

JULIO CÉSAR DE SOUZA JUNIOR

**PERFIL SANITÁRIO DE BUGIOS RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans*
(CABRERA, 1940) (PRIMATES: ATELIDAE): UM ESTUDO COM ANIMAIS
RECEPCIONADOS E MANTIDOS EM PERÍMETRO URBANO NO MUNICÍPIO
DE INDAIAL, SANTA CATARINA – BRASIL.**

Florianópolis – SC

2007

JULIO CÉSAR DE SOUZA JUNIOR

PERFIL SANITÁRIO DE BUGIOS RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans* (CABRERA, 1940) (PRIMATES: ATELIDAE): UM ESTUDO COM ANIMAIS RECEPCIONADOS E MANTIDOS EM PERÍMETRO URBANO NO MUNICÍPIO DE INDAIAL, SANTA CATARINA – BRASIL.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Área de concentração:

Epidemiologia

Orientador:

Prof. Dr. Fernando Dias de Ávila-Pires

Florianópolis – SC

2007



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA

“PERFIL SANITÁRIO DE BUGIOS RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans* (CABRERA, 1940) (PRIMATES: ATELIDAE): UM ESTUDO COM ANIMAIS RECEPCIONADOS E MANTIDOS EM PERÍMETRO URBANO NO MUNICÍPIO DE INDAIAL, SC – BRASIL”.

AUTOR: Julio César de Souza Junior

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE:

MESTRE EM SAÚDE PÚBLICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: **Epidemiologia**

Prof.^a Dr.^a Sandra N. C. Caponi
Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Saúde Pública

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Fernando Dias de Ávila-Pires
(Presidente)

Prof. Dr. José Rodrigues Coura
(Membro)

Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Pinto
(Membro)

S729p Souza Junior, Julio César de

Perfil sanitário de bugios ruivos, *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) : um estudo com animais recepcionados e mantidos em perímetro urbano no município de Indaial, Santa Catarina – Brasil / Julio César de Souza Junior ; orientador Fernando Dias de Ávila-Pires. – Florianópolis, 2007. 111 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, 2007.

Inclui bibliografia

1. Guariba (Macaco) – Doenças – Epidemiologia. 2. Zoonoses. 3. *Alouatta guariba clamitans*. 4. Doenças parasitárias. I. Ávila-Pires, Fernando Dias de. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública. III. Título.

CDU: 614



Foto: José Paiva

Aos bugios ruivos, nossos principais representantes da luta pela conservação da fauna silvestre no Estado de Santa Catarina.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Julio César e Maria do Carmo por todo amor e oportunidades a mim proporcionadas, e a minha irmã Giana Roberta pelo carinho incondicional.

À família Negreiros pelo acolhimento e incentivo dado para que esta etapa fosse cumprida com sucesso.

Em especial a minha noiva Juliana por toda dedicação e paciência despendida durante todo este processo.

A Profa. Dra. Zelinda Maria Braga Hirano, mãe científica, pela oportunidade de um dia ter estagiado no CEPESBI e hoje ser veterinário deste Centro.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Dias de Avila-Pires, a quem tenho enorme admiração, por ter acreditado que o tema proposto pudesse ser discutido no programa e pelas sábias considerações.

Ao amigo Dr. Dilmar de Oliveira, pela essencial ajuda em administrar o Centro durante o período do Mestrado e pelas discussões científicas.

As estudantes de Ciências Biológicas Sandra, Esmeralda e Viviam pela ajuda nas coletas e análise dos dados, e a todos os estudantes envolvidos no manejo dos animais do CEPESBI.

Aos Professores Mario Steindel, Juliane Araújo Greinert, Hercílio Higino Filho, Gladys Rosane Thomé Vieira e Eduardo Dalmarco e aos seus respectivos laboratórios: Lab. de Protozoologia da UFSC, Lab. de Parasitologia, Lab. de Imunologia, Lab. de Microbiologia e Lab. de Análises Clínicas da FURB pelas colaborações, disponibilizando suas instalações e auxiliando nos exames.

Aos Laboratórios de Zoonoses e Saúde Pública da Universidade Estadual de Londrina, ao Lab. de Arboviroses do Instituto Evandro Chagas de Belém, ao Lab. de Ixodides da Fiocruz, ao Lab. de Análises Clínicas Indalab, e ao Laboratorio de Zoonosis Parasitarias da Universidade Nacional de Mar del Plata pelos auxílios nos diagnósticos.

“O homem não é o único animal que pode alterar ou destruir seu ambiente, mas é o único que pode, conscientemente, conservá-lo.”

(Fernando Dias de Avila-Pires)

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado é apresentada parte sob a forma clássica descritiva e parte sob a forma de cinco artigos científicos. Após a introdução é apresentado um item a fim de conectar os temas Conservação da Fauna Silvestre e Saúde Pública. Subseqüentemente são apresentadas breves revisões sobre a Tuberculose, Leptospirose e Febre Amarela, para contextualizar as investigações destas enfermidades.

Parte da descrição metodológica será inevitavelmente repetida nos artigos, atendendo às regras de publicação das revistas para as quais serão submetidos. Os artigos originais foram preparados segundo as normas dos seguintes: *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* e *Veterinary Parasitology*. As referências bibliográficas da introdução, materiais e métodos e dos demais itens, com exceção dos artigos que são acompanhados por suas referências, foram relatadas no final da dissertação, posteriormente às considerações finais.

O primeiro artigo, intitulado “Valores hematológicos e bioquímicos séricos de *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro” relata valores de referência para a população estudada, servindo como parâmetro para avaliações clínicas.

O segundo artigo, “Fauna parasitária de *Alouatta guariba clamitans* (Primates: Atelidae) (Cabrera, 1940) no Estado de Santa Catarina: Um estudo em animais recepcionados e mantidos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial”, expõe resultados de uma investigação longitudinal de parasitas intestinais, além de primeiros relatos de algumas espécies em bugios.

O terceiro artigo, “Bertielse em primata não humano brasileiro: Infecção natural em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) no Estado de Santa Catarina”, descreve de forma mais detalhada esta parasitose em bugios ruivos.

O quarto artigo, “Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) cativos”, é uma

comunicação científica apresentada nesta forma por ser o primeiro relato de detecção de anticorpos anti-*T. gondi* nesta subespécie.

Da mesma forma o quinto e último artigo “Nota sobre infecções intestinais em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro”, é uma comunicação científica do primeiro relato de infecção assintomática por *Salmonella* spp. em bugios ruivos.

Para finalizar, após os artigos são apresentadas as considerações finais do autor sobre o trabalho, incluindo as recomendações que, a partir dele, podem ser feitas para novos estudos na área de Conservação da Fauna Silvestre e Saúde Pública.

RESUMO

O bugio ruivo é o primata não-humano mais abundante no Estado de Santa Catarina. A subespécie é classificada como “quase vulnerável” pela União Internacional para Conservação da Natureza – IUCN. A manutenção em cativeiro é uma ferramenta de conservação que necessita de vigilância à sanidade animal e conseqüentemente à Saúde Pública. O objetivo deste estudo foi traçar um perfil sanitário de espécimes recepcionados e mantidos no criadouro científico do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, SC, Brasil. Foram investigados entre abril de 2005 e maio de 2006, parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos; parasitismo intestinal, ecto e hemoparasitismo; infecção por enterobactérias patogênicas; reação a tuberculinização; soroprevalência para toxoplasmose, leptospirose e arboviroses. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos demonstraram-se normais. Demonstrou-se ainda a vasta fauna parasitária desta subespécie, sendo cinco das seis espécies de enteroparasitas diagnosticadas consideradas zoonoses. Evidenciou-se que a subespécie pode servir como hospedeiro assintomático de *Salmonella* spp. Não houve reação positiva à tuberculinização. A investigação sorológica evidenciou exposição a *Toxoplasma gondii*. Entretanto, não houve soroconversão para Leptospirose e Arboviroses. A presença de espécies com potencial zoonótico reforça a necessidade de vigilância de populações cativas. Medidas profiláticas a fim de se evitem agravos ocupacionais devem ser instituídas. Sugere-se que espécimes submetidos a programas de translocação e reintrodução sejam avaliados quanto à presença dos agentes descritos neste trabalho.

Palavras-chave: Perfil sanitário, zoonoses, bugios ruivos, *Alouatta guariba clamitans*, cativeiro.

ABSTRACT

The southern brown howler monkey is the most abundant nonhuman Primates in Santa Catarina State, Brazil. The subspecies is classified as “almost vulnerable” by the International Union for Conservation of Nature and Natural Resources– IUCN. The maintenance of captive wild animal species is a conservation tool that needs a constant health evaluation program. These information could consequently have public health implications. The main objective of this study was determinate the health profile of specimens received or maintained in a scientific captivity at the Biological Research Center of Indaial, Santa Catarina, Brazil. Between April 2005 and May 2006, hematological and serum biochemistry parameters; intestinal, ecto and hemoparasitism; intestinal pathogenic bacteria infection; tuberculin reaction; seroprevalence to Toxoplasmosis, Leptospirosis and Arbovirosis were investigated. Hematological and serum biochemistry showed normal values. The results have demonstrated a rich parasitic fauna. Five of six intestinal parasitisms are zoonosis. Asymptomatic *Salmonella* spp. infection was detected. Tuberculin reaction was not produced. Antibodies against *Toxoplasma gondii* were noted. However, none of the animals studied had antibodies to leptospirae and arbovirues. The presence of zoonotic infections ratify the necessity for constant health monitoring. A preventive management should be done to impede occupational hazards. We also suggest that animals submitted to translocation or reintroduction programs should be evaluated for the agents related.

Key words: health evaluation, howler monkey, *Alouatta guariba clamitans*, zoonosis, captivity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Em A, mapa do Estado de Santa Catarina, com a projeção do município de Indaial e as coordenadas do CEPESBI. Em B e C, foto do município de Indaial, mostrando a localização do Centro.27
- Figura 2 - Municípios de origem dos animais alojados no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – Projeto Bugio30
- Figura 3 - Map of the State of Santa Catarina showing the municipalities where the animals submitted to post mortem examinations came from. 1 - Pomerode, 2 - Indaial, 3 - Blumenau, 4 – Ascurra801
- Figura 4 - A - Presence of *B. mucronata* in a small intestine segment. B - Adult parasite, around 30 cm long.....81
- Figura 5 - Non-human *Bertiella mucronata*. A (40x), B (100x), C (400x): hematoxiline and eosine histological section of mature proglottids in longitudinal position. D: Eggs of *Bertiella mucronata*, Optical photomicrography (400x). Abbreviations: MP: mature proglottids; T: testes; U: uterus; E: eggs; PA: pyriform apparatus. Scale bars: 35 µm83

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Proporção de monoparasitismo por *Giardia* sp. em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 200567
- Gráfico 2 - Proporção de monoparasitismo em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 2005.....67
- Gráfico 3 - Proporção de poliparasitismo em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 200567
- Gráfico 4 - Eliminação de cistos de *Giardia* sp. em amostras fecais de 5 machos adultos num período de 30 dias.....67
- Gráfico 5 - Daily variation, over a 26-day period, of gravid proglottid emission in fecal samples of nine brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) kept in captivity.....81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de registro, data de entrada e de saída, destino, apelido, faixa sexo etária, origem e procedência de bugios ruivos recepcionados e/ou mantidos no CEPESBI entre abril de 2005 e maio de 2006.....	29
Tabela 2 - Valores hematológicos de <i>Alouatta guariba clamitans</i> cativos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.	55
Tabela 3 - Valores bioquímicos séricos de <i>Alouatta guariba clamitans</i> cativos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.	55
Tabela 4 - Números absolutos e proporcionais de parasitas intestinais de amostras fecais (n=382) de <i>Alouatta guariba clamitans</i> (n=28) cativos no CEPESBI.....	66
Tabela 5 - Bugios ruivos com ectoparasitoses recepcionados no criadouro do CEPESBI, com identificação de parasitas, FSA, origem, procedência e histórico.....	68
Table 6 - Serum-occurrence of anti- <i>Toxoplasma gondii</i> antibodies in <i>Alouatta guariba clamitans</i> by age and sex class.....	91

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

μL – microlitros

mL - mililitro

% - porcentagem

g/dL – gramas por decilitro

mg/dL – miligramas por decilitro

mg/kg – miligrama por kilograma

IU/L – unidades internacionais por litro

pg/cel. – picograma por célula

fl – micro micrograma

m - metro

mm - milímetros

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

cm – centímetro

μm – micrometro

rpm – rotações por minuto

n – número de amostras

DP – desvio padrão

IC – intervalo de confiança

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
1 FAUNA SILVESTRE, CONSERVAÇÃO E SAÚDE PÚBLICA	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Delineamento do estudo	26
3.2 Local de estudo	26
3.3 A subespécie <i>Alouatta guariba clamitans</i>	27
3.4 Delimitação do universo e da amostra	28
3.5 Coleta de material biológico	30
3.6 Implicações éticas	31
4 TUBERCULOSE EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS	31
4.1 Etiologia	31
4.2 Transmissão.....	31
4.3 Sinais clínicos.....	32
4.4 Patologia	32
4.5 Diagnóstico	33
4.6 Tratamento	33
4.7 Profilaxia	34
4.8 Impactos na Saúde Pública.....	34
4.9 TESTE DE TUBERCULINIZAÇÃO	35
4.9.1 Material e métodos	35
4.9.2 Resultados.....	35
4.9.3 Discussão	35
5 LEPTOSPIROSE EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS	37
5.1 Etiologia	37
5.2 Transmissão.....	37
5.3 Sinais clínicos.....	37
5.4 Patologia	38
5.5 Diagnóstico	38

5.6	Tratamento	39
5.7	Profilaxia	39
5.8	Impactos na Saúde Pública.....	39
5.9	INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA PARA LEPTOSPIROSE	40
5.9.1	Material e métodos	40
5.9.2	Resultados.....	40
5.9.3	Discussão	41
6	FEBRE AMARELA	42
6.1	Etiologia	42
6.2	Epidemiologia.....	42
6.3	Ciclos de transmissão	43
6.4	Patogenia e Patologia	44
6.5	Quadro clínico	45
6.6	Diagnóstico	45
6.7	Tratamento.....	46
6.8	Prevenção	46
6.9	INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE ARBOVIROSES	47
6.9.1	Material e métodos	47
6.9.2	Resultados.....	47
6.9.3	Discussão	47
7	ARTIGO 1:	
	“Valores hematológicos e bioquímicos séricos de <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro.” ..	51
7.1	Resumo.....	51
7.2	Abstract.....	52
7.3	Introdução	52
7.4	Material e métodos.....	53
7.5	Resultados	54
7.6	Discussão.....	56
7.7	Referências Bibliográficas.....	58
8	ARTIGO 2:	
	“Fauna parasitária de <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Primates: Atelidae) (Cabrera, 1940) no Estado de Santa Catarina: Um estudo em animais	

recepcionados e mantidos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.”	61
8.1 Resumo.....	61
8.2 Abstract.....	62
8.3 Introdução.....	62
8.4 Material e métodos.....	63
8.5 Resultados.....	65
8.5.1 Parasitismo intestinal.....	65
8.5.2 Parasitismo sanguíneo.....	68
8.5.3 Ectoparasitismo.....	68
8.6 Discussão.....	69
8.7 Referências Bibliográficas.....	72
9 ARTIGO 3:	
“Bertiellosis in a Brazilian non-human Primates: natural infection in <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) in Santa Catarina State.”	76
9.1 Abstract.....	76
9.2 Resumo.....	77
9.3 Introduction.....	77
9.4 Material and methods.....	79
9.5 Results.....	80
9.6 Discussion.....	82
9.7 References.....	85
10 ARTIGO 4:	
“Ocorrência de anticorpos anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) cativos.”	88
10.1 Abstract.....	88
10.2 Resumo.....	89
10.3 Introduction.....	89
10.4 Material and methods.....	90
10.4.1 Site of study.....	90
10.4.2 Monkeys.....	90
10.4.3 Modified agglutination test (MAT).....	90
10.4.4 Statistical analysis.....	91

10.5 Results	91
10.6 Discussion	91
10.7 References	92
11 ARTIGO 5:	
“Nota sobre infecções intestinais em <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro.”	95
11.1 Resumo	95
11.2 Abstract	95
11.3 Referências bibliográficas	98
12 CONSIDERAÇÕES FINAIS	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
ANEXOS	

INTRODUÇÃO

A idealização deste estudo iniciou-se a partir da experiência do autor, não muito longa, mas suficiente na prática da medicina de animais silvestres, para perceber o impacto de enfermidades em populações de bugios ruivos cativos, tanto no município de Indaial como em outras instituições mantenedoras de fauna silvestres no Brasil. Ao mesmo tempo, a manutenção destes animais em perímetro urbano e a conseqüente exposição de pessoas aos mesmos levantavam dúvidas quanto às implicações à Saúde Pública.

É bem sabido que a saúde dos animais silvestres tem sido prejudicada pela fragmentação e degradação de habitats, pelo isolamento de populações, e pela maior proximidade com humanos e seus animais domésticos (Daszak *et al.*, 2000). É claro também que a semelhança filogenética entre primatas não-humanos e humanos permite a susceptibilidade a vários agentes etiológicos em comum (Bennett *et al.*, 1995), sendo que aproximadamente 150 enfermidades compartilhadas já foram reconhecidas e descritas (Fiennes, 1967).

Animais mantidos em cativeiro ou transportados, mesmo que por um curto período, podem ser expostos a uma variedade de patógenos, e se tornarem carreadores potenciais de doenças infecciosas (Baker, 2002). Doenças virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias são importantes causas de morbimortalidade em primatas cativos (Diniz, 1994) e artigos sobre zoonoses emergentes e reemergentes têm ressaltado a necessidade de vigilância a coleções estáveis devido ao possível contágio humano (Bennett *et al.*, 1995; Dubois, 1996).

Como conseqüência, políticas públicas já vêm incorporando estes conhecimentos. De acordo com item F, do artigo 2, da portaria 016, de 4 de março de 1994 do IBAMA, os órgãos cadastrados como centro de pesquisas e de manutenção da fauna silvestre devem relatar os aspectos sanitários e de manejo, incluindo a vigilância de enfermidades.

O Ministério da Saúde possui um plano de intensificação das ações de prevenção e controle da Febre Amarela, o qual recomenda que a vigilância seja passiva em todo território nacional e em focos onde há presença de primatas não-humanos (Ministério da Saúde, 2004). Em 2006, a Secretaria de Vigilância em Saúde, por meio do inciso IV, do anexo II, da Portaria 5, incluiu como de notificação imediata epizootias e/ou morte de primatas não-humanos (SVS, 2006).

Percebendo que embora exista um número significativo de informações sobre enfermidade de primatas brasileiros dispersas e acessíveis apenas pela consulta em periódicos especializados, o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, através do Centro de Proteção de Primatas Brasileiros, órgão executivo para ações de manejo com primatas da fauna brasileira, vem realizando mapeamento das ocorrências de doenças em populações silvestres e cativas a fim de montar uma base estruturada de dados (Valença-Montenegro, 2005).

Com estas idéias bem fixadas, definir o objeto de estudo e formular as hipóteses não foi difícil. A recepção de primatas provindos de vida livre, mantidos em cativeiro em perímetro urbano, e com possibilidade de serem submetidos a estudos de reintrodução, permitiu os seguintes questionamentos: A quais agentes etiológicos estes animais estão sendo expostos em ambiente natural? Com quais tiveram contato em cativeiro? Quais destes agentes são zoonoses? E como os mesmos se comportam frente a estas exposições?

Baseado em revisões bibliográficas e na prática da medicina de animais silvestres definiram-se as seguintes hipóteses: a) os bugios ruivos do Estado de Santa Catarina são expostos a uma variedade de agentes etiológicos, tanto em vida livre quanto em cativeiro; b) muitos destes agentes são zoonoses; c) em sua grande maioria, não apresentam sintomatologia clínica.

Apesar das limitações da investigação serem evidentes, uma vez que nem tudo pode ser investigado, seja por existirem agentes desconhecidos ou por falta de acesso a métodos de diagnóstico, alguns fatores certamente contribuiriam para o desenvolvimento da pesquisa.

A forte ligação do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial -CEPESBI com a Universidade Regional de Blumenau, que permitiu o acesso a seus

laboratórios, assim como a falta de informações de agentes etiológicos nesta subespécie, despertando a curiosidade científica em pesquisadores de outras instituições, como a Universidade Federal de Santa Catarina, Universidade Estadual de Londrina, Laboratório de Ixodides da Fundação Oswaldo Cruz e do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul, foram essenciais para a execução do estudo.

Ademais, as bases teóricas obtidas no Mestrado e no decorrer do estudo fizeram o pesquisador compreender a necessidade de interconexões entre Saúde Pública e a Conservação da Fauna Silvestre, as integrando de forma transdisciplinar, com o objetivo de entender e trabalhar as complexidades da saúde ecológica, diminuindo a distância entre a saúde e o meio ambiente.

1 ANIMAIS SILVESTRES, CONSERVAÇÃO E A SAÚDE PÚBLICA.

O estudo das interações do homem com o meio ambiente gera mais informações e conhecimentos sobre os ecossistemas e sua biodiversidade. Quando esta relação é estabelecida de forma inadequada, mudanças ecológicas com conseqüências desastrosas podem ocorrer (Childs *et al.*, 1998).

Do ponto de vista ecológico, o domínio da terra pelo homem constitui um problema para as demais espécies. Nos últimos séculos adquirimos o poder de influenciar decisivamente na constituição e equilíbrio de ecossistemas, alterando padrões de distribuição biogeográfica de macro e microorganismos e do ritmo de processos de evolução da crosta terrestre e da biosfera (Ávila Pires, 2000).

Existem evidências abundantes de estarmos alterando sistemas biogeoquímicos do planeta. O aquecimento global, a destruição da camada de ozônio, a poluição química, a introdução de espécies exóticas e os processos de extinção com a perda de biodiversidade são noticiados diariamente. Porém nada se compara a degradação de corais e a redução e fragmentação de florestas (Chivian, 2002).

Estas alterações ecológicas permitem dentre outras conseqüências, um incremento na transmissão de patógenos entre populações de novos hospedeiros, impondo uma pressão de seleção e a adaptação de agentes a novas espécies e ambientes. A emergência ou reemergência de muitas doenças infecciosas e parasitárias, dentre elas muitas zoonoses, estão diretamente relacionadas a estes fatores antropogênicos (Patz e Wolf, 2002).

Entende-se como zoonoses as doenças ou as infecções transmitidas naturalmente entre homens e outros vertebrados (OMS/FAO, 1959). Doenças emergentes são aquelas causadas pela introdução de novos microorganismos, como o vírus HIV, ou por patógenos reconhecidos, mas não detectados previamente, como o hantavírus. Já as reemergentes são as decorrentes do

ressurgimento de doenças conhecidas após o declínio ou controle de sua incidência, como por exemplo, a Dengue e Tuberculose (Greco, 2001).

Cerca de 73% de todas as doenças infecciosas classificadas como emergentes ou reemergentes são zoonoses, sendo que muitas delas possuem como reservatórios naturais animais silvestres (Taylor e Woolhouse, 2000).

Porém, enfermidades da fauna silvestre têm também resultado em perda de biodiversidade, devido ao incremento nas taxas de mortalidade e à diminuição das taxas de natalidade (Daszak, 2000). A chitridiomiose, por exemplo, causou a extinção local de inúmeras espécies de anfíbios na América Central e Austrália (Daszak *et al.*, 1999).

Em 2003, o Ebola matou cerca de 600 gorilas na República do Congo, representando 2/3 da população remanescente do santuário de Lossi (Morse e Colier, 2003). A introdução da malária aviária, do poxvírus e de seus vetores causou a extinção de várias espécies de aves no Havaí (Daszak e Cunningham, 1999).

Recentemente Cunningham e Daszak (1998) documentaram o primeiro caso de extinção definitiva de uma espécie, *Partula turgida*, uma anfíbio arborícola da Polinésia, devido à microsporidiose causada por *Steinhausia* sp.

Entre os anos de 1933 e 1951, uma redução de 50% na população de bugios (*Alouatta palliata*) da ilha de Barro Colorado no Panamá foi atribuída a epizootias de Febre Amarela (Collias e Southwick, 1952).

Embora seja sabido que muitas das doenças infecciosas humanas previamente desconhecidas emergiram de reservatórios silvestres, como por exemplo, a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), o Ebola, a Febre do Oeste do Nilo, e os Hantavírus, ainda são inúmeras as lacunas quanto a sua epidemiologia, incluindo o papel do homem e de outros animais (Acha, 2003).

