

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CAUSAS DE MORTE EM PRIMATAS NEOTROPICAIS NO SUL DO BRASIL

LUIZA PRESSER EHLERS

PORTO ALEGRE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CAUSAS DE MORTE EM PRIMATAS NEOTROPICAIS NO SUL DO BRASIL

Autora: Luiza Presser Ehlers

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Patologia Animal e Patologia Clínica, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Luciana Sonne

PORTO ALEGRE

2019

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

CIP - Catalogação na Publicação

Ehlers, Luiza Presser
Causas de morte em primatas neotropicais no Sul do
Brasil / Luiza Presser Ehlers. -- 2019.
45 f.
Orientadora: Luciana Sonne.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2019.

1. Primatologia. 2. Patologia. 3. Diagnóstico. I.
Sonne, Luciana, orient. II. Título.

Luiza Presser Ehlers

CAUSAS DE MORTE EM PRIMATAS NEOTROPICAIS NO SUL DO BRASIL

APROVADO POR:

Prof. Dra. Luciana Sonne
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini
Membro da Comissão

Prof. Dra. Renata Assis Casagrande
Membro da Comissão

Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi
Membro da Comissão

RESUMO

As principais ameaças para os primatas não humanos compreendem processos de reduções de seus habitats ocasionadas por ações antropogênicas além de doenças infecciosas que podem estar relacionadas ao seu declínio populacional. Este trabalho teve como objetivo determinar as principais causas de morte em primatas neotropicais no Sul do Brasil, além de descrever aspectos epidemiológicos, patológicos, microbiológicos e moleculares da infecção de *Mycobacterium tuberculosis* em dois *Sapajus nigritus*. Durante o período de 2000 a 2018 foram realizadas 146 necropsias em primatas neotropicais, das quais 82,2% eram *Alouatta guariba clamitans*, 11,64% *Sapajus nigritus*, 2,05% *Callithrix jachus*, 2,05% *Callithrix penicillata*, 1,36% *Alouatta caraya* e 0,7% *A. guariba clamitans* x *A. caraya*. Do total de primatas analisados 63% eram de vida livre e 37% de cativeiro. O diagnóstico conclusivo foi possível em 74,65% dos casos e desses diagnósticos, 68 (62,4%) corresponderam a causas não infecciosas e 41 (37,6%) a doenças de origem infecciosa. Causas não infecciosas afetaram principalmente primatas de vida livre (89,7%), e as causas infecciosas, foram mais observadas em primatas de cativeiro (70,7%). A categoria traumas (57,8%) foi a mais frequente entre todas as causas de morte. Entre as doenças infecciosas, as de origem bacteriana (24,8%) foram a segunda causa de morte mais observada, seguida por parasitárias (11%). Doenças neoplásicas (1,8%) e virais (1,8%) foram menos frequentes. As causas de morte mais frequentemente diagnosticadas no período do estudo foram traumatismo, pneumonia e toxoplasmose. Levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais no Brasil visam esclarecer e auxiliar na conservação de espécies de primatas e no cuidado da saúde pública, assim como, estimar o efeito das ações antrópicas nessas espécies. No segundo artigo realizou-se a descrição de tuberculose causado por *M. tuberculosis* em dois macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) de cativeiro. Ambos primatas eram adultos, machos e viviam em um mesmo recinto, o qual permitia contato próximo de humanos. Os sinais clínicos compreendiam apatia, inapetência progressiva e um dos macacos apresentou dispneia. A morte dos dois primatas ocorreu em um intervalo de dois meses. Na necropsia, os pulmões exibiam dois padrões distintos: no primeiro macaco observou-se áreas multifocais nodulares amareladas, firmes de 0,5 a 2 cm de diâmetro, também observado em linfonodo mesentérico. O segundo macaco apresentava substituição quase total do parênquima pulmonar por áreas multifocais a coalescentes nodulares amareladas, firmes de 0,3 a 3 cm de diâmetro, também observado no pâncreas. Os linfonodos traqueobrônquicos e mediastínicos estavam acentuadamente aumentados de tamanho, firmes, e ao corte, exibia coloração amarelada e aspecto caseoso. Achados microscópicos de ambos primatas compreenderam a substituição do parênquima pulmonar por áreas multifocais a coalescentes de necrose caseosa circundada por intenso infiltrado granulomatoso, por vezes esse infiltrado estava envolto por discreta proliferação de tecido fibroso. Por vezes observa-se ainda nos pulmões e linfonodos granulomas não necróticos, caracterizados por infiltrado de macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos e células gigantes multinucleadas. A coloração de Ziehl-Neelsen e a imuno-histoquímica associados a identificação do agente por métodos moleculares e microbiológicos foram fundamentais para estabelecer o diagnóstico preciso da condição.

Palavras-chave: primatas não humanos, patologia, diagnóstico, histologia, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

The habitat loss by anthropogenic actions is the major threats to non-human primate species. Infectious diseases may also be related to the primate population decline. This study described the main causes of death in neotropical primates, as well as describes the epidemiological, pathological, microbiological and molecular findings of tuberculosis by *M. tuberculosis* in two *Sapajus nigritus*. The first article aimed to determine the main causes of death in neotropical primates in southern Brazil diagnosed during January 2000 to December 2018. The species necropsied corresponded to *Alouatta guariba clamitans* (82,2%), *Sapajus nigritus* (11,64%), *Callithrix jachus* (2,05%), *Callithrix penicillata* (2,05%), *Alouatta caraya* (1,36%) and *Alouatta guariba clamitans* x *Alouatta caraya* (0,7%). From a total of primates analysed 63% were wild primates and 37% were captive primates. A conclusive diagnosis was obtained in 74,65% of the cases. Of these cases, 68 (62,4%) corresponded to non-infectious causes and 41 (37,6%) to infectious diseases. The non-infectious causes mainly affect wild primates (89,7%) while the infectious diseases were more frequent in captive primates (70,7%). Trauma (57,8%) was the main category of causes of death. The bacterial infectious diseases (24,8%) were the second frequent cause of death, followed by parasitic diseases (11%). The neoplasms (1,8%) and viral diseases (1,8%) were less frequent. The most frequent diagnoses of this study included multiple trauma, pneumonia and toxoplasmosis. The second article described a case report of tuberculosis by *M. tuberculosis* in two captive black capuchins (*Sapajus nigritus*). The clinical signs included decreased activity, anorexia and in monkey #2 was observed dyspnea too. The monkeys presented multifocal to coalescing firm whitish nodules on pulmonary parenchyma, extending to mesenteric lymph nodes in monkey #1 and pancreas in monkey #2. The mediastinal and tracheobronchial lymph nodes were markedly enlarged, firm with caseous areas. Histologically findings of both monkeys were characterized by replacement of the pulmonary parenchyma by multifocal to coalescing areas of intense caseous necrosis associated to a marked granulomatous inflammatory infiltrate and some areas appear discrete fibrosis proliferation. In some areas were observed in lungs and lymph nodes, nonnecrotic granulomas consisting of centrally located epithelioid macrophages, lymphocytes, plasm cells and multinucleated giant cells. Complementary exams as Ziehl-Neelsen stain, immunohistochemical to anti-*Mycobacterium tuberculosis*, agent detection by microbiological culture and molecular analysis showed were essentials to establish the precise diagnosis of the disease.

Key words: nonhuman primates, pathology, diagnosis, histology, immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 ARTIGO 1.....	9
3 ARTIGO 2.....	29
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta a maior variedade de espécies de primatas do mundo pela localização geográfica na região neotropical e também devido ao vasto território brasileiro, com diferentes biomas, que comporta espécies de diferentes hábitos (ESTRADA *et al.*, 2017). A ordem Primates é subdividida em duas subordens, Prosimi e Antropoidea. A subordem Antropoidea é subdividida em Platyrrhini (Novo Mundo) e Catarrhini (Velho Mundo) (VERONA; PISSINATTI, 2014).

Platyrrhini são encontrados nas regiões neotropicais, que compreende o sul do México até o norte da Argentina. Estes são cerca de 139 táxons (espécies e subespécies) que vivem no território brasileiro, representando aproximadamente 21% de todos os táxons que ocorrem no mundo (RYLANDS; MITTERMEIER; SILVA, 2012). Dentre as espécies de primatas neotropicais do Novo Mundo que vivem na região neotropical, 36% apresentam-se ameaçadas de extinção (ESTRADA *et al.*, 2017). Há três espécies de primatas não humanos que ocorrem no estado do Rio Grande do Sul: o bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*), bugio-preto (*Alouatta caraya*) e o macaco-prego (*Sapajus nigritus*). Por sua vez, primatas do gênero *Callithrix* são considerados exóticos no estado do Rio Grande do Sul segundo a SEMA (Secretaria do Meio Ambiente) em 2013 (RIO GRANDE DO SUL, 2013).

Os processos de perda, alteração e fragmentação de florestas ocasionados pela presença humana são as principais causas de ameaça aos primatas (ARROYO-RODRIGUEZ; DIAS, 2010; PASTO-NIETO, 2015; ESTRADA *et al.*, 2017). As espécies endêmicas geralmente sofrem maior pressão quando há destruição do habitat e fragmentação (JERUSALINSKY *et al.*, 2010, ESTRADA *et al.*, 2017). A reação em cadeia originada desta degradação ameaça não somente o habitat, como também a saúde de todas as espécies da fauna silvestre, bem como a do homem e a de animais domésticos. Neste contexto, as doenças infecciosas são um dos fatores que podem favorecer o declínio populacional de primatas (BUENO *et al.*, 2017; ESTRADA *et al.*, 2017). Da mesma forma, doenças emergentes podem desempenhar um papel importante no declínio populacional de primatas (ARROYO-RODRIGUEZ; DIAS, 2010; BUENO *et al.*, 2017).

