

GILBERTO CHIANTELLI FERREIRA

**INFECÇÃO POR *Giardia* spp. E *Cryptosporidium* spp. EM
MACACOS-PREGO (*Sapajus* spp.) MANTIDOS EM
CATIVEIRO**

ARAÇATUBA

2023

GILBERTO CHIANTELLI FERREIRA

**INFECÇÃO POR *Giardia* spp. E *Cryptosporidium* spp. EM
MACACOS-PREGO (*Sapajus* spp.) MANTIDOS EM
CATIVEIRO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Campus de Araçatuba, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Associada Katia Denise
Saraiva Bresciani

**ARAÇATUBA
2023**

F383i

Ferreira, Gilberto Chiantelli

Infecção por Giardia spp. e Cryptosporidium spp. em macacos-prego (Sapajus spp.) mantidos em cativeiro. / Gilberto Chiantelli Ferreira. -- Araçatuba, 2023

27 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientadora: Katia Denise Saraiva Bresciani

1. Giardia spp. 2. Cryptosporidium spp. 3. Macaco-prego. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

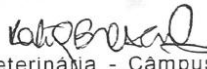
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

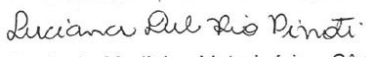
Título: INFECÇÃO POR *Giardia* spp. E *Cryptosporidium* spp. EM MACACOS-PREGO (*Sapajus* spp.) MANTIDOS EM CATIVEIRO

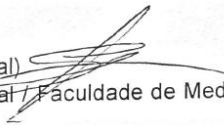
AUTOR: GILBERTO CHIANTELLI FERREIRA

ORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

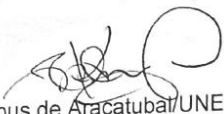
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI (Participação Presencial) 
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. LUCIANA DEL RIO PINOTI (Participação Presencial) 
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. SÉRGIO DINIZ GARCIA (Participação Presencial) 
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Dra. LILIAN APARECIDA COLEBRUSCO RODAS (Participação Presencial) 
Pesquisadora Científica VI - Instituto Pasteur

Dra. CLAUDIA MISUE KANNO (Participação Presencial) 
Doutora em Odontologia pela Faculdade de Odontologia - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Araçatuba, 24 de janeiro de 2023.

A Bernardo Garcia Silva Chiantelli Ferreira, meu filho, com amor, admiração e gratidão por sua vida e motivo primordial na incansável busca de crescimento e elaboração desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Vida por todas as conquistas e por me conceder saúde e muita força de vontade para não desistir jamais de meus objetivos.

A minha família por ter me apoiado em todos esses anos e por sempre ter me dado força nas horas de dificuldade, principalmente aos meus pais, sem os quais não estaria onde estou hoje e os quais, muitas vezes, abriram mão de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

Ao meu Filho Bernardo Garcia Silva Chiantelli Ferreira, por ser a motivação da minha vida, e meu maior orgulho.

À minha orientadora Katia Denise Saraiva Bresciani pela orientação, disposição, paciência, por me ajudar sempre que precisei, pelo crédito e pela oportunidade. Muito obrigado!

Aos professores da FMVA, responsáveis pela base teórica e pela experiência de vida que nos transmitiram durante os anos do doutorado.

A Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, por me acolher nesses quatro anos, mesmo em tempos de pandemia. Muito obrigado!

Ao Núcleo de Procriação de Macacos-Prego, Ao professor José Américo de Oliveira e a Claudia Misue Kanno que fazem um trabalho grandioso e de excelência com esses primatas. Muitíssimo obrigado pela oportunidade de trabalhar e aprender muito.

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

Aos não menos importantes, os macacos-pregos, esses animais fascinantes que possibilitaram a efetivação deste trabalho e todo o conhecimento adquirido estudando seus hábitos e espécies. Muito obrigado! Sem eles não seria possível!

E a todos os que de alguma forma colaboraram para a realização deste.

Muito obrigado e imensa gratidão.

“Se você assume que não existe esperança, então você garante que não haverá esperança. Se você assume que existe um instinto em direção a liberdade, então existem oportunidades de mudar as coisas.”

Noan Chomsky

FERREIRA, G. C. **Infecção por *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em macacos-prego (*Sapajus* spp.) mantidos em cativeiro.** 27 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

Os animais da Ordem Primata são muito susceptíveis as infecções parasitárias. Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de investigar a ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em macacos prego mantidos em cativeiro. Amostras fecais de 50 macacos-pregos foram processadas pela Técnicas de Faust e por meio da coloração negativa de verde malaquita. Os resultados obtidos nesse experimento foram submetidos à análise estatística pelo teste qui-quadrado com correção de Yates, para verificar a associação desses enteroparasitos em relação ao gênero. Assim, foi observado que não houve correlação entre o sexo dos macacos e a presença dos protozoários supramencionados. Importante evidenciar que quatro amostras foram positivas para *Giardia* spp. e 12 amostras para *Cryptosporidium* spp. Assim, nós observamos a liberação de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de macacos pregos assintomáticos mantidos em cativeiro.

Palavras-chave: *Giardia* spp. *Cryptosporidium* spp. Macaco-prego.