A transmissão do Nippah vírus de morcegos para porcos em fazendas da Malásia devido a incêndios florestais associados à ocorrência do fenômeno El Niño (Epstein, 1999), teve como resultados a morte de mais de 100 pessoas e faliu a suinocultura do país (Johnson, 2003). A redistribuição da Síndrome Respiratória Severa Aguda (SARS) e da Influenza Aviária provavelmente originou-se de modificações genéticas de viroses animais (Marra, 2003) e com impactos econômicos estimados em U\$ 50-100 bilhões (Newcomb, 2003).

Zoonoses transmitidas por animais silvestres mantidos como animais de estimação têm sido tratadas muitas vezes como um problema de Saúde Pública. Um exemplo é a salmonelose associada à manutenção de répteis, que anualmente causa mortes nos Estados Unidos e Europa (Friedman *et al.*, 1998). Acha e Szyfres (1980) apresentam inúmeras enfermidades já transmitidas entre primatas não-humanos cativos e o homem.

Programas de conservação que envolvam translocação, soltura e reintrodução envolvem riscos pela possível transmissão de agentes infecciosos a populações nativas (Cunningham, 1996). Programas que não realizem estas atividades podem apresentar outros desafios sanitários como superlotação, manutenção em ambiente urbano, contato com outras espécies silvestres, domésticas ou sinantrópicas, além do contato humano (Fowler, 1986, Cubas, 1996).

Vale ainda ressaltar que estes animais, em quase sua totalidade, mascaram os sinais clínicos, não permitindo o levantamento de suspeitas clínicas e ressaltando a necessidade de investigações periódicas de agentes etiológicos (Acha e Szyfres, 2003).

Considerando a variedade de espécies envolvidas e a complexidade da história natural de agentes infecciosos e parasitários, a prevenção e o controle de zoonoses são desafios reais para a Saúde Pública. Os estudos da biodiversidade de patógenos possuem maior custo benefício se comparados aos possíveis impactos econômicos e sociais do surgimento de enfermidades (Daszak e Cunningham, 2002).

É possível que os governantes e a população em geral interpretem a proteção do meio ambiente como prioridade, e que compreendam que a saúde humana e a vida dependem da saúde das demais espécies e da integridade dos ecossistemas. Neste contexto, médicos, médicos veterinários, biólogos e demais profissionais da saúde e do meio ambiente precisam estar conscientes da dimensão que envolve a saúde humana e de seus impactos devido à perda da biodiversidade e do distúrbio de ecossistemas. Estes profissionais podem ser os mais poderosos porta vozes e promotores destes entendimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Traçar alguns parâmetros do perfil sanitário de animais da subespécie *Alouatta guariba clamitans* recepcionados e/ou mantidos no criadouro científico do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – Projeto Bugio.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Determinar parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos da população cativa de bugios ruivos do CEPESBI.

2.2.2 Investigar o perfil sorológico para leptospirose, febre amarela e toxoplasmose em bugios ruivos recepcionados e/ou mantidos no CEPESBI.

2.2.3 Realizar teste de tuberculinização na população cativa de bugios ruivos do CEPESBI.

2.2.4 Investigar a infecção por *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. na população cativa de bugios ruivos do CEPESBI, e seu padrão de sensibilidade a antimicrobianos.

2.2.5 Colaborar com a base de dados de ocorrências de doenças em populações de primatas selvagens e cativos do Centro de Proteção de Primatas Brasileiros do IBAMA e com a Vigilância Epidemiológica da Febre Amarela da Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

A metodologia empregada foi a de estudo descritivo transversal, com a realização de inquéritos parasitológicos, microbiológicos e sorológicos da população selecionada. Este delineamento possui limitações, pois não permitiu que fatores de risco fossem determinados. A extrapolação dos dados a outras populações cativas também é uma limitação, visto que cada instituição mantenedora possui suas técnicas de manejo e conseqüentemente seus perfis sanitários.

3.2 Local de estudo

O estudo foi realizado no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – CEPESBI (Fig. 1). O Centro foi criado através da Lei Municipal n. 2099, de 20 de março de 1992, e é mantido por um convênio entre a Prefeitura Municipal de Indaial e a Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB.

O principal objeto de estudo do CEPESBI é a subespécie *Alouatta guariba clamitans* e as pesquisas realizadas visam tanto à conservação *in situ*, com estudos de ecologia e comportamento de populações em fragmentos de Mata Atlântica na região do Vale do Rio Itajaí-Açu, como *ex situ*, com a recepção, reabilitação e manutenção de espécimes em cativeiro.

Uma terceira linha de pesquisa é a reintrodução. Um projeto piloto realizado em 2001 e acompanhado até hoje demonstrou a capacidade da readaptação de um casal de bugios ao ambiente natural.

O criadouro científico de animais silvestres do CEPESBI (registro IBAMA nº. 1/42/98/000708-90) é o único no Brasil especializado na subespécie e ao longo de 15 anos de atividade já recepcionou mais de 100 indivíduos provenientes de instituições competentes.

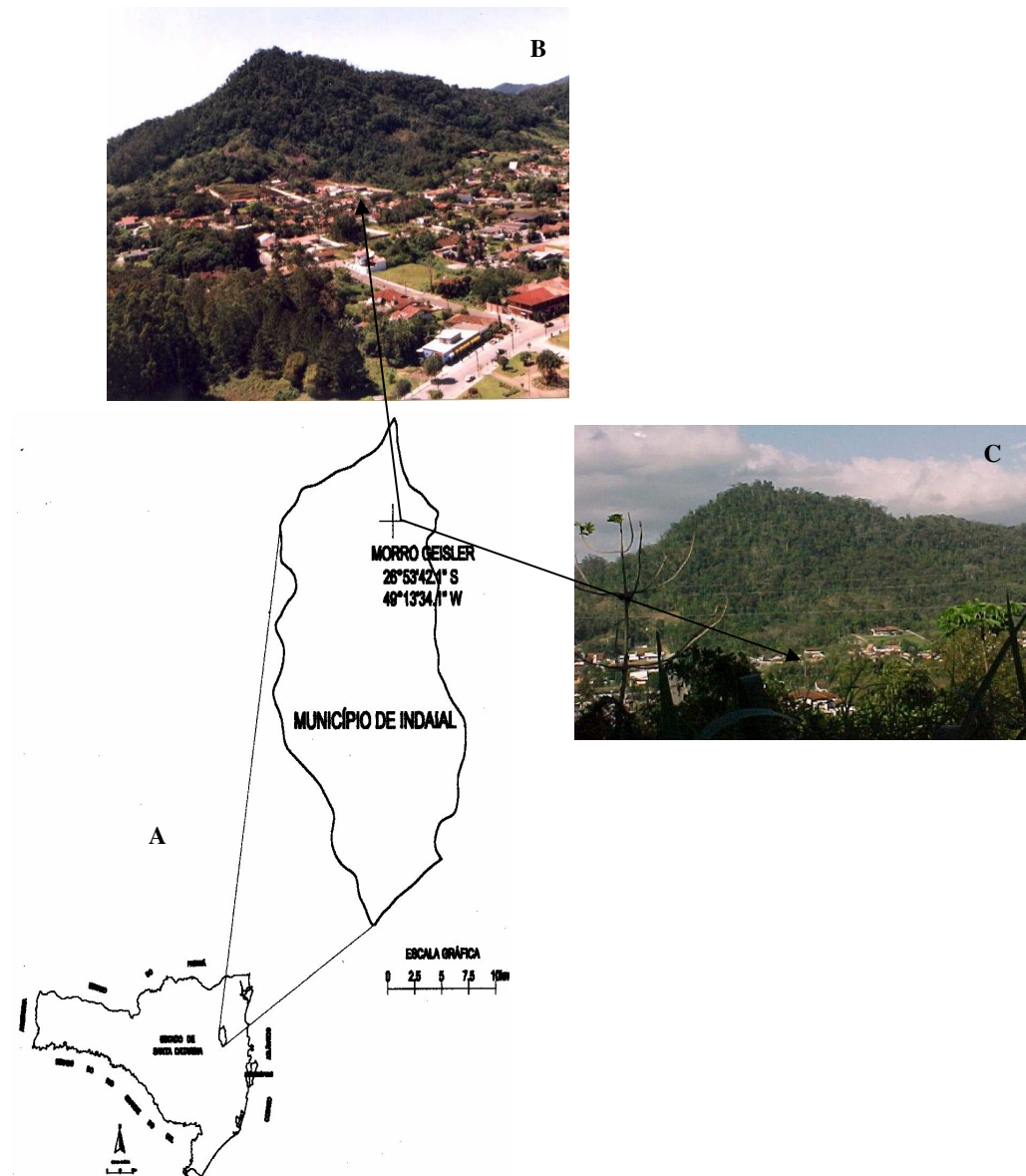


Figura 1 - Em A, mapa do Estado de Santa Catarina, com a projeção do município de Indaial e as coordenadas do CEPESBI. Em B e C, foto do município de Indaial, mostrando a localização do Centro. (Fonte: Hirano, 2004).

3.3 A subespécie *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940).

Os primatas do gênero *Alouatta* são animais arborícolas de grande porte, com corpo maciço e longa pelagem. Possuem espessa e vasta barba sob a face nua e pele negra, hipertrofia do osso híóide, acentuada nos machos,

cauda preênsil e esquizodactilia. São conhecidos no Brasil ainda como guaribas, barbados ou gritadores (Auricchio, 1995).

São considerados os mais folívoros dentre os macacos neotropicais, possuindo hábitos diurnos e gastando mais da metade do período de atividade em repouso (Hill, 1962).

Os grupos são formados por animais de ambos os sexos, com indivíduos de diferentes idades, com tamanho médio de 3,3 a 20,8 animais (Bicca-Marques, 1991). O dimorfismo sexual se dá pelo tamanho do osso hióide, tamanho dos caninos, tamanho corpóreo e cor da pelagem (Auricchio, 1995).

A espécie *Alouatta guariba* habita a Floresta Tropical Atlântica da Bahia até o Rio Grande do Sul, Matas semidecíduas do interior dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná, e Mata de Araucária dos Estados da Região Sul do Brasil (Rylands, 2001).

Cabrera (1940) reconhece duas subespécies: *Alouatta guariba guariba*, com distribuição desde o Estado da Bahia até o Espírito Santo e *Alouatta guariba clamitans* que se distribui desde o Estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (Silva Jr, 1981), e ainda por um uma faixa restrita na província de Misiones na Argentina (Crespo, 1954).

A subespécie *A. guariba clamitans* já foi considerada ameaçada de extinção pelo decreto 1522/89 do IBAMA e pelo decreto nº 42.838, de 04/02/98, do Estado de São Paulo. Segundo a IUCN (2006) Red List of Threatened Species, os bugios ruivos estão classificados como próximo de ameaça, com perigo de extinção em médio prazo. Assim como para a grande maioria das espécies silvestres, as principais ameaças são a perda de habitat, o tráfico e a caça.

3.4 Delimitação do universo e da casuística

Foram utilizados no estudo 35 animais da subespécie *Alouatta guariba clamitans* recepcionados e/ou mantidos no CEPESBI entre os meses de abril de 2005 e maio de 2006 (Tab. 1). A distribuição espacial dos municípios de origem está representada na Figura 2.

Tabela 1 - Número de registro, data de entrada e de saída, destino, apelido, sexo, faixa etária, origem e procedência de bugios ruivos recepcionados e/ou mantidos do CEPESBI entre abril de 2005 e maio de 2006.

apelido	entrada	fse entrada	fse estudo	origem	procedência
Pingo	12/02/99	MJ	MA	Indaial	Desconhecida
Cacau	10/01/01	FJ	FA	Blumenau	Livre
Nino	10/04/01	MI	MA	Desconhecido	Desconhecida
Gucki	16/07/01	MI	MA	São Bonifácio	Livre
Kali	12/02/02	MA	MA	Massaranduba	Cativeiro
Rodi	18/04/02	FA	FA	Pomerode	Cativeiro
Jack	24/04/02	MI	MA	Campo Alegre	Livre
Nick	30/04/02	MJ	MA	Joinville	Desconhecida
Madu	28/05/02	MI	MA	Laguna	Desconhecida
Neguinha	24/06/02	FI	FA	Blumenau	Livre
Kadu	18/11/02'	MI	MSA	Rio de Janeiro/RJ	Cativeiro
Bimbo	15/03/03	MJ	MA	Ascurra	Cativeiro
Sharon	20/03/03	MA	MA	Brusque	Desconhecida
Coquinho	01/04/03	MJ	MSA	Blumenau	Livre
Laguna	10/04/04	FA	FA	Laguna	Cativeiro
Menina	14/12/04	FI	FJ	Lages	Cativeiro
Panduva	15/01/05	FJ	FSA	Panduva	Cativeiro
Bentão	24/03/05	MA	MA	São Bento do Sul	Livre
Bede	29/07/05	MI	MJ	Ascurra	Livre
Banguela	24/09/05	MA	MA	Braço do Norte	Livre
Scooby	09/10/05	MI	MI	Indaial	Livre
Pepe	10/10/05	MJ	MJ	Garuva	Desconhecida
Teddy	20/10/05	MI	MI	Indaial	Livre
Tifa Pauch	20/10/05'	FA	FA	Indaial	Livre
Raissa	04/11/05	FJ	FSA	Pomerode (Zoológico)	Desconhecida
Billy	04/11/05	MA	MA	Massaranduba	Cativeiro
Ponta Aguda	05/12/05'	MA	MA	Blumenau	Livre
Mel	25/11/05	FJ	FJ	Garuva	Livre
Calvin	06/12/05	MI	MJ	Lages	Desconhecida
Lion	13/12/05	MA	MA	Blumenau	Livre
Vila Itoupava	17/02/06'	MSA	MSA	Blumenau	Livre
Ascurra	22/02/06'	FA	FA	Ascurra	Livre
Itoupava Central	25/03/06'	FSA	FSA	Blumenau	Livre
Visconde	20/04/06	MA	MA	Blumenau	Livre
Pomerode	27/04/06'	F.S.A	F.S.A	Pomerode	Livre

FSE – faixa sexo etária. MA – macho adulto, MSA – macho subadulto, MJ – macho juvenil. MI – macho infante. FA – fêmea adulta, FSA – fêmea subadulta, FJ – fêmea juvenil, FI – fêmeas infante.' Óbito.

Os animais eram mantidos em recintos com 3,0 m de largura x 5,0 m de comprimento x 2,6 m de altura, enriquecidos com cordas, troncos e plataformas alimentares. A limpeza e a desinfecção dos recintos eram realizadas diariamente e as pessoas envolvidas no manejo utilizavam equipamentos de proteção individual.

A dieta era fornecida em quatro refeições diárias, compostas por frutas e verduras de cultivares domésticos, ração canina de manutenção e folhas de *Cecropia glazioui* e *Sechium edule*.

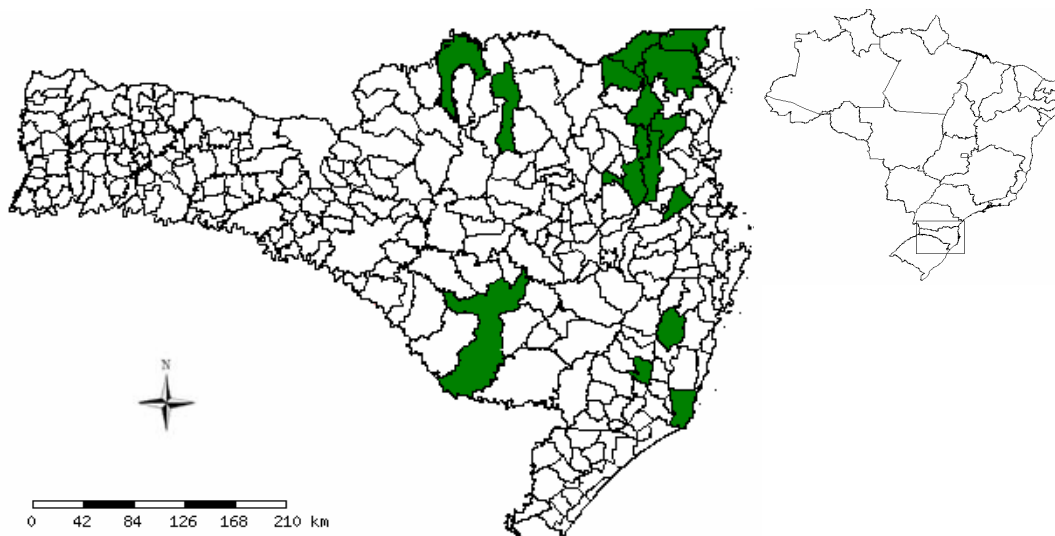


Figura 2 - Municípios de origem dos animais alojados no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – Projeto Bugio.

3.5 Coleta de material biológico

A fim de não tornarem-se repetitivas as informações quanto à metodologia de coleta e análise de dados, as mesmas estarão descritas nos capítulos seguintes.

3.6 Implicações éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Utilização de Animais na Pesquisa Científica e no Ensino da Fundação Universidade Regional de Blumenau (Protocolo CEEA - FURB nº 033/04-A e nº 033/04-B).

4 TUBERCULOSE EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS.

4.1 Etiologia

Os principais agentes etiológicos da Tuberculose em mamíferos são *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. avium* e *M. paratuberculosis*. Enquanto *M. tuberculosis* é o principal agente da Tuberculose humana, *M. bovis* é considerado primariamente um patógeno de animais, já tendo sido isolado de mais de 70 espécies silvestres cativas e de ambientes naturais (de Lisle *et al.*, 2001).

Oliveira *et al.* (2003) alertam para a presença de micobactérias atípicas em coleções de primatas não-humanos, uma vez que estas bactérias possam vir a causar infecções oportunistas em animais submetidos a condições imunossupressivas.

4.2 Transmissão

A infecção em populações de primatas não-humanos silvestres é rara (Montali, 2001), porém, tem sido considerada uma das enfermidades mais importantes em primatas mantidos em cativeiro (Corrêa e Passos, 2001).

Animais expostos ao agente etiológico podem infectar-se por via aerógena ou digestiva. O homem, animais domésticos e fomites podem servir como fonte de infecção aos animais cativos. Macacos infectados podem transmitir o agente ao homem, tornando-se um risco potencial à Saúde Pública (Acha e Szyfres, 1986).

O contato com animais infectados ou o consumo de produtos de origem animal contaminados têm sido considerado uma das principais fontes de infecção zoonótica da Tuberculose e vem sendo combatida com o aumento da fiscalização e inspeção destes produtos na indústria e no comércio (Acha e Szyfres, 1986).

4.3 Sinais clínicos

Primatas asiáticos como macacos rhesus (*Macaca mulatta*) são particularmente mais susceptíveis, com manifestação clínica aguda e severa. Em contraste, primatas africanos como babuínos e chimpanzés são menos susceptíveis, apresentando formas mais crônicas da doença (Isaza, 2003).

Casos de Tuberculose em primatas americanos são relativamente raros. Em investigações experimentais em *Saimiri* enfatizou-se a relativa resistência à infecção (Hill, 1960, Greenstein *et al.*, 1965). Fiennes (1965) relata que cebídeos apresentam maior susceptibilidade que calitriquídeos. Infecções foram ainda descritas em *Cebus apella* (Diniz, 1993; Tury *et al.* 1998; Bouer *et al.*, 2001), *Aotus trivigatus* (Gonzalo *et al.*, 1993) e *Pithecia pithecia* (Heard *et al.*, 1997).

Apenas em casos avançados os sintomas clínicos são detectados. Alteração de comportamento, tosse, tumefação de linfonodos, esplenomegalia, hepatomegalia, diarreia, anorexia, letargia e emagrecimento podem ser detectados (Martin, 1986).

4.4 Patologia

M. tuberculosis e *M. bovis* produzem principalmente granulomas branco amarelado disseminados pelos pulmões, linfonodos, baço e outros órgãos. Lesões típicas são granulomas tuberculóides com centros caseosos, com presença de células gigantes, linfócitos e células epiteliais. Primatas não-humanos podem ainda não apresentar mineralização das lesões.

M. avium e *M. paratuberculosis* são caracterizados por produzirem lesões intestinais, com a presença de infiltrado de histiócitos de forma difusa na lâmina própria e tumefação de linfonodos mesentéricos. Mudanças no epitélio, caseificação e presença de células gigantes não são usualmente encontradas (King, 1993).

4.5 Diagnóstico

O diagnóstico em primatas não-humanos pode ser realizado pelo teste tuberculina, com a inoculação intradérmica na região palpebral de tuberculina (derivação de proteína purificada - PPD) mamífera e aviária. Animais com infecções graves podem ser anérgicos a tuberculinização, sendo os exames *post-mortem* essenciais para o diagnóstico (Montali *et al.*, 2001).

Pesquisas da eficácia da tuberculinização em primatas neotropicais demonstraram que todos os *Callithrix jacchus* testados estavam negativos enquanto 7% dos *Cebus apella* expostos demonstraram reações positivas (Diniz, 1994). Em investigação similar, resultados contraditórios foram descritos em *Saimiri* spp. que se demonstraram positivos para o teste, porém sem lesões no exame *post-mortem*.

Pelo fato de que primatas não-humanos raramente apresentam lesões mineralizadas, exames radiográficos são pouco sensíveis e devem ser utilizadas com cautela (Isaza, 2003).

Ververne *et al.* (2004) demonstraram a validade de dosagens de interferon- γ para a detecção de infecção por *Mycobacterium tuberculosis* em primatas. Culturas de lavados traqueais e gástricos seguidos de teste de reação de cadeia de polimerase (PCR) são os métodos de diagnósticos definitivos (Oliveira *et al.* 2003, Wallach e Boever, 1983).

4.6 Tratamento

Embora o tratamento da Tuberculose já tenha sido realizado com sucesso em primatas não-humanos, a terapia tem sido reservada apenas a espécies ameaçadas ou com alto valor zootécnico (Isaza, 2003).

Fredrickson (1971) e Bennett *et al.* (1995) recomendam que o tratamento de primatas não-humanos deve ser desencorajado e que a eutanásia deve ser indicada por motivos de saúde pública.

4.7 Profilaxia

A prevenção da exposição ao bacilo é a melhor forma de controle da infecção em coleções de primatas. A quarentena de animais recém chegados deve ser longa o bastante para serem realizados os testes de tuberculina. Colônias estáveis devem ser testadas periodicamente (Bennett *et al.*, 1995).

O uso de vidros para separar o público de animais em exposição, a avaliação periódica das pessoas envolvidas no manejo, assim como a utilização de produtos de origem animal inspecionados na alimentação, são medidas eficientes de prevenção (Isaza, 2003).

4.8 Impactos na Saúde Pública

A Tuberculose em pleno século XXI continua um grande problema de saúde pública mundial, sendo mais grave nos países pobres. Acomete mais intensamente as populações pobres, que vivem em aglomerados urbanos, em condições precárias de habitação, com redução de recursos econômicos e sociais (Hijjar *et al.*, 2005).

Atualmente estima-se que um terço da população humana esteja infectada por *M. tuberculosis*, que cerca de 9 milhões de pessoas desenvolvam a doença por ano e que destas, 2 milhões vão a óbito (WHO, 2006). O Brasil encontra-se incluído entre os 22 países que concentram 80% dos casos, em números absolutos, sendo o vigésimo segundo em coeficiente de incidência (Hijjar *et al.*, 2005).

A atual epidemia da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) tem contribuído significativamente com o aumento das taxas de morbimortalidade por Tuberculose. O aparecimento de cepas multirresistentes a antibióticos tem sido outro fator de agravo ao combate a Tuberculose humana (Hijjar *et al.*, 2005).

4.9 TESTE DE TUBERCULINIZAÇÃO EM BUGIOS RUIVOS

4.9.1 Material e métodos

No mês de novembro de 2005, 22 (15 machos e 7 fêmeas) exemplares de bugios ruivos cativos no CEPESBI foram testados. Os animais foram previamente contidos quimicamente com 3,9 mg/kg, via intramuscular, da associação de Tiletamina e Zolazepam (Zoletil®). Parâmetros fisiológicos foram monitorados até o fim do procedimento.

Os animais foram submetidos à prova de tuberculinização utilizando 0,1 ml de tuberculina PPD bovina, intradermicamente na pálpebra esquerda e 0,1 ml de tuberculina PPD aviária na pálpebra direita. Foi observado se havia aumento de volume papebral, efetuando-se leituras 24, 48 e 72 horas após a inoculação (Martin, 1986).

4.9.2 Resultados

Nenhum dos animais testados apresentou reação positiva a tuberculinização. Todos estavam cativos por pelo menos 6 meses e não apresentaram sintomatologia clínica compatível com a Tuberculose no período de estudo.