Cerca de 60% dos agentes etiológicos circulam entre humanos e animais (zooantroponose) e 72% das doenças emergentes são causadas por patógenos que circulam entre animais silvestres (JONES *et al.*, 2008). O Brasil é considerado um dos *hotspots*, para a emergência de doenças infecciosas emergentes devido à ampla

diversidade de espécies de animais silvestres (JONES *et al.*, 2008). A tuberculose tem alta incidência no Brasil e é uma importante causa de morte em humanos mundialmente (WHO, 2018); é uma zoonose e dessa forma, pode infectar primatas não humanos, nos quais pode resultar em doença pulmonar progressiva (GONG *et al.*, 2017).

Em comparação com o conhecimento disponível para primatas do Velho Mundo, pouco ainda se sabe sobre as enfermidades que acometem símios do neotrópico (VERONA; PISSINATTI, 2014; PASTOR-NIETO, 2015). Todavia, embora haja estudos na área (VANSTREELS *et al.*, 2011; BUENO *et al.*, 2017), levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais ainda são escassos.

O presente estudo tem como objetivo investigar e discutir causas de mortalidade em primatas neotropicais diagnosticados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil bem como descrever um surto de mortalidade de macaco prego por *Mycobacterium tuberculosis*.

2 ARTIGO 1

Nesse item é apresentado o artigo intitulado “Causas de morte em primatas neotropicais diagnosticados no Sul do Brasil”, o qual foi redigido segundo as normas do periódico *International Journal of Primatology* para ser submetido após as correções da banca.

Luiza P. Ehlers¹, Mônica Slaviero¹, Lauren S. Mello¹, Matheus V. Bianchi¹, Livia E. Surita², Marcelo M. Alievi², Saulo P. Pavarini¹, David Driemeier¹ e Luciana Sonne¹

Causas de morte em primatas neotropicais no Sul do Brasil

¹Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. 91540-000

²Hospital de Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 91540-000

Corresponding author (Ehlers L.P.): E-mail: lu.ehlers@hotmail.com

Resumo

As principais ameaças de primatas não humanos compreendem processos de reduções de seus habitats ocasionadas por ações antropogênicas. Da mesma forma, doenças emergentes podem desempenhar um papel importante no declínio populacional de primatas. O presente estudo visou determinar as principais causas de morte em primatas neotropicais na região sul do Brasil no período compreendido entre janeiro de 2000 a dezembro de 2018. Foram analisados dados de protocolos de necropsia e os diagnósticos foram agrupados em categorias. Durante o período, foram realizadas 146 necropsias em primatas neotropicais. Quanto as espécies, 82,2% eram *Alouatta guariba clamitans*, 11,64% *Sapajus nigritus*, 2,05% *Callithrix jachus* e *Callithrix penicillata*, 1,36% *Alouatta caraya* e 0,7% *A. guariba clamitans* x *A. caraya*. Do total de primatas analisados 63% eram de vida livre e 37% de cativeiro. O diagnóstico conclusivo foi possível em 74,65 (109/146) dos casos. Desse total, 68 (62,4%) corresponderam a causas não infecciosas e 41 (37,6%) a doenças infecciosas. A categoria traumas foi a principal causa de morte com 57,8%, seguida por doenças de origem bacterianas (24,8%), parasitárias (11%), neoplasias (1,8%), virais (1,8%) e outros (2,8%). Levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais no Brasil visam esclarecer e auxiliar na manutenção e conservação de espécies de primatas e no cuidado da saúde pública, assim como estimar o efeito das ações antrópicas sobre as espécies de PNH.

Palavras-chave: primatologia, diagnóstico, doenças infecciosas, doenças não infecciosas.

Introdução

O Brasil apresenta a maior variedade de espécies de primatas do mundo devido à localização geográfica na região neotropical (Estrada et al. 2017). No Brasil, são

reconhecidos atualmente 139 táxons, correspondendo à aproximadamente 21% da diversidade total de primatas não humanos (PNH) (Rylands et al. 2012). Dentre as espécies de primatas neotropicais (PN), 36% apresentam-se ameaçadas de extinção (Estrada et al. 2017). No Rio Grande do Sul, encontram-se distribuídas três espécies de PNH autóctones: o bugio-preto (*Alouatta caraya*), o bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) e o macaco-prego (*Sapajus nigritus*). Além desses, os saguis (*Callithrix* spp.) foram incluídos na lista de vertebrados terrestres exóticos invasores no Rio Grande do Sul pela Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul (SEMA) em 2013 (Rio Grande do Sul 2013).

Em comparação com o conhecimento disponível para primatas do Velho Mundo, pouco ainda se sabe sobre as enfermidades que acometem símios do neotrópico (Verona & Pissinatti 2014; Pastor-Nieto 2015). Todavia, embora haja estudos na área (Vanstreels et al. 2011; Bueno et al. 2017), levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais ainda são escassos. O presente estudo tem como objetivo determinar a frequência e discutir as principais causas de morte em primatas neotropicais do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, no período compreendido entre janeiro de 2000 a dezembro de 2018.

Métodos

Foram conduzidos um estudo de causas de morte em primatas neotropicais (PN) diagnosticadas no laboratório de patologia de janeiro de 2000 a dezembro de 2018. Dados referentes a espécie, sexo, idade e origem (vida livre ou cativeiro) foram analisados e compilados. Os primatas eram encaminhados ao laboratório através do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS), zoológicos municipais e privados, mantenedores de fauna e clínicas veterinárias. Amostras teciduais coletadas durante a

necropsia, foram fixadas em solução de formalina 10%, processadas rotineiramente para histologia e após coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Fragmentos de tecidos refrigerados de casos suspeitos de origem bacteriana foram encaminhados para realização de cultivo microbiológico. Os diagnósticos foram agrupados em enfermidades infecciosas, as quais foram subdivididas em doenças de origem bacteriana, viral e parasitária, e em não infecciosas, as quais foram subdivididas em traumatismos (politraumatismo e choque elétrico), neoplasmas e outros. Na subcategoria “traumatismo” estão inclusos casos de politraumatismos causados por atropelamentos por veículos automotivos, ataques por cães, agressões de humanos e arma de fogo. A técnica de imuno-histoquímica (IHQ) através do método com polímero MACH4 para *Escherichia coli* (1:200, Virostat), *Salmonella* sp. (1:1000, Biogenesis), e *Herpesvirus simplex* (1:100, Dako) e através do método de streptavidina biotina peroxidase para *Toxoplasma gondii* (1:1000, VMRD) com revelação com cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol (AEC, Dako) foi empregada em casos que apresentaram diagnósticos sugestivos das respectivas lesões. Um caso com suspeita de infecção pelo vírus da febre amarela (VFA) foi encaminhado para realização de IHQ anti-VFA no Laboratório de Patologia da Universidade de Brasília. Os casos em que apresentavam estado de autólise avançado, ou não foram observadas lesões significativas foram classificados como inconclusivos.

Ethical note

Todos os procedimentos estavam em total conformidade com as autorizações federais emitidas pelo governo brasileiro (Licença SISBIO 59292-1). Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Resultados

No período analisado, 146 primatas neotropicais foram submetidos à necropsia, dos quais 120 eram bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) (82,2%), 17 macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) (11,64%), três saguis de tufos-brancos (*Callithrix jachus*) (2,05%) e saguis de tufos-pretos (*Callithrix penicillata*) (2,05%), dois bugios-pretos (*Alouatta caraya*) (1,36%) e um primata era híbrido [*A. guariba clamitans* x *A. caraya* (0,7%)]. Desse total de primatas, 92 (63%) eram de vida livre e 54 (37%) eram de cativeiro. Os primatas foram encaminhados de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, sendo que 80,13% (117/146) vieram de cidades próximas à região metropolitana de Porto Alegre. Destas necropsias, 109 (74,65%) obtiveram diagnóstico conclusivo, enquanto 37 (25,35%) foram inconclusivos. Do total de 109 diagnósticos conclusivos, 68 (62,4%) corresponderam a causas não infecciosas (Tabela 1) e 41 (37,6%) a doenças de origem infecciosa (Tabela 2). Quanto a origem, causas de morte não infecciosas apresentaram maior frequência em primatas de vida livre (89,7%, 61/68) e apenas sete eram de cativeiro. Enquanto nas causas de morte infecciosas, primatas de cativeiro (70,7%, 29/41) foram mais frequentes em comparação com os de vida livre (29,3%, 12/41).

Entre as causas de morte não infecciosas (68/109), a categoria traumas (63/68) foi a mais frequente entre todas as causas de morte em primatas neotropicais. Esta categoria foi subdividida em traumatismo (50/63) e choque elétrico (13/63) (Figura 1A). A maioria dos primatas dessa categoria eram bugios-ruivos (58/63), seguido por macaco-prego (2/63), sagui de tufos-brancos (1/63), sagui de tufos-pretos (1/63) e bugio-preto (1/63).

A categoria neoplasias foi representada por um caso de carcinoma de células escamosas e um de linfoma intestinal. O carcinoma de células escamosas ocorreu em

um macaco-prego, fêmea, adulta, de cativeiro, e a neoplasia localizava-se na cavidade oral com envolvimento da mandíbula (Figura 1B). O linfoma intestinal acometeu um bugio-ruivo, fêmea, jovem, de vida livre. Na categoria “outros” foram agrupados casos em que não se enquadraram nas classificações anteriores. Essa categoria abrange diagnósticos do sistema cardiovascular, a “insuficiência cardíaca” (2/68), e do sistema hepático, “degeneração e necrose hepática de causa indeterminada” (1/68).

Dentre as doenças infecciosas (41/109), 27 eram de origem bacteriana (65,85%), 12 de origem parasitária (29,26%) e dois de origem viral (4,87%).

