



Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental.
Universidade Federal Rural da Amazônia

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Sandra de Mamedes Costa

**FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. E
Trypanosoma cruzi EM PRIMATAS NEOTROPICAIS
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

Belém
2010

Sandra de Mamedes Costa

**FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. E
Trypanosoma cruzi EM PRIMATAS NEOTROPICAIS
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção de grau de mestre em
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural.
Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural
da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador Prof^o. Hilma Lúcia Tavares dias

**Belém
2010**

Sandra de Mamedes Costa

**FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. E
Trypanosoma cruzi EM PRIMATAS NEOTROPICAIS
MANTIDOS EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção de grau de mestre em
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural.
Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural
da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

Data da aprovação. Belém – PA: 25/06/2009

BANCA EXAMINADORA:

Profª. Dra: Hilma Lúcia Tavares Dias
Universidade Federal do Pará- UFPA

Prof. Dr.: Hélio Langoni
Universidade Estadual Paulista-UNESP

Profª Dra.: Alessandra Scofield Amaral
Universidade Federal do Pará-UFPA

Ao meu querido filho, Arthur, por ser tão amável e por ter chegado nessa época tão importante de minha vida.

Ao meu esposo, Peterson de Almeida Costa, pelo apoio e dedicação incondicional.

Aos meus pais Damião e Orlandina, pela força e apoio dedicados a mim e ao meu filho contribuindo para eu finalizar o curso de mestrado.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado a oportunidade de viver cada minuto de minha vida e poder correr atrás de meus objetivos.

Aos meus pais Damião Carlos de Mamedes e Orlandina Carneiro de Mamedes, por serem tão prestativos a mim e ao meu filho.

À Universidade Federal do Pará e ao Centro de Ciência Animal pela oportunidade de está concluindo mais uma etapa acadêmica.

À Dra. Sheyla Farhayldes Souza Domingues, coordenadora do programa de Pós-graduação, pela competência e incentivo no decorrer do curso.

À minha Orientadora Profª. Dra Hilma Lúcia Tavares Dias pela orientação e paciência.

À bibliotecária Vera Fadul pelo apoio indispensável na preparação de minha dissertação.

Ao Centro Nacional de Primatas - CENP e ao seu diretor Carlos Faro por ter me concedido a oportunidade de realizar minha pesquisa.

Aos Veterinários do CENP, José Augusto P. C. Muniz e Paulo Castro pelo apoio no desenvolvimento de minha pesquisa.

Aos funcionários do CENP João Bosco, Enock Mello, Miguel Alfredo S. Costa, José Hermenegildo Vianna e Laura Soares pelo apoio e incentivo no desenvolvimento de minha pesquisa.

À professora Dr^a Maristela G. da Cunha e ao seu aluno Thiago Medina do Centro de Ciência Biológicas da UFPA pelo apoio no processamento das amostras.

Ao Dr. Hélio Langoni e a Profª. Dra. Alessandra Scofield Amaral por terem aceitado em participar como membros de minha banca e contribuir com meu trabalho.

À todos os meus amigos do Laboratório LIDEA, especialmente Israel Guedes e Alice Lima, pelo apoio e incentivo.

“Não podemos viver sem esperança. Precisamos ter algum propósito na vida, algum significado para nossa existência. Temos de aspirar a alguma coisa. Sem esperança, começamos a morrer.”

João Paulo II

RESUMO

Faz um levantamento sorológico para anticorpos contra *Leptospira* spp e *Trypanosoma cruzi* em primatas neotropicais mantidos em cativeiro. Amostras de 94 primatas neotropicais adultos, machos e fêmeas de diferentes espécies pertencentes ao criatório do Centro Nacional de Primatas (CENP)-Ananindeua-PA, coletadas para a realização da Soroaglutinação Microscópica (SAM), na qual foram utilizadas 84 amostras sorológicas, em que 35 (41,67%) apresentaram anticorpos contra leptospira e 49 (58,33%) foram soronegativas. De 11 espécies utilizadas na pesquisa, as maiores positivities estavam nas espécies de *Cebus apella* 69,23% (9/13), *Aotus infulatus* 33,33% (5/15), *Callithrix penicillata* 28,57% (4/14) e *Saimiri sciureus* 22,73 (5/22). De 35 amostras positivas, 11 (31,42%) reagiram contra o sorovar Cynopteri, oito (22,85%) foram reagentes para Andamana, seis (17,14%) contra o sorovar Hebdomadis, quatro (11,42%) para Copenhageni, três (8,57%) contra o sorovar Patoc, duas (5,71%) para o sorovar Cuíca, e o restante reagiram para pelo menos um sorovar (2,85%) sorovar Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Grippytyphosa e Autumnalis. Para detecção de anticorpos contra o *T. cruzi*, foram utilizadas 94 amostras sorológicas de primatas neotropicais. As amostras de cada animal foram submetidas aos exames sorológicos de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA). Das amostras avaliadas pela HAI, apenas uma fêmea da espécie *Saguinus niger* revelou resultado positivo, porém todas as amostras revelaram resultado negativo quando submetidas ao ELISA-recombinante. Com relação aos parâmetros hematológicos e bioquímicos não foram observadas alterações que indicassem uma possível infecção. Conclui-se que a ocorrência de anticorpos contra as leptospirosas nas espécies de primatas foi alta, mesmo não apresentando sintomas, e todos os parâmetros hematológicos e bioquímicos estarem normais indicando que apesar destes animais encontrarem-se em cativeiro, possivelmente tiveram contato em vida livre com a bactéria e a infecção pode estar sendo mantida entre eles e casos de leptospirose e doença de Chagas em primatas neotropicais são raros, porém deve-se lembrar que os mesmos atuam como reservatórios de *Leptospira* spp e *Trypanosoma cruzi* no ambiente silvestre.

Palavras chaves: *Leptospira* spp, *Trypanosoma cruzi*, Primatas de cativeiro.

ABSTRACT

Make a serological survey for antibodies against *Leptospira spp* and *Trypanosome cruzi* in Neotropical primates kept in captivity. 94 samples of neotropical primates adults, males and females of different species kept in captivity in the Primates National Center - Ananindeua-PA, collected for the accomplishment of the Microscopic Agglutination Test (MAT), in the which was used 84 serum samples, of which 35 (41.67%) presented antibodies against leptospira and 49 (58.33%) were seronegative. From 11 species used in research, the highest positivity was in the species of *Cebus apella* (69.23%), *Aotus infulatus* (33.33%), *Callithrix penicillata* (28.57%) and *Saimiri sciureus* (22.73%). From 35 positive samples, 11 (31.42%) reacted against serovar Cynopteri, eight (22.85%) were reagents for Andaman, six (17.14%) against serovar Hebdomadis, four (11.42%) for Copenhagen, three (8.57%) against serovar Patoc, two (5.71%) to serovar Cuíca, and the remainder responded to at least one serovar (2.85%) serovar Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Grippytyphosa and Autumnalis. To detect the anticorpos against *T. cruzi*, were used 94 samples of neotropical primates. The samples of each animal were submitted to the Indirect Hemagglutination (IHA) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Of samples avaluated by IHA, only one female from the specie *Saguinus niger* showed result positive, but, all samples showed result negative when avaluated by ELISA. In relation to hematological and biochemical parametes, were not observed alterations that indicated a possible infection. It is concluded that the occurrence of antibodies against leptospire in species of primates was relatively high, even showing symptoms, and all hematological and biochemical parameters were normal indicating that although these animals find themselves in captivity, possibly had contact in the wild life with the bacterium, and the infection may be maintained between them and cases of leptospirosis e Chaga's disease in neotropical primates are rares, but we should remember that they act with reservoir of *Leptospira spp* and *Tripanosma cruzi* at wild environment.

Key-words: *Leptospira spp*, *Trypanosoma cruzi*, Captive primates.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		p.
Figura 1 -	Imagem do Centro Nacional de Primatas (CENP), localizado em Ananindeua-Pa.....	38
Quadro 1 -	Relação das variantes sorológicas (sorovares) de <i>Leptospira</i> spp. utilizadas como antígeno na reação de soroaglutinação microscópica (SAM).....	44
Figura 2 -	Percentual de soropositividade e soronegatividade das 84 amostras submetidas a SAM.....	49
Figura 3 -	Figura 3 – Percentual para cada sorovar identificado nas amostras sorológicas dos primatas neotropicais avaliados.....	53
Figura 4 -	Figura 4 – Frequência de amostras negativas e positivas para anticorpos anti-leptospira, obtidas pela SAM de acordo com o sexo.....	54
Figura 5 -	Figura 5 – Demonstra o percentual das amostras positivas para anticorpos anti-leptospira na titulação 100 e 200.....	56
Figura 6 -	Figura 6 – Demonstração da reação de Hemaglutinação indireta (HAI).....	59
Figura 7 -	Figura 7 – Repetição da reação de HAI em seis amostras incluindo a amostra positiva no primeiro teste.....	59
figura 8 -	Figura 8 – Valores de DO das amostras de primatas neotropicais mantidos em cativeiro submetidas ao teste de ELISA.....	61
Figura 9 -	Figura 9 – Demonstração da reação obtida nas amostras de primatas neotropicais mantidos em cativeiro submetidas ao teste de ELISA.....	62

LISTA DE TABELAS

		p.
Tabela 1-	Casos de Leptospirose confirmados no Brasil, por região entre 1997 e 2006..	19
Tabela 2-	Espécies de triatomíneos segundo sua adaptação à habitação humana.....	29
Tabela 3-	Casos de Doença de Chagas Aguda (DCA) na região Norte relacionados a surtos notificados ao Sistema de Vigilância em Saúde, 2007.....	31
Tabela 4-	Casos de Doença de Chagas Aguda (DCA) na região Norte não relacionados a surtos notificados ao Sistema de Vigilância em Saúde, 2007..	32
Tabela 5-	Nome científico e popular das 11 espécies de primatas neotropicais cativas do CENP distribuídas de acordo com o sexo e o tamanho das amostras, Belém 2009.....	39
Tabela 6-	Número e porcentagem dos soros reagentes e não reagentes para leptospirose na SAM em 11 espécies de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.....	52
Tabela 7-	Número de amostras reagentes para os sorovares de <i>Leptospira</i> spp. na SAM, em 11 espécies de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.....	52
Tabela 8-	Número e porcentagem de amostras reagentes a <i>Leptospira</i> spp. na SAM de acordo com a espécie e o sexo de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.....	55
Tabela 9-	Distribuição das 84 amostras de primatas neotropicais de acordo com a titulação na SAM, Belém, 2009.....	57

Tabela 10-	Número de amostras reagentes na titulação 200 de acordo com os sorovares e as espécies de primatas neotropicais, Belém, 2009.....	58
Tabela 11-	Valores hematológicos das espécies <i>C. apella</i> , <i>S. niger</i> e <i>S. fuscicollis</i> que apresentaram titulação 200 na SAM, Belém, 2009.....	64
Tabela 12-	Valores bioquímicos das espécies <i>C. apella</i> , <i>S. niger</i> e <i>S. fuscicollis</i> que apresentaram titulação 200 na SAM, Belém, 2009.....	65

SUMÁRIO

	p.
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. OBJETIVO GERAL.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1. LEPTOSPIROSE.....	16
3.1.1. Etiologia.....	16
3.1.2. Taxonomia e morfologia.....	16
3.1.3. Epidemiologia e prevalência.....	17
3.1.3.1. Transmissão.....	22
3.1.4. Sintomatologia.....	23
3.1.5. Diagnóstico.....	24
3.2. TRIPANOSSOMÍASE.....	26
3.2.1. Etiologia e taxonomia.....	26
3.2.2. Morfologia.....	26
3.2.3. Ciclo biológico no hospedeiro vertebrado.....	27
3.2.4. Ciclo biológico no hospedeiro invertebrado.....	28
3.2.5. Epidemiologia.....	28
3.2.5.1. Transmissão.....	32
3.2.6. Sintomatologia.....	34
3.2.7. Diagnóstico.....	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1. ÁREA DE ESTUDO.....	38
4.2. PRIMATAS NEOTROPICAIS DE CATIVEIRO.....	39
4.2.1. Galpões de reprodução.....	40
4.2.2. Recinto de exposição.....	41
4.2.3. Nutrição.....	42
4.3. AMOSTRAS.....	42
4.3.1. Exames hematológicos e bioquímicos.....	43

4.3.2. Técnica de Soroaglutinação microscópica (SAM).....	43
4.3.2.1. Preparo dos antígenos de <i>Leptospira</i> spp.....	44
4.3.2.2. Aplicação da técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM).....	45
4.3.3. Teste de Hemaglutinação Indireta (HAI).....	46
4.3.4. Ensaio Imunoenzimático (ELISA).....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1. SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM).....	49
5.2. HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA (HAI).....	59
5.3. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).....	60
5.4. ANÁLISES HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA.....	63
6. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS.....	80
ANEXO A.....	81
ANEXO B.....	82
ANEXO C.....	83
ANEXO D.....	84
ANEXO E.....	85
ANEXO F.....	86
ANEXO G.....	87
ANEXO H.....	88
ANEXO I.....	89
ANEXO J.....	90
ANEXO K.....	91
ANEXO L.....	92
ANEXO M.....	93
ANEXO N.....	94

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas e parasitárias afetam tanto o homem quanto os animais domésticos e silvestres desde os tempos mais remotos. Apesar de hoje muitos países já terem controlado ou erradicado algumas dessas doenças dentro de suas fronteiras, elas ainda são a causa de mortes, principalmente nos países em desenvolvimento. Essas doenças têm destaque nos países tropicais, onde o calor e a umidade elevados propiciam meios ideais ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e seus vetores (SILVA et al., 2002).

Os trópicos contêm as maiores biodiversidades em termos de fauna e pouco se conhece sobre as enfermidades que acometem os animais silvestres, principalmente primatas neotropicais, devido provavelmente à dificuldade na captura e coleta de amostras biológicas destes animais, bem como a escassez de sinais clínicos apresentados. Porém, em decorrência da necessidade de manutenção desses animais em parques zoológicos, em criatórios científicos ou mesmo como animais de estimação, alguns estudos vem sendo realizados envolvendo principalmente as famílias Calithriquidea e Cebídea (VERONA; PISSINATTI, 2006).

Dentre as doenças infecciosas e parasitárias podemos destacar a leptospirose e tripanossomíase americana, que são doenças de caráter zoonótico de grande importância em termos de perdas econômicas e de saúde pública (ACHA; SZYFRES, 1986).

A leptospirose é uma zoonose ocasionada pela espécie *Leptospira interrogans* de distribuição cosmopolita apresentando diversos sorovares que acometem praticamente todas as espécies animais e o homem (VEIGAS; CALDAS; OLIVEIRA, 2001). O melhor conhecimento na fauna silvestre é de grande importância para o controle e profilaxia da enfermidade nas espécies domésticas e também no homem (SOSA et al., 1988).

Estudos evidenciam a presença da doença acometendo populações de animais silvestres cativas como primatas (SHIVE et al., 1969; SÁ et al., 1999), guanaco (*Esgyrn Guanaco*) (HODGIN et al., 1984) e ariranhas (*Pteronura brasiliensis*) (FARIAS; SILVA; PIMENTAL, 1999) e no Brasil os estudos epidemiológicos sobre infecção por leptospirose em animais silvestres ainda são escassos (LINS; LOPES; MAROJA, 1986; GIRIO, 1999). No entanto, são inúmeros os relatos da infecção em animais domésticos em várias regiões do país (LANGONI et al., 1999; CORRÊA et al., 2004; DELBEM et al. 2004; LINHARES et al., 2005; AGUIAR et al. 2007; RODRIGUES et al., 2007; SOTO et al., 2008).

Na região Norte foram realizados estudos epidemiológicos constatando prevalência de leptospira em humanos e bovinos (HOMEN et al., 2001). Com relação à prevalência deste agente em animais silvestres na região, Souza Júnior et al. (2006), encontraram reações positivas para duas espécies de primatas neotropicais, *Cebus apella* e *Alouatta caraya* e também nas espécies *Nasua nasua* e *Cerdocyon thous*. Contudo, ainda continuam bastante limitados os estudos com levantamento a cerca da leptospira em animais silvestres na região.

Nas Américas existe um grande número de espécies de tripanossomas que infectam o homem e os animais, dos quais podemos citar: *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma equiperdum*, *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma theileri*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma reangeli*, *Trypanosoma simiae* (CORRÊA; CORRÊA, 1992; PEREGRINE, 1994; SILVA et al., 2002).

Dentre as tripanossomoses descritas, a doença de Chagas causada pelo *T. cruzi* acomete os animais domésticos (cão, gato, coelho e suíno), silvestres (gambás, roedores, edentados, quirópteros, carnívoros e primatas) e principalmente o homem, sendo considerada uma zoonose de grande importância na saúde pública com elevada incidência na América do Sul (DEANE, 1986; ACHA; SZYFRES, 1989; DELAPORTE, 1994/1995; VALENTE, 1999).

Na Amazônia brasileira constatou-se a ocorrência de *T. cruzi* em primatas neotropicais, com identificação do agente na espécie *Saimiri sciureus* no Estado do Pará (CHAGAS, 1924 apud COURA, 1995). Ainda no Pará, Valente (1999) demonstrou a infecção natural usando esfregaço corado pelo Giemsa e xenodiagnóstico em animais domésticos (suíno, canino e felino), silvestres como gambás (*Didelphis marsupialis*, *Philander opossum*) e roedores (*Proechymis guyanensis*), com captura do inseto vetor infectado habitando o domicílio e peridomicílio.

Assim, a ocorrência de surtos de leptospirose e da doença de Chagas na região Amazônica desperta interesse crescente para pesquisas dessas enfermidades. Além disso, pode-se dizer que os primatas não humanos constituem reservatórios de agentes infecciosos não só para o homem, mas também para outras espécies de mamíferos e a proximidade na escala filogenética dos primatas com o ser humano sugere que os mesmos possam auxiliar em ensaios laboratoriais para o diagnóstico e tratamento de doenças, pois espécies de macacos da região podem estar infectadas, sem apresentar sintomas aparentes e sem identificação em função da ausência de pesquisas. Desse modo, o presente trabalho, visa investigar anticorpos contra *Leptospiras* spp e *T. cruzi* em amostras sorológicas de primatas neotropicais mantidos em cativeiro.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Demonstrar a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira interrogans* e *Trypanosoma cruzi* em amostras sanguíneas de onze espécies de primatas não humanos mantidos em cativeiro.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os sorovares de *Leptospira* de maior frequência em primatas neotropicais mantidos no criatório do CENP – Ananindeua/PA;
- Utilizar o ensaio imunoenzimático e o teste de hemaglutinação indireta na detecção de aglutininas anti-*Trypanosoma cruzi* em amostras sanguíneas de primatas neotropicais;
- Correlacionar os resultados com o perfil hematológico e bioquímico nas espécies estudadas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. LEPTOSPIROSE

3.1.1. Etiologia

Também conhecida como enfermidade de Weil, a leptospirose é uma doença causada por uma bactéria da classe das espiroquetas denominada *Leptospira interrogans* que provoca diferentes síndromes, tais como desordens reprodutivas, urinárias e circulatórias. Acomete, praticamente, todos os animais domésticos, selvagens e o ser humano, podendo ou não manifestar os sintomas decorrentes da infecção. A maioria dos animais domésticos, assim como a maioria das espécies silvestres, entre os quais se destacam os carnívoros, roedores, primatas e marsupiais, pode atuar como portadores e contribuir para a disseminação do microrganismo na natureza (ACHA; SZYFRES, 1986; CORREA; CORREA, 1992; ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009).

3.1.2. Taxonomia e morfologia

A espécie *L. interrogans* faz parte da família Leptospiraceae, que compreende 13 espécies de leptospiros patogênicas entre elas estão: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*, possuindo mais de 260 sorovares. Dentre as espécies saprófitas estão: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawe*, *L. kmetyim*, *L. vanthielii* e *L.*

wolbachii, compreendendo mais de 60 sorovariedades (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009).

As leptospiras são bactérias helicoidais, flexíveis, delgadas e filamentosas, com 0,1 a 0,2 µm de largura por 6 a 12 µm de comprimento e extremidades em forma de anzol. São aeróbicas obrigatórias, móveis, fazendo movimentos e flexões enquanto rotaciona em seu eixo. A temperatura ambiente ótima para sobrevivência e replicação da leptospira é entre 28 - 30°C, no solo o ideal é a permanência em pH neutro ou levemente alcalino. Alta incidência sazonal da doença humana é descrita no verão e começo do outono (GREENE, 1990; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008; ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009). As variantes de *L. interrogans* não possuem especificidade por determinados hospedeiros, mas apresentam preferências em alguns casos, como por exemplo, o sorogrupo Icterohaemorrhagiae que é o mais importante em termos de saúde pública, ocorrendo preferencialmente em rato de esgoto (*Rattus norvegicus*). O sorogrupo Pomona tem tropismo pelos suínos, o Hardjo por bovinos e o Canicola pelo canino (SANTA ROSA et al., 1975; ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009).

3.1.3. Epidemiologia e prevalência

A Leptospirose é uma doença bacteriana de caráter zoonótico que afeta os animais domésticos, silvestres e o homem. Estudos sorológicos têm demonstrado o envolvimento de diferentes espécies sinantrópicas e silvestres na epidemiologia da doença. Roedores e pequenos marsupiais são reservatórios de maior importância. Os ratos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) constituem o grupo de portadores assintomáticos universal. Em áreas metropolitanas o rato de esgoto, *Rattus norvegicus*, é considerado o mais importante transmissor de leptospiras para o homem. Os animais domésticos como bovinos, suínos, ovinos, caprinos, eqüinos e caninos e animais silvestres também são considerados reservatórios de leptospiras. Estas bactérias se localizam e se multiplicam nos túbulos renais dos animais infectados e são liberadas na urina durante semanas ou meses após a fase aguda contaminando água, solo e alimentos (FAINE et al., 1999; BRASIL, 2008).

De acordo com Pandey (1994) e Figueiredo et al. (2001), a infecção por leptospira é de ocorrência cosmopolita e tem sido detectada em praticamente todos os países que realizam investigações epidemiológicas. É mais difundida nos países tropicais, sendo que os diferentes sorovares podem ser eliminados pela urina de uma grande variedade de hospedeiros.

Sua incidência tem forte associação com períodos de alta pluviosidade, sendo que, na presença de hospedeiros adequados e sob condições favoráveis as leptospiras podem persistir por semanas ou meses no ambiente, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (SULZER; JONES, 1980; ACHA; SZYFRES, 1986; PLANK; DEAN, 2000; COSTA et al., 2001).

No Brasil a leptospirose é considerada uma doença endêmica apresentando sérios riscos para a saúde pública (KO et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2001). Sua ocorrência nas regiões urbanas e rurais do Brasil é favorecida pelo clima tropical úmido e uma vasta população de roedores. O crescimento urbano desordenado e a grande quantidade de lixo espalhado sobre as vias e terrenos baldios propiciam também um ambiente ideal para a proliferação da população murina, e conseqüentemente, a incidência de leptospirose. No Brasil, alterações sociais ocorridas entre 1960 e 1996 causaram um aumento de 350% na população urbana favorecendo o aparecimento de favelas, onde as condições sanitárias são propícias para o aparecimento de ratos, principais reservatórios e transmissores de leptospiras (CORTÊS, 1993; KO et al., 1999).

