

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E ASPECTOS DA
IMUNIDADE CELULAR DE PRIMATAS NEOTROPICAIS FRENTE
À EXPOSIÇÃO PROLONGADA DE AGROTÓXICOS:
ESTUDO DE CASO NA AMAZÔNIA MERIDIONAL**

VICTOR YUNES GUIMARÃES

Botucatu – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E ASPECTOS DA
IMUNIDADE CELULAR DE PRIMATAS NEOTROPICAIS FRENTE
À EXPOSIÇÃO PROLONGADA DE AGROTÓXICOS:
ESTUDO DE CASO NA AMAZÔNIA MERIDIONAL**

VICTOR YUNES GUIMARÃES

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Animais Selvagens para
a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias
Coorientadora: Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Guimarães, Victor Yunes.

Avaliação clínico-patológica e aspectos da imunidade celular de primatas neotropicais frente à exposição prolongada de agrotóxicos : estudo de caso na Amazônia Meridional / Victor Yunes Guimarães. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Luiz Catão-Dias

Coorientador: Regina Kiomi Takahira

Capes: 50503030

1. Imunofenotipagem. 2. Pesticidas. 3. Primatas não humanos. 4. Toxicologia.

Palavras-chave: Imunofenotipagem; Pesticidas; Primatas não-humanos; Toxicopatologia.

Nome do Autor: **Victor Yunes Guimarães**

**TÍTULO: AVALIAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E ASPECTOS DA IMUNIDADE
CELULAR DE PRIMATAS NEOTROPICAIS FRENTE À EXPOSIÇÃO
PROLONGADA DE AGROTÓXICOS: ESTUDO DE CASO NA AMAZÔNIA
MERIDIONAL.**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias

Presidente e Orientador

Departamento de Patologia

FMVZ – USP – São Paulo

Prof^a. Dr^a. Laurence Marianne Vincianne Culot

Membro

Departamento de Biodiversidade

UNESP – Rio Claro

Prof^a. Dr^a. Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes

Membro

Departamento de Patologia

FMVZ - USP – São Paulo

Prof^a. Dr^a. Lilian Silva Catenacci

Membro

Departamento de Morfofisiologia Veterinária/ Centro de Ciências Agrárias

UFPI - Universidade Federal do Piauí

Dr^a. Marina Galvão Bueno

Membro

Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental (LVCA)

Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ)

Data da Defesa: 20 de dezembro de 2021.

Agradecimentos

À minha família, pelo amor, carinho, dedicação, incentivo, apoio incondicional e irrestrito durante todos os momentos desta caminhada. Presentes nos momentos mais difíceis, me dando todo o suporte necessário para lidar com a distância e as dificuldades! Não apenas pelos momentos durante a pós-graduação, mas também os que antecederam minha caminhada até aqui. Sem eles, indubitavelmente não conseguiria atingir esta posição. Vocês são a tradução do que se entende por alicerce!!

Ao meu companheiro Guilherme Petrócio por tanto respeito, amor e carinho, cumplicidade, pelas palavras de alento, por cada abraço apertado e por estar ao meu lado, compartilhando toda esta Odisseia. Obrigado por fazer dos meus dias, os dias mais felizes! O afeto, o companheirismo, a amizade, a paciência, o sorriso, o apoio, a compreensão e o estímulo diante das dificuldades foram fundamentais pra que este trabalho fosse materializado.

Aos meus amigos!! Sem distinção de nome, pois só eu sei o quanto eles são numerosos e não gostaria de deixar nenhum de fora desta singela homenagem. Espalhados por diferentes cantos do Brasil e do mundo, mas que a internet ainda permite manter fortalecidos os laços de afeto. Eles que estiveram ao meu lado incondicionalmente desde o começo da minha carreira profissional e estudantil! Cada um com sua contribuição, amizades que vão desde o vôlei, à universidade, os trabalhos de campo, laboratório e aos amigos que a terra do Saci me presenteou. Talvez os que convivem comigo em Botucatu podem presenciar o melhor de mim. Produto lapidado por anos, moldado por fatores ambientais diversos, mas saibam que a personalidade de hoje foi construída por experiências vividas ao lado de muitos de vocês.

Ao meu orientador, Prof. Catão, um agradecimento mais que especial! Difícil resumir, mas se esta seção aceitasse áudios, aqui seria anexado um podcast! Ser seu orientado é um privilégio que não se resume aos ensinamentos acadêmicos carregados de notório saber, mas significa ter os caminhos iluminados por um feixe incandescente de inspiração, amparo, sobriedade,

retidão e respeito, que vou carregar e manter aceso sempre. Não tenho dúvidas de que essa experiência de vida de um doutorando obstinado por aprender, estudar, compartilhar, com tantas inquietações e aspirações científicas, e sempre com um propósito conservacionista muito claro em sua história e essência, não poderia ser mais grato por lhe ter por perto. Como aluno da “Escola Catoniana” e membro do lugar onde todas essas qualidades se reúnem, um lugar chamado LAPCOM, saúdo todos meus colegas e amigos que por ali passaram; meu muito obrigado!

À Profa. Regina Takahira meu sentimento não seria menor que gratidão. Completando uma década desde que tive o primeiro contato, desde então a Patologia Clínica Veterinária foi ganhando nome, sobrenome e endereço. Tínhamos a honra de conviver com a Dra. Aguemi Kohayagawa, Prof. Raimundo e hoje, Profa Regina ainda sustenta pilares sólidos que pra mim são inspiração; espero nunca decepcionar. No LCV encontrei um universo de conhecimento, um puxadinho da minha casa, almoços, amigos secretos, festas temáticas inesquecíveis e um monte de amizades pra vida toda. Orgulho de fazer parte dessa história!

Ao CEMPAS e Zoológico de Sorocaba (PZMQB), pela disponibilidade, presteza e carinho com que sempre fui recebido e pela concessão para a pesquisa piloto. Os animais gentilmente cedidos pela direção e amparados por uma equipe sempre pronta a ajudar!

Ao serviço de Patologia Veterinária desta instituição, desde os funcionários, residentes, pós-graduandos aos professores, que sempre estiveram prontamente dispostos a contribuir e somar para a minha formação, além de ter contribuído substancialmente para a execução desta pesquisa.

À Dra. Ana Cláudia Oliveira Carreira, pela colaboração, auxílio e disposição de tanto tempo e energia nas longas jornadas de trabalho debruçados no citômetro, nas dependências do NUCEL. Os esforços pra tentar colocar de pé um projeto tão ambicioso não teria sido possível sem sua imensa ajuda. A todos os funcionários, estudantes e gestores que colaboraram e permitiram que este estudo fosse viabilizado.

Ao Dr. Fabiano Barreto, Dra Louise Jank e Dr. Nélío Fleury obrigado pela paciência, acima de tudo! A jornada toxicológica não seria a mesma sem a imensa colaboração, disposição, prestatividade, assiduidade com que sempre me receberam e abraçaram este projeto. Graças aos intermináveis podcasts, reuniões, mesmo diante dos inúmeros desafios impostos pela pandemia, materializamos uma pesquisa inédita e com desdobramentos que estão além da nossa compreensão. Meus sinceros agradecimentos!

Em Sinop, uma lista interminável de parceiros que não caberiam aqui nominalmente listados. Mas injusto seria se não apontasse o Prof. Gustavo Canale, Dra. Christine Steiner, Profa. Alessandra Kataoka, Profa. Nádia Antoniassi e Dra. Natália Capanema que gentilmente cederam o espaço, tempo, residentes, graduandos, pós-graduandos, insumos e conteúdo para esta pesquisa e foram grandes viabilizadores deste produto.

À Biota Projetos e Consultoria Ambiental Ltda., empresa que não somente autorizou, mas sempre incentivou, acolheu e me recebeu em sua base de campo local como se meu projeto fosse parte de seu escopo. Tanto o corpo diretor, quanto as equipes de campo foram igualmente indispensáveis durante todas as etapas de campo deste projeto. À Sinop Energia por todo apoio logístico e institucional, permitindo que os dados coletados fossem além dos muros das condicionantes ambientais e pudessem ser convertidos em produção científica.

Aos biólogos, auxiliares de campo, tratadores, servidores, médicos veterinários, pesquisadores externos, técnicos e todos que participaram das etapas de campo e laboratório fundamentais para este estudo.

À *Coordenação de Aperfeiçoamento do Ensino Superior* (Capes), ao Programa de Pós Graduação em Animais Selvagens, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) por todo suporte institucional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio de Bolsa de Estudos e Reserva Técnica do Processo nº 2017/26694-0, sem os quais não seria possível a realização deste estudo.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	VIII
INTRODUÇÃO	2
1 INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	14
2 OBJETIVOS	15
REVISÃO DA LITERATURA	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
MATERIAL E MÉTODOS	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 BASE LEGAL E NORMATIVA	25
4.2 FASE PILOTO	26
4.2.1 Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros	26
4.2.2 CEMPAS e Setor de Patologia (FMVZ-Unesp), Botucatu, SP	29
4.2.3 NUCEL (Núcleo de Terapia Celular e Molecular), USP	29
4.3 FASE TRABALHO DE CAMPO	32
4.3.1 UHE Sinop: animais vivos	32
4.3.2 UHE Sinop: animais mortos	34
4.3.3 Avaliação Hematológica e Bioquímica	35
4.3.4 Citometria de Fluxo	36
4.3.5 Varredura toxicológica	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 CAPTURA E COLHEITA DE AMOSTRAS	46
5.2 EXAME CLÍNICO	49
5.3 HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA CLÍNICA	55
5.4 AVALIAÇÃO TOXICOPATOLÓGICA	68
5.4.1 PLASMA	68
5.4.3 AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA	81
5.5 IMUNOFENOTIPAGEM E ASPECTOS DA IMUNIDADE	96
6 CONCLUSÕES	106
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
8 FOMENTO	109
REFERÊNCIAS	111
9 REFERÊNCIAS	112
10 APÊNDICE: ESTUDOS E ANÁLISES COMPLEMENTARES	128
10.1 CITOLOGIA VAGINAL	128
10.2 ISÓTOPOS ESTÁVEIS	132
10.3 TAXONOMIA E FILOGENÉTICA	133

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Principais ingredientes ativos registrados para culturas</i>	22
<i>Tabela 2. Primatas amostrados durante a Fase Piloto, PZMQB.</i>	26
<i>Tabela 3. Pannel de anticorpos monoclonais testados com amostras da Fase Piloto.</i>	31
<i>Tabela 4. Parâmetros otimizados para análise dos compostos por LC-ESI-MS/MS no modo de ionização negativo ESI-, para o modo de aquisição MRM.</i>	40
<i>Tabela 5. Dados dos compostos fragmentados no modo Product Ion no LC-QTOF-MS</i>	44
<i>Tabela 6. Riqueza de espécies amostradas durante a Fase de Campo e seu respectivo nome popular, Sinop, 2019.</i>	46
<i>Tabela 7. Distribuição dos indivíduos estudados, em função da família, espécie, número de animais, status de conservação e o número de amostras obtidas para cada tipo de exame laboratorial, Sinop, 2019.</i>	48
<i>Tabela 8. Distribuição dos indivíduos estudados, em função do exame clínico, Sinop, 2019.</i>	51
<i>Tabela 9. Distribuição de indivíduos submetidos à avaliação hematológica durante a fase de campo, em função do local de captura, faixa etária, sexo e a presença de hemoparasitas, Sinop, MT, 2019.</i>	56
<i>Tabela 10. Distribuição dos valores hematológicos dos PNH resgatados durante o enchimento da UHE Sinop, 2019 (eritograma).</i>	57
<i>Tabela 11. Distribuição dos valores absolutos médios e desvio padrão dos parâmetros hematológicos das nove espécies de PNH da Fase de Campo, Sinop, MT, 2019.</i>	63
<i>Tabela 12. Distribuição das espécies de primatas durante a Fase de Campo, em função dos parâmetros bioquímicos, seus valores medianos e o desvio padrão, Sinop, MT.</i>	64
<i>Tabela 13. Distribuição da detecção de agrotóxicos nas amostras de tecido de primatas necropsiados e a respectiva concentração aproximada na faixa de 0,5 a 10 ppb, Sinop, MT, 2019.</i>	77
<i>Tabela 14. Classificação dos agrotóxicos conforme a periculosidade, ANVISA 2021.</i>	78
<i>Tabela 15. Distribuição dos primatas submetidos a exame necroscópico, as instituições responsáveis e o município durante as duas fases de estudo.</i>	83
<i>Tabela 16. Descrição anatomopatológica dos primatas avaliados na Fase de Campo, Sinop, MT.</i>	84
<i>Tabela 17. Ensaio nº 26: Distribuição da reatividade de 10 anticorpos e a respectiva intensidade de marcação, e 7 espécies de PNH avaliadas.</i>	98
<i>Tabela 18. Exame físico do trato reprodutivo, avaliação citopatológica e sugestão de fase do ciclo estral de espécies selecionadas de primatas neotropicais.</i>	129

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mico rondoni em recinto externo; Fase Piloto; PZMQB set/2018.....	28
Figura 2. Exame clínico em Sapajus nigritus; Fase Piloto; PZMQB set/2018.	28
Figura 3. Exame físico da genitália feminina de Ateles chamek; Fase Piloto; PZMQB set/2018.....	28
Figura 4. Venopunção do acesso coccígeo ventral em Ateles marginatus; Fase Piloto; PZMQB set/2018.	28
Figura 5. Embarcações durante resgate de Plecturocebus grovesi; Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.	33
Figura 6. Resgate de indivíduo juvenil de Chiropotes albinus Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.	33
Figura 7. Interação de Mico emiliae com armadilha do tipo tomahawk; Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.....	33
Figura 8. Contenção física em campo de Aotus infulatus Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.....	33
Figura 9. A. Microfilária sanguínea em Mico emiliae: corpos celulares coalescidos até o fim da cauda, ausência de gancho, de espaço cefálico e de bainha; B. Microfilária sanguínea em Sapajus apella: presença de bainha anterior e posterior, corpos celulares coalescidos até a extremidade da cauda. Microscopia de luz, Wright-Giemsa, 40x.....	65
Figura 10. Cromatogramas da análise de glifosato no plasma para duas amostras negativas, por LC-MS/MS. Controle (A), ID: 6 (B), ID: 47 (C), LFDA-RS, 2020.....	69
Figura 11. Cromatogramas do analito Alachlor (Fragm 238) ($m/z=239,1071$) (acima) e amostra 01 (abaixo), LFDA-RS, 2021.....	70
Figura 12. Cromatogramas e espectro de massas para o composto Carbendazim, ID: 45, LFDA-RS, 2021.	72
Figura 13. Cromatogramas e espectro de massas para o composto Fragmento 238 Alachlor, ID: 53, LFDA-RS, 2021.....	73
Figura 14. Demonstrativo dos ingredientes ativos autorizados por cultura e o respectivo LMR (MAPA, 2021).....	78
Figura 15. Curvas padrão em cromatograma com 231 agrotóxicos no ponto de detecção de até 50 partes por bilhão (ppb), LFDA-GO, 2020.....	79
Figura 16. Curvas de detecção de bromuconazol (A) (ID: 66), fipronil (B) (ID:54) e mesotriona (C) (ID:48), LFDA-GO, 2020.....	80
Figura 17. Fragmento de fígado apresentando espessamento em canal biliar (estrela), assim como na cápsula multifocal de coloração esbranquiçada e consistência firme (ID:1, Sapajus apella).	87

Figura 18. Espessamento do espaço porta com deposição de tecido conjuntivo compatível com fibrose em lúmen de ducto biliar. Presença de forma parasitária compatível com trematódeos. Foto de tecido hepático em microscopia de luz, HE.....	87
Figura 19. Cisto ovariano. Formação ovalada em região córtico medular contendo debris celulares em seu interior e, circundada por células estromais, 50x, HE.....	87
Figura 20. Cistos intracitoplasmáticos em miócitos contendo material basofílico e amorfo, 100x, HE.	87
Figura 21. Microfilárias em medula óssea (setas), ID: 1, <i>Sapajus apella</i> , HE, Barra de Escala: 10µm.....	88
Figura 22. Heterogeneidade de folículos em tireóide, ID: 2, <i>Sapajus apella</i> , HE, Barra de Escala: 40µm.	89
Figura 23. Tromboembolismo arterial associado a presença de microfilárias (setas), pulmão, ID: 1, <i>Sapajus apella</i> , HE, Barra de Escala: 40µm.	90
Figura 24. Microfilárias (seta) em neuroparênquima (córtex), ID: 3, <i>Mico emiliae</i> , HE, Barra de Escala: 10µm.....	91
Figura 25. Degeneração e necrose de musculatura estriada esquelética. Heterogeneidade e aspecto floculado de citoplasma, descontinuidade de filamentos e ruptura de miofibras (seta), área de reparação tecidual por cicatrização (estrela), ID: 1, <i>Sapajus apella</i> , HE, Barra de Escala: 40µm.....	92
Figura 26. Ensaio 23: A. Populações de células CD3+ de <i>Alouatta clamitans</i> marcadas pelo anticorpo anti-CD3 PeCy5, indicadas pelo canal APC; lise seguida de leitura. FACS Aria II. B. Controle de anticorpo secundário (Alexa Fluor® 488) para populações celulares de <i>Alouatta clamitans</i> , sem fluorescência em todos os canais FACS Aria II.	99
Figura 27. Ensaio 35. A, B e C. Controle negativo com lise, alta celularidade e população não marcada; D. Marcação discreta de anti-CD8 (1:200) (FITC, FL1); E. Marcação de 43.3% de células CD45+ (FITC, FL1); F. Marcação de 59.6% de população CD3+, detector FL3 (PeCy5).....	101

GUIMARÃES, V.Y. Avaliação Clínico-Patológica E Aspectos Da Imunidade Celular De Primatas Neotropicais Frente À Exposição Prolongada De Agrotóxicos: Estudo De Caso Na Amazônia Meridional. 2021. 146p. Tese (Doutorado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos e, ao mesmo tempo, ocupa a posição de maior consumidor mundial de agrotóxicos. A utilização intensiva de pesticidas por meio da pulverização por avião, trator-dispersor ou equipamento manual, mesmo em total observância às leis estabelecidas, leva à contaminação de espécies não-alvo, incluindo populações selvagens de primatas neotropicais (PNT). O objetivo deste trabalho foi investigar aspectos da imunidade celular e as interações clínico-patológicas por meio das avaliações hematológica, bioquímica, histopatológica, toxicológica e do imunofenótipo de linhagens celulares de sangue periférico em uma população de primatas neotropicais exposta a agrotóxicos às margens do rio Teles Pires, dentro da área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Sinop, Mato Grosso, Brasil. Noventa e seis PNT, entre nove espécies e sete gêneros (*Alouatta*, *Ateles*, *Chiropotes*, *Plecturocebus*, *Mico*, *Aotus* e *Sapajus*) apresentaram resultados negativos para a varredura multiresíduos do plasma (447 pesticidas e metabólitos) e quatro indivíduos entre 12 cadáveres revelaram a presença de mesotriona, fipronil e bromuconazol em fígado e musculatura esquelética (LC-MS/MS, LC-QTOF/MS). Os parâmetros hematológicos, bioquímicos e histológicos não revelaram alterações patognomônicas de intoxicação ou achados que pudessem ser diretamente associados ao quadro toxicopatológico. A definição de um protocolo de imunofenotipagem para nove espécies de primatas por meio da citometria de fluxo (FACSAria II, Accuri C6) abre caminhos para compreensão da dinâmica de modulação imune frente aos desafios antigênicos ambientais. A caracterização clínico-patológica das populações de primatas expostos a agrotóxicos na região do norte mato-grossense evidenciou uma ameaça insidiosa e amplamente desconhecida. Ainda que alguns achados não configurem forte associação causa-efeito, a exposição, a bioacumulação e a persistência de alguns pesticidas em tecidos biológicos parece incontestável. Esses resultados também podem

subsidiar políticas públicas restritivas ou regulatórias quanto à pulverização de agrotóxicos, tanto local quanto nacionalmente.

GUIMARÃES, V.Y. Clinical-Pathological Assessment and Aspects of Cellular Immunity in Neotropical Primates Facing Prolonged Exposure to Pesticides: A Case Study from Southern Amazon. 2021. 146p. Tese (Doutorado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Brazil is one of the world's largest food producers, at the same time, holds the position of the greater consumer of agricultural pesticides. The intensive use of pesticides by aerial or manual spraying, even in full compliance with established laws, leads to contamination of non-target species, including wild populations of Neotropical primates (NTP). The aim of this study was to investigate aspects of cellular immunity and clinicopathological interactions through hematological, biochemical, histopathological, toxicological, and immunophenotypical evaluations of peripheral blood cells, in a population of NTP exposed to pesticides on the banks of the Teles Pires River, in the area of direct influence of the Sinop Hydroelectric Power Plant, Mato Grosso, Brazil. Ninety six NPTs among nine species and seven genera (*Alouatta*, *Ateles*, *Chiropotes*, *Plecturocebus*, *Mico*, *Aotus*, and *Sapajus*) showed negative results for the multi-residue plasma scan (447 pesticides and metabolites) and four individuals among 12 carcasses revealed the presence of mesotrione, fipronil, and bromuconazole in the liver and skeletal muscles (LC-MS/MS, LC-QTOF/MS). The hematological, biochemical, and histological parameters did not reveal any pathognomonic changes of intoxication or findings that could be directly associated with the toxic-pathological picture. The definition of an immunophenotyping protocol for nine primate species by flow cytometry (FACS Aria II, Accuri C6) opens avenues for understanding the dynamics of immune modulation in the face of environmental antigenic challenges. The clinicopathological characterization of the primate populations exposed to pesticides in the northern region of Mato Grosso showed an insidious and largely unknown threat. Even if some findings do not configure a strong cause-effect association, the exposure, bioaccumulation, and persistence of some pesticides in biological tissues seem unquestionable. These

results may also subsidize restrictive or regulatory public policies regarding the spraying of pesticides, both locally and nationally.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A perda e degradação do habitat, especialmente impulsionada pela expansão da agricultura, são algumas das principais ameaças à biodiversidade (Piña et al. 2019). Nas últimas duas décadas, cerca de um décimo (~33 milhões de km²) de todas as áreas selvagens em todo o mundo foram convertidas para usos de terra antropogênicos, sendo a América do Sul e a África as regiões mais afetadas (Watson et al. 2016). Dado que a “pegada humana” continua a expandir-se implacavelmente, especialmente para os biomas mais ricos em espécies (Venter et al. 2016), o destino da biodiversidade será cada vez mais dependente de habitats modificados por humanos (Almeida-Rocha et al. 2017).

No mundo todo, 75% de todas as 512 espécies de primatas não-humanos (PNH) tem suas populações em declínio (Estrada et al. 2017), 65% estão ameaçadas de extinção, e 14% criticamente ameaçadas (Chapman & Peres 2021). Além da caça, comércio ilegal, doenças infecciosas e espécies invasoras, perdas adicionais de floresta provém da construção de barragens, rodovias, ferrovias, mineradoras e da expansão de commodities agrícolas, resultando invariavelmente no declínio das populações de primatas (Estrada et al. 2020).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de alimentos, algodão, madeira, celulose e biocombustível, mas também é o maior consumidor mundial de agrotóxicos (Pignati et al. 2014). A utilização intensiva de agrotóxicos, por meio da pulverização por avião, trator-dispersor ou equipamento manual, mesmo em total observância às legislações estabelecidas, leva à poluição dos alimentos, das águas, do ar, dos substratos, da população do entorno e dos animais, ou seja, contamina toda a biota, tanto na zona rural, quanto na urbana (Hayes & Hansen 2017).

Devido à crescente resistência das pragas aos produtos químicos, grandes quantidades de novos compostos são aplicadas a cada ano para proteger as colheitas, causando efeitos indesejáveis e aumentando os custos da produção de alimentos (Capmourteres et al. 2018). Essas substâncias são intencionalmente dispersadas no ambiente e, além de controlar pragas, também

atuam sobre outras espécies, causando sérios efeitos paralelos em espécies não-alvo, uma vez que os resíduos podem persistir no solo, água e alimentos, contaminando humanos e animais (Carvalho 2006; Hannah et al. 2020).

De acordo com o Instituto de Defesa Agropecuária do Mato Grosso (INDEA) e o Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas (SINDAG - SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS 2017), o estado do Mato Grosso é o maior produtor nacional de soja e também o maior consumidor nacional de agrotóxicos, detentor de 18,9% do consumo total (Bombardi 2017). A literatura especializada tem associado a exposição aguda e crônica aos agrotóxicos com consequências para as saúdes humana e animal, tais como alterações hematológicas, imunológicas, reprodutivas, teratogênias, disfunções hormonais e neurocomportamentais, além do desenvolvimento de neoplasmas (Colborn et al. 1993; Pignati et al. 2014; IARC, 2012).

De modo similar aos trabalhadores rurais que se expõem aos pesticidas por meio de inalação, ingestão ou ainda por resíduos nos alimentos e água (em ambiente ocupacional e residencial) (Mathur et al. 2005), primatas residentes e circunvizinhos encontram-se igualmente vulneráveis (Krief et al. 2017). Segundo Hayes & Hansen (2017), existem aproximadamente 85.000 ingredientes ativos mundo afora, mas ainda estamos longe de esclarecer os riscos e os mecanismos de toxicidade. Assim, a necessidade de uma compreensão da resposta celular após a exposição de pesticidas é paradigmática para elucidar perturbações que ocorrem dentro dos sistemas biológicos (Karthek & David 2018).

Além do potencial oncogênico de alguns pesticidas (Giraudeau et al. 2018) por indução de mutações somáticas, é preciso avaliar os efeitos de seus metabólitos, já que às vezes possuem atividade endócrina mais potente que seus compostos originais (Lu et al. 2015). Não menos importante se faz necessária a validação da matriz biológica de investigação. A exemplo do glifosato e seu metabólito AMPA que possuem eliminação urinária bem definida, a medição de seus níveis na urina humana tem sido uma ferramenta poderosa para definição dos valores de “ingestão diária aceitável” (ADI) (Niemann et al. 2015).

Camundongos expostos a bisfenóis no período pré-natal apresentaram mais células CD3+CD4+ e CD3+CD8+ no baço e maior resposta de células Th1 e Th2 (Iwata et al. 2004). PCBs (bifenilos clorados) elevaram a atividade sérica

das enzimas hepáticas ALT, AST, GGT, além de bilirrubinas em humanos (Serdar et al. 2014). Fipronil e fipronil-sulfona já foram detectados em tecido adiposo e cerebral de saimiris (*Saimiri sciureus*) após intoxicação aguda, em condições de cativeiro (Demir et al. 2021). Investigações recentes mostram que fungicidas triazólicos também parecem ter efeitos tóxicos em vários órgãos, incluindo fígado em animais (di Renzo et al. 2011; Wu et al. 2021).

Nesse contexto, os exames toxicopatológicos desempenham um papel importante no diagnóstico de intoxicações indiretas e/ou acidentais (Fisk et al. 2005). Ainda que algumas substâncias não produzam lesões patológicas típicas, dificultando o diagnóstico (Poklis 1997), a detecção de determinados agentes e seus metabólitos podem contribuir para a compreensão da relação causa-efeito, entre os valores encontrados e os achados clínicos (Haglock et al. 2008). À luz da literatura especializada, não foi possível encontrar qualquer estudo envolvendo primatas não humanos que se propusesse investigar a matriz em questão, sob condições reais de exposição ambiental.