A pneumonia (9/27) foi a enfermidade bacteriana mais frequente, ocorrendo apenas em bugios-ruivos. Em sete casos os primatas apresentavam histórico pregresso de trauma, o qual incluía ataques por cães, fratura de costela além de infecções cutâneas e na cavidade oral. Um caso apresentava ainda, estruturas parasitárias nos pulmões associadas a pneumonia bacteriana, as quais eram morfológicamente compatíveis com nematódeos. Esses primatas apresentavam pneumonia supurativa e em cinco casos foi determinado o agente envolvido, sendo quatro diagnósticos de pneumonia por *E. coli* (três através da IHQ e um pelo cultivo microbiológico) e um caso por *Pasteurella multocida* (através do cultivo microbiológico) (Figura 1D). A septicemia (8/27) foi a segunda condição mais frequente entre as causas bacterianas, ocorrendo em oito bugios-ruivos de cativeiro. Em todos casos foi possível determinar a provável origem de infecção, as quais compreenderam lacerações em regiões cutâneas, ulcerações em mucosas do trato gastrointestinal e pneumonia. Em seis casos foi possível elucidar a etiologia da condição: através da IHQ para *E. coli* em cinco casos; e em um caso pelo isolamento de *E. coli*. Enterite/colite (5/27) foi a terceira condição mais frequente entre causas bacterianas, acometendo quatro *A. guariba clamitans* e um *S. nigritus* (Figura

1C). Através da técnica de IHQ observou-se marcação em dois casos para *E. coli* e um caso para *Salmonella* sp.

As doenças infecciosas de origem parasitária representaram 11% (12/109) do total de diagnósticos de causas de morte em primatas neotropicais. A principal condição dessa categoria foi a infecção causada por *Toxoplasma gondii* (9/12), a qual foi observada exclusivamente em bugios-ruivos. Destes, seis eram de cativeiro e três de vida livre. Os primatas exibiam histórico clínico similar, com evolução aguda e morte súbita. Visualizou-se discreta quantidade de taquizoítos e bradizoítos de *Toxoplasma gondii* e em oito casos houve imuno-marcação positiva *T. gondii* (Figura 1E). “Helmintose” (3/12) foi a segunda condição parasitária encontrada, a qual foi observada em macacos-pregos de cativeiro que viviam no mesmo recinto. Esses apresentaram enterite granulomatosa multifocal associada a exemplares adultos de nematódeos morfológicamente compatíveis com *Molineus* sp. (Figura 1F).

Doenças de etiologia viral foram diagnosticadas em dois animais. O diagnóstico de *Herpesvírus simplex* (HSV) foi realizado em um sagui-de-tufos-pretos (*C. penicillata*). Este apresentou histórico clínico agudo com meningoencefalite e na técnica de IHQ anti-HSV apresentou marcação positiva em neurônios. Um bugio-ruivo de vida livre apresentava infecção pelo VFA. O caso do presente estudo ocorreu no ano de 2002, no mesmo período houve um surto de febre amarela na região do estado do Rio Grande do Sul. Esse caso apresentou discreta imunomarcção para VFA no fígado.

Discussão

No período analisado, 146 primatas neotropicais foram submetidos à necropsia. Acredita-se que a predominância de bugios-ruivos, principalmente de vida livre, se deva à origem desses animais e à área de abrangência do presente estudo, uma vez que a

espécie é amplamente distribuída em cidades próximas à região metropolitana de Porto Alegre, sendo mais frequente do que as demais espécies de primatas (Bicca-Marques 2003; Lokschin et al. 2007).

Em nosso estudo, sugere-se que a maior frequência de causas infecciosas em PN cativos, principalmente em bugios-ruivos, é consequente a uma mudança no seu comportamento que em vida livre é arborícola, e em cativeiro ficam muitas vezes restritos ao chão do recinto, aumentando as chances de contato com agentes, podendo assim oferecer condições especiais no desenvolvimento de doenças infecciosas (Verona & Pissinatti 2014; Pastor-Nieto 2015). Enquanto que a maior frequência de primatas de vida livre em causas de morte não infecciosas seja devido a ações antropogênicas. Uma vez que essas são consideradas a principal ameaça a PNH (Arroyo-Rodriguez 2010; Estrada et al. 2017).

Traumatismos foram a principal causa de morte de primatas neotropicais nesse estudo, com politraumatismos e choques elétricos como as principais subcategorias relacionadas. A crescente redução dos habitats de PNH devido a ações antrópicas pode ser a principal causa para esse alto índice (Estrada et al. 2017), visto que, nas áreas mais povoadas, como a região metropolitana de Porto Alegre, a proximidade com estradas, o intenso tráfego de veículos e os choques elétricos ocasionados por linhas de transmissão em postes e fiações expostas reduzem a densidade e sobrevivência de populações de PN (Trombulak & Frissell 2000; Bicca-Marques 2003; Lokschin et al. 2007; Monticelli & Morais 2015). Apesar de o bugio-ruivo ter maior capacidade de adaptar-se a matas fragmentadas quando comparado a outros primatas, apresenta-se em situação vulnerável nessas condições, uma vez que são suscetíveis a doenças, a ataque por cães e à caça (Bicca-Marques 2003).

As neoplasias representaram 3% (2/68) das causas de morte não infecciosas, com um caso de carcinoma de células escamosas oral em um macaco-prego e um caso de linfoma intestinal em um bugio-ruivo. Carcinomas de células escamosas têm sido descritos em PNH frequentemente acometendo a cavidade oral (Haddad et al. 2009; Miller 2012; Stockinger et al. 2014), com capacidade de invadir os tecidos adjacentes (Stockinger et al. 2014), de forma similar ao observado. Por sua vez, o linfoma é uma neoplasia descrita em PNH, com maior frequência em primatas do Velho Mundo, os quais caracterizam-se principalmente pela forma espontânea (Hoffmann et al. 2001). No entanto, a natureza espontânea de neoplasias linfoides em PNH é frequentemente associada a infecções virais (Miller 2012).

Na categoria outros, a insuficiência cardíaca representou 3% (2/68) de causas de morte não infecciosas. Cardiomiopatias são raramente descritas em PN, e muitas vezes não há etiologia esclarecida (Tolwani et al. 2000), similarmente ao que foi observado no presente estudo. Essa condição em primatas ocorre de forma espontânea, ou através de uma resposta inflamatória ou deficiência nutricional (Tolwani et al. 2000; Koehnemsi et al. 2012).

Doenças infecciosas de origem bacteriana foram a segunda causa de morte de primatas neste estudo, sendo a pneumonia bacteriana a principal condição dessa categoria. De maneira semelhante, demonstrou-se anteriormente que o sistema respiratório é o mais afetado por doenças infecciosas em primatas neotropicais de cativeiro (Vanstreels et al. 2011). Além disso, primatas jovens do Novo Mundo, principalmente calitriquídeos, são suscetíveis a desenvolverem pneumonias mais severas, muitas vezes vindo a óbito (Mätz-Rensing & Lowenstine 2018). *P. multocida* e *E. coli* foram identificadas como frequentes causas de broncopneumonia supurativa em bugios-ruivos no presente estudo. Esses patógenos comumente causam

broncopneumonia supurativa em animais domésticos, todavia são geralmente agentes secundários e necessitam de um dano precedente dos mecanismos de defesa para estabelecer infecção (López & Martinson 2017). Sugere-se nesse estudo, que fatores estressantes relacionados ao cativeiro, traumatismos e a presença de parasitas pulmonares tenham facilitado a proliferação desses agentes nos pulmões.

A septicemia foi a segunda condição bacteriana mais frequente e ocorreu exclusivamente em animais de cativeiro. De forma similar, estudos anteriores avaliaram a mortalidade de PNH em cativeiro e observaram que a septicemia bacteriana foi uma das principais causas de óbito nas espécies avaliadas (Vanstreels et al. 2011; Dick Jr. et al. 2014; Laurence et al. 2017). No presente estudo, *E. coli* foi o agente envolvido com a condição em seis casos. *E. coli* é frequentemente associada a casos de septicemia em outros animais e humanos (Dick Jr. et al. 2014; Poolman & Wacker 2015). Em um trabalho relata-se a origem das infecções, as quais compreenderam principalmente infecções cutâneas e no sistema urogenital (Laurence et al. 2017), concordando em parte com o que foi encontrado no nesse estudo. Todavia, nesse estudo, a infecção se originou também a partir infecções no trato gastrointestinal e respiratório.

Enterites/colites compuseram a terceira doença de origem bacteriana mais frequentes nesse estudo. Estudos prévios demonstraram que as infecções gastrointestinais estão entre as principais causas de morte infecciosas em PNH, principalmente em animais em cativeiro (Carvalho et al. 2002; Vanstreels et al. 2011; Dick Jr. et al. 2014; Laurence et al. 2017), similarmente ao presente estudo, no qual quatro primatas eram de cativeiro. *E. coli*, frequentemente é associada à ocorrência de diarreia em primatas do Novo Mundo e do Velho Mundo (Mätz-Rensing & Lowenstine 2018), foi identificada nas lesões através da IHQ em dois primatas de cativeiro. Por sua vez, a ocorrência de enterocolite necrotizante causada por *Salmonella* spp. em PNH é

esporádica, frequentemente envolvendo íleo e cólon (Mätz-Rensing & Lowenstine 2018). Em nosso estudo, houve um caso de salmonelose corroborando com a teoria de que o agente também pode causar enterocolites em primatas neotropicais.

Doenças infecciosas de origem parasitária representaram a terceira causa de mortalidade de primatas neotropicais no presente estudo e a toxoplasmose foi a principal condição dessa categoria. Esta condição tem sido descrita como importante causa de morte em primatas neotropicais, geralmente com curso clínico agudo ou morte súbita (Epiphonio et al. 2003; Bouer et al. 2010; Vanstreels et al. 2011; Casagrande et al. 2013; Verona & Pissinatti 2014), de forma semelhante ao observado no presente trabalho. Diagnosticada exclusivamente em bugios-ruivos no presente estudo, a hipótese é que esses primatas, tanto os de vida livre como os de cativeiro, tenham ingerido alimentos contaminados com oocistos de *T. gondii*. Possivelmente, essa contaminação ocorreu devido ao trânsito de felídeos domésticos e selvagens nos locais em que os primatas habitavam. Outro fator que pode ter facilitado a infecção é a mudança de comportamento arborícola dos bugios de cativeiro, visto que esses podem passar a permanecer restritos ao solo e, dessa forma, aumentam as chances de contato com os oocistos do agente, culminando com o desenvolvimento da doença (Epiphonio et al. 2003; Bouer et al. 2010).