Segundo Brasil (2007), entre 1997 e 2006, foram confirmados 33.063 casos de leptospirose no Brasil. Apenas os casos mais graves (ictéricos) são geralmente diagnosticados e eventualmente notificados (tabela1). Já a leptospirose sem icterícia é freqüentemente, confundida com outras doenças (dengue, gripe), ou não leva à procura de assistência médica. Desse modo, os casos notificados, provavelmente, representam apenas uma pequena parcela (cerca de 10%) do número real de casos no Brasil.

Tabela 1 - Casos de Leptospirose confirmados no Brasil, por região entre 1997 e 2006.

Região	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
Norte	484	584	340	391	142	227	248	223	277	775	3.691
Nordeste	847	514	194	1.006	656	633	518	811	752	713	6.644
Sudeste	944	1.242	1.102	948	1.187	917	995	1.315	1.354	1.646	11.650
Sul	863	1.084	782	1.094	1.646	900	1.194	675	1.090	1.165	10.493
Centro-Oeste	160	25	15	48	43	37	52	72	64	69	585
Total	3.298	3.449	2.433	3.487	3.674	2.714	3.007	3.096	3.537	4.368	33.063

Fonte: Adaptado de BRASIL (2007).

Relatos sobre a ocorrência da leptospira em camundongos são comuns em todos os países, tanto por inquéritos sorológicos quanto por isolamento da bactéria. No Brasil, o isolamento das mesmas nesses animais foi realizado com sucesso em várias cidades, como no Rio de Janeiro, com o isolamento de cepas do sorogrupo Pomona (CORDEIRO et al., 1975) e em São Paulo, com o isolamento do sorovar Wolffii (GIORGI et al., 1984).

Dentre os animais domésticos, segundo pesquisas de Romero et al. (1994), o cavalo pode ser considerado um importante reservatório para a transmissão de leptospirose para outros animais assim como para o homem. Linhares et al. (2005) avaliaram 182 soros sanguíneos de cavalos da microrregião de Goiânia (GO) e constataram que 85 (45,05%) foram reagentes para um ou mais sorovares de *L. interrogans*, com maior prevalência para o sorovar Icterohaemorrhagiae 56 (68,28%), chegando à conclusão que a leptospirose equina era endêmica nesta microrregião.

Ávila et al. (1998) ao avaliar soros de cães de Pelotas (RS), constataram que 34,8% (148/425) foram positivos com titulação igual ou superior a 100, sendo sorovar de maior prevalência o Canicola (58,1%), além desse, também foram encontrados reações positivas para os sorovares, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Grippotyphosa, Castellonis, Andamana, Autumnalis e Pyrogenes. Segundo os autores, a maior concentração mensal de casos ocorreu nos meses de março, agosto, setembro e novembro, coincidindo com as temperaturas mais elevadas e com as maiores concentrações pluviométricas.

Langoni et al. (1999), utilizaram o teste de soroaglutinação microscópica, considerando positivas as amostras cujo título fosse igual ou superior a 100. O maior título encontrado foi 1600 para o sorovar Bratislava (1 amostra), seguido de 800 para Wolffii (4 amostras). Do total, 152 (37,7%) das amostras foram positivas, sendo que, dentre os sorovares

testados, a prevalência em ordem decrescente foi: Wolffi (68, 44,8%), Icterohaemorrhagiae (51, 33,6%), Hardjo (51, 33,6%), Castellonis (25, 16,5%), Djasiman (12, 7,9%), Grippytyphosa (10, 6,6%), Pomona (8, 5,2%), Bratislava (6, 4,0%), Copenhageni (5, 3,3%) e Tarassovi (4, 2,7%).

Veigas, Caldas e Oliveira (2001) investigaram no período de 03 de janeiro de 1997 a 30 de junho de 1999, aglutininas anti-leptospira em 836 amostras de diferentes espécies de animais domésticos. A maior prevalência ocorreu na espécie bovina, onde 89% (97/109) das amostras avaliadas foram positivas principalmente para os sorovares Icterohaemorrhagiae 27,2%, Wolffi 16,7%, Castellonis 12,7%, Pyrogenes 9,2%, Autumnalis 8,3%, Tarassovi 6,6% e Australis e Hardjo com 4,9%. Na espécie equina 66,7% (20/60), onde a maior prevalência foi para sorovar Icterohaemorrhagiae 35,1% e Pyrogenes 15,2%, na espécie canina 44,3% (294/663) das amostras foram positivas com maior prevalência para os sorovares Autumnalis 33,5%, Icterohaemorrhagiae 25,6% e Canicola 18,6%, a felina teve apenas uma amostra avaliada que reagiu para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes.

Resultados envolvendo animais silvestres foram observados na pesquisa realizada por Esteves et al. (2005), onde os autores encontraram reações positivas para as seguintes espécies: *Cerdocyon thous* 50% (1/2) para o sorovar Grippytyphosa; *Chrysocyon brachyurus* 100% (1) para o sorovar Canicola; *Leopardus pardalis* 66,6% (2/3) para os sorovares Andamana e Icterohaemorrhagiae; *Puma concolor* 50% (2/4) para os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae; *Tayassy tajacu* 100% (2) para os sorovar Icterohaemorrhagiae; *Geochelone* spp. 25% (1/16) para o sorovar Andamana; *Trachemys scripta* 5% (1/20) para o sorovar Patoc; *Oreochromis niloticus* 85,75% (6/7) para o sorovar Canicola e *Rattus rattus* 3,0% (1/27) para o sorovar Icterohaemorrhagiae.

Girio et al. (2004) em sua pesquisa envolvendo 315 animais silvestres e animais em estado feral da região de Nhecolândia do Mato Grosso do Sul observaram que 64 (20,3%) das diversas espécies estudadas foram positivas, dentre elas estavam *Bubalus bubalis* (búfalo) onde 41,0% (16/39) tiveram reação positiva, *Bos taurus indicus* (boi baguá) em que 40,3% (27/67) das amostras foram positivas, *Sus scofra* (porco-monteiro) que teve 17,9% (7/39) das amostras positivas, *Ovis aires* (ovino) que mostrou 9,0% (10/110) de amostras positivas e *Ozotoceros bezoarticus* (veado campeiro) onde 9,7% (4/41) das amostras foram positivas.

Lilenbaum et al. (2002), em um estudo envolvendo animais silvestres, realizado no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro revelaram uma prevalência de 20,6% de reatividade para anticorpos anti-leptospira em primatas. Posteriormente, Lilenbaum et al. (2005), avaliaram o soro de 73 micos-leão (*Leontopithecus chrysopygus*, *L. chrysomelas* e *L. rosalia*)

do Centro de Primatologia e detectaram a presença de anticorpos em 15% dos soros avaliados.

Corrêa et al. (2004) realizaram um levantamento sorológico para leptospirose em animais silvestres mantidos em cativeiro na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, no período de 1996 a 1999, em que das 302 amostras sorológicas analisadas, 19,5% (59/302) foram positivas para a prova de SAM. Com relação aos primatas, a análise dos resultados demonstrou 25 animais positivos (22,5%), em um total de 111 animais examinados.

Souza Júnior et al. (2006), analisaram 427 amostras de soro sanguíneo de animais silvestres utilizando 18 sorovares de *L. interrogans* no estado de Tocantins, observando-se os seguintes resultados: nas espécies *Cebus apella* 16,1% das amostras foram positivas (46/286) para os sorovares Pomona, Brasiliensis, Mini, Swajizak, Grippytyphosa, Sarmin, Fluminense, Autumnalis, Hebdomadis, Guaratuba, Javanica, Icterohaemorrhagiae; *Alouatta caraya* 2,4% (2/82) foram positivas para os sorovares Mangus e Fluminense; *Nasua nasua* 12,9% (4/31) foram positivas para os sorovares Fluminense e Javanica e *Cerdocyon thous* 20% (2/10) foram positivas para os sorovares Fluminense e Brasiliensis. Neste estudo também foram avaliadas amostras das espécies *Dasyprocta* sp, *Tamandua tetradactyla* e *Euphractus sexcintus* as quais não apresentaram reatividade.

Shive et al. (1969) isolaram *Leptospira* do sorogrupo Icterohaemorrhagiae em três casos fatais ocorridos em primatas de cativeiro da espécie macaco *Rhesus* (*Macaca sylvana*), no National Zoological Park, Washington D.C.

Em estudo realizado na Guiana Francesa pelo Instituto Pasteur com 109 primatas da espécie mico-de-cheiro (*Saimiri sciureus*), Perolat et al. (1992) isolaram duas cepas de *Leptospira interrogans* do sangue de 11 primatas os quais apresentaram doença aguda com icterícia e síndrome hemorrágica, sendo que dez vieram a óbito. Os autores ainda isolaram o sorovar Copenhageni de dois dos animais doentes, bem como de um roedor sinantrópico capturado nas adjacências da área. Nesse mesmo estudo, cinco fêmeas prenhes apresentaram anticorpos para o sorovar Icterohaemorrhagiae. A pesquisa sorológica de anticorpos para leptospirosas foi realizada nos 93 animais remanescentes e os sorovares encontrados foram: Icterohaemorrhagiae, Ballum, Grippytyphosa, Sejroe e Panama. A titulação encontrada foi de 100 para 26% dos animais e de 50 para 12% para os mesmos sorogrupos.

Outro estudo refere-se ao encontro de anticorpos contra leptospira na espécie *Alouatta caraya* no município de Porto Rico, no Paraná em que os autores verificaram apenas uma amostra (5,88%) de 17 animais analisados, com resultado positivo (SILVA-ZACARIAS et al. 2007).

3.1.3.1. Transmissão

A leptospirose é transmitida entre os animais pelo contato direto, transmissão venérea, via transplacentária, por ferida de mordedura e ingestão de tecidos, solo, água e alimentos contaminados. As leptospiras são eliminadas na urina por cães recuperados durante meses ou até anos após a infecção (GREENE, 1990; NELSON; COUTO, 2001; BRASIL, 2008).

Nos animais que conseguem sobreviver à fase aguda da leptospirose, os microrganismos alcançam à luz dos túbulos contornados renais e passam a serem eliminados pela urina por períodos de tempo variados, caracterizando a modalidade de fonte de infecção denominada de portador convalescente (VASCONCELLOS, 1987).

As fontes de infecção animal podem ser sumarizadas em doentes, portadores convalescentes e os portadores sadios. Através dos animais portadores, ocorre a persistência dos focos de leptospirose, devido à longa duração desta condição (meses ou anos) e a ampla facilidade de deslocamento que pode ser oferecida a estes animais, uma vez que os mesmos não revelam nenhum sinal da infecção (ACHA; SZYFRES, 1986; CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Atua também como fonte de infecção importante o roedor, tanto silvestre quanto sinantrópico, os quais podem exercer o papel de reservatório de leptospiras que mantém e dissemina o agente por meio da urina no ambiente (FAINE, 1982).

O homem pode se contaminar ao entrar em contacto direto com sangue, tecidos, órgãos ou urina de animais infectados ou por via indireta quando em contacto com água, solo úmido ou vegetação contaminada com a urina de animais infectados. A penetração de leptospiras pode ocorrer nas mucosas íntegras, na pele lesada ou íntegra quando imersa em água por longo tempo. O período de incubação varia de um a 20 dias, sendo em média de sete a 14 dias. Após o período de incubação inicia-se a fase septicêmica que dura de quatro a sete dias, seguida pela fase de localização da bactéria, caracterizada por leptospirúria e a presença de anticorpos no soro (VASCONCELLOS, 1987; LEVETT, 2001; BRASIL, 2005/2008).

3.1.4. Sintomatologia

No homem a doença pode apresentar nas formas subclínicas ou formas graves com alta letalidade. A doença, na maioria dos casos, se inicia abruptamente com febre, mal-estar geral e cefaléia. A forma anictérica aparece em 60% a 70% dos casos. A doença pode ser discreta, de início súbito com febre, cefaléia, dores musculares, anorexia, náuseas e vômitos. Dura de um há vários dias, sendo frequentemente rotulada como síndrome gripal ou virose. A infecção mais grave ocorre na forma ictérica, ou seja, a fase septicêmica evolui para uma doença ictérica grave, ocasionando disfunção renal, fenômenos hemorrágicos, alterações cardíacas e pulmonares, associadas às taxas de letalidade que variam de 5% a 20% (BRASIL, 2008).

Dentre os animais de produção, explorados em ecossistemas rurais, as manifestações clínicas mais frequentes atingem a esfera reprodutiva, incluindo o abortamento, em qualquer fase de gestação. Ocorre elevado índice de nascimento de produtos a termo debilitados e em alguns casos, as reprodutoras atingidas podem apresentar infertilidade ou mesmo esterilidade (ACHA; SZYFRES, 1986).

Dentre os animais de companhia mantidos em áreas urbanas, a leptospirose pode acometer o cão doméstico, provocando quadros febris com sinais variáveis de hemorragias, icterícia e uremia com alto grau de letalidade e óbito decorrente das insuficiências hepática e renal (ACHA; SZYFRES, 1986; CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Na fauna silvestre, os sinais relatados são semelhantes aos apresentados por animais domésticos, havendo descrição de baixo índice de fertilidade, nascimento de crias fracas, abortamentos e transtornos oculares (ALVARES et al., 1996). Em primatas não-humanos a sintomatologia é similar ao homem, ocorrendo hipertermia, sede, conjuntivite, perda de peso, icterícia, gastroenterite, hepatomegalia, rins e adrenais aumentados e hemorragias (BRASIL, 2005).

3.1.5. Diagnóstico

O diagnóstico da leptospirose é baseado na combinação do histórico, sinais clínicos, achados laboratoriais não específicos e testes confirmatórios. Os testes confirmatórios incluem testes sorológicos, isolamento do agente em cultura de urina ou sangue, reação em cadeia da polimerase (PCR), técnicas de Imunofluorescência de anticorpos (IFA) e microscopia de campo escuro. A IFA pode ser usada como método de triagem para identificar animais que estejam eliminando leptospira pela urina (GREENE, 1990; NOEL; LAMITER, 2009).

De acordo com Scarcelli et al. (2003) a técnica de PCR representa uma importante ferramenta para detecção e confirmação do agente causador da leptospirose, uma vez que, para o emprego da técnica não é necessário a viabilidade do patógeno, permitindo a detecção do agente em amostras autolisadas, congeladas ou mal conservadas, o que não seria possível no isolamento e a inoculação experimental. Os autores aplicaram a técnica de PCR em amostras clínicas de *C. apella*, detectando a presença de leptospira, nas demais técnicas empregadas o isolamento deste agente foi negativo, isso sugere a importância da técnica de PCR no diagnóstico de leptospirose em primatas não-humanos.

Os achados anatomopatológicos e histopatológicos constituem também importantes fontes de informação para o diagnóstico da leptospirose. A técnica de Soroaglutinação microscópica (SAM) é a técnica sorológica mais usada rotineiramente e necessita de numerosos antígenos para identificar o sorovar causador da infecção (GREENE, 1990).

Lilenbaum et al. (2002) compararam a eficiência entre o teste SAM e uma nova preparação antigênica da Prova de Aglutinação Rápida em Placa. Atualmente usada por alguns laboratórios como teste de triagem, a prova foi desenvolvida em 1958 e modificada em vários estudos posteriores. Neste estudo os autores demonstraram que a prova de Aglutinação Rápida em Placa é eficiente ao ser usada como teste de triagem para diagnosticar casos agudos de leptospirose.

Na fase imune da doença (a partir do 5º dia a contar do aparecimento dos sintomas), os métodos sorológicos são os mais adequados, indicando-se os testes de ELISA para detecção de IgM e a SAM e para diagnóstico “*post mortem*” recomenda-se os testes histopatológicos convencionais e pesquisa de leptospira por colorações especiais ou

imunohistoquímica utilizando fragmentos de cérebro, pulmão, rim, pâncreas, coração e músculo esquelético (BRASIL, 2008).

Segundo Wohl (1996), a leptospira é de difícil cultivo em laboratório porque não se cora com os corantes derivados da anilina e na histologia pode revelar resultados falso positivos e/ou falso negativos, confirmando-se o diagnóstico pela microscopia de campo escuro e sorologia. O autor relata ainda, que pode haver reação cruzada entre os sorotipos de um mesmo sorogrupo e que podem ocorrer títulos provenientes de vacinas, uma vez que, logo após a imunização o título pode chegar a 1:1250.

Ainda de acordo com Wohl (1996), algumas alterações podem ser observadas pelos exames complementares como hemograma e bioquímica sérica, por exemplo, a anemia se deve as alterações vasculares, como a vasculite e lise de hemácias. A desidratação é decorrente da perda de líquido através da diarreia e do vômito. O aumento das enzimas hepáticas, da uréia e creatinina, são devidos aos distúrbios hepáticos e renais. Há anormalidade nos níveis séricos de sódio, cloreto e potássio devido aos distúrbios gastrointestinais.

3.2. TRIPANOSSOMÍASE

3.2.1. Etiologia e Taxonomia

Trypanosoma cruzi é um protozoário flagelado pertencente ao reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, sub-ordem Tripanosomatida, família Trypanosomatidae, gênero *Trypanosoma*, espécie *Trypanosoma cruzi*. Este agente é o causador da doença de Chagas, assim denominada devido ter sido descoberta pelo médico brasileiro Carlos Chagas, está incluído na secção *Stercorária*, pelo fato de ser transmitido principalmente pelas fezes após o repasto do inseto vetor (REY, 2001; LANA; TAFURI, 2005).

3.2.2. Morfologia

T. cruzi é uma espécie de interesse médico e veterinário que pode ser representada por três formas distintas:

a) Forma amastigota (leishmanióide) de contorno aproximadamente circular, ovóide ou fusiforme, medindo cerca de 2 a 5 μm apresenta um corpo achatado, com pouco citoplasma, núcleo relativamente grande, redondo e excêntrico, possui cinetoplasto em forma discóide, esta forma é caracterizada por não apresentar flagelo livre, situando-se dentro das células do hospedeiro vertebrado;

b) Forma epimastigota que possui cerca de 20 μm de comprimento é longa, fusiforme, com cinetoplasto discóide imediatamente anterior ao núcleo, o flagelo emerge longe da extremidade anterior, mantendo-se colado a membrana celular pela membrana ondulante, esta representa a forma multiplicativa do parasito no intestino do inseto vetor;

c) Forma tripomastigota, apresenta corpo celular longo e achatado, mede cerca de 20µm de comprimento, apresenta cinetoplasto subterminal, membrana ondulante e núcleo central, o flagelo percorre extremamente toda a extensão da célula, aderido pela longa membrana ondulante, constitui a forma infectante para os mamíferos, sendo encontrada no sangue (tripomastigotas sangüícolas) destes quando infectados e também para o vetor, sendo encontrada na porção final do tubo digestivo (tripomastigotas metacíclicos) destes insetos (CORRÊA; CORRÊA, 1992; REY, 2001; PRATA, 2001; LANA; TAFURI, 2005).

3.2.3. Ciclo biológico nos hospedeiros vertebrados

Os tripomastigotas metacíclicos que são eliminados nas fezes do vetor infectado, após o repasto sangüíneo, penetram facilmente no organismo pelo local da picada, mucosas e conjuntivas ou por qualquer solução de continuidade na pele. Ao penetrar no organismo hospedeiro, o agente sofre a ação das células do sistema imunológico, principalmente dos macrófagos que por processo de endocitose engloba o tripomastigota e este pode ser eventualmente digerido pelo vacúolo digestivo. Tal processo pode ser evitado quando ocorre diferenciação dos tripomastigotas em amastigotas que invadem o citoplasma da célula parasitada, onde se multiplicam por divisão binária simples até sofrerem nova diferenciação de amastigota para tripomastigota poucas horas antes de romperem a célula hospedeira. Após rompimento celular os tripomastigotas caem no interstício, alcançam a corrente sangüínea e atingem outras células de qualquer tecido ou órgão para cumprir novo ciclo celular ou são destruídos por mecanismos imunológicos do hospedeiro e podem ainda serem ingeridos por triatomíneos, onde cumprirão o seu ciclo extracelular (REY, 2001; LANA; TAFURI, 2005).

3.2.4. Ciclo biológico nos hospedeiros invertebrados

Os vetores, durante o hematofagismo, ingerem as formas tripomastigotas sangüícolas presentes na corrente sangüínea do hospedeiro vertebrado. Após alcançarem o intestino do inseto, os tripomastigotas se transformam em formas epimastigotas, as quais se multiplicam intensamente por divisão binária longitudinal e se estabelecem permanentemente neste local, mantendo o inseto infectado por toda a vida. Quando os epimastigotas atingem o reto, se diferenciam novamente em tripomastigotas metacíclicos (formas infectantes para vertebrados), que são eliminados nas fezes após o repasto (REY, 2001, LANA; TAFURI, 2005).

3.2.5. Epidemiologia

A Doença de Chagas ocorre no continente americano e constitui um sério problema sanitário na maioria dos países tropicais, onde existem as maiores reservas mundiais em biodiversidade, que além de apresentar um recurso genético de valor inestimável, também contribui para a ocorrência de grande número de doenças. Essa enfermidade é resultado das alterações ao meio ambiente, das distorções econômicas e sociais, pois a espécie *T. cruzi* vivia restrito ao ambiente silvestre, quando o homem ao invadir esses ecótopos, gerou desequilíbrios ecológicos, que mais tarde viria incluí-lo no ciclo de transmissão, criando o ciclo doméstico e peridoméstico, além do ciclo silvestre (DIAS; BORGES DIAS, 1979; CORRÊA; CORRÊA, 1992; DIAS; COURA, 1997; SILVA et al., 2002).

A importância epidemiológica do grupo de insetos vetores popularmente conhecida como “barbeiros”, reside na transmissão de *T. cruzi* ao homem. Embora uma grande variedade de espécies de triatomíneos sejam vetores em potencial deste protozoário, apenas aquelas que colonizam o domicílio e ou peridomicílio reúnem condições necessárias para transmitir o agente causador da doença. Neste aspecto, os gêneros de maior importância epidemiológica são: *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius* (REBÊLO; BARROS; MENDES,

1998). A tabela 2 demonstra os vários triatomíneos que podem atuar como vetores, enfatizando o hábito de adaptação ao domicílio dos mesmos.

Tabela 2 - Espécies de triatomíneos segundo sua adaptação à habitação humana.