As populações de primatas neotropicais (PNT), objetos deste estudo, encontram-se às margens do rio Teles Pires, dentro da área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Sinop (UHE SINOP), estado do Mato Grosso, Brasil. A área amostral está inserida num cenário de intensa perturbação, com a utilização de agrotóxicos nas monoculturas de soja, cana, trigo e milho, com efeitos ainda desconhecidos para a maioria das espécies de PNT. Ainda que os animais estejam submetidos a fontes de estresse contínuo e dispendendo grande energia para estabelecer uma resposta imune eficaz, sua plasticidade adaptativa pode se esgotar.

Desse modo, este estudo possui basicamente três eixos estruturantes, caracterizados nas seguintes indagações:

- Existem achados clínico-laboratoriais, imunológicos e histopatológicos que relacionem a constante exposição aos agrotóxicos com toxicidade?
- A exposição aguda e/ou crônica aos agrotóxicos representa bioacumulação nas espécies e matrizes testadas?
- É possível fazer alguma relação da proximidade da lavoura com a presença de agrotóxicos nas matrizes biológicas?

Acreditamos que os resultados deste estudo aqui apresentados possam prover referências para futuros programas de manejo *in situ*, minimizando os efeitos nocivos dos pesticidas sobre os indivíduos e, desta forma, contribuir para a conservação das populações selvagens.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Com vistas aos eixos estruturantes acima mencionados, o objetivo geral deste trabalho foi investigar aspectos da imunidade celular e as interações clínico-patológicas em uma população de primatas neotropicais exposta a agrotóxicos na Amazônia meridional.

Como decorrência a este objetivo geral, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- a – Caracterizar clinicamente os espécimes capturados da população *in situ* de primatas neotropicais, considerando os fatores: espécie, faixa etária, sexo;
- b – Detectar e quantificar a presença de agrotóxicos selecionados no plasma e tecidos de animais vivos e mortos, provenientes da região de estudo;
- c – Caracterizar aspectos da imunidade celular de espécimes capturados da população *in situ* de primatas neotropicais, por meio da técnica de imunofenotipagem de subpopulações celulares de sangue periférico valendo-se da citometria de fluxo;
- d – Verificar a relação entre a presença dos agrotóxicos pesquisados e eventuais alterações clínicas, hematológicas, bioquímicas, imunológicas e histopatológicas nos primatas neotropicais avaliados;

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 *Sistemas Agrícolas x Conservação*

O primeiro paradigma da equação Sistemas Agrícolas x Conservação diz respeito à exponencial demanda por alimentos, atrelada ao crescimento da população humana (Laurance & Balmford 2013). Nas regiões tropicais, onde a população cresce em ritmo acelerado, existe, portanto, a necessidade de produzir alimentos de forma mais eficiente, reduzindo o desperdício e otimizando o espaço e a resiliência das lavouras; neste sentido, uma das estratégias adotadas é reduzir a área agricultável associada à aplicação de pesticidas (Laurance et al. 2014). A medida em que a agricultura se expande e se intensifica, a questão chave é o grau em que a biodiversidade resistirá em ambientes cada vez mais dominados por seres humanos (Wright & Muller-landau 2006; Laurance 2007).

Avaliações recentes, em nível global, indicam a existência de 612 *taxa* pertencentes à ordem Primates, dos quais 37% na categoria “Pouco Preocupante”, 24% “Ameaçado”, 22% “Vulnerável”, 11% “Criticamente Ameaçado” e 6% “Quase Ameaçado”, de acordo com os critérios da *International Union for Conservation of Nature’s Red List* (IUCN, 2020). Segundo esta instituição referencial, em todo o mundo, as espécies de PNH se enquadram em alguma categoria de ameaça devido a atividades humanas, sob diferentes formas e escala.

Nos últimos anos, o elevado crescimento da população humana traduziu-se numa intensificação agrícola em escala global, capaz de modificar a paisagem, exercendo uma enorme pressão sobre os habitats naturais de

ocorrência dos PNH, até mesmo em áreas protegidas (Estrada 2013). Ainda que amparadas por lei, a maioria das áreas protegidas está rodeada por, ou faz parte, de uma matriz de ecossistemas alterados pela ação humana (Oliveira & Estrada 2017).

Agroecossistemas correspondem a mais de um quarto da porção terrestre do planeta (aproximadamente 50 milhões de km²), desde os sistemas mais simplificados como as pastagens e monoculturas, até sistemas complexos como as agroflorestas (Schroth et al. 2004). Em uma revisão sobre o tema, Estrada et al. (2012) apontam que 57 espécies de PNH em quatro regiões – Mesoamérica, América do Sul, África Subsaariana e no Sudeste asiático – utilizam 38 tipos de agroecossistemas como habitats temporários ou permanentes.

No Brasil, há relatos de diferentes espécies de PNT utilizando agroecossistemas em diferentes biomas. Os estudos de (Agostini et al. 2010) apontam que *Alouatta g. clamitans* e *Alouatta caraya* coexistem em ambientes de florestas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e araucárias (*Araucaria augustifolia*) na região sul do país, utilizando-se deste recurso como fonte de alimento e abrigo. (Raboy et al. 2010) também detectaram diferentes padrões de utilização do habitat das populações de *Leontopithecus crysomelas* que circundavam as plantações de cacau da Mata Atlântica no estado da Bahia.

Segundo Estrada (2013), o desenvolvimento de modelos para aumentar a conectividade da paisagem alterada e o ambiente florestal, na forma de corredores temporários ou permanentes, talvez favoreçam a persistência a médio e longo prazo das populações de PNT em ambiente natural. Pouco se conhece a respeito das estratégias de forrageio dos PNT, de sua área de vida, do uso dos recursos alimentares e a sua sustentabilidade em ambientes alterados pela ação humana, principalmente em paisagens agrícolas (Oliveira & Estrada 2017). Diante deste cenário, torna-se premente a compreensão das interações PNH x agroecossistemas, uma vez que tal entendimento auxiliará na elucidação da capacidade de resiliência das populações frente aos desafios imunológicos.

3.2 *Amazônia meridional e principais ameaças*

A área de investigação do presente trabalho de pesquisa vincula-se geograficamente ao empreendimento hidrelétrico localizado no rio Teles Pires, na Bacia Hidrográfica do rio Tapajós, afluente pela margem direita do rio Amazonas, com potência instalada de 400 MW. O local do eixo da UHE Sinop encontra-se no estado de Mato Grosso (11° 51' 51" S, 55° 30' 09" O), nos municípios de Itaúba (margem esquerda) e Cláudia (margem direita), sendo que o reservatório formado abrange, também, parte dos territórios dos municípios de Sinop, Sorriso e Ipiranga do Norte (Novo Norte Ambiental (NNA) - Companhia Energética Sinop (CES) 2013).

A UHE Sinop está instalada em ambientes com formações florestais alagáveis e de terra firme, bem como ambientes alterados pela ação humana. A Área de Influência Direta (AID) da UHE Sinop abrange o domínio amazônico, com presença de Floresta Ombrófila Aberta em grande parte da área. De acordo com (Themag 2010) e NNA, (2013) essas formações florestais se desenvolvem sobre o Planalto dos Parecis, na faixa intermediária entre os Domínios da Savana e da Floresta Amazônica. Trata-se de região marcada por elementos vegetais de grande porte, entre 20 e 30m de altura, e árvores emergentes, principalmente nas áreas do município de Itaúba, próximas ao eixo do barramento.

Conforme apontado no diagnóstico do Estudo de Impacto Ambiental (EIA), a área total suprimida pelo reservatório (337 km²) era composta, em sua maioria, por vegetação florestal (62%); as porções remanescentes correspondem a áreas de vegetação secundária, agricultura/pastagem e corpos d'água. Entre as 62 espécies de mamíferos de médio e grande porte registradas na região da UHE Sinop, 32 sofrem algum tipo de risco ou sofrerão no futuro, devido à intensa alteração dos habitats observada na região (Themag, 2010). De acordo com o EIA do empreendimento, da riqueza total de mamíferos terrestres, 13 espécies de PNT foram registradas na região até o momento, com destaque especial para a ocorrência de duas espécies classificadas na categoria "Vulnerável" (*Ateles chamek* e *A. marginatus*) (MMA 2014).

O Relatório de Impacto Ambiental (RIMA) e o Plano Básico Ambiental (PBA) do empreendimento sinalizaram que na região onde se insere o

empreendimento não há nenhuma Unidade de Conservação (UC) e encontra-se bastante alterada, sendo observados esparsos fragmentos florestais remanescentes. A região corresponde, ainda, ao polo mato-grossense de produção agrícola (Belo et al. 2012), marcado pelo plantio da soja e a pulverização aérea de agrotóxicos (Pignati et al. 2007), ações que resultam na deriva de componentes tóxicos para fora do alvo desejado.

3.3 Pesticidas e os efeitos tóxicos

Nos dias de hoje, a produção e disseminação de xenobióticos no ambiente aumentou; seres vivos estão expostos diariamente a muitos deles e seus metabólitos, verificando-se efeitos compensatórios, multiplicadores e muitas vezes sinérgicos (Feron et al. 2002; Samet & Wages 2018). Estudos realizados em humanos, em diversas espécies de animais (terrestres e aquáticos), no solo e água têm demonstrado os efeitos cumulativos (Ghisi et al. 2016) e negativos dos pesticidas sobre a saúde dos indivíduos expostos (Gasnier et al. 2009).

Os pesticidas são classificados pela estrutura química e pelo organismo alvo (Unsworth et al. 1999). A complexa diversidade de moléculas existentes confere distintas propriedades físicas e químicas, resultando, portanto, em diferente potencial toxicológico e comportamento no ambiente (Dutra De Armas et al. 2007). As características de adsorção e dessorção que determinam o movimento de praguicidas, sua biodisponibilidade, degradação microbiana e persistência dependem das propriedades da matéria orgânica, tamanho e forma das partículas, solubilidade em água e coeficientes de partição (Lalah & Wandiga 1996).

De maneira geral, a aplicação dos pesticidas é realizada por pulverização aérea ou terrestre, podendo ser manual ou mecânica. Durante a aplicação, cerca de 30 a 50% da quantidade aplicada pode ser perdida para atmosfera por deriva (van der Berg et al. 1999). A determinação de pesticidas nas matrizes ambientais (água, solo, ar, plantas alvo) e em alimentos é apontada, portanto, como o ponto de partida para o estabelecimento de processos que avaliem o risco potencial

desses compostos para o ambiente, à saúde humana e toda biodiversidade (Falconer 2002).

Os efeitos nocivos que decorrem a partir de uma exposição única, por repetidas vezes ou persistentemente a longo prazo traduzem o que se conhece por toxicidade aguda e crônica (Poklis 1997). A biotransformação ou metabolismo de um xenobiótico pode alterar dramaticamente sua distribuição e ação, levando à desintoxicação e excreção, ou à bioativação e toxicidade (Lehman-McKeeman 2013). A interação entre um agente tóxico e um organismo depende da dose que chega a um determinado local e da afinidade do xenobiótico por esse local (Ettlin 2013). Em tubo de ensaio ou cultura de células, e em menor grau mesmo nas inoculações em cobaias, é possível atingir concentrações raramente alcançadas no meio ambiente (Woollen 1993). Assim, embora a interação de um ligante biológico com concentrações muito altas de um xenobiótico possa ser uma ferramenta útil para estudos mecanísticos, ela não retrata necessariamente o local de toxicidade desse mesmo xenobiótico em concentrações mais baixas (Haschek et al. 2010).

Nos ecossistemas aquáticos, Silva (2014) demonstrou os efeitos genotóxicos do glifosato sobre o DNA dos eritrócitos de peixes (*Astyanax* sp.); (Ma & Li 2015, Ma et al. 2015) também esclareceram os efeitos imunotóxicos e as lesões histopatológicas em carpas (*Cyprinus carpio*). Os estudos com as carpas avaliaram a toxicidade aguda da exposição ao glifosato, detectando INF - γ , TNF - α , IL 1 - β nos rins, fígado e baço em concentrações elevadas, além de vacuolização citoplasmática e picnose de hepatócitos, dilatação de túbulos renais e necrose focal esplênica.

Diferentes hipóteses de teratogenicidade (Dallegrave et al. 2003), genotoxicidade (Prantl et al. 2018), além de imuno e citotoxicidade (Benedetti 2003), têm sido testadas experimentalmente. Benedetti (2003) detectou incremento no número das células de Kupffer e das fibras de reticulina nos hepatócitos, fibrose discreta, além de redução das subpopulações de linfócitos CD4+ e CD8+, no sangue periférico de camundongos tratados com a diluição de 1/10 da DL₅₀ de glifosato. Hipertrofia e necrose dos hepatócitos da região centrotubular também foram observadas em camundongos, após tratamento com glifosato puro, por 24 meses na concentração de 20.000 ppm de alimento (BIO/DYNAMICS 1994).

Diversos pesticidas têm sido associados à tireoidotoxicidade por interrupção e alteração da sinalização do hormônio tireoidiano (TH) (Leghait et al. 2010, Carles et al. 2017). O hormônio em questão está implicado na organogênese craniofacial (Bronchain et al. 2017) e, portanto, níveis maternos ou neonatais anormais têm sido associados a displasias faciais, incluindo fenda palatina e naso-labial em humanos recém nascidos (Rauh et al. 2012). O único estudo em ambiente natural que relacionou displasias faciais em chimpanzés e babuínos à pulverização de clorpirifós, imidacloprida e DDT, sugere que embora não se consiga precisar a rota de absorção, os primatas podem ter como principal via, a ingestão de recursos alimentares contaminados (Krief et al. 2017).

No que concerne aos alimentos, a quantidade máxima de resíduo de determinado pesticida que pode ser aceita em cada alimento destinado ao consumo humano é chamada de Limite Máximo de Resíduo (LMR) (Botelho, et al. 2012). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os valores de LMR ou tolerância para alimentos destinados ao consumo humano, porém estudos que avaliem o comportamento e destino dos pesticidas nas regiões tropicais são incipientes, quando comparados aos países de clima temperado (Capmourteres et al. 2018, Hannah et al. 2020).

A Tabela 1 sumariza as substâncias ativas registradas, mais comumente utilizadas no norte mato-grossense, principalmente nas culturas de soja e milho, e autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Embrapa.

Tabela 1. Principais ingredientes ativos registrados para culturas

FUNGICIDAS	
SOJA	MILHO
mancozebe	ciproconazol
picoxistrobina	epoxiconazol
tebuconazol	tebuconazol
azoxistrobina	proticonazol
benzovindiflupyr	trifloxistrobina
ciproconazol	piraclostrobina
bixafem	picoxistrobina
protioconazol	metconazol

trifloxistrobina	
fluxapiraxade	
piraclostrobina	
oxicloreto de cobre	
INSETICIDAS	
SOJA	MILHO
teflubenzurom	teflubenzurom
clorantraniliprole	clorantraniliprole
metomil	metomil
indoxacarbe	indoxacarbe
clorpirifos	clorpirifos
espinetoram	espinetoram
lambda-cialotrina	lambda-cialotrina
flubendiamida	flubendiamida
lufenurom	lufenurom
difubenzurom	difubenzurom
tiodicarbe	tiodicarbe
benzoato de emamectina	benzoato de emamectina
imidaclorpidio	imidaclorpidio
acetamiprido	acetamiprido
tiametoxam	tiametoxam
clorfenapir	clorfenapir
betaciflutrina	betaciflutrina
esfenvalerato	esfenvalerato
tiodicarbe	tiodicarbe
HERBICIDAS	
SOJA	MILHO
glifosato	glifosato
2,4D	atrazina
paraquat	tembotrione
diquat	mesotrione
haloxyfop	nicosulfuron
cletodim	
fenoxaprop	
clorimurom	

Fonte: www.agrofit.agricultura.gov.br (Abril, 2020).

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em duas etapas: fase piloto e fase de campo. A fase piloto foi realizada graças à colaboração de múltiplas instituições parceiras, seus dirigentes, residentes e funcionários, que cederam gentilmente o espaço e disponibilizaram recursos humanos, viabilizando o estudo e garantindo todo suporte necessário. Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, CEMPAS, o Setor de Patologia da FMVZ, Unesp Botucatu, bem como o Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL), USP foram as instituições parceiras durante a fase piloto. A fase de campo deste estudo foi concretizada graças ao esforço conjunto da unidade RCA (Resíduos e Contaminantes em Alimentos) do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária-RS (LFDA-RS) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, Porto Alegre), LFDA-GO (MAPA, Goiânia), bem como com o suporte e colaboração de Biota Projetos e Consultoria Ambiental Ltda. e a companhia hidrelétrica Sinop Energia.

4.1 Base Legal e Normativa

O projeto recebeu autorização (Nº 60528-1) para atividades com finalidade científica pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICM-Bio), assim como autorização (certificado Nº 0197/2017) concedida pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Anexos 1 e 2).

As amostras foram colhidas mediante anuência da companhia energética Sinop Energia, bem como dos responsáveis pela Autorização para Manejo de Fauna Silvestre (AMFS) Nº 353/2016. O Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), do Departamento de Patologia da Faculdade

de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, (FMVZ-USP, São Paulo) foi credenciado como instituição parceira do Programa de Afugentamento e Resgate da Fauna Terrestre (PARFT), por meio de Declaração de Aceite, protocolada no respectivo órgão licenciador (Anexo 3).

Os responsáveis por este projeto de pesquisa obtiveram ainda o cadastro junto à plataforma SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) (SISGEN AC3A0D6) (Anexo 4).

4.2 Fase Piloto

4.2.1 Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros

Entre os meses de setembro a novembro de 2018 foram realizadas colheitas de amostras sanguíneas de 12 PNH do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB), Sorocaba, SP¹. A amostragem dos espécimes *ex situ* objetivou a padronização das técnicas de imunofenotipagem realizadas por meio da citometria de fluxo, além de compor o grupo de animais “controle” (sem contato direto conhecido com agrotóxicos).

Tabela 2. Primatas amostrados durante a Fase Piloto, PZMQB.

ID	ESPÉCIE	SEXO	IDADE
1	<i>Sapajus nigritus</i>	FEMEA	ADULTO
2	<i>Mico rondoni</i>	FEMEA	ADULTO
3	<i>Aotus trivirgatus</i>	FEMEA	ADULTO
4	<i>Aotus trivirgatus</i>	FEMEA	ADULTO
5	<i>Chiropotes utahickae</i>	FEMEA	ADULTO
6	<i>Ateles chamek</i>	FEMEA	ADULTO
7	<i>Ateles marginatus</i>	MACHO	ADULTO
8	<i>Alouatta seniculus</i>	MACHO	ADULTO
9	<i>Plecturocebus vieirai</i>	FEMEA	ADULTO
10	<i>Plecturocebus vieirai</i>	FEMEA	ADULTO
11	<i>Plecturocebus vieirai</i>	MACHO	ADULTO
12	<i>Plecturocebus vieirai</i>	MACHO	ADULTO

¹ Parceria viabilizada por intermédio do Dr. Marcos Tokuda e Dra. Cecília Pessutti.

Espécimes de sauá (*Plecturocebus vieirai*), macaco prego (*Sapajus nigritus*), mico de rondônia (*Mico rondoni*), macaco da noite (*Aotus trivirgatus*), bugio vermelho (*Alouatta seniculus*), macaco aranha da cara preta (*Ateles chamek*), macaco aranha da testa branca (*A. marginatus*) e cuxiú (*Chiropotes utahickae*) foram contidos quimicamente (cloridrato de tiletamina + zolazepam), conforme recomendações de (Caulkett & Armeno 2013), para a referida colheita. Exame clínico, seguido de avaliações hematológica e bioquímica sérica foram realizadas com o intuito de obter o status sanitário dos espécimes cativos e servir como parâmetros referência para os congêneres durante a fase de campo (Figuras 1 a 4).

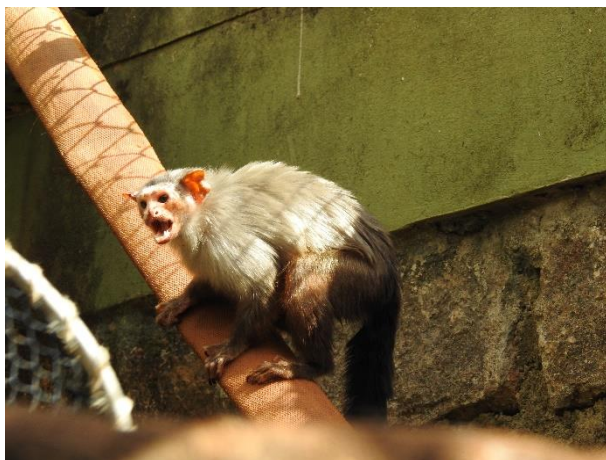


Figura 1. *Mico rondoni* em recinto externo; Fase Piloto; PZMQB set/2018.



Figura 2. Exame clínico em *Sapajus nigritus*; Fase Piloto; PZMQB set/2018.



Figura 3. Exame físico da genitália feminina de *Ateles chamek*; Fase Piloto; PZMQB set/2018.

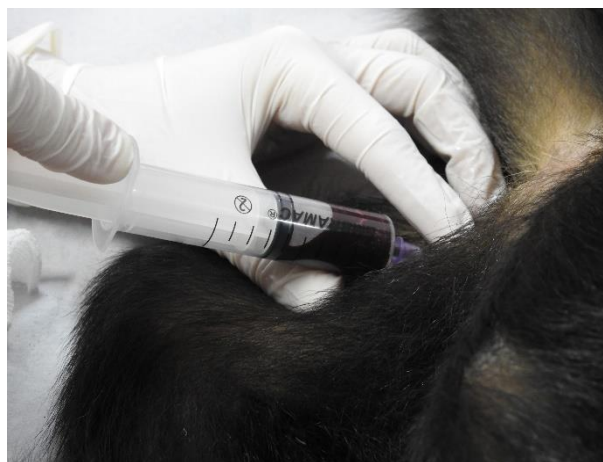


Figura 4. Venopunção do acesso coccígeo ventral em *Ateles marginatus*; Fase Piloto; PZMQB set/2018.

4.2.2 CEMPAS e Setor de Patologia (FMVZ-Unesp), Botucatu, SP

Durante o segundo trimestre de 2018 foram estabelecidas parcerias com o CEMPAS (Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens) e o Setor de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ, Campus de Botucatu-Unesp) a fim de se obter amostras controle para as avaliações histopatológica e toxicológica do estudo. Acordou-se que todos os espécimes da Ordem Primates que porventura viessem à óbito no CEMPAS fossem, portanto, encaminhados ao Setor de Patologia, para que se procedesse a colheita de amostras específicas. Cinco exemplares foram necropsiados para colheita de amostras para análises histopatológicas e toxicológica, incluindo: bugio-preto (*Alouatta caraya*), bugio-vermelho (*A. seniculus*), guariba (*A. g. clamitans*), macaco-prego (*Sapajus nigritus*) e sagui-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*).

Partiu-se da hipótese de que os animais examinados e oriundos do CEMPAS – Unesp, Botucatu, seriam os primatas negativos, enquanto aqueles oriundos do Mato Grosso foram considerados potencialmente positivos para a presença de agrotóxicos.

4.2.3 NUCEL (Núcleo de Terapia Celular e Molecular), USP

Estabeleceu-se, no primeiro semestre de 2018, uma parceria com o Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL)² da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para a realização das análises envolvendo a citometria e imunomarcagem celular. Este bloco de análises teve o objetivo de realizar a investigação dos seguintes marcadores celulares, com vistas a compreender aspectos da resposta imune celular dos PNH avaliados: CD3, CD4, CD8, CD45, CD14 e CD16. As amostras de sangue periférico submetidas à caracterização, contagens absoluta, percentual e relativa das subpopulações celulares foram realizadas em Citômetro de Fluxo (FACS Aria II (Becton Dickinson, San Jose, Califórnia, EUA).

² Parceria estabelecida e viabilizada pela Profa. Dr^a. Ana Cláudia O. Carreira.

No intuito de obter a imunomarcac o das diferentes subpopula es celulares por citometria de fluxo, amostras das oito esp cies de primatas mantidos sob cuidados humanos em cativeiro foram utilizadas em 35 ensaios para fins de padroniza o da t cnica. As etapas de padroniza o contemplaram a verifica o da quantidade e viabilidade leucocit ria em amostras frescas, congeladas, a efic cia das solu es de lise de eritr citos, o tempo de incubac o, titula o, especificidade e intensidade de marca o de cada anticorpo nas diferentes esp cies, bem como o estabelecimento dos respectivos controles negativos e a t cnica de fixa o.

A Tabela 3 apresenta o painel de 14 anticorpos testados em amostras de sangue de PNH cong neres mantidos sob cuidados humanos, provenientes do Parque Zool gico Municipal “Quinzinho de Barros”.

Tabela 3. Pannel de anticorpos monoclonais testados com amostras da Fase Piloto³.

CLUSTER	CONJUGADO	REATIVIDADE	CLONE	FABRICANTE
CD4	Alexa Fluor® 488	Human, Chimpanzee, Cynomolgus	RPA-T-4	Bio Legend
CD45	Alexa Fluor® 488	Human, Cross-reactivity, Chimpanzee.	HI30	Bio Legend
CD8	PE	Human, Cross-reactivity, Chimpanzee, Rhesus	SK1	Bio Legend
CD3	APC	Human, Cross-reactivity, Chimpanzee.	SK7	Bio Legend
CD14	APC	Human, Chimpanzees, Squirrel Monkey, Marmoset, Cotton-topped Tamarin	M5E2	Bio Legend
CD16	PE	Human, Chimpanzees, Squirrel Monkey, Capuchin Monnkey	3G8	Bio Legend
CD3	FITC	Chicken	CT-3	Southern Biotech
CD3	PE	Mouse	145-2C11	Bio Legend
CD3	PE CY5	Mouse	17 A2	BD
CD4	FITC	Cat	vpg34	Bio-Rad
CD4	APC	Dog	YKIX302.9	Bio-Rad
CD3/CD4/CD8	FITC/PE/APC	Dog	CA17.2A12 / YKIX302.9 / YCATE55.9	Bio-Rad
CD3/CD4	FITC/PE	Dog	DC046	Bio-Rad
CD45	FITC	Dog	YKIX716.13	Bio-Rad

³ Anticorpos Bio Legend ® obtidos por meio de importação. Os oito demais anticorpos testados foram gentilmente cedidos na forma de empréstimo pela Profa. Dr^a. Cristina Massoco para verificação da reatividade.

4.3 Fase Trabalho de Campo

4.3.1 UHE Sinop: animais vivos

Em 30 de janeiro de 2019 deu-se início ao enchimento do reservatório da UHE Sinop. Os espécimes selecionados para este estudo foram capturados sob um cenário dinâmico de inundação e de deslocamento da fauna, durante esta etapa do empreendimento. Os espécimes foram resgatados por meio de uma combinação de técnicas de captura, tais como o uso de ceva, armadilhas do tipo tomahawk, rifle anestésico, o uso de redes de aparo, assim como o encurralamento dos indivíduos em direção ao solo (Karesh et al. 1998; Vidal 2012).

Previamente ao início do enchimento, as equipes de resgate embarcado fizeram incursões de vistoria e reconhecimento da área a ser inundada e as potenciais dificuldades durante as ações de resgate. Com auxílio de ferramentas de áudio (playbacks), grupos de diferentes espécies de PNH foram reconhecidos, atraídos, identificados e mapeados, dentro dos limites da cota de inundação. Nesse período, a disponibilidade de recursos como abrigo e alimento ainda permanecia estável, impossibilitando assim a captura propriamente dita.

Uma vez georreferenciados os grupos, passou-se a analisar o dossel das áreas que iminentemente seriam inundadas - conforme o cronograma de enchimento - e, portanto, quais seriam as áreas prioritárias para resgate. Em sintonia com a dinâmica do enchimento, as equipes planejavam as ações semanais, ordenando uma escala de prioridade para captura.