Helmintos usualmente coexistem com primatas sem causar óbito; todavia, a parasitose severa pode provocar manifestações clínicas graves a mortalidade de PNH (Chapman et al. 2005). Nesse estudo, três macacos-pregos apresentaram enterite granulomatosa parasitária causada por *Molineus* sp. A infecção por *Molineus torulosus* é relatado em primatas neotropicais situados na América do Sul, na família cebidae, como o gênero *Sapajus* (Durette-Desset et al. 2001; Miguel et al. 2013; Bacalhao et al. 2016). Esta caracteriza-se por causar lesão gastrointestinal grave, principalmente em

intestino delgado (Durette-Desset et al. 2001; Miguel et al. 2013; Bacalhao et al. 2016), semelhante ao que foi encontrado no presente estudo.

Por fim, doenças de origem viral representaram 4,87% das causas de morte de origem infecciosa. PNH têm demonstrado diferentes níveis de suscetibilidade ao vírus da febre amarela, com maior suscetibilidade em bugios, os quais apresentam a forma aguda da doença, com evolução clínica severa e alta mortalidade (Araujo et al. 2011; Moreno et al. 2015), de forma similar ao observado no presente caso. Quanto à infecção por HSV, primatas neotropicais, em especial calitriquídeos são mais suscetíveis, os quais desenvolvem quadros de meningoencefalite frequentemente associada ao HSV-1 (Mätz-Rensing et al. 2003; Casagrande et al. 2014). Esta condição ocorre principalmente em PN cativos devido ao contato próximo com humanos (Mätz-Rensing et al. 2003; Casagrande et al. 2014), concordando com o caso desse estudo, embora haja relatos dessa infecção em calitriquídeos de vida livre (Longa et al. 2011).

Traumas, como politraumatismos e choques elétricos, foram as principais causas de morte em primatas neotropicais no estudo. Entre as doenças infecciosas, destacam-se as doenças bacterianas, como pneumonias, septicemias e enterites/colites, e doenças parasitárias, como toxoplasmose e helmintose. Doenças virais e neoplásicas foram menos comuns no presente estudo. Ainda há poucos relatos sobre levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais no Brasil. Os quais são importantes, pois visam esclarecer e auxiliar na manutenção e conservação de espécies de primatas e no cuidado da saúde pública, assim como estimar o efeito das ações antrópicas sobre as espécies de PNH, principalmente em bugios-ruivos, presentes no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Agradecimentos

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por apoiar esse estudo.

Agradecemos a técnica Cíntia de Lorenzo por sua assistência nas IHQ realizadas nesse estudo e aos demais colegas do Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.

Agradecemos ao Prof. Dr. Márcio Botelho de Castro (UnB) por ter realizado IHQ para o vírus da febre amarela.

Referências

Araujo, F. A. A., Ramos, D. G., Santos, A. L., Passos, P. H. O., Elkhoury, A. N. S. M. Costa, Z. G. A. et al (2011). Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 20(4), 527-536.

Arroyo-Rodríguez, V. & Dias, P. A. D. (2010). Effects of Haitat Fragmentation and Disturbance on Howler Monkeys: A Review. *American Journal of Primatology*, 72, 1-16.

Bacalhao, M. B. M., Siqueira, R. A. S., Nery, T. F. L., Firmino, M. O., Neto, T. S. O., Nascimento, H. H. et al (2016). Ulcerative and granulomatous enteritis associated with *Molineus torulosus* parasitismo in neotropical primates. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(10), 1005-1008.

Bicca-Marques, J. C. (2003) How do howler monkeys cope with habitat fragmentation? In L.K. Marsh, (Ed.), *Primates in Fragments: Ecology and Conservation* (pp.283-303). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Bouer, A., Werther, K., Machado, R. Z., Nakaghi, A. C. H., Epiphanyo, S., Catão-Dias, J. L. (2010) Detection of anti- *Toxoplasma gondii* antibodies in experimentally and naturally infected non-human primates by Indirect Fluorescence Assay (IFA). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(1), 26-31.

Bueno, M. G., Catão-Dias, J. L., Laroque, P. O., Vasconcellos, S.A., Neto, J.S.F., Gennari, S. M. et al. (2017). Infectious Diseases in Free-Ranging Blonde Capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. *International Journal of Primatology*, 38, 1017-1031.

Carvalho, V. M., Gyles, C. L., Ziebell, K., Ribeiro, M. A., Catão-Dias, J. L., Senhorini, I. L. et al (2003). Characterization of Monkey Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and Human Typical and Atypical EPEC Serotype Isolates from Neotropical Nonhuman Primates. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(3), 1225-1234.

- Casagrande, R. A., Silva, T. C. E., Pescador, C. A., Borelli, V., Souza Jr., J. C., Souza, E. R. et al (2013). Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(1), 94-98.
- Casagrande, R. A., Pannuti, C. S., Kanamura, C., Freire, W. S., Grespan, A. & Matushima E. R. (2014). Fatal *Human herpesvirus 1* (HHV-1) infection in captive marmosets (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*) in Brazil: clinical and pathological characterization. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(11), 1109-1114.
- Chapman, C. A., Gillespie, T. R. & Goldberg, T. L. (2005). Primates and the ecology of their infectious diseases: how will anthropogenic change affect host-parasite interaction. *Evolutionary Anthropology*, 14, 134-144.
- Côrrea, P., Bueno, C., Soares, R., Vieira, F. M. & Muniz-Pereira, L. C. (2016). Checklist of helminths parasites of wild primates from Brazil. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 908-918.
- Dick Jr., E. J., Owston, M. A., David, J. M., Sharp, R. M., Rouse, S. & Hubbard, G. B. (2014). Mortality in Captive Baboons (*Papio* spp.): A 23 year study. *Journal of Medical Primatology*, 43(3), 169-196.
- Epiphanio, S., Sinhorini, I. L. & Catão-Dias J. L. (2003). Pathology of Toxoplasmosis in Captive New World Primates. *Journal of Comparative Pathology*, 129, 196-204.
- Estrada, A., Garber, P. A., Rylands, A. B., Roos, C., Fernandez-Duque, E. Di Fiore, A. et al (2017). Impending extinction crisis of the world's primates: why primates matter. *Science Advances*, 3, 1-16.
- Haddad, J. L., Dick Jr., E. J., Guardado-Mendoza, R. & Hubbard, G.B. (2009). Spontaneous Squamous Cell Carcinomas in 13 Baboons, a First Report in a Spider Monkey, and a Review of the Nonhuman Primate Literature. *Journal of Medical Primatology*, 38(3), 175-186.
- Hoffman, P., Kahnt, K., Matz-Rensing, K., Brack, M., Kaup, F-J. (2001). Three spontaneous lymphomas in a colony of cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Journal of Medical Primatology*, 30, 322-327.
- Jerusalinsky, L., Teixeira, F. Z., Lokschin, L.X., Alonso, A., Jardim, M.M.A., Cabral, J. N. H. et al (2010). Primatology in Southern Brazil: a transdisciplinary approach to the conservation of the brown-howler-monkey *Alouatta guariba clamitans* (Primates, Atelidae). *Iheringia Série Zoologia*, 100(4), 403-412.
- Koehnemsi, L., Gönül, R., Endogan, Ö., Sennazli, G., Uysal, A. (2012). Dilated cardiomyopathy in a spider monkey (*Ateles paniscus*). *Journal of Medical Primatology*, 41, 138-141.
- Laurence, H., Kumar, S., Owston, M. A., Lanford, R. E., Hubbard, G. B. & Dick Jr., E. J. (2017). Natural mortality and cause of death analysis of the captive chimpanzee (*Pan troglodytes*): A 35-year review. *Journal of Medical Primatology*, 46, 106-115.

- Lokschin, L. X., Printes, R. C., Cabral, J. N. H. & Buss, G. (2007). Power Lines and Howler Monkey conservation in Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Neotropical Primates*, 14(2), 76-80.
- Longa, C. S., Bruno, S. F., Pires, A. R., Romijn, P. C., Kimura, L. S. & Costa, C. H. C. (2011). Human Herpesvirus 1 in Wild Marmosets, Brazil, 2008. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 1308-1310.
- López, A. & Martinson, S. A. (2017). Respiratory system, mediastinum and pleura. In J.F. Zachary (Eds.). *Pathologic basis of veterinary diseases* 6th ed. (471-560). St. Louis: Elsevier.
- Mätz-Rensing, K., Jentsch, K. D., Rensing, S., Langenhuyzen, S., Verschoor, E. Niphuis, H. et al (2003). Fatal *Herpes simplex* infection in a group of Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). *Veterinary Pathology*, 40, 405-411.
- Mätz-Rensing, K., & Lowenstine, L. J. (2018). New World and Old World Monkeys. In K.A. Terio, D. McAloose & J. St.Leger, (Eds.) *Pathology of Wildlife and Zoo Animals* (pp. 343-374). San Diego: Academic Press.
- Miguel, M. P., Duarte, S. C., Santos, A. S., Matos, M. P. C. & Souza, M. A. (2013) Mortality of *Cebus apela* by *Molineus torulosus* parasitismo in midwestern Brazil. *Acta Scientiae Veterinae*, 41(1), 1-4.
- Miller, A.D. (2012) Neoplasia and Proliferative Disorders of Nonhuman Primates. In C.R. Abee, K. Mansfield, T. Morris (Eds.) *Nonhuman Primates in Biomedical Research Diseases* (pp. 325-356). San Diego: American Press.
- Milozzi, C., Bruno, G., Cundom, E., Mudry, M.D. & Navone, G.T. Intestinal parasites of *Alouatta caraya* (Primates, Ceboidea): preliminar study in semi-captivity and in the wild in Argentina. *Mastozoologia Neotropical*, 19(2), 271-278.
- Monticelli C. & Morais, L. H. (2015) Impactos antrópicos sobre uma população de *Alouatta clamitans* (Cabrera, 1940) em um fragmento de Mata Atlântica no Estado de São Paulo: apontamento de medidas mitigatórias. *Revista Biociências*, 21(1), 14-26.
- Moreno, E. S., Agostini, I., Holzmann, I., Bitetti, M. S., Oklander, L. I., Kowalewski, M. M. et al (2015). Yellow fever impacto n brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) in Argentina: a metamodelling approach based on population viability analysis and epidemiological dynamics. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(7), 865-876.
- Notarnicola, J., Pinto, C. M. & Navone, G.T. (2008) Host Ocurrence and Geographical Distribution of *Dipetalonema* spp. (Nematoda: Onchocercidae) in Neotropical Monkeys and the First Record of *Dipetalonema gracile* in Ecuador. *Comparative Pathology*, 75(1), 61-68.
- Pastor-Nieto R. (2015) Health and Welfare of Howler Monkeys in Captivity. In M. Kowalewski, P. Garber, L. Cortés-Ortiz, B. Urbani, D. Youlatos (Eds) *Howler*

Monkeys. *Developments in Primatology: Progress and Prospects* (pp. 314-356). New York: Springer.