FERREIRA, G. C. **Infection by *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. capuchin monkeys (*Sapajus* spp.) kept in captivity.** 27 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Animals of the Primate Order are very susceptible to parasitic infections. This study was developed with the objective of investigating the occurrence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in capuchin monkeys kept in captivity. Fecal samples from 50 capuchin monkeys were processed by Faust's Techniques and negatively stained with malachite green. The results obtained in this experiment were submitted to statistical analysis using the chi-square test with Yates correction, to verify the association of these enteroparasites in relation to gender. Thus, it was observed that there was no correlation between the sex of the monkeys and the presence of the aforementioned protozoa. It is important to highlight that four samples were positive for *Giardia* spp. and 12 samples for *Cryptosporidium* spp. Thus, we observed the release of *Giardia* spp. and oocysts of *Cryptosporidium* spp. in fecal samples from asymptomatic capuchin monkeys kept in captivity.

Keywords: *Giardia* spp. *Cryptosporidium* spp. Capuchin monkey.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Gênero <i>Giardia</i> spp.	12
2.2 Gênero <i>Cryptosporidium</i> spp.	13
2.3 Macacos-prego	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Declaração De Ética	16
3.2 Delineamento dos grupos experimentais.....	16
3.3 Coleta e processamento das amostras fecais	16
3.4 Forma de análise dos resultados	17
4 RESULTADOS	18
5 DISCUSSÃO.....	19
6 CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS	22
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	27

1 INTRODUÇÃO

A vida selvagem tem sido comumente infectada por doenças parasitárias gastrointestinais nas últimas décadas, e achados em Primatas selvagens ou em populações de cativeiros. Além disso, a fragmentação do habitat é considerada impactante na conservação de Primatas, e também o consumo de carne de animais selvagens, caça esportiva e turismo podem gerar o aumento da proximidade entre esses animais e humanos e gera elevação na carga parasitária desses animais que podem facilitar a transmissão de parasitos até para humanos e vice-versa (KEATTS et al., 2021).

Os Primata são animais muito susceptíveis as infecções parasitárias, devido à sua relação social, frequentemente em grupos e interação entre indivíduos, facilitando a transmissão desses agentes patogênicos, podendo ser prevalentes em áreas modificadas por ação do homem (MACINTOSH et al., 2012).

Devido as complexidades nas técnicas e comitês de éticas, relacionadas à captura e manejo dessas espécies, as pesquisas se concentraram nos estudos de parasitismo intestinal em espécimes mantidos em cativeiro (ZANZANI et al., 2016). As interações taxonômicas entre seres humanos e macacos favorecem a transmissão de parasitos entre eles e expande as chances de ocorrência de eventos de transmissão (MUADICA et al., 2020).

O enteroparasito *Giardia duodenalis*, também denominado de *Giardia intestinalis* ou *Giardia lamblia* é um dos patógenos mais comuns de importância zoonótica, pois infectam humanos, animais domésticos e selvagens, incluindo os de vida livre ou em cativeiro (FENG; XIAO, 2011). Por exemplo, a presença de *Giardia duodenalis* encontradas em Primatas, se deve a locais em que o com contato entre essas duas espécies é mais intenso (MARTIN-SOLANO et al., 2017). Anualmente, são notificados 250 a 300 milhões de casos sintomáticos de giardíase em humanos (CACCIÒ et al., 2018).

A criptosporidiose é uma zoonose parasitária que causa diarreia em humanos, animais de produção e em Primatas, os surtos de infecção são transmitidos por água e alimentos (GIBSON; STRIEPEN, 2018; INNES et al., 2020). Globalmente, mais de 550 surtos de origem hídrica e alimentar foram associados à criptosporidiose (EFSTRATIOU et al., 2017; RYAN; HIJJAWI; XIAO, 2018). De fato, várias espécies de *Cryptosporidium* spp. que infectam humanos também foram identificadas em Primatas na Ásia, América e África (NIZEYI; CRANFIELD; GRACZYK, 2002; YE et al., 2014).

Deste modo, no presente estudo, nós investigamos a ocorrência das infecções por *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em macacos-prego (*Sapajus* spp.).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Gênero *Giardia* spp.

Atualmente, considera-se que o gênero *Giardia* apresenta sete espécies diferentes: *Giardia agilis* (Anfíbios), *Giardia ardeae* (Aves), *Giardia psittaci* (Aves), *Giardia muris* (Roedores), *Giardia microti* (Roedores), *Giardia peramelis* (marsupiais) e *Giardia duodenalis* (Mamíferos). Devido ao seu caráter zoonótico, diversos estudos tem sido direcionados a espécie *Giardia duodenalis*, a qual apresenta oito “assemblages”, A (mamíferos), B (mamíferos), C (canídeos), D (canídeos), E (ungulados), F (gatos), G (roedores) e H (pinípedes), sendo que os tipos A e B acometem os humanos (CACCIÒ; LALLE; SVÄRD, 2018; CERTAD et al., 2017).

A *G. duodenalis* é a única encontrada em humanos, com distribuição global, sendo que 20 a 30 % em países em desenvolvimento e 2 a 5 % em desenvolvidos, através da veiculação hídrica com 142 surtos no mundo (30 mil casos confirmados) (LASEK-NESELQUIST; WELCH; SOGIN, 2010).