Diante das áreas a serem imediatamente inundadas, o segundo critério a ser considerado foi a disponibilidade de recursos alimentares e de abrigo contra o sol e chuva. Algumas áreas ainda poderiam demorar a ser totalmente submersas, mas certas espécies arbóreas poderiam ter o ciclo de frutificação interrompido, deixando de oferecer alimento para os animais. Vale ressaltar que não foi desconsiderada a possibilidade de que o enfraquecimento dos galhos e a queda das folhas expõe os espécimes às intempéries, principalmente as chuvas torrenciais típicas do período. E por último, foram consideradas as particularidades de cada espécie, quanto à proporção sexual e/ou organização social (Figuras 5 a 8).



Figura 5. Embarcações durante resgate de *Plecturocebus grovesi*; Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.



Figura 6. Resgate de indivíduo juvenil de *Chiropotes albinus* Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.



Figura 7. Interação de *Mico emiliae* com armadilha do tipo tomahawk; Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.

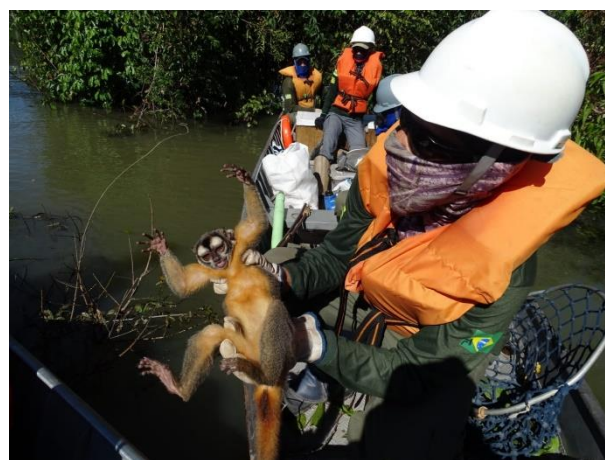


Figura 8. Contenção física em campo de *Aotus infulatus* Expedição para resgate de fauna, Sinop, MT, fevereiro de 2019.

As equipes responsáveis pelo resgate de fauna eram compostas essencialmente por biólogos e médicos veterinários, além do apoio de auxiliares de campo, motoristas e barqueiros. Devidamente paramentada com petrechos para captura, como luvas de raspa de couro, puçás e caixas de transporte, a equipe procedeu com o transporte dos animais por embarcações e camionetes em direção ao centro de triagem de fauna mais próximo. Os animais permaneciam no centro de triagem o menor tempo possível. Sua permanência em cativeiro sempre esteve relacionada à necessidade de exame clínico, identificação, marcação e/ou logística de soltura para áreas mais apropriadas.

Quando não era possível resgatar o grupo todo de uma só vez ou quando havia ao menos um integrante do grupo ferido, todo o restante do grupo aguardava em recinto o tempo necessário para completa recuperação. Essa conduta se deu com o intuito de respeitar a estrutura hierárquica e a dinâmica social de cada unidade familiar. Um grupo de determinada espécie resgatado em uma área, era translocado conjuntamente para outra área de soltura previamente autorizada.

Todos espécimes foram contidos fisicamente, seguido de imobilização química (cloridrato de tiletamina + zolazepam), conforme recomendações de Olberg (2007) e Caulkett & Armeno (2013), para aferimento dos parâmetros clínicos, bem como colheita de amostras sanguíneas. A fim de otimizar o momento da captura e a autorização para colheita de amostras biológicas, foram obtidas ainda amostras de pelos, tecido (ponta de orelha) e swab vaginal, com vistas a realizar análises complementares, por meio de parcerias.

Além dos espécimes obtidos nas áreas de influência da UHE Sinop, também foram capturados animais no Parque Florestal de Sinop utilizando a combinação de técnicas como armadilhamento, ceva e redes de aparo. O referido parque urbano abriga cerca de quatro espécies de primatas e as capturas neste local sob influência indireta dos agrotóxicos tiveram o objetivo de parear às amostras diretamente adjacentes à lavoura.

4.3.2 UHE Sinop: animais mortos

Durante mais cinco meses após o enchimento do reservatório, as equipes de resgate ainda permaneceram na área, fase conhecida como “pós-enchimento”. Nesse período, ainda havia espécimes remanescentes, que por algum motivo não foram resgatados, por vezes debilitados e que eventualmente não sobreviveram durante as ações de manejo. Esses animais ou cadáveres foram, portanto, recolhidos pelas equipes de salvamento e quando não foi possível reabilitar e devolvê-los ao ambiente natural, o cadáver era armazenado em freezer doméstico.

Tendo em vista que a frequência do recebimento de animais mortos seria uma demanda completamente imprevisível, inviabilizaria mobilizar uma estadia permanente na cidade para aguardar os cadáveres. Diante do cenário, acordou-se que os cadáveres fossem entregues ao Setor de Patologia⁴ do Hospital Veterinário (HOVET), da Universidade Federal do Mato Grosso em Sinop pra que fossem devidamente necropsiados, e em seguida, colhidas as amostras para estudo.

O material biológico destinado à avaliação histopatológica foi colhido durante a necropsia, com dimensões de aproximadamente 1,0cm³, imediatamente submersos em solução fixadora de formol tamponado 10% pH 7,2 e em volume dez vezes superior ao da peça a fixar, por um período de 24 horas. Após a fixação, as peças foram transferidas para o álcool 70% GL, posteriormente desidratadas, diafanizadas e impregnadas com parafina.

Nesta etapa também foram colhidos fragmentos de musculatura esquelética e fígado, com peso mínimo de 10 gramas/ animal, para avaliação toxicológica. Após a colheita, os fragmentos foram cuidadosamente escarificados e mantidos a -20°C, armazenados em tubo Falcon (polipropileno) 15 mL, até o momento da análise.

4.3.3 *Avaliação Hematológica e Bioquímica*

A venopunção foi realizada preferencialmente na veia femoral, (Campbell 2007; Santos & Cubas 2014), com agulha 25x7,0mm, tubos de ensaio contendo

⁴ Parceria acadêmica sob a coordenação da Profa. Dr^a. Nádia Antoniassi.

EDTA-K3 a 5% e seringas com capacidade para 10,0 ml. O volume de sangue colhido obedeceu a proporção de 1% do peso corpóreo, a fim de minimizar prejuízos hemodinâmicos ao animal (Schalm 1975; Moore 2000).

A avaliação hematológica dos espécimes aconteceu nas dependências do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário (HOVET)⁵, da Universidade Federal do Mato Grosso em Sinop. As amostras de sangue foram processadas em um período máximo de 24 horas, por métodos manuais de contagem global e diferencial de leucócitos. Nessa etapa foram separadas alíquotas de sangue total, plasma, coágulos e soro destinadas às análises bioquímicas, genéticas, toxicológicas e de imunofenotipagem, armazenadas em freezer à -20°C para análise posterior.

As amostras destinadas à bioquímica clínica foram colhidas em tubos de ensaio sem adição de anticoagulante, mantidas em repouso por 30 minutos e centrifugadas a 1008G para a separação dos componentes celulares e o soro. A porção líquida da amostra (soro) foi separada com o auxílio de uma pipeta e, logo em seguida, preservada à -18°C e -80°C, até o momento da análise.

As amostras foram processadas no Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus Botucatu. Os testes bioquímicos foram realizados em equipamento de bioquímica automatizada (Mindray BS 2000 E) utilizando reagentes comerciais (Ebram®). Os seguintes parâmetros foram analisados: AST (aspartato-amino-transferase), ALT (alanina-amino-transferase), FA (fosfatase alcalina), GGT (gama-glutamil-transferase), LDH (lactato-desidrogenase), ureia, creatinina, bilirrubinas, albumina, CK (creatinocinase), proteína total sérica, colesterol, triglicerídeos, cálcio, fósforo, sódio, potássio, cloretos e magnésio.

4.3.4 Citometria de Fluxo

Para a análise dos marcadores, primeiramente as hemácias foram lisadas com solução de lise, durante 10 minutos à temperatura ambiente. Para bloqueio foi utilizada a solução Fc blocking, por 10 minutos a temperatura ambiente,

⁵ Espaço gentilmente cedido pela Profa. Dr^a. Alessandra Kataoka.

seguido da incubação com os anticorpos (acoplados aos fluoróforos), por 30 minutos a temperatura ambiente. Após a incubação, as células foram lavadas com solução tampão fosfato salina e analisadas no citômetro de fluxo FACS Aria II (Becton Dickinson, San Jose, Califórnia, EUA) e em câmara de Neubauer para avaliação da viabilidade dos leucócitos. Foram coletados 50.000 eventos por amostra. Como controle negativo, a mesma quantidade de células de cada espécie foi incubada somente com solução de bloqueio. Também foram utilizados controles isotípicos ligados aos fluorocromos específicos como controle negativo em todos os experimentos.

Diante da ausência de anticorpos específicos para as espécies-alvo deste estudo que se ligassem às moléculas CD4+, CD8+ e CD45+, esta equipe de trabalho optou pela contratação de serviço especializado para customização dos anticorpos policlonais⁶.

O protocolo estabelecido para imunofenotipagem por citometria de fluxo do sangue periférico de espécies selecionadas de primatas foi:

Equipamentos: FACS Aria II, Accuri C6 **Amostra:** 50 µL sangue total congelado

1. Bloqueio

- 50 µL amostra + 1.95 mL Block Solution PBS + BSA 2% = 2.0 mL;
- Vórtex brevemente;
- Centrifugar 2000 RCF/ 5' / temperatura ambiente;
- Aspirar sobrenadante, deixar 100 µL de solução no tubo;
- Desfazer o pellet manualmente;
- **Fc Receptor Blocking Solution**
 - Adicionar 5.0 µL Fc Block Solution;
 - Agitar manualmente;
 - Incubar 10' / temperatura ambiente/ escuro;

2. Incubação

⁶ Anticorpos customizados pela empresa Rhea Biotech Desenvolvimento, Produção e Comercialização de Produtos de Biotecnologia Ltda.

- **Adicionar Anticorpo Primário**
 - Vórtex brevemente;
 - Incubação 30'/ temperatura ambiente/ escuro;
 - Centrifugar 2000 RCF/ 5'/ temperatura ambiente;
 - Descartar o sobrenadante;
 - Adicionar 500µL de PBS + BSA 1%;
 - Centrifugar 2000 RCF/ 5'/ temperatura ambiente;
 - Descartar o sobrenadante;
 - Adicionar 100 µL de Block Solution PBS + BSA 2%;
 - Desfazer o pellet manualmente.
- **Adicionar Anticorpo Secundário (1:500) 30'**
 - Preparar BD Pharm Lyse 1x, deixar até a etapa de lise/ Usar à temperatura ambiente após homogeneização;
 - Vórtex brevemente;
 - Incubação 30'/ temperatura ambiente/ escuro;
 - Centrifugar 2000 RCF/ 5'/ temperatura ambiente;
 - Descartar o sobrenadante para iniciar a etapa de lise.

3. Lise

- Adicionar 1.0 mL BD Pharm Lyse recém preparada/ Adicionar em temperatura ambiente;
- Vórtex brevemente;
- Incubação 10'/ temperatura ambiente/ escuro;
- Centrifugar 1000 RCF/ 5'/ temperatura ambiente;
- Descartar sobrenadante;
- Adicionar 200 µL PBS puro filtrado;
- Desfazer o pellet manualmente ou se necessário vórtex.

4. Fixação

- Adicionar 200 µL PFA (paraformaldeído) 4%;
- Agitar manualmente;
- Aquisição no Citômetro 10.000 eventos (mínimo)

4.3.5 Varredura toxicológica

A investigação multiresíduos teve o objetivo de verificar a presença de pesticidas em três matrizes biológicas: plasma, fígado e musculatura esquelética dos primatas amostrados. As alíquotas de plasma e fragmentos de tecido destinados a este bloco de análise foram mantidas a -20°C por 5 meses até o momento das análises. A escolha dos compostos a serem pesquisados baseou-se na listagem de ingredientes ativos registrados e comumente utilizados nas monoculturas da região norte mato-grossense, além de substâncias que, embora proibidas por lei, tem elevado potencial de bioacumulação. Além das substâncias previstas na literatura, foram selecionados blocos de análise conforme o grupo de substâncias já padronizadas, otimizadas e validadas pelos respectivos laboratórios referência.

Todas as análises foram realizadas nos Laboratórios de Resíduos e Contaminantes em Alimentos - RCA, dos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária no Rio Grande do Sul e Goiás, LFDA-RS e LFDA-GO, respectivamente, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA⁷. Em razão das características químicas e, portanto, da natureza da análise, o glifosato foi testado separadamente e, um segundo bloco de análises com o intuito de realizar a varredura multiresíduos.

No que concerne a investigação da presença do glifosato no plasma, as análises foram realizadas utilizando um sistema de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *Tandem* (LC-MS/MS). O sistema é composto por cromatógrafo líquido Agilent, modelo 1260 Infinity II (Santa Clara, CA, EUA) equipado com bomba quaternária, degaseificador, amostrador automático, e forno de coluna, acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo, Sciex, modelo API 5000 (Sciex, Foster City, CA, EUA) com fonte de ionização por electrospray (ESI), operando no modo positivo. Os parâmetros dependentes da fonte otimizados foram: voltagem do capilar (*ionspray voltage*),

⁷ RCA/LFDA-RS viabilizado pelo Dr. Fabiano Barreto e Dr^a. Louise Jank e RCA/LFDA-GO viabilizado pelo Dr. Nélío Fleury.

temperatura da fonte, gás de colisão (*collision gas*, CAD), gás de nebulização (*nebulizer gas*, GS1), gás de secagem (*dryer gas*, GS2), sendo os valores utilizados 5.500 V no modo positivo e -4500 V no modo negativo, 600° C, condição *high*, 50 psi, 50 psi, respectivamente. Os parâmetros dependentes do composto otimizados foram voltagem no orifício de entrada (*declustering potential*, DP), potencial de entrada (*entrance potential*, EP), energia de colisão (*collision energy*, CE) e potencial de saída da célula de colisão (*collision cell exit potential*, CXP) sendo o tempo de permanência (*dwell time*) de 100 ms. Os íons foram monitorados no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM) sendo os dados apresentados na Tabela 4.

A separação foi realizada em uma coluna Acclaim Trinity Q1 column (3.0 µm, 100mm×3 mm; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), precedida por uma coluna de guarda C18 (4mm x 3 mm i.d.; Phenomenex, Torrance, CA, EUA), usando fase móvel consistindo em água 100 mM de formiato de amônio contendo 1% de ácido fórmico (A), ACN (B), em modo gradiente, fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente foi programado para começar com uma composição de fase móvel de 100 % de A, mantida por 3 min, decrescendo para 0% em 6 min, permanecendo até 8 min retornando a condição inicial em 9 min e permanecendo até 10 min. Um tempo de recondicionamento da coluna de 4 min foi aplicado entre as injeções. O volume de injeção foi de 20 µL e a coluna mantida a 30°C.

Tabela 4. Parâmetros otimizados para análise dos compostos por LC-ESI-MS/MS no modo de ionização negativo ESI-, para o modo de aquisição MRM.

Q1	Q3	Dwell Time (ms)	ID	DP (V)	EP (V)	CE(V)	CXP (V)
110,027	62,9	100	AMPA 1	-15	-10	-26	-15
110,027	79	100	AMPA 2	-15	-10	-38	-15
110,027	80,9	100	AMPA 3	-15	-10	-18	-15
110,027	80	100	AMPA 4	-15	-10	-24	-15
168	63	100	Glif 1	-30	-10	-26	-15
168	150	100	Glif 2	-30	-10	-14	-15
168	124	100	Glif 3	-30	-10	-16	-15
168	81	100	Glif 4	-30	-10	-20	-15

O screening multiresíduos em plasma foi realizado utilizando um sistema de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *Tandem* (LC-MS/MS). O sistema é composto por cromatógrafo líquido Agilent, modelo 1260 Infinity II (Santa Clara, CA, EUA) equipado com bomba quaternária, degaseificador, amostrador automático, e forno de coluna, acoplado a um espectrômetro de massa triplo-quadrupolo, Sciex, modelo API 5000 (Sciex, Foster City, CA, EUA) com fonte de ionização por eletropray (ESI), operando no modo positivo. Os parâmetros dependentes da fonte otimizados foram: voltagem do capilar (*ionspray voltage*), temperatura da fonte, gás de colisão (*collision gas*, CAD), gás de nebulização (*nebulizer gas*, GS1), gás de secagem (*dryer gas*, GS2), sendo os valores utilizados 5.500 V, 700° C, condição *high*, 55 psi, 55 psi, respectivamente. Os parâmetros dependentes do composto otimizados foram: voltagem no orifício de entrada (*declustering potential*, DP), potencial de entrada (*entrance potential*, EP), energia de colisão (*collision energy*, CE) e potencial de saída da célula de colisão (*collision cell exit potential*, CXP) sendo *schedule* para informação dos tempos de retenção. Os 231 íons foram monitorados no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM) (Anexo 5). Por esse método, objetiva-se investigar substâncias com massa atômica conhecida, seja pela literatura ou pelo composto já otimizado para o equipamento por meio de um padrão comercialmente disponível.

A separação foi realizada em uma coluna Agilent Zorbax SB-C18 (150 mm x 4,6 mm, i.d., 3.5 µm), precedida por uma coluna de guarda C18 (4mm x 3 mm i.d.; Phenomenex, Torrance, CA, EUA), usando fase móvel consistindo em água (A), metanol (B), ambos contendo 5 mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico, em modo gradiente, fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente foi programado para começar com uma composição de fase móvel de 5% de B, aumentando para 95% em 10 min, permanecendo até 18 min retornando a condição inicial em 18.5 min e permanecendo até 20 min. Um tempo de condicionamento da coluna de 2 min foi aplicado entre as injeções. O volume de injeção foi de 5 µL e a coluna mantida a 40°C.

Adicionalmente, a fim de verificar a presença de moléculas *untarget em plasma*, foi realizada uma terceira abordagem, utilizando LC-QTOF-MS. A partir de uma lista de 943 contaminantes emergentes e metabólitos fornecidos pelo

Laboratório de Química Analítica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do sul (LQAA/UFRGS), foi realizada uma avaliação de risco para selecionar compostos eletivos. Nessa etapa foram, portanto, priorizados 228 compostos, incluindo pesticidas e seus metabólitos, para realizar a análise *untarget*, utilizando as massas exatas das moléculas selecionadas. Posteriormente, após tratamento dos dados, foram identificados 10 compostos com resultados que atingiram os critérios iniciais de seleção, e foi realizada uma reanálise das amostras, selecionando os íons precursores dos compostos sob investigação para fragmentação. As amostras foram avaliadas quanto à presença de fragmentos característicos dos suspeitos em questão, a partir de dados da literatura. Na falta de dados referentes a metabólitos, foram utilizados os fragmentos encontrados para suas moléculas-mãe.

A etapa de análise utilizando o LC-QTOF-MS foi realizada em um sistema composto por cromatógrafo líquido Agilent, modelo 1260 (Santa Clara, CA, EUA) equipado com bomba quaternária, desgaseificador, amostrador automático, e forno de coluna, acoplado a um espectrômetro híbrido quadrupolo-tempo de vôle, Sciex, modelo 5600 TripleTOF (Sciex, Foster City, CA, EUA) com fonte de ionização por eletrospray (ESI), operando no modo positivo. A aquisição foi feita no modo TOF-MS, com tempo de acumulação (*accumulation time*) de 0,5 segundos. Os parâmetros dependentes da fonte otimizados foram: voltagem do capilar (*ionspray voltage*), temperatura da fonte, gás de cortina (*curtain gas*, CUR), gás de nebulização (*nebulizer gas*, GS1), gás de secagem (*dryer gas*, GS2), sendo os valores utilizados 5500 V, 500° C, 30 eV, 55 psi, 55 psi, respectivamente. Os parâmetros dependentes do composto otimizados foram: voltagem no orifício de entrada (*declustering potential*, DP = 60 eV), energia de colisão (*collision energy*, CE = 10 eV) e potencial de saída da célula de colisão (*collision cell exit potential*, CXP) sendo utilizada a função *schedule* para informação dos tempos de retenção, permitindo a otimização da aquisição dos dados no modo TOF-MS. Através desse método, objetivou-se adquirir as massas exatas de (potencialmente) todas as substâncias que adquiriram carga na fonte de ionização, para posterior busca da massa exata dos compostos de interesse.

A separação foi realizada em uma coluna Venusil XBP C18 (L), 100 mm x 2.1 mm, i.d., 3.0 µm (Agela Technologies), precedida por uma coluna de

guarda C18 (4mm x 3 mm i.d.; Phenomenex, Torrance, CA, EUA), usando fase móvel consistindo em água (A), metanol (B), ambos contendo 5 mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico, em modo gradiente, fluxo de 0,3 mL min⁻¹. O gradiente foi programado para começar com uma composição de fase móvel de 5% de B, mantido durante 4 minutos e aumentando para 95% em 10 min, permanecendo até 18 min retornando a condição inicial em 18.5 min e permanecendo até 20 min. Um tempo de recondicionamento da coluna de 4 min foi aplicado entre as injeções. O volume de injeção foi de 10 µL e a coluna mantida a 40°C.

Os dados obtidos nesta etapa foram tratados utilizando o *software MultiQuant TF*® versão 3.0.2 (Sciex, Foster City, CA, EUA), com uma janela de massas de 30 mDa a partir da massa exata dos compostos estudados.

Após essa etapa de aquisição de dados e tratamento em busca dos compostos suspeitos, foi realizada nova análise utilizando o mesmo sistema LC-QTOF-MS descrito acima. Nessa nova etapa, além do modo TOF-MS, com tempo de acumulação de 0,1 segundos, foi realizada aquisição no modo *Product Ion* para onze compostos, e cada experimento também tinha tempo de acumulação de 0,1 segundos, resultando num total de 12 experimentos, com tempo de ciclo de 1,2 segundos.

Os demais parâmetros da análise, tanto referentes a aquisição no espectrômetro de massas quanto à análise cromatográfica, foram mantidos. Os compostos investigados estão na Tabela 5 abaixo, juntamente com a massa utilizada no modo *Product Ion* e os fragmentos buscados no tratamento das amostras.

Tabela 5. Dados dos compostos fragmentados no modo *Product Ion* no LC-QTOF-MS

COMPOSTO	M/Z <i>Product Ion</i>	FRAGMENTOS
Fragmento 224 acetochlor	225.088	148, 133
Fragmento 238 Alachlor	239.1071	147, 162
Fragmento 148 Aldicarb-sulfona	149.0505	89, 116
Clomazone	240,0	127, 127
Diafenthiuron Metabolite CGA 117	369,2	278, 329
Dimethachlor	256,1	148, 118, 133
Fenothiocarb	254,1	72, 160
Glufosinato	182,0	63, 95
Imazamox	306,1	261, 193
Imazaquin	312,1	199, 128
Methiocarb	226,1	169, 164

Os dados obtidos no experimento *Product Ion* foram tratados utilizando o software *PeakView*®, versão 2.2 (Sciex, Foster City, CA, EUA), a partir de uma análise qualitativa em relação a presença dos picos característicos identificados, no tempo de retenção verificado na análise anterior no modo TOF-MS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Captura e Colheita de Amostras

Ao longo de 65 dias, totalizando 780 horas de atividades de resgate, de janeiro a abril de 2019, foram manejados 2.147 mamíferos, dos quais 1.106 pertencentes a Ordem Primates. Desse total, 96 PNH foram manejados e apresentaram a seguinte distribuição: nove espécies, sete gêneros (*Alouatta*, *Ateles*, *Chiropotes*, *Plecturocebus*, *Mico*, *Aotus* e *Sapajus*), cinco famílias (Atelidae, Cebidae, Callitrichidae, Pitheciidae, Aotidae) (Tabela 6).

Tabela 6. Riqueza de espécies amostradas durante a Fase de Campo e seu respectivo nome popular, Sinop, 2019.

NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR
<i>Ateles marginatus</i>	macaco aranha da testa branca
<i>Ateles chamek</i>	macaco aranha da cara preta
<i>Sapajus apella</i>	macaco prego
<i>Aotus infulatus</i>	macaco da noite
<i>Chiropotes albinasus</i>	cuxiú de nariz vermelho
<i>Alouatta caraya</i>	bugio-preto
<i>Mico emiliae</i>	sagui de snethlage
<i>Plecturocebus grovesi</i>	zogue-zogue de Alta Floresta
<i>Plecturocebus vieirai</i>	zogue-zogue

A modificação da paisagem decorrente da inundação artificial promove aproximação e/ou afastamento de indivíduos de um mesmo grupo ou de espécies diferentes, assim como sobreposição e compartilhamento de áreas de uso. Comumente eram avistados bandos mistos, com sistemas sociais inusitados. Manejos com espécies estritamente monogâmicas e que formam grupos médios de dois a cinco indivíduos (Kinzey & Wright 1982; Wright 1989), tais como as do gênero *Aotus* e *Plecturocebus*, por vezes exige da equipe técnica a tentativa de localizar seu parceiro correspondente, para que a soltura seja pareada. Ainda segundo Wright (1989), essas espécies têm áreas de vida reduzidas e sistema social geralmente composto de um casal de indivíduos adultos e dois ou três infantes e jovens consecutivos.

Os estudos de Wright (1989) sugerem, ainda, que a distância entre árvores frutíferas consecutivamente utilizadas por um grupo de ambas espécies (*Aotus trivirgatus* e *Plecturocebus moloch*) não ultrapassa 57 metros. Essa informação auxiliou a tomada de decisão em campo na busca pelos parceiros e correlatos numa área bem restrita de varredura. Por outro lado, PNH dos gêneros *Ateles*, *Sapajus* e *Chiropotes* estrategicamente se valem de uma organização social mais flexível para a ocupação de ambientes limitantes, conhecida como sistema organizacional “fissão-fusão” (Nakai 2007). Tal característica tende a dificultar a compreensão dos agrupamentos estáveis e quais subgrupos são de fato funcionais na natureza.

A fim de otimizar o momento da captura e graças à concessão de autorização para colheita de amostras biológicas, foram obtidas ainda amostras de pelos, ponta de orelha (tecido) e swab vaginal, com vistas a realizar análises complementares, por meio de parcerias. A Tabela 7 apresenta o número de PNH por família, status de conservação, bem como a respectiva quantidade de amostras destinadas por análise. Os espécimes apresentaram bom retorno anestésico e foram encaminhados para soltura nas áreas pré-definidas no escopo do Programa de Afugentamento e Salvamento da Fauna, sem nenhuma intercorrência durante o processo.

Tabela 7. Distribuição dos indivíduos estudados, em função da família, espécie, número de animais, status de conservação e o número de amostras obtidas para cada tipo de exame laboratorial, Sinop, 2019.

Ordem Primates		Status de Conservação			Hemogramas	Sangue Total - Citometria	Plasma - Toxico	Soro - Bioquímica	Tecido - Taxonomia*	Pelos - Isótopos*	Citologia Vaginal*
		N	Brasil	IUCN	77	93	84	87	47	44	26
Atelidae	<i>Alouatta caraya</i>	7	NT	LC	7	7	7	7	7	6	2
	<i>Ateles marginatus</i>	13	EN	EN	11	13	12	11	8	7	6
	<i>Ateles chamek</i>	6	VU	EN	5	6	6	5	5	3	5
Aotidae	<i>Aotus infulatus</i>	8	LC	NT	6	8	8	6	4	2	3
Cebidae	<i>Sapajus apella</i>	14	LC	LC	10	14	14	10	–	1	5
	<i>Plecturocebus grovesi</i>	13	CR	CR	11	11	10	11	2	2	–
	<i>Plecturocebus vieirai</i>	5	–	DD	2	5	5	2	1	3	–
Pitheciidae	<i>Chiropotes albinasus</i>	17	NT	EN	16	17	17	17	10	11	4
Callithrichidae	<i>Mico emiliae</i>	13	LC	DD	9	12	5	5	9	9	5

Legenda: *As análises resultantes deste material biológico não possuem relação direta com o escopo principal desta Tese e, portanto, compõem o *Apêndice: Estudos e Análises Complementares*. NT (Near Threatened, quase ameaçado), LC (Least Concern, pouco preocupante), EN (Endangered, ameaçado), VU (Vulnerable, vulnerável), CR (Critically Endangered, criticamente ameaçado), DD (Data Deficient, dados insuficientes).