4.9.3 Discussão

Embora relatos de Tuberculose já tenham sido descritas em espécies de vários gêneros de primatas neotropicais como: *Ateles*, *Aotus*, *Callithrix*, *Cebus*, *Saimiri* e *Pithecia* (Moreland, 1970, Fiennes, 1972, Heard *et al.*, 1997, de Lisle *et al.*, 2001, Montali *et al.*, 2001), não se encontraram relatos em *Alouatta*. Da mesma forma não foram encontrados na literatura relatos de tuberculinização neste gênero.

Os resultados apresentados não descartam a possibilidade de infecção por micobactérias, visto as limitações quanto à sensibilidade e a especificidade

da prova de tuberculina. Culturas bacterianas de lavados traqueais devem ser realizadas a fim de se obterem resultados mais fidedignos e de se investigarem infecções por micobactérias atípicas.

Recomenda-se ainda que os animais sejam submetidos a este teste periodicamente. Animais recém chegados devem permanecer em quarentenários, e neles seja realizado o diagnóstico a fim de se evitar a introdução de animais infectados na coleção.

5 LEPTOSPIROSE EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS.

5.1 Etiologia

Até 1989 eram conhecidas duas espécies de bactérias do gênero *Leptospira*: *Leptospira interrogans*, compreendendo todas as cepas patogênicas, e *L. biflexa*, contendo as cepas saprófitas isoladas do ambiente. Entretanto, com base na análise de DNA são hoje identificadas e nomeadas 13 espécies pertencentes ao gênero.

5.2 Transmissão

A infecção é comum em roedores, que são reservatórios e não apresentam qualquer sintomatologia clínica. O agente localiza-se nos rins e é eliminado na urina, contaminando o ambiente e alimentos (Faine *et al.*, 1999).

A transmissão envolve contato direto ou indireto com urina, fluidos placentários ou leite. A infecção pode ser transmitida também via transplacentária. Em condições ideais o agente pode permanecer no ambiente por vários meses. Epidemias são usualmente associadas a períodos de altos índices pluviométricos e inundações, que permitem maior exposição a materiais contaminados (Faine *et al.*, 1999).

Entretanto, Avila-Pires (2005) discute que a relação entre enchentes e surtos epidêmicos é precipitada, como demonstrou sua análise da coincidência desses eventos em Santa Catarina no período de janeiro de 1991 a abril de 1996.

5.3 Sinais clínicos

A sintomatologia clínica varia entre as espécies silvestres. De forma geral, em casos clínicos da doença a sintomatologia se dá de forma aguda e

inclui febre, anorexia, depressão, vômito, diarreia, icterícia, falha renal, aborto, hemoglobinúria e morte. A mortalidade varia dependendo da quantidade de microorganismos os quais o animal foi exposto e à susceptibilidade de cada espécie (Bolin, 2003).

A doença é considerada rara em primatas neotropicais, porém surtos já foram detectados em *Saguinus midas midas*, *Saguinus midas niger*, *Pithecia monachus* (Sá *et al.*, 1999), *Saguinus labiatus* (Reid *et al.*, 1993), *Saimiri sciureus* (Perolat *et al.*, 1992) e *Callithrix khulii* (Baitchnan *et al.*, 2006).

5.4 Patologia

A Leptospirose não apresenta lesões microscópicas patognômicas. Diferentemente de outras bactérias, leptospiras não causam resposta inflamatória aguda nos tecidos. A lesão central é alteração nos vasos sanguíneos devido à lesão endotelial. Porém, certos tecidos como rins, fígado pulmões e placenta são mais susceptíveis (Faine *et al.*, 1999).

5.5 Diagnóstico

Anticorpos contra vários sorovares de *Leptospira* podem ser detectados no teste de microaglutinação. O resultado é dado em forma de título para cada sorovar. A interpretação dos resultados da sorologia pode ser confusa quando houver titulação para mais de um sorovar. Entretanto é assumido como sorovar infectante o de maior título. O pareamento é importante para determinar a infecção (Pereira, 2005).

De forma geral, infecções agudas em hospedeiros acidentais são associadas a títulos iguais ou superiores a 1:1600. Decrescem posteriormente, mas podem levar meses para caírem a níveis considerados baixos (1:100 a 1:400). Em grupos de risco em áreas endêmicas, admite-se um limite de corte correspondente a títulos maiores ou iguais a 1:800 (Pereira, 2005).

As outras técnicas validadas para o diagnóstico da Leptospirose envolvem a detecção de seu DNA em tecidos ou fluídos. Três destes testes

são usualmente utilizados: imunofluorescência indireta (IFI), reação de cadeia de polimerase (PCR) e imunohistoquímica. Amostras de urina devem ser coletadas 3 ou 4 dias após os picos febris ou após 1 a 2 semanas. Urina ou sangue para FA e PCR devem ser coletados antes de terapias com antibióticos (Bolin, 2003).

5.6 Tratamento

O tratamento de suporte baseia-se na sintomatologia clínica e nos resultados de exames laboratoriais. Antimicrobianos beta-lactâmicos, tetraciclina e estreptomicina são os mais indicados em animais infectados. A terapia antimicrobiana continuada pode ajudar a prevenir ou acabar com a eliminação do agente na urina (Bolin, 2003).

5.7 Profilaxia

A principal medida de prevenção é minimizar o acesso de reservatórios aos recintos, fontes de água e alimentos. Períodos de quarentena devem ser o suficiente para evitar a introdução de animais infectados no plantel. Não existem vacinas desenvolvidas para primatas neotropicais (Bolim, 2003).

5.8 Impactos na Saúde Pública

No Brasil, a Leptospirose é uma enfermidade de notificação compulsória e apresenta um padrão endêmico com surtos epidêmicos. Na década de 1991 a 2000 foram registrados 34.142 casos e 3.724 óbitos (MS/FUNASA, 2002).

A doença tem sido uma das primeiras hipóteses diagnósticas nas investigações de febres hemorrágicas na periferia de áreas urbanas ou em áreas rurais. Todavia, devido à distância dos laboratórios de referência e às

dificuldades na investigação epidemiológica, a maioria dos casos não é confirmada através de exames laboratoriais (Pereira, 2005).

5.9 INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA PARA LEPTOSPIROSE EM BUGIOS RUIVOS.

5.9.1 Material e métodos

Foram utilizadas amostras de soro sanguíneo coletadas nos meses de junho e novembro de 2005, de 14 espécimes (10 machos e 4 fêmeas) mantidos no CEPESBI. Todos os indivíduos apresentavam-se clinicamente saudáveis.

As amostras foram submetidas ao exame de microaglutinação em placa no Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose do Centro de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, em Eldorado do Sul, RS.

Foram testados na bateria de exames 13 sorovales: *Leptospira australis*, *L. autumnalis*, *L. bratislava*, *L. canicola*, *L. copenhageni*, *L. grippityphosa*, *L. hardjo*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. pyrogenes*, *L. tarassovi* e *L. wolff*.

Cada soro foi diluído em proporção 1:50. Controles positivos e negativos foram utilizados em todas as baterias de exames.

5.9.2 Resultados

As amostras investigadas não reagiram aos sorovares testados. Nenhum dos animais apresentou sintomatologia compatível com Leptospirose durante um ano de acompanhamento após a realização das provas sorológicas.

5.9.3 Discussão

A presença de aglutininas anti-*L. interrogans* já foram constatadas em *Alouatta fusca* (Correa *et al.* 1995) e *Alouatta caraya* (Souza Júnior *et al.*, 2006).

Corrêa *et al.* (2004) descreve soroconversão para os sorovares copenhageni (13/21=65%), grippotyphosa (2/21=9,5%) e castellanis (1/21=4,7%) em cebídeos cativos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

Os resultados apontam que nenhum dos animais investigados apresentava infecção aguda ou crônica para os sorovares testados. Existe a possibilidade de que os animais tenham tido contato com algum sorovar não testado nesta investigação, visto que apenas 13 foram testados.

Pereira (2005) ressalta que amostras devem ser colhidas com intervalos entre 7 e 21 dias e que a sorologia negativa na fase inicial não descarta a hipótese diagnóstica. Porém, a ausência de sintomatologia pode ser um indicativo de não exposição ao agente no período de investigação.

6 FEBRE AMARELA

6.1 Etiologia

O vírus da febre amarela pertence ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae* (do latim *flavus* = amarelo). Seu genoma é constituído de ácido ribonucléico (RNA) de fita simples. Embora apenas um sorotipo do vírus amarílico seja reconhecido, há pequenas alterações genéticas entre as cepas da América e da África que permitem atualmente caracterizar dois e cinco genótipos, respectivamente, não se sabendo se um é mais patogênico que o outro (Mutebi *et al.*, 2001).

6.2 Epidemiologia

A febre amarela incide atualmente em extensas áreas tropicais de países da África e da América. A OMS registra em torno de 5.000 casos anuais da doença, sendo a imensa maioria em países africanos. Na América, os países amazônicos notificam anualmente cerca de 200 a 300 casos (Tauil *et al.*, 2005).

É importante salientar que a última grande epidemia urbana em território brasileiro ocorreu em 1929 na cidade do Rio de Janeiro. A partir de então, casos esporádicos ainda foram reportados em diversos estados, sendo que os últimos casos urbanos ocorreram em 1942, em Sena Madureira, no Acre (Nobre *et al.*, 1996).

Contudo, o Brasil apresenta a maior área endêmica da forma silvestre da febre amarela no mundo, compreendendo as bacias dos rios Amazonas, Araguaia-Tocantins e Paraná. A suscetibilidade da doença é universal, porém o grupo populacional mais afetado, no Brasil, tem sido o de adultos, masculinos, jovens, mais expostos às picadas de mosquitos infectados, por razões de trabalho ou lazer, na região onde a febre amarela é enzoótica (Vasconcelos, 2003).

A incidência da forma silvestre é sazonal, coincidindo com as estações chuvosas, quando há o aumento da densidade dos transmissores. Ao longo dos anos, sua incidência tem apresentado uma tendência cíclica, com aumento a cada 5 a 7 anos. Porém, o aumento da cobertura vacinal em áreas endêmicas tem mantido baixo o número de casos registrados da doença (Taulil, 2005).

6.3 Ciclos de transmissão

O vírus da febre amarela mantém-se em dois ciclos básicos: um ciclo urbano simples do tipo homem-mosquito onde *Aedes aegypti* é responsável pela disseminação da doença e outro silvestre complexo, ainda imperfeitamente compreendido e variável de acordo com a região onde ocorre.

As espécies de mosquitos responsáveis pela transmissão diferem-se: na África, as espécies do gênero *Aedes* e na América as espécies dos gêneros *Haemagogus* (*H. janthinomys*, *H. albomaculatus*, etc.) e *Sabethes* (*S. chloropterus*, *S. soperi*, etc.) (Degallier *et al.*, 1992).

No ciclo urbano, a transmissão é feita diretamente ao homem. Este, uma vez infectado, e se não for vacinado, pode desenvolver a doença e serve de fonte de infecção para novos mosquitos e assim o ciclo se perpetua, até que se esgotem os susceptíveis ou se realize vacinação em massa da população para interromper a transmissão (Vasconcelos *et al.*, 2000).

H. janthinomys é o principal responsável pela transmissão da febre amarela por apresentar a maior distribuição geográfica, ser extremamente suscetível ao vírus, se infectar com baixas doses infectantes, se alimentar preferencialmente em macacos e secundariamente no homem, além de apresentar atividade diurna. Tais características explicam porque esta espécie é tão hábil em transmitir a virose e torna este mosquito, por conseguinte, o principal transmissor da febre amarela no Brasil e em muitos países da América do Sul (Vasconcelos *et al.*, 1997).

Tanto na África quanto na América, os hospedeiros silvestres do vírus amarílico são os primatas não humanos (Costa *et al.*, 2002). No continente africano, os macacos são geralmente mais resistentes ao vírus. Já na América,

todas as espécies de macacos identificadas e infectadas experimentalmente se mostraram sensíveis e susceptíveis ao vírus amarelo.

Alguns macacos mostram grande susceptibilidade, como por exemplo, os bugios (gênero *Alouatta*), enquanto outros mostram considerável resistência, como é o caso do macaco prego (gênero *Cebus*). Nos primeiros, doses mínimas do vírus da febre amarela levam ao desenvolvimento de infecção fulminante e invariavelmente fatal, em muito similar aos casos humanos fatais (Vasconcelos *et al.*, 2003).

Epizootias e, posteriormente, casos humanos e óbito por febre amarela silvestre ocorreram em vários estados, como Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais. Em 2001, o Rio Grande do Sul relatou epizootia em bugios ruivos que teve como causa confirmada o vírus amarelo, sendo o mesmo isolado no ano de 2002 em um outro exemplar da espécie encontrado doente (CEVES, 2005).

A possibilidade de reurbanização da febre amarela no Brasil é real e não é de hoje que se tem chamado atenção para este risco. Os principais fatores que reforçam esta possibilidade são a disseminação de *A. aegypti* e do *A. albopictus* pelo território brasileiro, além da expansão da área de transição. Porém, é condição necessária para a ocorrência de transmissão urbana natural a existência de pelo menos um caso de portador da forma silvestre, proveniente de área endêmica, para uma área infestada pelo *A. aegypti* (Tauil *et al.*, 2005).

6.4 Patogenia e Patologia

Baseado em modelos animais experimentais e em achados histopatológicos em humanos, sabe-se que após a inoculação, os vírus caem na circulação sanguínea e em poucas horas atingem os nódulos linfáticos regionais e atingem seu órgão alvo que é o fígado, invadindo os hepatócitos e as células de Kupffer. O período virêmico corresponde ao período de transmissibilidade aos vetores e varia de horas a sete dias (Vasconcelos, 2003).

As lesões macroscópicas não são características. Entre as mais comuns estão: fígado mole, friável e amarelado, com machas hemorrágicas na

superfície. Microscopicamente, a lesão principal é observada nos hepatócitos da zona médio lobular, destacando-se: necrose mediozonal, corpúsculos acidófilos de Councilman, esteatose e ainda corpúsculos de Torres e Villela. Sallis *et al.* (2003) relatam em bugios ruivos a presença de degeneração tubular renal e necrose de folículos linfóides do baço.

6.5 Quadro clínico

A resposta à infecção amarílica revela-se ampla e variável. A febre amarela pode ser definida como uma doença infecciosa viral aguda de curta duração cuja gravidade varia, podendo ocorrer desde formas oligossintomáticas, até formas fulminantes, em que os sintomas clássicos de icterícia, albuminúria e hemorragias estão presentes. Podem causar também infecções assintomáticas ou sub-clínicas que, junto com as formas leves da doença, somente são detectadas pelos exames laboratoriais específicos (Vasconcelos, 2003).

6.6 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo da febre amarela pode ser feito utilizando-se métodos virológicos (isolamento do vírus em cultura de tecidos), identificação de antígenos virais e do RNA viral e métodos sorológicos - dosagem de anticorpos específicos pelo método de IgM-ELISA, que captura anticorpos IgM em ensaio enzimático, ou conversão sorológica em testes de inibição da hemaglutinação (Tauil, 2005).

Faz-se o isolamento do vírus em diferentes sistemas: camundongos recém nascidos ou cultivo celular (células VERO, clone C6/36). Após a inoculação da amostra suspeita, obtêm-se evidências da replicação viral em torno do 5° ao 7° dias de cultura. Ao isolar-se a amostra identifica-se o vírus em testes de imunofluorescência indireta, usando-se anticorpos monoclonais, ou alternativamente, mediante testes de fixação do complemento (Vasconcelos, 2003).

6.7 Tratamento

Não há medicamento específico para o tratamento da doença. O tratamento medicamentoso deve se voltar para o combate aos sintomas e aos sinais manifestos da doença. A avaliação do paciente deve ser contínua e inclui a verificação dos sinais vitais, da diurese e o acompanhamento diário de exames complementares (Vasconcelos, 2003).

6.8 Prevenção

A febre amarela faz parte da lista de doenças de notificação compulsória. O método mais eficaz de prevenção é a vacinação com a amostra 17D. A Organização Mundial de Saúde recomenda que sejam vacinadas todas as pessoas hígdas com mais de 6 meses de idade que residem nas áreas de risco ou que se dirijam a elas. Uma única dose da vacina protege o indivíduo por pelo menos 10 anos, quando então é recomendada a aplicação de nova vacinação (Ministério da Saúde, 1999).

Outro procedimento que pode prevenir a ocorrência da febre amarela é o controle de vetores e o uso de medidas de proteção individual. Devido à impossibilidade de combate aos vetores silvestres, resta o combate ao vetor urbano (Tauil, 2002).

Em 2004, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde elaborou um manual de vigilância de epizootias em primatas não humanos, ressaltando que o foco da vigilância é a população de primatas não humanos de vida livre e em cativeiro, inclusive de áreas indenes.

Os Estados do Rio Grande do Sul e Paraná já possuem um serviço de vigilância sanitária direcionada a Febre Amarela com captura de mosquitos vetores e macacos que possam estar servindo como reservatórios do vírus (Torres, 2003).

6.9 INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE ARBOVIROSES EM BUGIOS RUIVOS.

6.9.1 Material e Métodos

Foram utilizadas amostras de soro sangüíneo colhidas entre abril de 2005 e janeiro de 2006, de 23 espécimes (16 machos, 6 fêmeas e 1 indeterminado) mantidos no CEPESBI. Três eram oriundos de ambiente natural no momento que deram entrada no Centro, os demais já estavam sendo mantidos no Centro por no mínimo um ano.

As amostras foram enviadas congeladas ao Laboratório de Arboviroses do Instituto Evandro Chagas/Fiocruz em Belém – Pará, onde foram submetidas ao Teste de Inibição da Hemaglutinação (IH), segundo Shope (1963). O material foi testado quanto à presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação para um painel com 19 tipos diferentes de arbovírus. São eles: vírus da Encefalite Eqüina do Leste (EEE), vírus da Encefalite Eqüina do Oeste (WEE), vírus Mayaro, Mucambo, Bussuquara, Cacipacoré, vírus da Febre Amarela, vírus Ilhéus, Saint Louis, Rocio, Tacaiuma, Maguari, Caraparú, Guaroa, Catú, Oropouche, Utinga, Icoaraci e Belém.

6.9.2 Resultados

As amostras investigadas não apresentaram anticorpos para os vírus testados. Nenhum dos animais demonstrou sintomatologia clínica compatível às viroses investigadas durante os 18 meses de acompanhamento.

6.9.3 Discussão

O conhecimento sobre arboviroses em primatas americanos tem avançado rapidamente desde a década de 1950. Infecções naturais e experimentais por pelo menos 21 arbovírus já foram relatadas em espécies neotropicais (Dunn, 1968).

O vírus da Encefalite Eqüina do Leste (EEE) nunca foi detectado em primatas, nem mesmo reações sorológicas foram evidenciadas. Porém a susceptibilidade de culturas de tecidos renais de *Alouatta*, *Cebus*, *Aotus* e *Saguinus* foi demonstrada por Hsiung *et al.*, (1964). Já o vírus da Encefalite Eqüina Oeste (WEE), foi isolado de *Cebus* no Brasil por Shope *et al.* (1964).

Existem inúmeros relatos de epizootias de Febre Amarela em populações de bugios. Por exemplo, o declínio de 50% da população de bugios em Barro Colorado – Panamá (*Alouatta palliata*), entre os anos de 1933 e 1951 foi atribuído à infecção pelo vírus amarílico (Collias, 1952).

No Brasil, recentemente foram relatadas mortes de bugios no Rio Grande do Sul com diagnóstico confirmado de febre amarela (Almeida, 2004). Animais do gênero *Alouatta* são mais susceptíveis à infecção que primatas do gênero *Cebus*, porém, a susceptibilidade foi relatada também em *Cebus*, *Ateles*, *Saimiri*, *Callicebus*, *Saguinus* e *Aotus* (Felsenfeld, 1972). De Thoisy *et al.* (2001) evidenciaram respostas sorológicas em *Alouatta seniculus* na Guiana Francesa, demonstrando a capacidade destes animais resistirem à infecção.

A infecção pelo vírus Bussuquara em *Alouatta* e pelo vírus Ilhéus em *Cebus* foram descritas no Brasil (Causey *et al.*, 1961). Koprowski e Hughes (1946) estudaram o vírus Ilhéus experimentalmente em *Callithrix* e *Cebus* e demonstraram que os sagüis possuem uma viremia mais longa (5-7 dias) se comparados aos macacos prego (1 dia). Entretanto, nenhum dos hospedeiros apresentou sintomatologia clínica.

Moreira *et al.* (2000) relatam níveis de anticorpos inibidores da IH maiores ou iguais a 1:40 para o vírus Bussuquara em *Leontopithecus crysopygus* e *Saguinus bicolor bicolor* mantidos em cativeiro no Estado do Rio de Janeiro.

Infecção assintomática pelo vírus Caraparú já foi descrito em *Cebus* utilizado como sentinela. Informações sobre a potencial infectividade em outras espécies não foi encontrada.

O vírus Catú já foi isolado de *Cebus*, sem sintomatologia clínica, em Belém do Pará. Infecções experimentais em outras espécies não foram encontradas (Causey *et al.*, 1961).

A infecção pelo vírus Oropouche também foi relatada em *Alouatta* e *Cebus*. Recentemente, evidências sorológicas em *Alouatta caraya* registraram

a ocorrência mais meridional deste vírus em primatas não-humanos no Brasil (Almeida, 2005).

De Thoisy *et al.* (2003) detectaram prevalências para o vírus Mayaro de 52% (n=98) em *Alouatta seniculus*, 80% (n=5) em *Pithecia pithecia*, 67% (n=6) em *Saimiri sciureus* e 19% (n=42) em *Saguinus midas midas* na Guiana Francesa. Contigiani *et al.* (2000) detectaram infecção pelo vírus Saint Louis em *Alouatta caraya* na Argentina.

Não foram encontrados relatos na literatura de infecção em primatas neotropicais dos seguintes vírus: Mucambo, Cacipocaré, Rocio, Tacaiuma, Maguari, Guaroa, Utinga, Icoaraci e Belém.

No entanto, infecções por outros arbovirus foram encontradas na literatura. Evidência sorológica de infecção por vírus da dengue (Flavivirus grupo B) foi demonstrada por Hsiung *et al.* (1964) em *Saimiri*, *Cebus*, *Ateles*, *Alouatta*, *Aotus* e *Saguinus*. Moreira *et al.* (2000) também detectaram anticorpos para este vírus em *Saguinus bicolor bicolor*.

Causey *et al.* (1961) e Shope *et al.* (1964), relataram a infecção por outros seis vírus em *Cebus* utilizados como sentinela: Marituba, Oriboca, Apeu, Murutucu, Guamá e Itaqui. Os mesmos destacaram que nenhuma destas infecções causou alteração clínica nos animais.

Infecções pelos vírus Cache Valley e Kari foram diagnosticadas por evidências sorológicas em *Alouatta* por Anderson *et al.* (1960) e Downs *et al.* (1961). Anderson *et al.* (1960), tanto por isolamento como por soroneutralização, demonstraram a infecção em *Alouatta* pelo vírus Manzanilla. Outros vírus como Melao e Tacaiuma foram relatados em primatas sentinelas (Causey *et al.*, 1961).

Conclui-se que os animais mantidos no CEPESBI não foram expostos ao vírus da febre amarela. A ausência de sintomatologia clínica durante os 18 meses de acompanhamento descarta a possibilidade de que a coleta de material tenha sido feita em período pré-produção de anticorpos, uma vez que esses animais possuem grande susceptibilidade de desenvolver a doença.

A ausência de soroconversão aos outros vírus pode estar relacionada à coleta de material em período pré produção de anticorpos. Porém, não foram encontrados na literatura relatos destas infecções em bugios em Santa

Catarina ou no Sul do Brasil, com exceção do vírus Oropouche no Rio Grande do Sul.

Devido aos recebimentos contínuos de bugios de todas as regiões do Estado de Santa Catarina, a investigação de arbovírus, em especial o vírus da Febre Amarela, deve fazer parte do protocolo de avaliação sanitária de rotina destes animais. O trânsito de primatas não-humanos de áreas indenes e/ou de transição devem ser desaconselhado, porém, devido à inexistência de locais apropriados para recepção e manutenção de fauna silvestre no Estado muitas vezes obriga os animais a serem deslocados para áreas indenes.

A investigação em populações silvestres na área de transição de febre amarela no Estado pode fornecer mais informações e um melhor entendimento do ciclo epidemiológico e de seu potencial impacto à Saúde Pública em Santa Catarina.