A sintomatologia é variável em muitos casos sendo assintomática, porem dependem do estado imune e nutricional e a idade do hospedeiro, doses infectantes e a virulência da cepa, e os sintomas surgem após 2 semanas, a adesão a mucosa intestinal causa diversos danos, levando a alterações na absorção de glicose, da água e dos eletrólitos (ALI; HILL, 2003; SCOTT et al., 2002).

Os sinais clínicos geralmente se caracterizam por fezes pastosas, fétidas ou diarreicas, muco, esteatorreia, desidratação e emagrecimento. A resolução do quadro pode ocorrer em poucos dias a algumas semanas, mas em alguns casos, principalmente filhotes, há tendência da infecção se tornar crônica (DURIGAN et al., 2014).

Giardia spp. tem um ciclo de vida monoxeno e a transmissão é oral-fecal, mediante ingestão de água e alimentos contaminados com cistos (ADAM, 2001). Os mecanismos patogênicos são pouco elucidados, embora evidências indiquem que estão relacionados à quantidade de protozoários que colonizam o intestino delgado e da variação de virulência entre as cepas (COTTON; BEATTY; BURET, 2011). Após a infecção, o cisto sofrerá desencistamento pela ação do ácido clorídrico e das enzimas pancreáticas, liberando dois trofozoítos que irão se aderir à superfície dos epitélios nas microvilosidades do intestino

delgado, ocasionando encurtamento e atrofia das mesmas. Como consequência, haverá prejuízos na atividade enzimática, especialmente das dissacaridasas, com diminuição da função digestiva e de absorção intestinal (PATOJA et al., 2019).

Medidas gerais de controle de *Giardia* spp. incluem a proteção da água de provável contaminação e fervura antes do consumo nas situações em que não for submetida a todas as etapas de tratamento. Ademais, recomenda-se a remoção diária das fezes e desinfecção à base de amônia quaternária ou hipoclorito de sódio a 5%, juntamente com a desinfecção física (“vassoura de fogo”) do ambiente (LALLO et al., 2009).

2.2 O Gênero *Cryptosporidium* spp.

A partir de 1980, o protozoário *Cryptosporidium* spp. foi reconhecido como importante agente de contaminação, tornando-se um fator preocupante em saúde pública, principalmente em portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e imunossuprimidos (KARANIS et al., 2007; PERALTA et al., 2016). Parasito intracelular que também se localiza na superfície das microvilosidades intestinais dos vertebrados (CHALMERS; KATZER, 2013; KARANIS et al., 2007; XIAO, 2010).

Embora muitas espécies tenham sido descritas até o momento, é atribuído ao *Cryptosporidium parvum* a maior patogenicidade entre os mamíferos, incluindo os humanos. O sequenciamento de DNA permitiu a classificação de um total de sete genótipos de *C. parvum*, encontrados em bovinos, humanos, camundongos, suínos, marsupiais, cães e furões (LALLO; BONDAN, 2006).

Os oocistos de *Cryptosporidium* variam em tamanho, são esféricos e contêm em seu interior quatro esporozoítos livres. São altamente resistentes às condições ambientais e à ação de produtos químicos, em decorrência de uma espessa barreira protetora, constituída por dupla camada de lipoproteínas e carboidratos (HASSAN et al., 2021).

O tamanho dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. apresenta-se pequeno (4 a 6 µm de diâmetro) e este sobrevive aos mais variados métodos usados em tratamentos de água, e pode ser capaz de alcançar grande parte da população (AGULLÓ-BARCELÓ et al., 2014).

Cada oocisto de *Cryptosporidium* spp. possui quatro esporozoítos que serão liberados após a excitação e vão invadir a borda luminal da célula epitelial do hospedeiro, provocando alterações na arquitetura das microvilosidades, sendo que este é um parasito intracelular extra-

citoplasmático dentro de um vacúolo parasitóforo aderido à membrana apical da célula (BOUZID et al., 2013; SMITH et al., 2007). Estes realizam reprodução assexuada (merogonia) e sexuada (gametogonia) gerando novos oocistos que serão eliminados nas fezes ou que sofrerão excitação ainda no interior do hospedeiro e iniciarão um novo ciclo, em razão disso, baixas doses infectantes são suficientes para a infecção (THOMPSON; KOH; CLODE, 2016).

Em indivíduos imunocomprometidos, a deficiência do sistema imune leva ao quadro de cronicidade da doença, podendo ocorrer o óbito devido à desidratação provocada pelo estado diarreico (CACCIÒ et al., 2018). A criptosporidiose pode causar apoptose nos epitélios intestinais, sendo este um dos possíveis responsáveis pela colangite esclerosante, uma complicação da doença na forma biliar. Além disso o envolvimento pulmonar foi relatado, contudo o seu significado clínico permanece incerto (CHALMERS; KATZER, 2013).

Várias são as técnicas laboratoriais utilizadas para identificar os oocistos de *Cryptosporidium* spp. Na coloração negativa de Verde Malaquita, rotineiramente utilizada, formas evolutivas deste parasito são observadas como estruturas brilhantes, envoltas por um fundo verde (ELLIOT; MORGAN; THOMPSON, 1999).