5.2 Exame Clínico

Do total de 96 PNH avaliados neste estudo, 73 adultos, 21 juvenis, 2 animais senis, 52 fêmeas e 45 machos, em sua maioria, apresentou um bom escore corporal (81/96; 84%), exceto um animal considerado “caquético” e 14 (14/96; 14%) indivíduos considerados “magros”, conforme disposto na Tabela 8. Em que pese alguma subjetividade na caracterização dos escores de espécies recém descritas, para as quais não há dados de massa corporal conhecidos como o gênero *Plecturocebus*, por exemplo, foram levados em consideração a expectativa de peso para a espécie adulta, além de sua condição músculo-esquelética (Smith & Jungers 1997).

Os espécimes considerados “magros” apresentaram um certo grau de retração muscular, por vezes, os ossos esternais facilmente palpáveis e extremidades ósseas proeminentes. O único animal considerado “caquético” foi uma fêmea com características sugestivas de senilidade, como o aspecto “envelhecido” da face, pelagens opacas, esbranquiçadas, condição precária da saúde bucal, emaciação e tuberosidades ósseas salientes. Não foi possível fazer uma relação direta entre o baixo escore corporal e a infestação de ectoparasitas, alopecias, lacerações ou linfadenomegalia. Animais com bom escore corporal também apresentaram diferentes graus de infestação parasitária, helmintos nas fezes, escaras ou lacerações antigas, assim como linfadenomegalia bilateral.

O cenário de elevação do nível da água, seguido do represamento de áreas de solo firme, favorece a possibilidade de rarefação de recursos tróficos (de Thoisy & Richard-Hansen 1997) pelo apodrecimento das árvores e até estagnação do processo de frutificação. Além dos fatores relacionados à inundação em si, o desmatamento do entorno pelo maquinário do empreendimento promove o deslocamento constante dos grupos, resultando no estabelecimento de locais de alimentação com elevada competição e pouco abundância alimentar. Especula-se, portanto, que essa possa ser uma das causas prováveis pelo baixo escore corporal.

No que se refere às ações de salvamento, apesar da qualificação e experiência das equipes em projetos dessa natureza, dois animais sofreram injúrias durante o manejo. A aproximação das equipes com embarcações e petrechos de captura, o encurralamento dos espécimes e o estresse da captura fez com que um animal sofresse uma luxação de vértebra coccígea e outro uma fratura oblíqua de tíbia. Os primatas receberam atendimento médico veterinário emergencial, bem como todo tratamento ortopédico suporte para sua reabilitação e soltura.

A captura e manuseio de primatas em vida livre vem sempre acompanhada do risco iminente de injúrias e de morte (Vié et al. 1998). Sejam lacerações por meio do disparo de dardos tranquilizantes, fraturas e luxações durante as quedas e até focos de hemorragia (Karesh et al. 1998). Além das lesões oriundas do manejo, escaras e lesões cutâneas superficiais foram frequentemente registradas em quase todos os indivíduos; o que parece ser bastante comum, e pode ter relação com conflitos intraespecíficos (Chapman & Chapman 1987).

Em relação aos ectoparasitas, foram registradas infestações por piolhos em sete indivíduos (*A. chamek* e *A. marginatus*), somente um deles macho. Ainda que a catação (*grooming*) seja amplamente difundida entre as espécies de PNH - apresentando conotações de limpeza, higiene, fortalecimento das relações de dominância e estruturas hierárquicas - podendo acontecer entre ambos sexos e idades, a maior infestação nas fêmeas deste estudo corrobora os achados de Allen et al. (2007); Reed et al. (2007); Guimarães et al. (2020); Hutchins & Barash (1976) e Spruijt et al. (1992). A maioria dos estudos sobre este “*trade-off*” consideram plausível que machos sejam menos infestados por piolhos, uma vez que as fêmeas os removem manualmente, como gesto de submissão (Sánchez-Villagra et al. 1998; Schino 2007; Schino & Aureli 2008).

Tabela 8. Distribuição dos indivíduos estudados, em função do exame clínico, Sinop, 2019.

ID	ESPÉCIE	IDADE	SEXO	PESO (KG)	EXAME CLÍNICO			
					ESCORE	PELE E ANEXOS	MÚSCULO-ESQUELÉTICO	ASPECTO GERAL
51	<i>A. caraya</i>	AD	F	4.26	Bom	–	–	–
52	<i>A. caraya</i>	AD	F	3.20	Bom	–	–	–
53	<i>A. caraya</i>	JV	M	2.70	Bom	–	–	–
54	<i>A. caraya</i>	AD	M	3.84	Bom	–	–	–
62	<i>A. caraya</i>	AD	M	5.06	Bom	–	–	–
63	<i>A. caraya</i>	JV	M	2.26	Bom	–	–	–
67	<i>A. caraya</i>	AD	F	3.50	Bom	Lactante	–	Rejeição ao filhote
25	<i>A. infulatus</i>	AD	M	0.80	Bom	–	–	–
26	<i>A. infulatus</i>	AD	F	0.87	Bom	–	–	Presença de helmintos nas fezes
41	<i>A. infulatus</i>	AD	F	0.96	Magro	–	–	–
42	<i>A. infulatus</i>	AD	M	0.98	Bom	–	–	–
45	<i>A. infulatus</i>	AD	M	0.72	Magro	–	–	–
46	<i>A. infulatus</i>	AD	F	0.79	Bom	–	–	–
49	<i>A. infulatus</i>	AD	F	0.70	Bom	–	–	–
50	<i>A. infulatus</i>	AD	M	0.85	Bom	–	–	–
6	<i>A. chamek</i>	AD	M	4.8	Bom	–	–	–
43	<i>A. chamek</i>	AD	F	6.00	Bom	Infestação de piolhos	–	Linfadenomegalia inguinal bilateral
47	<i>A. chamek</i>	Senil	F	5.63	Caquético	Emaciação	Tuberosidades pélvicas salientes	Senilidade
69	<i>A. chamek</i>	AD	F	7.10	Bom	Infestação de piolhos	–	–
75	<i>A. chamek</i>	AD	F	6.36	Bom		–	–
84	<i>A. chamek</i>	AD	F	6.32	Bom	Infestação de piolhos	–	Região periocular "ressecada", sinais de desidratação
1	<i>A. marginatus</i>	AD	F	5.2	Bom	Escaras	–	–
2	<i>A. marginatus</i>	AD	F	5.75	Bom	–	–	–
7	<i>A. marginatus</i>	AD	M	5.2	Bom	–	–	–
27	<i>A. marginatus</i>	AD	F	5.1	Bom	Infestação de Piolhos	–	–
39	<i>A. marginatus</i>	AD	F	5.40	Bom	–	–	–
55	<i>A. marginatus</i>	AD	F	4.63	Bom	–	–	–
56	<i>A. marginatus</i>	AD	M	5.23	Magro	Alta infestação por piolho	–	–

57	<i>A. marginatus</i>	JV	F	3.76	Magro	-	-	-
61	<i>A. marginatus</i>	JV	M	3.90	Magro	Lacerações profundas em membros inferiores e superiores	-	-
70	<i>A. marginatus</i>	AD	F	4.95	Bom	Infestação de piolhos	-	-
71	<i>A. marginatus</i>	AD	F	7.00	Bom	Lesão circunscrita avermelhada na região da testa e pescoço	-	Fêmea lactante
76	<i>A. marginatus</i>	Senil	F	5.07	Magro	Escara superficial na região abdominal	Emaciação	Senilidade, cardiopata
90	<i>A. marginatus</i>	AD	F	5.1	Bom	Infestação de piolhos	-	-
18	<i>C. albinasus</i>	AD	F	2.18	Bom	-	-	Presença de sangue na região vulvar
19	<i>C. albinasus</i>	AD	M	2.92	Bom	-	-	-
20	<i>C. albinasus</i>	AD	F	2.12	Bom	-	-	-
34	<i>C. albinasus</i>	AD	F	2.03	Magro	-	Tuberosidades do íleo e ísquio salientes	-
35	<i>C. albinasus</i>	JV	F	1.31	Magro	-	Tuberosidades do íleo e ísquio salientes	-
44	<i>C. albinasus</i>	JV	F	2.41	Magro	Pequenas, escoriações na pele dos dígitos	-	Linfadenomegalia axilar e inguinal bilateral
48	<i>C. albinasus</i>	AD	M	2.78	Bom	-	-	-
68	<i>C. albinasus</i>	AD	M	1.91	Bom	Aurícula mutilada	-	-
72	<i>C. albinasus</i>	AD	M	2.32	Bom	-	-	-
78	<i>C. albinasus</i>	AD	M	1.98	Bom	-	-	-
79	<i>C. albinasus</i>	AD	M	2.37	Bom	-	-	-
80	<i>C. albinasus</i>	AD	F	1.86	Magro	-	-	-
81	<i>C. albinasus</i>	JV	M	0.80	Magro	-	-	-
85	<i>C. albinasus</i>	JV	F	1.28	Magro	-	-	-

87	<i>C. albinasus</i>	AD	F	1.64	Bom	-	-	-
89	<i>C. albinasus</i>	AD	M	2.25	Bom	-	-	-
91	<i>C. albinasus</i>	AD	F	2.07	Bom	-	-	-
9	<i>M. emiliae</i>	AD	M	0.30	Bom	-	-	-
10	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.32	Bom	-	-	-
33	<i>M. emiliae</i>	AD	M	0.35	Bom	-	-	-
58	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.35	Bom	-	-	-
59	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.31	Bom	-	-	-
66	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.35	Bom	-	-	-
73	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.27	Bom	-	-	-
74	<i>M. emiliae</i>	JV	F	0.25	Bom	-	-	-
82	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.35	Bom	-	-	-
83	<i>M. emiliae</i>	AD	M	0.34	Bom	-	-	-
86	<i>M. emiliae</i>	AD	M	0.30	Bom	-	-	-
88	<i>M. emiliae</i>	AD	M	0.29	Bom	-	-	-
94	<i>M. emiliae</i>	AD	F	0.32	Bom	-	-	-
3	<i>P. grovesi</i>	AD	F	1.04	Bom	-	-	-
4	<i>P. grovesi</i>	AD	M	1.14	Bom	-	-	-
5	<i>P. grovesi</i>	AD	F	1.26	Bom	-	-	-
8	<i>P. grovesi</i>	AD	M	1.04	Bom	-	-	-
11	<i>P. grovesi</i>	JV	F	0.39	Bom	-	-	-
12	<i>P. grovesi</i>	JV	M	0.89	Bom	-	-	-
13	<i>P. grovesi</i>	AD	M	1.09	Bom	-	-	-
14	<i>P. grovesi</i>	JV	M	0.73	Bom	-	-	-
15	<i>P. grovesi</i>	AD	M	1.16	Bom	-	-	-
16	<i>P. grovesi</i>	AD	M	1.18	Bom	-	Luxação de vértebra coccígea	Tratamento ortopédico
17	<i>P. grovesi</i>	AD	F	1.08	Bom	-	-	-
64	<i>P. grovesi</i>	AD	M	0.94	Magro	-	-	-
65	<i>P. grovesi</i>	AD	M	0.99	Bom	-	-	-
37	<i>P. vieirai</i>	AD	M	0.94	Bom	-	-	-

38	<i>P. vieirai</i>	JV	M	0.70	Bom	-	-	-
77	<i>P. vieirai</i>	AD	F	0.72	Bom	-	-	-
95	<i>P. vieirai</i>	AD	M	0.95	Bom	-	-	-
96	<i>P. vieirai</i>	AD	F	0.83	Bom	-	-	-
21	<i>S. apella</i>	JV	F	1.99	Bom	-	-	-
22	<i>S. apella</i>	JV	M	1.28	Bom	-	-	-
23	<i>S. apella</i>	AD	M	3.20	Bom	-	-	-
24	<i>S. apella</i>	AD	M	3.03	Bom	-	-	-
28	<i>S. apella</i>	JV	M	0.5	Bom	-	-	-
29	<i>S. apella</i>	JV	M	0.6	Bom	-	-	-
30	<i>S. apella</i>	JV	F	0.4	Bom	-	-	-
31	<i>S. apella</i>	JV	F	0.4	Bom	-	-	-
32	<i>S. apella</i>	JV	F	0.3	Magro	-	-	-
36	<i>S. apella</i>	AD	F	2.01	Bom	Alopecia na região inguinal	-	Lactante, glândula mamária repleta
40	<i>S. apella</i>	AD	F	1.9	Bom	-	Fratura oblíqua de tíbia esquerda	Imobilização do membro
60	<i>S. apella</i>	JV	M	1.64	Bom	Laceração escapular	-	-
92	<i>S. apella</i>	AD	M	3.1	Bom	-	-	-
93	<i>S. apella</i>	AD	F	3.0	Bom	-	-	-

Legenda: AD: Adulto, JV: Juvenil, M: Macho, F: Fêmea, “-“ Ausência de alterações clinicamente relevantes.

5.3 Hematologia e Bioquímica Clínica

Do total de 96 indivíduos amostrados neste estudo, 77 (80,2%) foram objeto de avaliação hematológica. Os 19 (19,8%) primatas remanescentes apresentaram alguma interferência pré-analítica, tais como a presença de fibrina e/ou coágulo na amostra ou hemólise, que inviabilizaram o exame. Do total de PNH manejados, em 87 (83,5%) indivíduos foi possível obter amostras de soro destinadas à avaliação bioquímica das funções renal, hepática, pancreática e eletrólitos.

A Tabela 9 apresenta os subtotais relativos à espécie, sexo, idade, localidade e a presença de hemoparasitas. Quanto à localidade, houve capturas de espécimes provenientes das margens direita e esquerda do rio Teles Pires advindos das ações de resgate e PNH habitantes do Parque Florestal de Sinop. As Tabelas 10, 11 e 12 exibem os valores individuais, assim como absolutos médios de cada parâmetro hematológico e bioquímico das nove espécies.

Em 14 (14/77; 18%) animais submetidos à avaliação hematológica foi possível verificar a presença de hemoparasitas, detectados ao esfregaço sanguíneo. À luz da hematoscopia, foi possível observar estruturas extracelulares com morfologia sugestiva de *Plasmodium* spp., *Trypanosoma* spp. e provavelmente 11 (11/77; 14,2%) indivíduos infectados por filarídeos (Figura 9).

Tabela 9. Distribuição de indivíduos submetidos à avaliação hematológica durante a fase de campo, em função do local de captura, faixa etária, sexo e a presença de hemoparasitas, Sinop, MT, 2019.

Espécies	Idade		Sexo		Subtotais		Local			Hemoparasitas		
	Adultos	Juvenis	M	F	Total	Hemograma	MD	ME	Pq Florestal	<i>Plasmodium</i> spp.	Microfilária	<i>Trypanosoma</i> spp.
<i>A. caraya</i>	6	1	4	3	7	7	1	6	0	0	0	0
<i>A. infulatus</i>	6	0	3	3	8	6	2	4	0	0	0	0
<i>A. chamek</i>	5	0	1	4	6	5	0	4	1	0	0	0
<i>A. marginatus</i>	10	1	1	10	13	11	8	0	3	1	3	0
<i>C. albinasus</i>	13	3	8	8	17	16	16	0	0	0	2	0
<i>M. emiliae</i>	8	1	4	5	13	9	6	2	1	1	4	1
<i>P. grovesi</i>	8	3	8	3	13	11	0	11	0	0	1	0
<i>P. vieirai</i>	2	0	0	2	5	2	1	0	1	0	0	0
<i>S. apella</i>	5	5	6	4	14	10	0	7	3	0	1	0
Total	63	14	35	42	96	77	34	34	9	2	11	1

Legenda: M: macho, F: fêmea, MD: margem direita do rio Teles Pires, ME: margem esquerda do rio Teles Pires.

Tabela 10. Distribuição dos valores hematológicos dos PNH resgatados durante o enchimento da UHE Sinop, 2019 (eritrograma).

RG	NOME CIENTÍFICO	He (x 10 ⁶ cel/ μ L)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)	PT (g/dL)	RDW (%)	Plt (x 10 ³ cel/ μ L)
1	<i>A. marginatus</i>	2.02	10.6	37	76	28	23	8.6	14.2	499
2	<i>A. marginatus</i>	4.19	10.1	32	76	31	24	8.6	15.6	530
4	<i>P. grovesi</i>	6.33	14.6	44	69	33	23.06	8.2	13.8	499
5	<i>P. grovesi</i>	5.52	14.7	44	79.80	33.37	26	9.0	15.8	530
6	<i>A. chamek</i>	7.64	16.9	47	61.91	35.72	22.12	9.6	14.2	179
8	<i>P. grovesi</i>	6.61	15.3	42	63.73	36.31	23.14	8.4	15.8	515
9	<i>M. emiliae</i>	6.52	12.5	40	60.53	31.62	19.14	9.8	15.1	297
10	<i>M. emiliae</i>	5.62	11.7	36	60.20	34.4	20.81	10.4	15.6	510
11	<i>P. grovesi</i>	6.52	11.9	35	52.86	34.52	18.25	8.2	15	333
12	<i>P. grovesi</i>	6.04	12.5	39	64.25	32.20	20.69	9.2	16.3	371
13	<i>P. grovesi</i>	4.48	18.1	53	90.20	34.24	40.40	9.8	15.7	396
14	<i>P. grovesi</i>	4.45	15.6	48	80.60	33.19	35.05	9.0	14.9	823
15	<i>P. grovesi</i>	3.58	16.5	48	79.23	33.90	41.08	8.4	13.8	611
16	<i>P. grovesi</i>	4.11	16.2	46	81.23	34.90	39.41	8.2	15.1	368
17	<i>P. grovesi</i>	5.76	16.1	47	81.33	34.36	27.95	9.2	15.1	421
18	<i>C. albinasus</i>	7.12	12.3	48	53.03	32.57	17.27	9.2	17.1	598
19	<i>C. albinasus</i>	7.23	14.1	41	65.21	33.77	19.50	8.4	15.5	489
20	<i>C. albinasus</i>	7.23	12	36	50.29	33	16.59	9.2	16.3	555
21	<i>S. apella</i>	4.06	9.6	32	78.10	30.27	23.64	10.4	13.7	479
22	<i>S. apella</i>	3.25	11.6	36	90.2	32.95	35.69	10.2	12.8	320
23	<i>S. apella</i>	3.66	13	40	91.34	32.45	35.51	10.2	13.3	174
24	<i>S. apella</i>	3.32	11.3	36	92.31	32.49	34.03	9.4	14.9	234
25	<i>A. infulatus</i>	6.21	12.9	46	75.36	27.56	20.77	9.7	16	282

26	<i>A. infulatus</i>	4.38	11.7	43	97.03	27.52	7.2	7.2	15.2	305
27	<i>A. marginatus</i>	4.79	11.5	42	88.72	27.05	24	7.2	16	234
28	<i>S. apella</i>	4.74	10.8	41	86.68	26.34	22.78	7.0	16.9	224
29	<i>S. apella</i>	5.68	11.7	43	75.88	27.14	20.59	6.2	14.1	277
32	<i>S. apella</i>	5.12	11.2	40	78.32	27.93	21.87	6.4	15	280
33	<i>M. emiliae</i>	2.50	12.5	44	80.6	28.15	50	6.2	15	343
34	<i>C. albinasus</i>	8.41	13.8	51	60.40	27.16	16.40	7.8	15.8	414
35	<i>C. albinasus</i>	4.57	14.3	52	113.78	27.2	31.29	6.4	13.7	232
36	<i>S. apella</i>	3.41	11.1	40	118.76	27.40	32.55	8.0	15.7	393
39	<i>A. marginatus</i>	5.07	13.6	50	96.44	27.81	26.82	6.3	14.7	282
40	<i>S. apella</i>	2.21	9.5	38	14.02	25.60	42.98	6.2	16.9	237
43	<i>A. chamek</i>	3.17	9.4	37	114.82	25.82	29.65	8.2	16.9	247
44	<i>C. albinasus</i>	5.77	10.3	41	71.40	25	17.8	6.2	15.1	191
45	<i>A. infulatus</i>	6.54	11.7	42	64.98	27.52	17.88	7.2	15.2	222
46	<i>A. infulatus</i>	5.67	11.9	43	74.42	28.19	20.98	9.3	14.3	227
48	<i>C. albinasus</i>	8.16	13.2	42	50.84	31.81	16.17	8.1	18.4	323
49	<i>A. infulatus</i>	5.11	11.2	36	70.07	31.27	21.91	5.8	14.4	255
50	<i>A. infulatus</i>	6.48	12.8	39	60.18	32.82	19.75	5.2	13.9	560
51	<i>A. caraya</i>	1.14	10.2	43	81.20	32.02	23.9	7.0	14.4	300
52	<i>A. caraya</i>	2.98	12.1	49	76	31.02	21.20	6.4	17.1	327
53	<i>A. caraya</i>	3.84	13	50	83.1	29.30	33.85	7.2	16.1	441
54	<i>A. caraya</i>	4.80	12.9	46	82.20	31.23	26.87	6.4	13.4	239
55	<i>A. marginatus</i>	4.41	11.6	44	98.86	26.60	26.30	9.0	15.2	509
57	<i>A. marginatus</i>	3.99	13.2	41	102.25	32.35	33.08	6.4	15.3	357
58	<i>M. emiliae</i>	2.55	15.4	50	125.68	30.86	60.38	6.4	16	418
59	<i>M. emiliae</i>	2.31	14.5	47	74	31.38	62.67	7.2	13.2	967
60	<i>S. apella</i>	5.26	10	32	59.31	31.96	19.01	6.2	18.5	505
61	<i>A. marginatus</i>	5.76	10.7	26	45.31	40.99	18.57	8.4	16.4	429

62	<i>A. caraya</i>	6.86	13.3	41	59.91	32.33	19.38	6.8	13.4	277
63	<i>A. caraya</i>	6.99	17	46	66.09	36.75	24.32	7.6	14.6	330
65	<i>P. grovesi</i>	5.14	10.8	35	67.70	30.98	21.01	8.0	15.7	762
67	<i>A. caraya</i>	5.52	12.8	40	71.73	32.30	23.18	6.8	13.6	479
68	<i>C. albinasus</i>	3.21	12.5	40	122.42	31.79	38.94	7.2	17.3	421
69	<i>A. chamek</i>	1.30	13.8	42	80.23	32.64	87.15	7.8	12.4	202
70	<i>A. marginatus</i>	5.11	8.6	25	50.09	33.48	16.82	8.0	14.7	133
71	<i>A. marginatus</i>	10.67	14.7	37	34.95	39.38	13.77	8.8	12.8	484
72	<i>C. albinasus</i>	8.84	11.1	36	40.76	30.64	12.5	5.4	16.6	479
73	<i>M. emiliae</i>	7.46	15.1	44	60.18	33.63	20.24	6.9	14.2	388
74	<i>M. emiliae</i>	9.24	12.7	40	43.39	31.67	13.74	9.0	17.1	431
75	<i>A. chamek</i>	1.62	12.4	37	82.30	33.15	76.54	8.0	15.7	429
76	<i>A. marginatus</i>	2.31	12	37	110	32.84	51.94	9.8	17.1	404
77	<i>P. vieirai</i>	9.88	12.7	37	37.78	33.78	12.85	9.0	14.5	303
78	<i>C. albinasus</i>	11.55	13.4	41	35.41	32.74	11.60	6.8	16.7	232
79	<i>C. albinasus</i>	6.01	10.5	33	55.74	31.26	17.47	6.0	14	244
80	<i>C. albinasus</i>	10.25	10.5	31	30.34	32.31	10.24	9.3	17.1	303
81	<i>C. albinasus</i>	6.45	12.2	35	54.57	34.60	18.91	11.2	16.5	277
83	<i>M. emiliae</i>	6.94	12.8	41	58.21	31.68	18.44	10.1	16.3	353
84	<i>A. chamek</i>	5.43	10.7	35	65	30.31	19.70	6.2	15.4	358
86	<i>M. emiliae</i>	8.11	13.2	40	50.30	32.32	16.27	6.0	14.6	280
87	<i>C. albinasus</i>	7.49	11.4	35	46.86	32.39	15.22	6.2	20.2	297
89	<i>C. albinasus</i>	4.93	10.3	34	67.34	31.01	20.89	6.0	15.9	209
90	<i>A. marginatus</i>	7.49	10.8	34	45.28	31.84	14.41	5.8	13.8	184
91	<i>C. albinasus</i>	8.55	10.7	34	39.88	31.31	12.51	6.0	15.5	363
96	<i>P. vieirai</i>	7.10	12.6	41	56.61	31.31	17.74	7.0	14.6	739

Tabela 10. Valores hematológicos dos PNH resgatados durante o enchimento da UHE Sinop, 2019 (leucograma) (Continuação).