Situação	Espécies
Espécies estritamente domiciliadas, ausentes ou raramente detectadas em ecótopos silvestres	<i>Triatoma infestans</i> <i>Triatoma rubrofasciata</i>
Espécies capturadas tanto em ecótopos silvestres como artificiais, com constituição freqüente de colônias domiciliares	<i>Rhodnius prolixus</i> , <i>Triatoma maculata</i> <i>Rhodnius pallescens</i> , <i>Triatoma longipennis</i> <i>Panstrongylus megistus</i> <i>Triatoma pseudomaculata</i> <i>Triatoma barberi</i> , <i>Triatoma phylosoma</i> <i>Triatoma brasiliensis</i> , <i>Triatoma sordida</i> <i>Triatoma dimidiata</i> , <i>Triatoma guasayona</i>
Espécies capturadas em domicílios, mas ainda predominantemente silvestres	<i>Triatoma rubrovaria</i> , <i>Rhodnius ecuadoriensis</i> <i>Triatoma vitticeps</i> , <i>Rhodnius nasutus</i> <i>Triatoma lecticularia</i> , <i>Rhodnius neglectus</i> <i>Panstrongylus lutzi</i> , <i>Rhodnius pictipes</i>
Espécies silvestres, com exemplares adultos eventualmente encontrados em domicílios	<i>Triatoma protracta</i> , <i>Triatoma guazu</i> <i>Triatoma tibiamaculata</i> , <i>Triatoma sanguisuga</i> <i>Triatoma malanocephala</i> , <i>Triatoma patagonica</i> <i>Triatoma circummaculata</i> , <i>Microtriatoma trimidadensis</i> <i>Triatoma pallidipennis</i> , <i>Rhodnius robustus</i> <i>Triatoma mazzottii</i> , <i>Rhodnius domesticus</i> <i>Triatoma carrioni</i> , <i>Panstrongylus diasi</i> <i>Triatoma breyeri</i> , <i>Panstrongylus geniculatus</i> <i>Triatoma platensis</i> , <i>Psamolestes coreodes</i>
Espécies exclusivamente silvestres	<i>Alberprosenia</i> sp. <i>Cavernicola</i> sp. <i>Belminus</i> sp. <i>Hermanlenticia</i> sp. <i>Bolbodera</i> sp. <i>Mepraia</i> sp. <i>Dipetalogaster</i> sp. <i>Paratriatoma</i> sp. <i>Parabelminus</i> sp. Todas as demais espécies dos gêneros <i>Microtriatoma</i> , <i>Psamolestes</i> , <i>Rhodnius</i> , <i>Panstrongylus</i> e <i>Triatoma</i>

Fonte: SILVEIRA (2000).

Do mesmo modo, toda espécie mamífera em contato com vetores infectados pode adquirir a infecção, mas nem todas as espécies de animais têm importância na manutenção da enzootia silvestre. No Brasil e Venezuela destacam-se como reservatórios os gambás das espécies *Didelphis marsupialis* e *D. albiventris* e dentre os animais domésticos, o cão e o gato são hospedeiros importantes do parasito, sendo que a prevalência nessas espécies nas regiões endêmicas foi superior à humana, com taxas de infecção de 20% em cães e gatos em várias localidades do Brasil e da Argentina. Na Venezuela cerca de 70 a 140 cães apresentaram

resultado positivo para *T. cruzi* e no Chile, 33.321 cães e 1.805 gatos apresentaram taxas de reação positiva de 9,1 e 11,9%, respectivamente (TELFORD et al., 1981; MELLO, 1982; MILLES, 1983 apud ACHA; SZYFRES, 1986).

Estudos realizados a partir de 1975 no Brasil revelaram que a área com risco de transmissão vetorial correspondia a 36% do território nacional, com triatomíneos domiciliares presentes em 2.493 municípios de 18 estados. A prevalência da infecção chagásica neste estudo correspondia a 4,2% da população rural, com coeficientes elevados em Minas Gerais e Rio Grande do Sul (8,8%), Goiás (7,4%) e Bahia (5,4%) (SILVEIRA, 1999). Estudos posteriores revelaram como área endêmica quase a metade do território brasileiro (44%), além dos casos isolados de infestações em algumas famílias no Norte e no Sul do Brasil (COURA, 2003).

A infecção natural pelo *T. cruzi* é bastante expressiva em primatas neotropicais, de diferentes regiões fitogeográficas da América do Sul, incluindo as famílias *Cebidae* e *Callitrichidae* e os gêneros *Allouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Callicebus*, *Callithrix*, *Cebuella*, *Cebus*, *Chiropotes*, *Lagothrix*, *Leontopithecus*, *Pithecia*, *Saimiri*, *Saguinus*, entre outros. No entanto, em estudos realizados na Reserva Biológica de Poço das Antas na Mata Atlântica no Rio de Janeiro, foi observada a alta prevalência e os altos percentuais de hemocultivos positivos na população silvestre de *Leontopithecus rosalia* (mico-leão-dourado), sugerindo que este hospedeiro é um importante reservatório de *T. cruzi*, pelo menos nesta área estudada (LISBOA, 2008).

Na Amazônia brasileira, pelo menos 18 espécies de triatomíneos foram encontradas, nove das quais infectadas com *T. cruzi* associadas com numerosos reservatórios silvestres. Essa região é considerada endêmica para a doença de Chagas devido aos desmatamentos e colonização descontrolados, proporcionando alteração do balanço entre reservatórios e vetores, provocando a adaptação de reservatórios e vetores silvestres com *T. cruzi* ao peridomicílio, tendo ali a única alternativa alimentar (COURA et al., 1994).

Além disso, a migração de populações humanas infectadas com *T. cruzi* acompanhadas de reservatórios domésticos (cães e gatos) ou de vetores de suas regiões de origem na bagagem já adaptados ao domicílio, contribuíram para a ocorrência da doença na região (COURA et al., 1994). Segundo dados de Coura et al. (2002), até esse período foram diagnosticados mais de 300 casos da doença na Amazônia.

O primeiro relato sobre a doença de Chagas no estado do Pará ocorreu no ano de 1968 na cidade de Belém, onde quatro pessoas de uma mesma família que apresentavam suspeita

de malária, ao serem submetidas à pesquisa do plasmódio demonstraram parasitas com morfologia típica de *T. cruzi* no sangue (SHAW; LAISON; FRAIHA, 1969).

Segundo dados de Brasil (2007), até 2005 a Doença de Chagas Aguda (DCA) relacionada ao consumo de alimentos constituía um evento pouco conhecido apesar dos relatos de surtos na região amazônica pelo Instituto Evandro Chagas (IEC) da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS).

No período de 01 de janeiro a 05 de outubro de 2007 foram notificados à SVS 100 casos de DCA no Brasil, com quatro óbitos na Amazônia Legal. Destes, 88 casos foram considerados surtos (incluindo todos os óbitos) e 12 casos isolados. Os surtos foram identificados em 10 municípios dos estados do Amapá, Amazonas e Pará e o alimento mais frequentemente envolvido foi o açaí (Tabela 3).

Tabela 3 - Casos de Doença de Chagas Aguda (DCA) relacionados a surtos notificados ao Sistema de Vigilância em Saúde (SVS), 2007.

UF	Município	Casos	Óbitos	Letalidade(%)	Transmissão	Veículo
AM	Coari	25	0	0	Oral	Açaí
AP	Macapá	5	0	0	Ignorada	-
PA	Belém/pedreira	6	0	0	Oral?	Ignorado
PA	Ananindeua/PAAR	4	0	0	Oral	Açaí
PA	Cametá	2	0	0	Oral	Ignorado
PA	Santa Isabel	3	0	0	oral	Ignorado
PA	S. João de Pirabas	4	3	75	Oral	Açaí
PA	Belém/T. Firme	4	0	0	Oral	Açaí
PA	Bagre	13	0	0	Oral	Açaí
PA	Breves	12	0	0	Oral	Açaí
PA	Abaetetuba Bosque	4	0	0	Ignorado	-
PA	Ananindeua	4	1	25	Oral	Açaí
PA	Belém	2	0	0	Oral	Açaí
TOTAL		88	4	4,55		

Fonte: BRASIL (2007)

Os casos isolados ocorreram no Amapá, Amazonas, Maranhão, Pará (seis municípios) e Tocantins e na maior parte deles não houve informação sobre a forma provável de transmissão. Não ocorreram óbitos entre esses casos (Tabela 4).

Tabela 4 - Casos de Doença de Chagas Aguda (DCA) não relacionados a surtos notificados Sistema de Vigilância em Saúde (SVS), 2007. .

UF	Município	Casos	Óbitos	Letalidade(%)	Transmissão
AM	Tefé	1	0	0	Vetorial
AP	Macapá/Centro	1	0	0	Ignorada
AP	Macapá/Muca	1	0	0	Oral?
AP	Macapá	1	0	0	Ignorada
MA	Itinga	1	0	0	Vetorial
PA	Capanema	1	0	0	Ignorada
PA	Anajás	1	0	0	Ignorada
PA	Nova esperança do Piriá	1	0	0	Ignorada
PA	Abaetetuba	1	0	0	Ignorada
PA	Afuá	1	0	0	Ignorada
PA	Currálinho	1	0	0	Ignorado
TO	Pindorama do Tocantins	1	0	0	Vetorial
TOTAL		12	0	0	

Fonte: BRASIL (2007)

Ainda de acordo com dados de Brasil (2007), em 2006, ano em que a forma oral foi caracterizada como de relevância nacional de Saúde Pública, de 115 casos de DCA no Brasil, 94 foram transmitidas por via oral, ocorrendo em estados das regiões Norte e Nordeste, com seis óbitos. Entre eles, 50 foram relacionados à ingestão de açaí contaminado, 20 à bacaba e seis à cana-de-açúcar. No entanto, em 18 casos (quatro surtos) o alimento contaminado não foi identificado.

3.2.5.1. Transmissão

A transmissão pelo vetor foi tida durante anos como a via clássica de transmissão da Doença de Chagas humana em nível continental. Ao longo das últimas décadas, uma série de levantamentos epidemiológicos tem mostrado a coincidência das áreas de distribuição de casos humanos da doença com aquelas de domiciliação de triatomíneos infectados pelo *T. cruzi* (DIAS; JATENE, 1992).

Porém, apesar de o Brasil ter recebido em 9 de junho de 2006, a Certificação Internacional de Controle da Transmissão da Doença de Chagas pelo *Triatoma infestans*, conferida pela Organização Panamericana da Saúde é importante enfatizar que esta certificação não represente o controle da doença no Brasil, uma vez que, ainda existem outras

espécies que atuam como vetores deste agente, demonstrando que esta via de transmissão ainda é considerada a mais importante (CARTA AO EDITOR, 2006).

Além da transmissão vetorial, podem ocorrer: a transmissão transfusional que antes era considerada uma importante via principalmente nas grandes cidades, com alta prevalência de infecção, porém devido à aplicação de técnicas sorológicas de triagem apropriadas como RIFE, ELISA e HAI a ocorrência deste tipo de transmissão tem sido controlada (REY, 2001; LANA; TAFURI, 2005).

Outros meios de transmissão são: a transmissão congênita que ocorre quando existem ninhos de amastigotas na placenta; os acidentes de laboratório que podem ocorrer entre pesquisadores e técnicos que trabalham com o paratito presente no sangue de animais, pessoas infectadas, meios de cultura ou no vetor, esta infecção pode ocorrer por contato da pele lesada, mucosa oral ou ocular ou auto-inoculação; transmissão pelo coito (raro) e por transplante de órgãos que pode desencadear a fase aguda grave, uma vez que o receptor recebe drogas imunossupressoras, tornando-se susceptível a doença (REY, 2001; LANA; TAFURI, 2005).

A transmissão oral da Doença de Chagas ao ser humano e a outro mamífero, foi demonstrada experimental, clínica e epidemiologicamente, e hoje se tem observado um aumento no número de casos de morbidade e mortalidade relacionada com esta via de transmissão que se manifesta através das formas agudas da afecção. É a via natural de disseminação de *T. cruzi* nos ciclos enzoóticos no que diz respeito à infecção de mamíferos que se alimentam dos vetores (entomófagos) (DIAS, 1934; DIAS, 1935; TALICE, 1944; TORRICO, 1950; MAYER, 1961; DIAS-UNGRIA, 1965; PANAFTOSA, 2006).

Porém, a transmissão oral humana ainda ocorre de maneira esporádica e circunstancial, através de alimentos contaminados com o parasito, principalmente a partir de triatomíneos ou de suas dejeções. Também, pode ocorrer através da ingestão de carne de caça crua ou mal cozida, ou de alimentos contaminados por urina ou secreção anal de marsupiais infectados, ou mesmo por meio de hábitos primitivos de ingestão de triatomíneos como ocorre com alguns mamíferos silvestres (DIAS, 2006).

3.2.6. Sintomatologia

Em animais silvestres a infecção ocorre de maneira clinicamente inaparente. As espécies de marsupiais são notáveis por sua prolongada parasitemia que pode persistir por mais de 12 meses e são de grande importância por sua tendência de se aproximarem das vivendas humanas, de modo que sirvam de elo entre o ciclo silvestre e o ciclo doméstico de infecção por *T. cruzi* (TELFORD et al., 1981; MELLO, 1982 apud ACHA; SZYFRES, 1986).

Os primatas naturalmente infectados pelo *T. cruzi* e confinados em ambientes fechados como reservas de fauna, desenvolvem anormalidades cardíacas e alterações bioquímicas semelhantes as do homem (HERRERA; URDANETA-MORALES, 2008; MONTEIRO, 2008).

Em caninos pode ocorrer a forma sintomática similar a do homem, tanto na forma aguda (febre, depressão, falta de apetite e formação do complexo cutâneo e/ou conjuntivo-linfonoidal) como na forma crônica (endocardite e lesões no trato intestinal) (ACHA; SZYFRES, 1986; LANA; TAFURI, 2005).

Camundongos da linhagem *Wistar* infectados experimentalmente com cepas de *T. cruzi* apresentaram pico de parasitemia entre o 21º e o 23º dia após a inoculação e na análise histológica demonstrou-se tropismo pelo tecido cardíaco com processo inflamatório focal e difuso, infiltrado perivascular e ninhos do parasito íntegros e rompidos, as células parasitadas observadas foram macrófagos, linfócitos, polimorfonucleares, plasmócitos e fibroblastos. O desenvolvimento da infecção pelo *T. cruzi* varia muito nestes animais dependendo da cepa do parasito utilizada, da via de inoculação e do volume do inóculo. A escolha de um modelo experimental dependerá da questão a ser investigada e dos conhecimentos prévios adquiridos ao longo de quase um século de pesquisas voltadas para esta área (OLIVEIRA, 2007).

3.2.7. Diagnóstico

É importante que se associe o diagnóstico clínico ao diagnóstico laboratorial na detecção da doença. Com relação ao diagnóstico clínico, para determinarmos a fase aguda devemos considerar a origem do paciente, presença de porta de entrada, acompanhadas ou não de febre irregular, verificando-se a ocorrência de adenopatia satélite ou generalizada, hepatoesplenomegalia e taquicardia. Na fase crônica são observadas alterações cardiológicas confirmadas pelo eletrocardiograma acompanhadas de insuficiência cardíaca e alterações digestivas como megaesôfago e megacólon visualizadas pelo raio-X, porém, para a confirmação de ambas as fases é necessário a realização de métodos laboratoriais (LANA; TAFURI, 2005).

Com relação ao diagnóstico laboratorial, devemos ressaltar os exames parasitológicos e sorológicos para a determinação do agente. Muitos agentes já podem ser cultivados e realizam o seu ciclo em animais de biotério (camundongos), facilitando seu estudo (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

De acordo com Carneiro (1963) em 1914 Brumpt descreveu uma modalidade de diagnóstico parasitológico denominada por ele como xenodiagnóstico que consiste na utilização do barbeiro e este quando em contato com o animal infectado suga o seu sangue e alberga o parasito em seu intestino, como se ocorresse uma espécie de hemocultivo no tubo digestivo do barbeiro. A análise consiste na retirada do conteúdo intestinal do barbeiro, e posterior observação em microscópico óptico comum.

No Brasil, a primeira referência do emprego do xenodiagnóstico para diagnóstico da doença de Chagas foi de Dias (1935). O método só passou a ser utilizado rotineiramente após sua padronização por Cerisola et al. (1974). Esse método pode ser utilizado tanto na fase aguda quanto na fase crônica da doença (LANA; TAFURI, 2005).

O hemocultivo, introduzido como método parasitológico desde a década de 1940, apresentava resultados inferiores ao xenodiagnóstico, não sendo por isso utilizado. Após os trabalhos de Chiari e Brener (1966) com sucessivos aperfeiçoamentos voltou a ser empregado com resultados comparáveis aos do xenodiagnóstico e a vantagem de permitir o isolamento do parasito. A inoculação em animais experimentais também foi utilizada desde longa data, porém seu emprego como técnica de rotina é limitado devido às dificuldades operacionais, assim como a sua baixa sensibilidade na fase crônica.

Com relação ao diagnóstico sorológico, os testes mais utilizados para diagnóstico sorológico em áreas endêmicas são: a reação de fixação de complemento (RFC), hemaglutinação indireta (HAI), imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (BRASIL, 2008).

A primeira descrição de pesquisa de anticorpos deveu-se a Guerreiro e Machado (1913) apud Luquetti e Rassi (2000). Tratava-se da reação de fixação de complemento, logo conhecida como a reação de Guerreiro e Machado, que foi o único teste sorológico disponível durante mais de 50 anos, e que foi realizado como rotina para o diagnóstico. A complexidade técnica, as utilizações de vários reagentes que demandam padronização diária e o tempo de reação levaram ao seu abandono a partir de 1995, principalmente pela existência de testes mais simples.

Cerisola, Chaben e Lazzari (1962) descreveram a utilização do teste de hemaglutinação indireta (HAI) para o diagnóstico sorológico da infecção. Este teste, de fácil execução e bom desempenho é utilizado até hoje, embora apresente sensibilidade menor que os testes de RIFI e ELISA. Por esta razão, não é recomendado para exclusão de doadores de sangue.

Pouco tempo depois Camargo (1966) aperfeiçoou a utilização da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), já descrito por Fife e Muschel (1959). Este teste, de elevada sensibilidade, foi utilizado no inquérito nacional sorológico, com mais de um milhão de amostras em todo o Brasil, que determinou, com bastante precisão, a prevalência da doença. Dada a sua elevada sensibilidade, é ideal para estudos epidemiológicos, assim como para diagnóstico, embora apresente reações cruzadas, em particular com leishmanioses.

Voller et al. (1975) descreveram o ELISA em amostras de papel-filtro, método que foi aperfeiçoado e é atualmente utilizado na rotina diagnóstica dos serviços de hemoterapia e de diagnóstico, existindo no Brasil 12 marcas aprovadas com bom desempenho pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Oliveira et al. (2007) utilizaram a análise histológica e o nível de parasitemia em ratos *Wistar* inoculados intraperitonealmente com cepas de *T. cruzi*. Para as análises foi removido o encéfalo, coração, pulmão, língua, esôfago, estômago, rim, bexiga, intestino delgado e grosso. Os autores obtiveram resultados positivos e pico máximo de parasitemia ao 23º dia após a inoculação, quando então observaram ninhos de amastigotas no tecido cardíaco, porém não foram observadas alterações nos outros órgãos.

Na Venezuela, tem-se estudado a infecção natural de mamíferos do gênero *Didelphis* e roedores do gênero *Rattus* pelo *T. cruzi*, o qual se manifesta com uma virulência muito baixa e parasitemia detectável só pelo xenodiagnóstico, hemocultivo ou reação em cadeia de

polimerase (PCR) sem sintomatologia aparente (HERRERA; URDANETA-MORALES, 2008).

O teste de PCR é um método molecular que consiste na ampliação *in vitro* de fragmentos de DNA para uma acurada identificação e caracterização de microrganismos, possui alta sensibilidade, pois é capaz de detectar quantidades de DNA de uma única célula do microrganismo. Sua aplicação na identificação de *T. cruzi* consiste na ampliação *in vitro* de fragmentos de kDNA presentes nas amostras de sangue, soro ou tecidos do paciente infectado (LANA;TAFURI, 2005).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo consistiu no criatório científico situado no Centro Nacional de Primatas (CENP), o qual foi instituído junto a Fundação de Serviço de Saúde Pública (F.SESP) pela portaria nº 115/BSB, de 15 de março de 1978. Localizado no município de Ananindeua, estado do Pará, BR-316 km 7, possui uma área de 25 hectares e seu plantel é constituído por 21 espécies e subespécies de primatas neotropicais. O município está a uma latitude 01°21'56" ao sul e a uma longitude 48°22'20" a oeste. O clima é tropical, úmido, temperatura elevada em torno de 25°C. A pluviosidade encontra-se em torno de 2.250 a 2.500mm com chuvas regulares, com maior concentração de janeiro a junho. A umidade relativa do ar está em torno de 85% (PORTAL AMAZÔNIA, 2007).



Fonte: Centro Nacional de Primatas – CENP, Ananindeua-Pa

Figura 1 – Imagem do Centro Nacional de Primatas, localizado em Ananindeua-Pa.

4.2. PRIMATAS NEOTROPICAIS DE CATIVEIRO

A presente pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética do Instituto Evandro Chagas com parecer de aprovação de número 032/2009/CEPAN/IEC/SVS/MS. Foram utilizados 94 animais adultos, de ambos os sexos e das seguintes espécies: *Aotus infulatus*, *Allouata caraya*, *Allouata belzabu*, *Callithrix penicillata*, *Cebus apella*, *Chiropotes satanás*, *Callimico goeldii*, *Saimiri sciureus*, *Saguinus fuscicollis*, *Saguinus niger* e *Pithecia irrorata* (tabela 5).

Tabela 5 – Nome científico e popular das 11 espécies de primatas neotropicais cativas do CENP distribuídas de acordo com o sexo e o tamanho das amostras, Belém 2009.

Nome científico	Nome popular	Machos/Fêmeas	TOTAL
<i>Saimiri sciureus</i>	Macaco de cheiro	18/14	32
<i>Callithrix penicillata</i>	Mico estrela	10/4	14
<i>Cebus apella</i>	Macaco prego	8/5	13
<i>Aotus infulatus</i>	Macaco da noite	15/0	15
<i>Chiropotes satanas</i>	Cuxiú	3/3	6
<i>Saguinus niger</i>	Chuim preto	1/3	4
<i>Saguinus fuscicollis</i>	Chuim	1/2	3
<i>Callimico goeldii</i>	Mico preto	1/1	2
<i>Alouatta caraya</i>	Bugio preto	2/1	3
<i>Alouatta belzebu</i>	Guariba	1/0	1
<i>Pithecia irrorata</i>	Parauacu	0/1	1
Total	-	60/34	94

Os animais do CENP estão separados por grupos familiares em galpões de reprodução com jaulas de metais e são alimentados com plantas e/ou frutas maduras e ração, com água *ad libidum*.

4.2.1. Galpões de Reprodução

O CENP contém cinco galpões de reprodução, os quais possuem uma área interna de 14 metros de largura por 45 metros de comprimento, construído em alvenaria, possui área para manejo dos animais; área para limpeza de utensílios (mamadeiras, baquetas, entre outros); banheiro e sala de depósito de materiais de limpeza.

O galpão I está destinado basicamente às espécies monogâmicas, possui 48 gaiolas medindo 1,20 metros de largura, 3,85 metros de comprimento e 2,40 metros de altura e duas gaiolas com 2,40 metros de largura, 3,85 metros de comprimento e 2,40 metros de altura. Dispostas em duas baterias de 26 gaiolas.