2.3 Macacos-prego

Os Primatas podem ser divididos em símios (25% dos táxons), macacos (70% dos táxons) e Primatas grandes (5% dos táxons). Sua distribuição é tropical: a maioria (90%) está localizada entre Trópico de Capricórnio e Trópico de Câncer. Brasil e Madagascar são os países mais ricos de diversidade em espécies de Primatas (214 espécies no total para ambos) (RYLANDS; MITTERMEIER, 2014).

Sobre os dois gêneros das famílias Cebidae: *Cebus* spp. e *Sapajus* spp. Os membros do gênero *Cebus* também são chamados de macacos-prego graciosos ou sem tufos. Eles são mais esguios e de membros mais longos que os *Sapajus*, que são mais robustos e compactos. Esta é a razão pela qual nós também se referimos a eles como macacos-pregos mais “robustos” ou “tufados” (SOUVIGNET et al., 2019).

O gênero *Cebus* spp. é composto por sete espécies que vivem em praticamente em todos os tipos de florestas neotropicais e das quais seis ocorrem no Brasil, como os *Cebus albifrons*, *C. apella* e *C. olivaceus* que ocorrem na Floresta Amazônica, o *C. nigrinus* e *C.*

xanthosternos na Mata Atlântica, enquanto *C. libidinosus* ocorre na Caatinga, no Cerrado e na Mata Atlântica (JERUSALINSKY et al., 2010).

Na região sudeste do Brasil, é mais comum a espécie *Sapajus nigritus* que são grandes com tufo de pelos em forma de chifre em ambos os lados da cabeça nas têmporas, principalmente na coloração preta ou marrom escuro com avermelhado ou amarelo-fulvo nas partes inferiores. Possuem rosto claro, coroa escura e cauda preta, bem desenvolvidos em adultos. Apresentam uma dieta de frutos, folhas, sementes, raízes e presas animais (insetos e pequenos vertebrados). Vivem geralmente em grupos de 12 a 17 indivíduos, mas é possível observar até 35 integrantes (SOUVIGNET et al., 2019).

O tamanho do corpo médio dentre os esses Primatas neotropicais, vai do comprimento total da cabeça e corpo, que varia de 350 a 488 mm e o da cauda, de 375 a 554 mm (RÖDER; TIMMERMANS, 2002). Apresentam dimorfismo sexual no tamanho, sendo os machos adultos maiores que as fêmeas. Possuem um corpo robusto e uma cauda semi-preênsil, desprovida da porção distal nua e da habilidade de se agarrar em árvores (FRAGASZY et al., 2004).

Possuem uma mandíbula robusta e dentes grandes e compactos que são bem adaptados ao seu forrageio extrativo, o qual se caracteriza pela exploração de recursos alimentares de difícil acesso e que exigem uma maior habilidade para a sua aquisição (ANDERSON; AWAZU; FUJITA, 2000; FRAGASZY et al., 2004).

Suas mãos são muito manipulativas e ágeis e seus polegares são pseudo-oponíveis, características que também facilitam o forrageio extrativo, além do uso de ferramentas. Estudos recentes têm mostrado que *Cebus* spp. são os únicos macacos do Novo Mundo capazes de utilizar ferramentas na natureza a fim de facilitar a exploração dos recursos (MOURA; LEE, 2004). Possuem o maior tamanho relativo de cérebro dentre os macacos do Novo Mundo, o qual é considerado grande em relação ao seu tamanho de corpo (GOMES; BICCA-MARQUES, 2012).

Estudos filogenéticos recentes demonstraram que na era do pleistoceno com o derretimento dos andes e o surgimento do rio Amazonas, os macacos preguiças que se encontram ao sul do rio Amazonas até a Argentina são do gênero *Sapajus* (LIMA et al., 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Declaração De Ética

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) nº 00589-2018 (Anexo A) bem como pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade- SISBIO nº 65508-1.

3.2 Delineamento dos grupos experimentais

O grupo amostral constitui de 50 macacos pregos adultos, sendo 24 fêmeas e 26 machos, localizados no Núcleo de Procriação de Macacos-Prego nas dependências da Faculdade de Odontologia do Município de Araçatuba – SP (FOA-UNESP). Estes animais eram mantidos em gaiolas suspensas do chão, de inox individuais, com laterais de chapa perfurada, distanciadas de cinco cm a oito cm por uma à outra com chapas a um metro e meio do chão. A alimentação se baseia em diversas frutas, ovos e ração comercial para pets, onde é oferecido uma grande quantidade aproximadamente de duas vezes ao dia para a necessidade energética desses Primatas.

Um registro de variáveis foi elaborado, incluindo-se dados como sexo e faixa etária de cada animal e um questionário foi aplicado, abordando principalmente o sistema de manejo, como por exemplo a apresentação de alguns sinais clínicos ou se tinha tomado algum medicamento anti-parasitário e também a origem dos alimentos e o fornecimento de água para esses animais.