RG	Leuc. (x 10 ³ cel/μL)	Metam. (cél/μL)	Bast. (%)	Bast. (cél/μL)	Segm. (%)	Segm. (cél/μL)	Linf. (%)	Linf. (cél/μL)	Eosi. (%)	Eosi. (cél/μL)	Basóf. (%)	Basóf. (cél/μL)	Monóc. (%)	Monóc. (cél/μL)
1	8.97	0	0	0	72	6464	14	1257	7	628	0	0	7	628
2	3.99	0	0	0	55	2195	33	1317	5	200	2	80	5	200
4	4.99	0	0	0	57	2842	27	2843	7	349	1	50	7	349
5	4.09	41	0	0	50	2048	34	1557	0	0	0	0	11	451
6	16.64	41	0	0	76	12648	21	3453	1	166	0	0	2	333
8	14.12	0	0	0	72	10168	18	2542	5	706	0	0	5	706
9	10.23	0	0	0	72	7.372	18	1843	5	512	0	0	5	512
10	9.66	0	0	0	72	6956	13	1256	4	387	1	97	10	966
11	11.865	0	0	0	72	8543	13	1543	4	475	1	119	10	1186
12	42.00	0	0	0	43	18060	52	21840	0	0	1	420	3	1260
13	2.20	0	0	0	80	1764	13	287	1	23	0	0	6	133
14	2.20	0	0	0	57	1257	43	949	0	0	0	0	0	0
15	3.46	0	0	0	57	1976	38	1317	1	35	0	0	4	139
16	8.40	0	3	252	86	7224	8	672	0	0	1	84	2	168
17	2.46	0	0	0	71	1752	19	469	1	25	0	0	9	223
18	3.67	0	0	0	69	2536	23	846	1	37	1	37	6	221
19	8.66	0	0	0	82	7104	13	1127	0	0	3	260	2	174
20	6.98	0	1	70	71	4958	24	1676	0	0	0	0	4	280
21	13.86	0	0	0	64	8871	27	3743	0	0	0	0	9	1248
22	5.35	0	0	0	52	2785	42	4200	0	0	0	0	6	322
23	8.45	0	0	0	84	7101	11	1100	0	0	0	0	3	254
24	9.03	0	0	0	70	6321	23	2077	0	0	1	91	6	542
25	4.72	0	0	0	82	3875	13	615	1	48	0	0	4	189
26	6.03	0	0	0	62	3744	37	2235	0	0	0	0	1	61
27	5.93	0	1	60	44	2611	40	2374	0	0	0	0	6	356

28	10448	0	0	0	34	3553	48	5016	15	1568	0	0	3	314
29	6.03	0	0	0	47	2838	44	2657	8	484	1	61	0	0
32	5.14	0	0	0	40	2058	50	2573	3	155	2	103	5	258
33	5.56	0	0	0	36	2004	49	2727	9	501	1	56	5	279
34	5.56	0	0	0	64	3562	35	1948	0	0	0	0	1	56
35	2.15	0	0	0	49	1055	49	1055	0	0	0	0	2	44
36	10.71	0	0	0	91	9747	5	536	0	0	0	0	4	429
39	5.82	0	0	0	32	1865	54	3148	2	117	0	0	12	6994
40	10.34	0	0	0	67	6930	21	2173	0	0	1	104	11	1138
43	7.50	0	0	0	66	4956	26	1953	3	226	0	0	5	376
44	5.77	0	0	0	50	2888	25	1444	16	924	0	0	9	520
45	5.09	0	0	0	33	1681	63	6300	1	51	0	0	3	153
46	4.62	0	0	0	61	2819	37	1710	0	0	1	47	1	47
48	6.09	0	0	0	71	4324	25	1523	0	0	0	0	4	400
49	2.25	0	0	0	82	1852	11	249	0	0	0	0	4	91
50	2.99	0	0	0	42	1258	30	898	16	479	0	0	12	360
51	10.55	0	0	0	84	8865	13	1372	1	106	0	0	2	212
52	11.07	0	0	0	61	6758	25	2770	1	111	0	0	13	1441
53	16.38	0	0	0	85	13923	8	1311	1	164	0	0	6	983
54	6.82	0	0	0	56	3822	41	2799	0	0	0	0	2	204
55	6.14	0	0	0	51	3133	33	2028	3	184	2	123	11	676
57	7.35	0	0	0	38	2793	57	4190	1	74	0	0	4	294
58	12.60	0	0	0	58	7308	24	3024	8	1008	6	756	3	378
59	8.40	0	0	0	67	5628	19	1596	4	336	6	504	4	336
60	11.13	0	0	0	79	8793	10	1113	0	0	1	112	10	1113
61	11.70	0	0	0	74	8664	21	2459	1	118	1	118	3	352
62	13.02	0	0	0	66	872	27	357	0	0	0	0	7	93
63	7.56	0	0	0	62	4688	27	2042	1	76	0	0	10	756

65	5.35	0	0	0	67	3588	21	1125	2	108	0	0	10	536
67	13.23	0	0	0	63	8335	20	2646	4	530	0	0	13	1720
68	4.56	0	0	0	73	3335	18	823	0	0	1	46	8	366
69	4.51	0	0	0	69	3116	22	994	3	136	1	452	5	226
70	4.62	0	0	0	66	3050	27	1248	1	47	0	0	6	278
71	19.05	0	0	0	80	15204	11	2091	1	190	0	0	7	1331
72	2.88	0	0	0	57	1647	35	1011	0	0	0	0	8	232
73	18.32	0	0	0	62	11361	35	6414	0	0	1	184	2	367
74	13.96	0	0	0	78	10893	8	1118	5	699	3	419	6	838
75	11.39	0	0	0	75	8545	19	2165	0	0	1	114	5	570
76	10.44	0	0	0	56	5851	38	3971	0	0	0	0	6	627
77	4.77	0	0	0	49	2349	47	2246	0	0	0	0	4	192
78	11.49	0	0	0	45	5175	41	4715	6	690	0	0	8	920
79	3.25	0	0	0	46	1498	41	1335	5	163	0	0	8	261
80	8.92	0	0	0	55	4909	37	3303	1	990	0	0	7	625
81	6.77	0	0	0	37	2507	58	3929	1	68	0	0	4	271
83	11.49	0	0	0	71	8164	26	2990	0	0	1	115	2	230
84	6.03	0	0	0	69	4167	19	1148	2	121	1	61	9	544
86	7.82	0	0	0	67	6807	27	2113	0	0	1	79	5	392
87	8.55	0	0	0	66	5649	30	2568	0	0	0	0	4	343
89	3.78	0	0	0	60	2268	35	1323	1	38	0	0	4	152
90	2.94	0	0	0	67	1970	30	882	0	0	0	0	3	89
91	5.61	0	0	0	49	2753	44	2472	2	113	0	0	5	281
96	10.02	0	0	0	21	2106	72	7221	2	201	0	0	5	502

Tabela 11. Distribuição dos valores absolutos médios e desvio padrão dos parâmetros hematológicos das nove espécies de PNH da Fase de Campo, Sinop, MT, 2019.

ÍNDICES	<i>A. caraya</i> (7)		<i>A. infulatus</i> (6)		<i>A. chamek</i> (5)		<i>A. marginatus</i> (11)		<i>C. albinus</i> (16)		<i>M. emiliae</i> (9)		<i>P. grovesi</i> (11)		<i>P. vieirai</i> (2)		<i>S. apella</i> (10)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Hemácias ($\times 10^6 \text{cel}/\mu\text{L}$)	4,59	2,12	5,73	0,86	3,83	2,68	5,07	2,39	7,61	2,15	5,69	2,63	5,32	1,04	8,49	1,97	4,07	1,10
Hemoglobina (g/dL)	13,00	2,03	12,00	0,67	12,60	2,91	11,60	1,73	12,00	1,34	13,40	1,30	14,8	2,19	12,70	0,07	11,00	1,07
Hematócrito (%)	45,00	3,83	41,50	3,51	39,60	4,88	36,80	7,47	38,60	5,95	42,40	4,25	43,7	5,62	39,00	2,83	37,80	3,74
VCM (fL)	74,30	8,86	73,70	12,80	80,90	21,00	74,90	26,80	55,30	23,00	68,10	24,30	73,6	10,9	47,20	13,30	78,50	27,30
CHCM (g/dL)	32,10	2,29	29,10	2,31	31,50	3,73	31,90	4,76	31,70	1,61	31,70	1,76	33,7	1,42	32,50	1,75	29,50	2,86
HCM (pg)	24,70	4,69	18,10	5,50	47,00	32,20	24,80	10,70	17,30	7,20	31,30	20,20	28,7	8,65	15,30	3,46	28,90	8,23
PT (g/dL)	6,89	0,43	7,40	1,81	7,96	1,21	7,90	1,29	7,35	1,40	8,00	1,80	8,69	0,575	8,00	1,41	8,02	1,85
RDW (%)	14,70	1,44	14,80	0,77	14,90	1,70	15,10	1,22	16,60	1,52	15,20	1,17	15,2	0,806	14,60	0,07	15,20	1,82
Plaquetas ($\times 10^3 \text{cel}/\mu\text{L}$)	342	87,1	309	127	283	107	368	140	379	125	443	209	512	162	521	308	312	112
Leucócitos ($\times 10^3 \text{cel}/\mu\text{L}$)	11233	3345	4283	1401	9214	4876	7905	4567	6154	2630	10893	3773	9194	11588	7395	3712	9049	2834
Segmentados (cél/ μL)	6752	4199	2538	1110	6686	3908	4891	4062	3824	1691	7388	2768	5384	5222	2228	172	5900	2868
Linfócitos (cél/ μL)	1900	926	2001	2228	1943	983	2270	1113	1898	1124	2565	1609	3195	6235	4734	3518	2519	1446
Eosinófilos (cél/ μL)	141	182	96	189	130	83	142	179	156	314	383	347	156	243	101	142	221	498
Basófilos (cél/ μL)	0	0	8	19	125	189	29,2	51,1	26,4	71,9	246	256	61,2	126	0	0	47,1	51,4
Monócitos (cél/ μL)	773	644	150	116	410	145	1075	1992	332	224	478	255	468	425	347	219	562	440

Tabela 12. Distribuição das espécies de primatas durante a Fase de Campo, em função dos parâmetros bioquímicos, seus valores medianos e o desvio padrão, Sinop, MT.

Parametro	<i>A. caraya</i>	<i>A. infulatus</i>	<i>A. chamek</i>	<i>A. marginatus</i>	<i>C. albinasus</i>	<i>M. emiliae</i>	<i>P. grovesi</i>	<i>P. vieirai</i>	<i>S. apella</i>
	n= 7	n= 1	n= 7	n= 11	n= 17	n= 4	n= 8	n= 3	n= 12
	Mediana ± DP		Mediana ± DP	Mediana ± DP	Mediana ± DP	Mediana ± DP	Mediana ± DP	Mediana ± DP	Mediana ± DP
AST (U/L)	56 ± 46	78	25 ± 17.88	36 ± 16.21	27 ± 10.24	131 ± 67.90	35 ± 37.43	14 ± 4.04	16.5 ± 11.37
ALT (U/L)	15 ± 5.2	39	20 ± 10.86	26 ± 19.55	14 ± 7.08	18.5 ± 5.85	27 ± 10.93	11 ± 4.5	8.5 ± 8.6
FA (U/L)	147 ± 91.96	36	97 ± 73.39	98 ± 38.21	220 ± 48.57	75.50 ± 31.98	43 ± 84.60	27 ± 49.07	40.5 ± 19.56
GGT (U/L)	262 ± 104.7	—	1.8 ± 5.68	1.4 ± 0.84	46.30 ± 13.34	0.65 ± 0.2	43.05 ± 11.15	36.90 ± 14.79	34.15 ± 12.91
LDH (U/L)	413 ± 204.5	—	378 ± 142.9	347 ± 134	303 ± 174.2	823 ± 555.8	909 ± 327.4	356 ± 173.7	453 ± 159.3
CK (U/L)	1934 ± 1448	596	6159 ± 2785	1013 ± 228	326 ± 234.2	913.7 ± 1222	1734 ± 5581	547 ± 306.9	358.5 ± 1015
PT (g/dL)	5.9 ± 1.32	7.3	6.7 ± 1.16	6.7 ± 1.39	6.0 ± 1.27	6.5 ± 0.98	6.3 ± 0.58	6.2 ± 0.15	6.85 ± 1.24
UREIA (mg/dL)	21 ± 15.79	4.0	11 ± 7.45	5.0 ± 2.06	29 ± 26.78	27 ± 4.3	49 ± 46.5	18 ± 63.81	22 ± 28.95
CREATININA (mg/dL)	0.69 ± 0.51	0.09	0.92 ± 0.22	0.74 ± 0.27	0.59 ± 0.2	0.6 ± 0.11	0.43 ± 0.2	0.58 ± 0.12	0.76 ± 0.18
ALBUMINA (g/dL)	41 ± 11.03	4.6	4.6 ± 0.92	4.0 ± 1.2	3.5 ± 0.81	3.85 ± 0.85	4.1 ± 0.64	4.6 ± 0.17	3.95 ± 0.93
BT (mg/dL)	0.4 ± 0.07	0.3	0.4 ± 0.11	0.3 ± 0.06	0.4 ± 0.09	0.4 ± 0.05	0.4 ± 0.07	0.3 ± 0.05	0.3 ± 0.04
BD (mg/dL)	0	0	0	0	0.1 ± 0.07	0	0.05 ± 0.02	0	0
COLESTEROL (mg/dL)	92 ± 64.65	—	95 ± 41.71	102 ± 45.55	202 ± 86.27	261.5 ± 112.4	210.5 ± 75.66	126 ± 81.3	146.5 ± 34.11
TRIGLICERÍDEOS (mg/dL)	55 ± 35.31	—	70 ± 32.95	59 ± 27.94	60 ± 41.73	49 ± 2.82	108 ± 41.47	94 ± 49.22	40 ± 181.8
Ca (mg/dL)	8.4 ± 2.27	—	8.1 ± 1.58	8.3 ± 1.7	7.6 ± 1.61	8.8 ± 0.14	8.1 ± 1.13	9.4 ± 0.4	8.15 ± 1.83
P (mg/dL)	2.1 ± 0.58	—	2.2 ± 0.92	2.4 ± 1.16	3.1 ± 0.84	3.9 ± 1.13	5.1 ± 1.54	4.3 ± 0.45	4.9 ± 2.19
K (mmol/L)	4.8 ± 1.12	—	5.0 ± 1.53	5.0 ± 1.88	4.6 ± 3.37	5.85 ± 0.77	5.6 ± 0.57	6.3 ± 1.45	4.25 ± 1.46
Na (mmol/L)	121 ± 16.86	—	122 ± 16.45	129 ± 15.61	133 ± 19.64	148.5 ± 9.19	137 ± 9.62	125 ± 11.85	135 ± 29.09
Cl (mmol/L)	83 ± 13.78	—	93 ± 7.4	88 ± 9.57	98 ± 10.90	97 ± 9.89	100 ± 6.11	99 ± 2.51	94 ± 28.22
Mg (mg/dL)	2.0 ± 0.52	—	1.7 ± 0.65	1.65 ± 0.73	2.0 ± 0.66	1.45 ± 1.06	2.1 ± 0.5	2.3 ± 0.25	2.5 ± 1.03



Figura 9. A. Microfilária sanguínea em *Mico emiliae*: corpos celulares coalescidos até o fim da cauda, ausência de gancho, de espaço cefálico e de bainha; B. Microfilária sanguínea em *Sapajus apella*: presença de bainha anterior e posterior, corpos celulares coalescidos até a extremidade da cauda. Microscopia de luz, Wright-Giemsa, 40x.

Plecturocebus grovesi e *P. vieirai*, espécies recém descritas (Boubli et al. 2019), juntamente com *M. emiliae* e *C. albinasus*, não possuem qualquer registro na literatura sobre avaliação clínica, tampouco laboratorial, o que dificulta a caracterização dos limites entre saúde e doença. O gênero *Aotus*, embora amplamente explorado como modelo experimental para doenças em humanos (Cicmanec et al. 1974, Beland et al. 1981, Chalifoux et al. 1981, Schiavetta et al. 2003), juntamente com *Ateles* e *Sapajus*, também carecem de estudos referência para discussão clínica ((Karesh et al. 1998; Albertelli 2020).

Em contrapartida, *Alouatta* se sobressai como o gênero mais amplamente explorado (Kowalewski et al. 2015). Embora não apresentasse diferença significativa (*unpaired t-test*, $p > 0,05$, IC: 95%, $\alpha: 0,5$) o número de hemácias, hemoglobina e hematócrito dos machos apresentaram valores superiores aos das fêmeas de *A. caraya*. Hormônios andrógenos geralmente estimulam a

produção de eritropoietina, enquanto estrógenos a inibem (Kerr 2002, Stockham & Scott 2008), o que justificaria em parte essa diferença. Quando comparados os demais estudos com a espécie ((Flaiban et al. 2008, Sánchez-Sarmiento et al. 2015, Melo et al. 2019) ou mesmo congêneres (Vié et al. 1998, Rovirosa-Hernández et al. 2012, García-Feria et al. 2017), os índices hematimétricos foram bastante similares ou dentro do intervalo esperado para indivíduos saudáveis da espécie.

Embora o universo amostral fosse composto de nove espécies distintas, os espécimes foram também agrupados conforme estação do ano: estação seca (verão, precipitação média de 4,0mm) e chuvosa (inverno, precipitação média de 280mm). Ao final da expedição de campo, obteve-se 38 espécimes na estação chuvosa (janeiro a meados de abril) e 39 na seca (abril a julho). Não desconsiderando as variáveis clínicas individuais, procurou-se verificar a influência da grande amplitude hídrica sazonal, principalmente sobre o hematócrito e proteínas plasmáticas totais (Campbell 1991, 2012, Weiss & Wardrop 2010).

Observou-se que o hematócrito se apresentou estatisticamente mais elevado durante a estação seca (*unpaired t-test*, $p=0.03$, IC: 95%, $\alpha: 0,5$), no entanto proteínas plasmáticas, albumina, sódio e cloretos não seguiram a mesma tendência. Na desidratação verdadeira, em que o conteúdo de água plasmática está reduzido, o hematócrito se encontra falsamente elevado e as proteínas plasmáticas na mesma proporção, configurando a policitemia relativa (Jain 1993). Sendo assim, não se pode apoiar tal suposição sazonal, apenas baseando-se na disponibilidade hídrica ambiental; há que se considerar fatores clínicos e individuais (Almosny 2009).

Dentre as nove espécies de primatas amostrados, sabe-se que *M. emiliae*, *C. albinasus*, *P. vieirai* e *P. grovesi*, além de *S. apella*, possuem uma dieta essencialmente composta por frutos, sementes, flores, brotos, mas também uma parcela importante de predação de artrópodes, ovos e pequenos vertebrados (Ferrari & Lopes 1995, Veiga & Ferrari 2006, Silva 2007, Deluycker 2012, Gualda-Barros et al. 2012). A ingestão de alimentos de origem animal costuma ser mais expressiva nas estações secas, quando da rarefação de frutos maduros, e consequente demanda energética por alimentos-chave (Nagy & Milton 1979, Milton 1981).

Como único exemplo de calitriquídeo nesta amostragem, 70% da dieta de *M. emiliae* contém lagartas, lesmas, aranhas, ovos, cupins, formigas e até mesmo anfíbios (Sussman & Kinzey 1984). De maneira geral, a ingestão desses itens alimentares representa um incremento nutricional de gordura e proteínas (Stasieniuk 2009). Ainda que este estudo não tivesse o objetivo de descrever os itens alimentares das espécies, quando comparados às espécies folívoras-frugívoras como *A. caraya* e *Ateles* spp. (Milton 1981, Iwanaga & Ferrari 2001), notamos valores significativamente superiores nas concentrações de colesterol total sérico e ureia, parâmetros sabidamente influenciados por fatores dietéticos (Campbell 2012).

Quando agrupados por classe sexo-etária, mesmo de famílias, gêneros e espécies diferentes, alguns pressupostos clínicos para outras espécies de primatas e outros mamíferos parecem ter sido corroborados. Indivíduos juvenis parecem ter as concentrações de fósforo e a atividade sérica de fosfatase alcalina maiores que os adultos, provavelmente devido à maior atividade osteoblástica (Delmas 1995, Havill et al. 2003, Fox et al. 2008). Outra suposição diz respeito aos níveis séricos de colesterol total (mg/dL), que também tendem a aumentar com a idade, além dos machos de PNH apresentarem maior concentração em relação às fêmeas (Campbell 2012; Takenaka et al. 2000; Xie et al. 2013).

5.4 Avaliação Toxicopatológica

5.4.1 Plasma

A primeira análise quali-quantitativa realizada no plasma de 84 indivíduos não detectou concentrações de glifosato, nem de seu principal metabólito, ácido aminometilfosfônico (AMPA). Negativos também foram os resultados da varredura de 231 resíduos para todas as amostras testadas. A Figura 10 ilustra os cromatogramas obtidos na análise de glifosato + AMPA por LC-MS/MS, para amostra controle (A) e duas amostra de plasma de *A. chamek* (n° 6 e n° 47) (B e C). É possível verificar que o pico correspondente ao glifosato no controle A (tempo de retenção = 1,38 min) não pode ser observado nas amostras B e C.

Uma vez que os resultados foram negativos para o glifosato e seu metabólito AMPA e outros 231 pesticidas conhecidos, foi definida uma abordagem adicional, buscando-se identificar compostos que não seriam o alvo inicial, mas que poderiam estar presentes, devido a metabolização dos compostos-alvos, ou mesmo a degradação das amostras. Assim, dentre um banco de dados de 943 analitos, entre compostos intactos, fragmentos e metabólitos, considerando as substâncias utilizadas e potencialmente adotadas na agricultura brasileira, foram definidos 216 focos de avaliação (Anexo 6).

Após o tratamento dos dados, onde se realizou a busca pela massa exata dos compostos investigados (LQAA/UFRGS), se identificou a presença de onze compostos cuja presença foi considerada possível. Essa identificação ocorreu através da comparação entre solvente e as amostras coletadas a campo. Ao observar a Figura 11 pode-se notar o pico presente na amostra suspeita, ao contrário do que ocorre no solvente, onde nenhum pico pode ser identificado.

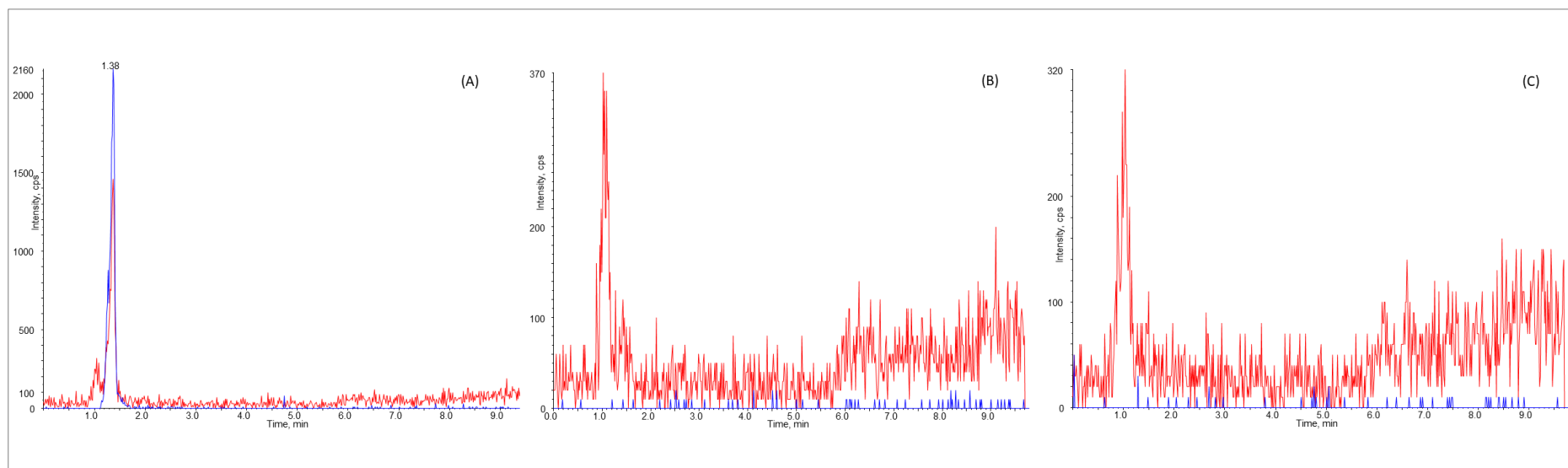


Figura 10. Cromatogramas da análise de glifosato no plasma para duas amostras negativas, por LC-MS/MS. Controle (A), ID: 6 *Ateles chamek* (B), ID: 47 *Ateles chamek* (C), LFDA-RS, 2020.

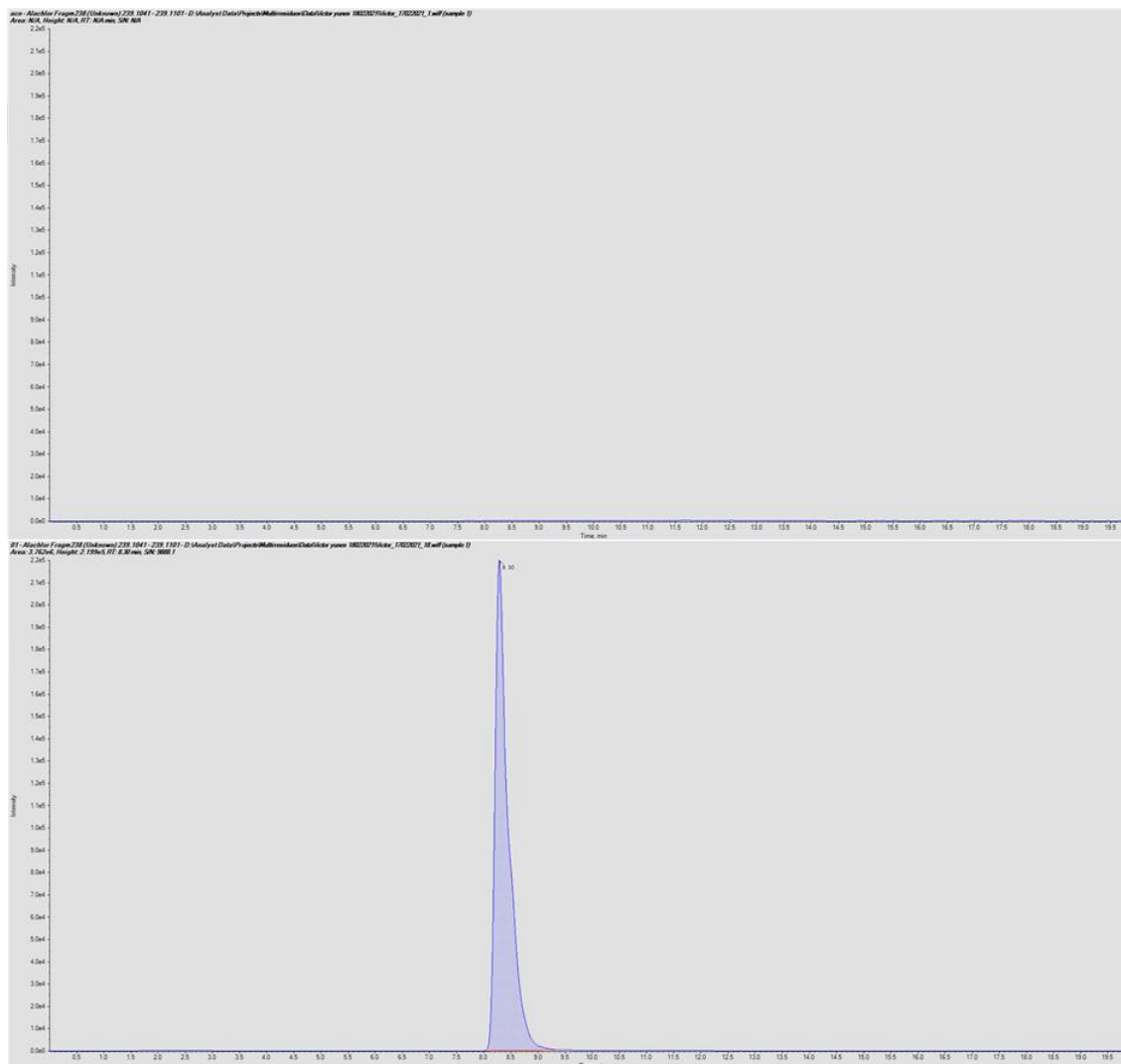


Figura 11. Cromatogramas do analito Alachlor (Fragm 238) ($m/z=239,1071$) (acima) e amostra 01 (abaixo), LFDA-RS, 2021.

Após a identificação dos compostos suspeitos, procedeu-se com a fragmentação dos onze compostos. Conforme Figura 12 e 13, não foi possível confirmar a presença de nenhum dos onze compostos suspeitos identificados na primeira etapa da análise.

Na Figura 12, está apresentado o padrão, e dele foi extraído o pesticida Carbensazim. No cromatograma 12A, temos o Cromatograma de Íon Total (*Total Ion Chromatogram, TIC*) para a amostra. No cromatograma extraído 12B, temos o pico resultante da extração da razão massa/carga $m/z = 192,0773$. Já no espectro de massas 12C, temos a porção do espectro no tempo de retenção (t_R) de 7,1 min, o mesmo que observamos o pico em 12B, para o experimento

Product Ion. Nele, é possível visualizar os fragmentos 160 e 132, característicos do pesticida carbendazim.