Poolman, J. T. & Wacker, M. (2016) Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. *The Journal of Infectious Diseases*, 213, 6-13.

Rio Grande do Sul. Secretaria do Meio Ambiente. Portaria nº 79 de 31 de outubro de 2013. Reconhece a lista de Espécies Exóticas Invasoras do Estado do Rio Grande do Sul e demais classificações, estabelece normas de controle e dá outras providências. Porto Alegre, 31 de outubro 2013.

<http://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201706/28164322-exoticas-invasoras-versaodigital.pdf> Accessed 3 January 2019.

Rylands, A. B., Mittermeier, R. A., Silva Jr, J.S. (2012). Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. *International Zoo Yearbook*, 46, 11-24.

Souza, Jr. J. C., Goulart, J.A.G., Varnier, S., Denegri, G., Silva Filho, H.H., Hirano, Z. M. B. et al (2008) Bertiellosis in brazilian non-human primates: natural infection in *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) (Primates: Atelidae) in Santa Catarina state, Brazil. *Revista de Patologia Tropical*, 37(1), 48-56.

Stockinger, D. E., Fong, D. L., Vogel, K. W., Durning, W. M., Torrence, A. E., Rose, T. M. et al (2014). Oral Squamous Cell Carcinoma in a Pigtailed Macaque (*Macaca nemestrina*). *Comparative Medicine*, 64(3), 234-239.

Tolwani, R. J., Green, S. L., Tolwani, A. J., Lyons, D. M. & Schatzberg, A. F. (2000). Dilative cardiomyopathy leading to congestive heart failure in a male squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Journal of Medical Primatology*, 29, 42-45.

Trombulak, S. C. & Frissel C. A. (2000). Review of Ecological effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conservation Biology*, 14(1), 18-30.

Valdespino, C., Rico-Hernández, G. & Mandujano, S. (2010) gastrointestinal Parasites of Howler Monkeys (*Alouatta palliata*) Inhabiting the Fragmented Landscape of the Santa Marta Mountain Range, Veracruz, Mexico. *American Journal of Primatology*, 72, 539-548.

Vanstreels, R. E. T., Teixeira, R. H. F., Camargo, L. C., Nunes, A. L. V., Braga, F. R., Nali, C. et al (2011). Revisão das causas de mortalidade de primatas neotropicais (Primates: Platyrrhini) no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (Sorocaba, SP), 1996-2006. *Clínica Veterinária*, 90, 46-52.

Verona, C. E., & Pissinatti, A. (2014). Primates–Primatas do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In Z.S. Cubas, J.C.R. Silva & J.L. Catão-Dias (Eds.) *Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária*. 2nd ed. (723-743). São Paulo: Roca.

Tabela 1. Diagnóstico de doenças infecciosas em primatas neotropicais no Sul do Brasil no período de 2000 a 2018.

Doenças não infecciosas	Nº de casos		Nº total de casos
	Vida Livre	Cativeiro	
Trauma			
Traumatismo	45	5	50
Choque elétrico	13	-	13
Neoplasia			
Carcinoma de células escamosas oral	-	1	1
Linfoma intestinal	1	-	1
Outros			
Insuficiência cardíaca	1	1	2
Degeneração e necrose hepática de causa não determinada	1	-	1
Total	61	7	68

Tabela 2. Diagnóstico de doenças infecciosas em primatas neotropicais no sul do Brasil no período de 2000 a 2018.

Doenças infecciosas	Nº de casos		Nº total de casos
	Vida Livre	Cativeiro	
Bacterianas			
Pneumonia supurativa	5	4	9
Septicemia	-	8	8
Enterite/colite	1	4	5
Pericardite e endocardite valvular	1	1	2
Tuberculose	-	2	2
Leptospirose	1	-	1
Parasitárias			
Toxoplasmose	3	6	9
Helmintose	3	3	6
Virais			
Infecção por <i>Herpesvirus simplex</i>	-	1	1
Infecção pelo vírus da febre amarela	1	-	1
Total	15	29	44

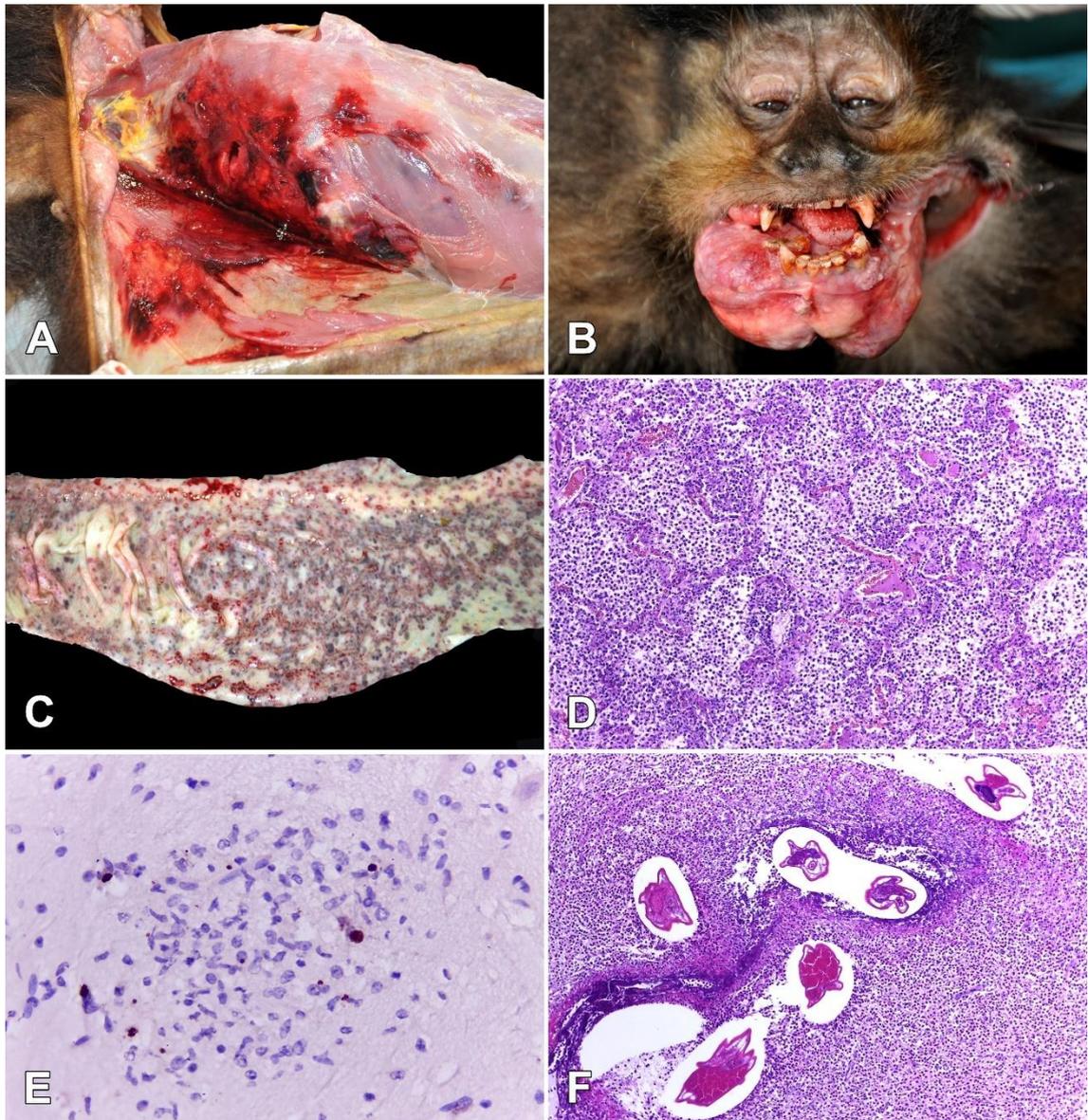


Figura 1. Causas de morte em primatas neotropicais. **A)** Politraumatismo corto contundente por provável ataque de cães em um bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) de vida livre. **B)** Carcinoma de células escamosas oral em um macaco-prego (*Sapajus nigritus*) de cativo. **C)** Colite bacteriana em um bugio-ruivo (*A. guariba clamitans*) de cativo. **D)** Pneumonia supurativa bacteriana em um bugio-ruivo (*A. guariba clamitans*) de cativo. HE, 200x. **E)** Toxoplasmose, marcação de taquizoítos em encéfalo de um bugio-ruivo (*A. guariba clamitans*) de cativo. IHQ, 400x. **F)** Enterite granulomatosa parasitária, em um macaco-prego (*S. nigritus*) de cativo, visualização de nematódeos compatíveis com *Molineus* sp. HE, 400x.

3 ARTIGO 2

Nesse item é apresentado o relato de caso intitulado “Pneumonia e linfadenite por *Mycobacterium tuberculosis* em dois macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) cativos no Brasil”, o qual foi redigido segundo as normas do periódico *Journal of Medical Primatology* para ser submetido após as correções da banca.