O avanço da área de transição da doença e a facilidade de trânsito de animais podem desempenhar um risco de reurbanização da doença. Sugere-se ainda que instituições que mantenham bugios ou outros primatas em cativeiro realizem vigilância entomológica em seus estabelecimentos.

A parceria com os órgãos públicos de saúde pode facilitar este trabalho e promover um maior contato e troca de informações entre profissionais das áreas de meio ambiente e de saúde.

7 ARTIGO 1:

“Valores hematológicos e bioquímicos séricos de *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro”.

Hematologic and serum biochemistry values of captive *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae).

Julio César de Souza Junior^{1,2}, Esmeralda Dávida da Silva², Eduardo Dalmarco³, Rafael Silva⁴, Zelinda Maria Braga Hirano^{2,5}.

¹Programa de Pós-graduação em Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina, ²Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, ³Laboratório de Análises Clínicas da Fundação Universidade Regional de Blumenau - FURB, ⁴Indalab Laboratório Clínico. ⁵Laboratório de Bioquímica da FURB.

7.1 Resumo

Amostras de sangue de 22 bugios ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) mantidos em cativeiro foram colhidas entre os meses de junho de 2005 e janeiro de 2006. Foram analisados 14 parâmetros hematológicos e 8 bioquímicos séricos. Diferenças estatisticamente significantes entre os sexos foram encontrados para hematócrito, número de hemácias, hemoglobina, hemoglobina corpuscular média, e neutrófilos ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa para parâmetros bioquímicos séricos. Os dados obtidos podem ser utilizados como valores de referência para outras populações desta subespécie mantidas em condições semelhantes. Permitem também uma melhor avaliação sanitária e de outras técnicas de manejo e conservação *ex-situ* de bugios ruivos.

Palavras chave: *Alouatta guariba clamitans*, hematologia, bioquímica sérica, cativeiro, Brasil.

7.2 Abstract

Blood samples from 22 captive southern brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) were collected between June 2005 and January 2006. Samples were evaluated for 14 hematological and 8 serum biochemistry parameters. Males and female had significant differences in red blood cells count, packed cell volume, hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin and neutrophils. No statistical differences were observed between sexes for serum biochemistry values. These data could be used as references values for others captive southern brown howler populations maintained in the same conditions, permitting a better health evaluation and development of *ex-situ* conservation techniques.

Key words: *Alouatta guariba clamitans*, hematology, serum biochemistry, captivity, Brazil.

7.3 Introdução

A manutenção de primatas neotropicais em cativeiro vem sendo utilizada como uma importante estratégia de conservação. Porém, para que esta atividade tenha sucesso, é necessário o conhecimento das particularidades de cada espécie nos mais diferentes aspectos (Diniz, 1997).

A determinação de parâmetros fisiológicos é de extrema importância para a avaliação da sanidade e do bem-estar animal (Szirmai, 1999). Dosagens bioquímicas e de componentes específicos do sangue podem fornecer indicadores importantes do estado metabólico, auxiliando no diagnóstico de doenças e na avaliação do tratamento (Robl *et al.*, 1997).

Os bugios são conhecidos como animais de difícil manutenção em cativeiro por não adaptação a dietas e conseqüente susceptibilidade a doenças (Milton, 1980). A escassez de informações sobre parâmetros fisiológicos destas espécies (Porter, 1971) acaba limitando a possibilidade de se determinar o perfil sanitário destes animais.

Robl *et al.* (2002) estabeleceram parâmetros hematológicos e bioquímicos de bugios ruivos cativos. Contudo, os autores discutem a

necessidade de um número maior de indivíduos para a certificação dos resultados obtidos.

Objetivou-se neste estudo determinar parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de uma população cativa de bugios ruivos (*Alouatta guariba clamitans*).

7.4 Material e métodos

Entre os meses de junho de 2005 e janeiro de 2006 foram colhidas amostras de sangue de 22 indivíduos (15 machos e 7 fêmeas), subadultos e adultos, cativos no criadouro científico do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial. A faixa etária foi determinada segundo Carpenter (1965).

Os animais foram contidos fisicamente com auxílio de puçás para posterior administração intramuscular de 3,9 mg/kg da associação de Tiletamina e Zolazepam (Zoletil 50®). Parâmetros fisiológicos como frequência cardíaca e respiratória, reflexos oculares e temperatura foram monitorados até o retorno da anestesia.

As amostras foram obtidas após desinfecção local e punção da veia braquial. O material foi acondicionado em tubos estéreis com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), submetido à refrigeração (4°C) até serem encaminhados para análise no Laboratório de Análises Clínicas e Laboratório de Bioquímica da Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB. O número de coleta por animal variou de 1 a 3 vezes, visto que durante o período do estudo um animal veio a óbito e seis foram recepcionados.

Valores hematológicos foram determinados utilizando-se o contador eletrônico Celldyn 1400®, calibrado para parâmetros humanos. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada a partir de leitura com auxílio de microscópio óptico (1000 X) de esfregaço sanguíneo em lâmina corada pelo método Giemsa.

A análise incluiu o número de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), linfócitos,

leucócitos, neutrófilos segmentados, bastões, eosinófilos, basófilos, monócitos e plaquetas.

O soro foi obtido por centrifugação (5 minutos, 3000 rpm). As dosagens foram realizadas em duplicata com a utilização de kits comerciais BIOSYSTEMS® e submetidas ao analisador BTS 310 (BIOSYSTEMS®). O método para a realização das dosagens seguiu o padrão estabelecido pelo kit.

As dosagens bioquímicas incluíram glicose, colesterol, albumina, proteínas totais, uréia, creatinina, alanina amino transferase (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP).

Foram calculados intervalos de 95% de confiança para cada parâmetro analisado. Os valores entre duas ou três coletas realizadas do mesmo animal foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O teste t-student foi utilizado para análise das diferenças entre valores obtidos para machos e fêmeas. Diferenças estatisticamente significantes foram consideradas no caso de $p < 0,05$.

7.5 Resultados

Os valores hematológicos e bioquímicos séricos estão descritos nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Todos os animais apresentavam-se clinicamente saudáveis no período de estudo.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre as amostras do mesmo animal em diferentes períodos, sendo desta forma cada amostra tomada como independente.

Diferenças estatisticamente significantes entre os sexos foram encontradas em valores hematológicos. Machos apresentaram maiores valores no número de hemácias ($p < 0,0001$), hematócrito ($p < 0,0001$), hemoglobina ($p < 0,0002$), hemoglobina corpuscular média ($p < 0,02$) e leucócitos ($p < 0,02$). Não foram encontradas diferenças significantes entre os sexos para os valores bioquímicos.

Tabela 1. Valores hematológicos de *Alouatta guariba clamitans* cativos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.

Parâmetro	machos			fêmeas			total		
	n	média ± DP	IC 95%	n	média ± DP	IC 95%	n	média ± DP	IC 95%
Hemáceas (x10 ⁶ /μl)*	38	4,45 ± 0,56	4,26 - 4,63	19	3,81 ± 0,52	3,56 - 4,06	57	4,23 ± 0,62	4,07 - 4,40
Hematócrito (%)*	39	36,73 ± 1,27	35,06 - 38,41	19	31,14 ± 1,31	29,01 - 33,27	58	34,90 ± 1,56	33,44 - 36,36
Hemoglobina (g/dl)*	39	11,23 ± 5,16	10,82 - 11,65	19	9,32 ± 4,42	8,69 - 9,95	58	10,61 ± 5,56	10,20 - 11,02
HCM (pg/cel.)*	38	25,23 ± 1,38	24,77 - 25,68	19	23,63 ± 3,95	21,72 - 25,53	57	24,69 ± 2,62	24,00 - 25,39
CHCM (g/dl)	39	30,65 ± 1,94	30,02 - 31,28	19	29,64 ± 2,27	28,55 - 30,74	58	30,32 ± 2,09	29,77 - 30,87
VCM (fl)	39	82,59 ± 3,52	80,73 - 84,45	19	81,79 ± 5,44	79,17 - 84,41	58	82,33 ± 5,61	80,85 - 83,80
Leucócitos (x10 ³ /μl)*	38	5,91 ± 2,97	4,93 - 6,88	19	4,24 ± 1,44	3,54 - 4,93	57	5,35 ± 2,67	4,64 - 6,06
Bastonetes (x10 ³ /μl)	38	0,09 ± 0,22	0,02-0,16	16	0,03 ± 0,08	0,00-0,07	54	0,08 ± 0,19	0,02-0,13
Segmentados (x10 ³ /μl)	38	5,49 ± 2,94	3,83-6,60	17	4,18 ± 1,40	3,46-4,90	55	5,08 ± 2,62	4,37-5,80
Linfócitos (x10 ³ /μl)	39	4,04 ± 1,41	3,58 - 4,49	19	4,09 ± 1,82	3,22 - 4,97	58	4,06 ± 1,54	3,65 - 4,46
Eosinófilo (x10 ³ /μl)	38	0,07 ± 0,11	0,03-0,17	17	0,05 ± 0,07	0,01-0,09	55	0,07 ± 0,1	0,03-0,09
Basófilo (x10 ³ /μl)	37	0,01 ± 0,03	0,00-0,02	17	0,02 ± 0,05	0,00-0,04	54	0,01 ± 0,04	0,00-0,02
Monócito(x10 ³ /μl)	37	0,44 ± 0,24	0,29-0,45	17	0,31 ± 0,14	0,23-0,38	54	0,40 ± 0,22	0,33-0,46
Plaquetas (x10 ³ /μl)	39	233,10 ± 106,36	198,62 - 267,58	19	195,16 ± 105,55	144,28 - 246,03	58	220,67 ± 106,69	192,62 - 248,73

valores dados em média, DP – desvio padrão e IC 95% - intervalo com 95 % de confiança.

* Diferença estatisticamente significativa entre sexo ($p < 0,05$).

Tabela 2. Valores bioquímicos séricos de *Alouatta guariba clamitans* cativos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.

Parâmetros	machos			fêmeas			total		
	n	média ± DP	IC 95%	n	média ± DP	IC 95%	n	média ± DP	IC 95%
Glicose (g/dl)	30	94,40 ± 38,14	80,15 - 108,64	8	92,06 ± 27,60	66,30 - 112,43	38	92,53 ± 36,02	80,69 - 104,37
TGO (IU/L)	24	68,77 ± 19,70	53,99 - 70,63	12	45,98 ± 17,77	34,69 - 57,27	36	58,16 ± 19,74	51,49 - 64,84
TGP (IU/L)	25	35,26 ± 16,97	28,26 - 42,27	12	30,50 ± 19,8	17,92 - 43,08	37	34,16 ± 17,72	28,25 - 40,07
Creatinina (IU/L)	39	1,24 ± 0,27	1,16 - 1,33	19	1,01 ± 0,30	0,86 - 1,16	58	1,19 ± 0,29	1,11 - 1,27
Uréia (mg/dl)	39	39,37 ± 13,37	35,03 - 43,70	19	33,09 ± 10,85	27,86 - 38,32	58	36,78 ± 13,05	33,35 - 40,22
Albumina (g/dl)	38	4,05 ± 0,84	3,17 - 3,72	18	2,98 ± 0,88	2,54 - 3,42	56	3,36 ± 0,85	3,14 - 3,59
Proteínas totais (g/dl)	39	9,71 ± 2,03	9,05 - 10,37	19	9,22 ± 2,35	8,08 - 10,35	58	9,57 ± 2,13	9,01 - 10,13
Colesterol (mg/dl)	39	147,27 ± 96,27	116,07 - 178,48	18	116,50 ± 71,84	50,78 - 152,22	57	141,61 ± 89,03	117,99 - 165,23

Valores dados em média, DP – desvio padrão e IC 95% - intervalo com 95 % de confiança.

7.6 Discussão

Com exceção dos dados publicados por Robl *et al.* (2002), não foram encontradas informações sobre parâmetros hematológicos de bugios ruivos. Devido a esta escassez, os dados obtidos foram também comparados aos de outras espécies de primatas neotropicais.

Os valores hematológicos determinados são muito similares aos descritos em *A.guariba clamitans* por Robl *et al.* (2002), *Alouatta seniculus* (Vié *et al.*, 1998), *Alouatta* sp. (Santos, 1997), *Alouatta caraya* (Rio do Valle *et al.*, 2003) e *Ateles fusciceps* (Fowler, 2003).

Parâmetros como número de hemácias, hematócrito e hemoglobina foram menores do que os descritos para *Callimico goeldi* (Kalaitzidis, 1999), *Leontopithecus rosalia* (Bush *et al.*, 1982), *Callithrix jacchus* (Hawkey, 1975) *Cebus apella*, *Saimiri sciureus* e *Aotus trivigatus* (Fowler, 2003).

Diferentemente de relatos em *Callithrix jacchus* (Eccleston, 1977), *Aotus trivigatus* (Fowler, 2003) e *Alouatta seniculus* (Vié *et al.*, 1998) que apresentaram uma proporção neutrófilos/linfócitos reversa ou variável, os resultados encontrados em bugios ruivos demonstraram valores de neutrófilos maiores que de linfócitos.

Algumas espécies de primatas têm demonstrado diferenças significativas entre valores hematológicos segundo o sexo (McClure *et al.*, 1972a, McClure *et al.*, 1972b, McClure *et al.*, 1972c, Bush, 1982, Vié *et al.*, 1998). Crockett *et al.* (1993) discutem a possibilidade de diferenças hematológicas caracterizarem dimorfismo sexual em *Alouatta*. Porém, a importância biológica destas diferenças não está bem definida (Bush *et al.*, 1982).

Os machos adultos cativos no CEPESBI são mais pesados e possuem maior quantidade de tecido muscular do que as fêmeas adultas. Estas características podem estar influenciando as diferenças dos valores hematológicos entre machos e fêmeas adultos.

Os níveis séricos de albumina, colesterol, glicose e creatinina foram similares aos descritos para *Alouatta* sp. (Santos, 1999), *A. caraya* (Rio do Valle *et al.*, 2003), *A. seniculus* (Vié *et al.*, 1998), *A. palliata mexicana* (Crissey *et al.*, 2003), *Lagothrix lagotricha*, *Callithrix jacchus*, *Aotus trivigatus*, *Cebus apella* e *Saimiri sciureus* (Fowler, 2003).

O valor de proteínas totais foi semelhante ao descrito para *A. seniculus*, porém, maiores do que os relatados para *Alouatta* sp. (Santos, 1999), *A. caraya* (Rio do Valle *et al.*, 2003), *A. palliata mexicana* (Crissey *et al.*, 2003), *Lagothrix lagotricha*, *Callithrix jacchus*, *Aotus trivigatus*, *Cebus apella* e *Saimiri sciureus* (Fowler, 2003). Níveis séricos elevados de proteínas totais em animais podem ser indicativos de desidratação, estimulação de resposta imune ou gamopatias (Alencar Filho *et al.*, 1994).

O resultado obtido para uréia foi menor do que o descrito para *A. seniculus* (Vié *et al.*, 1998), similar aos obtidos para *Alouatta* sp. (Santos, 1999), porém maior que os valores encontrados para *A. caraya* (Rio do Valle *et al.*, 2003), *A. palliata mexicana* (Crissey *et al.*, 2003), *Lagothrix lagotricha*, *Callithrix jacchus*, *Aotus trivigatus*, *Cebus apella* e *Saimiri sciureus* (Fowler, 2003). Altos valores séricos de uréia podem ser causados por doença pré-renal, renal, pós-renal, dieta hiperprotéica, *diabetes mellitus* e administração de corticóides (Alencar Filho *et al.*, 1994).

O fornecimento de ração canina de manutenção com 18% de proteína bruta pode estar influenciando os níveis de proteína e uréia séricos da população estudada. Visto que os bugios são animais herbívoros, o consumo de proteína de origem animal em excesso e em longo prazo pode vir a comprometer as funções renais e/ou de demais órgãos.

Enzimas como alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase demonstraram-se similares às reportadas para *Lagothrix lagotricha* e *Cebus apella* (Fowler, 2003). Contudo, os valores encontrados para aspartato aminotransferase foram muito menores que os descritos para *A. palliata mexicana* (Crissey *et al.*, 2003) e *A. seniculus* (Vié *et al.*, 1998), de ambiente natural. Tal fato pode estar relacionado à maior exposição a compostos tóxicos provenientes da dieta rica em folhas, que em cativeiro são fornecidas em menor quantidade e variedade.

Os animais estudados estavam positivos para algumas espécies de parasitas intestinais. Apesar de não apresentarem sintomatologia clínicas, a parasitose pode interferir no aproveitamento de nutrientes provindos da dieta e consequentemente nos valores hematológicos e bioquímicos séricos.

Fatores de estresse agudo como contenção, e crônico como a manutenção em cativeiro (Fowler, 1986), assim como os fármacos utilizados

para imobilização (Vié *et al.*, 1998), devem ser considerados quando se lançar mão dos parâmetros estudados.

Os dados obtidos podem ser utilizados em estudos comparativos entre espécies de bugios e como valores de referência para outras populações desta subespécie mantidas em condições semelhantes, permitindo uma melhor avaliação sanitária destas populações e aprimorando técnicas de manejo e conservação *ex-situ*.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Fernando Dias de Ávila-Pires pela leitura e contribuições na correção do trabalho.

7.7 Referências bibliográficas

Alencar Filho, R. A., Servaer, C.B. 1994. **Guia para diagnóstico em medicina veterinária**. São Paulo, Nobel.

Bush, M., Custer, R.S., Whitla, J.C., Smith, E.E. 1982. Hematologic values of captive golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*): variations with sex, age, and health status. **Laboratory Animal Science**. 32 (3): 295-297.

Carpenter, C.R. 1965. **The howlers of Barro Colorado Island**. In: Primates behavior, I. De Voere (ed.). Holt, Rinehart e Winston, New York. pp. 250-291.

Crissey, D.S., Silva, J.C.S., Meeham, T., Slifka, K.A., Bowen, P.E., Sapuntzakis, M.S., Holick, M.F., Chen, T.C., Mathieu, J., Meerdink, G. 2003. Nutritional status of free-ranging Mexican howler monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) in Veracruz, Mexico: Serum chemistry; lipoprotein profile, vitamins D, A and E; carotenoids; and minerals. **Zoo Biology**. 22: 239-251.

Crockett, C.M., Pope, T.R. 1993. Consequences of sex differences in dispersal for juvenile red howler monkeys. In: Pereira, M.E., Fairbanks, L.A. (eds.). **Juvenile Primates: Life history, Development, and Behavior**. Oxford Univ. Press, Oxford, England, p. 104-118.

Diniz, L.S.M. 1997. **Primatas em Cativeiro, Manejo e Problemas Veterinários**, São Paulo, Ícone.

Eccleston, E. 1977. Normal hematological values in rats, mice and marmosets. In: Archer, R.K., Jeffcott, L.B., Lehmann, H. (eds.). **Comparative Clinical Hematology**. London: Blackwell Science Publications. p. 611-21.

Fowler, M.E. (ed.). 1986. **Zoo and Wild Animal Medicine**, 2 nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania. p. 705-710.

Hawkey, C.M. 1975. **Comparative Mammalian Haematology**. London: William Heinemann Medical Books.

Joslin, J.O. 2003. Other primates excluding great apes. In: Fowler, M.E., Miller, R.E. (eds.). **Zoo and Wild Animal Medicine**, 5 nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania. p. 346-380.

Kalaitidis, F., Lutz, H., Pryce, C.R. 1999. Hematology and serum chemistry values in captive goeldi's monkeys (*Callimico goeldii*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. 30(3): 372-376.

McClure, H.M., Keeling, M.E., Guillound, N.B. 1972. Hematologic and blood chemistry for the orangutan (*Pongo pygmeus*). **Folia Primatologica**. 18:284-299.

McClure, H.M., Keeling, M.E., Guillound, N.B. 1972. Hematologic and blood chemistry for the gorilla (*Gorilla gorilla*). **Folia Primatologica**. 18:300-316.

McClure, H.M., Keeling, M.E., Guillound, N.B. 1972. Hematologic and blood chemistry for chimpanzee (*Pan troglodytes*). **Folia Primatologica**. 18:444-462.

Milton, K., Van Soest, P.J., Robertson, J.B. 1980 Digestive efficiencies of wild howler monkeys. **Physiol. Zool**. 53: 402-409.

Porter, J.A. 1971. Hematologic values of the black spider monkey (*Ateles fusciceps*), red spider monkey (*Ateles geoffroyi*), white face monkey (*Cebus capucinus*), and black howler monkey (*Alouatta villosa*). **Laboratory Animal Science**. 21: 426-433.

Rio do Valle, R., Zacarias, F.C., Alves, F.A., Muniz, J.A.P.C. 2002. Índices hematológicos e bioquímicos de um grupo de *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) mantidos em cativeiro no Centro Nacional de Primatas. In: Anais do VI

Congresso e XI Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. Guarapari – ES. p. 34.

Robl F., Hirano, Z.M.B., Souza Jr, J.C., Costa, A., Guerra Jr, J.C.V., Higino Filho, H. Índices bioquímicos e hematológicos de *Alouatta guariba clamitans* mantidos em cativeiro Científico no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – SC. In: Anais do X Congresso Brasileiro de Primatologia. Belém – PA. p. 118.

Robl, F., Hirano, Z.M.B., Vieira, A. 1997. A redução da hiperglicemia experimental através de querosene. **Acta Biológica Leopoldencia**. 19 (1): 93-102.

Santos, L.C. 1999. **Laboratório Ambiental. Cascavel**. Foz do Iguaçu. Edunioeste.

Szirmai, A.K. 1999. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. Juiz de Fora, Editora UFJF.

Vié, J.-C., Moreau, B., Thoisy, B., Fournier, P., Genty, C. 1998. Hematology and serum biochemistry values of free-ranging red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) from French Guiana. **Journal of Zoo and Wildlife Disease**. 29 (2): 142-149.

8 ARTIGO 2:

“Fauna parasitária de *Alouatta guariba clamitans* (Primates: Atelidae) (Cabrera, 1940) no Estado de Santa Catarina: Um estudo em animais recepcionados e mantidos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial”.

Parasitic fauna of *Alouatta guariba clamitans* (Primates: Atelidae) (Cabrera, 1940) in Santa Catarina State: A study with animals received and maintained at the Biological Research Center of Indaial.

Julio César de Souza Junior^{1,2}, Sandra Varnier², Zelinda Maria Braga Hirano², Heloisa Oliveira³, Juliane Greinert⁴, Fernando Dias de Ávila-Pires¹.

¹Programa de Pós-graduação em Saúde Pública – Universidade Federal de Santa Catarina, ²Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, ³Laboratório de Ixodides do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, ⁴Laboratório de Parasitologia da Fundação Universidade Regional de Blumenau.

8.1 Resumo

Investigou-se a fauna parasitária de bugios ruivos recepcionados e mantidos no Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial no período de abril de 2005 a abril de 2006. Das 382 amostras fecais analisadas pelos métodos de Ritchie e Hoffman Pons e Janer, 273 (71,2%) estavam positivas. Mono e poliparasitismo por *Giardia sp.*, *Entamoeba sp.*, *Endolimax sp.*, *Iodameba sp.*, e *Trypanoxyuris sp.* foram diagnosticados. Em 14 (50%) exemplares cativos encontraram-se proglotes de *Bertiella mucronata* nas fezes. Em 3 (42%) espécimes oriundos de ambiente natural diagnosticou-se o cestóide em exame *pós-mortem*. Três fêmeas adultas cativas estavam parasitadas por *Trypanosoma spp.* e uma por nematódeo sanguíneo não identificado. *Ctenocephalides spp.*, *Tunga penetrans*, *Cebidicola semiarmatus*, *Pediculus mjöbergi* e *Amblyomma spp.* foram os ectoparasitas detectados. Medidas profiláticas devem ser instituídas para se evitarem agravos ocupacionais. Animais submetidos a programas de translocação e reintrodução devem ser investigados quanto à presença destes parasitas.

Palavras-chave: Fauna parasitária, zoonose, *Alouatta guariba clamitans*, cativo.

8.2 Abstract

Parasitic fauna of *Alouatta guariba clamitans* individuals received and maintained at Biological Research Center of Indaial was investigated from April 2005 to April 2006. Three hundred and eighty two fecal samples were analyzed by Ritchie and Hoffman Pons e Janer methods. Of these, 273 (71,2%) were positive for mono or poliparasitism for *Giardia sp.*, *Entamoeba sp.*, *Endolimax sp.*, *Iodameba sp.*, and *Trypanoxyuris sp.*. Fourteen captive animals were also found positive for *Bertiella mucronata*. This cestod was detected in 3 (42%) free-ranging specimens submitted to necropsy. Three captive females had *Trypanosoma sp.* and one of these was also positive for a not identified nematoda. *Ctenocephalides spp.*, *Cebidicola semiarmatus*, *Pediculus mjöbergi* e *Amblyomma spp.* were the ectoparasites detected. Prophylactic practices should be adopted to prevent occupational hazards. Specimens submitted to translocation or reintroduction programs must be investigated for these parasites.