Analogamente, foi realizada a avaliação da presença dos compostos nas amostras em que foram detectados suspeitos. A Figura 13, apresenta a amostra 01, e dela foi extraída $m/z = 239,1071$, referente ao Fragmento 238 do Alachlor. No cromatograma 13A, temos o Cromatograma de Íon Total (*Total Ion Chromatogram, TIC*) para a amostra. No cromatograma extraído 13B, temos o pico resultante da extração da razão massa/carga $m/z = 239,1071$, com tempo de retenção compatível com o observado na amostra suspeita (Figura 12). Já no espectro de massas 13C, temos a porção do espectro no tempo de retenção (tR) de 8,3 min, o mesmo que observamos o pico em 13B, para o experimento *Product Ion*. Ao contrário do exemplo anterior, não observamos nenhum fragmento de massas que fosse compatível com o padrão. Foi possível verificar a presença dos fragmentos 126, 180 e 221, ao que deveriam estar presentes os fragmentos 147 e 162. Dessa forma, não foi possível confirmar que a amostra suspeita de fato continha o analito em questão.

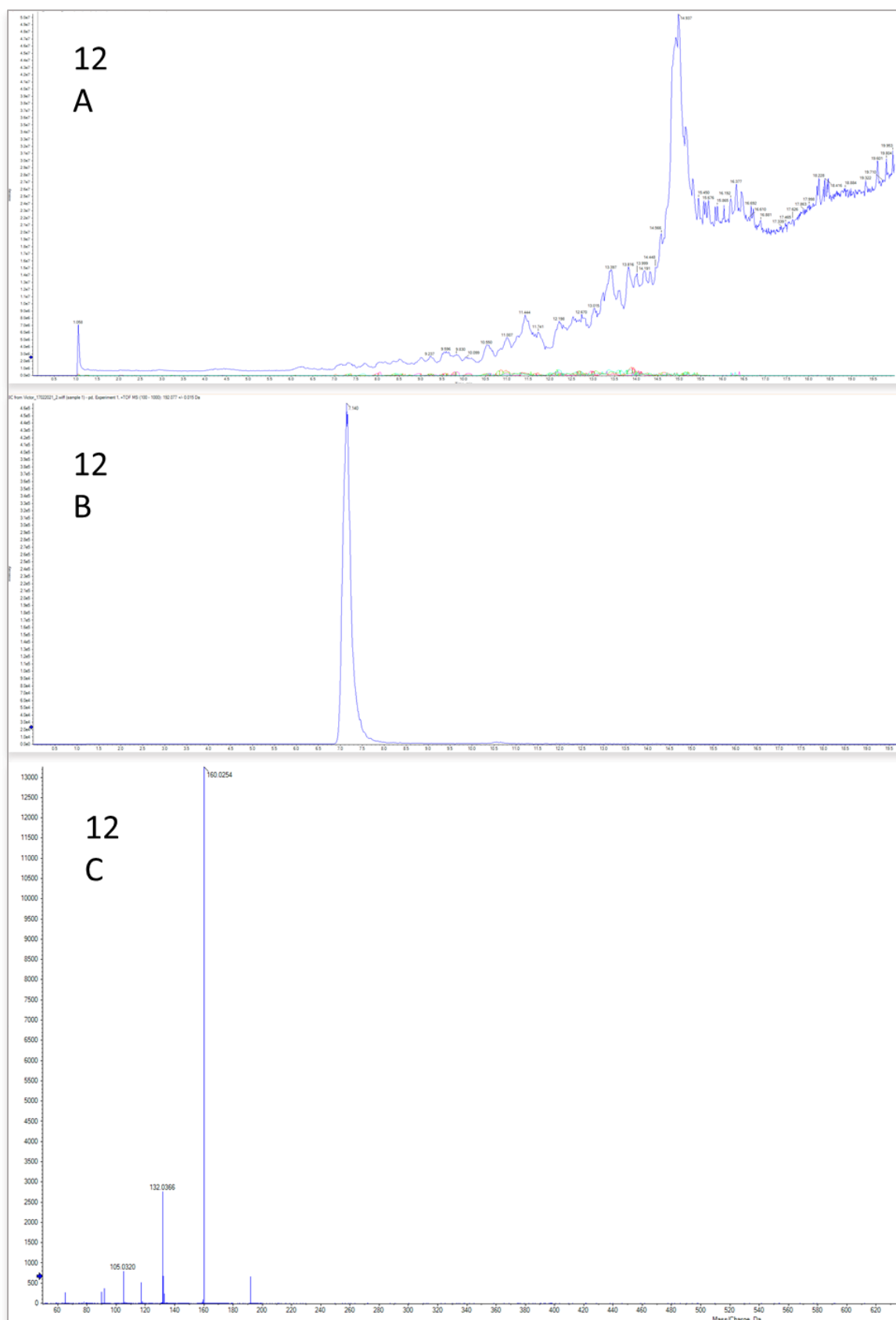


Figura 12. Cromatogramas e espectro de massas para o composto Carbendazim, ID: 45, LFDA-RS, 2021.

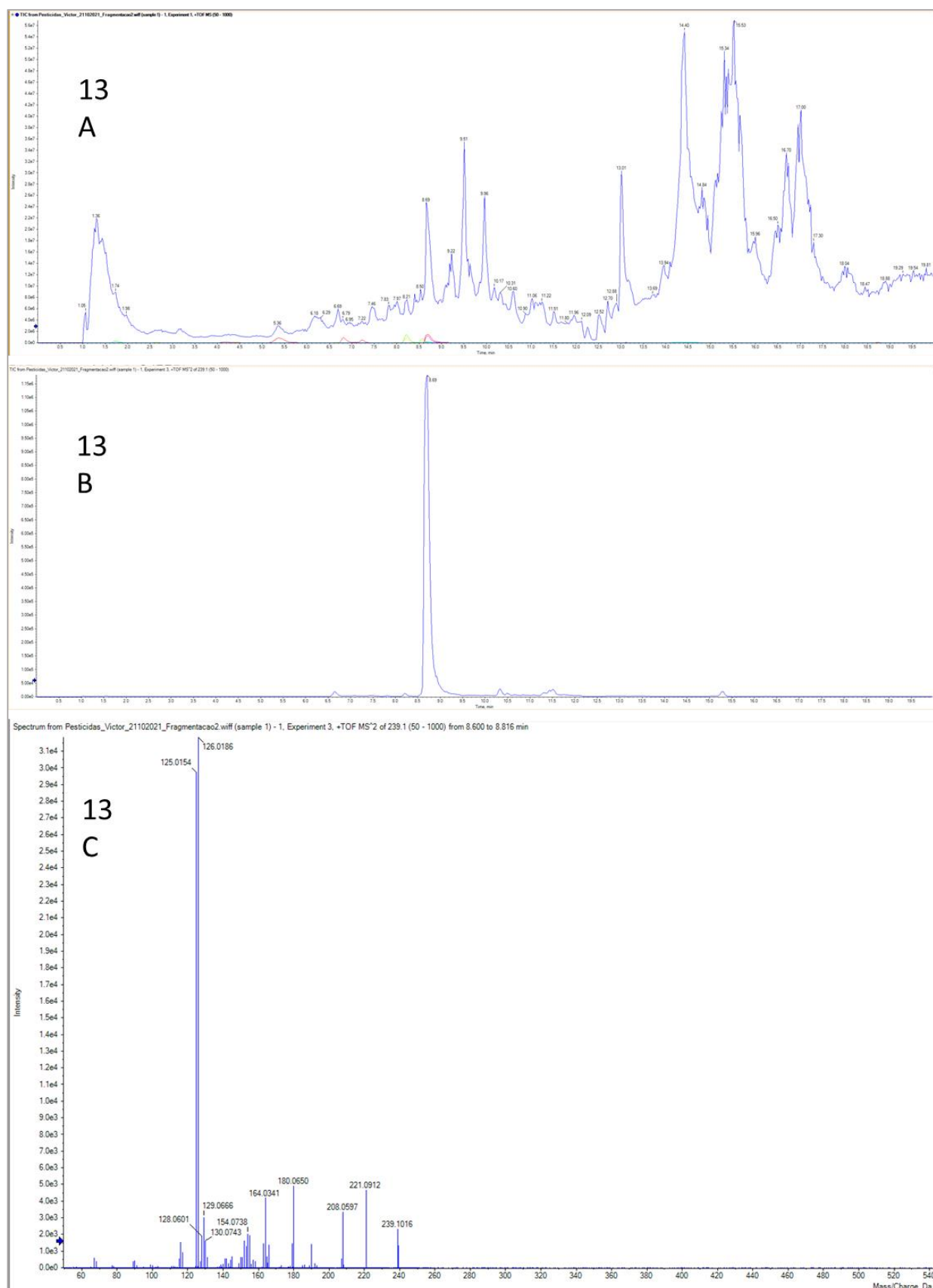


Figura 13. Cromatogramas e espectro de massas para o composto Fragmento 238 Alachlor, ID: 53, LFDA-RS, 2021.

Os resultados negativos para a detecção dos pesticidas no sangue reiteram a elevada capacidade de metabolização e excreção contínua de substâncias exógenas nas diferentes espécies de mamíferos (Peakall 1992). O plasma consiste numa matriz com elevada taxa de renovação de seus componentes, o que pode significar que ele somente “demonstre” os ingredientes ativos com os quais os PNH tenham sido expostos em período recente, no mesmo dia, ou talvez horas (Aprea et al. 2002).

Embora não seja possível precisar a via, ou as vias de absorção do conteúdo pulverizado, consideramos a população como potencialmente exposta e que os PNT estejam submetidos à exposição direta e indireta aos agroquímicos. Com auxílio dos ventos e a circulação das massas de ar atmosférico, acreditamos que a “chuva” de agrotóxicos atinge diretamente os PNT residentes dos fragmentos adjacentes, podendo ser absorvidas pela mucosa oral, ocular, respiratória ou ainda através pele. E indiretamente por meio da ingestão dos recursos alimentares e água.

Este estudo não teve o objetivo de obter índices estabelecidos como os da espécie humana, tais como o Limite Máximo Residual (LMR), os níveis de Ingestão Diária Aceitável (IDA), nem o Nível de Exposição Aceitável (NEA), tampouco pormenorizar a relação dose-efeito dos agrotóxicos. A varredura em questão consiste no primeiro passo para a definição das melhores matrizes, metodologias e abordagens para a compreensão da toxicocinética dos pesticidas em primatas persistentemente expostos.

Além do desconhecimento exato da formulação pulverizada, o volume de distribuição (VD) dos compostos e a capacidade de difusão pelo compartimento vascular, extra e intracelular permanecem ainda pouco esclarecidas entre as diferentes espécies (Pelkonen & Raunio 1997). A interação entre um agente tóxico e um organismo depende da dose que chega a um determinado sítio e da afinidade do xenobiótico por esse local (Ettlin 2013). A biotransformação resultante dessa interação pode significar alteração dos mecanismos de distribuição, ação, excreção e toxicidade (Lehman-McKeeman 2013). A biotransformação para um produto mais solúvel em água geralmente aumenta a excreção, diminuindo a probabilidade de acúmulo para níveis tóxicos (Haschek et al. 2010), por essa razão inclusive, alguns compostos e seus metabólitos são mensurados na urina (Schütze et al. 2021).

Em contraste aos estudos experimentais (*in vitro* ou com animais mantidos em condições laboratoriais), com a dose e via de administração conhecidas, o ingrediente ativo isolado, tempo de exposição e análises sob condições previamente estabelecidas e controladas, estudos de campo apresentam diversas variáveis conflituosas. Estudos que avaliam a exposição ocupacional em trabalhadores rurais que utilizam o sangue (Tan & Mohd 2003), urina (Niemann et al. 2015) e leite materno (Kanja et al. 1992) como matrizes de investigação, têm a facilidade de obtenção voluntária das amostras, em intervalos estabelecidos e o processamento imediato. Quando nos deparamos com o cenário de captura de espécies selvagens, há de se ter cautela com a interpretação dos achados.

Ainda que a expectativa de retenção de moléculas no sangue fosse baixa, estamos diante de uma matriz menos invasiva, quando comparada a fragmentos teciduais, de mais fácil obtenção e repetibilidade, além da capacidade de temporizar e setorizar a amostragem (Mathur et al. 2005).

5.4.2 Tecidos: musculatura esquelética e fígado

Ao todo 17 PNH foram submetidos a necrópsia e avaliação anatomopatológica. Cinco animais recebidos no estado de São Paulo pelas instituições parceiras foram submetidos à necrópsia com o intuito de obter fragmentos de tecidos para análise e padronização toxicológica e histopatológica. Doze outros animais vieram a óbito durante as ações de resgate de fauna na UHE Sinop e foram, portanto, examinados pela equipe local de patologistas.

Conforme previsto, as amostras-controle resultaram negativas para concentração de agrotóxicos, configurando apenas alíquotas de padronização das matrizes e calibração dos equipamentos. Entre as 12 amostras provenientes da Fase Trabalho de Campo, foi possível detectar agrotóxicos na faixa de concentração de 0,5 a 10 ppb em quatro espécimes. Conforme ilustra a Tabela 13, mesotriona, fipronil e bromuconazol foram detectados abaixo do limite de quantificação e por esta razão designadas “concentrações aproximadas” (CA).

Três espécimes de *S. apella* e um *C. albinasus* foram as espécies de PNH consideradas positivas para a presença dos resíduos.

Bromuconazol, fipronil e mesotriona foram os ingredientes ativos detectados nas duas matrizes de tecidos dos primatas. Estas substâncias agroquímicas pertencem às seguintes classes agronômicas: fungicida, inseticida e herbicida, respectivamente. A Figura 14 relaciona o ingrediente ativo, a cultura em que são autorizados, o Limite Máximo de Resíduo (LMR) e o ato legal que os promulgou. As culturas são incluídas no registro de um agrotóxico com base em estudos de resíduos de campo, conduzidos segundo Boas Práticas Agrícolas (BPA). A partir da análise destes estudos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece o Limite Máximo de Resíduos (LMR) e o Intervalo de Segurança (ANVISA 2014). Baseando-se no grau de toxicidade, no potencial carcinogênico e na persistência ambiental, a ANVISA classifica as substâncias (Tabela 14).

As Figuras 15 e 16 correspondem às curvas padrão com 231 compostos e as de detecção do bromuconazol, fipronil e mesotriona.

Tabela 13. Distribuição da detecção de agrotóxicos nas amostras de tecido de primatas necropsiados e a respectiva concentração aproximada na faixa de 0,5 a 10 ppb, Sinop, MT, 2019.

Etapa	CÓDIGO	ESPÉCIE	MATRIZ		AGROTÓXICO	CA (ng/g ou ppb)	CA (ppm)
			ME	FIG			
Fase Piloto: Cempas/ Zoo Sorocaba	1	<i>A. caraya</i>	—	—	—	—	—
	2	<i>S. nigritus</i>	—	—	—	—	—
	3	<i>A. clamitans</i>	—	—	—	—	—
	4	<i>C. penicillata</i>	—	—	—	—	—
	5	<i>C. penicillata</i>	—	—	—	—	—
Fase Campo: UHE Sinop	1	<i>S. apella</i>	—	+	Mesotriona	1,47	0,00147
	2	<i>S. apella</i>	—	+	Fipronil	1,54	0,00154
					Mesotriona	1,97	0,00197
	3	<i>M. emiliae</i>	—	—	—	—	—
	4	<i>P. vieirai</i>	—	—	—	—	—
	5	<i>C. albinasus</i>	+	—	Fipronil	3,62	0,00362
	6	<i>P. grovesi</i>	—	—	—	—	—
	7	<i>P. grovesi</i>	—	—	—	—	—
	8	<i>P. grovesi</i>	—	—	—	—	—
	9	<i>S. apella</i>	—	+	Bromuconazol	0,99	0,00099
					Mesotriona	3,15	0,00315
	10	<i>C. albinasus</i>	—	—	—	—	—
	11	<i>A. caraya</i>	—	—	—	—	—
	12	<i>A. chamek</i>	—	—	—	—	—

Legenda: ME: Musculatura Esquelética, FIG: Fígado, CA: Concentração Aproximada, ppb (partes por bilhão) e ppm (partes por milhão).

INGREDIENTE ATIVO	CULTURA	LMR (mg/kg)	ATO LEGAL
MESOTRIONA	Cana-de-açúcar	0,010	RESOLUÇÃO 950/ANVISA 2010
MESOTRIONA	Milheto	0,010	RESOLUÇÃO 1644/ANVISA 2018
MESOTRIONA	Milho	0,010	RESOLUÇÃO 268/ANVISA 2003
INGREDIENTE ATIVO	CULTURA	LMR (mg/kg)	ATO LEGAL
FIPRONIL	Algodão	0,010	RESOLUÇÃO - RE Nº 2.076, DE 11 DE JULHO DE 2007
FIPRONIL	Amendoim	0,010	RESOLUÇÃO - RE Nº 5.237, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012
FIPRONIL	Arroz	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Batata	0,050	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Cana-de-açúcar	0,030	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Cevada	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Felão	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Girassol	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 1.902, DE 15 DE JULHO DE 2016
FIPRONIL	Milho	0,010	RESOLUÇÃO - RE Nº 1.152, DE 16 DE MAIO DE 2005
FIPRONIL	Pastagens	0,100	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Soja	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
FIPRONIL	Sorgo	0,005	RESOLUÇÃO - RE Nº 5.237, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012
FIPRONIL	Trigo	0,010	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
INGREDIENTE ATIVO	CULTURA	LMR (mg/kg)	ATO LEGAL
BROMUCONAZOL	Alho	0,200	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Amendoim	0,100	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Banana	0,500	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Batata	0,100	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Cebola	0,100	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Cenoura	0,200	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Felão	0,200	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Golaba	0,050	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Manga	0,050	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Soja	0,050	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003
BROMUCONAZOL	Tomate	0,100	RESOLUÇÃO-RE Nº 165, DE 29 DE AGOSTO DE 2003

Figura 14. Demonstrativo dos ingredientes ativos autorizados por cultura e o respectivo LMR (MAPA, 2021).

Tabela 14. Classificação dos agrotóxicos conforme a periculosidade, ANVISA 2021.

INGREDIENTE ATIVO	CLASSIFICAÇÃO	
	TOXICOLÓGICA	AMBIENTAL
Mesotriona	Produto Não Classificado	III. Perigoso ao Meio Ambiente
Bromuconazol	Classe 5. Improvável de causar Dano Agudo	II. Muito Perigoso ao Meio Ambiente
Fipronil	Classe 3. Moderadamente Tóxico	II. Muito Perigoso ao Meio Ambiente

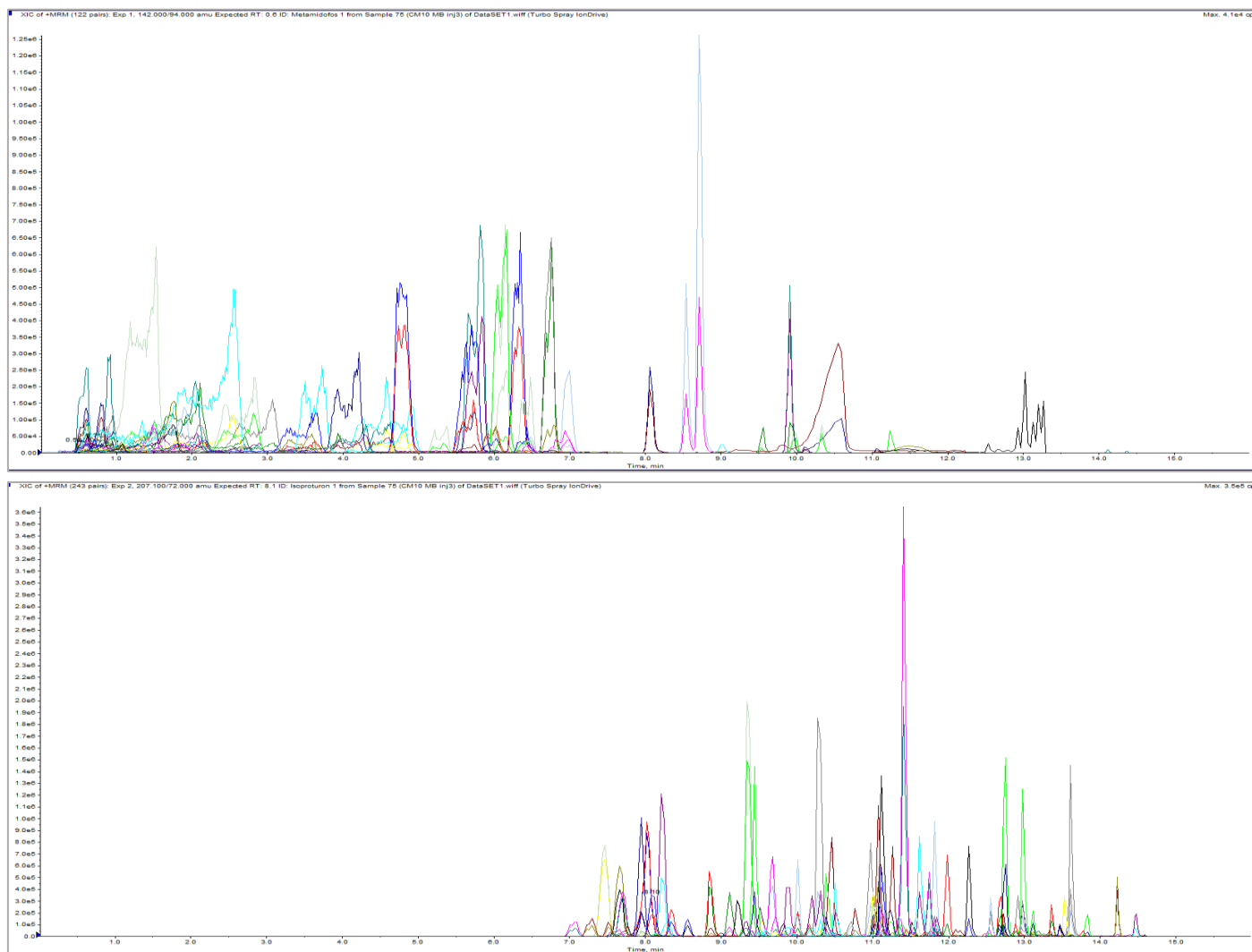


Figura 15. Curvas padrão em cromatograma com 231 agrotóxicos no ponto de detecção de até 50 partes por bilhão (ppb), LFDA-GO, 2020.

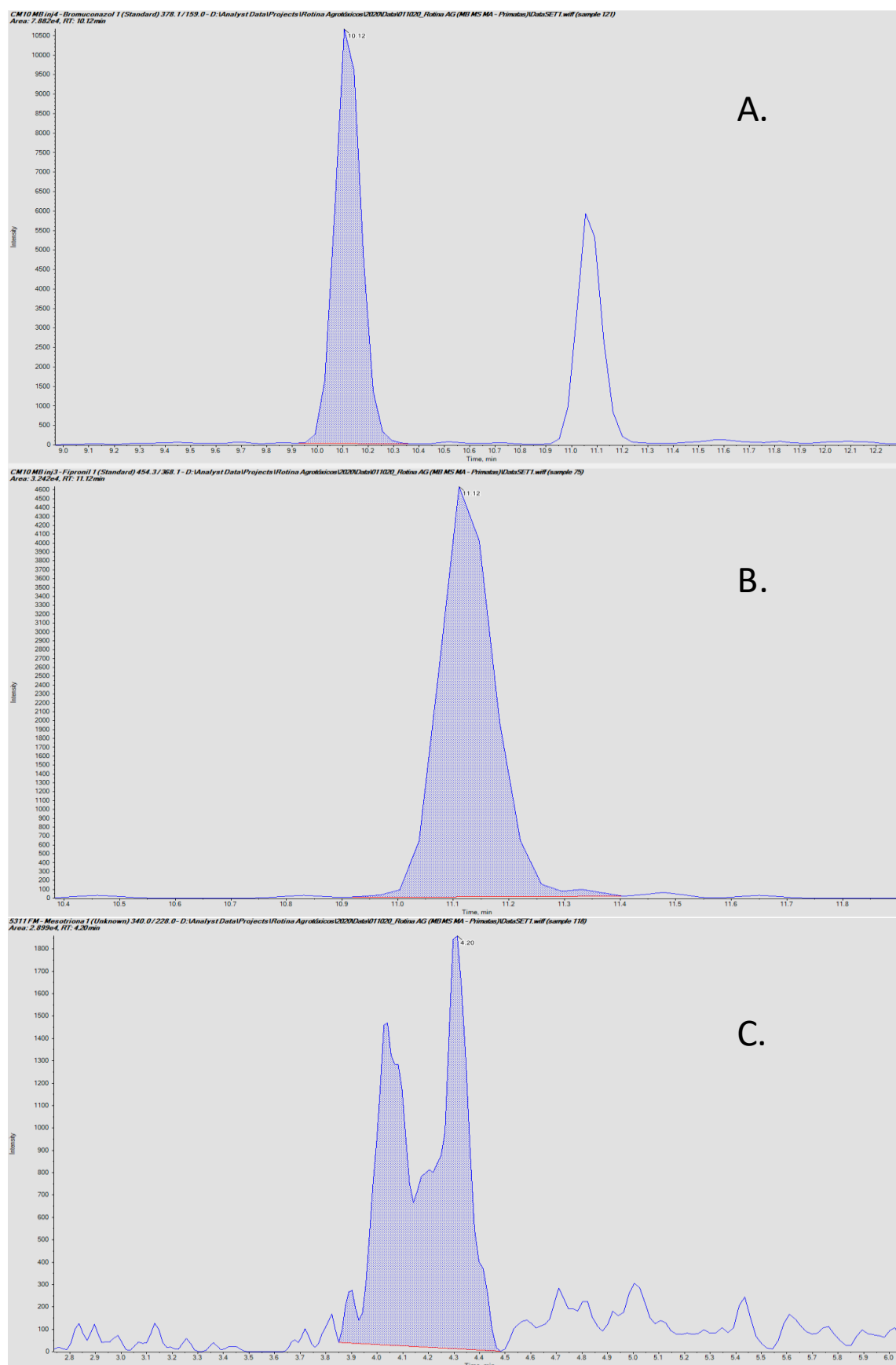


Figura 16. Curvas de detecção de bromuconazol (A) (ID: 66), fipronil (B) (ID:54) e mesotriona (C) (ID:48), LFDA-GO, 2020.

5.4.3 Avaliação anatomopatológica

A Tabela 15 sumariza os 17 espécimes submetidos à avaliação anatomopatológica durante as fases piloto e campo. A avaliação histopatológica da fase de campo foi realizada em duas etapas. A primeira etapa antes do relatório toxicológico (às cegas) e uma segunda leitura, mediante os resultados das amostras positivas⁸. Após o pareamento dos achados das etapas piloto e de campo, não foi possível fazer correlações ou inferências sobre a detecção dos agrotóxicos e a respectiva toxicidade.

Esse grupo de animais tem em comum o histórico terem sido encontrados flutuando no rio após a morte ou presos aos galhos da vegetação remanescente. O empreendimento procedeu ao enchimento do reservatório principal sem realizar a completa supressão vegetal prévia. Os PNHs que não haviam sido resgatados e, que ainda habitavam os remanescentes de dossel, passaram a ficar gradualmente ilhados entre as copas de árvores não submersas. Antes do enchimento, o deslocamento entre galhos podia ser feito por meio de saltos ou do solo, ao passo que durante esta etapa, o deslocamento se dava obrigatoriamente a nado.

À medida que a água do reservatório sobe, a vegetação submersa ou quase totalmente submersa, inicia um processo de apodrecimento, perde folhas, galhos e frutos, até a queda. A primeira consequência direta da submersão e apodrecimento das árvores é o desaparecimento gradual do abrigo contra o sol e chuva, e consequente exposição dos animais às intempéries. Segundo, a escassez de alimentos faz com que os PNHs sejam forçados a forragear em áreas adjacentes, se lançando na água para alcançar seu destino. É possível que o cenário descrito seja a força motriz para o emagrecimento e debilidade dos indivíduos, tornando-os clinicamente susceptíveis a infecções oportunistas, sem condições de atravessar grandes distâncias a nado, e podendo resultar ainda em afogamentos.