Infecção por *Mycobacterium tuberculosis* em dois macacos-pregos (*Sapajus nigrilus*) cativos no Brasil

Mycobacterium infection in two *Sapajus nigrilus*

Luiza Presser Ehlers¹, Matheus Viezzer Bianchi¹, Fernando Froner Argenta¹, Bruna Correa Lopes¹, Paula Augusto Taunde¹, Paulo Guilherme Carniel Wagner², Saulo Petinatti Pavarini¹, David Driemeier¹, Fabiana Quoos Mayer³, Franciele Maboni Siqueira⁴, Luciana Sonne¹

¹ Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. 91540-000

² Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e do Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90050-250

³ Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação, Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, 92990-000

⁴ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. 91540-000

Correspondence: Luiza P. Ehlers. Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. 91540-000. E-mail: lu.ehlers@hotmail.com

Agradecimentos

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por apoiar esse estudo.

Agradecemos à técnica Cíntia de Lorenzo por realizar os exames de imunohistoquímica no presente estudo.

Resumo

A tuberculose é uma zoonose que pode acometer primatas não humanos e frequentemente relata-se maior suscetibilidade em primatas do Velho Mundo com poucos relatos em primatas do Novo Mundo. Este trabalho tem como objetivo descrever dois casos de tuberculose causado por *M. tuberculosis* em dois *Sapajus nigritus* de cativeiro no Sul do Brasil. Os primatas viviam no mesmo recinto, o qual permitia contato próximo de humanos. Vieram a óbito e apresentaram pneumonia e linfadenite granulomatosa. *M. tuberculosis* foi identificado através de achados patológicos, bacteriológicos e moleculares.

Palavras-chave: tuberculose, primatas do Novo Mundo, pneumonia granulomatosa.

1. Introdução

A tuberculose é uma doença altamente frequente em humanos e animais causada pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), o qual compreende diversas espécies, como *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti* e *M. microti*. A condição tem alta incidência no Brasil, sendo uma das principais causas de morte em humanos no local e mundialmente.¹ É uma zoonose, e, dessa forma, pode infectar primatas não humanos (PNH), nos quais pode resultar em doença pulmonar progressiva.² A infecção em símios é frequentemente causada por *M. tuberculosis*, *M.*

bovis e *M. africanum*.^{3,4,5,6} Todavia, a suscetibilidade de PNH à tuberculose pode variar, visto que primatas do Velho Mundo são aparentemente mais suscetíveis à condição.⁷

Ainda há poucos relatos em primatas neotropicais, o objetivo deste trabalho é descrever os aspectos epidemiológicos, patológicos, microbiológicos e moleculares da infecção por *M. tuberculosis* em dois macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) no Sul do Brasil.

2. Relato de caso

Dois macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) eram mantidos em cativeiro em uma praça na cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil (32°04'54.00"S, 52°09'48.00"W). Esses primatas viviam no mesmo recinto, o qual apresentava-se em condições insalubres e permitia contato próximos de humanos. Havia histórico de outro macaco-prego que vivia no mesmo recinto desses primatas, o qual apresentou quadro agônico de dispneia antes de vir a óbito. Os dois macacos-pregos (macaco 1 e macaco 2) foram recolhidos e encaminhados para tratamento a um centro de triagem de animais silvestres. Ambos eram machos e com idade acima de 10 anos. Eles apresentavam inapetência progressiva, apatia e o macaco 2 também apresentou um quadro de dispneia. Os primatas vieram a óbito, em 15 dias (macaco 1) e dois meses após a internação (macaco 2) e foram encaminhados à necropsia.

Ao exame externo, os primatas exibiam condição corporal ruim, enoftalmia acentuada (desidratação) e mucosas orais pálidas. Havia ainda moderada quantidade de secreção catarral nasal amarelada de forma unilateral no macaco 1 (Figura 1A). O envolvimento pulmonar exibiu dois padrões: o macaco 1 apresentava áreas multifocais nodulares amareladas firmes, medindo 0,5 a 2 cm de diâmetro envolvendo múltiplos lobos pulmonares de forma moderada com discreto aumento de tamanho dos pulmões

(Figura 1B); o macaco 2 apresentava pulmões acentuadamente aumentados de tamanho, não colabados, com áreas multifocais de aderência entre a pleura visceral e parietal, e substituição quase total do parênquima por áreas multifocais a coalescentes nodulares amareladas firmes, de superfície irregular, que mediam de 0,3 a 3 cm de diâmetro (Figura 1C). Ao corte, essas áreas apresentavam áreas centrais de aspecto friável, caseoso e levemente esverdeado. Os linfonodos traqueobrônquicos e mediastínicos nos dois macacos estavam acentuadamente aumentados de tamanho, firmes a duros, e ao corte, exibiam coloração amarelada, aspecto caseoso e rangiam ao corte. O macaco 1 exibiu ainda acentuado aumento de linfonodos mesentéricos, os quais estavam amarelados, com consistência firme, medindo 1 cm de diâmetro (Figura 1D). O macaco 2 apresentava área nodular focal de coloração amarelada no pâncreas.

Fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em solução tamponada neutra de formalina a 10%, processados de forma rotineira para histologia, incluídos em parafina, cortados a 3 µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Fragmentos refrigerados de pulmão e linfonodos de ambos macacos foram submetidas ao cultivo microbiológico. O processamento de descontaminação das amostras foi realizado pelo Método de Petroff, e as mesmas foram inoculadas em meios de cultura Stonebrink-Leslie e Löwenstein-Jensen.⁸ As amostras foram incubadas a 37 °C por 60 dias. Uma vez que colônias suspeitas foram observadas, realizou-se a extração de DNA pelo método descrito por Van Soolingen et al. (1991) com adaptações descritas por Maciel et al. (2018), com quantificação por espectrofotometria de microvolumes. Foi realizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual é possível realizar a diferenciação, através da presença ou ausência, das regiões de diferenciação do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, RD4, RD9, RD12 e RD1^{mic}.¹¹

Microscopicamente, o parênquima pulmonar de ambos macacos estava parcialmente substituído por áreas multifocais a coalescentes de necrose caseosa caracterizadas por intenso debris necrótico granular eosinofílico, os quais estão circundados por intenso infiltrado inflamatório composto por macrófagos epitelioides e neutrófilos degenerados, além de raras células gigantes multinucleadas (granuloma caseoso) (Figura 2A). Frequentemente, esse infiltrado preenchia os espaços alveolares adjacentes de forma difusa, assim como, essas áreas apresentavam-se envoltas por infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos, além de discreta proliferação de tecido conjuntivo fibroso. Os linfonodos traqueobrônquicos e mediastínicos de ambos os macacos, além do linfonodo mesentérico do macaco 1, apresentavam perda da arquitetura nodal por áreas multifocais a coalescentes de intensa necrose caseosa associada infiltrado inflamatório de macrófagos epitelioides, e células gigantes multinucleadas de Langhans. Por vezes observou-se ainda nos pulmões e linfonodos, áreas multifocais com moderado infiltrado de macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos e discreto de neutrófilos e raras células gigantes multinucleadas de Langhans (granuloma não necrótico) (Figura 2B). No macaco 2, visualizou-se no pâncreas, área nodular focal caracterizada por infiltrado de linfócitos, plasmócitos, macrófagos epitelioides e neutrófilos íntegros e degenerados, além de ocasionais células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho e tipo Langhans.

Secções de linfonodos e pulmões de ambos macacos-prego foram selecionados e submetidos à técnica de histoquímica de Ziehl-Neelsen (ZN) para a identificação de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), além de submetidos à técnica de imuno-histoquímica (IHQ). A técnica de IHQ foi realizada através do método de polímero universal ligado à peroxidase. Os cortes foram incubados com o anticorpo policlonal anti-*M. tuberculosis* (Gene Tex®, diluição 1:200, incubação overnight a 4°C). Utilizou-

se como método de detecção MACH 4 (Universal HRP-Polymer, Biocare Medical) e o cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol (AEC, Dako). Ao exame histoquímico de ZN, múltiplos bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) foram evidenciados no interior de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas de forma discreta no macaco 1 e acentuada no macaco 2 (Figura 2C). No exame IHQ anti-*M. tuberculosis*, visualizou-se intensa imunomarcção intracitoplasmática em macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas de ambos os macacos (Figura 2D).

No cultivo microbiológico houve crescimento de colônias compatíveis com o complexo *M. tuberculosis* em ambas amostras analisadas. Através da técnica de PCR os isolados foram identificados em nível de espécie como *M. tuberculosis* devido à ausência de regiões de diferenciação RD1^{mic} e presença de RD4, RD9 e RD12.

3. Discussão

O diagnóstico de tuberculose nos dois *S. nigritus* do presente surto foi obtido através da associação dos achados epidemiológicos, patológicos, imuno-histoquímicos, microbiológicos e moleculares. A tuberculose é condição endêmica no Brasil, o qual figura globalmente entre os 30 países com maior frequência da doença em humanos.¹ A ocorrência de tuberculose em PNH de vida livre é incomum; todavia, em PNH de cativeiro, o contato com humanos favorece a ocorrência da doença, sendo essa uma das principais doenças infecciosas diagnosticadas nesses primatas.^{3,6,12,13} Relatos de tuberculose em primatas do Velho Mundo são frequentes,^{2,3,7,12} enquanto que em primatas do Novo Mundo ainda são escassos.^{6,13} Sugere-se que a maior frequência de tuberculose em PNH esteja relacionada a locais com maior ocorrência de tuberculose em humanos,^{2,12,14} assim como na região do presente estudo.