3.3 Coleta e processamento das amostras fecais

O referido material foi coletado dos fundos da gaiola, onde foi forrado com plástico para não ter contato direto com o chão, sendo armazenado em coletores universais, com diluição em solução de dicromato de potássio, e transportado em caixa de isopor com gelo até o local do processamento.

Posteriormente estas amostras foram submetidas à purificação e análise microscópica, por meio da técnica de Faust et al. (1938), a fim de identificar a existência de

cistos de *Giardia* spp. e pela técnica de coloração negativa com verde malaquita (ELLIOT; MORGAN; THOMPSON, 1999) para a pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

3.4 Forma de análise dos resultados

A análise estatística descritiva foi efetuada por meio do cálculo de porcentagem e pela análise Qui Quadrado com correção de Yates, para verificar associação entre os resultados dos testes empregados e das variáveis dos sexos dos animais, sendo adotado o nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Nós detectamos entre os 50 animais, que quatro e 12 amostras foram positivas para *Giardia* spp., e *Cryptosporidium* spp., respectivamente, pelas Técnicas de Faust e coloração negativa de verde malaquita. Todos os macacos apresentam consistência e coloração fecal de aspecto normal.

Entre os 50 macacos pregos do estudo, quatro machos (8%) e uma fêmea adultas (2%) foram positivas em relação a infecção por *Giardia* spp. e sete machos (14%), e cinco fêmeas adultos (10%) adultos estavam infectados por *Cryptosporidium* spp. (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem da ocorrência da infecção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

	<i>Giardia</i> spp.		<i>Cryptosporidium</i> spp.	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
Positivo	8%	2%	14%	10%
Negativo	44%	46%	38%	42%
P-valor	0,3958		0,8632	

Fonte: Elaboração do autor.

Importante notar que não houve diferença significativa entre os gêneros sexuais dos animais com os resultados positivos para os referendos protozoários. Também não é considerado significativa a correlação com a faixa etária dos Primatas ($P < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Nós observamos a liberação de oocistos de *Cryptosporidium* spp e cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de macacos pregos assintomáticos mantidos em cativeiro. Os macacos do nosso estudo apresentaram fezes com consistência normal e eram aparentemente saudáveis. No entanto, estavam liberando oocistos e cistos no ambiente e isso pode ser considerado um possível risco à saúde de quem os trata ou manipula. Importante mencionar que é escassa a informação disponível sobre a sintomatologia da infecção em macacos (MUADICA et al., 2020).

Os sinais clínicos destas doenças parasitárias não foram demonstrados para Primatas, mas tem sido relatada a importância desta zoonose, que pode ocorrer principalmente em pacientes com ou contato indireto com esses animais, resultando em desconforto abdominal, diarreia, gastroenterite e anorexia (ASSIS et al., 2013; GUERRA et al., 2020).

Os macacos podem ser infectados por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados, higienização inadequada ou a até mesmo, pela água, uma vez que ela é fornecida, via encanamento e mangueira.

A água fornecida aos macacos-prego de todos os criatórios é através de várias mangueiras que vai pra cada gaiola individual e provém do sistema de tratamento hídrico do Município de Araçatuba-SP, a qual, recebe o mesmo tratamento realizado no Brasil onde é feito por meio de um processo de floculação de detritos, filtragens e cloração da água. Mas o cloro adicionado à água não é o método profilático ideal para alguns protozoários, como *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., o que pode permitir a contaminação da água (GORCEA; NECULICIOIU; JUNIE, 2020).

A prevalência de *Giardia* spp. foi de 10%, e 24% de *Cryptosporidium* spp. em nosso trabalho, e maior porcentagem em macacos pregos machos. Isso se deve a um dimorfismo sexual no peso corporal de 24% de vantagem para os machos, apresentando um sistema digestório maior que o das fêmeas, ingerindo assim maior quantidade de alimentos (exceto *Sapajus libidinosus*) (MITTERMEIER; RYLANDS; WILSON, 2013).

As amostras positivas para os referidos protozoários não diferiram significativamente entre os sexos dos macacos. A infecção por parasitos gastrintestinais depende do nível da infecção e do número de vezes que os macacos são expostos a parasitos, independentemente da faixa etária e do sexo. Neste contexto, a presença dos parasitos ocorre porque os Primatas

são animais sociais e andam em grupos, propiciando a transmissão entre eles (HOUMSOU et al., 2019).

Sendo assim, podemos salientar a importância da realização de exames coproparasitológicos periódicos, visto que macacos e humanos possuem um parentesco filogenético muito próximo, podendo favorecer a transmissão de parasitos entre eles.

6 CONCLUSÃO

Nós observamos a liberação fecal de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. e com potencial zoonótico, em macacos pregos aparentemente saudáveis mantidos em cativeiro.