⁸ Etapa realizada com o auxílio e colaboração do doutorando Eduardo F. Machado, LAPCOM, USP e doutoranda Natália C.C. A. Fernandes IAL, SP.

As equipes de resgate embarcado executaram turnos de 14 horas de inspeção e busca ativa ao longo de todo o reservatório. O objetivo era identificar esses grupos de animais remanescentes pra que fossem resgatados o mais rápido possível, evitando assim o cenário descrito. Mesmo com um esforço de aproximadamente 32 embarcações e 90 profissionais (biólogos, médicos veterinários e auxiliares de campo), alguns PNHs ainda foram encontrados flutuando após a morte. Portanto, além do contato íntimo com agrotóxicos por longos períodos de suas vidas e a presença de coinfeções parasitárias, este grupo de animais pode ter se afogado durante uma travessia ou mesmo o agravamento de um quadro patogênico pode ter culminado em morte.

Diante da imprevisibilidade do encontro com os cadáveres, o tempo em que os mesmos permaneceram expostos ao sol foi bastante variável. Uma vez recolhidos, os cadáveres foram imediatamente direcionados ao freezer doméstico mais próximo, onde permaneceram até a necrópsia. Em razão do cenário pandêmico e todos os empecilhos impostos, os animais permaneceram congelados por pelo menos sete meses antes do exame necroscópico. A dinâmica descrita acima traduz em termos logístico-operacionais os diferentes graus de autólise identificados nos cadáveres; em alguns casos, impossibilitados de uma análise acurada (Anexo 7, Tabela 16 e Figuras 17 a 25).

Tabela 15. Distribuição dos primatas submetidos a exame necroscópico, as instituições responsáveis e o município durante as duas fases de estudo.

ETAPA	ID	DATA NECRO	ESPÉCIE	INSTITUIÇÃO	MUNICÍPIO	Responsável
FASE PILOTO	1	29/10/2018	<i>S. nigritus</i>	Cempas	São Manuel	Serviço de Patologia Unesp
	2	20/12/2017	<i>A. clamitans</i>	Cempas	Botucatu	Serviço de Patologia Unesp
	3	04/03/2019	<i>C. penicilatta</i>	Cempas	Botucatu	Serviço de Patologia Unesp
	4	20/06/2019	<i>C. penicilatta</i>	Cempas	Botucatu	Serviço de Patologia Unesp
	5	12/03/2020	<i>Sapajus</i> sp.	Serviço de Patologia	Botucatu	Serviço de Patologia Unesp
FASE DE CAMPO: UHE SINOP	1	12/03/2020	<i>S. apella</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	2	16/04/2020	<i>S. apella</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	3	20/04/2020	<i>M. emiliae</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	4	28/04/2020	<i>P. vieirai</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	5	24/04/2020	<i>C. albinasus</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	6	05/05/2020	<i>P. grovesi</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	7	18/05/2020	<i>P. grovesi</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	8	19/06/2020	<i>P. grovesi</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	9	02/07/2020	<i>S. apella</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	10	10/07/2020	<i>C. albinasus</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	11	10/07/2020	<i>A. caraya</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT
	12	17/07/2020	<i>A. chamek</i>	UHE SINOP/ Biota	Sinop	LAPAN - UFMT

Tabela 16. Descrição anatomopatológica dos primatas avaliados na Fase de Campo, Sinop, MT.

ID	ESPÉCIE	RESÍDUO	HISTÓRICO E MACRO	MICRO	
				ÓRGÃOS	DIAGNÓSTICO
1	<i>Sapajus apella</i>	Mesotriona	Mucosas pálidas. Parasitas livres em peritônio e aderidos a superfície hepática de face ventral do lobo medial esquerdo; ausência de gordura subcutânea. Hepatomegalia e esplenomegalia discretas. Linfadenomegalia de mesentéricos. Pulmão com enfisema alveolar acentuado. Gastrite ulcerativa associada a presença de parasitas em lúmen. Fígado com bordos enegrecidos e pontos esbranquiçados. Parasitas em intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), medindo 1 cm de comprimento e segmentados/fragmentados.	1. Córtex encéfalo, tronco, pedunculo cerebelar, cerebelo e plexo endimário, 2. Rim, 3. Pulmão, 4. Fígado, 5. Baço, 6. Musculatura, 7. Linfonodo, 8. Tireóide e Paratireoide, 9. Medula óssea.	1. Encefalite e Meningoencefalite mononuclear multifocal discreta, 2. Nefrite intersticial linfoplasmocítica multifocal discreta, 3. Tromboembolismo parasitário. Parasitismo por nematódeo em brônquios multifocal moderado, 4. Colangite fibrosante/esquiritica parasitária por trematódeos multifocal coalescente moderado, 5. Sugestivo de trombocitopenia extramedular, moderada, 6. Processo de cicatrização e degeneração e necrose de miócitos polifásico. Miopatia crônica degenerativa, segmentar e polifásica a esclarecer, sugestivo de parasitismo, multifocal coalescente moderado, 7. Infestação parasitária nodular focalmente extenso multinodular moderado, 8. Irregularidade de folículos, lesões a esclarecer, 9. Infestação parasitária difusa moderada.
2	<i>Sapajus apella</i>	Fipronil e Mesotriona	Animal com escore de condição corporal baixo, pulmões arqueados e com impressão de costelas contendo áreas multifocais puntiformes hemorrágicas.	1. Rim, 2. Pulmão, 3. Fígado, 4. Musculatura Estriada Esquelética, 5. Tireoide e Paratireoide	1. Nefrite intersticial linfoplasmocítica focal discreta, 2. Edema pulmonar multifocal coalescente moderado, 3. Hepatite / Colangite mista focalmente extenso moderado, 4. Miopatia degenerativa segmentar monofásica multifocal coalescente discreta, 5. Autólise/ rupturas endócrinas a esclarecer.

3	<i>Mico emiliae</i>	Animal Magro, com mucosas pálidas, presença de parasitismo intenso em ceco.	1. Hipocampo, Tronco encefálico, Córtex encefálico, 2. Fígado, 3. Baço, 4. Rim, 5. Musculatura Estriada Esquelética, 6. Pulmão, 7. Adrenal.	1. Flariose intravascular multifocal discreta, 2. Filariose multifocal moderada, 3. Filariose multifocal discreta, 4. Filariose multifocal discreta, 5. Parasitismo compatível com cistos de protozoários da família Apicomplexa, multifocal moderada a acentuada, 6. Edema alveolar difuso acentuado, 7. Cisto parasitário.
4	<i>Plecturocebus vieirai</i>	Animal magro, de mucosas pálidas, luxação de articulação escápulo-umeral direita. Agregados linfóides de TGI evidentes.	1. Pulmão, 2. Musculatura Estriada Esquelética, 3. Rim, 4. Pâncreas, 5. Ovários	1. Edema e enfisema pulmonar a confirmar, difuso discreto, 2. Degeneração e necrose multifocal moderado, 3, 4.e 5. Autólise acentuada.
5	<i>Chiropotes albinus</i>	Fipronil Animal magro, discreta esplenomegalia, áreas de fibrose em fígado, pulmões arqueados com presença de hemorragias puntiformes, Musculatura em região lombar avermelhada com linfonodos regionais aumentados nesta região.	1. Pulmão, 2. Musculatura Estriada Esquelética	1. Edema Pulmonar multifocal moderado, 2. Degeneração e necrose segmentar poliofásica focalmente extensa discreta a moderada.
6	<i>Plecturocebus grovesi</i>	Animal em bom estado nutricional e de escore, com cardiomiopatia excêntrica de direito, parasitas livres em cavidade abdominal e esplenomegalia acentuada. Gastrite ulcerativa multifocal.	1. Pulmão, 2. Coração, 3. Fígado.	1. Edema pulmonar multifocal a coalescente moderado a acentuado, 2. Congestão, degeneração focal leve de fibras hialinas, 3. Degeneração vacuolar multifocal moderada.
7	<i>Plecturocebus grovesi</i>	Animal magro, com pustulas em região abdominal, cardiomiopatia hipertrófica, mucosa ocular pálida, área de hemorragia em pâncreas e presença de melena em duodeno, gastrite ulcerativa focal e discreta.	1. Pulmão, 2. Linfonodo, 3. Coração, 4. Estômago	1. Edema pulmonar multifocal coalescente moderado a acentuado, 2. Linfonodo reativo, 3. Aderência ao endocárdio, 4. Erosão focal discreta em mucosa.
8	<i>Plecturocebus grovesi</i>	Animal caquético. Esplenomegalia.	Material em avançado estágio de autólise	

9	<i>Sapajus apella</i>	Bromuconazol e Mesotriona	Animal caquético, com atrofia muscular difusa, presença de nematódeos em TGI (estômago e intestino delgado). Gastrite ulcerativa focal. Enterite multifocal. Pulmões arqueados com áreas de calcificação e congestos.	1. Linfonodo, 2. Musculatura Estriada Esquelética, 3. Tireoide e Paratireoide, 4. Fígado, 5. Pulmão	1. Linfonodo reativo difuso discreto a moderado, 2. Cisto a esclarecer. Miosite degenerativa segmentar monofásica a esclarecer multifocal discreto, 3. Trauma com diferencial para artefato de técnica, focalmente extensa difusa discreto a moderado, 4. Colestase difusa acentuada, 5. Edema alveolar difuso acentuado (estruturas parasitárias).
10	<i>Chiropotes albinus</i>		Condição regular, presença de líquido em cavitações, parasitas em Intestino grosso.	1. Musculatura Estriada Esquelética, 2. Pulmão, 3. Coração.	1. Miopatia degenerativa focalmente extensa discreta a moderada, 2. Edema alveolar difuso acentuado, 3. Necrose de cardiomiócitos multifocal moderada.
11	<i>Alouatta caraya</i>		Animal magro, filhote.	1. Pulmão, 2. Adrenal, 3. Musculatura Estriada Esquelética	1. Edema alveolar difuso acentuado, 2. Hiperplasia medular difusa acentuada, 3. Degeneração e necrose de cardiomiócitos multifocal moderada.
12	<i>Ateles chamek</i>		Animal caquético, com parasitas livres em cavidade abdominal e ceco, massa em ureter e início de hidronefrose.	1. Rim, 2. Ovário, 3. Musculatura Estriada Esquelética, 4. Pulmão	1. Nefropatia tubular a esclarecer com pigmentação com principais diferenciais para: pigmentos férricos e mineralização multifocal discreta a moderada, 2. Cisto ovariano multifocal discreto, 3. Calcificação com diferencial para cisto parasitário multifocal moderado, 4. Edema alveolar difuso acentuado



Figura 17. Fragmento de fígado apresentando espessamento em canal biliar (estrela), assim como na cápsula multifocal de coloração esbranquiçada e consistência firme (ID:1, *Sapajus apella*).

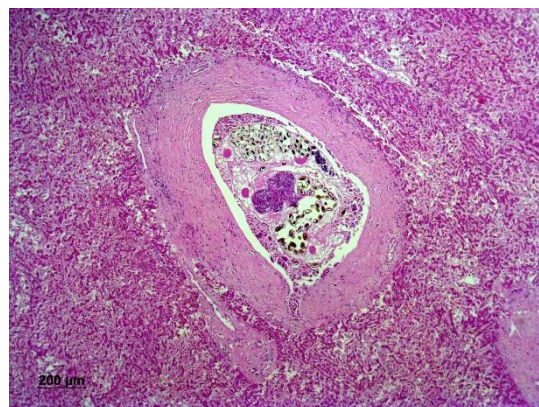


Figura 18. Espessamento do espaço porta com deposição de tecido conjuntivo compatível com fibrose em lúmen de ducto biliar. Presença de forma parasitária compatível com trematódeos. Foto de tecido hepático em microscopia de luz, HE.

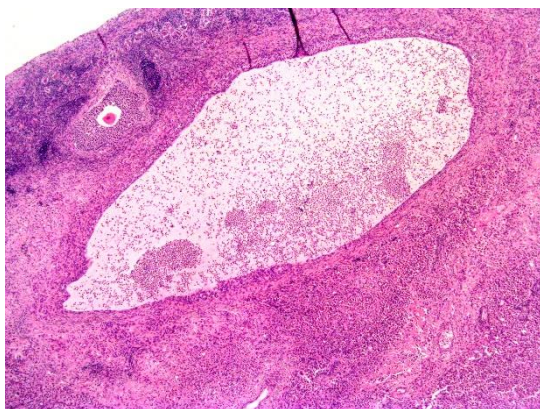


Figura 19. Cisto ovariano. Formação ovalada em região córtico medular contendo debris celulares em seu interior e, circundada por células estromais, 50x, HE.

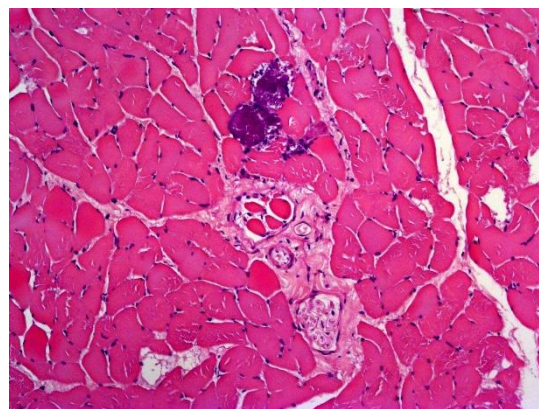


Figura 20. Cistos intracitoplasmáticos em miócitos contendo material basofílico e amorfo, 100x, HE.

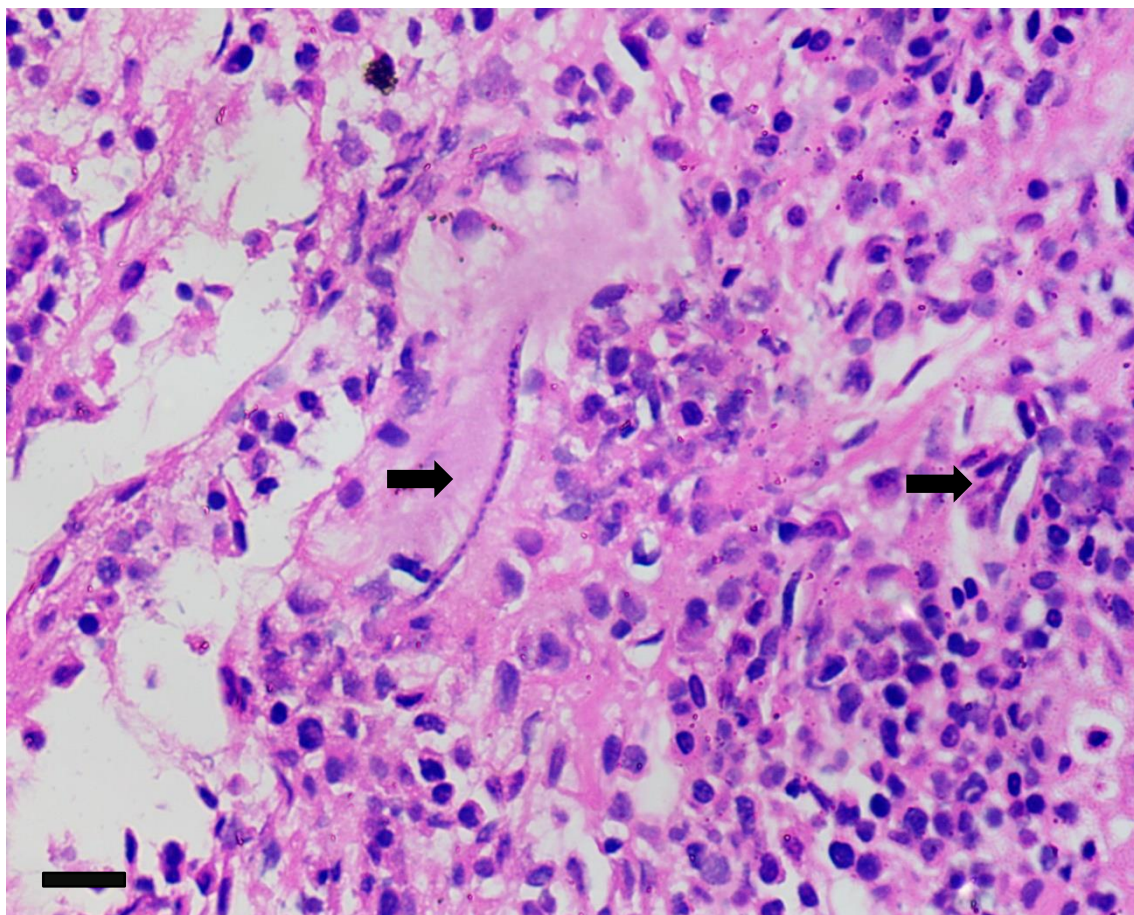


Figura 21. Microfilárias em medula óssea (setas), ID: 1, *Sapajus apella*, HE, Barra de Escala: 10µm.

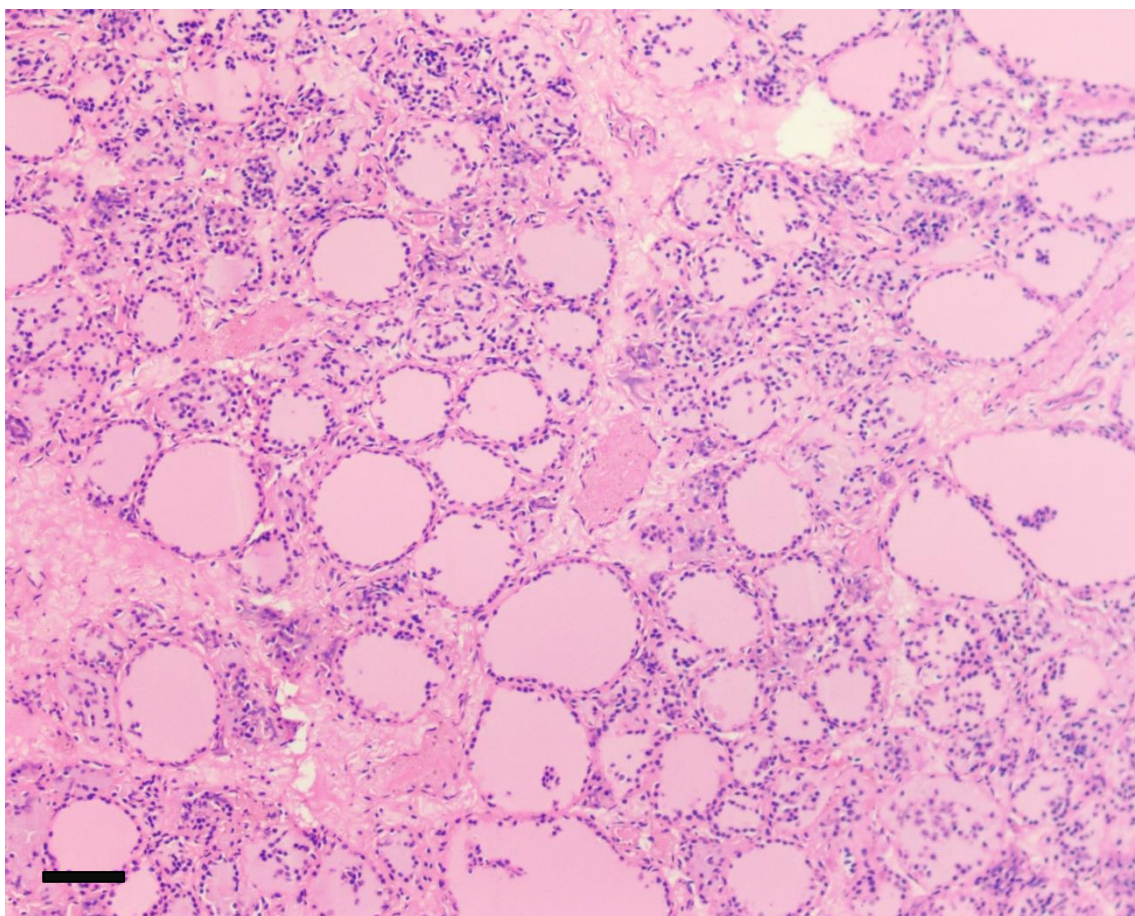


Figura 22. Heterogeneidade de folículos em tireóide, ID: 2, *Sapajus apella*, HE, Barra de Escala: 40 μ m.

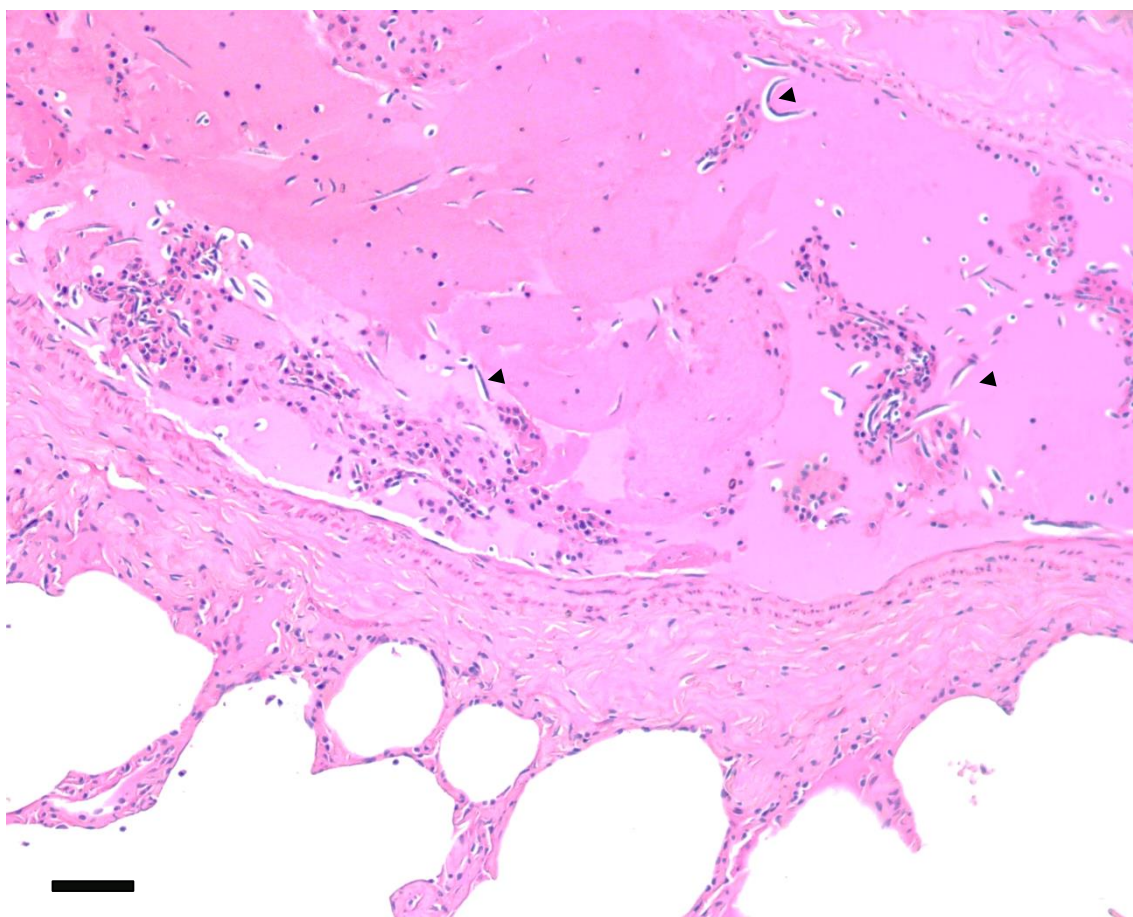


Figura 23. Tromboembolismo arterial associado a presença de microfilárias (setas), pulmão, ID: 1, *Sapajus apella*, HE, Barra de Escala: 40µm.

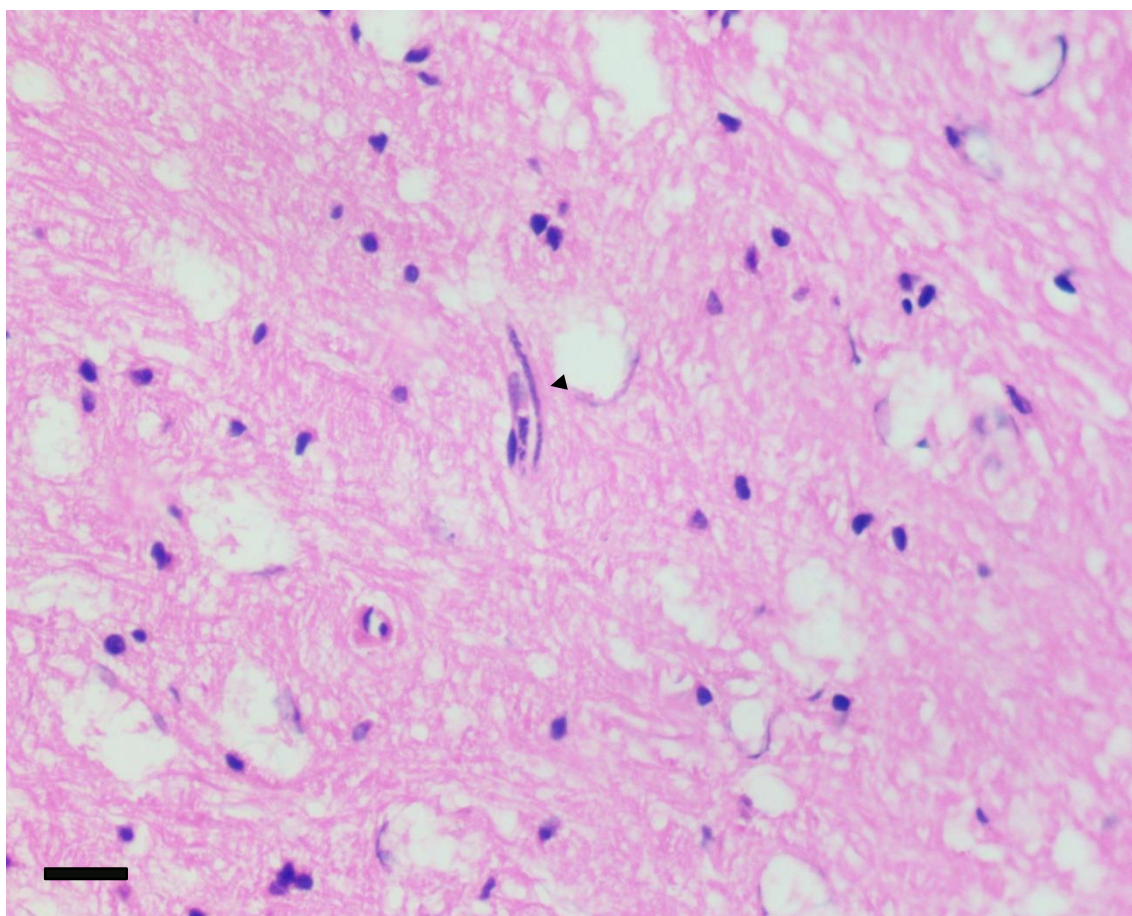


Figura 24. Microfilárias (seta) em neuroparênquima (córtex), ID: 3, *Mico emiliae*, HE, Barra de Escala: 10µm.