Estudos prévios têm demonstrado que PNH são mais suscetíveis à infecção por *Mycobacterium tuberculosis* dentre diversas espécies de animais de cativeiro.^{2,3,7} Sabe-se ainda que primatas do Velho Mundo são mais suscetíveis a infecção do que primatas do Novo Mundo,¹⁵ todavia no presente estudo *S. nigritus* foram suscetíveis à condição e, por fim, sucumbiram à mesma, vindo a óbito. Reforçando essa teoria, estudos recentes têm demonstrado uma maior suscetibilidade à tuberculose em primatas neotropicais (Novo Mundo), especialmente envolvendo *Ateles* spp., *Cebus* spp. e *Saimiri* spp.^{4,13}

M. tuberculosis acomete principalmente humanos a qual é facilmente transmitida para PNH, o que a caracteriza com uma zooantroponose.² Em nosso estudo sugere-se que a fonte de transmissão de *M. tuberculosis* para os macacos-pregos tenha ocorrido por humanos, uma vez que eles viviam em um recinto com contato próximo desses.² A transmissão de *M. tuberculosis* ocorre principalmente por via inalação de aerossol, no entanto embora rara, pode ocorrer por ingestão também.² A transmissão aerógena ocorre através de humanos ou animais com infecção ativa. Acredita-se que nesse relato a transmissão de ambos macacos foi através da via aerógena, uma vez que as principais lesões encontradas localizavam-se nos pulmões e linfonodos traqueobrônquicos.³

A tuberculose é uma doença com progressão lenta, com isso os sinais clínicos são inespecíficos ou podem estar ausentes no início da doença.⁵ Por vezes a anorexia é o primeiro sinal clínico observado, associada a esta há redução de peso do animal,^{15,16} de forma similar ao que foi encontrado no presente relato. A tosse é frequentemente relatada quando os lobos pulmonares estão acometidos.^{5,15} Todavia nesse estudo apenas o macaco 2 apresentou sinal respiratório, acredita-se que seja devido ao maior comprometimento pulmonar deste.

Em PNH, a tuberculose é uma doença progressiva altamente contagiosa e com elevada mortalidade,¹⁵ semelhante ao observado no presente estudo em que dois *S. nigrinus* de um total de três animais sabidamente vieram a óbito devido a esta condição. Os achados macroscópicos e microscópicos desse relato foram semelhantes aos descritos anteriormente,^{12,14,16} predominantemente envolvendo os pulmões. Todavia, observou-se dois padrões de lesões, acredita-se que essa diferença possivelmente ocorreu devido ao curso clínico mais longo no macaco 2, visto que o envolvimento de mais de um lobo pulmonar e a disseminação para tecidos extrapulmonares está relacionada com o desenvolvimento crônico ativo da doença.¹⁷ Assim como os pulmões, os linfonodos traqueobrônquicos e mediastínicos são frequentemente acometidos na condição,¹⁴ similarmente ao observado no presente estudo em que a inflamação granulomatosa obliterava o parênquima nodal. Além disso, observou-se também disseminação das lesões granulomatosas para o pâncreas e linfonodos mesentéricos, o que possivelmente está relacionado ao estágio avançado da condição.¹⁴

Em macacos uma variedade de tipos de resposta granulomatosa pode ser observada através do exame microscópico, as quais estão relacionadas com a duração e extensão da doença.^{12,17} No presente estudo, os pulmões exibiam áreas multifocais a coalescentes com formação de granulomas caseosos característicos da tuberculose.¹⁷ Além dessa forma, granulomas não necróticos, com infiltrado de macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos e raros neutrófilos degenerados e células gigantes multinucleadas, foram visualizados em pulmões e linfonodos, esse tipo de apresentação ocorre exclusivamente em casos de tuberculose ativa.¹⁷ Por vezes, determinados granulomas localizados nos pulmões apresentavam-se envoltos por discreta proliferação de tecido conjuntivo fibroso. A formação de cápsula fibrosa em lesões granulomatosas de PNH, embora seja um achado infrequente, está associada com a forma latente da

tuberculose.^{15,17} Todavia há situações em que se pode observar em um mesmo primata tanto a forma ativa e latente da tuberculose, o que representaria um processo crônico ativo da doença,¹⁶ de forma similar ao evidenciado nos macacos-pregos deste relato. No presente estudo, os bacilos álcool-ácidos resistentes foram observados predominantemente no interior do citoplasma de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas.⁵ BAAR podem ser observados tanto de forma intra ou extracelular, no entanto a quantidade destes pode variar consideravelmente,^{12,18} assim como observado no presente estudo em que o macaco 1 exibia lesões macroscópicas mais discretas associadas a uma menor quantidade de BAAR, enquanto o macaco 2 exibia lesões mais severas e maior quantidade de BAAR.

Ainda que menos frequente, *Mycobacterium bovis* pode causar tuberculose em PNH.^{14,15} Da mesma maneira que em humanos, as doenças causadas por *M. bovis* ou por *M. tuberculosis* apresentam alterações clínicas e patológicas indistinguíveis.¹⁹ Assim como no presente relato, a realização de cultivos microbiológicos e métodos moleculares são necessários para o diagnóstico conclusivo.¹⁵

Embora haja divergências sobre a suscetibilidades em primatas do Novo Mundo, a tuberculose demonstrou ser uma doença progressiva altamente contagiosa e com elevada mortalidade em *Sapajus nigritus*, a qual envolve predominantemente os pulmões, linfonodos mediastínicos e traqueobrônquicos, e podendo se disseminar aos demais órgãos. Os exames de Ziehl-Neelsen e IHQ associados a identificação do agente por métodos moleculares e microbiológicos são fundamentais para estabelecer o diagnóstico preciso da condição. Medidas preventivas devem ser tomadas para evitar novos casos de zoonose em PNH no Brasil.

4. Referências

1. World Health Organization (2018) Global Tuberculosis Report.
https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/. Accessed January 3, 2019.
2. Gong W, Yang Y, Li N, et al. An alert of *Mycobacterium tuberculosis* infection of rhesus macaques in a wild zoo in China. *Exp Animal*. 2017; 66(4):357-365.
3. Hines ME, Kreeger JM & Herron AJ. Mycobacterial Infections of Animals: Pathology and Pathogenesis. *Lab Anim Sci*. 1995; 45(4):334-350.
4. Alfonso R, Romero RE, Diaz A, et al. Isolation and identification of mycobacteria in New World primates maintained in captivity. *Vet Microbiol*. 2004;98:285-295.
5. Garcia MA, Bouley DM, Larson MJ, et al. Outbreak of *Mycobacterium bovis* in a conditioned colony of Rhesus (*Macaca mulatta*) and Cynomolgus (*Macaca fascicularis*) macaques. *Comparative Med*. 2004;54(5):578-584.
6. Rocha VCM, Ikuta CY, Gomes MS, Quaglia F, Matushima ER & Neto JSF. Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from captive *Ateles paniscus*. *Vector-Borne Zoonot*. 2011;11(5):593-594.
7. Montali RJ, Mikota SK & Cheng LI. *Mycobacterium tuberculosis* in zoo and wildlife species. *Rev sci tech Off int Epiz*. 2001;20(1):291-303.

8. de Kantor IN, Kim SJ, Frieden TR et al. Laboratory services in tuberculosis control. Organization and management. Part III Culture. *World Health Organization*. 1998; WHO/TB/98.258.
9. Van Soolingen D, Hermans PW, De Haas PE, Soll DR & Van Embden JD. Occurrence and Stability of Insertion Sequences in *Mycobacterium tuberculosis* Complex Strains: Evaluation of an Insertion Sequence-Dependent DNA Polymorphism as a Tool in the Epidemiology of Tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 1991; 29(11): 2578-2586.
10. Maciel ALG, Loiko MR, Bueno TS et al. Tuberculosis in Southern Brazilian wild boars (*Sus scrofa*): First epidemiological findings. *Transbound Emerg Dis*. 2018; 65(2): 518-526.
11. Warren RM, Pittius NCG, Barnard M et al. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex by PCR amplification of genomic regions of difference. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006; 10(7): 818-822.
12. Mätz-Rensing K, Hartman T, Wendel GM, et al. Outbreak of tuberculosis in a colony of Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) after possible indirect contact with a human TB patient. *J Comp Path*. 2015;153:81-91.
13. Rosenbaum M, Mendoza P, Ghersi BM, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in new world monkeys in Peru. *EcoHealth*. 2015;12:288-297.

14. Simmons J & Gibson S. Bacterial and mycotic diseases of nonhuman primates. In: Abee CR, Mansfield K, Tardif S, Morris T, eds. *Nonhuman Primates in Biomedical Research Diseases*. San Diego: American Press; 2012:112-116.
15. Mätz-Rensing K & Lowenstine LJ. New World and Old World Monkeys. In: Terio KA, McAloose D & St.Leger J, eds. *Pathology of Wildlife and Zoo Animals*. San Diego: Academic Press; 2018: 343-374.
16. Lin PL & Flynn JL. Tuberculosis research using nonhuman primates. In: Abee CR, Mansfield K, Morris T, eds. *Nonhuman Primates in Biomedical Research*. San Diengo: American Press; 2012: 173-196.
17. Lin PL, Rodgers M, Smith L, et al. Quantitative comparison of active and latent tuberculosis in the *Cynomolgus macaque* model. *Infect Immun*. 2009;77(10): 4631-4642.
18. Zhang J, Xian Q, Guo M, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Erdman infection of rhesus macaques of Chinese origin. *Tuberculosis*. 2014;94: 634-643.
19. Hasselschwert DL & Ostrowski SR. An atypical case of *Mycobacterium bovis* in a *Cynomolgus macaque (Macaca fascicularis)* imported from the Philippines. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 1999;38(6): 36-38.