Key words: Parasitic fauna, zoonosis, *Alouatta guariba clamitans*, captivity.

8.3 Introdução

A subespécie *Alouatta guariba clamitans* é o primata mais abundante no Estado de Santa Catarina e é considerado como próximo de ameaça, ou seja, com perigo de extinção em médio prazo, pela União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN, 2006).

A destruição do habitat natural e o tráfico são as principais causas da diminuição das populações livres e do aumento do número de animais cativos em centros de triagem, criadouros científicos e conservacionistas, e conseqüentemente, de um maior contato com o homem e seus animais domésticos.

Este estrito contato facilita a disseminação de agentes infecciosos e parasitários para novos hospedeiros e ambientes, estabelecendo assim novas relações entre hospedeiros e parasitas, assim como novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças (Corrêa e Passos, 2001).

Dessa maneira, o estudo epidemiológico de enfermidades transmitidas por animais silvestres torna-se vital para o melhor conhecimento dos focos naturais de zoonoses, estabelecendo assim os fatores de risco existentes em determinados ecossistemas e subsidiando as ações dos serviços de Saúde Pública Veterinária (Silva, 2006).

Embora muitos estudos parasitológicos seccionais tenham sido feitos em espécies do gênero *Alouatta*, poucos são os inquéritos longitudinais tanto em populações silvestres como em cativas. Isto resulta em uma visão estática que não reflete as dinâmicas ecológicas entre parasitas e hospedeiros (Stuart, 1998).

Objetivou-se neste estudo investigar a fauna parasitária de bugios ruivos recepcionados e mantidos no CEPESBI, a fim de se identificarem espécies com potencial zoonótico e subsidiar o aprimoramento de técnicas de manejo sanitário de animais cativos ou submetidos a programas de translocação e reintrodução.

8.4 Material e métodos

No período de abril de 2005 a abril de 2006, foi investigada a fauna parasitária de 35 animais da subespécie *Alouatta guariba clamitans* recepcionados e/ou mantidos em perímetro urbano, no criadouro científico do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – CEPESBI. A idade dos animais foi estimada segundo Hirano (2004).

Os animais eram mantidos em recintos com 3,0 m de largura x 5,0 m de comprimento x 2,6 m de altura, enriquecidos com cordas, troncos e plataformas alimentares. A limpeza e a desinfecção dos recintos eram realizadas diariamente, e as pessoas envolvidas no manejo utilizavam equipamentos de proteção individual.

A dieta era fornecida em quatro refeições diárias, compostas por frutas e verduras de cultivares domésticos, ração canina de manutenção e folhas de *Cecropia glazioui* e *Sechium edule*.

Amostras fecais quinzenais de 28 animais foram coletadas entre os meses de abril e dezembro de 2005. Em novembro de 2005, amostras diárias de 5 machos adultos foram coletadas a fim de se avaliar a eliminação de cistos de *Giardia sp.*

Em janeiro de 2006, amostras diárias de 9 indivíduos adultos, 7 machos e 2 fêmeas, foram coletadas por um período de 26 dias consecutivos para verificar-se a eliminação de proglotes. Os resultados das amostras diárias não estão contidos nos resultados do acompanhamento quinzenal.

Entre os meses de abril de 2005 e abril de 2006 foram também realizados exames *pós-mortem* em 7 exemplares, 4 fêmeas e 3 machos, provindos de fragmentos florestais de quatro municípios da região do Vale do Rio Itajaí-Açu: Blumenau, Ascurra, Indaial e Pomerode. Os animais foram trazidos pela Polícia Ambiental e encontravam-se em óbito.

O material foi analisado no Laboratório de Parasitologia da FURB, utilizando-se os métodos de Ritchie e Hoffman Pons e Janer descrito em De Carli (2001) para pesquisa de ovos e cistos.

O processamento e a identificação dos nematóides foram realizados conforme Vicente *et al* (1997), e dos cestóides conforme Khalil *et al.* (1994). Todo material foi medido com uma ocular micrometrada e fotografado com auxílio de uma câmera Olympus® CX31 acoplada ao microscópio óptico.

Utilizou-se o teste qui-quadrado com intervalo de 95% de confiança ($p < 0,05$) para a análise estatística entre sexo e método diagnóstico empregado.

A fim de avaliar a presença de parasitas sanguíneos, foram coletadas, entre os meses de abril de 2005 e janeiro de 2006, amostras sanguíneas de 22 exemplares da espécie. Os mesmos foram contidos fisicamente com auxílio de puçás e posteriormente sedados com 3,9 mg/kg da associação de Tiletamina e Zolazepam (Zoletil®).

As amostras foram puncionadas da veia braquial e semeadas em hemocultura Novy, McNeal and Nicolle (NNN) com Infusão de Triptose de Fígado (LIT) e mantidas em estufa a 28°C (Ziccardi, 1995). Esfregaços sanguíneos e gotas espessas foram confeccionados mediante punção de veias

digitais ou auriculares, coradas pelo método de Giemsa e observadas com auxílio de microscópio óptico. A identificação foi realizada segundo Hoare (1972).

Ectoparasitas encontrados na inspeção clínica foram coletados e conservados em álcool 70%. Para classificação taxonômica dos carrapatos da família Ixodidae utilizou-se as chaves dicotômicas de Aragão e Fonseca (1961) e de Flechtmann (1985).

A identificação das pulgas foi realizada conforme Guimarães (1985). Os piolhos foram identificados no Laboratório de Ixodides do Instituto Oswaldo Cruz segundo Werneck (1936, 1948, 1950) e Ferris (1951).

Este estudo foi previamente aprovado pelo comitê de Ética da Fundação Universidade Regional de Blumenau sob o protocolo n° 033/04.

8.5 Resultados

8.5.1 Parasitismo intestinal

Das 382 amostras fecais analisadas 71,2% (273) apresentaram-se positivas para alguma espécie de parasita. A tabela 1 apresenta os valores absolutos e as proporções de monoparasitismo e poliparasitismo em amostras fecais de machos e fêmeas acompanhados.

Dos 28 animais estudados, apenas um macho infante não se demonstrou parasitado. As proporções de mono e poliparasitismos mensais estão representadas nos gráficos 1, 2 e 3.

Diferenças estatisticamente significantes quanto ao número de amostras fecais parasitadas, utilizando-se intervalo de 95% de confiança, foram encontradas ao compararem-se as amostras de machos adultos e fêmeas adultas (χ^2 calculado = 62,43 < χ^2 tabelado = 6,64; $p < 0,05$) e as técnicas de Ritchie e Hofmann (χ^2 calculado = 8,62 < χ^2 tabelado = 6,64; $p < 0,05$).

A análise de amostras fecais diárias de cinco machos adultos num período de 30 dias demonstrou que a eliminação de cistos de *Giardia sp.* ocorreu diariamente (n=2) ou com intervalos de um (n=2) ou dois dias (n=1) (Gráfico. 4).

Tabela 4 - Números absolutos e proporcionais de parasitas intestinais em amostras fecais (n=382) de *Alouatta guariba clamitans* (n=28) cativos no CEPESBI.

Parasitas	machos (n=20)		fêmeas (n=8)		total (n=28)	
	positivo		positivo		positivo	
	total	%	total	%	n	%
<i>Giardia</i> sp.	135	51,1	61	51,7	196	51,0
<i>Entamoeba</i> sp.	6	2,3	4	3,4	10	2,9
<i>Endolimax</i> sp.	6	2,3	2	1,7	8	2,6
<i>Iodameba</i> sp.	0	0,0	0	0,0	0	0,3
<i>Trypanoxyuris</i> sp.	2	0,8	0	0,0	2	0,5
<i>Giardia</i> sp./ <i>Entamoeba</i> sp.	10	3,8	8	6,8	18	4,7
<i>Giardia</i> sp./ <i>Endolimax</i> sp.	8	3,0	2	1,7	10	2,4
<i>Giardia</i> sp./ <i>Iodameba</i> sp.	9	3,4	2	1,7	11	2,4
<i>Entamoeba</i> sp./ <i>Endolimax</i> sp.	2	0,8	0	0,0	2	0,5
<i>Giardia</i> sp./ <i>Trypanoxyuris</i> sp.	14	5,3	2	1,7	16	3,9
Total amostras positivas	192	72,7	81	68,6	273	71,5
Total amostras negativas	72	27,3	37	31,4	109	28,5
Total amostras	264		118		382	

Dos 28 animais cativos acompanhados 50% (n=14), apresentaram proglotes gravídicas de *Bertiella mucronata* (Cestoda: Anoplocephalidae) em pelo menos uma amostra fecal.

Nenhum dos indivíduos (n= 4) com idade estimada de até 4 meses (peso < 800 g) eliminaram proglotes. O acompanhamento diário por 26 dias de 9 animais demonstrou que a eliminação das proglotes variou entre 1 e 24 vezes entre os espécimes, com intervalos entre eliminações variando de 1 a 9 dias.

Nenhuma das 382 amostras fecais analisadas pelos exames microscópicos indiretos demonstraram positividade para ovos do cestóide. Entretanto, todos os animais que apresentaram proglotes nas fezes demonstraram-se positivos a outros parasitas intestinais: *Giardia* sp. - 100% (14/14), *Trypanoxyuris* sp. - 57% (8/14), *Endolimax* sp. - 57% (8/14), *Entamoeba* sp. 50% (7/14), *Iodameba* sp. 28,5% (4/14).

Dos 7 animais de vida livre necropsiados, três apresentaram um único cestóide adulto no intestino delgado. Os mesmos viviam em fragmentos florestais dos municípios de Blumenau, Indaial e Ascurra. Após o tratamento com praziquantel (Cestox ®), via oral, em dose única de 20 mg/kg

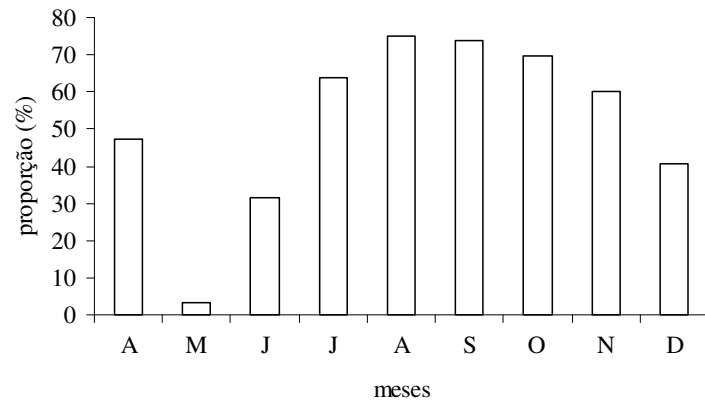


Gráfico 1 - Proporção de monoparasitismo por *Giardia* sp. em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 2005.

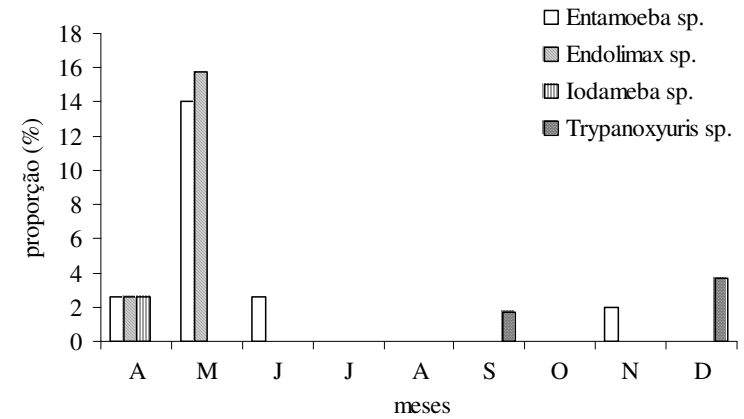


Gráfico 2 - Proporção de monoparasitismo em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 2005.

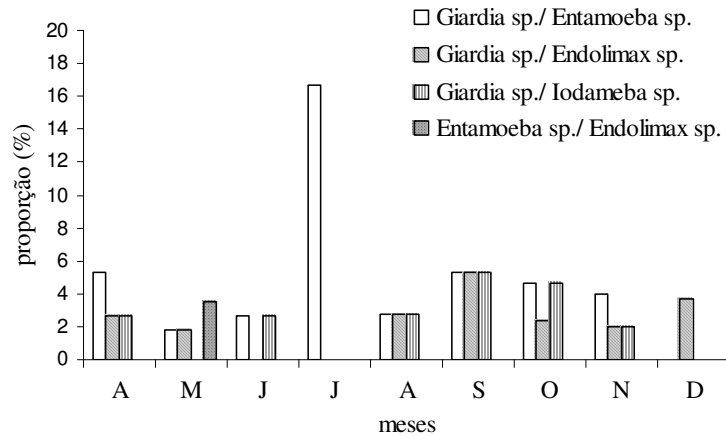


Gráfico 3 - Proporção de poliparasitismo em amostras fecais analisadas entre abril e dezembro de 2005.

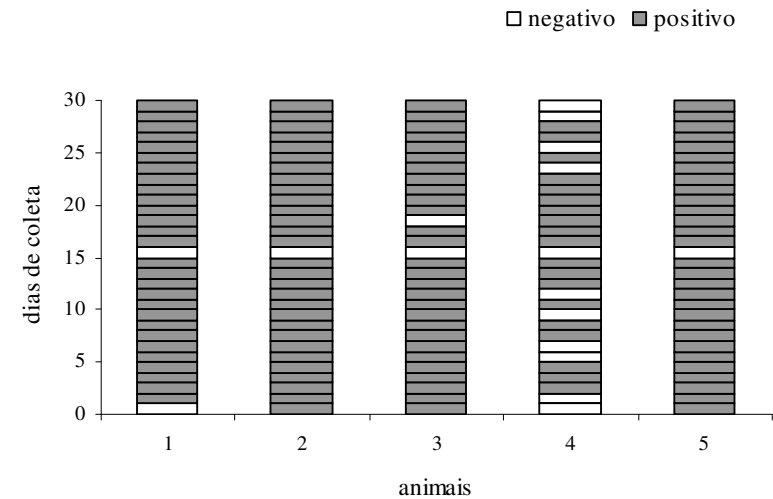


Gráfico 4 - Eliminação de cistos de *Giardia* sp. em amostras fecais de 5 machos adultos num período de

(Fowler, 2003) os animais cativos não apresentaram mais eliminação de proglotes nas fezes.

8.5.2 Parasitismo sanguíneo

A prevalência de hemoparasitismo foi de 13,6% (3/22). Três fêmeas adultas apresentaram *Trypanosoma* sp. em esfregaços sanguíneos. Uma delas apresentou ainda um exemplar de nematóide sanguíneo não identificado. Todas demonstraram baixa parasitemia com apenas um exemplar de cada parasita encontrado no esfregaço sanguíneo. Não houve sucesso no uso de hemoculturas.

8.5.3 Ectoparasitismo

Dos 35 animais inspecionados, 10 (28,6%) apresentaram algum ectoparasitismo. Nenhum dos animais cativos apresentou ectoparasitas. Todos os diagnósticos foram feitos em animais recém recepcionados no Centro. A tabela 2 apresenta a espécie identificada, a faixa sexo-etária, o município de origem e o histórico do animal parasitado.

Tabela 5 - Bugios ruivos com ectoparasitoses recepcionados no criadouro do CEPESBI, com identificação de parasitas, FSA, origem, procedência e histórico.

animais	espécies	fsa*	origem	procedência	histórico
Animal 1	<i>Amblyoma</i> spp.	MA	Blumenau	ambiente natural	apedrejamento
Animal 2	Míiase cutânea	MA	Blumenau	ambiente natural	atropelamento
Animal 3	<i>Cebidicola semiarmatus</i>	MA	Blumenau	ambiente natural	choque elétrico
Animal 4	<i>Cebidicola semiarmatus</i>	MJ	Lages	cativeiro	tráfico
Animal 5	<i>Cebidicola semiarmatus</i> <i>Tunga penetrans</i> <i>Pediculus mjobergi</i>	MJ	Garuva	cativeiro	tráfico
Animal 6	Míiase cutânea	FA	Pomerode	ambiente natural	ataque de cão
Animal 7	<i>Cebidicola semiarmatus</i>	FA	Indaial	ambiente natural	choque elétrico
Animal 8	Míiase cutânea	FA	Indaial	cativeiro	indeterminado
Animal 9	Míiase cutânea	FSA	Blumenau	ambiente natural	indeterminado
Animal 10	<i>Amblyoma</i> spp. <i>Ctenocephalides</i> spp.	FJ	Garuva	cativeiro	tráfico

FSA: faixa sexo-etária: MA – macho adulto, MJ – macho juvenil, MI – macho infante, FA – fêmea adulta, FS – fêmea subadulta, FJ – fêmea juvenil.

8.6 Discussão

As espécies de protozoários intestinais relatadas já foram descritas em *Alouatta guariba clamitans* cativos e em ambiente natural (Stuart *et al.*, 1998; Szirmai, 1999; Hirano *et al.*, 1999; Muller *et al.*, 2000; Mattos *et al.*, 2001, 2002; Greinert *et al.*, 2005).

Segundo Rey (2001) todas as espécies de protozoários identificadas neste estudo podem ser transmitidas ao homem. Greinert *et al.* (2005) destacaram que 5 das 6 espécies de protozoários identificadas em *A. guariba clamitans* cativos eram zoonoses. Stuart *et al.* (1998) relacionam muitas destas infecções com o contato humano.

Visto que amebíases e giardiases têm como fonte de infecção principal a água e alimentos contaminados (Pissinatti, 2001), a alta prevalência demonstra precariedade no saneamento ambiental.

A ausência de sintomatologia clínica demonstra a capacidade desta subespécie ser reservatório assintomático para *Giardia* sp., *Endolimax* sp.; *Entamoeba* sp. e *Iodameba* sp. A presença de sintomas pode depender de fatores nutricionais, do estado imune e de infecção por outros parasitas intestinais (Thompson, 2004).

A grande queda das proporções de parasitose por *Giardia* sp. entre os meses de abril e maio está associada ao tratamento medicamentoso com a utilização de metronidazol na dose de 25 mg/kg, via oral, de 12/12 horas, por 5 dias. Heinig Junior (2005) demonstrou ser estatisticamente significativa a diferença das prevalências para *Giardia* sp. antes e após o tratamento com metronidazol em bugios ruivos.

O aumento progressivo das proporções de monoparasitismo por *Giardia* sp., com até 75% das amostras no mês de agosto e a subsequente queda nos meses posteriores até 40,7% no mês de dezembro, sugerem uma possível variação sazonal da infecção.

O incremento na prevalência de monoparasitismo por *Entamoeba* sp. e *Endolimax* sp. no período imediatamente após o tratamento, sugere algum grau de competição entre estes microrganismos e *Giardia* sp.. Outro fator que sugere esta competição é a presença de poliparasitismo por *Entamoeba*

sp./*Endolimax* sp., em proporção maior que outras combinações, apenas no mês em que houve tratamento.

A infecção por *Trypanoxyuris* sp. já foi descrita em *Alouatta guariba clamitans* (Stuart *et al.*, 1998; Amato, 2002; Greinert *et al.* 2005). Amato (2002) relatou a morte de um exemplar de bugio ruivo em Guaíba-RS por infecção maciça pelo helminto *Trypanoxyuris (Trypanoxyuris) minutus*. Os espécimes infectados acompanhados no estudo não apresentaram sintomatologia clínica.

Klein (2004) expõe que diferenças na exposição e na suscetibilidade são as prováveis causas da maior prevalência e intensidade de infecções parasitárias em machos do que em fêmeas, tanto em humanos como em outros animais. Visto que os animais estudados eram mantidos em condições muito semelhantes, e conseqüentemente sem diferenças quanto à exposição, é possível que as fêmeas de bugios ruivos sejam mais susceptíveis a parasitoses que os machos.

A bertielose humana já foi diagnosticada no Brasil (Pessoa, 1930; Costa *et al.*, 1967; Paçô *et al.*, 2003). Denegri e Serrano Perez (1997) enfatizam que a infecção humana é usualmente acidental e, na maioria dos casos, deve-se ao contato com primatas não humanos. Destaca-se a possibilidade de bertielose humana na região e a necessidade de investigação em populações expostas ao contato com bugios.

Ziccardi (1995) relata que pelo menos oito espécies de tripanosomas são capazes de parasitar naturalmente primatas neotropicais. *Trypanosoma (Herpetosoma) mycetæ* (Brumpt, 1913) foi a única espécie identificada em *A. guariba clamitans* encontrada na literatura (Arantes e Fonseca, 1935; Deane e Damasceno, 1961).

Embora o animal possa albergar o parasita de forma assintomática, sinais clínicos como anorexia, desidratação, depressão e alterações eletrocardiográficas podem ocorrer (Szirmai, 1999). Sugere-se que estudos de biologia molecular sejam realizados para o esclarecimento e a confirmação da espécie encontrada.

Muniz (1994) reconhece que das 20 espécies de filárias identificadas em primatas americanos apenas 6 foram identificadas no Brasil. A embolia parasitária devido às formas intravasculares não está comprovada, sendo o animal clinicamente saudável na maioria das infecções (King, 1967).

Publicações sobre ectoparasitas em primatas neotropicais são muito escassas (Catão-Dias, 2001). Espécies como *Phitirus* sp., *Pediculus* spp., *Sarcoptes scabiei* e *Tunga penetrans* são os de maior importância quanto ao parasitismo humano (Szirmai, 1999). Este é o primeiro relato de parasitismo por *Ctenocephalides* spp., *Amblyomma* spp., *Tunga penetrans* e *Pediculus mjobergi* em *A. guariba clamitans*.

Stiles *et al.* (1929) e Emerson e Price (1975) relataram o parasitismo por *Cebidicola semiarmatus* em *A. guariba clamitans* no Brasil. Oliveira *et al.* (2003) ampliaram a distribuição ao Sul ao descreverem o parasitismo em bugios ruivos no Estado de Santa Catarina. A prevalência de 40% de parasitismo em animais oriundos de 4 diferentes municípios é indicativo da ampla distribuição da espécie no Estado.

Amblyomma sp. e *Amblyomma cajennense* foram identificados em *Alouatta caraya* capturados em resgate de fauna (Labruna *et al.* 2002). A parasitose pode ter associação com a permanência excessiva no chão, visto que um dos animais estava ferido e outro era mantido em ambiente doméstico.

A presença de pulgas pode estar associada ao contato com animais domésticos, visto que os exemplares parasitados têm histórico de tráfico.

Conclui-se que é variada a fauna parasitária de bugios ruivos no Estado de Santa Catarina. A presença de espécies com potencial zoonótico justifica a necessidade de vigilância de populações cativas, principalmente as mantidas em perímetro urbano.

Este estudo evidenciou algumas limitações quanto aos métodos diagnósticos empregados. O método de Ritchie deve ser utilizado preferencialmente ao método de Hoffman na pesquisa de parasitas intestinais de bugios ruivos.

A eliminação de cistos de forma intermitente demonstra a necessidade de amostras diárias por pelo menos 3 dias para aumentar a sensibilidade do exame. Os exames microscópicos utilizados são ineficazes na detecção de *Bertiella mucronata* em amostras fecais de bugios ruivos.

É evidente a necessidade de medidas profiláticas, como a utilização de equipamentos de proteção individual, a quimioprofilaxia e o controle de animais domésticos e sinantrópicos, a fim de se evitarem agravos à saúde dos animais e das pessoas envolvidas no manejo.

Sugere-se ainda que bugios ruivos submetidos a programas de translocação e reintrodução sejam avaliados quanto à sanidade e que a fauna parasitária descrita neste estudo seja investigada.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Mario Steindel, do Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo auxílio com as hemoculturas.

8.7 Referências bibliográficas

AMATO, S.B.; AMATO, J.F.R.; CALEGARO-MARQUES, C BICCA-MARQUES, J.C. *Trypanoxyuris (Trypanoxyuris) minutus* associated with the death of a wild southern brown howler monkey, *Alouatta guariba clamitans*, in Rio Grande do Sul, Brazil. **Arq. Inst. Biol.**, 69(4): 99-102, 2002.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodológicas. VIII. Lista e Chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Tomo 59, Fascículo 2, Rio de Janeiro, 1961.