Atualmente neste galpão está alojada somente a colônia de macaco-da-noite (*Aotus azarai infulatus*), situação desejada para estes animais, que apresentam características próprias de biologia e conseqüentemente requerem um manejo específico e diferenciado.

Os galpões II e III abrigam as espécies poligâmicas, possuem 24 gaiolas de 2,30 metros de largura, 3,85 metros de comprimento e 2,55 metros de altura, conjugadas em duas partes, possuindo uma portinhola central que dá passagem aos animais. Tal disposição facilita o manejo e possibilita maior segurança aos tratadores. Cada conjunto de gaiola dupla abriga um grupo reprodutivo de espécie poligâmica.

Atualmente o galpão II está alojando a colônia reprodutiva do Gênero *Cebus* (macaco prego) e o galpão III está alojando a colônia de *Saimiri sciureus* (macaco de cheiro). Cada conjunto de gaiola dupla abriga um grupo reprodutivo de espécie poligâmica. Atualmente abrigam a colônia de *Chlorocebus aethiops* (macaco verde africano) e grupos reprodutivos do Gênero *Alouatta* (Guariba).

O galpão IV contém 120 gaiolas que medem 1 metro de largura, 3 metros de comprimento e 2,5 metros de altura, cada uma destinada a abrigar um casal com seus descendentes. Destinado a abrigar espécies da família *Callitrichidae*, onde encontram-se as colônias das espécies *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*. E o galpão V abriga as espécies poligâmicas, possui 24 gaiolas de 2,30 metros de largura, 3,85 metros de comprimento e 2,55 metros de altura, conjugadas em duas partes, possuindo uma portinhola central que dá passagem aos animais. Tal disposição facilita o manejo e possibilita maior segurança aos tratadores.

Os galpões estão dispostos no sentido norte/sul e tem as laterais abertas, protegidas por telas metálicas tipo mosquiteiro, para impedir a entrada de artrópodes e promover a entrada de luz solar e a aeração do ambiente interno. Os recintos em seu interior estão dispostos em baterias, criando corredores de circulação (limpos) e de recolhimentos de dejetos (sujos).

Estes galpões abrigam basicamente as colônias de reprodução, das espécies de interesse biomédicos, que devem ser criadas dentro de um ambiente asséptico e protegidas de agentes externos.

4.2.2. Recintos de Exposição

O CENP possui 20 gaiolas de exposição, para espécies Monogâmicas e Poligâmicas, com três tipos de tamanhos: pequenas com 1,38 m², médias com 6,04 m² e grandes com 18,48 m², construídas em alvenaria com estrutura em madeira, tela galvanizada, cobertura com telhas de barro e piso em cerâmica. Estes recintos abrigam as espécies de interesse conservacionista e de pesquisa básica, assim como, para programas de educação ambiental.

Tendo ainda mais três gaiolões com estrutura de ferro e tela galvanizada medindo 18m x 10m com 6 m de altura. Uma está desocupada e os dois outros, abrigam animais excedentes do Gênero *Cebus*, um com machos e o outro com fêmeas.

4.2.3. Nutrição

A nutrição adequada é um dos principais fatores que favorecem o bom desenvolvimento dos animais em cativeiro e um índice satisfatório nas taxas reprodutivas. A dieta é baseada em produtos hortifrutigranjeiros e ração peletizada apropriada para primatas neotropicais (Anexo A).

4.3. AMOSTRAS

Entre os meses de julho de 2007 e fevereiro de 2008, acompanhando as medidas de manejo de rotina do CENP, foram colhidas amostras de sangue de 94 indivíduos (machos e fêmeas) adultos distribuídas em onze espécies de macacos. 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. O uso de sedativo ocorreu apenas nas espécies de grande porte (*Cebus apella* e *Pithecia irrorata*), para as espécies de pequeno porte não foi necessária a sedação.

O sangue foi coletado através de punção venosa (femoral ou safena), utilizando-se para tanto, seringas descartáveis de 5ml e agulha hipodérmica 25x7. As amostras foram acondicionadas em tubos contendo etilenodiaminotetracético (EDTA), que se destinaram para os exames de hemograma completo e em tubos sem anti-coagulante, que se destinaram aos exames de bioquímica sérica e exames sorológicos com utilização das técnicas de SAM, ELISA e HAI. O hemograma e a bioquímica sérica foram realizados no laboratório de Análises Clínicas do CENP e as técnicas sorológicas no Laboratório de Investigação e Diagnóstico de Enfermidades Animais (LIDEA) da UFPA.

4.3.1. Exames hematológicos e bioquímicos

Os valores hematológicos foram determinados utilizando-se o contador eletrônico (CELM - CC 500®) e o diluidor eletrônico (CELM DA – 500®) 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 e monócitos.

O soro foi obtido por centrifugação (5 minutos, 3000 rpm). As dosagens foram realizadas em duplicata com a utilização de kits comerciais de reativos secos (VITROS DT®) e submetidos aos analisadores (DTSC// Module®, DT 60//® e DTE // Module®). O método para a realização das dosagens seguiu o padrão estabelecido pelo kit. As dosagens bioquímicas incluíram glicose, colesterol, uréia, triglicerídeos creatinina, bilirrubina, alanina amino transferase (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP), lactato, ácido úrico, amônia, proteínas totais, albumina, soroglobulina, creatina kinase (CK), gamaglutamiltransferase (GGT). Foram calculados as médias, desvio padrão e os intervalos de 95% de confiança para cada parâmetro analisado.

4.3.2. Técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM)

A prova de SAM foi realizada para a detecção de anticorpos anti-leptospira, utilizando-se para tanto, 19 antígenos vivos de culturas de cepas laboratoriais de *Leptospira* spp (Quadro1) mantidos em meio de EMJH (Ellinghausen, MacCullough, Johnson e Harris) enriquecido com o meio de Enrichment (DIFCO).

Quadro 1 - Relação das variantes sorológicas (sorovares) de *Leptospira* spp utilizadas como antígeno na reação de soroaglutinação microscópica (SAM).

VARIANTE SOROLÓGICA (SOROVARES)	CEPAS
Icterohaemorrhagiae	RGA
Copenhageni	M 20
Canicola	Hond Utrecht
Grippotyphosa	Moska V
Australis	Ballico
Bataviae	Van Tienen
Celledoni	Celledoni
Cynopteri	C3522C
Javanica	Veldrat Batavia 46
Panamá	CZ 214
Pyrogenes	Salinem
Hardjo	Hardjoprajitno
Saxkoebing	Mus 24
Shermani	LT 821
Tarassovi	Perepelitsin
Autumnalis	Akiyami A
Hebdomadis	Hebdomadis
Wolffi	3705
Patoc	Patoc 1
Andamana	CH 11
Cuíca	RP 88

4.3.2.1. Preparo dos antígenos de *Leptospira* spp

Os antígenos dos sorotipos das leptospiros foram repicados semanalmente em meio líquido de EMJH (Difco), tendo como inóculo 10% do meio a semear. Foram utilizados apenas antígenos puros que passaram previamente por um controle de qualidade macro e microscopicamente, para determinar a densidade, pureza e auto-aglutinações que são indicadores de contaminantes que interferem na leitura. O controle macroscópico foi realizado por observação a “olho nu” em que é notada uma leve opalescência no meio de cultura, no qual ao agitar levemente o tubo, observa-se o movimento semelhante à fumaça de cigarro e o

exame microscópico foi realizado em microscópio de campo escuro com objetiva de 10X (NIKON-145621, modelo ALPHAPHOT YS2-H) para observar os movimentos das leptospiros e estimativa de densidade contendo cerca de 100 a 200 leptospiros por campo microscópico.

4.3.2.2. Aplicação da técnica de SAM

Realizou-se a diluição de cada soro teste a 1:50 em solução salina tamponada (SST) com pH 7,2 em tubos de 13x100 mm, em seguida procedeu-se uma rápida homogeneização. Utilizando-se placas de poliestireno com 12 colunas e oito linhas totalizando 96 cavidades. Foi acrescentado 50µL de soro diluído previamente em cada poço adicionando-se 50µL de antígeno, atingindo uma diluição de 1:100, em seguida, após breve homogeneização a placa foi incubada em estufa à 37°C por duas horas. Com auxílio de alça bacteriológica retirou-se uma gota da mistura de cada cavidade da placa e colocada em fileiras sobre a lâmina, sendo examinada em microscópio com condensador de campo escuro, com objetiva e ocular de 10X. Durante a leitura foram consideradas as seguintes interpretações conforme o grau de aglutinação no campo visual: 1+ (25% de leptospiros aglutinadas), 2+ (50% de leptospiros aglutinadas), 3+ (75% de leptospiros aglutinadas) e 4+ (100% de leptospiros aglutinadas), sendo que somente foi realizada a titulação para as amostras que aglutinaram de 50 a 100%. A titulação foi realizada a partir da diluição 1:100 em solução salina tamponada com diluições consecutivas e ao dobro, utilizando-se procedimento similar a realização da triagem. Considerando-se como título final a mais alta diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros (BRASIL, 1995).

4.3.3. Teste de Hemaglutinação indireta (HAI)

No teste de HAI os eritrócitos de aves estabilizados, sensibilizados com componentes antigênicos altamente purificados, mostram aglutinação quando reagem com anticorpos contra esses antígenos presentes no soro do paciente.

Nesta análise foram utilizados 94 amostras de soro sanguíneo de primatas utilizado um kit comercial para determinação qualitativa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no soro de primatas pela hemaglutinação indireta Imuno-HAI CHAGAS®.

- **Técnica**

Foi utilizada uma cavidade da microplaca por amostra, incluindo sempre os controles positivo e negativo. As diluições que foram utilizadas estavam na proporção de 1:32 da amostra com a solução diluente com 2-mercaptoetanol. Foram pipetados 25µL dos soros controle positivo, negativo e da diluição 1:32 de cada amostra nas respectivas cavidades da placa e após adicionou-se 25µL da suspensão homogênea de hemácias em cada cavidade. As placas foram agitadas por vibração mecânica (agitador de placas) por 3 a 4 minutos. Em seguida deixadas em repouso por 1 a 2 horas em temperatura ambiente. A leitura efetuou-se quando as hemácias se depositaram no fundo da cavidade formando um botão. Considerando-se a reação positiva quando as hemácias se depositam no fundo da cavidade como um tapete, às vezes com bordas irregulares.

4.3.4. Ensaio imunoenzimático (ELISA)

Para a análise foram utilizadas 92 amostras de soro sanguíneo de primatas utilizado um kit comercial, para determinação qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, usando antígeno recombinante Imuno-ELISA CHAGAS®.

- **Técnica**

As cavidades da placa de microtitulação são cobertas com antígeno recombinante do *T. cruzi* altamente purificado e os soros a serem testados foram diluídos a proporção de 1:25 (20µL do soro + 480µL da sol. diluente) e 125µL do soro diluído e dos controles positivo e negativo foram adicionados nas respectivas cavidades da placa. A placa foi homogeneizada por 15 segundos e incubada a 37°C por 60 minutos. Após foi descartado o conteúdo da placa com lavagem das cavidades três vezes com solução tampão. Em seguida dispensou-se 100µL do conjugado (antigamaglobulina anti-IgG humana marcada com peroxidase) em cada cavidade da placa, homogeneização por 15 segundos e incubação a 37°C por 30 minutos. O conteúdo da placa foi descartado e a mesma lavada três vezes com solução tampão. Posteriormente dispensou-se 100µL do substrato cromogênico (TMB) em cada cavidade da placa com posterior homogeneização e incubação a 37°C por 15 segundos. Passado esse período foi dispensado 100µL de solução stop (ácido clorídrico) em cada cavidade e homogeneização da placa por 30 segundos. A leitura foi realizada por densidade óptica em um leitor de microplaca Multiskan MS Version 8.0 (LABSYSTEMS) com filtro de 450nm. A concentração de anticorpo IgG específico é diretamente proporcional a intensidade da cor da reação.

Os resultados foram obtidos pelo cálculo do “*cut-off*”, para tanto, foi determinado para cada teste e soro controle a densidade óptica (DO) onde:

“*Cut-off*” = Média do soro controle positivo baixo

1,5

Para a validação do ensaio, a média da DO do soro controle positivo baixo deve ser três vezes maior do que a DO do soro controle negativo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM)

Embora a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp já tenha sido descrita em primatas neotropicais em cativeiro, o presente estudo constitui um inédito levantamento sorológico no estado do Pará. Neste estudo foram analisados 84 soros de 11 espécies de primatas neotropicais pela prova de SAM para a pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. (Tabela 6), das quais 35 (41,67%) apresentaram anticorpos anti-leptospira e 49 (58,33%) foram soronegativas como demonstra a figura 2.

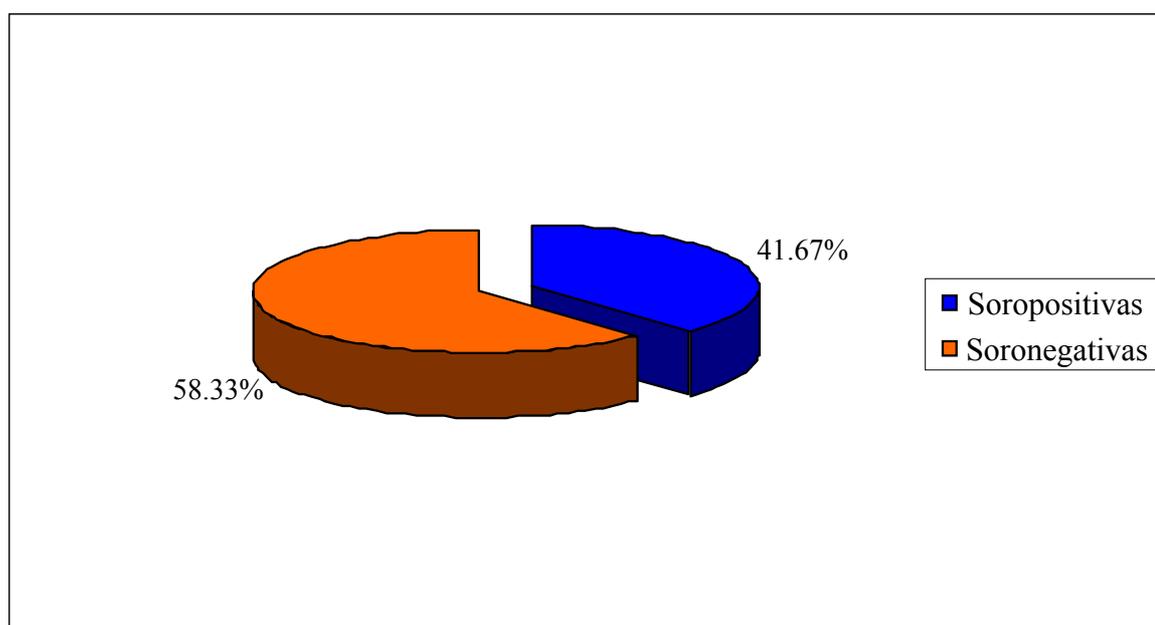


Figura 2 - Percentual de soropositividade e soronegatividade das 84 amostras de soro de primatas neotropicais submetidas à SAM.

A maioria dos relatos encontrados na literatura sobre a pesquisa de anticorpos anti-leptospira utilizando a SAM como teste diagnóstico, refere-se à frequência em animais domésticos (MASCOLLI et al., 2002; SOTO et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; HASHIMOTO et al., 2007), com poucas descrições a respeito de encontro de aglutininas

contra leptospira em animais silvestres (CORREA et al., 2004; GIRIO et al., 2004; ESTEVES et al., 2005; GERRA NETO, 2006).

Algumas citações revelam uma variação da prevalência de anticorpos de 12 a 60% (BAULU et al., 1987; LILENBAUM, 2002; SOUZA JÚNIOR, 2006; GÍRIO et al., 2004; ESTEVES et al., 2005; LILENBAUM, 2005; GUERRA NETO, 2006; ANDRADE, 2007) em primatas do novo mundo.

Dentre os trabalhos realizados com animais silvestres utilizando a SAM como método diagnóstico, destacam-se aqueles feitos por Baulu et al. (1987) que encontraram uma prevalência de 28,5% no soro de 646 primatas da espécie *Cercopithecus aethops sabaesus*. Gírio et al., (2004) que observaram uma prevalência de 20,3% para anticorpos anti-leptospira em amostras sorológicas em espécies silvestres como *Sus scrofa* e *Ozotoceros bezoarticus*. Guerra Neto (2006) avaliou 359 soros sanguíneos de felídeos neotropicais, das quais 46 (12,81%) foram reagentes para o teste de soroaglutinação microscópica (SAM). Esteves et al., (2005) avaliaram 166 animais silvestres, onde 17 (10,24%) tiveram reação positiva para anticorpos anti-leptospira e Andrade, (2007), que avaliando 55 soros de primatas da espécie *Cebus apella* obteve 60% de reação positiva.

Na presente pesquisa, observou-se uma frequência de 41,67%, valor este superior àqueles encontrados em outros trabalhos realizados com primatas silvestres (BAULU, et al., 1987, LILENBAUM et al., 2002/2005, CORRÊA et al., 2004; ESTEVES et al., 2004; LILENBAUM et al., 2005; SOUZA JÚNIOR et al., 2006). Isto pode ser indicativo que apesar destes animais encontrarem-se em cativeiro, os mesmos podem ter tido contato em vida livre com a bactéria e a infecção pode estar sendo mantida entre os animais, fato este citado por Baulu, et al. (1987).

Na tabela 6 estão distribuídas as 84 amostras de primatas neotropicais com o percentual de amostras positivas e negativas para *Leptospira* spp. De 11 espécies utilizadas, a maioria das amostras positivas estava nas espécies de *Cebus apella* 69,23% (9/13), *Callithrix penicillata* 28,57% (4/14), *Saimiri sciureus* 22,73% (5/22) e *Aotus inflatus* 33,33% (5/15), isso se deve ao fato de terem sido utilizadas um maior número de amostras destas espécies em relação às demais, que tiveram entre uma a seis amostras avaliadas, por isso o percentual de positividade encontrado parece ter sido elevado nestas espécies, *Chiropotes satanas* 50% (3/6), *Saguinus niger* 25% (1/4), *Saguinus fuscicollis* 100% (3/3), *Callimico goeldii* 50% (1/2), *Alouatta caraya* 66,67% (2/3), *Alouatta Belzebu* 100% (1/1) e *Pithecia irrorata* 100% (1/1).

Estes resultados diferem da pesquisa feita por Lins; Lopes; Maroja (1986) que avaliaram 16 primatas de variadas espécies em Aripuanã, Mato Grosso, 27 primatas (*Alouatta belzebul*, *Cebus apella*, *Chiropotes satanas*, *Saguinus tamarim* e *Saimiri sciures*) da Serra dos Carajás no Pará e 14 primatas (*A. belzebul*) de Tucuruí no Pará, e constataram que nenhuma amostra reagiu para leptospirose, porém corrobora com resultados de Costa et al. (1969) apud Lins et al. (1986), que encontraram alto percentual de positividade sorológica em símios no Estado do Pará.

Em outro estudo semelhante, Lilenbaum et al. (2002) avaliaram 77 animais silvestres de cativeiro de diferentes espécies, dentre elas, primatas das famílias Callithricidae, Cebidae, Cercopithecidae e Pongidae e encontraram uma reatividade de 37,7% do total das espécies avaliadas, e 22,8% (8/35) de reatividade nos primatas não humanos, percentual inferior ao observado no presente estudo, porém, é importante enfatizar que o número de primatas utilizados nesta pesquisa foi superior em relação ao número de primatas avaliados pelo autor.

Lins; Lopes; Maroja (1986) sugerem que, os primatas não humanos nada mais sejam do que meros hospedeiros eventuais de leptospirosas, sem maior importância para a manutenção do agente infeccioso na natureza. Além disso, embora os animais arbóreos ocasionalmente desçam ao solo, como é o caso dos primatas não humanos, em particular, a possibilidade de tornarem-se infectados é, evidentemente, muito menor que a dos animais terrestres. Mas, para Luna-Alvares et al. (1996) o conhecimento da dinâmica da leptospirose nos ambientes *in situ* é de importância singular para o estudo de surtos e posterior estabelecimento de medidas de vigilância.

Tabela 6 – Número e porcentagem dos soros reagentes e não reagentes para leptospirose na SAM em 11 espécies de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.

Espécies	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	
<i>Saimiri sciureus</i>	5	22,73	17	77,27	22
<i>Callithrix penicillata</i>	4	28,57	10	71,43	14
<i>Cebus apella</i>	9	69,23	4	30,77	13
<i>Aotus infulatus</i>	5	33,33	10	66,67	15
<i>Chiropotes satanas</i>	3	50	3	50	6
<i>Saguinus niger</i>	1	25	3	75	4
<i>Saguinus fuscicollis</i>	3	100	0	0	3
<i>Callimico goeldii</i>	1	50	1	50	2
<i>Alouatta caraya</i>	2	66,67	1	33,33	3
<i>Alouatta Belzebu</i>	1	100	0	0	1
<i>Pithecia irrorata</i>	1	100	0	0	1
TOTAL	35	41,66	49	58,33	84

Na tabela 7 estão descritas a positividade das amostras examinadas de acordo com a espécie e os sorovares reagentes.

Tabela 7 – Número de amostras sorológicas reagentes para os sorovares de *Leptospira* spp na SAM, nas 11 espécies de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.

Espécie	Número de animais reagentes	Sorovares
<i>Saimiri sciureus</i>	5	Andamana/Patoc/Cynopteri
<i>Callithrix penicillata</i>	4	Andamana/Cuíca/Cynopteri
<i>Cebus apella</i>	9	Andamana/Copenhagene/Cynopteri/Patoc
<i>Aotus infulatus</i>	5	Andamana/Cynopteri/Javanica
<i>Chiropotes satanas</i>	3	Andamana/ Cynopteri
<i>Saguinus niger</i>	1	Autumnalis
<i>Saguinus fuscicollis</i>	3	Andamana/Cynopteri/Grippto/Hardjo
<i>Callimico goeldii</i>	1	Cynopteri
<i>Alouatta caraya</i>	2	Andamana/Hebdomadis
<i>Alouatta Belzebu</i>	1	Hebdomadis
<i>Pithecia irrorata</i>	1	Cynopteri
TOTAL	35	-

No que diz respeito às sorovariantes observadas, de 35 amostras positivas, 11 (31,42%) reagiram contra o sorovar Cynopteri, oito (22,85%) foram reagentes para Andamana, seis (17,14%) contra o sorovar Hebdomadis, quatro (11,42%) para Copenhageni, três (8,57%) contra o sorovar Patoc, duas (5,71%) para o sorovar Cuíca, e o restante reagiram para pelo menos um (2,85%) sorovar Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Grippytyphosa e Autumnalis (Figura 3).