REFERÊNCIAS

- ADAM, R. D. Biology of *Giardia lamblia*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 14, n. 3, p. 447-475, jul. 2001. Doi: 10.1128/CMR.14.3.447-475.2001.
- AGULLÓ-BARCELÓ, M.; MOSS, J. A.; GREEN, J.; GILLESPIE, S.; CODONY, F.; LUCENA, F.; NOCKER, A. Quantification of relative proportions of intact cells in microbiological samples using the example of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Letters in Applied Microbiology**, Chichester, v. 58, n. 1, p. 70-78, jan. 2014. Doi: 10.1111/lam.12157.
- ALI, S. A.; HILL, D. R. *Giardia intestinalis*. **Current Opinion in Infectious Diseases**, London, v. 16, n. 5, p. 453-460, out. 2003. Doi: 10.1097/00001432-200310000-00012
- ANDERSON, J. R.; AWAZU, S.; FUJITA, K. Can squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) learn self-control? A study using food array selection tests and reverse-reward contingency. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, Washington, DC, v. 26, n. 1, p. 87-97, 2000. Doi: 10.1037/0097-7403.26.1.87.
- ASSIS, D. C.; RESENDE, D. V.; CANBRINE-SANTOS, M.; CORREIA, D.; OLIVEIRA-SILVA, M. B. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* in HIV-infected patients. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 149-154, 2013. Doi: 10.1590/S0036-46652013000300002.
- BOUZID, M.; HUNTER, P. R.; CHALMERS, R. M.; TYLER, K. M. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 26, n. 1, p. 115-134, jan. 2013. Doi: 10.1128/CMR.00076-12.
- CACCIÒ, S. M.; LALLE, M.; SVÄRD, S. G. Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 66, p. 335-345, dez. 2018. Doi: 10.1016/j.meegid.2017.12.001.
- CACCIÒ, S. M.; THOMPSON, R. C. A.; MCLAUCHLIN, J.; SMITH, H. V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 21 n. 9, p. 430-437, 2018. Doi: 10.1016/j.pt.2005.06.013.
- CERTAD, G.; VISCOGLIOSI, E.; CHABÉ, M.; CACCIÒ, S. M. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 33, n. 7, p. 561-576, jul. 2017. Doi: 10.1016/j.pt.2017.02.006.
- CHALMERS, R. M.; KATZER, F. Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 237-251, maio 2013. Doi: 10.1016/j.pt.2013.03.001.
- COTTON, J. A.; BEATTY, J. K.; BURET, A. G. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 41, n. 9, p. 925-933, 1 ago. 2011. Doi: 10.1016/j.ijpara.2011.05.002.

- DURIGAN, M.; ABREU, A. G.; ZUCCHI, M. I.; FRANCO, R. M. B.; SOUZA, A. P. Genetic diversity of giardia duodenalis: Multilocus genotyping reveals zoonotic potential between clinical and environmental sources in a metropolitan region of brazil. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 12, artigo e115489, 23 dez. 2014. Doi: 10.1371/journal.pone.0115489.
- EFSTRATIOU, A.; ONGERTH, J. E.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2011-2016. **Water Research**, Oxford, v. 114, p. 14-22, 1 maio 2017. Doi: 10.1016/j.watres.2017.01.036.
- ELLIOT, A.; MORGAN, U. M.; THOMPSON, R. C. A. Improved staining method for detecting Cryptosporidium oocysts in stools using malachite green. **Journal of General and Applied Microbiology**, Tokyo, v. 45, n. 3, p. 139-142, jun. 1999. Doi: 10.2323/jgam.45.139.
- FAUST, E. C.; D'ANTONI, I. C. ; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J.; WALKER, H. A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Deerfield, v. S1-18, n. 2, p. 169-183, 1938. Doi: 10.4269/ajtmh.1938.s1-18.169.
- FENG, Y.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of Giardia species and giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 24, n. 1, p. 100-140, 2011. Doi:10.1128/CMR.00033-10.
- FRAGASZY, D.; IZAR, P.; VISALBERGHI, E.; OTTONI, E. B.; OLIVEIRA, M. G. Wild capuchin monkeys (*Cebus libidinosus*) use anvils and stone pounding tools. **American Journal of Primatology**, New York, v. 64, n. 4, p. 359-366, dez. 2004. Doi: 10.1002/ajp.20085.
- GIBSON, A. R.; STRIEPEN, B. Cryptosporidium. **Current Biology**, London, v. 28, n. 5, p. R193-R194, 5 mar. 2018. Doi: 10.1016/j.cub.2017.11.070.
- GOMES, D. F.; BICCA-MARQUES, J. C. Capuchin monkeys (*Cebus nigritus*) use spatial and visual information during within-patch foraging. **American Journal of Primatology**, Hoboken, v. 74, n. 1, p. 58-67, 1 jan. 2012. Doi: 10.1002/ajp.21009.
- GORCEA, M.; NECULICIOIU, V.; JUNIE, L. Cryptosporidium and Giardia: an overview. **Scientia Parasitologica**, Cluj-Napoca, v. 21, n. 1-2, p. 18-24, abr. 2020. Doi:
- GUERRA, M. T.; LIMA, J. H. C.; TESSARO, J. C. L.; SILVA, P. H.; FACHINI, J.; KOBER, M. V. Identificação dos principais parasitos intestinais encontrados em locais públicos no Brasil. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, São Paulo, v. 15, n. 10, p. 121-137, out. 2020. Doi: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/saude/principais-parasitos.
- HASSAN, E. M.; ORMECI, B.; DEROSA, M. C.; DIXON, B. R.; SATTAR, S. A.; IQBAL, A. A review of Cryptosporidium spp. and their detection in water. **Water Science and Technology**, London, v. 83, n. 1, 25 p., jan. 2021. Doi: 10.2166/wst.2020.515.