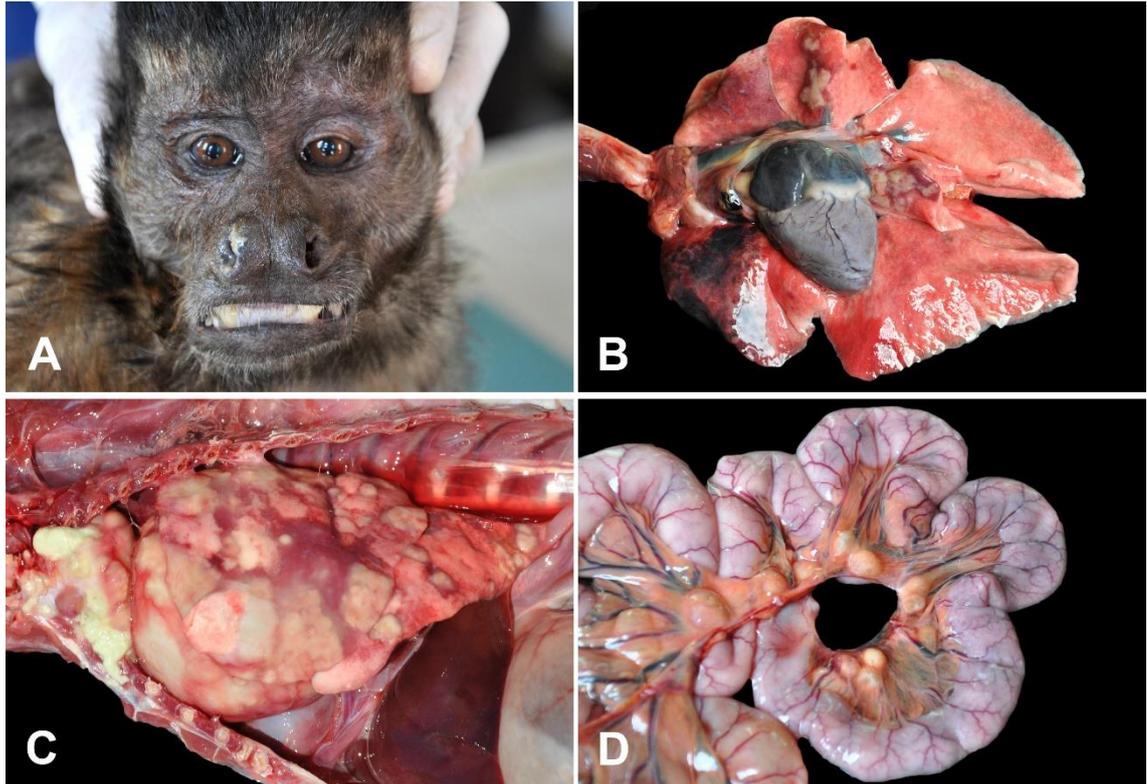


Figura 1. Tuberculose em *Sapajus nigritus* cativos. A) Secreção catarral nasal amarelada unilateral no macaco 1. **B)** Parênquima pulmonar macaco 1, áreas multifocais nodulares amareladas, variando de 0,5 a 2 cm de diâmetro, com discreto aumento de tamanho dos pulmões. **C)** Parênquima pulmonar macaco 2, substituição quase total do parênquima por áreas multifocais a coalescentes nodulares amareladas com superfícies irregulares, variando de 0,3 a 3 cm de diâmetro, com áreas multifocais de aderência entre a pleura visceral e parietal e acentuado aumento de tamanho dos pulmões. **D)** Linfonodos mesentéricos do macaco 1, acentuado aumento de tamanho, coloração amarelada e mediam aproximadamente 1 cm de diâmetro.

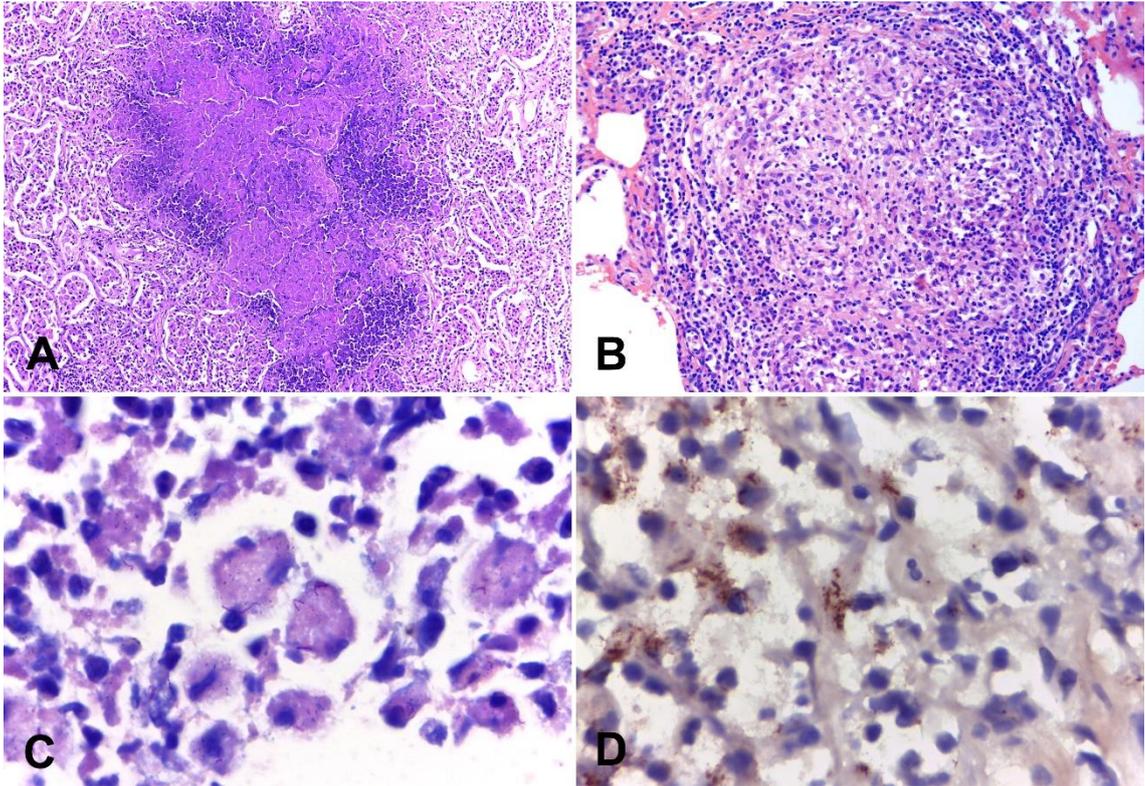


Figura 2. Aspectos microscópicos da tuberculose em *Sapajus nigritus* cativos. A) Pulmão, granuloma caseoso, intensa área de necrose caseosa circundada por infiltrado de macrófagos epitelioides, neutrófilos degenerados e raras células multinucleadas. HE, 100x. **B)** Pulmão, granuloma não necrótico, acentuado infiltrado de macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. HE, 200x. **C)** Evidenciação de bacilos álcool-ácido resistentes no interior de macrófagos epitelioides. Técnica de histoquímica de Ziehl-Neelsen, 1000x. **D)** Intensa imunomarcação intracitoplasmática em macrófagos epitelioides na IHQ de *M. tuberculosis*. 1000x.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças não infecciosas representaram a maior causa de morte em bugios-ruivos, bugios-pretos, macacos pregos e saguis que foram encaminhados a necropsia.

Primatas de vida livre foram mais afetados por causas de morte não infecciosas, enquanto que, primatas de cativeiro foram mais frequentes em causas de morte infecciosas.

Traumas, como politraumatismos e choques elétricos, foram as principais causas de morte em primatas neotropicais no estudo. Entre as doenças infecciosas, destacam-se as doenças bacterianas, como pneumonias, septicemias e enterites/colites, e doenças parasitárias, como toxoplasmose e helmintose. Doenças virais e neoplásicas foram menos comuns no presente estudo.

M. tuberculosis foi responsável por causar infecção em dois *S. nigritus* de cativeiro, nos quais a condição apresentou ser grave e com alta mortalidade, envolvendo predominantemente os pulmões e linfonodos adjacentes, mas também podendo se disseminar aos demais órgãos como pâncreas e linfonodos mesentéricos. A visualização do agente através da marcação de Ziehl-Neelsen e imuno-histoquímica bem como a detecção e caracterização molecular do agente foi de extrema importância para determinar uma possível fonte de infecção.

Levantamentos de causa de morte em primatas neotropicais são de grande importância pois visam esclarecer e auxiliar na manutenção e conservação de espécies de primatas e no cuidado da saúde pública, assim como estimar o efeito das ações antrópicas sobre as espécies de PNH.

REFERÊNCIAS

- ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; DIAS, P. A. D. Effects of Habitat Fragmentation and Disturbance on Howler Monkeys: A Review. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 1-16, 2010.
- BUENO, M. G. *et al.* Infectious Diseases in Free-Ranging Blonde Capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. **International Journal of Primatology**, v. 38, p. 1017-1031, 2017.
- ESTRADA, A. *et al.* Impending extinction crisis of the world's primates: why primates matter. **Science Advances**, v. 3, p. 1-16, 2017.
- GONG, W. *et al.* An alert of *Mycobacterium tuberculosis* infection of rhesus macaques in a wild zoo in China. **Experimental Animals**, v. 66, n. 4, p. 357-365, 2017.
- JERUSALINSKY, L. *et al.* Primatology in Southern Brazil: a transdisciplinary approach to the conservation of the brown-howler-monkey *Alouatta guariba clamitans* (Primates, Atelidae). **Iheringia Série Zoologia**, v. 100, n. 4, p. 403-412, 2010.
- JONES, K. E. *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, p. 990-994, 2008.
- PASTOR-NIETO, R. Health and Welfare of Howler Monkeys in Captivity. In: KOWALEWSKI, M.; GARBER, P.; CORTÉS-ORTIZ, L.; URBANI, B.; YOULATOS, D. (Eds) **Howler Monkeys, Developments in Primatology: Progress and Prospects**. New York: Springer, 2015, cap. 12, p. 314-356.
- RIO GRANDE DO SUL. Secretaria do Meio Ambiente. **Portaria nº 79 de 31 de outubro de 2013**. Reconhece a lista de Espécies Exóticas Invasoras do Estado do Rio Grande do Sul e demais classificações, estabelece normas de controle e dá outras providências. Porto Alegre, 31 de outubro 2013. 16p. Disponível em: <http://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201706/28164322-exoticas-invasoras-versaodigital.pdf>
- RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A.; SILVA JR, J.S. Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. **International Zoo Yearbook**, v. 46, p. 11-24, 2012.
- VANSTREELS, R. E. T. *et al.* Revisão das causas de mortalidade de primatas neotropicais (Primates: Platyrrhini) no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (Sorocaba, SP), 1996-2006. **Clínica Veterinária**, v. 90, p. 46-52, 2011.
- VERONA, C. E.; PISSINATTI, A. Primates–Primates do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In: Cubas, Z.S.; Silva, J.C.R.; Catão-Dias, J.L. (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014, v. 1, cap. 34, p. 723-743.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Tuberculosis Report, 2018. Disponível em: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/