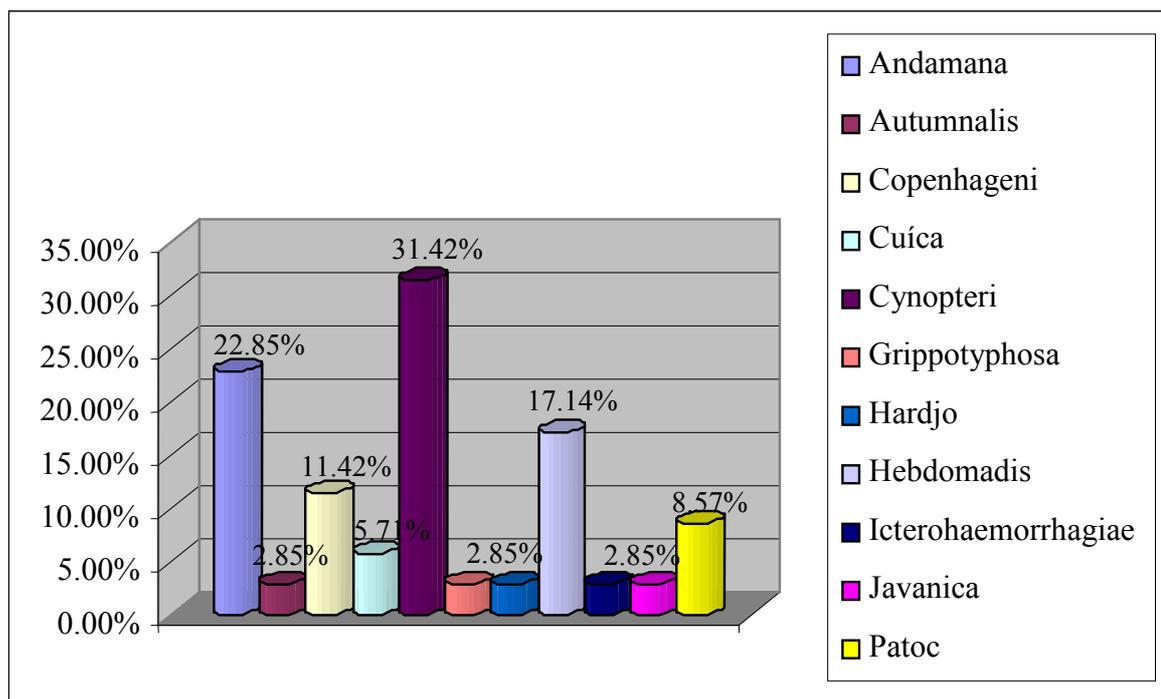


Figura 3 – Percentual para cada sorovar identificado nas amostras de primatas neotropicais avaliadas.

Estes resultados diferem do estudo realizado por Baulu et al. (1987) na Ilha de Barbados em que dos 184 primatas soro-reagentes, observaram que as frequências dos sorovares Icterohaemorrhagiae 16% (27/165) e Autumnalis 15% (24/165), foram superiores, às encontradas no presente estudo que foram de 2,85%.

Corrêa et al. (2004), coletaram 111 amostras sorológicas de primatas não humanos e observaram que 25 (22,5%) foram positivas na prova da SAM, sendo os sorovares mais frequentes: Copenhageni 52% (13/25), Grippytyphosa 8% (5/25), valores estes também superiores aos valores observados para os mesmos sorovares nesta pesquisa que foram 11,42% para Copenhageni e 2,85% para Grippytyphosa.

Em estudo semelhante, Lilenbaum et al. (2005) pesquisaram a leptospirose em primatas (*Leontopithecus* sp) e constataram que 36,4% (4/11) foram reativos para o sorovar

Icterohaemorrhagiae e 63,6% (7/11) para o sorovar Copenhageni, ambos pertencentes ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae, o que contrasta com a presente pesquisa, onde o sorovar Copenhageni teve uma frequência de 11,42% (4/35) e o sorovar Icterohaemorrhagiae foi o menos frequente 2,85% (1/35).

A espécie *C. apella* foi a que apresentou maior frequência de positividade 69,66% (9/15), o sorovar Copenhageni (11,42%) foi encontrado apenas nas amostras destas espécies que apresentaram positividade também para os sorovares Andamana, Hebdomadis e Patoc.

Corrêa et al. (2004), avaliaram primatas da espécie *C. apella* e observaram que 34% (16/47) foram positivos e o sorovar mais frequente para a espécie foi o Copenhageni (68,70%). Estudo semelhante foi realizado por Andrade (2007), que avaliou 55 primatas da espécie *C. apella*, porém diferente do observado no presente estudo, o sorovar Andamana obteve maior frequência que o sorovar Copenhageni.

Diferente das pesquisas citadas acima, os sorovares mais prevalentes foram Cynopteri 31,42% (11/35) e Andamana 22,85% (8/35), revelando que, de alguma forma, estes animais obtiveram maior contato com o sorovar Cynopteri, seja no ambiente selvagem ou em cativeiro pelo contato com os animais possivelmente infectados, uma vez que de acordo com Minette et al., (1966) os animais mantidos em condições de cativeiro podem ser expostos a diferentes sorovares, podendo ser infectado por um sorovar incomum.

Dentre as 35 amostras positivas, constatou-se que os machos tiveram maior frequência 62,86% (22/35) do que as fêmeas 37,14% (13/35), como se observa na figura 4 e tabela 8.

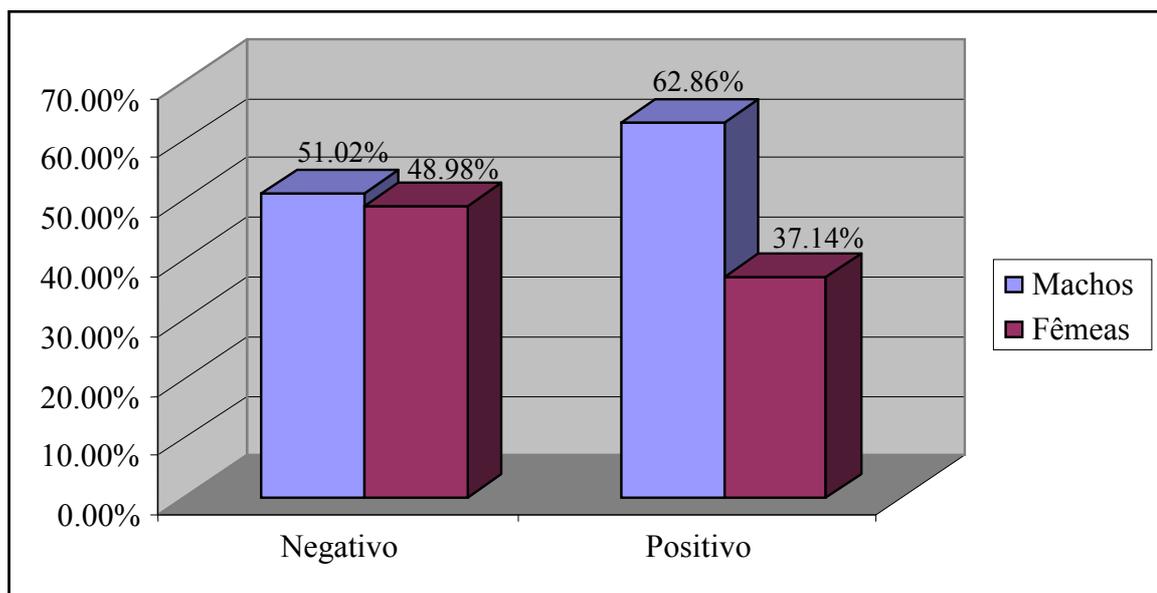


Figura 4 - Frequência de amostras negativas e positivas para anticorpos anti-leptospira, obtidos pela SAM de acordo com o sexo.

A diferença da positividade a leptospiros relacionadas ao sexo foi documentada na pesquisa realizada por Baulu et al. (1987) em que os autores examinaram 646 primatas não-humanos, encontrando uma maior frequência nos machos 29,6% (99/334) que nas fêmeas 27,2% (85/312). Andrade (2007), também observou em seu estudo maior frequência de reatividade nos machos, 43,64% (24/55) do que nas fêmeas, 16,36% (9/55). Estes estudos corroboram com a presente pesquisa, onde a proporção de animais reagentes também foi superior nos primatas do sexo masculino que nos do sexo feminino, entretanto, isto provavelmente deve-se ao fato que a quantidade de amostras avaliadas pertencentes ao sexo masculino foi superior às amostras de primatas do sexo feminino, não podendo revelar uma associação da positividade com a faixa etária.

Tabela 8 – Número e porcentagem de amostras reagentes a *Leptospira* spp. na SAM de acordo com a espécie e o sexo de primatas neotropicais mantidos em cativeiro, Belém, 2009.

Espécies	Total de animais reagentes		Machos		Fêmeas	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Saimiri sciureus</i>	5	22,73	1	20	4	80
<i>Callithrix penicillata</i>	4	28,57	3	75	1	25
<i>Cebus apella</i>	9	69,23	7	77,78	2	22,22
<i>Aotus infulatus</i>	5	33,33	5	100	0	0
<i>Chiropotes satanas</i>	3	50	1	33,33	2	66,67
<i>Saguinus niger</i>	1	25	1	100	0	0
<i>Saguinus fuscicollis</i>	3	100	1	33,33	2	66,67
<i>Callimico goeldii</i>	1	50	1	100	0	0
<i>Alouatta caraya</i>	2	66,67	1	50	1	50
<i>Alouatta belzebu</i>	1	100	1	100	0	0
<i>Pithecia irrorata</i>	1	100	0	0	1	100
TOTAL	35	41,66	22	62,85	13	37,14

De acordo com Andrade (2007), o maior percentual de positividade pode ocorrer no sexo masculino devido ao comportamento como, por exemplo, percorrer grandes distâncias para migrar para outros grupos para se reproduzirem, assim como ocorre a diferença entre faixas etárias, os adultos são mais susceptíveis do que os jovens. Já com animais de cativeiro, o mais provável é que a infecção ocorra pela presença de animais sinantrópicos portadores de *Leptospira* spp. aos arredores do cativeiro ou mesmo pela ingestão de água ou alimentos

contaminados por estes animais, este fato se torna importante nesta pesquisa pelo fato de o CENP está localizado dentro de uma área de mata (Figura 1) onde existem não apenas símios como também roedores e outros animais de vida livre. Outro fator importante é que alguns animais foram capturados no ambiente silvestre sugerindo que estes podem ter tido contato com a bactéria ainda no meio selvagem.

O título 100 foi o mais prevalente entre as amostras reagentes, ou seja, quatro (25%) reagiram na titulação 200 e o restante 31 (75%) apresentaram título de 100 (figura 5).

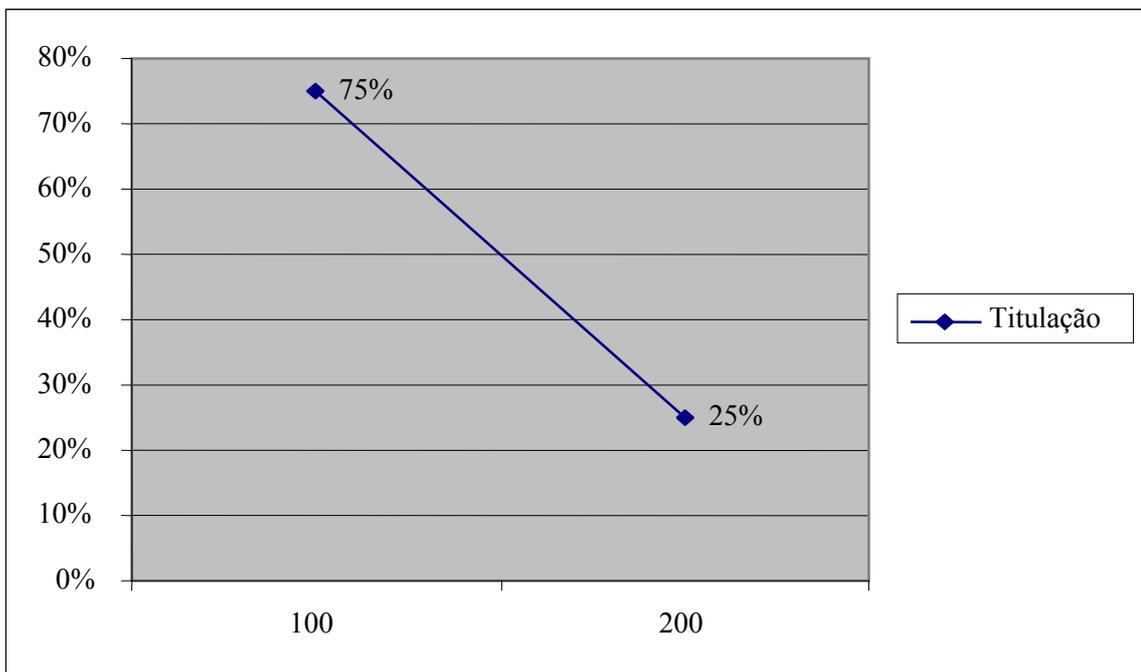


Figura 5 – Demonstra o percentual das amostras para titulação 100 e 200.

Na tabela 9 estão discriminados os resultados da análise das 35 amostras positivas das espécies de primatas examinadas na SAM de acordo com a titulação. As amostras positivas e os sorovares encontrados em cada amostra positiva estão apresentados na tabela do Anexo B.

Tabela 9 – Distribuição das 84 amostras de primatas neotropicais de acordo com a titulação na SAM, Belém, 2009.

Espécies	Título	
	100	200
<i>Saimiri sciureus</i>	5	0
<i>Callithrix penicillata</i>	4	0
<i>Cebus apella</i>	7	2
<i>Aotus infulatus</i>	5	0
<i>Chiropotes satanas</i>	3	0
<i>Saguinus niger</i>	0	1
<i>Saguinus fuscicollis</i>	2	1
<i>Callimico goeldii</i>	1	0
<i>Alouatta caraya</i>	2	0
<i>Alouatta belzebu</i>	1	0
<i>Pithecia irrorata</i>	1	0
Total	31	4

Neste trabalho observou-se uma maior frequência de reatividade na titulação 100 (31/75%). Em contraste com estes achados Baulu et al. (1987), observaram maior frequência de positividade na titulação 200, sendo que em sua pesquisa as amostras utilizadas reagiram até a titulação 6400. Já Lilenbaum et al. (2005), também encontraram maior frequência de positividade na titulação 100, porém estes autores identificaram reações positivas nas titulações 200 até 800 e neste estudo, a titulação máxima foi de 200, com apenas quatro amostras revelando essa titulação (Tabela 9).

Souza Júnior et al. (2006), avaliaram 286 animais de vida livre da espécie *C. apella* e encontraram 46 (16,1%) primatas reagentes com títulos que variaram de 100 a 1600. Da mesma forma, Andrade (2007) avaliou 55 primatas da espécie *C. apella* e constatou positividade para 33 animais (60%), porém com titulação variando entre 20 e 160.

De acordo com Andrade (2007), o percentual de reatividade encontrado foi considerado alto levando em consideração que os animais estudados eram de vida livre possuindo hábito arborícola sendo sua descida ao solo pouco frequente o que diminui o contato com roedores e agentes infecciosos, uma vez que, estudos realizados por Baulu et al. (1987), com animais de vida livre, mostraram que os roedores foram a principal fonte infecção para os animais soropositivos em sua pesquisa.

Levando em consideração o elevado percentual de infecção para os animais de cativeiro utilizados no presente estudo, sugere-se que as possíveis fontes de infecção podem

ter sido a água, contato com roedores sinantrópicos ou com outros primatas de vida livre que se situam nos arredores do criatório.

Quatro animais pertencentes a três espécies apresentaram titulação máxima de 200 para os sorovares Autumnalis, Copenhageni e Hardjo (tabela 10).

Tabela 10 – Número de amostras reagentes na titulação 200 de acordo com os sorovares e as espécies de primatas neotropicais, Belém, 2009.

Espécies	Sorovares		
	Autumnalis	Copenhageni	Hardjo
<i>Cebus apella</i>	-	2	-
<i>Saguinus niger</i>	1	-	-
<i>Saguinus fuscicollis</i>	-	-	1

Os sorovares Autumnalis, Copenhageni e Hardjo que apresentaram titulação máxima de 200, são comumente encontrados em animais domésticos principalmente em rebanhos bovinos (LINS; LOPES; MAROJA, 1986; HOMEM et al., 2001, GIRIO et al., 2004). Em primatas de cativeiro são poucos os relatos sobre estes sorovares causando infecções clínicas, no entanto, Palmer et al. (1986) realizaram uma inoculação experimental em primatas não humanos com o sorovar Hardjo, sendo que os animais inoculados não demonstraram nenhum sinal doença clínica e tão pouco lesões macroscópicas nos tecidos examinados, apesar das leptospiras terem sido demonstradas em vários tecidos pela imunofluorescência e isoladas do sangue, urina e fígado dos animais inoculados, fato este que corrobora com os estudos de Baulu et al (1987) que relataram que a leptospirúria é um achado incomum, porém a enfermidade pode ser transmissível entre os animais, sendo que em primatas não humanos são raros e frequentemente segue um curso benigno.

De acordo com Minnette (1966) e Faine (1999) o diagnóstico da leptospirose em primatas é mais difícil do que em outras espécies porque os sinais clínicos e lesões são menos evidentes e a resposta de anticorpos só é detectada por curtos períodos de tempo. Isso pôde ser comprovado por Andrade (2007) que encontrou reação positiva para o sorovar Hardjo em um primata da espécie *C. apella* de vida livre e também não observou presença de sintomatologia, o mesmo ocorreu com os outros sorovares encontrados pelo autor. Estes achados corroboram com o ocorrido na presente pesquisa, na qual, os animais apresentaram a infecção, mas nenhum apresentou sintomatologia clínica.

5.2. HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA (HAI)

Das 94 amostras avaliadas, uma fêmea da espécie *Saguinus niger* foi positiva para a presença de anticorpos anti-*T. cruzi*, como demonstra a figura 5 e 6.

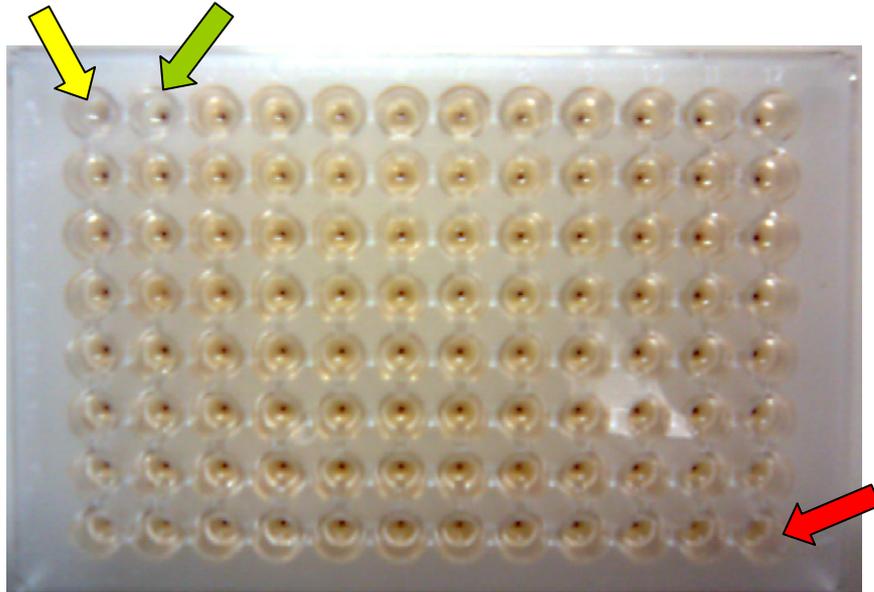


Figura 6 – Demonstração da reação de Hemaglutinação.

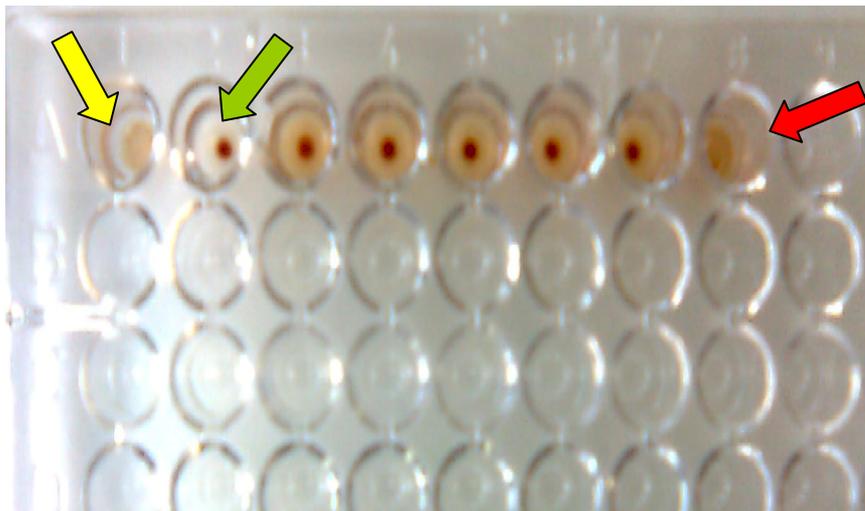


Figura 7 – Repetição da reação de HAI de seis amostras incluindo a amostra positiva no primeiro teste.

→ Controle positivo. → Controle negativo. → Amostra positiva.

De acordo com a literatura, o emprego de Kits comerciais como HAI e ELISA, são mais amplamente utilizados para primatas humanos, sugerindo-se sempre a combinação de duas técnicas sorológicas de princípios diferentes, para a obtenção de um resultado mais seguro, porém, o teste de HAI possui limitações devido a resultados falso-positivos em virtude de determinantes antigênicos comuns entre o *T. cruzi* e outros parasitas, particularmente *Leishmania* (LUQUETTI; RASSI, 2000; LEIBY et al., 2000; CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS, 2005). Além disso, estudos têm revelado superioridade quando comparam o ELISA recombinante com outras técnicas sorológicas (BARROS DA ROCHA, 2002; GADELHA, 2003).

Os trabalhos com pesquisa de *T. cruzi* envolvendo sorologia em animais silvestres e domésticos ainda são escassos. A maioria das pesquisas com animais geralmente é realizada com métodos diagnósticos como esfregaços sanguíneos corados, hemocultura e xenodiagnóstico, sendo mais eficiente na fase aguda da doença (KISTNER; HANSON, 1969; VALENTE, 1999; ZICCARDI et al., 2000; VALENÇA; OLIVEIRA; CRUZ, 2004).

No presente estudo foi utilizado apenas a sorologia associada a exames complementares como hemograma e bioquímica sérica, levando-se em consideração o fato de os animais estarem em cativeiro por longo período descartando a utilização do esfregaço sanguíneo, pois não havia infecção aguda, já que estes animais apresentavam sem sintomatologia e em boa condição de saúde.