ARANTES, J.B. E FONSECA, F. Sobre a possível sinonímia do *Trypanosoma manguinhense* Arantes e Fonseca, 1931 e *Trypanosoma forestali* Romaña. In: Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional Norte, Buenos Aires, 1935, p. 953-954. (Resumo).

CARPENTER, C.R. The howlers of Barro Colorado Island. In: DE VOERE (ed.) **Primates behavior**, New York, 1965. p. 250-291.

CORRÊA, S.H.R., PASSOS, E.C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E., CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa Univerity Press. 2001. p. 493-499.

COSTA, H.; CORREA, L. E BRENER, Z. Novo caso humano de parasitismo por *Bertiella mucronata* (Meyner, 1895), Stiles e Hassall, 1902 (Cestoda-Anoplocephalidae). **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, 9: 95-97, 1967.

DEANE, L.M.; E DAMASCENO, R.R.. Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. II. Tripanosomas de macacos da zona do Salgado, estado do Pará. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, 3: 61-70, 1961.

DE CARLI, G.A. **Diagnóstico Laboratorial das Parasitoses humanas - Métodos e Técnicas**. Rio de Janeiro: Medsi. 1994. p. 810.

DENEGRI, G.M.; PEREZ-SERRANO J. Bertiellosis in man: A Review of cases. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**. 39(2):123-128, 1997.

EMERSON, K.C. E PRICE, R.D. Mallophaga of Venezuela mammals. **Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser.** 20(3): 1-77, 1975.

FERRIS, G. F. **The sucking lice**. Memoirs of the Pacific Coast Entomological Society,. 1951. 320p.

FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 3 ed. Editora Nobel. São Paulo, 1985. 98p.

GREINERT, J.A.; SOUZA JR, J.C.; BAAD, R.; RODE, G.; HEINIG JR, A.; HIRANO, Z.M.B. Levantamento de parasitas intestinais de bugios ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) mantidos em cativeiro no município de Indaial – SC. In: XI Congresso Brasileiro de Primatologia. Porto Alegre. 2005. Errata. (Resumo).

GUIMARÃES, L.R. Chave para espécies de pulgas mais comumente encontradas em roedores brasileiros. In: PESSOA, S.B. **Parasitologia Médica**. 11 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1984. 100p.

HEINIG JR, A. *Análise parasitológica de bugios (Alouatta guariba clamitans)*. 2005. 55 f. Monografia do Curso de Farmácia da Fundação Universidade Regional de Blumenau – Santa Catarina.

HIRANO, Z.M.B.; MULLER, G.C.K.; KRAMBECK, A. Levantamento preliminar de endoparasitas do tubo digestivo de bugios. In: IX Congresso brasileiro de primatologia, Santa Teresa/ES. 1999. p. 59. (Resumo).

HOARE, C.A. **The Trypanosoms of Mammal**. 1ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford. 1972. 200p.

IUCN. Red list of treatedned species. 2006. Disponível em: <<http://www.redlist.org>. Acesso em: 10 fev. 2007.

KHALIL, L.F.; JONES, A.; BRAY, R.A. *Keys to the Cestodes parasites of vertebrates*. 1 ed. Oxford University Press. 1994. 120p.

KING, N.W.; HUNT, R.D.; DANIEL, M.D.; MELÉNDEZ, L.V. 1967. Overt Herpes T infection in squirrel monkey. **Lab Animal Care**. 17: 413-423.

KLEIN, S.L. Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. **Parasite Immunology**. 262: 47 – 264, 2004.

MATTOS, J.K.P.; HIRANO, Z.M.B.; SILVA FILHO, H.H. Incidência de Parasitas em grupos de macacos bugios *Alouatta fusca clamitans*. In: VII Seminário integrado de Iniciação Científica. Blumenau, Santa Catarina. Resumos. 2001. p. 452. (Resumo).

MATTOS, J.K.P.; HIRANO, Z. M.B.; SILVA FILHO, H.H. Incidência de parasitos em grupos de macacos bugios - *Alouatta guariba clamitans*. In: XXVI Congresso da Sociedade de Zoológicos do Brasil e II Encontro de Zoo do Mercosul. Porto Alegre. 2002. Resumos. p. 67. (Resumos).

MUNIZ, J.A.P. *Filarias Parasitas de Primatas não humanos da Amazônia Brasileira* (Nematoda: Filarioidea) 1994. 86f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Belém.

MÜLLER, G.C.K.; KRAMBECK, A.; HIRANO, Z.N.B. E SILVA FILHO, H.H. Levantamento preliminar de endoparasitas em bugios *Alouatta guariba clamitans*. **Neotropical Primates**, 8(3): 107-108, 2000.

OLIVEIRA, H.; SOUZA JR. J.C.; TEIXEIRA, R.H.F.; HIRANO, Z.M.B.; CARDOSO, E.; COSTA, A. Parasitismo de Malófagos em mamíferos cativos no Brasil. In: XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia. Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2003. Resumos. p. 67. (Resumo).

PAÇÔ, J.M.; CAMPOS, D.M.P. E ARAÚJO, J.L.D. Human bertiellosis in Goiás, Brazil: a case report on human infection by *Bertiella sp.* (Cestoda: Anoplocephalidae). **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**. 45(3):159-161, 2003.

PESSOA, S. Sobre um caso de parasitismo humano por cestóide anoplocephalideo do gênero *Bertiella*. **Bol. Soc. Med. Cirurg**. 14: 158-162, 1930.

PISSINATTI, A. Medicine, selected disorders. IN: FOWLER, M.E; CUBAS, Z. **Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals**. Iowa State University Press. 2001. p. 273-274.

REY, L. **Parasitologia** . 3 ed. Rio de janeiro. Guanabara Koogan. 2001. 856p.

Silva, J.C.R. Zoonoses emergentes transmitidas por animais silvestres. Disponível em: www.abravas.com.br. Acessado em: 12 março de 2006.

STILES, C. W., HASSALL, A. E NOLAN, O. Key-catalogue of parasites reported for primates (monkeys and lemurs) with their possible public health importance. **Hygienic Laboratory Bulletin**. 152: 409-601, 1929.

STUART, D.M.; PENDERGAST, V.; RUMFELT, S.; GREENSPAN, L.; GLANDER, K.E; CLARKE, M.R. Parasites of wild howlers (*Alouatta* sp.). **International Journal of Primatology**. 19(3):493-512, 1998.

SZIRMAI, A.K. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais**. 1 ed. Juiz de Fora, Editora UFJF. 1999. 120p.

THOMPSON, R.C.A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and Giardiasis. **Veterinary Parasitology**. 126: 15-35, 2004.

WERNECK, F. L. Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mamíferos sul-americanos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 31(3): p.589, 1936.

WERNECK, F. L. Os malófagos de mamíferos. Parte I: Amblycera e Ischnocera (Philopteridae e parte de Trichodectidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 243 p., 1958.

WERNECK, F.L. **Os malófagos de mamíferos**. Parte II: Ischnocera (continuação de Trichodectidae) e Rhyncophthirina. Instituto Oswaldo Cruz, RJ, 207 p., 1950.

VICENTE, J.J.; RODRIGUES, H.O.; GOMES, D.C., PINTO, R.M.P. Nematóides do Brasil. Parte V. Nematóides de mamíferos. **Revista Brasileira de Zoologia**. 14(1): 1-452, 1997.

ZICCARDI, M. *Tripanosoma de macaco-de-cheiro*. 1995, 112f. Dissertação de Mestrado em Biologia Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz. Fiocruz, Rio de Janeiro.

9 ARTIGO 3:

“Bertiellosis in a Brazilian non-human Primates: natural infection in *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) in Santa Catarina State”.

Bertielose em primata não humano brasileiro: Infecção natural em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) do Estado de Santa Catarina.

Julio César de Souza Júnior¹, Juliane Araújo Greinert² Zelinda Maria Braga Hirano¹, Sandra Varnier¹, Hercílio Higino da Silva Filho³, Guillermo Denegri⁴, Fernando Dias de Avila-Pires⁵.

¹Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial – Projeto Bugio. Rua Rio de Janeiro 401, Indaial - Santa Catarina, Brasil. Fone: (47) 3333-3878. E-mail: bugio@furb.br ²Laboratório de Parasitologia da Fundação Universidade Regional de Blumenau - FURB. ³Laboratório de Imunologia da FURB. ⁴Laboratorio de Zoonosis Parasitarias. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. CONICET. ⁵Departamento de Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina.

9.1 Abstract

The first case of parasitism by *Bertiella mucronata* (Cestoda: Anoplocephalidae) in a Brazilian non-human Primates, *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera 1940) (Primates: Atelidae), from Santa Catarina State is reported here. Free-ranging monkeys from three different cities of the Itajaí-Açu River Valley region were found to be infected. Prevalence and daily elimination of proglottids in 28 captive southern brown howlers are described. We warn of the possibility of human bertiellosis in this region. This information should be utilized in sanitary evaluations of populations that may be submitted to translocation or reintroduction programs.

Keywords: *Bertiella mucronata*; *Alouatta guariba clamitans*; natural environment; captivity; zoonosis.

9.2 Resumo

Este artigo descreve o primeiro relato de parasitismo por *Bertiella mucronata* (Cestoda: Anoplocephalidae) em primata não humano brasileiro da subespécie *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera 1940) (Primates: Atelidae) no Estado de Santa Catarina. Animais de ambiente natural provindos de 3 municípios diferentes da região do Vale do Rio Itajaí-Açu estavam parasitados. Prevalência e eliminação diária de proglotes nas fezes de 28 bugios ruivos cativos são também descritas. Alerta-se para a possibilidade de bertielose humana na região. Estas informações devem ser utilizadas em avaliações sanitárias de populações com potencial a serem submetidas a processos de translocação e reintrodução.

Palavras Chaves: *B. mucronata*; *Alouatta guariba clamitans*; Ambiente natural, Cativo; Zoonose.

9.3 Introduction

The genus *Bertiella* (Stiles e Hassal 1902) has a high heterogeneity and includes cestodes which are parasites of Marsupialia, Dermoptera, Rodentia and Primates in Africa, Asia, South America and Australia (Denegri *et al.* 1997).

This genus belongs to the family Anoplocephalidae, and comprises heteroxenic parasites that require oribatid mites, important members of the soil fauna with a worldwide distribution, as intermediate hosts. Denegri (1993) gives a list of oribatid mites which serve as intermediate hosts of anoplocephalid tapeworms. The accidental ingestion of infected mites, found in habitats associated with monkeys, results in parasitism of the definitive host.

Twenty-nine species were reported by Schmitdt (1986), of which *Bertiella studeri* and *Bertiella mucronata* are known to infect man. Denegri e Perez-Serrano (1997) carried out a comprehensive review of all human cases

of bertiellosis reported in the literature, describing a higher prevalence of human infection caused by *B. studeri* when compared to *B. mucronata*.

The geographical distribution of *B. studeri* is limited to the Eastern hemisphere, the only exceptions being those cases cited by Cameron (1929), in African primates introduced onto St. Kitts Island, and by Stunkard *et al.* (1964), in a child in Minnesota, the latter considered to be the first autochthonous case in the United States of America. Recently, Galan-Puchades *et al.* (1995) reported the first case of human bertiellosis in Spain. The natural hosts in Africa and Asia for *B. studeri* have been reviewed by Denegri (1985).

The geographical distribution of *B. mucronata* is in South America, with three human cases having been reported in Argentina (Bacigalupo 1949, Feldman *et al.* 1983; Garaguso e Menendez 1983), and one case each in Cuba (Cram 1928) and in Paraguay (D'Alessandro 1963). In Brazil, the first human case was described by Pessoa (1930) in São Paulo, the second report being described by Costa *et al.* (1967) in Formiga (Minas Gerais), and the third by Paçô *et al.* (2003) in Goiânia (Goiás).

In South America the non-human Primates hosts of *B. mucronata* are *Alouatta caraya*, *Callicebus personatus nigrifrons*, *Cebus apella fatuellus*, *Cebus capucinus* and *Callithrix sagui* (Cabrera 1939, Dunn 1963, Denegri 1985).

The genus *Alouatta* (Lacépède 1799) is the most widely distributed of the New World monkeys, ranging from Mexico (Estrada *et al.* 1984) to Argentina (Cabrera 1958). Meyner (1895) identified for the first time *Taenia (Bertia) mucronata* in a black and golden howler monkey (*Alouatta caraya*) from Paraguay. Pope (1966) found a 7% (n=84), and Santa Cruz *et al.* (1995) detected a 29,4% (n=74), rate of infection in *A. caraya* from Argentina.

The main objective of this paper is to report on the first case of bertiellosis in a Brazilian neotropical Primates from natural and captive environments.

9.4 Material and Methods

Fecal samples of 27 specimens of southern brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) - 18 males and 9 females, and 1 male black and golden howler monkey (*Alouatta caraya*) were collected between April and December 2005 in the scientific captivity center of the Biological Research Center of Indaial – CEPESBI (nº 1/42/98/000708-90) (IBAMA 2005).

In January 2006, daily samples of 9 positive individuals, 7 males and 2 females, were collected for 26 consecutive days, to check for proglottid emissions.

The monkeys were kept in enclosures measuring 3.0 x 5.0 x 2.6 m (width x length x height). Ropes, tree trunks and food platforms served as environmental enrichment devices at the enclosures. The cages were cleaned and disinfected daily, and people who managed the animals used safety devices.

The monkeys received four daily meals, composed of fruits and vegetables, dog food and leaves of *Cecropia glazioui* and *Sechium edule*.

Fecal samples were collected in the morning, soon after defecation, and were preserved in sodium acetate - acetic acid – formaldehyde, and analyzed at the Laboratory of Parasitology of the University of Blumenau (FURB). The Ritchie method (De Carli 1994) was used to analyze for eggs and cysts presence. Proglottids were identified by macroscopic and microscopic examination (Khalil et al. 1994).

In the period between April 2005 and April 2006, post mortem examinations were carried out on seven brown howler monkeys – four females and three males, which came from forest fragments in four municipalities of the Itajaí-Açu River Valley region: Blumenau, Ascurra, Indaial and Pomerode (Fig. 1). These monkeys had been found dead and brought by the Santa Catarina State Environmental Police.

Adult parasites were collected from the small intestines of the monkeys during the necropsies. Material handling and identification was carried out in the same way as described by Khalil *et al.* (1994). Proglottids and eggs were measured and photographed with the aid of a micrometer coupled to the ocular lens of an Olympus CX31 microscope.

This research was previously approved by the FURB Ethics Committee on Animal Experimentation (protocol no. 033/04-A).

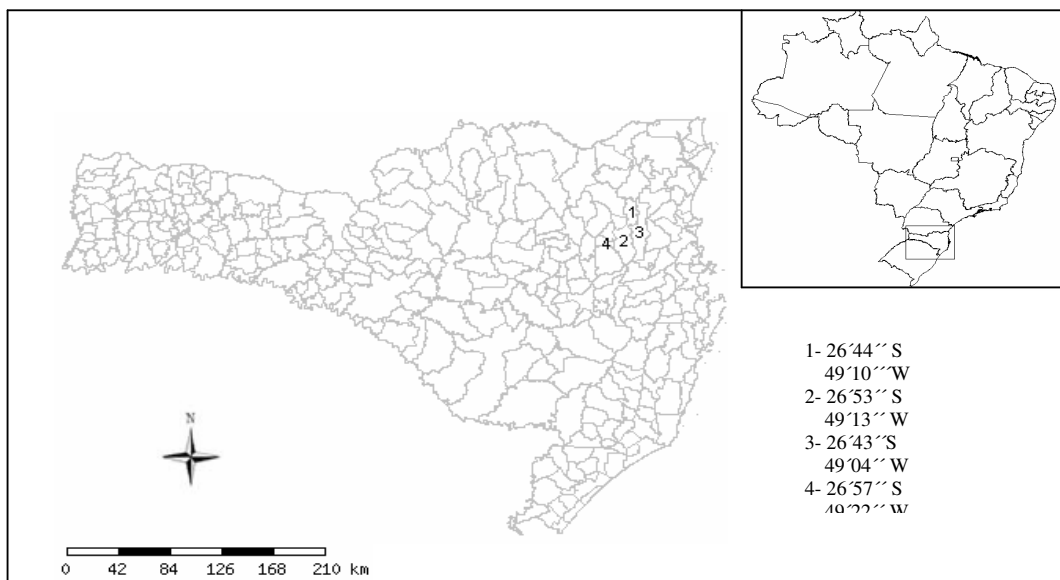


Figure 3 - Map of the State of Santa Catarina showing the municipalities where the animals submitted to post mortem examinations came from. 1 - Pomerode, 2 - Indaial, 3 - Blumenau, 4 - Ascurra.

9.5 Results

From 28 captive animals studied, 50% showed gravid proglottids in at least one fecal sample. Daily monitoring of nine animals for 26 days demonstrated that proglottid emissions in the specimens varied from 1 to 24 counts ($n = 9$), with intervals between emissions ranging from 1 to 9 days (Graf. 1).

None of the 382 fecal samples analyzed by indirect microscopic examinations showed positive results for cestode eggs. However, all animals that had proglottids in their feces gave positive results for other intestinal parasites: *Giardia sp.* - 100% (14/14), *Entamoeba sp.* - 50% (7/14), *Endolimax sp.* - 57% (8/14), *Iodamoeba spp.* - 28.5% (4/14) and *Trypanoxyuris sp.* - 57% (8/14).

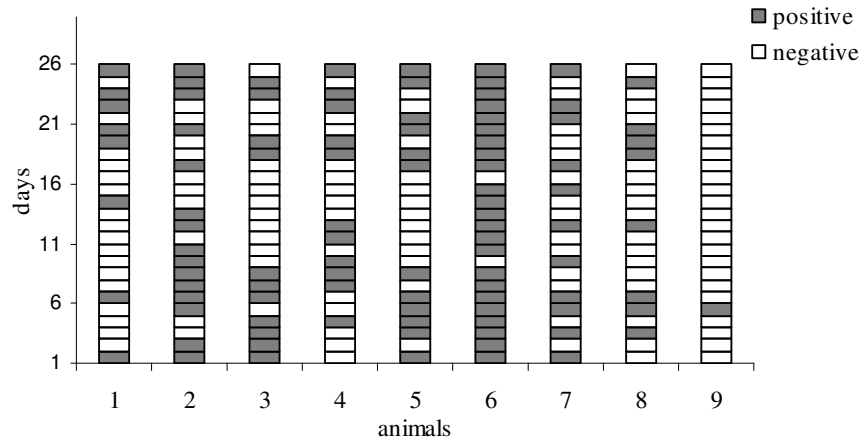


Gráfico 5 - Daily variation, in a 26 days period, on gravid proglottids emission in fecal samples of nine brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) kept in captivity.

Of the seven free-ranging animals submitted to necropsy, three showed a single adult cestode in their small intestine (Fig. 3). These monkeys lived in forest fragments in Blumenau, Indaial and Ascurra. A single juvenile male kept in captivity died during the research period, and bertiellosis diagnosis was carried out in the post mortem examination, with a single parasite in its small intestine. Despite the parasite being 85 cm long, the animal did not show any clinical signs besides proglottids in its feces.

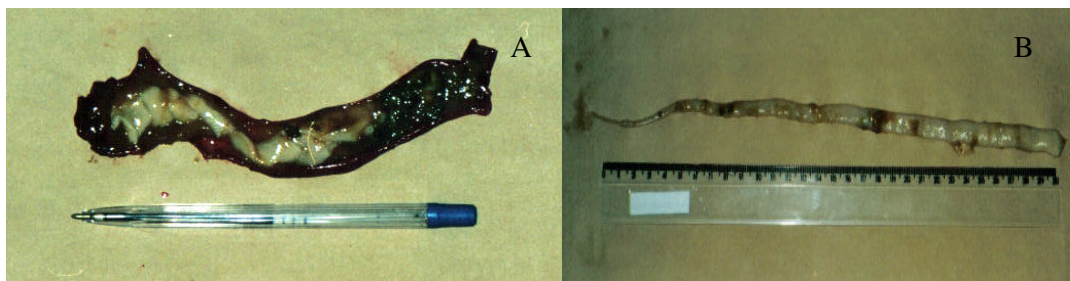


Figure 4 - A - Presence of *B. mucronata* in a small intestine segment. B - Adult parasite, around 30 cm long.

The number of gravid proglottids by segment ranged from 8 to 72 ($n = 22$). These had dimensions varying between 6.5 - 7 mm x 0.32 - 0.75 mm ($n = 10$). The eggs were typical, having 35-40 μm ($n = 7$) in diameter, with the

presence of a bifurcated pyriform apparatus in the central region with 12.5 μm (n = 7).

Longitudinal histological sections showed the presence of a single transverse uterus, extending in tubular stage across the middle of the proglottid, posterior to the testes, and in some proglottids surpassing the level of the osmoregulatory canals (Fig.4).

A specimen of *Aeroppia* sp. (Oribatida: Oppidae) was found in a leaf of *Cecropia glazioui* used to feed the captive animals. Mite species present in the CEPESBI soil were not investigated.

After oral treatment with praziquantel (Cestox ®), in a single dose of 20 mg/kg, captive animals no longer showed proglottid emission in their feces.

9.6 Discussion

This is the first report of infection by *Bertiella mucronata* in *Alouatta guariba clamitans*. The occurrence of this cestode in *Alouatta caraya* in the natural environment has been reported in Argentina (Dunn 1963, Pope 1966, Santa Cruz *et al.* 1995 e Santa Cruz *et al.* 2000) and in Paraguay (Meyer 1895).

According to Dunn (1963) the infection is related to herbivory, through accidental ingestion of oribatid mites bearing cysticercoids. Therefore, two hypotheses are presented to explain the infection source of the captive animals: leaves supplied in captivity which came from areas which free-ranging populations have access may harbor infected mites; and soil contamination in captivity by proglottids, with subsequent infection by mites.

The oribatid mite found in the leaves fed to the monkeys in captivity is not present on the list of intermediary hosts for cestodes of the family Anoplocephalidae given by Denegri (1993). Previously, Denegri (1985) has demonstrated under experimental conditions the development of cysticercoids of *B. mucronata* from a person in the oribatid species *Domitorina sulamericana* and *Scheloribates atahualpensis*

Cestodes generally cause discret pathogenesis or problems in the definitive host other than utilizing a portion of host's food and vitamins. There is

no indication that natural infection poses a serious health hazard for wild animals (Joveux e Baer 1929).

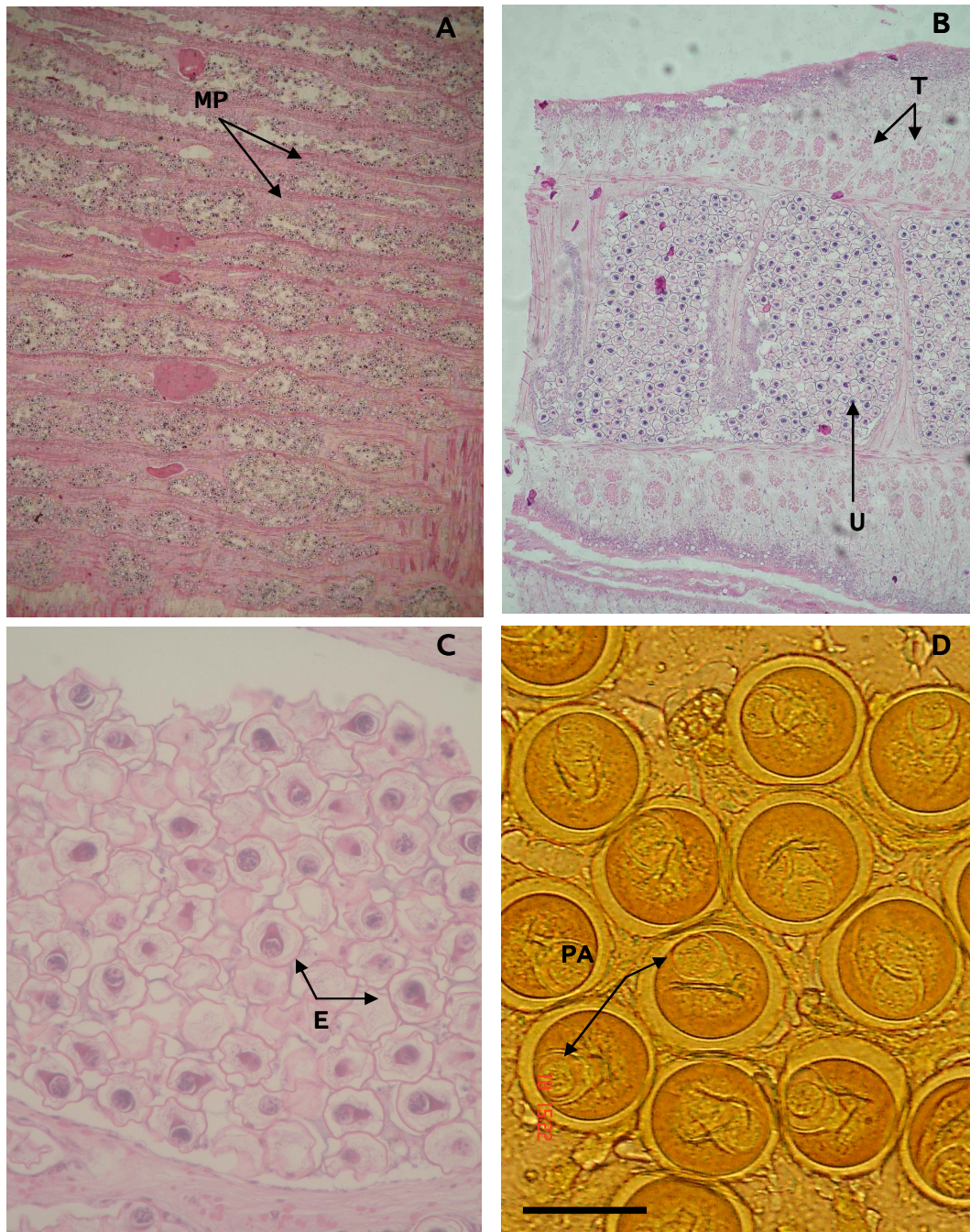


Figure 5 - *Bertiella mucronata*. A (40x), B (100x), C (400x) – hematoxiline and eosine histological sections of mature proglottids in longitudinal position. D – eggs of *Bertiella mucronata*, optical photomicrography (400 x). Abbreviations: MP – mature proglottids; T – testes; U – uterus; E – eggs; PA – pyriform apparatus. Scale bars: 35 µm.