HOUMSOU, R.; BUBA, U.; AMUTA, E. U.; KELA, S. L. Gastrointestinal parasites of non-human primates and the zoonotic implications in Gashaka-Gumti National Park, Nigeria. **Sokoto Journal of Veterinary Sciences**, Sokoto, v. 17, n. 2, p. 11-19, 2019. Doi: 10.4314/sokjvs.v17i2.2.

INNES, E. A.; CHALMERS, R. M.; WELLS, B.; PAWLOWIC, M. C. A one health approach to tackle Cryptosporidiosis. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 290-303, 2020. Doi: 10.1016/j.pt.2019.12.016.

JERUSALINSKY, L.; TEIXEIRA, F. Z.; LOKSCHIN, L. X.; ALONSO, A.; JARDIM, M. M. A.; CABRAL, J. N. H.; PRINTES, R. C.; BUSS, G. Primatology in southern Brazil: a transdisciplinary approach to the conservation of the brown-howler-monkey *Alouatta guariba clamitans* (Primates, Atelidae). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 100, n. 4, p. 403-412, 30 dez. 2010. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212010000400015>.

KARANIS, P.; PLUTZER, J.; HALIM, N. A.; IGORI, K.; NAGASAWA, H.; ONGERTH, J.; LIQING, M. Molecular characterization of *Cryptosporidium* from animal sources in Qinghai province of China. **Parasitology Research**, Berlin, v. 101, n. 6, p. 1575-1580, nov. 2007. Doi: 10.1007/s00436-007-0681-x.

KEATTS, L. O.; ROBARDS, M.; OLSON, S. H.; HUEFFER, K.; INSLEY, S. J.; JOLY, D. O.; KUTZ, S.; LEE, D. S.; CHERYL-LESLEY, B. C.; LAIR, S.; PRESTON, N. D.; PRUVOT, M.; RAY, J. C.; REID, D.; SLEEMAN, J. M.; STIMMELMAYR, R.; STEPHEN, C.; WALZER, C. Implications of zoonoses from hunting and use of wildlife in North American Arctic and boreal biomes: pandemic potential, monitoring, and mitigation. **Frontiers in Public Health**, Lausanne, v. 9, p. 627-654, maio 2021. Doi: 10.3389/fpubh.2021.627654.

LALLO, M. A.; BONDAN, E. F. Prevalência de *Cryptosporidium* sp. em cães de instituições da cidade de São Paulo. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 120-125, 2006. Doi: 10.1590/s0034-89102006000100019.

LALLO, M. A.; PEREIRA, A.; ARAUJO, R.; FAVORITO, S. E.; BERTOLLA, P.; BONDAN, E. F. Ocorrência de *Giardia*, *Cryptosporidium* e microsporidia em animais silvestres de uma área de desmatamento no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1465-1470, ago. 2009. Doi: 10.1590/S0103-84782009005000085.

LASEK-NESELQUIST, E.; WELCH, D. M.; SOGIN, M. L. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 1063-1074, 1 ago. 2010. Doi: 10.1016/j.ijpara.2010.02.015.

LIMA, M. G. M.; BUCKNER, J. C.; SILVA-JÚNIOR, J. S.; ALEIXO, A.; MARTINS, A. B.; BOUBLI, J. P.; LINK, A.; FARIAS, I. P.; SILVA, M. N.; RÖHE, F.; QUEIROZ, H.; CHIOU, K. L.; FIORI, A.; ALFARO, M. E.; ALFARO, J. W. L. Capuchin monkey biogeography: understanding *Sapajus* Pleistocene range expansion and the current sympatry between *Cebus* and *Sapajus*. **Journal of Biogeography**, v. 44, n. 4, p. 810-820, abr. 2017. Doi: 10.1111/jbi.12945.

MACINTOSH, A. J. J.; JACOBS, A.; GARCIA, C.; SHIMIZU, K.; MOURI, K.; HUFFMAN, M. A.; HERNANDEZ, A. D. Monkeys in the middle: parasite transmission through the social network of a wild primate. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 12, artigo e51144, 2012. Doi: 10.1371/journal.pone.0051144.

MARTIN-SOLANO, S.; CARRILLO-BILBAO, G. A.; RAMIREZ, W.; CELI-ERAZO, M.; HUYNEN, M.-C.; LEVECKE, B.; BENITEZ-ORTIZ, W.; LOSSON, B. Gastrointestinal parasites in captive and free-ranging *Cebus albifrons* in the Western Amazon, Ecuador. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 209-218, 2017. Doi: 10.1016/j.ijppaw.2017.06.004.

MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; WILSON, D. E. **Handbook of the mammals of the world**. Barcelona: Lynx, 2013. v. 3: Primates.

MOURA, A. C. D. A.; LEE, P. C. Capuchin stone tool use in Caatinga dry forest. **Science**, New York, v. 306, n. 5703, artigo 5703, p. 1909, 10 dez. 2004. Doi: 10.1126/science.1102558.