5.3. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

Pela técnica de ELISA 92 amostras mostraram-se negativas para anticorpos anti-*T. cruzi*, resultado este baseado na leitura das densidades ópticas das amostras (figuras 7 e 8). Apesar de uma amostra positiva na HAI, o teste de ELISA, demonstrou que todas as amostras foram negativas, uma vez que as densidades ópticas das amostras avaliadas foram menor que o “*cut-off*” (1,011) calculado pelas médias dos soros controle positivo baixo, conforme preconizado pelo kit comercial. Os valores das DO no teste ELISA estão demonstrados na figura 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.045	2.765	0.048	0.061	0.047	0.050	0.110	0.046	0.070	0.048	0.051	0.048
B	1.522	1.510	0.055	0.056	0.048	0.054	0.048	0.052	0.070	0.196	0.064	0.053
C	0.048	0.050	0.048	0.058	0.049	0.329	0.073	0.074	0.048	0.052	0.053	0.054
D	0.047	0.048	0.066	0.198	0.051	0.049	0.065	0.211	0.050	0.051	0.047	0.048
E	0.050	0.051	0.051	0.053	0.053	0.050	0.063	0.206	0.067	0.051	0.047	0.056
F	0.045	0.051	0.049	0.049	0.051	0.062	0.049	0.061	0.047	0.051	0.051	0.046
G	0.055	0.065	0.158	0.045	0.093	0.051	0.051	0.052	0.055	0.050	0.045	0.011
H	0.050	0.049	0.080	0.059	0.066	0.051	0.053	0.052	0.061	0.056	0.051	0.517

Figura 8 – Valores de DO das amostras de primatas neotropicais mantidos em cativeiro submetidas ao teste de ELISA.

A1: controle negativo; A2: Soro controle positivo alto; B1: Soro controle positivo baixo; B2: Soro controle positivo baixo; H12: Amostra positiva na HAI e negativa no ELISA.

De acordo com a literatura, pode-se dizer que o teste de ELISA leva vantagem em relação à HAI e a RIFI, pelo fato de que o resultado é a expressão direta da capacidade de ligação de anticorpos de uma forma contínua e não por titulação. A intensidade da cor indica a quantidade de anticorpos existente na amostra de soro e embora tenha sensibilidade variável, possui elevada especificidade (CAMARGO, 1987). Portanto, foi a técnica sorológica escolhida para confirmar o resultado obtido na HAI.

Na pesquisa sorológica realizada por Coura et al. (1999) em amostras de pacientes humanos na região Amazônica, observamos que o ELISA também foi utilizado como teste confirmatório para as reações positivas em 89 de 710 amostras obtidas no ano de 1991 e em 89 de 658 amostras obtidas no ano de 1993 as quais foram positivas no teste de RIFI e confirmou ainda 117 de 886 amostras obtidas no ano de 1997 positivas no teste de aglutinação. Em contraste com os autores, no presente estudo o ELISA não confirmou a positividade da única amostra positiva no teste de HAI, resultado este que pode ter relação com o fato de se tratar de amostras de primatas não humanos.

Em estudos posteriores, Gadelha (2003) utilizou em sua pesquisa um teste ELISA recombinante, um teste ELISA convencional e o teste de HAI para detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* em amostras sorológicas de 287 pacientes humanos, visando estabelecer a combinação de dois testes que pudessem reduzir o número de resultados inconclusivos. Desses pacientes, 112 eram chagácicos, 143 não chagácicos e 43 pacientes com outras doenças infecto-parasitárias como, sífilis (n=11), vírus da hepatite C HCV (n=7), vírus da

imunodeficiência humana – HIV (n=9) e leishniose cutânea – LC n=5). O autor concluiu que a combinação do ELISA recombinante e ELISA convencional foi mais eficiente, diminuindo o número de resultados inconclusivos, ao contrário do ocorreu quando houve a combinação com o teste de HAI. O autor também observou que o número de falso-negativos foi superior no teste de HAI que também apresentou reação cruzada com as outras infecções o que não foi observado com os testes ELISAs.

Concordando com Gadelha (2003), no presente estudo pode ter ocorrido um falso-positivo no teste de HAI uma vez que a sensibilidade do mesmo é inferior à sensibilidade do Teste de ELISA. Porém, apesar de o teste ELISA ter invalidado o resultado positivo obtido na HAI, é interessante que se repita a avaliação do soro positivo, por uma técnica mais específica como a técnica de PCR, ou que se use um teste ELISA utilizando um conjugado da espécie em questão (primata não humano), já que, o teste utilizado no presente estudo foi padronizado para espécie humana, podendo neste caso, ter ocorrido um problema de “*cut-off*”, pois como pôde-se observar na figura 6, a amostra que foi positiva na HAI, obteve coloração muito semelhante ao soro-controle positivo no teste ELISA, mas o “*cut-off*” da amostra (0,517) foi menor o “*cut-off*” do teste (1,011), o qual estabeleceu a amostra como negativa.

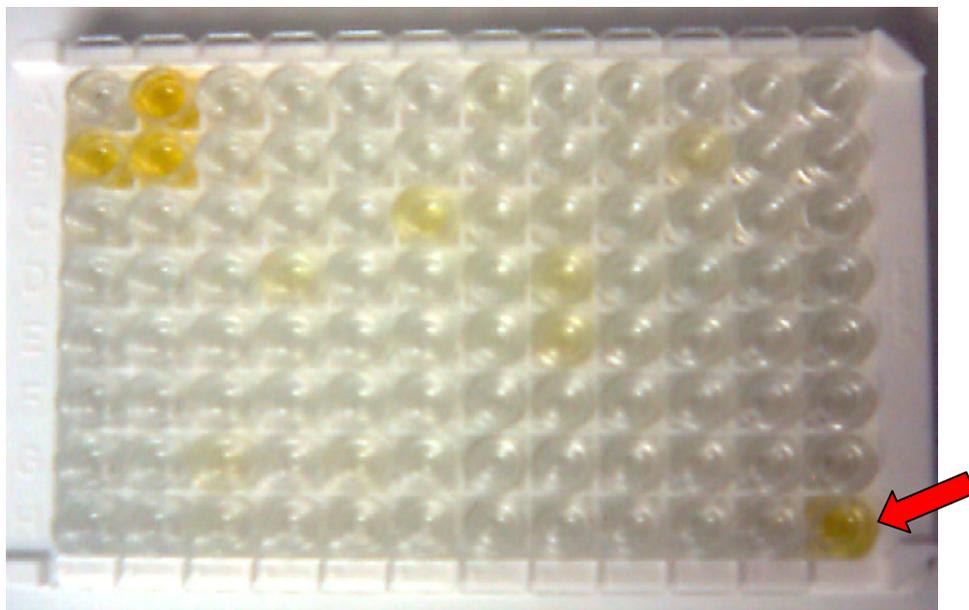


Figura 9 – Demonstração da reação obtida nas amostras de primatas neotropicais mantidos em cativeiro submetidas ao teste de ELISA.

→ Amostra negativa no teste de ELISA e positiva no teste de HAI.

Valente et al. (2005) realizaram uma pesquisa sorológica com 313 amostras sanguíneas de pacientes humanos e confirmaram 29 casos agudos, para tanto os autores também utilizaram o teste de HAI, porém, o combinaram com o teste de RIFE, os quais foram

confirmados por testes parasitológicos como xenodiagnóstico e hemocultora, demonstrando que o teste HAI pode ser utilizado para diagnóstico de infecção pelo *T. cruzi* desde que combinado a outro teste sorológico. No entanto, diferente dos achados desses autores, a presente pesquisa revelou apenas uma amostra positiva pelo teste de HAI, a qual mostrou-se negativa no teste de ELISA, mas essa diferença pode está associada ao número de amostra avaliadas neste estudo que foram apenas 92.

De acordo com o Brasil (2008), a doença de Chagas consta na lista de diagnóstico diferencial da leptospirose na forma ictérica, mais isso ocorre devido à semelhança de sintomas dessas doenças, descartando a hipótese de reação cruzada uma vez que, trata-se de agentes de classes distintas (bactéria e protozoário). O que pode estar ocorrendo neste caso é uma co-infecção desse animal, uma vez que a mesma amostra foi positiva para SAM com titulação 200.

5.4. ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Todos os animais utilizados no estudo apresentavam-se clinicamente sadios. Os resultados dos exames hematológicos e da bioquímica sérica estão demonstrados nas tabelas apresentadas nos anexos C a N. Com relação aos animais que tiveram reação na titulação 200 para anticorpos anti-leptospira os resultados estão dispostos nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11 - Valores Hematológicos das espécies *C. apella*, *S. niger* e *S. fuscicollis* que apresentaram titulação 200 na SAM, Belém, 2009.

Parâmetro	<i>Cebus apella</i>		<i>Saguinus niger</i>	<i>Saguinus fuscicollis</i>
	A	B	C	D
Hematócrito (%)	42,70	38,60	39,80	40,90
Hemácias ($\times 10^6$ /mm ³)	5.070,000	5.120,000	4.780,000	4.820,000
Hemoglobina (g/dl)	13,20	12,40	12,20	12,60
MCV (μ^3)	84,20	75,40	83,30	84,90
MCH (ug)	26,00	24,20	25,50	26,10
MCHC (%)	30,90	32,10	30,70	30,80
Leucócitos ($\times 10^3$ /mm ³)	6.300	5.900	6.600	7.600
Basófilo (%)	0	0	0	0
Eosinófilo (%)	10	2	6	2
Mielócito (%)	0	0	0	0
Metamielócito(%)	0	0	0	0
Bastões (%)	0	0	0	0
Segmentados (%)	36	39	37	58
Linfócitos (%)	53	58	57	40
Monócitos (%)	1	1	0	0

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Os valores hematológicos e bioquímicos descritos nas tabelas 11 e 12 são referentes às amostras que foram positivas para anticorpos anti-leptospira, reagindo na titulação 200, sendo dois machos da espécie *C. apella*, reativos para o sorovar Copenhageni, uma fêmea da espécie *S. niger*, positiva para o sorovar Autumnalis e um macho da espécie *S. fuscicollis*, positiva para o sorovar Hardjo.

Tabela 12 - Valores bioquímicos das espécies *C. apella*, *S. niger* e *S. fuscicollis* que apresentaram titulação 200 na SAM, Belém, 2009.

Parâmetro		<i>Cebus apella</i>		<i>Saguinus niger</i>	<i>Saguinus fuscicollis</i>
		Amostras 37	/ 40	Amostra 11	Amostra 01
Glicose	mg/dl	66	84	127	226
Uréia	mg/dl	9	11	10	17
Colesterol	mg/dl	155	176	-	72
Triglicerídeos	mg/dl	41	54	110	426
Creatinina	mg/dl	0,9	0,9	0,5	0,5
Bilirrubina total	mg/dl	0,3	-	1,2	0,4
TGP	U/L	85	63	14	21
TGO	U/L	81	37	224	185
Proteína Total	gd/l	7,9	8,2	-	6,5
Albumina	gd/l	3,7	4,1	-	4,4
Soro/globulina	gd/l	4,2	4,1	-	2,1
Creatina kinase	U/L	226	195	-	355
GGT	U/L	110	199	-	56

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase.

Confrontando esses resultados com a positividade da leptospirose, as espécies *C. apella*, *S. niger* e *S. fuscicollis* que apresentaram título 200 na SAM não foram identificadas alterações nos valores hematológicos e bioquímicos do sangue desses animais que indicassem infecção, pois os parâmetros estavam de acordo com os parâmetros considerados normais na literatura (NAVARRO; PACHALY, 1994; LARSSON et al., 1997; RIVIELLO; WIRZ, 2001; NAVES et al., 2006; VERONA; PISSINATTI, 2006; SOUZA JUNIOR, 2007), exceto a glicemia que foi observada em algumas espécies de *Saguinus*, mas isso pode estar relacionado com outros fatores como alimentação rica em glicose, porém, não houve associação entre o título e a os valores sangüíneos estudados. O mesmo ocorrendo com os demais primatas avaliados que reagiram com título 100.

Com relação à doença de Chagas, pode ocorrer anemia e leucocitose por linfocitose em pacientes humanos chagácicos (MELLO; ASSUREUY, 2004). Dados semelhantes foram obtidos por Pinto et al. (2008), que observaram em sua pesquisa que as principais alterações hematológicas em pacientes chagácicos humanos foram: anemia e linfocitose, mas observaram também leucopenia e plaquetopenia em alguns pacientes, tendo considerado tais alterações como alterações inespecíficas encontrada na fase aguda da doença. Na pesquisa em questão, não foi observado alteração no nível de linfócitos totais, assim como, não foi observado alteração nos demais parâmetros hematológicos avaliados (Tabela 12). Porém, deve-se levar em consideração que esta pesquisa foi realizada com primatas não humanos e os parâmetros observados podem conter variações.

De acordo com Ferreira Neto; Viana e Magalhães (1978), as enzimas no soro ou no plasma, como ALT e AST, aumentam a atividade quando há colestase ou indução por droga ou qualquer evento que induza lesão hepática. Isso não foi observado nas amostras avaliadas no presente estudo, uma vez que, os níveis destas enzimas foram considerados dentro dos parâmetros normais.

É importante ressaltar que, casos de leptospirose em primatas não-humanos são raros e frequentemente segue um curso benigno. Portanto, os anticorpos podem ser estabelecidos após uma infecção inaparente mais antiga (MINNETTE, 1966), o que provavelmente deve estar ocorrendo com os animais avaliados neste estudo.

Casos de doença de Chagas em primatas neotropicais são raros, porém deve-se lembrar que os mesmos atuam como reservatórios do *T. cruzi* no ambiente silvestre (DEANE, 1964).

No entanto, de acordo com Lisboa (2008), estudos recentes demonstram que a ocorrência de infecção natural por *T. cruzi* em primatas não-humanos é mais comum quando estes se encontram no ambiente silvestre. Porém a infecção por este agente também é bastante freqüente em diferentes espécies de primatas mantidos e/ou nascidos em cativeiros, o que já foi observado em Centros de Primatologia, Centros de Triagem, Centro de Estudo e Manejo de Animais Silvestres e Zoológicos particulares.

Ainda de acordo com o autor, independente da via de transmissão pelas quais os animais se infectam, a questão a ser considerada é o risco ambiental, já que a maioria desses centros de manejo utiliza técnicas de re-introdução, fazem intercâmbio de exemplares e ainda recebem animais provenientes de apreensões realizadas pelo IBAMA em todo o país. Esse fato justifica a necessidade de exames parasitológicos e sorológicos em animais que são mantidos em cativeiro e/ou submetidos a qualquer tipo de manejo e todo animal re-introduzido ou translocado deve ser monitorado, uma vez que primatas neotropicais podem agir como sentinelas da emergência e/ou reemergência de doenças infecciosas.

Por isso, pesquisas mais aprofundadas futuramente deverão ser realizadas com os primatas cativos do CENP, assim como com aqueles que vivem livres na mata que cerca o CENP, para verificar se estes animais podem estar atuando como sentinelas não só da doença de Chagas e da leptospirose, mas também de outras doenças infecciosas.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos existe a infecção por *Leptospira* spp. no criatório, com uma frequência alta de anticorpos contra este agente nos primatas neotropicais de cativeiro.

Os sorovares encontrados estão de acordo com os achados na literatura com maior frequência para *Cynopteri*, *Andamana* e *Hebdomadis*.

A titulação encontrada na maioria das amostras avaliadas foi 100, isto pode ser indicativo que apesar destes animais encontrarem-se em cativeiro os mesmos tiveram contato em vida livre com a bactéria e a infecção pode estar sendo mantida entre estes animais.

Houve uma reação positiva para anticorpos anti-*T. cruzi* na técnica de HAI. Porém no ELISA todas as amostras foram negativas.

Os testes de HAI e ELISA podem ser utilizados para diagnóstico em primatas neotropicais, porém, recomenda-se a utilização de kits padronizados para a espécie em questão visando-se fechar o diagnóstico de infecção com precisão.

Com relação aos parâmetros hematológicos e bioquímicos, não houve alterações que indicassem uma possível infecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales: Doença de Chagas**. 2 ed. Organização Panamericana de la Salud. Washington D.C – Publicación Científica n° 503, p. 112-120. 1986.

ACHA, P.N.; SZYFRES. B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: Leptospirose**. 2 ed. Organización Panamericana de la Salud. Washington D.C – Publicación Científica n° 503, p.590-600. 1986.

ADLER, Ben; DE LA PENÃ MOCTEZUMA, Alejandro., **Leptospira and leptospirosis**. Vet. Microbiol. (2009). doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.012. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/vetmic>>. Acesso em: 15 mai 2009.

AGUIAR, D.M. et al. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.59, n.1, p.70-76, 2007.

ALVARES, C.J. et al. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos sororeatores para leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.63, n.2, p.11-8, 1996.

ANDRADE, T.M. **Títulos De anticorpos contra *Leptospira* spp. e análise bioquímica no soro sanguíneo de Macaco Prego (*Cebus apella nigrinus*)**. 2007. 62 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, 2007.

ÁVILA, M.O. et al. Aglutininas anti-leptospíricas em cães na área de influência do Centro de Controle de Zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28. p.107–110, 1998.

BARROS DA ROCHA, W.M. **Avaliação de um teste Elisa recombinante para diagnóstico da doença de Chagas em bancos de sangue**. 2002. 89 f. Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Federal de Pernambuco – UFP, 2002.

BAULU, J.; EVERARD, C.O.; EVERARD, J.D. Leptospire in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops Sabaeus*) on Barbados. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n.1, p. 60-66, 1987.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação nacional de saúde. Centro Nacional de epidemiologia. Coordenação de controle de zoonoses e animais peçonhentos. **Manual de Leptospirose**, 2ª. ed. Ref. - Brasília, 1995. 98 p.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6 ed. Brasília, 2005. 816p.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Nota técnica: Doença de Chagas aguda**. 2007. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/arquivos/pdf/notachagas091007.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2007.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Casos de leptospirose, Brasil**. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/leptoscasos.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2007.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. **Doenças Infecciosas e Parasitárias de importância na saúde pública**. Guia de Bolso. 7 ed. rev. Brasília, 2008. 374p.

CARNEIRO, Milton. História da doença de Chagas. Curitiba: s.n., 1963. 91p. Disponível em: <<http://carloschagas.ibict.br/doenca/sec/aspecthis.html>>. Acesso em: 15 mai. 2008.

CAMARGO, M. E. Fluorescent antibody test for the diagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo v.8, p. 227-234, 1966.

CAMARGO, M.E. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. **Ars. Cvrandi. Cardiologia**, v. 9, p. 29-38, jan-fev. 1987.

CARTA AO EDITOR. Eliminação da transmissão da Doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* o Brasil: um fato histórico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n.5, set./out. 2006.

CERISOLA, J.A.; CHABEN, M.F.; LAZZARI, J.O. Test de hemaglutinación para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. **Prensa Médica Argentina**, v. 49, p. 1761-1767. 1962.

CERISOLA, J.A. et al. El xenodiagnóstico. Normalización. Utilidad. **Imprenta Instituto Nacional de Investigaciones Cardiológicas**. Buenos Aires, p. 127. 1974.

CHIARI, E.; BRENER, Z. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo, v. 8, n.3, p. 134-138, mai-jun. 1966.

CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Consenso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Vol. 38 (Suplemento III), Brasília, 2005. 30p.

CORDEIRO, F. et al. Aglutininas antileptospira em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 10, p. 9-19, 1975.

CORRÊA, S.H.R. et al. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.3, p.189-193, 2004.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos: Leptospirose**. 2 ed. Rio de Janeiro, Medsi, 1992, p. 219-225.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos: Tripanossomoses**. 2 ed. Rio de Janeiro, Medsi, 1992, p. 721-730.

CORTÊS, J.A. Aspectos epidemiológicos e ecológicos da leptospirose. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro. Ministério da Saúde. Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Nacional da Saúde, 1993. p. 53-57.

COSTA, E. et al. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.3, p. 261-267, mai-jun. 2001.

COURA, J.R. et al. Chagas' Disease in the Brazilian Amazon: I. A short review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo, v. 36, p. 363-368, jul-ago. 1994.

_____, J.R.; NARANJO, M.A.; WILLCOX, H.P.F. Chagas' Disease in the Brazilian Amazon: II. A serological survey (1). **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 103-107, mar-abr. 1995.

_____, J.R. et al. Chagas Disease: from Bush to Huts and Houses. Is it the Case of the Brazilian Amazon?. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, Suppl. I, p. 379-384, 1999.

_____, J.R. et al. Emerging Chagas disease in Amazônia Brasil. **Trends in Parasitologia**, v. 18, p. 171-176, abr. 2002.

_____, J.R. Tripanosomose, doença de chagas. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n.1, p. 1-7, 2003.

DEANE, L. M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 16, p. 27-48, jan-mar. 1964.

DEANE, P.; JANSEN, A.M. Another Trypanosoma, distinct from *Trypanosoma cruzi* multiplies in the lumen of the anal glands of the opossum *Didelphis marsupialis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 131-132, 1986.

DELAPORTE, F. Chagas e a lógica da descoberta. **História, Ciências, Saúde: Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 39-53, nov. 1994/fev. 1995.

DELBEM, A. C.B. Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 847-852, mai-jun. 2004.

DIAS, E. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 28, n. 1, p. 1-110. 1934.

DIAS, E. Xenodiagnóstico e Algumas Verificações Epidemiológicas na Moléstia de Chagas. In: **IX Reunião da Sociedade de Patologia Regional**, Buenos Aires, v.1, p. 89-119.

DIAS, J.C.P.; BORGES DIAS, R. Aspectos sociais, econômicos e culturais da doença de Chagas. **Ciência e Cultura**, v. 31 (supl), p. 105-118, 1979.

_____, J.C.P; JATENE, A.D. Doença de Chagas no Brasil: situação atual e perspectivas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, p. 6-8, 1992

_____, J.C.P; COURA, J.R. Epidemiologia. In: DIAS, J.C.P; COURA, J.R. (Org). **Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral**, Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 33-66, 1997.

_____, J.C.P. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 370-375, jul-ago. 2006

DIAZ-UNGRÍA, C. Transmission del *Trypanosoma cruzi* en los Vertebrados. **Revista Ibérica de Parasitología**, v. 25, p. 1-44, 1965.

ESTEVES, F.M. et al. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do Zoológico Municipal de Uberaba, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 283-288, jul-set. 2005.

FAINE, E.D. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva, World Health Organization (WHO offset publication n° 67), 1982. 171p. FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2° ed. Melbourne. Medisci, 1999, 272p.

FARIAS, T. M.; SILVA, L.H.R.; PIMENTEL, T.L. Incidence of leptospirosis in giant otters at the FUNPEB (Brasilia Pole Ecological Foundation - Brazil). In: BIENNIAL CONFERENCE ON THE BIOLOGY OF MARINE MAMMALS, 23., 1999, Hawai. **Anais...**Hawai: The Society of Marine Mammology, Wailea, Maui, Hawai, 1999.p.55

FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. **Patologia Clínica Veterinária**. Belo Horizonte: Ed. Rabelo e Brasil, 1978. 279p.

FIFE, E.H.; MUSCHEL, L.H. Fluorescent antibody technic for serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. **Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 101, p. 540-543, jul. 1959.

FIGUEIREDO, C.M. et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Revista da Sociedade brasileira de Medicina tropical**, v. 34, p. 331-338, 2001.

GADELHA, A.A.M. **Avaliação do desempenho do “Kit” EIE-Recombinante-Chagas-Biomanguinhos frente ao ELISA Convencional e ao Teste de Hemaglutinação Indireta**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Departamento de Saúde Coletiva do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ/MS. Recife, 2003.