There has been little information published on cestode proglottids or egg emission frequency in Neotropical primates. Pacheco et al. (2003) found no signs of sequential grouping of positive results in close samples, showing a daily variation in positivity for *Hymenolepis* spp. eggs in *Callicebus nigrifrons* (Spix 1983).

Negative periods of *B. mucronata* proglottid emission in feces during a one month period can hinder research on this cestode in the natural environment. However, there is a surprisingly limited amount of parasitological information regarding non-human primates kept in captivity, resulting in a possible distortion of infection characteristics when compared to natural conditions (Pacheco et al. 2003).

Endoparasitosis indexes are directly related to the area and degree of fragmentation of the forests available to howlers (Santa Cruz 2000). Furthermore, the authors highlight the importance of understanding the effects of parasitism in promoting better management of a species, and the potential danger for translocated or reintroduced populations. The research on *B. mucronata* should be done in disease screening of species submitted to management programs like *A. guariba clamitans*.

The distribution and population biology of multi-host pathogens is becoming increasingly important for wildlife conservation and human health (Daszak et al. 2000). Pope (1966), Coppo et al. (1979) and Santa Cruz et al. (1995), have reported an alarming epidemiological finding that parasitosis produced by *B. mucronata* in howler monkeys has increased 420% in only 30 years.

There has also been a constant increase in the number of human cases, not only in tropical and subtropical regions, but at nearly all latitudes, suggesting the importance of the zoonoses. Most cases described come from individual records given by physicians, and have not undergone proper epidemiological studies (Denegri e Perez-Serrano 1997).

This study advances the hypothesis of the occurrence of human bertiellosis in the State of Santa Catarina, Brazil. In agreement with Denegri and Perez-Serrano (1997), we believe that the available data do not provide a true picture of this type of parasitosis in humans, and we suggest that further epidemiological investigation must be carried out to test this hypothesis.

Acknowledgments

The authors wish to thank Dr. Pablo Martinez (UNMdP, Argentina) for his identification of the oribatid mite. We thank Dr. Dilmar de Oliveira for help with the English translation.

9.7 References

- Bacigalupo J 1949. Primer caso humano de *Bertiella* sp. en Sud América. **Rev Soc Mex Hist Nat** 10: 177-183.
- Cabrera A 1939. Los monos de la Argentina. **Phycis** 16: 1-28.
- Cabrera A 1940. Los nombres científicos de algunos monos americanos. **Cienc Mex** 1: 402-405.
- Cabrera A 1958. Catalogo de los mamíferos de la America del Sur. **Rev Mus Argent Cienc Natur** 16: 3-29.
- Cameron T 1929. A new record of the occurrence of a tapeworm of the genus *Bertiella* in man. **J Helmint** 7: 231-234.
- Coppo J, Moriena R, Lombardero O 1979. El parasitismo de los primates del CAPRIM. **Acta Zool Lilloana** 35: 9-12.
- Costa H, Correa L, Brener Z 1967. Novo caso humano de parasitismo por *Bertiella mucronata* (Meyner, 1895), Stiles e Hassall, 1902 (Cestoda-Anoplocephalidae). **Rev Inst Med Trop S Paulo** 9: 95-97.
- Cram E 1928. A species of the cestode genus *Bertiella* in man in Cuba. **Amer J Trop Med** 8: 339-345.
- Crespo JA 1954. Presence of reddish howler monkey (*Alouatta guariba clamitans*) (Cabrera, 1940) in Argentina. **J of Mammal** 25: 117-118.
- D'Alessandro A, Beaver P, Masi Pallares R 1963. *Bertiella* infection in man in Paraguay. **Amer J Trop Med Hyg** 12: 193-198.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD 2000. Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. **Science** 287: 443-449.
- De Carli GA 1994. **Diagnóstico Laboratorial das Parasitoses humanas - Métodos e Técnicas**. Medsi, Rio de Janeiro, 810 pp.

Denegri GM 1985. Consideraciones sobre sistemática y distribución geográfica del género *Bertiella* Stiles e Hassall, 1902 (Cestoda-Anoplocephalidae) en el hombre y en primates no humanos. **Neotrópica** 31: 55-63.

Denegri GM 1985. Desarrollo experimental de *Bertiella mucronata* (Cestoda: Anoplocephalidae) de humanos en su huesped intermediario. **Zbl Vet Med (B. Aires)** 32: 498-504.

Denegri GM 1993. Review of oribatid mites as intermediate hosts of tapeworms of the Anoplocephalidae. **Exp appl Acariol** 17: 567-580.

Denegri GM, Perez-Serrano J 1997. Bertiellosis in man: A Review of cases. **Rev Inst Med Trop S Paulo** 39(2): 123-128.

Dunn FL 1963. Acanthocephalans and cestodes of South American monkeys and marmosets. **J Parasitol** 49: 717-722.

Estrada A, Coates-Estrada R 1984. Some observations on the present distribution and conservation of *Alouatta* and *Ateles* in southern Mexico. **Am J Primatol** 7: 133-137.

Feldman R, Denegri GM, Abolió J, Cantu N 1983. Nuevo caso humano de teniasis por *Bertiella mucronata* Meyner, 1895 (Cestoda-Anoplocephalidae) en la Argentina. Diagnóstico y tratamiento. **Acta Bioquim Clín Lat-Amer** 17: 571-578.

Galan-Puchades M, Fuentes M, Mas-Coma S 1995. Parasitismo importado en Valencia: primer caso de Bertiellosis humana en España. In: Congreso Ibérico de Parasitología, 4., S. de Compostela, España. Resúmenes. p. 197-198.

Garaguso P, Mendez O 1983. Primer caso argentino de parasitismo humano por *Bertiella mucronata* (Meyner, 1895). In: Congreso Latinoamericano de Parasitología, São Paulo. Resumos. p. 232.

IBAMA. Lista de criadouros científicos. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>. Acessado em: 16 de março de 2005.

IUCN 2006. IUCN red list of treated species. Disponível em: <http://www.redlist.org>. Acesso em: 10 out. 2006.

Joyeux C, Baer JG 1929. Les cestodes rares de l'Homme. **Bull Soc Pathol Exotique** 22: 114-136.

Khalil LF, Jones A, Bray RA 1994. **Keys to the Cestodes parasites of vertebrates**. Oxford University Press, 1994.

Meyner R 1895. Anatomie und histologie zweizr never Taenien artendes sub-genus *Bertia*. **Z Nat Leips** 68: 1-106.

Pacheco LR, Néri FM, Frahia VT, Melo AL 2003. Parasitismo natural em sauás, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823): Variação na eliminação de ovos de Nematoda e Cestoda. **Neotropical Primates** 11(1): 29-32.

Paçô JM, Campos DMP, Araújo JLD 2003. Human bertiellosis in Goiás, Brazil: a case report on human infection by *Bertiella* sp. (Cestoda: Anoplocephalidae). **Rev Inst Med Trop S Paulo** 45(3):159-161.

Pessoa S 1930. Sobre um caso de parasitismo humano por cestode anoplocephalideo do gênero *Bertiella*. **Bol Soc Med Cirurg** 14: 158-162.

Pope BL 1966. Some Parasites of the Howler Monkey of northern Argentina. **J Parasitol** 52: 166-168.

Santa Cruz ACM, Gomez L, Rott M 1995. El parasitismo en *Alouatta carayá* y *Saimiri boliviensis* ingresados al "Centro Argentino de Primates". **Rev Med Vet (B. Aires)** 76: 150-152.

Santa Cruz ACM, Gomez LG, Borba JT, Patiño EM, Zunino GE 2000. Habitat fragmentation and parasitism in howler monkeys (*Alouatta caraya*). **Neotropical Primates** 8(4): 146-148.

Schmidt GD 1986. **Handbook of tapeworm identification**. CRC Press, Boca Raton, 1986.

Silva JR EC 1981. A preliminary survey of brown howler monkeys (*Alouatta fusca*) at Cantarera Reserve (São Paulo, Brazil). **Rev Brasil Biol** 41(4): 897-909.

Stunkard H, Koivastik T, Healy G 1964. Infection of child in Minnesota by *Bertiella studei* (Cestoda-Anoplocephalidae). **Amer J Trop Med Hyg** 13: 402-409.

10 ARTIGO 4:

“Serum-occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in captive *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae)”.

“Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) cativos”.

Julio César de Souza Junior^{1,2}, Zelinda Maria Braga Hirano², Walfrido Kühl Svoboda^{4,5}, João Luis Garcia³, Itamar Teodorico Navarro³.

¹Programa de Pós-graduação em Saúde Pública da Universidade Federal de Santa Catarina, ²Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, Rua Rio de Janeiro 401. ³Laboratório de Protozoologia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. ⁴ Universidade Federal do Paraná – *Campus* Palotina, ⁵Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina.

10.1 Abstract

The serum-occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in wild and captive brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) received and maintained in urban perimeter are reported. Anti-*T. gondii* antibodies were detected in 86.5% of the animals. Modified agglutination test (MAT) showed titers of 16 (1/26), 32 (16/26), 64 (6/26), 256 (1/26). None of the infected animals died or have demonstrated clinical signals. We suspect that the ingestion of oocysts shed by cats that lives in neighborhood is the main source of infection.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, agglutination test, monkeys, *Alouatta guariba clamitans*

10.2 Resumo

Relata-se a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em bugios ruivos silvestres e cativos recepcionados e mantidos em perímetro urbano. O teste de aglutinação modificada (MAT) demonstrou títulos de 16 (1/25), 32 (15/25), 64 (6/25), 256 (1/25). Os animais infectados não demonstraram sintomatologia clínica nem óbito. Suspeita-se que a fonte de infecção seja a ingestão de oocistos eliminados por gatos que circulam na vizinhança.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*, teste de aglutinação, macacos, *Alouatta guariba clamitans*.

10.3 Introduction

T. gondii is an intracellular protozoa parasite that can infect a variety of cell types from a wide range of mammals and birds throughout the world, including human and nonhuman primates (Jacobs *et al.* 1998). Individuals may be infected by ingesting tissues of chronically infected animal contained the bradyzoite stage of the organism, by ingesting sporulated oocysts that are passed in the feces of naturally infected domestic or wild cats, and by transplacental transmission (King, 1961).

Diseases in nonhuman primates is of interest because its relevance to demography (Ekanayake, 2004), the evolution of host-parasite relations (Poulin, 1996), conservation (Hudson *et al.* 2001), and human health (Dubey and Beattie, 1998). Monkeys from the Old World seem fairly resistant with this parasite (Remington *et al.* 1966), while individuals from the New World are highly susceptible (Cunningham *et al.* 1992).

In the present paper we describe serum occurrence of anti-*T. gondii* antibodies in brown howler monkeys (*A. guariba clamitans*) on captivity in Santa Catarina State, Brazil.

10.4 Material and methods

10.4.1 Site of study

Animals used in this study were received or are maintained in scientific captivity of the Biological Research Center of Indaial – CEPESBI (nº 1/42/98/000708-90) (IBAMA 2005). This Center is localized in an urban perimeter of Indaial city in Itajaí-Açu River Valley region at 26° 63'42" S latitude and 49° 13'34 W – GR longitude.

10.4.2 Monkeys

Twenty three samples from captive and two from natural habitat brown howler monkeys were evaluated. They were kept in enclosures measuring 3.0 x 5.0 x 2.6 m (width x length x height). Ropes, tree trunks and food platforms served as environmental enrichment. The cages were cleaned and disinfected daily. They received four meals daily, composed of fruits and vegetables, dog food and *Cercropia glazioui* and *Sechium edule* leaves.

Animal were anesthetized with Zoletil® and blood samples were obtained by braquial vein puncture. Serum samples were stored at – 20° C until tested. Clinical parameters were evaluated until complete recuperation.

This research was previously approved Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) and by Committee on Animal Experimentation (protocol no. 033/04-A) at Universidade Regional de Blumenau.

10.4.3 Modified agglutination test (MAT)

Serum samples were tested by modified agglutination test, as described previously (Dubey and Desmonts, 1987) in Protozoology Laboratory at Universidade Estadual de Londrina. Antigen of MAT was kindly provided by Dr. J.P. Dubey (USDA, Beltsville, MD, USA).

10.4.4 Statistical analysis

Titer difference between sexes was determined by using Mann-Whitney Test. A p value of $< 0,05$ was considered as significant.

10.5 Results

Anti-*T. gondii* antibodies were detected in twenty three monkeys (86,5%) including two specimens from natural habitat were positive. MAT showed antibody titers of 16 (1/26), 32 (16/26), 64 (6/26), and 256 (1/26). None of the infected animals died or have demonstrated clinical signals. Prevalence was higher in adult (94,8%) than in juvenile and sub-adult (83,3%). Males had higher prevalence (92,7%) than females (91%). There was not statistical difference in antibody titer by sex ($p>0,05$).

Table 1 - Serum-occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in *Alouatta guariba clamitans* by age and sex class.

Age class*	No. of samples	No. of positive $\geq 1:16$	Antibody titer			
			$\geq 1:16$	1:32	1:64	1:256
MA	12	11	0	8	3	0
FA	7	7	1	5	1	0
MSA	1	1	0	1	0	0
FSA	4	3	0	2	1	0
MJ	1	1	0	0	1	0
IND	1	1	0	0	0	1
Total	26	24	1	16	6	1

* MA – adult male, FA – adult female, MSA – sub adult male, FSA – sub adult female, MJ – juvenile male, IND – indeterminate sex

10.6 Discussion

Acute toxoplasmosis has been described in platyrrhini by pathological (Cunningham *et al.*, 1992, Dietz, *et al.*, 1997, Juan-Salles, 1998, Epiphanyo *et*

al., 2000, 2003) and serological findings (Cadavid et al., 1991; Bouer et al., 1999).

Fatal infection has been reported in *Alouatta* by Rodaniche (1954). The present study is the first report of serum occurrence of anti-*T. gondii* antibodies in captive southern brown howler monkeys (*A. guariba clamitans*) of Santa Catarina State, Brazil. Seroprevalence can vary with the type of serological test, initial serum dilution tested, species of primate, and their origin or source (Ekanayake, 2004).

Garcia *et al.* (2005) have evaluated 60 serum samples from wild *A. caraya* (black and gold howler monkeys) and *Cebus* spp. (capuchin monkeys) and found seroprevalence of 17,6% and 30,2 % respectively. Primates with risk of human contact had higher prevalence.

The level of anti-*T.-gondii* antibodies was higher than those described by Garcia *et al.* (2005). We suspect that the source of infection was the ingestion of oocyst shed by cats that circulate in the captivity. The oocyst shedding by these felids have not been evaluated.

Acknowledgements

We would like to thank the Fundação Universidade Regional de Blumenau for the financial support.

10.7 References

Acha, P.N., Szyfres, B. 1986. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2. ed. Washington. Organización Panamericana de La Salud. Publicación Científica n° 53.

Bouer, A., Werther, K., 1999. Levantamento sorológico para toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*) na população de primatas do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros. In: Anais 3° Congresso e 8° Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. São Pedro-SP, p. 21.

Cadavid, A.P., Canas, L., Estrada, J.J., Ramirez, L.E., 1991. Prevalence of anti-*T. gondii* antibodies in *Cebus* spp. in the Santa Fé Zoological Park of Medellin, Colombia. **J. Med. Primatol.** 20 (3), 259-261.

Cunningham, A.A., Buxton, D., Thomson, K.M., 1992. An epidemic of Toxoplasmosis in captive colony of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). **J. Comp. Pathol.** 107, 207-219.

de Rodaniche, E. 1954. Spontaneous toxoplasmosis in the white face monkeys, *Cebus capucinus*, in Panamá. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 3, 1023-1025.

Dubey, J.P., e Beattie, C.P., 1988. **Toxoplasmosis of animals and man.** CRC Press, Boca Raton, Florida, 220 p.

Dubey, J.P., Desmonts, G., 1987. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Vet. J.** 48, 1239-1243.

Ekanayabe, D.K., Rajapakse, R.P.V.J., Dubey, J.P., Dittus, W.P.J., 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild toque macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. **J. Parasitol.** 90, 870-871.

Epiphanio, S., Sinhorini, I.L., Catão-Dias, J.L., 2003. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. **J. Comp. Pathol.** 129, 196-204.

Epiphanio, S., Guimarães, S.A., Fedullo, D.L., Correa, S.H. Catão-Dias, J.L., 2000. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. **J. Zoo. Wildl. Med.** 31, 231-235.

Garcia, J.L., Svoboda, W.K., Chryssafidis, A.L., Aguiar, L.A., Teixeira, G.M., Ludwig, G., Silva, L.R., Itamar, C.H., Navarro, T. 2005. Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus* spp.; *Alouatta caraya*) at the Paraná river basin, Paraná State, Brazil. **Vet. Parasitol.** 133, 307-311.

Hudson, P., Rizzoli, A., Heesterbeek, H., Dobson, A., 2001. **The Ecology of Wildlife Disease.** Oxford University Press, Oxford, U.K., 565 p.

IBAMA. Lista de criadouros científicos. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>. Acessado em: 16 de março de 2005.

Jacobs, D., Dubremetz, J.F., Loyens, A., Bosman, F., Saman, E., 1998. Identification and heterologous expression of a new dense granule protein (GRA7) from *Toxoplasma gondii*. **Mol. Biochem. Parasitol.** 91, 237-249.

Juan-Salles, C., Prats, N., Marco, A.L., Ramos-Vara, J.A., Morras, D., Fernandez, J., 1998. Fatal acute Toxoplasmosis in three golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **J. Zoo. Wildl. Med.** 29, 55-60.

Poulin, R. 1996. The evolution of life history strategies in parasitic animals. **Advances in Parasitology.** 37, 108-134.

Remington, J.S, Soave, O.A., Davis, J., 1996. A serological survey in three species of monkeys for antibodies of *Toxoplasma gondii*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 14, 724-726.

11 ARTIGO 5:

“Nota sobre infecções intestinais em *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro”.

Note about intestinal infections in *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) on captivity.

Julio César de Souza Junior^{1, 2}; Zelinda Maria Braga Hirano², Fernando Dias de Ávila-Pires¹, Gladys Rosane Thomé Vieira³.

¹Programa de Pós-graduação em Saúde Pública – Universidade Federal de Santa Catarina, ²Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, ³Laboratório de Microbiologia – Departamento de Ciências Naturais da Fundação Universidade Regional de Blumenau.

11.1 Resumo

Investigou-se a infecção por enterobactérias com potencial patogênico em bugios ruivos cativos e seu padrão de sensibilidade a antibióticos. Este é o primeiro relato de infecção assintomática por *Salmonella* spp. nesta subespécie. Destaca-se a importância de investigação em animais submetidos à translocação ou à reintrodução e a necessidade de inquéritos periódicos em populações cativas a fim de se evitar agravos ocupacionais.

Palavras chave: *Salmonella* spp., bugios ruivos, cativeiro.

11.2 Abstract

Fecal samples of captive brown howler monkeys were screened for the presence of potential pathogenic bacteria. The sensibility for antibiotics was also measured. This is the first report of asymptomatic infection by *Salmonella* spp. in this specie. Screening for this bacteria should be performed during translocation and reintroduction programs. We recommend periodic investigations to prevent occupational hazard on captivity.

Key words: *Salmonella* spp., brown howler monkey, captivity.

Primatas não-humanos são reservatórios de uma grande variedade de agentes infecciosos com potencial implicação à Saúde Pública⁷. A manutenção em cativeiro aumenta o risco de exposição humana a estes agentes.

Os bugios são conhecidos como animais de difícil manutenção em cativeiro pela falta de adaptação à dieta e pela susceptibilidade a doenças. Embora existam muitos estudos sobre a fauna parasitológica⁷, pouco se sabe sobre sua microbiota bacteriana intestinal e seu potencial patogênico¹.

Objetivou-se neste estudo investigar a infecção por *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. na subespécie *Alouatta guariba clamitans* e seu padrão de sensibilidade a antimicrobianos.

Durante o período de 20/09/2006 a 04/10/2006, coletaram-se amostras fecais de 32 exemplares (14 machos adultos, 1 macho subadulto, 5 machos juvenis, 6 fêmeas adultas, 2 fêmeas subadultas e 2 fêmeas juvenis) mantidos no criadouro científico do Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial no Estado de Santa Catarina.

O material foi analisado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Regional de Blumenau, onde se observou o aspecto das fezes e confeccionaram-se esfregaços em lâminas para bacterioscopia pelo método de Gram. A partir de uma diluição em salina tamponada, realizaram-se as semeaduras por esgotamento em meios seletivos e diferenciais, ágar Mac Conkey e ágar SS, e a encubação em aerobiose a 37°C, durante 18-24 horas. As amostras foram também diluídas em caldo selenito para enriquecimento de *Salmonella* e, após 18 horas, foram repicadas em placas de ágar Mac Conkey, sendo incubadas nas mesmas condições⁴.

As colônias lactose negativas, suspeitas de *Shigella* spp. e de *Salmonella* spp., foram submetidas a provas bioquímicas utilizando o meio de Rugai com lisina e o ágar citrato de Simmons. As cepas bacterianas suspeitas, identificadas bioquimicamente, foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina utilizando-se anti-soros específicos.

Realizou-se o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) pelo método de disco difusão de Kirby-Bauer para a cepa com sorologia positiva. Esta foi diluída em caldo Mueller-Hinton, na concentração 0,5 da escala de Mac Farland, e semeada em placas de ágar Mueller-Hinton. Os discos impregnados com os antimicrobianos foram colocados na superfície do meio e incubados a

35°C por 16-18 horas^{6,7}. Foram medidos os diâmetros dos halos de inibição de crescimento e comparados com a tabela fornecida pelo fabricante (Laborclin[®]), para verificação da sensibilidade.

Dos 32 animais pesquisados, isolou-se *Salmonella* spp. da amostra fecal, de aspecto normal, de um macho adulto clinicamente sadio. O mesmo é oriundo de ambiente natural e há sete anos é mantido em cativeiro.

O TSA demonstrou a sensibilidade da cepa aos antimicrobianos: ácido nalidíxico, amicacina, aztreonam, cefotaxima, cefoxitina, ciprofloxacina, gentamicina, norfloxacin e sulfazotrim, sendo resistente apenas a ampicilina e a cefalotina.

Na bacterioscopia pela coloração de Gram foi observada uma microbiota mista, com predomínio de bacilos Gram-negativos em todas as fezes examinadas. Na amostra positiva para *Salmonella* spp., o resultado foi semelhante às demais e não se observaram leucócitos fecais, evidenciando o estado de portador assintomático do animal.

Salmonella typhimurium já foi associada a abscesso subcutâneo em *Alouatta villosa* (Kourany e Rossan, 1971). Este é o primeiro relato de infecção assintomática por *Salmonella* spp. em bugios ruivos.

Sinais clínicos podem ocorrer de acordo com o número de organismos infectantes, com o estado imunológico e com fatores adversos como enfermidades intercorrentes².