MUADICA, A. S.; KÖSTER, P. C.; DASHTI, A.; BAILO, B.; HERNÁNDEZ-DE-MINGO, M.; REH, L.; BALASEGARAM, S.; VERLANDER, N. Q.; RUIZ CHÉRCOLES, E.; CARMENA, D. Molecular diversity of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis* sp. in asymptomatic school children in Leganés, Madrid (Spain). **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 4, artigo 466, 17 p. 25 mar. 2020. Doi: 10.3390/microorganisms8040466.

NIZEYI, J. B.; CRANFIELD, M. R.; GRACZYK, T. K. Cattle near the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda, as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* for local community and free-ranging gorillas. **Parasitology Research**, Berlin, v. 88, n. 4, p. 380-385, abr. 2002. Doi: 10.1007/s00436-001-0543-x.

PANTOJA, D. K. S. Q.; BERNAL, M. K. M.; BRITO, D. N. L.; SANTOS, T. L. C.; TAVARES, H. A.; SILVA, M. C. M.; PEREIRA, W. L. A. *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em carnívoros silvestres do Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 142-147, 2019. Doi: 10.4322/rbev.2019.025.

PERALTA, R. H. S.; NÉSTOR VELÁSQUEZ, J.; CUNHA, F. S.; PANTANO, M. L.; SODRÉ, F. C.; SILVA, S.; GERMÁN ASTUDILLO, O.; PERALTA, J. M.; CARNEVALE, S. Genetic diversity of *Cryptosporidium* identified in clinical samples from cities in Brazil and Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 1, p. 30-36, jan. 2016. Doi: 10.1590/0074-02760150303.

RÖDER, E. L.; TIMMERMANS, P. J. A. Housing and care of monkeys and apes in laboratories: adaptations allowing essential species-specific behaviour. **Laboratory Animals**, London, v. 36, n. 3, p. 221-242, jul. 2002. Doi: 10.1258/002367702320162360.

RYAN, U.; HIJAWI, N.; XIAO, L. Foodborne cryptosporidiosis. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 1-12, jan. 2018. Doi: 10.1016/j.ijpara.2017.09.004.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. Primate taxonomy: species and conservation. **Evolutionary Anthropology**, New York, v. 23, n. 1, p. 8-10, jan.-fev. 2014. Doi: 10.1002/evan.21387.

SCOTT, K. G. E.; MEDDINGS, J. B.; KIRK, D. R.; LEES-MILLER, S. P.; BURET, A. G. Intestinal infection with *Giardia* spp. Reduces epithelial barrier function in a myosin light chain kinase-dependent fashion. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 123, n. 4, p. 1179-1190, out. 2002. Doi: 10.1053/gast.2002.36002.

SMITH, H. V.; CACCIÒ, S. M.; COOK, N.; NICHOLS, R. A. B.; FAIT, A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, n. 1-2, p. 29-40, 21 out. 2007. Doi: 10.1016/j.vetpar.2007.07.015.

SOUVIGNET, T.; GIORGIADIS, M.; DROUET, B.; QUINTARD, B. **EAZA best practice guidelines Capuchin monkeys (*Sapajus* and *Cebus* sp.)**. Amsterdam: European Association of Zoos and Aquaria, 2019. 132 p. Disponível em: <https://www.eaza.net/assets/Uploads/CCC/BPG-2019/20190828-Best-Practice-Guideline-Capuchins2.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2022.

THOMPSON, R. C. A.; KOH, W. H.; CLODE, P. L. *Cryptosporidium*: what is it? **Food and Waterborne Parasitology**, Amsterdam, v. 4, p. 54-61, set. 2016. Doi: 10.1016/j.fawpar.2016.08.004.

XIAO, L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. **Experimental Parasitology**, Orlando, v. 124, n. 1, p. 80-89, jan. 2010. Doi: 10.1016/j.exppara.2009.03.018.

YE, J.; XIAO, L.; LI, J.; HUANG, W.; AMER, S. E.; GUO, Y.; ROELLIG, D.; FENG, Y. Occurrence of human-pathogenic *Enterocytozoon bienersi*, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* genotypes in laboratory macaques in Guangxi, China. **Parasitol Int.** v. 63, n. 1, p. 132-137, fev. 2014. Doi: 10.1016/j.parint.2013.10.007.

ZANZANI, S. A.; GAZZONIS, A. L.; EPIS, S.; MANFREDI, M. T. Study of the gastrointestinal parasitic fauna of captive non-human primates (*Macaca fascicularis*). **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 115, n. 1, p. 307-312, jan. 2016. Doi: 10.1007/s00436-015-4748-9.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Infecções parasitárias em macacos-prego de cativeiro e de semiliberdade**", Processo FOA nº 0925-2019, sob responsabilidade de Katia Denise Saraiva Bresciani apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 26 de Novembro de 2021.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 26 de Agosto de 2023.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 26 de Setembro de 2023.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Parasite infections in captive and semi-freedom capuchin monkeys**", Protocol FOA nº 0925-2019, under the supervision of Katia Denise Saraiva Bresciani presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on November 26, 2021.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: August 26, 2023.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: September 26, 2023.

Prof. Associado João Carlos Callera
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br