ibama.gov.br</a> 1ª Via - Original - Importador   Exportador - Brasil   Importer   Exporter - Brazil 2ª Via - Exportador   Importador - Estrangeiro   Exporter   Importer - Other Country 3ª Via - Aduana / Customs 4ª Via - IBAMA																																							

## ANEXO 9

446996


**NORMAS LEGALES**
El Peruano  
Lima, viernes 22 de julio de 2011

La tenencia por personas naturales de ejemplares de especies de fauna silvestre se rige por lo que establece el reglamento. Estos solo pueden provenir de zocriaderos o áreas de manejo autorizadas y deben estar debidamente marcados y registrados ante la autoridad regional forestal y de fauna silvestre y por el titular interesado, quien es legalmente responsable del bienestar de dichos ejemplares.

**TÍTULO V****Medidas sanitarias y de control biológico****Artículo 100. Medidas sanitarias**

La autoridad regional forestal y de fauna silvestre realiza o autoriza la aplicación de medidas sanitarias, incluyendo la extracción de ejemplares de fauna silvestre por razones de sanidad o de seguridad, con el objeto de evitar daños que ejemplares de especies de la fauna silvestre puedan ocasionar en forma permanente o eventual, directamente al hombre, a la agricultura, a la ganadería, a la vegetación y a la propia fauna silvestre.

La autoridad regional forestal y de fauna silvestre coordina su ejecución con el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (Senasa) y con la autoridad competente del Ministerio de Salud cuando se trate de aspectos sanitarios.

**Artículo 101. Uso de aves de presa para el control biológico**

La autoridad regional forestal y de fauna silvestre autoriza el uso de aves de presa para el control biológico, las cuales solo provienen de zocriaderos autorizados, asegurándose su adecuado manejo y bienestar.

**TÍTULO VI****Caza****Artículo 102. Caza de subsistencia**

La caza de subsistencia es la que se practica exclusivamente para la subsistencia del cazador y de su familia. Está permitida solo a los integrantes de las comunidades campesinas y nativas. En el caso de los pobladores rurales, se realiza en ámbitos autorizados por la autoridad regional forestal y de fauna silvestre.

Las autoridades comunales, mediante acuerdos internos, regulan y administran el aprovechamiento de las especies de fauna silvestre en el ámbito de sus tierras en función al número de habitantes, área de la comunidad y situación de la conservación de la fauna silvestre, respetando las regulaciones sobre especies amenazadas y asegurando la conservación del recurso, estableciendo un listado de especies susceptibles de ser empleadas para la caza para consumo doméstico fijando temporadas y cuotas, siendo este el instrumento de gestión reconocido por la autoridad regional forestal y de fauna silvestre.

**Artículo 103. Caza o captura con fines comerciales**

La caza o captura con fines comerciales es la que se practica en áreas autorizadas para obtener un beneficio económico. Debe tener la respectiva licencia, autorización o contrato y está sujeta al pago de los derechos correspondientes.

Cada autoridad regional forestal y de fauna silvestre elabora y aprueba el calendario regional de caza comercial de acuerdo a la especie, distribución, cantidad y valor comercial.

Este calendario se basa en la información científica obtenida de los estudios poblacionales de las especies que consigna, realizados por el Serfor o las autoridades regionales forestales y de fauna silvestre o por terceros, considerando su impacto en las poblaciones de las especies y en los ecosistemas que sustentan dichas poblaciones. Fija las temporadas de caza y los volúmenes totales autorizados a extraer.

La comercialización de carne de especies de fauna silvestre solo procede en caso de que provenga de zocriaderos o áreas de manejo. Con este fin, para las áreas de manejo, la autoridad regional forestal y de fauna

silvestre establece las especies y el volumen máximo permitido para comercializar por temporadas a cada cazador comercial registrado y a la comunidad en su conjunto.

**Artículo 104. Caza deportiva**

La caza deportiva es la que el cazador practica únicamente con fines deportivos y sin fines de lucro, contando con la licencia y la autorización correspondiente otorgadas por la autoridad regional forestal y de fauna silvestre, de acuerdo a los tipos y modalidades especificados en el reglamento.

La licencia tiene alcance nacional, la autorización es de alcance regional.

La autoridad regional forestal y de fauna silvestre elabora y aprueba los calendarios regionales de caza deportiva, considerando las unidades de gestión forestal y de fauna silvestre dentro de su jurisdicción, de acuerdo a la especie, distribución, abundancia e interés cinegético, fijando las temporadas de caza y las cuotas de extracción totales y por autorización.

El reglamento regula la práctica de la caza deportiva y de las actividades económicas y servicios vinculados a esta actividad a fin de optimizar sus beneficios ecológicos y socioeconómicos.

**Artículo 105. Cetrería**

La cetrería es la caza de animales silvestres en su medio natural mediante el empleo de aves de presa adiestradas por el hombre y con fines deportivos. Solo se permite el uso de aves de presa reproducidas en zocriaderos o cuya captura haya sido autorizada por el Serfor.

Está sujeta a los calendarios regionales de caza deportiva en los aspectos que corresponda.

Su práctica requiere contar con licencia y autorización para la tenencia de cada ave de presa, otorgada por la autoridad regional forestal y de fauna silvestre, salvo que se trate de especímenes extraídos del medio natural, en cuyo caso corresponde al Serfor otorgar la autorización.

**TÍTULO VII****Conservación de la fauna silvestre****Artículo 106. Rol del Estado en la conservación de la fauna silvestre**

El Estado promueve, norma y supervisa la conservación y el uso sostenible de la fauna silvestre, bajo cualquier modalidad establecida en esta Ley. Para ello, asigna el presupuesto correspondiente.

Promueve la participación privada y comunal en el manejo para la conservación y aprovechamiento de la fauna silvestre.

Fomenta la conciencia nacional sobre el manejo de la fauna silvestre y de los ecosistemas que sustentan sus poblaciones y su capacidad de renovación natural.

**Artículo 107. Lista de ecosistemas frágiles**

El Serfor, en coordinación con las autoridades regionales forestales y de fauna silvestre, aprueba la lista de ecosistemas frágiles en concordancia con la Ley 28611, Ley General del Ambiente, con base en estudios técnicos e información científica disponible, en el ámbito de su competencia. Esta lista se actualiza cada cinco años, caso contrario queda automáticamente ratificada.

El Serfor establece las condiciones para el uso de los recursos forestales y de fauna silvestre en estos ecosistemas.

**Artículo 108. Planes nacionales de conservación y aprovechamiento sostenible de especies clave**

El Serfor elabora los planes nacionales de conservación y aprovechamiento sostenible de especies clave de fauna silvestre que, por su importancia económica y su grado de amenaza, requieren medidas especiales para su conservación a fin de continuar brindando beneficios a la sociedad sin poner en riesgo su supervivencia.

En el caso de especies de interés cinegético con poblaciones de baja densidad, se incorporan en los planes respectivos criterios de precaución y gradualidad.