O contato com o homem, com animais domésticos e sinantrópicos, e a contaminação de alimentos têm sido relatadas como as principais fontes de infecção para primatas não-humanos cativos³.

Não se descarta a hipótese de que outros animais da coleção possam albergar o microrganismo, visto que o estudo restringiu-se a avaliar apenas uma amostra e como no homem, há a possibilidade de eliminação de bactérias nas fezes de forma intermitente.

Destaca-se a importância de inquéritos rotineiros em populações cativas a fim de prevenir agravos ocupacionais e sugere-se que esta investigação seja incluída em protocolos de avaliação sanitária de bugios ruivos submetidos a programas de translocação e de reintrodução.

11.3 Referências bibliográficas

1. CORONADO, M.M.G.; CAVALLINI, E.R.; CONTRERAS, G.R.; PORRAS, R.S. e ESPELETA, G.G. Flora bacterial oral y su perfil de sensibilidad a antibióticos en monos da Costa Rica (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroy*). **Neotropical Primates**, vol. 12, n. 1, p.12-30, 2004.
2. CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Paratifo em geral. In: CORRÊA, W.M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro. Medsi, 1992. p. 163-167.
3. CORRÊA, S.H.R., PASSOS, E.C. Wild animals and public health. In: Fowler, M.E., Cubas, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, 2001. p. 493-499.
4. FORD, A.C. Salmonellosis, simians and man. **Morbidity and mortality weekly report**. Vol. 5, p. 1-11, 1971.
5. KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN Jr., W.C. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1464p.
6. KOURANY, M.; ROSSAN, R.N. A subcutaneous abcess associated with *Salmonella typhimurium* in black howler monkey (*Alouatta villosa*). **Laboratory Animal Science**. 21(30): 412-4.
7. NATIONAL COMITE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing**. 7. ed. Wayne, approved standard: M2-A7 e supplement M100-S9. NCCLS, 2000.
8. NATIONAL COMITE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 5. ed. Wayne, approved standard: M7-A5. NCCLS, 2000.
9. STUART, D.M.; PENDERGAST, V.; RUMFELT, S.; GREENSPAN, L.; GLANDER, K.E; CLARKE, M.R. Parasites of wild howlers (*Alouatta* spp.). **International Journal of Primatology**, vol. 19, n. 3, p. 493-512, 1998.

12 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no estudo nos permitiram confirmar que, assim como em outras espécies de animais, os bugios ruivos estão expostos a uma grande variedade de agentes etiológicos. Muitos dos agentes diagnosticados estão diretamente relacionados com o ambiente de cativeiro e ao contato com pessoas e seus animais domésticos.

A grande maioria destes agentes são zoonoses, portanto, com risco potencial de estarem sendo compartilhados com as pessoas envolvidas no manejo. Outros tipos de estudos epidemiológicos com pessoas expostas a estes animais podem ser realizados para esclarecer o risco real de transmissão.

A não demonstração de sintomatologia clínica frente aos agentes investigados pode estar contribuindo para a transmissão zoonótica, uma vez que, se não realizadas investigações rotineiras, não se realizará o diagnóstico, e conseqüentemente, o tratamento e a profilaxia. Neste relato em específico os bugios estão sendo uma fonte de contaminação ambiental local para os protozoários intestinais relatados.

O estudo nos permitiu aumentar a lista de parasitas da subespécie *Alouatta guariba clamitans*. Entretanto, a presença ou a exposição a outros agentes devem ser investigadas. Víruses como a Hepatite A e Rotavirus tem sido descritas em coleções de primatas. A malária simiana, relatada recentemente por Costa^a *et al.* (2005) no planalto catarinense, embora não diagnosticada nesta pesquisa, necessita de maiores investigações no Estado.

Estas informações devem ser levadas em conta quando se determinarem protocolos de avaliação sanitária de animais submetidos a programas de conservação de fauna silvestre que envolvam soltura, translocação e reintrodução de animais da subespécie *Alouatta guariba clamitans*.

Sugere-se que inquéritos semelhantes aos realizados com esta população de bugios cativos sejam também realizados com populações silvestres, com o intuito de adquirirem-se mais informações sobre a epidemiologia e os fatores de riscos envolvidos nestas populações no Estado

^a Comunicação pessoal

de Santa Catarina. Destaca-se a investigação de febre amarela em populações silvestres de primatas na área de transição da doença no oeste do Estado. Estudos semelhantes vêm sendo realizados pelas Secretarias de Vigilância em Saúde dos Estados do Paraná e do Rio Grande do Sul.

Os resultados obtidos serão encaminhados ao Centro de Proteção de Primatas Brasileiros do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), a fim de contribuir com o mapeamento e com o banco de dados de enfermidades de primatas brasileiros desta instituição.

Da mesma forma os resultados serão encaminhados à Secretaria de Vigilância em Saúde do Município de Indaial, com o intuito de reforçar e ampliar a parceria da secretaria com o Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial.

Por fim, destacamos que a manutenção de primatas da subespécie *Alouatta guariba clamitans* em cativeiro não deva ser realizada em perímetro urbano. Sugere-se a translocação desta população a um ambiente com menor exposição a pessoas, animais domésticos e sinantrópicos e que possibilite a realização de medidas sanitárias inexistentes na atual instalação, dentre elas a quarentena, contribuindo assim com o incremento no bem-estar destes animais e das pessoas que a eles se dedicam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acha, P.N. 1980. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. Scientific Publication. n. 3543. Washington: Pan American Health Organization.

Acha, P.N., Szyfres, B. 1986. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales**. 2 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud. Publicación científica 503. p. 989.

Acha, P.N. 2003. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed. Publicación Científica n. 580. Washington: OPS/OMS.

Almeida, M.A.B. 2004. Captura de primatas para detecção de febre amarela: experiência da Secretaria de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul. Disponível em: www.abrivas.com.br. Acessado em 23 de outubro de 2004.

Anderson, C.R., Aitken, T.H.G, Spence, L.P., Downs, W.G. 1960. Kairi virus, a new virus from Trinidad forest mosquitoes. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 9: 70-72.

Avila Pires, F.D., 2000. **Princípios da ecologia médica**. Editora UFSC. Florianópolis. pp. 328.

Avila-Pires, F.D. 2005. Ecologia das zoonoses. In: Coura, J.R. (ed). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 2 v. Rio de Janeiro. Guanabara Koogam. pp. 53-64.

Baker, L.R. e Sorae, P.S. (eds). 2002. Re-introduction News: Special Primates Issue, Newsletter of reintroduction specialist group of IUCN/SSC, Abu Dhabi, UAE. 21. pp. 60.

Bennett, B.T.; Abee, C.R.; Henrickson, R. 1995. **Nonhuman Primates in biomedical research. Biological and Management**. Academic Press, Inc. pp. 341-410.

Bolin, C.A. 2003. Leptospirosis. In: Fowler, M.E., Miller, R.R. (eds.) **Zoo and Wildlife Medicine**. 5th ed. Elsevier Science, Philadelphia, Pennsylvania. pp.699–702.

Bouer, A., Wether, K., Sakamoto, S.M., Pinheiro, S. 2003. Infecção Natural por *Mycobacterium bovis* em macacos prego (*Cebus apella*) de Cativeiro. In:

Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. São Paulo, SP. Resumos. p. 24.

Causey, O.R., Causey, C.E., Maroja, O.M., Macedo, D.G. 1961. The isolation of arthropd-borne virus, including members of two hitherno undescribed sorologicas groups, in the amazon region of Brazil. **Americam Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 10: 227-249.

Center for Health and the Global Environment, Harvard Medical School. Disponível em: <http://www.med.harvard.edu/chge/resources.html>. Acessado em 10/02/2006.

Child, J., Shope, R.F., Fish, D., Meslin, F.X., Peters, C.J., Johnson, K. Debess, E., Dennis, D. Jenkins, S. 1998. Emerging zoonoses. *Emerging Infectious Disease*. 4(3): 453-454.

Centro Estadual de Vigilância em saúde – CEVES. Febre amarela. Governo do Rio Grande do Sul. www.saude.rs.gov/cevs/febre_amarela. Acessado em 01 de abril de 2005.

Child, J., Shope, R.F., Fish, D., Meslin, F.X., Peters, C.J., Johnson, K. Debess, E., Dennis, D. Jenkins, S. 1998. Emerging zoonoses. **Emerging Infectious Disease**. 4(3): 453-454.

Chivian, E. (ed.). 2002. Biodiversity: Its importance to human health. Boston. M.A. Center for Health and the Global Environment, Harvard Medical School. Disponível em: <http://www.med.harvard.edu/chge/resources.html>. Acessado em 10/02/2006.

Collias, N. Southwick, C. 1952. A field study of population density and social organization in howling monkeys. *Proc. Am. Philos. Soc.* 96:143-156.

Correa, S.H.R., Passos, E.C., 2001. Wild animals and public health. In: Fowler, M.E., Cubas, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press. p. 493-499.

Corrêa, S.H.R., Vasconcelos, S.A., Morais, Z., Teixeira, A.A., Dias, R.A., Guimarães, M.A.B.V., Ferreira Neto, J.S. 2004. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 41(3): 189-193.

Costa, Z.G.A., Oliveira, R.C., Tuboi, S.H., Silva, M.M., Vasconcelos, P.F.C. 2002. Redefinição das áreas de risco para febre amarela silvestre no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 35 (1): 84.

Cubas, Z.S. 1996. Special challenges of maintaining wild animals in captivity in South America. Office International des Epizooties Scientific and Technical Review. 15(1): 267-287.

Cunningham, A.A. 1996. Disease risk of wildlife translocation. Conservation Biology. 10: 349-353.

Cunningham, A.A., Daszak, P. 1998. Extinction of a species of land snail due to infection with a microporidian parasite. Conservation Biology. 12: 1139:1141.

Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., Green, D.E., Speare, R. 1999. Emerging infectious disease and amphibian population declines. Emerging Infectious Disease. 5:735-748.

Daszak, P., Cunningham, A.A. 1999. Extinction by infection. TREE. 14: 279.

Daszak, P., Cunningham, A.A. 2002. Emerging infectious disease. A key role for conservation medicine. In: Aguirre, A.A., Ostfeld, R.S., Tabor, G.M., House, C., Pearl, M.C. Conservation Medicine. Ecological health in practice. New York. Oxford University Press. p. 40-61.

Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D. 2000. Emerging infectious disease of wildlife. Threats to biodiversity and human health. Science 287: 443-449.

Dégallier, N., Travassos da Rosa, A.P.A., Vasconcelos, P.F.C., Travassos da Rosa, E.S., Rodrigues, S.G., Sá Filho, G.C., Travassos da Rosa, J.F.S. 1999. New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. **Brazilian Journal of the Association for Advancement of Science.** 44:136-142.

de Lisle, G.W., Mackintosh, C.G., Bengis, R.G. 2001. *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. **Rev. Sci. Tech.** 20: 86-111.

de Thoisy, B., Gardon, J., Salas, R. Morvan, J., Kazanji, M. 2003. Mayaro virus in wild mammals, French Guiana. **Emerging Infectious Diseases.** 9(10): 1326-1329.

de Thoisy, B., Vogel, I., Reynes, J.M., pouliquen, J.F., Carme, B., Kazanji, M. *et al.* 2001. Health evaluation of translocated free-ranging primates in French Guiana. **American Journal of Primatology.** 54: 1-16.

Dennis, D. Jenkins, S. 1998. Emerging zoonoses. *Emerging Infectious Disease*. 4(3): 453-454.

Diniz, L.S.M. da-Costa, E.O., Fava Neto, C. 1994. Importância e avaliação do teste de hipersensibilidade do tipo tardio, tuberculina, em mamíferos silvestres mantidos em cativeiro, São Paulo, Brasil. **A Hora Veterinária**. 82: 21-24.

Downs, W.G., Spence, L., Aitken, T.H.G., Whitman, L. 1961. Cache Valley virus, isolated from a Trinidadian mosquito, *Aedes scapularis*. **West Indian Medical Journal**. 10: 13-15.

Dubois, R. 1996. Zoonoses Transmissíveis por Primatas no Brasil. *A Hora Veterinária*. 90:21-24.

Dunn, F.L. 1968. The parasites of saimiri: in the context of Platyrrhine parasitism. In: Rosenblum, L.A. Cooper, R.W (eds.). *The saquirrel monkey*. London. Academic Press. p. 31-64.

Epstein, P.R. 1999. Climate and health. *Science* 285: 347-348.

Eric J., Baitchman, E.J., Calle, P.P., James, S.B., Linn, M.L., Raphael, B.I. 2006. Leptospirosis in wied's marmosets (*Callithrix kuhlii*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. 37(2): 182-185.

Faine, S., Adler, B., Bolin, C.A., Perolat, P. 1999. **Leptospira and Leptospirosis**. Melbourne. 2 ed. MedSci Press.

Felsenfeld, A.D. 1972. The Arbovirus. In: Fiennes, R.N. (ed.) *Pathology of simian primates. Infectious an parasitic diseases*. Basel. Karger. P. 523-536.

Fiennes, R.N. 1965. Incidence of TB in squirrel monkey and marmosets. **Laboratory Primates Newsletter**. 4:10.

Fiennes, R.N.; Carrington, R.; Matthews, L.H. 1967. **Zoonoses of Primates. The epidemiology and ecology of simian diseases in relation to man**, Itaca, N.Y. Corell University Press.

Fowler, M.E. 1986. *Zoo and Wildlife Animal Medicine*. 2 ed. Philadelphia. W.B. Saunders.

Frederickson, L.E., Borton, C.E., Rogan, J.R., Roberts, J.W. 1971. An epizootic of tuberculosis in municipal zoo: A publish health problem. **Journal of Americam Veterinary Medicine Association** 159: 1477-1476.

Friedman, C.R., Torigian, C., Shillam, P.J., Hoffman, R.E., Heltzel, D., Beebe, J.L., Malcolm, G., DeWitt, W.E., Hutwagner, L. Griffin, P.M. 1998. An

outbreak of salmonellosis among children attending a reptile exhibit at a zoo. *Journal Pediatrics*. 132: 802-807.

Gonzalo, A., King, N. Montoya, E. 1993. Possible spontaneous mycobacteriosis in an owl monkey. **Journal of Medical Primatology**. 23: 58-59.

Greco, D.B. 2000. Ética, saúde e pobreza. As doenças emergentes do século XXI. Disponível em: <<http://www.cfm.org.br/revista/bioev7/etica.html>>. Acessado em 27 de julho de 2006.

Greenstein, E.T., Doty, R.W., Lowy, K. 1965. An outbreak of fulminating infectious disease in squirrel monkey, *Saimiri sciureus*. **Laboratory Animal Care**. 15: 60-61.

Hijjar, M.A., Campos, H.S., Feitosa, J.V.P. 2005. Tuberculose. In: Coura, J.R. (ed) **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. p. 1495-1433.

Hill, W.C.O. 1960. **Primates. Comparative Anatomy and Taxonomy**. Vol. IV. Part. A. Edinburgh. Edinburgh University Press. p. 300.

Hirano, Z.M.B. 2004. **Secreção epidérmica de *Alouatta guariba clamitans***. Tese Doutorado em Biologia Comparada - Universidade de São Paulo, São Paulo.

Hsiung, G.D., Black, F.L., Henderson, J.R. 1964. Susceptibility of primates to viruses in relation to taxonomic classification. In: J. Buettner-Janusch (ed.), **Evolutionary and Genetic Biology of Primates**. Vol. 2, Academic Press, New York. p. 1-28

IBAMA. 1998. Decreto n° 42838 de 04 de fevereiro de 1998. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>. Acessado em: 16 março 2005.

Johnson, R.T. 2003. Emerging viral infection of the nervous system. *Journal of Neurovirology*. 9:140-147.

King, N.W. 1993. Tuberculosis. In: Jones, T.C. Mohr, U., Hunt, R.D. eds. Monographs on **Pathology of Laboratory Animals: Nonhuman Primates I**. New York. Springer-Verlag. pp. 141-148.

Koprowski, H., Hughes, T.P. 1946. The virus of Ilhéus encephalitis. Physical properties, pathogenicity and cultivation. **J. Immunol**. 54: 449-453.

Martin, D.P. 1986. Infectious diseases of no-human primates. In: FOWLER, M. E. **Zoo and Animal Wild Medicine**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. p. 669-672.

Marra, M.A., Jones, S.J.M., Atell, C.R., Holt, R.A., Brooks-Wilson, A., Butterfield, Y.S, *et al.* 2003. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science*. 300: 1399-1404.

Montali, R.J. Mikota, S.K. Cheng, L.I. 2001. Mycobacterium tuberculosis in zoo and wildlife species. **Rev. Sci. Tech.** 20: 291-202.

Morse, S., Colier, P. 2003. Ebola virus killing primates in the Congo. *Wildlife* news.Disponível em:<http://www.anc.org/wildlife/wildlife_article.cfm?identifier=2003_0423 Ebola. Acessado em 20 de abril de 2005.

Ministério da Saúde. 1999. Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela. Fundação nacional de Saúde. 60p. Disponível em: <<http://www.funasa.gov.br>. Acessado em 10 out. 2004.

Ministério da Saúde/ Fundação Nacional de Saúde. 2002. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Fundação Nacional de Saúde. Brasília.

Ministério da Saúde. 2004. **Manual de Vigilância de Epizootias em primatas não humanos**. Secretaria de vigilância. 63p. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>. Acessado em 01 abril 2005.

Ministério da Saúde. 2006. A Portaria 5, de 21 de fevereiro de 2006 In: Diário Oficial da União. Seção 1. p 35. n 38. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>. Acessado em 03/3/2006.

Moreira, G.V., Peixoto, C.M.S., Ziccardi, M., Oliveira, R.L., Castro, M.G. Dionísio, D.F. Pissinatti, A. 2000. Prevalência de *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma minasense* e de anticorpos contra arbovirus em primatas não humanos (*Callithrichidae*) em cativeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. 22(6): 252-254.

Mutebi, J.P., Wang, H., Li, L., Bryant, J.E., Barrett, A.D.T. 2001. Phylogenetic and evolutionary relationships among yellow fever virus isolates in Africa. **Journal of Virology**. 75: 6999-7008.

Newcomb, J. 2003. **Biology and borders: SARS and the new economics of biosecurity**. Cambridge. M.A. Bio Economic Research Associates.

Nobre, A., Antezana, D., Tauil, P.L. 1994. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Rev. Soc. Brás. Med. Trop.** 27(3): 59-66.

Oliveira, L.M., Ramos, M.C.C., Leão, S.C., Oliveira, R.S., Ferreira Neto, J.S., Teixeira, R.H.F., Catão-Dias, J.L. 2003. Estudo comparativo de métodos

para diagnóstico de Tuberculose em primatas neotropicais. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. Guarapará, ES. Resumos. p. 52.

Patz, J.A., Wolfe, N.D. 2002. Global ecological change and human health. In: Aguirre, A.A., Ostfeld, R.S., Tabor, G.M., House, C., Pearl, M.C. **Conservation Medicine. Ecological health in practice**. New York. Oxford University Press. p. 167-181.

Pereira, M.M. 2005. Leptospirose. In: Coura, J.R. (ed). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 2 v. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. pp. 1497-1508.

Perolat, P., Poingt, J.P, Vie, J.C., Jouaneau, C., Baranton, G., Gysin, G. 1992. Occurrence of severe leptospirosis in a breeding colony of squirrel monkeys. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 46: 538–545.

Ramadas, P., Jarwis, B.D.W., Córner, R.J., Penny, D., Marshall, R.B. 1992. Genetics characterization of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization. **Int. J. Sust. Bacteriol**. 42: 215-219.

Rylands, A.B. 2001. Two taxonomies of the New World primates - a comparison of Rylands et al. (2000) and Groves (2001). **Neotropical Primates**. 9 (3): 121-124.

Reid, H. A., Herron, A.J., Hines, M.E., Orchard, E.A., Altman, N.H.. 1993. Leptospirosis in a whitelipped tamarin (*Saguinus labiatus*). **Laboratory Animal Science**. 43: 258–259.

Sá, L.R.M., Teixeira, R., DiLoreto, C., Catão-Dias, J.L. 1999. Leptospirosis in neotropical primates. In: resumos do 3º Congresso da Associação de Veterinários de Animais Selvagens. São Pedro, Brazil. Resumo. p. 7.

Sallis, E.S., Garmatz, S.L., Figuera, R.F., Barros, V.L.R.S., Graça, D.L. 2003. Surto de febre amarela em bugios. **Acta Scientiae Veterinariae**. 31(2): 115-117.

Shope, J.L. 1963. The use of a microhemagglutination inhibition test to follow antibody response after arthropdborne virus infection in a community of forest animals. **A. Microbiol**. 11: 167-171.

Shope, J.L., Causey, O.R., de Andrade, A.H.P., Theiker, M. 1964. The venezuelan equine encephalomyelitis complex of a group A arthropod-borne

viruses, including Mucambo and Pixuna from the Amazon region of Brazil. **J. Am. Trop. Méd. Hyg.** 13: 723-727.

Tauil, P.L., Santos, J.B., Moraes, M.A.P. 2005. Febre Amarela. In: Coura, J.R. (ed.) **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro. Guarabara Koogan. P. 1755-1766.

Taylor, L.H., Woodhouse, M.E.J. 2000. Zoonoses and the risk of disease emergence. In: Proceeding of international conference on emerging infectious disease, poster 122. CDC, Atlanta, Georgia.

Torres, M.A.N., Santos, E., Almeida, M.A.B., Cruz, L.L., Sperb, A.F. 2003. Vigilância da Febre Amarela Silvestre no Rio Grande do Sul. **Boletim Epidemiológico**. Vol. 6, n.5.

Tury, E., Muniz, J.A.P.C., Brigido, M.C.O., Freitas, J.A., Souza, J.S. 1998. Tuberculose causada por *Mycobacterium tuberculosis* entre macacos (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro: Observações clínico anatômicas e histopatológicas. **A Hora Veterinária**. 104: 54-57.

Wallach, J. D., Boever, W.J. 1983. **Diseases of exotic animals: medical and surgical management**. 1 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. p. 40-93.

World Health Organization. 1951. Joint WHO/FAO Expert Group on Zoonoses. Report on the First Session. Technical Report Series. N. 40. Geneva: World Health Organization.

World Health Organization. 1975. The veterinary contribution to public health practice. Report of a Joint FAO/WHO Expert committee. Tech Report.

World Health Organization. 2006. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. Disponível em: <<http://www.who.int>. Acessado em 20 outubro de 2006.

Valença-Montenegro, M.M.; Laroque, P.O.; Eloy, E.C.C.; Oliveira, M.M. 2005. Monitoramento de ocorrência de doenças em populações cativas e silvestres de primatas brasileiros. In: XI Congresso brasileiro de primatologia. Porto Alegre. Resumo. p. 171.

Vasconcelos, P.F.C., Costa, Z.G., Travassos da Rosa, E.S., Luna, E. *et al.* 2000. An epidemic of jungle Yellow fever in Brazil, 2000. Implications of climatic alterations in disease spread. **Journal of Medical Virology**. 65: 598-604.

Vasconcelos, P.F.C., Rodrigues, S.G., Dégallier, N., Moraes, M.A.P. *et al.* 1997. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão

State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 57: 132-137.

Vasconcelos, P.F.C. 2003. Febre Amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 36(2): 275-293.

Ververne, R.W., Jones, S.L., Van Soolingen, D., Van der Laan, T., Andersen, P., Heidt, P.J., Thomasa, A.W., Langermansa, J.A.M. 2004. TB diagnosis in non-human primates: comparison of two interferon-g assays and the skin test for identification of Mycobacterium tuberculosis infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 100: 61–71.

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o protocolo de pesquisa, intitulado “Levantamento de Parasitas sanguíneos e digestivos de *Alouatta guariba clamitans*, em processo de reintrodução, alojados no CEPESBI-Indaial/SC.” Protocolado nesse Comitê sob nº 033/04- B, foi aprovado.

Blumenau, 27 de janeiro de 2005.



Prof. José Geraldo Pereira da Cruz

Coordenador do Comitê de Ética na Experimentação com Animais

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o protocolo de pesquisa, intitulado
“Análise Bioquímica Sanguínea e Urinária de *Alouatta guariba clamitans*,
em processo de reintrodução, alojados no CEPESBI- Indaial/ SC”.
Protocolado nesse Comitê sob nº 033/04- A, foi aprovado.

Blumenau, 27 de janeiro de 2005.



Prof. José Geraldo Pereira da Cruz
Coordenador do Comitê de Ética na Experimentação com Animais