GIORGI, W. et al. *Leptospira interrogans*, sorotipo Wolffii, isolada de camundongo capturado no Porto de Santos, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 50, n.12, p. 295-297, 1984.

GIRIO, R.J.S. et al. Pesquisa de infecção por *Leptospira interrogans* em animais da região de Nhecolândia, no Pantanal do Mato Grosso do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.65 (Supl.), p.87, 1999.

GIRIO, R.J.S. et al. Pesquisa de anticorpo contra *Leptospira* spp. Em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. Utilização da Técnica de imunohistoquímica para a detecção do agente. **Ciência Rural**, Santa Maria, V. 34, n.1, p. 165-169, jan-fev, 2004.

GREENE, Craig E. Infectious diseases of the dog and cat. 2º ed. Philadelphia, **W.B Saunders Company** 1990, p.98-507.

GUERRA NETO, G. **Freqüência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil**. 2006. 62 F. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, 2006.

HASHIMOTO, V.Y. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina tropical**, São Paulo, v. 49, n.5, p. 327-330, sept-oct. 2007.

HERRERA, Leidi; URDANETA-MORALES, Servio. ***Trypanosoma cruzi*: patologia em reservatórios silvestres**. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro-Brasil. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=31>> Acesso em: 16 jan. 2008.

HODGIN, C. et al. Leptospirosis and coccidial infection in a guanaco. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 185, n.11, p.1442-1444, dec. 1984.

HOMEM, V.S.F. et al. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.2, p. 173-180, mar-abr. 2001.

Lana, Marta; TafuriA, Washington L. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: NEVES, David P. (Org.). **Parasitologia humana**. 11º Ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p 85-108.

LANGONI, H. et al. Aglutininas antileptospíricas em búfalos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n.2, p. 305-307, abr-jun. 1999.

LARSSON, M.H.M.A. et al. Valores de referência das provas de funções hepática, renal e alguns eletrólitos em *Cebus apella*, anestesiados com cetamina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 257-262, 1997.

LEVETT, P. N. **Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews**, Washington D.C, v. 14, n.2, p. 296-326, 2001.

LILENBAUM, W. et al. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zôo, Brasil. **Research in Veterinary Science**, v. 73, p. 321, 2002.

LILENBAUM, W. et al. Leptospiral antibodies in captive lion tamarim. **The Veterinary Journal**, v. 169, p. 462-464, 2005

LINHARES, G. F. C. et al. Sorovares De *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n.4, p. 255-259, out-dez. 2005.

LINS, A. C.; LOPES, M. L.; MAROJA, O. M. Epidemiologia das leptospiroses com particular referência à Amazônia brasileira. Fundação **Serviços de Saúde Pública. Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical**, Belém, v. 2, p.733-764 1986.

LISBOA, Cristiane Varella. **Reservatórios de vida livre: Primatas**. Ministério da Saúde/Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro - Brasil. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=112>>. Acesso em: 16 jan. 2008.

LUNA-ALVARES, M. A. et al. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. **Veterinária Mexico**, v. 27, n.3, p. 229-234, 1996.

LEIBY, D.A. et al. Serologic testing for *Trypanosoma cruzi*: Comparison of Radiomunoprecipitation Assay with Commercially Available Indirect Immunofluorescence Assay, Indirect Hemagglutination Assay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kits. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 639-642, 2000.

Luquetti, Alejandro O.; Rassi, Anis. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In: BRENER, S., ANDRADE, Z., BARRAL-NETO, M. (org.) **Trypanosoma cruzi e doença de Chagas**. 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan cap.17, 2000, p. 334-378.

KISTNER, T. P.; HANSON, W. L. Trypanosomiasis in white-tailed deer. **Bulletin of the Wildlife Disease Association**, v. 5, p. 398-399, Oct. 1969.

KO, A. I. et al. Urban Epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **The Lancet**, v. 354, n. 4, p. 820-825, sept. 1999.

MASCOLLI, R. et al. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do Município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, p.25-32, 2002.

MAYER, H.F. Infección experimental con *Trypanosoma cruzi* por via digestiva. **An. Inst. Med. Regional** (Tucumán), v. 5, p. 43-48, 1961.

Mello, Liú C.; Assureuy, Samiro. Infecções primária: Doença de Chagas. In: MARGOTTO, Paulo R (Org.). **Assistência ao recém-nascido de risco**. 2ª Edição, Ed. Pórfiro, DF, 2004. cap.12.

MINNETE, H.P. Leptospirosis in primates other than man. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 15, n. 2, p. 190–198, 1966.

MONTEIRO, Rafael Veríssimo. **Reservatórios de vida livre: Infecção natural de *T. cruzi* em primatas: Clínica e Epidemiologia em animais de vida livre**. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro-Brasil. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=112>>. Acesso em: 16 jan. 2008.

NAVARRO, C.E.K.G.; PACHALY, J.R. Técnicas hematológicas. In: _____ **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994. P. 69-71.

NAVES et al. Valores hematológicos de macaco prego (*Cebus apella* – Linnaeus,1758). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 2, p. 125-131, May-Aug. 2006.

NELSON, Richard W., COUTO, C. Guillermo. **Medicina interna de pequenos animais**. 2º. ed., Guanabara Koogan, 2001, p.1002-1003.

NOEL, R., LAMITER, K.S. **An overview of canine leptospirosis**. Disponível em. <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/index.php>. Acesso em: 08 de maio de 2009.

OLIVEIRA, K.M. Alterações teciduais agudas induzidas em ratos *wistar* por *Trypanosoma cruzi*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 86-94, 2007.

PALMER, M.F. et al. Experimental infection of monkeys with *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo. **Epidemiology and Infection**, v. 98, n. 2, p. 191-197, apr. 1987.

PANAFTOSA. Consulta técnica em epidemiologia, prevenção e manejo da transmissão da doença de Chagas como doença transmitida por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 5, set-out. 2006.

PANDEY, R. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. Tradução Masaio M. Shizuka, São Paulo, Roca, 1994, 214p.

PINTO, A.Y.N. et al. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira. Estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 41, n.6, p. 602-614, nov-dez, 2008.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp in humans. **Microbes and Infection**, Paris, v.2, n.1, p.1265-1266. 2000.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 2, p. 92-100, 2001.

PEREGRINE, A.S. Chemotherapy and Delivery Systems : Haemoparasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 54, p. 223-248, aug. 1994.

PEROLAT, P. et al. Occurrence of severe leptospirosis in a breeding colony of squirrel monkeys. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 538-545, 1992.

PORTAL AMAZÔNIA. Ananindeua – Pará. Disponível em <<http://portalamazonia.globo.com/pscript/amazoniadeaaz/artigoAZ.php?idAz=618>>. Acesso em : 12 nov. 2007.

REBÊLO, J.M.M; BARROS. V.L.L.; MENDES, W.A. Espécies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) do Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.14, n. 1, p. 187-192, jan-mar, 1998.

REY, Luís. **Parasitologia**. 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.27-49.

- RIVIELLO, M.C; WIRZ, A. Haematology and blood chemistry of *Cebus apella* in relation to sex and age. **Journal of Medical Primatology**, v. 30, p. 308–312, mar. 2001
- RODRIGUES A.M.A. et al. Isolamento de *Leptospira* spp de cães com diagnóstico clínico de leptospirose em São Paulo (Brasil). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 705-706, 2007.
- ROMERO, E. C. et al. Search for agglutinating antibodies to *Leptospira* and *Leptonema* in horses in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 31, p. 288-294, 1994.
- SÁ, L.R.M. et al. Leptospirose em primatas neotropicais. In: III CONGRESSO E VIII ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE MÉDICOS VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. **Anais...** São Pedro, São Paulo, 1999. p. 7.
- SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirosis in wildlife in Brazil; isolation of a new serotype in the pyrogenes group. **American Journal of Veterinary Research**, v.36, n. 9, p.1363-1365, 1975.
- SCARCELLI, E. et al. *Leptospira* spp detection by polymerase chain reaction (PCR) in clinical samples of captive black-capped capuchin monkey (*Cebus apella*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p. 143-146, 2003.
- SHAW, J; LAINSON, R; FRAIHA, H. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de doença de chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, S. Paulo, v. 3, n. 2, p. 153-157, dez. 1969.
- SHIVE, R. J. et al. Leptospirosis in barbary apes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.155, n.7, p.1776-1778, 1969.
- SILVA, R.A.M.S. et. al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*, Biologia, Diagnóstico e Controle – Curumbá, MS, **Embrapa Pantanal**, 2002. 141p
- SILVA-ZACARIAS, F. G. et al. Leptospirose em primatas não humanos de vida livre da espécie *Alouatta caraya* no município de Porto Rico - PR. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35 (Supl 2), p. 401-402, 2007.
- Silveira, A. C. Profilaxia. In: Z. Brener, Z. A. Andrade & M. Barral Netto, (org.) ***Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999, p. 75-87.

SILVEIRA, A. C. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, V. 16 (Sup. 2), p. 35-42, 2000.

SOSA, G. et al. Investigación sorológica y bacteriológica de leptospirosis realizada en fauna exótica. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, v. 19, n.3, p.219-26, 1988.

SOTO, F.R.M. et al. Comparison of agglutinating and neutralizing antibodies to erovar hardjo in sows immunized with two commercial whole culture polyvalent anti-leptospira bacterins. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 484-488, 2008.

SOUZA JÚNIOR, M.F. et al. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado de Tocantins, 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 292-294, mai-jun, 2006.

SOUZA JÚNIOR, J.C. **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**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007

SULZER, C.R.; JONES, W.L. Leptospirosis: method in laboratory diagnosis. Atlanta: Center for Diseases Control, U.S., **Dept. Health Education and Welfare**, p. 40. 1980.

TALICE, R.V. Enfermidades parasitárias del hombre y parasitos de interes médico. **Ed. Científica do Sindicato Médico del Uruguay**, Montevidel, 1944.

TORRICO, M.R.A. Conocimientos Actuales Sobre la Enfermedad de Chagas en Bolivia. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OPAS)**, v. 29, n. 8, p. 827-840, ago. 1950.

VALENÇA, M.M.; OLIVEIRA, J.B; CRUZ, M.A.O.M. Infecção natural por Trypanosoma sp. em *Callithrix jaccus* de vida livre. **A Primatologia no Brasil**, v. 8, p. 321-325, 2004.

VALENTE, Sebastião A.S. Microepidemia com 28 casos da Doença de Chagas Aguda (DCA) em Santana, AP com provável envolvimento do açaí como veículo de transmissão oral. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 19., 2005, Porto Alegre-RS. **Anais....** Porto Alegre: Centro de Eventos da PCRS, 2005. Disponível em: <<http://www.parasitologia.org.br/congresso2005/parasitologia/>>. Acesso em: 13 mai. 2009.

VALENTE, V.C. **Potencial de domiciliação de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille.1811) (*Hemiptera, Reduviidae, Triatominae*) no município de Muaná, Ilha de Marajó, nordeste do Estado do Pará, Brasil.** 1999. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pará. 1999.

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção das leptospirosas na natureza. **Comunidade Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo**, v.11, n.1, p.17-24, 1987.

VEIGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M.; OLIVEIRA, E.M.D. Aglutininas anti-leptospira em hemossoro de animais domésticos de diferentes espécies, no Estado da Bahia, 1997/1999. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.1, p. 1-6, 2001.

Verona, Carlos E.S.; Pissinatti, Alcides. Primates – Primatas do novo mundo (Sagüi, Macaco-prego, Macaco-Aranha, Bugio. In: CUBAS, Zalmir S.; SILVA, Jean C.R.; CATÃO-DIAS, José L. (Org.), **Tratado de animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, v. 1, 2006, p. 358-377.

VOLLER, A. et al. A microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. **The Lancet**, v. 305, p. 426-429, feb. 1975.

WOHL, J.S. Canine Leptospirosis. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, USA, v. 18, n. 11, p. 1215-1225, 1241, nov. 1996.

ZICCARDI, M. et al. Trypanosomes of non-human primates from the National Cell of primates, Ananindeua, State of Pará, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. V. 95. n. 2, p. 157-159. 2000.

ANEXOS

ANEXO A - Composição da ração fornecida diariamente aos animais do CENP.

a) MEGAZOO P-25 (Específica para Callitricidea)

Energia Metabolizável -----	3.200Kcal/Kg.
Umidade (Máximo) -----	12,00 %
Proteína Bruta (Mínimo) -----	25,00 %
Extrato Etéreo (Mínimo) -----	8,00 %
Matéria Fibrosa (Máximo) --	3,00 %
Matéria Mineral (Máximo) ---	10,00 %
Cálcio (Máximo) -----	1,50 %
Fósforo (Mínimo) -----	0,75 %

b) MEGAZOO P-18 (Específica para Cebidae)

Energia Metabolizável -----	2.800 Kcal/Kg.
Umidade (Máximo) -----	12,00 %
Proteína Bruta (Mínimo) -----	18,00 %
Extrato Etéreo (Mánimo) -----	5,00 %
Matéria Fibrosa (Máximo) --	6,50 %
Matéria Mineral (Máximo) ---	9,00 %
Cálcio (Máximo) -----	1,20 %
Fósforo (Mínimo) -----	0,65 %

ANEXO B - Titulação das amostras e espécies de primatas neotropicais positivos para alguns sorovares de *Leptospira* spp.

Amostras-Espécie	Andamana	Autminalis	Copenhagene	Cuíca	Cynopteri	Grippo	Hardjo	Hebdomadis	Ictero	Javanica	Patoc
01- <i>S. fuscicollis</i>							200				
02- <i>S. fuscicollis</i>	100					100					
04- <i>S. fuscicollis</i>					100						
05- <i>C. goeldii</i>					100						
11- <i>Saguinus niger</i>		200									
19- <i>C. penicillata</i>				100							
20- <i>C. penicillata</i>	100			100							
23- <i>C. penicillata</i>					100						
35- <i>C. penicillata</i>					100						
28- <i>Chiropotes satanas</i>	100										
31- <i>Chiropotes satanas</i>					100						
33- <i>Chiropotes satanas</i>									100		
36- <i>C. apella</i>											100
37- <i>C. apella</i>			200								
38- <i>C. apella</i>			100								
39- <i>C. apella</i>			100								
40- <i>C. apella</i>			200								
41- <i>C. apella</i>	100							100			
42- <i>C. apella</i>								100			
53- <i>C. apella</i>					100						
57- <i>C. apella</i>					100						
45- <i>A. caraya</i>	100							100			
50- <i>A. caraya</i>								100			
48- <i>A. belzebu</i>								100			
51- <i>Pithecia irrorata</i>								100			
62- <i>S. sciureus</i>	100										
65- <i>S. sciureus</i>											100
66- <i>S. sciureus</i>					100						
68- <i>S. sciureus</i>											100
73- <i>S. sciureus</i>					100						
97- <i>Aotus infulatus</i>	100										
98- <i>Aotus infulatus</i>	100										
104- <i>Aotus infulatus</i>					100						
105- <i>Aotus infulatus</i>										100	
106- <i>Aotus infulatus</i>					100						

ANEXO C - Valores Hematológicos de *Saimiri sciureus* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	18	40,67 ± 4,86	38,25 – 43,09	14	36,54 ± 2,43	35,13 – 37,94	32	38,86 ± 4,45	37,26 – 40,46
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	18	6,09 ± 0,47	5,86 – 6,32	14	5,57 ± 0,40	5,34 – 5,80	32	5,86 ± 0,50	5,68 – 6,04
Hemoglobina (g/dl)	18	11,22 ± 0,94	10,75 – 11,69	14	10,76 ± 0,61	10,40 – 11,11	32	11,29 ± 0,89	10,97 – 11,61
MCV (u ³)	18	66,67 ± 4,02	64,67 – 68,67	14	65,65 ± 2,67	64,11 – 67,19	32	66,23 ± 3,48	64,98 – 67,48
MCH (ug)	18	19,21 ± 0,71	18,86 – 19,56	14	19,33 ± 0,70	18,92 – 19,73	32	19,26 ± 0,69	19,01 – 19,51
MCHC (%)	18	28,94 ± 3,28	28,04 – 29,85	14	29,26 ± 1,57	28,36 – 30,17	32	29,07 ± 1,71	28,45 – 29,69
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	18	9,06 ± 4,02	7,06 – 11,06	14	9,43 ± 3,67	7,31 – 11,55	32	9,22 ± 3,82	7,84 – 10,60
Basófilo (%)	18	0	0	14	0	0	32	0	0
Eosinófilo (%)	18	5,11 ± 4,740	2,75– 7,47	14	5,14 ± 5,21	2,13 – 8,15	32	5,13 ± 4,87	3,37 – 6,89
Mielócito (%)	17	0	0	14	0	0	31	0	0
Metamielócito(%)	18	0	0	14	0	0	32	0	0
Bastões (%)	18	0	0	14	0	0	32	0	0
Segmentados (%)	18	47,61 ± 10,84	42,22 – 53,00	14	39,07 ± 8,50	34,17 – 43,98	32	43,78 ± 10,72	39,91 – 47,65
Linfócitos (%)	18	46,50 ± 11,59	40,73 – 52,27	14	55,14 ± 7,16	51,01 – 59,27	32	50,28 ± 10,68	46,43 – 54,13
Monócitos (%)	18	0,89 ± 0,90	0,44 – 1,34	14	0,64 ± 0,74	0,21 – 1,07	32	0,78 ± 0,83	0,48 – 1,08

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO D - Valores Hematológicos de *Callithrix penicillata* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	10	40,35±7,84	34,74 – 45,96	4	36,15±7,13	24,80 – 47,50	14	39,15±7,63	34,75 -43,55
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	10	5,53±1,13	4,73 – 6,34	4	5,08±1,18	3,20 – 6,96	14	5,40±1,12	4,75 – 6,05
Hemoglobina (g/dl)	10	12,00±2,40	10,28 – 13,72	4	10,96±2,49	7,01 – 10,94	14	11,71±2,38	10,34 – 13,08
MCV (u ³)	10	73,04±4,17	70,06 – 76,02	4	71,80±4,22	65,09 – 78,51	14	72,69±4,06	70,35 – 75,03
MCH (uug)	10	21,70±1,42	20,69 – 22,71	4	21,68±1,02	20,05 – 23,30	14	21,69±1,28	20,95 – 22,43
MCHC (%)	10	29,70±1,07	28,94 – 30,46	4	30,20±1,42	27,95 – 32,45	14	29,84±1,14	29,18 – 30,50
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	10	6,00±1,94	4,61 – 7,39	4	4,75±1,50	2,36 – 7,14	14	5,64±1,86	4,57 – 6,71
Basófilo (%)	10	0	0	4	0,75±1,50	1,64 – 3,14	14	0,21±0,80	0,25 – 0,67
Eosinófilo (%)	10	1,20±0,42	0,9 – 1,50	4	1,25±0,50	0,45 – 2,50	14	0,21±0,43	0,96 – 1,46
Mielócito (%)	10	0	0	4	0	0	14	0	0
Metamielócito(%)	10	0	0	4	0	0	14	0	0
Bastões (%)	10	0	0	4	0	0	14	0	0
Segmentados (%)	10	37,90±9,65	30,99 – 44,81	4	50,75±2,99	46,00 – 55,50	14	41,57±10,14	35,72 – 47,42
Linfócitos (%)	10	60,40±10,11	53,17 – 67,63	4	46,25±1,71	43,53 – 48,97	14	56,36±10,75	50,15 -62,57
Monócitos (%)	10	0,50±0,71	0,01 – 1,01	4	1,00±0,82	0,30 – 2,30	14	0,64±0,74	0,21 – 1,07

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO E - Valores Hematológicos de *Aotus infulatus* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	15	76,73±111,30	15,09 - 138,38	0	-	-	15	76,73±111,30	15,09 - 138,38
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	15	5,78±0,28	5,63 – 5,94	0	-	-	15	5,78±0,28	5,63 – 5,94
Hemoglobina (g/dl)	15	15,65±0,64	15,29 – 16,00	0	-	-	15	15,65±0,64	15,29 – 16,00
MCV (u ³)	15	83,09±3,16	81,35 – 84,84	0	-	-	15	83,09±3,16	81,35 – 84,84
MCH (uug)	15	27,09±1,30	26,37 – 27,82	0	-	-	15	27,09±1,30	26,37 – 27,82
MCHC (%)	15	32,61±0,83	32,15 – 33,07	0	-	-	15	32,61±0,83	32,15 – 33,07
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	15	11,35±2,80	9,98 – 13,08	0	-	-	15	11,35±2,80	9,98 – 13,08
Basófilo (%)	15	0,53±0,92	0,03 – 1,04	0	-	-	15	0,53±0,92	0,03 – 1,04
Eosinófilo (%)	15	9,33±6,91	5,50 – 13,16	0	-	-	15	9,33±6,91	5,50 – 13,16
Mielócito (%)	15	0	0	0	-	-	15	0	0
Metamielócito(%)	15	0	0	0	-	-	15	0	0
Bastões (%)	15	0	0	0	-	-	15	0	0
Segmentados (%)	15	39,11±1,61	38,22 – 40,01	0	-	-	15	39,11±1,61	38,22 – 40,01
Linfócitos (%)	15	69,35±2,15	68,16 - 70,54	0	-	-	15	69,35±2,15	68,16 - 70,54
Monócitos (%)	15	0,41±0,17	0,32 – 0,50	0	-	-	15	0,41±0,17	0,32 – 0,50

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO F - Valores Hematológicos de *Cebus apella* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	8	38,80 ± 2,68	35,48 – 42,12	5	29,90 ± 5,19	23,46 – 36,34	13	35,38 ± 5,79	31,88 – 38,88
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	8	5,14 ± 0,52	4,49 – 5,79	5	4,08 ± 0,79	3,09 – 5,06	13	4,73 ± 0,81	4,24 – 5,22
Hemoglobina (g/dl)	8	12,29 ± 0,86	11,22 – 13,36	5	9,70 ± 1,47	7,87 – 11,53	13	11,29 ± 1,69	10,27 – 12,31
MCV (u ³)	8	75,98 ± 7,08	67,19 – 84,76	5	73,58 ± 2,49	70,48 – 76,68	13	75,05 ± 5,72	71,59 – 78,51
MCH (ug)	8	23,76 ± 1,90	21,41 – 26,12	5	24,00 ± 1,43	22,23 – 25,77	13	23,85 ± 1,67	22,84 – 24,86
MCHC (%)	8	31,38 ± 0,67	30,54 – 32,21	5	32,58 ± 0,90	31,46 – 33,70	13	31,84 ± 0,95	31,27 – 32,41
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	8	8,38 ± 2,62	5,13 – 11,62	5	5,40 ± 2,88	1,82 – 8,98	13	7,23 ± 3,00	5,42 – 9,04
Basófilo (%)	8	0	0	5	0,40 ± 0,89	0,71 – 1,51	13	0,18 ± 0,48	0,18 – 0,48
Eosinófilo (%)	8	3,38 ± 2,72	1,10 – 5,65	5	2,60 ± 3,05	1,19 – 6,39	13	3,08 ± 2,75	1,42 – 4,74
Mielócito (%)	8	0	0	5	0	0	13	0	0
Metamielócito (%)	8	0	0	5	0	0	13	0	0
Bastões (%)	8	0	0	5	0	0	13	0	0
Segmentados (%)	8	42,75 ± 14,97	30,23 – 55,27	5	43,40 ± 18,32	20,65 – 66,15	13	43,00 ± 15,78	33,58 – 52,42
Linfócitos (%)	8	52,25 ± 15,78	39,05 – 65,45	5	52,40 ± 17,18	31,07 – 73,73	13	52,31 ± 15,61	42,88 – 61,74
Monócitos (%)	8	1,63 ± 0,06	0,74 – 2,51	5	1,40 ± 0,55	0,72 – 2,08	13	1,54 ± 0,88	1,01 – 2,07

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO G - Valores Hematológicos de *Chiroptes satanas* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	3	41,07±1,90	36,34 – 45,79	3	37,67±2,77	30,79 – 44,54	6	39,37±2,82	36,41 – 42,33
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	3	6,40±0,53	5,08 – 7,72	3	5,61±0,84	3,53 – 7,67	6	6,01±0,76	5,21 – 6,81
Hemoglobina (g/dl)	3	11,80±0,79	9,83 – 13,77	3	10,70±1,01	8,19 – 13,22	6	11,25±1,01	10,19 – 12,31
MCV (u ³)	3	64,30±2,69	57,63 – 70,97	3	67,67±5,69	53,53 – 81,80	6	65,98±4,39	61,37 – 70,59
MCH (uug)	3	18,43±0,31	17,67 – 19,19	3	19,20±1,10	16,47 – 21,93	6	18,82±0,84	17,94 – 19,70
MCHC (%)	3	28,70±0,85	26,58 – 30,82	3	28,40±0,92	26,10 – 30,70	6	28,55±0,81	27,70 – 29,40
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	3	9,00±1,00	6,52 – 11,48	3	6,00±1,00	3,52 – 8,48	6	7,50±1,87	5,54 – 9,46
Basófilo (%)	3	0	0	3	0	0	6	0	0
Eosinófilo (%)	3	2,67±2,08	2,50 – 7,84	3	1,67±1,15	1,20 – 4,54	6	2,17±1,60	0,49 – 3,85
Mielócito (%)	3	0	0	3	0	0	6	0	0
Metamielócito(%)	3	0	0	3	0	0	6	0	0
Bastões (%)	3	0	0	3	0	0	6	0	0
Segmentados (%)	3	67,33±8,50	46,20 – 88,46	3	44,67±9,71	20,54 – 68,80	6	56,00±14,86	40,40 – 71,60
Linfócitos (%)	3	28,67±6,66	12,13 – 45,21	3	53,33±9,45	29,85 – 76,81	6	41,00±15,36	24,88 – 57,12
Monócitos (%)	3	1,33±0,15	1,54 – 4,20	3	0,33±0,57	1,10 – 1,77	6	0,83±0,98	0,20 – 1,86

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO H - Valores Hematológicos de *Saguinus ninger* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro	Machos			Fêmeas			Total		
	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Hematócrito (%)	1	40,90		3	39,43±1,29	36,23 – 42,64	4	39,58±1,09	37,85 – 41,31
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	1	4,82		3	4,78±0,26	4,14 – 5,41	4	4,58±0,44	3,88 – 5,28
Hemoglobina (g/dl)	1	12,60		3	11,80±0,35	10,94 – 12,66	4	12,00±0,49	11,22 – 12,78
MCV (u ³)	1	84,90		3	82,63±1,89	77,94 – 87,33	4	83,20±1,91	80,16 – 86,24
MCH (uug)	1	26,10		3	24,77±1,45	21,17 – 28,36	4	25,10±1,36	22,94 – 27,26
MCHC (%)	1	30,80		3	29,93±1,16	27,05 – 32,81	4	30,15±1,04	28,50 – 31,80
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	1	7,60		3	5,67±0,58	4,23 – 7,10	4	6,00±0,82	4,70 – 7,30
Basófilo (%)	1	0		3	0	0	4	0	
Eosinófilo (%)	1	2,00		3	3,33±2,52	0,48 – 6,18	4	3,00±2,16	0,44 – 6,44
Mielócito (%)	1	0		3	0	0	4	0	0
Metamielócito(%)	1	0		3	0	0	4	0	0
Bastões (%)	1	0		3	0	0	4	0	0
Segmentados (%)	1	58,00		3	35,33±5,69	21,21 – 49,46	4	41,00±12,25	21,51 – 60,49
Linfócitos (%)	1	40,00		3	61,33±5,86	46,78 – 75,89	4	56,00±11,69	37,40 – 74,60
Monócitos (%)	1	0		3	0,33±0,58	1,10 – 1,77	4	0,25±0,50	0,55 – 1,05

VCM – Volume Corpuscular Médio. HCM – Hemoglobina corpuscular Média. CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO I - Valores bioquímicos de *Saimiri sciureus* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	18	59,83±38,03	40,92 – 78,75	14	46,50±41,39	22,60 – 70,39	32	54,00±39,46	29,77 – 58,23
Uréia	mg/dl	18	35,94±6,89	32,52 – 39,37	14	37,93±5,09	34,99 – 40,87	32	36,81±6,16	34,59 – 39,03
Colesterol	mg/dl	18	152,17±27,08	138,70 – 165,64	14	172,71±24,67	158,47 – 186,96	32	161,16±27,65	151,19 – 171,13
Triglicerídeos	mg/dl	18	60,61±21,54	49,90 – 71,32	14	66,79±31,84	48,40 – 85,17	32	63,31±26,26	53,84 – 72,77
Trigl. VLDL	mg/dl	18	12,22±4,28	10,09 – 14,35	14	13,29±6,28	9,66 – 16,92	32	12,69±5,18	10,82 – 14,56
Creatinina	mg/dl	18	0,78±0,10	0,73 – 0,84	14	0,69±0,08	0,64 – 0,73	32	0,74±0,10	0,70 – 0,78
Bilir. total	mg/dl	18	0,88±0,15	0,81 – 0,96	14	0,87±0,11	0,61 – 0,73	32	0,88±0,13	0,83 – 0,93
TGP	U/L	18	78,56±37,32	60,05 – 97,07	14	142,07±181,57	37,25 – 246,89	32	106,34±124,94	61,29 – 151,39
TGO	U/L	18	97,56±45,68	74,84 – 120,27	14	172,93±144,97	89,24 – 256,62	32	130,53±106,77	92,03 – 169,03
Lactato	mg/dl	18	18,02±6,04	15,02 – 21,02	14	18,86±4,37	16,34 – 21,39	32	18,39±5,31	16,48 – 20,30
Ac. úrico	mg/dl	17	0,06*±0,19	0,03 – 0,16	14	0,19*±0,43	0,06 – 0,43	31	0,12±0,32	0,00 – 0,24
Amônia	mg/dl	18	331,44±160,47	251,64 – 411,25	14	338,93±120,91	269,13 – 408,73	32	334,72±142,36	283,88 – 386,05
Proteínas totais	g/dl	18	6,09±0,75	5,72 – 6,47	14	6,23±0,67	5,84 – 6,62	32	6,15±0,71	5,89 – 6,40
Albumina	g/dl	18	4,24±0,76	3,87 – 4,62	14	4,46±0,41	4,22 – 4,70	32	4,34±0,63	4,11 – 4,57
Soro/globulina	g/dl	18	1,85±0,49	1,61 – 2,09	14	1,77±0,59	1,43 – 2,11	32	1,82±0,53	1,63 – 2,01
Creatina kinase	U/L	15	-	-	14	-	-	29	-	-
GGT	U/L	18	13,33±24,37	0,23 – 23,67	14	43,71±96,46	11,97 – 99,40	32	25,72±66,92	1,59 – 49,85
CK-MB	U/L	18	24,11±19,91	14,21 – 34,01	14	42,50±38,89	20,05 – 64,95	32	32,16±30,62	21,12 – 43,20

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB. VLDL - Lipoproteína de muita baixa densidade. n – número de amostras. DP – Desvio padrão; IC – Intervalo de confiança.

ANEXO J - Valores bioquímicos de *Callithrix penicillata* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	10	123,80±38,31	96,4 – 151,20	4	113,75±8,96	99,50 – 128,00	14	120,93±32,51	102,16 – 139,70
Uréia	mg/dl	10	11,10±5,20	7,38 – 14,82	4	14,50±5,92	5,09 – 23,91	14	12,07±5,41	8,95 – 15,19
Colesterol	mg/dl	10	117,60±51,76	80,58 – 154,62	4	83,50±23,81	41,62 – 121,38	14	107,86±47,34	80,53 – 135,19
Triglicerídeos	mg/dl	10	123,80±58,96	81,63 – 165,97	4	79,00±77,05	43,59 – 201,59	14	111,00±64,94	73,51 – 148,49
Trig/VLDL	mg/dl	10	24,00±11,88	15,50 – 32,50	4	16,00±15,43	8,58 – 40,58	14	24,00±11,88	14,77 – 29,81
Creatinina	mg/dl	10	0,39±0,07	0,34 – 0,44	4	0,35±0,06	0,26 – 0,44	14	0,38±0,07	0,34 – 0,42
Bilirrubina total	mg/dl	10	0,85±0,16	0,74 – 0,96	4	0,76±0,09	0,62 – 0,93	14	0,83±0,14	0,75 – 0,91
TGP	U/L	10	-	-	4	-	-	14	-	-
TGO	U/L	10	128,90±125,96	38,80 – 219,00	4	87,50±31,98	36,61 – 138,39	14	117,07±107,69	54,9 – 179,24
Lactato	mg/dl	10	25,36±6,84	20,47 – 30,25	4	18,90±10,30	2,51 – 35,29	14	23,51±8,13	18,82 – 28,20
Ac.úrico	mg/dl	8	0,41*±0,45	0,03 – 0,79	4	0,28*±0,55	0,60 – 1,15	12	0,37±0,47	0,07 – 0,67
Amônia	mg/dl	10	303,10±248,62	125,26 – 480,94	4	256,75±124,07	59,35 – 454,15	14	289,86±216,38	164,95 – 414,78
Proteínas totais	g/dl	10	7,69±0,96	7,00 – 8,37	4	7,18±1,32	5,07 – 9,28	14	7,54±1,05	6,93 – 8,15
Albumina	g/dl	10	4,17±1,04	3,42 – 4,92	4	3,88±1,54	1,41 – 6,34	14	4,09±1,15	3,43 – 4,75
Soro/globulina	g/dl	10	3,52±0,55	3,13 – 3,91	4	3,30±0,32	2,80 – 3,80	14	3,46±0,49	3,18 – 3,74
Creatina kinase	U/L	10	741,60±1,65	738,97 – 744,23	4	434,25±427,26	245,52 – 1114,02	14	653,79±1395,13	151,60 – 1459,18
GGT	U/L	9	2,78±5,52	1,46 – 7,02	4	3,5±7,00	7,64 – 14,64	13	3,00±5,72	0,46 – 6,46
CK-MB	U/L	10	85,90±140,92	14,90 – 186,70	4	76,75±20,04	44,87 – 108,63	14	83,29±117,73	15,33 – 151,25

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB.

VLDL - Lipoproteína de muita baixa densidade. n – número de amostras. DP – Desvio padrão; IC – Intervalo de confiança.

ANEXO K - Valores bioquímicos de *Aotus infulatus* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	15	107,07±18,86	96,62 – 117,51	-	-	15	107,07±18,86	96,62 – 117,51	
Uréia	mg/dl	15	10,73±4,38	8,31 – 13,16	-	-	15	10,73±4,38	8,31 – 13,16	
Colesterol	mg/dl	15	149,27±58,11	117,08 – 181,45	-	-	15	149,27±58,11	117,08 – 181,45	
Triglicerídeos	mg /dl	15	182,47±85,12	135,32 – 229,61	-	-	15	182,47±85,12	135,32 – 229,61	
Creatinina	mg/dl	15	0,69±0,08	0,65 – 0,74	-	-	15	0,69±0,08	0,65 – 0,74	
Bilirrubina total	mg/dl	15	0,74±0,11	0,68 – 0,80	-	-	15	0,74±0,11	0,68 – 0,80	
TGP	U/L	15	50,20±22,90	37,51 – 62,89	-	-	15	50,20±22,90	37,51 – 62,89	
TGO	U/L	15	151,53±48,80	124,51 – 178,56	-	-	15	151,53±48,80	124,51 – 178,56	
Lactato	mg/dl	15	24,23±5,60	21,13 – 27,33	-	-	15	24,23±5,60	21,13 – 27,33	
Ac.úrico	mg/dl	15	-	-	-	-	15	-	-	
Amônia	mg/dl	15	205,93±109,71	145,17 – 266,69	-	-	15	205,93±109,71	145,17 – 266,69	
Proteínas totais	g/dl	15	7,87±1,78	6,89 – 8,86	-	-	15	7,87±1,78	6,89 – 8,86	
Albumina	g/dl	15	4,39±0,65	4,03 – 4,75	-	-	15	4,39±0,65	4,03 – 4,75	
Soro/globulina	g/dl	15	3,87±0,28	3,71 – 4,02	-	-	15	3,87±0,28	3,71 – 4,02	
Creatina kinase	U/L	15	96,93±107,61	38,99 – 154,87	-	-	15	96,93±107,61	38,99 – 154,87	
GGT	U/L	15	18,40±19,10	7,82 – 28,98	-	-	15	18,40±19,10	7,82 – 28,98	
CK-MB	U/L	15	79,33±90,90	28,99 – 129,68	-	-	15	79,33±90,90	28,99 – 129,68	

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB.

n – número de amostras; DP – Desvio padrão. IC – Intervalo de confiança.

ANEXO L - Valores bioquímicos de *Cebus apella* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	8	85,38±12,30	75,09 – 95,66	5	94,80±6,79	86,36 – 103,24	13	89,00±11,25	82,21 – 95,79
Uréia	mg/dl	8	13,38±5,15	9,07 – 17,68	5	9,00±3,00	5,28 – 12,78	13	11,69±4,84	8,77 – 14,62
Colesterol	mg/dl	8	168,25±26,76	145,87 – 190,63	5	97,20±10,71	83,90 – 110,50	13	140,92±41,84	115,63 – 166,21
Triglicerídeos	mg/dl	8	57,00±15,61	43,95 – 70,05	5	46,40±11,17	32,53 – 60,27	13	52,92±14,58	44,10 – 61,73
Trigl. VLDL	mg/dl	8	11,38±3,11	8,77 – 13,98	5	9,20±1,92	6,81 – 11,59	13	10,54±2,85	8,82 – 12,26
Creatinina	mg/dl	8	0,85±0,12	0,75 – 0,95	5	0,74±0,05	0,67 – 0,81	13	0,81±0,11	0,74 – 0,88
Bilirrubina total	mg/dl	8	0,26±0,25	0,05 – 0,47	5	0,06±0,09	0,05 – 0,17	13	0,18±0,22	0,05 – 0,31
Fosfatase alcalina	U/L	8	257,25±352,75	37,71 – 552,21	5	42,40±18,92	18,92 – 65,88	13	174,62±290,76	36,77 – 314,47
TGP	U/L	8	44,13±28,93	19,93 – 68,32	5	26,00±5,57	19,09 – 32,91	13	37,15±24,14	22,56 – 51,74
TGO	U/L	7	55,43±42,09	16,50 – 94,36	5	32,60±7,40	23,41 – 41,79	12	45,92±33,53	24,62 – 67,22
Lactato	mg/dl	8	8,23±3,59	5,22 – 11,23	5	4,12±2,92	0,49 – 7,75	13	6,65±3,83	4,34 – 8,96
Ac.úrico	mg/dl	8	2,91±0,53	2,47 – 3,36	5	3,88±3,24	0,14 – 7,90	13	3,28±1,98	2,08 – 4,48
Amônia	mg/dl	8	195,25±85,11	124,08 – 266,42	5	166,2±33,66	124,42 – 207,98	13	184,08±69,42	142,13 – 226,03
Fósforo	mg/dl	8	4,76±1,06	3,58 – 5,66	5	9,66±11,94	5,17 – 24,49	13	6,65±7,37	2,20 – 11,10
Proteínas totais	g/dl	8	7,76±0,57	7,29 – 8,24	5	7,02±0,26	6,70 – 7,34	13	7,48±0,59	7,12 – 7,84
Albumina	g/dl	8	3,99±0,36	3,69 – 4,29	5	3,66±0,23	3,37 – 3,95	13	3,86±0,35	3,65 – 4,07
Soro/globulina	g/dl	8	3,78±0,44	3,41 – 4,14	5	3,36±0,26	3,04 – 3,68	13	3,62±0,42	3,37 – 3,87
Creatina kinase	U/L	8	293,13±186,36	137,30 – 448,95	5	338,20±212,38	74,54 – 601,86	13	310,46±189,24	196,11 – 470,81
GGT	U/L	8	107,00±55,94	60,22 – 153,78	5	94,60±51,76	30,34 – 158,86	13	102,23±52,52	70,49 – 133,97
CK-MB	U/L	8	140,88±131,16	31,20 – 250,55	5	129,00±62,59	51,30 – 206,70	13	136,31±106,66	71,85 – 200,77

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB.

VLDL - Lipoproteína de muita baixa densidade. n – número de amostras. DP – Desvio padrão; IC – Intervalo de confiança.

ANEXO M - Valores bioquímicos de *Chiropotes satanas* cativos no Centro nacional de Primatas – CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	3	59,67±7,57	40,86 – 78,48	3	54,00±2,65	47,43 – 60,57	6	56,83±5,95	50,58 – 63,08
Uréia	mg/dl	3	24,33±6,35	8,56 – 40,11	3	24,33±5,77	9,99 – 38,68	6	24,33±5,43	18,63 – 30,03
Colesterol	mg/dl	3	197,33±9,07	174,79 – 219,88	3	119,33±26,50	53,49 – 185,17	6	158,33±46,25	109,79 – 206,87
Triglicérides	mg/dl	3	72,33±8,50	51,20 – 93,46	3	89,00±51,80	38,68 – 217,68	6	80,67±34,43	44,53 – 116,81
Trigl. VLDL	mg/dl	3	14,3±1,53	10,54 – 18,13	3	18,00±10,58	8,96 – 44,96	6	16,17±7,05	8,77 – 23,57
Creatinina	mg/dl	3	0,53±0,06	0,39 – 0,68	3	0,5±0,00	–	6	0,52±0,04	0,48 – 0,56
Bilirrubina total	mg/dl	3	0,13±0,06	0,01 – 0,28	3	0,10±0,10	0,15 – 0,35	6	0,12±0,08	0,04 – 0,20
Fosfatase alcalina	U/L	3	326,33±290,43	385,20 – 1057,83	3	678,67±163,64	272,14 – 1085,20	6	507,50±282,15	211,35 – 803,65
TGP	U/L	3	66,00±14,00	31,22 – 100,78	3	28,00±11,26	0,00 – 56,00	6	47,00±23,72	22,10 – 71,90
TGO	U/L	3	204,33±250,23	417,33 – 826,00	3	52,67±23,71	6,25 – 111,58	6	128,50±179,37	59,77 – 316,78
Lactato	mg/dl	3	4,07±0,61	2,55 – 5,58	3	4,30±2,92	2,94 – 11,54	6	4,18±1,89	2,20 – 6,16
Ac.úrico	mg/dl	3	-	-	3	-	-	6	-	-
Amônia	mg/dl	3	178,00±123,50	128,82 – 484,82	3	244,67±36,02	155,18 – 334,15	6	211,33±89,18	117,73 – 304,93
Proteínas totais	g/dl	3	6,13±0,23	5,56 – 6,71	3	5,87±0,67	4,21 – 7,52	6	6,00±0,47	5,51 – 6,49
Albumina	g/dl	3	5,23±0,15	4,85 – 5,61	3	4,90±0,10	4,65 – 5,15	6	5,07±0,22	4,84 – 5,30
Soro/globulina	g/dl	3	0,90±0,30	0,15 – 1,65	3	0,97±0,57	0,45 – 2,38	6	0,93±0,41	0,50 – 1,36
Creatina kinase	U/L	3	4481,00±5763,65	9837,86 – 8799,86	3	492,67±560,76	900,45 – 1885,79	6	2486,83±4264,47	1989,18 – 6962,84
GGT	U/L	3	222,33±159,02	172,72 – 617,38	3	260,33±68,06	91,52 – 429,42	6	241,33±111,36	124,45 – 358,21
CK-MB	U/L	3	137,67±148,04	230,12 – 505,45	3	36,67±29,57	36,79 – 110,13	6	87,17±110,35	28,65 – 202,99

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gama-glutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB.

VLDL - Lipoproteína de muita baixa densidade. n – número de amostras. DP – Desvio padrão; IC – Intervalo de confiança.

ANEXO N - Valores bioquímicos de *Saguinus ninger* cativos no Centro nacional de Primatas - CENP

Parâmetro		Machos			Fêmeas			Total		
		n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%	n	Média ± DP	IC 95%
Glicose	mg/dl	1	45,00	-	3	110,67±44,79	0,61 – 221,05	4	94,25±49,15	16,05 – 172,45
Uréia	mg/dl	1	20,00	-	3	21,33±14,01	13,48 – 56,14	4	21,00±11,46	2,77 – 39,23
Colesterol	mg/dl	1	70,00	-	3	85,67±74,27	98,85 – 270,18	4	81,75±61,15	15,54 – 179,04
Triglicerídeos	mg/dl	1	79,00	-	3	91,67±16,50	50,67 – 132,66	4	88,50±14,89	64,81 – 112,19
Trigl. VLDL	mg/dl	1	16,00	-	3	18,33±3,21	10,35 – 26,32	4	88,50±14,89	64,81 – 112,19
Creatinina	mg/dl	1	0,70	-	3	0,63±0,12	0,35 – 0,92	4	0,65±0,10	0,49 – 0,81
Bilirrubina total	mg/dl	1	1,40	-	2	1,10±0,14	0,75 – 1,45	3	1,20±0,20	0,70 – 1,69
TGP	U/L	1	29,00	-	3	38,00±38,16	56,80 – 132,80	4	35,75±31,48	14,33 – 85,83
TGO	U/L	1	261,00	-	3	242,33±83,03	34,13 – 446,53	4	247,00±68,43	138,13 – 355,87
Ac. úrico	mg/dl	1	0,70	-	2	0,25±0,35	0,63 – 1,13	3	0,40±0,36	0,49 – 1,29
Amônia	mg/dl	1	476,00	-	3	515,33±84,20	306,16 – 724,51	4	505,50±71,51	391,73 – 619,27
Fósforo	U/L	1	9,40	-	3	12,13±6,74	4,60 – 28,87	4	11,45±5,67	0,43 – 20,47

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica. TGO – Alanina Amino Transferase. GGT – Gamaglutamil Transferase. CK-MB – Creatina kinase fração MB. VLDL - Lipoproteína de muita baixa densidade. n – número de amostras. DP – Desvio padrão; IC – Intervalo de confiança.