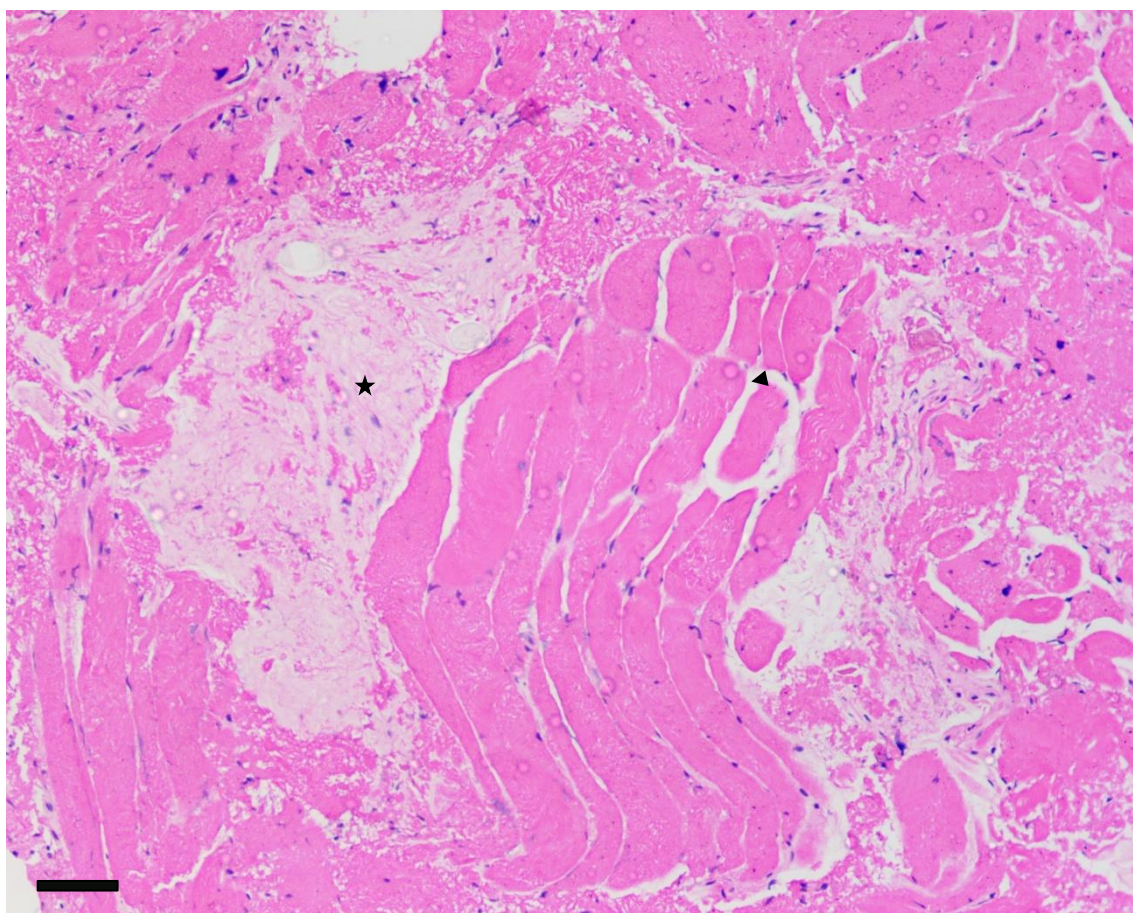


Figura 25. Degeneração e necrose de musculatura estriada esquelética. Heterogeneidade e aspecto floculado de citoplasma, descontinuidade de filamentos e ruptura de miofibras (seta), área de reparação tecidual por cicatrização (estrela), ID: 1, *Sapajus apella*, HE, Barra de Escala: 40µm.

Bromuconazol é um fungicida da classe dos triazóis, amplamente utilizado na agricultura por seu baixo custo e alta eficiência contra diversos fungos (Price et al. 2015). Em estudo recente, foi demonstrado que os resíduos dos fungicidas triazólicos são metabolizados no fígado e que, às vezes, podem causar reações hepatocelulares agudas, colestáticas ou mistas, induzindo danos crônicos ao fígado (Seeger et al. 2019). Resíduos de bromuconazol foram detectados no meio ambiente e na cadeia alimentar, com indícios de risco à saúde de animais e humanos (Kukowski et al. 2017). Ensaios em ratos demonstraram hepatotoxicidade em nível histológico, incluindo hipertrofia e degeneração vacuolar, em nível metabolômico e transcriptômico, além de aumentar a atividade sérica de AST, ALT, ALP, LDH e os níveis de bilirrubina (Abdelhadya et al. 2017, Wu et al. 2021). di Renzo et al. (2011) indicam ainda efeitos teratogênicos em anfíbios e roedores.

A avaliação histopatológica revelou que o animal positivo para a presença de bromuconazol (ID:9, *Sapajus apella*) também apresentou colestase difusa acentuada no fígado. Apesar do achado coincidente, é importante destacar que nosso estudo detectou uma concentração aproximada (CA) de 0,99 ng/g, enquanto Wu et al. (2021) utilizaram a dose mínima de 13,8 mg/kg do ingrediente puro, administrado via oral, por dez dias aos roedores, obtendo lesões similares. Desta forma, não foi possível confirmar que as lesões hepáticas observadas no animal foram decorrentes da presença de bromuconazol, sendo que estudos complementares são necessários.

Atualmente, vários produtos químicos são suspeitos de atuar como potenciais desreguladores da tireóide, dentre eles o fipronil, a mesotriona e seus metabólitos. Carles et al. (2017) advogam que a mesotriona não apresenta riscos significativos para o homem e outros organismos não-alvo ou para o meio ambiente, quando utilizada conforme instruções do fabricante. Segundos os autores, o fungicida pode ser degradado em uma ampla faixa de valores de pH (5,0-8,0) e temperaturas (25-35°C), especialmente em baixas concentrações (5 a 20mg/kg). Felisbino et al. (2018) também sinalizam que a mesotriona aplicada isoladamente (1,8 a 460µg/L) não apresenta morte celular ou genotoxicidade, mas quando em combinação com atrazina parece atuar como co-mutagênica.

No entanto, além de termos evidenciado mesotriona em três indivíduos e o composto ser listado na categoria III de periculosidade ambiental, (Ni et al. 2014) demonstraram que o composto reduz a capacidade fotossintética de algas, aumenta transitoriamente a tirosina plasmática (Carles et al. 2018) e seus produtos de degradação apresentaram maior toxicidade do que as moléculas parentais em estudos *in vitro* (Bonnet et al. 2008).

A predição da toxicidade da mistura química é uma grande preocupação em relação à mistura não intencional de pesticidas de terras agrícolas tratadas com vários desses compostos (Carles et al. 2018). A preocupação é válida também para o fipronil, que possui como metabólito primário o fipronil-sulfona e que tem potencial de bioacumulação em tecido adiposo, cerebral, fígado, ultrapassa placenta, alcança o leite materno e resultou efeitos neurotóxicos em roedores (Bharathraj et al. 2015; Bharatiya et al. 2020). Demir et al. (2021) relataram intoxicação aguda em *Saimiri sciureus* em cativeiro, (Leghait et al. 2010) apontaram disrupção tireoidiana, (Lu et al. 2015) apontaram o fipronil-sulfona com atividade antitireoidiana (*in vitro*), ação antagonista nos receptores de estrogênio. Também foi observado aumento da atividade sérica das enzimas hepáticas (ALT, AST, ALP), comprometimento da veia porta, hipertrofia de hepatócitos em ratos alimentados por sonda em dose média a alta (12,12 – 32,33 mg/kg) (Karthek & David 2018). O grupo de ratos que recebeu a dose mais baixa de fipronil (6,4mg/kg) por 90 dias, porém, apresentou resposta ambígua, sugerindo toxicidade no padrão dose-dependente.

O animal ID: 5 (*Chiropotes albinasus*) que revelou maior concentração de fipronil (3,62ng/g) na musculatura esquelética e o indivíduo ID: 2 (*Sapajus apella*) que exibiu maior presença no fígado apresentaram degeneração e necrose de miofibras, áreas de fibrose hepática, hepatite, colangite mista, heterogeneidade marcante de folículos tireoidianos, apresentando áreas com perda do conteúdo colóide, com estruturas foliculares preenchidas por células principais desorganizadas. Ainda que seja difícil delimitar o quanto essas alterações se devam à autólise ou a disrupturas endócrinas como fatores causais, é válido supor que possa haver alguma relação, sugerindo a realização de trabalhos complementares.

Há uma preocupação crescente com a segurança ecológica e os riscos potenciais à saúde causados por pesticidas comumente presentes no meio

ambiente (Karthek & David 2018). Os dados fornecidos aqui sugeriram que é de grande importância compreender o significado da presença de pesticida, especialmente aqueles com persistência no meio ambiente e alta toxicidade para organismos não-alvo. As perspectivas futuras devem concentrar estudos em pesticidas quando aplicados em misturas no campo e na detecção, quantificação e avaliação de risco de seus produtos de transformação, a fim de excluir quaisquer efeitos sinérgicos toxicológicos (Wu et al. 2021).

Modelos preditivos mostram que as mudanças climáticas tendem a afetar e modificar a aptidão ambiental das regiões atuais cultivo de soja no Brasil e, portanto, contraindicam a abertura de novas áreas; o que sabidamente aumentaria a degradação ambiental (Caetano et al. 2018). O investimento em tecnologia agrícola para lidar com as mudanças climáticas será fundamental para a perenidade e fornecimento de alimentos à população humana (Kang et al. 2009, Grass et al. 2020), mas serão necessários modelos de desenvolvimento agrícola que considerem a biodiversidade como componente intrínseco do ecossistema, em uma abordagem “One Health” (Hannah et al. 2020).

Dados recentes mostram que animais que vivem nas proximidades de zonas agrícolas tem sua saúde afetada (Milot et al. 2015, Bro et al. 2015). Após cinco anos de investigações em que se postulava que displasias faciais em chimpanzés, tais como fendas nasolabiais, hipopigmentações, lábio leporino, narinas em fenda simples e até ausência completa de narina pudessem ter origem apenas uma origem congênita (Krief et al. 2014, 2015), hoje em dia já se correlaciona à exposição química de pesticidas. Análises químicas de caules e sementes de milho fresco, solo e sedimento de rios próximos de campos agrícolas em Uganda - área de vida do ameaçado chimpanzé (*Pan troglodytes schweinfurthii*) e do babuíno (*Papio anubis*) - revelaram níveis que excedem os limites recomendáveis de DDT, imidacloprido e clorpirifós (Krief et al. 2017). Interessantemente, as lesões dos babuínos pareciam mais destrutivas que as dos chimpanzés. Ainda que os autores reconheçam que a etiologia dessa displasia facial em ambas espécies careça melhor compreensão, que diferentes agentes causais podem levar a sintomas semelhantes, ou ainda que um conjunto de fatores possa exacerbar o outro, as áreas-controle do estudo não apresentaram quaisquer lesões durante anos.

Krief et al. (2017) é o único estudo em ambiente natural que apontou evidências correlativas aos pesticidas tireoidotóxicos, com potencial para afetar o hormônio tireoidiano (Bronchain et al. 2017), podendo estar fortemente associadas às anomalias crânio-faciais nos primatas expostos. Além da detecção dos pesticidas em si, Krief et al. (2017) apontaram que os agricultores da região desconhecem os compostos e, portanto, não estão cientes dos riscos associados à sua exposição e de suas famílias.

Assim como o estudo realizado em território africano, nossos resultados não somente levantam preocupação quanto aos resíduos nos tecidos dos primatas, bem como os potenciais achados similares em humanos (Ehrenkranz et al. 2011). Há muito se sabe que a deriva de agrotóxicos não se restringe à deposição dos compostos na superfície de contato mais próxima, mas sim, que são carregados pelas correntes de ar atmosférico, infiltrando no solo e lençol freático ou mesmo seguindo o caminho das águas rio abaixo, navegando grandes distâncias (Laabs et al. 2002; Unsworth et al. 1999; Wang et al. 2019).

Hayes & Hansen (2017) afirmam que provavelmente não há habitat ou localização geográfica totalmente livre da exposição a pesticidas. A população envolvida nas atividades de manuseio, pulverização e descarte nem sempre tem conhecimento dos riscos à sua saúde, tampouco recebem instrução adequada ou estão submetidas à fiscalização criteriosa (Pignati et al. 2007, 2014, Rigotto et al. 2014). Recomenda-se, portanto, a adoção de práticas de manejo integrado de pragas que reduzam o uso de pesticidas e fertilizantes químicos na agricultura (Silva Junior & Lima 2018).

5.5 Imunofenotipagem e Aspectos da Imunidade⁹

Durante a Fase Piloto foram testados 14 anticorpos, de quatro fabricantes diferentes, com reatividade cruzada para cães, aves, felinos, roedores, humanos

⁹Em decorrência das restrições e dificuldades para importação e obtenção de insumos e para a utilização dos equipamentos e laboratórios, impostas pela COVID-19, não foi possível concluir todos os ensaios com as amostras da Fase de campo originalmente planejados.

e PNH do Velho e Novo Mundo. A seleção baseou-se na reatividade de pelo menos duas espécies distintas de PNH, ainda que fossem do Velho Mundo, tais como chimpanzés e rhesus. Nessa etapa, os clones destinados à marcação de células CD14⁺ e CD16⁺ foram os que apresentaram melhor qualidade de sinal e se ligaram à maioria das espécies, e ainda, CD3 PE Cy5 apresentou melhor qualidade de sinal para *Alouatta caraya*, *Mico emiliae*, *Ateles chamek* e *marginatus*, além das espécies de sauá (*Plecturocebus vieirai* e *grovesi*) (Tabela 17).

A Figura 26 demonstra graficamente boa distribuição das populações celulares e marcação intensa em um ensaio (ensaio 23) com anti-CD3 PE Cy5, seguindo a metodologia proposta por (Caldwell et al. 2016), com leitura sendo realizada imediatamente após a lise. Este ensaio confirmou ainda a expectativa de não-marcação do controle negativo para o anticorpo secundário (1:500), mantendo uma boa celularidade, mesmo adotando o método de lise/ lavagem/ leitura. Os ensaios desenvolvidos nessa etapa da pesquisa foram fundamentais para titulação dos anticorpos primários, secundários, a verificação da fluorescência média, bem como o estabelecimento do anticorpo anti-CD3 PE Cy5 como controle positivo.

Tabela 17. Ensaio nº 26: Distribuição da reatividade de 10 anticorpos e a respectiva intensidade de marcação, e 7 espécies de PNH avaliadas.

Anticorpos	<i>Ateles marginatus</i>	<i>Ateles chamek</i>	<i>Alouatta seniculus</i>	<i>Sapajus nigritus</i>	<i>Mico emiliae</i>	<i>Plecturocebus vieirai</i>	<i>Chiropotes utahickae</i>
Controle (-)	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
CD3 FITC chicken	+++	-	+++	-	-	-	-
CD3 Pe mouse	+++	-	+++	+	-	+++	+
CD3 Pe Cy5 mouse	+++	-	+++	-	+++	+++	+++
CD4 FITC cat	+++	-	+	+	-	-	-
CD4 APC dog	-	-	-	+	+	-	-
CD3 FITC/CD4 Pe dog	-	-	+++	-	-	-	-
CD3/CD4/CD8 dog	-	-	+++	-	+	-	+
CD45 APC human	-	-	-	-	-	-	-
CD14 APC human	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CD16 Pe human	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Legenda: “OK”: Controle negativo com boa distribuição celular, populações bem definidas; “+++”: marcação forte, distinguível; “+”: marcação fraca; “-”: sem marcação.

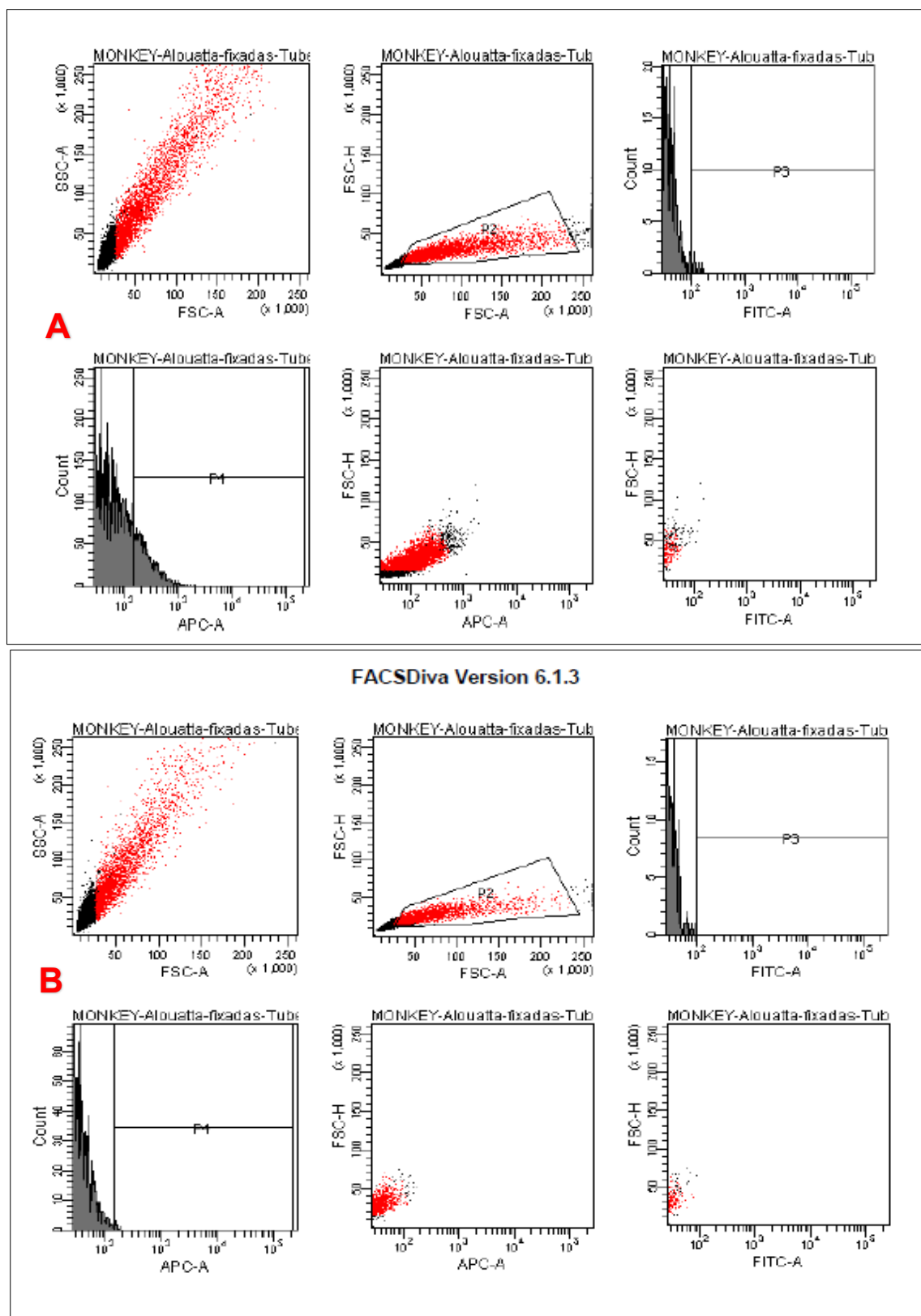


Figura 26. Ensaio 23: A. Populações de células CD3+ de *Alouatta clamitans* marcadas pelo anticorpo anti-CD3 PeCy5, indicadas pelo canal APC; lise seguida de leitura. FACSaria II. B. Controle de anticorpo secundário (Alexa Fluor® 488) para populações celulares de *Alouatta clamitans*, sem fluorescência em todos os canais FACSaria II.

Até então, os testes haviam sido realizados apenas com amostras de sangue de PNH congêneres mantidos sob cuidados humanos em cativeiro, provenientes do Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros”. Ao finalizar as atividades em campo no estado do Mato Grosso, foram realizados ensaios com amostras das espécies-alvo de vida livre; desta vez, verificando se os anticorpos sintetizados sob encomenda foram efetivos na imunomarcação.

Com os anticorpos sintetizados disponíveis, o primeiro passo foi testar se as populações celulares CD4+, CD8+ e CD45+ das diferentes espécies seriam efetivamente identificadas. Uma vez que os anticorpos primários foram sintetizados sem o fluoróforo acoplado, foram realizados ensaios para a titulação de modo compatível com um anticorpo secundário. A Figura 30 resume os achados do experimento com amostra de *Alouatta seniculus* para testagem dos novos anticorpos.

A Figura 27 A, B e C evidencia por meio de gráficos do tipo dot-plot e histograma, a quantidade e distribuição das populações celulares da espécie de bugio. O *gate* poligonal delimitado na Figura 27 A projeta a fluorescência basal nos detectores FL1 e FL3 (B e C). O gráfico D corresponde ao tubo com anticorpo anti-CD8 (1:200) que demonstrou fraca marcação e excitação do fluoróforo FITC pelo canal FL1. Este resultado vem sendo confrontado com outras diluições de anticorpo primário e secundário para uma marcação satisfatória. A Figura 27 E sinaliza claramente uma marcação forte do anticorpo anti-CD45 (FITC) em 43,3% da população desejada, na diluição de 1:25; que parece até o momento ser a concentração ideal. E por fim, o gráfico F evidencia a marcação forte do anticorpo anti-CD3 (PeCy5) pelo canal FL3, de 59.6% da população delimitada.

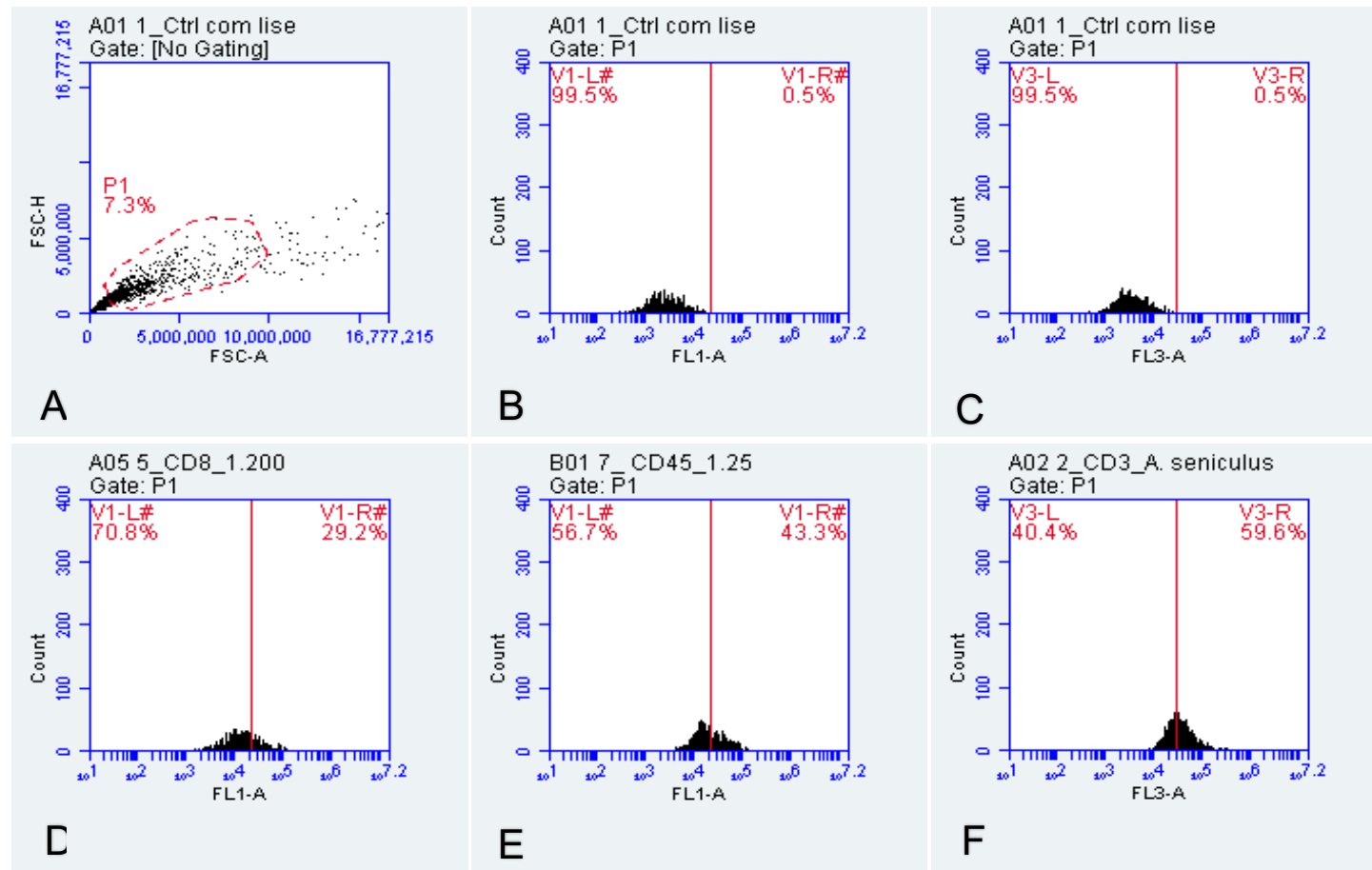


Figura 27. Ensaio 35. A, B e C. Controle negativo com lise, alta celularidade e população não marcada; D. Marcação discreta de anti-CD8 (1:200) (FITC, FL1); E. Marcação de 43.3% de células CD45+ (FITC, FL1); F. Marcação de 59.6% de população CD3+, detector FL3 (PeCy5).

Há décadas, a reatividade cruzada entre anticorpos poli e monoclonais destinados à imunomarcção de subpopulações celulares humanas vem sendo testada em primatas não-humanos (Kung et al. 1979; Nooij et al. 1986; Ahmed-Ansari et al. 1989; Geluk et al. 1993; Uda et al. 2001). Dentre muitas aplicações, a definição desses subconjuntos celulares nas diferentes espécies tem papel fundamental para compreensão da cinética de ativação imune em situação fisiológica, após vacinação ou durante processos patológicos (Guerrero et al. 2003; Yoshida et al. 2010; Carneiro et al. 2011; Weiss & Jiang 2012).

Existe uma vasta literatura sobre procedimentos de validação e parâmetros para ensaios de imunofenotipagem de sangue periférico com amostras humanas (Comans-Bitter et al. 1997; Benesch et al. 2004; Cassens et al. 2004; Schuh et al. 2016). Primatas do Velho Mundo são frequentemente utilizados em testes toxicológicos para agentes farmacêuticos (Bleavins et al. 1993; Baker et al. 2008; Krejsa et al. 2013), estudos fenotípicos e funcionais (Ellingsworth et al. 1983; Gust et al. 1992; Reimann et al. 1994; Kwissa et al. 2012), monitoramento de doenças (Sullivan et al. 2003; Leonard et al. 2010; Riccio et al. 2015), em especial a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (Sell 1989; Mattapallil et al. 2005; Wille-Reece et al. 2005; Beaumier et al. 2009). Talvez em razão da grande diversidade de espécies, a reduzida quantidade de centros de primatologia e menor investimento latino-americano em pesquisas biomédicas, os primatas do neotrópico registram um número bastante inferior de estudos similares (Bontrop 2001).

Dentre as espécies neotropicais mais estudadas, destacam-se os primatas do gênero *Saimiri* e *Aotus*, recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como modelos experimentais para estudo da malária humana, já que podem ser infectados com o mesmo *Plasmodium* causador da doença em humanos (Riccio et al. 2015). (Contamin et al. 2005) definiram subconjuntos de monócitos (CD14+), células T (CD3+) e B (CD20+), as subpopulações CD4+ e CD8+ para *Saimiri sciureus*, com uma revelação adicional de que CD16+ não foi expressa apenas na superfície de monócitos (Groux et al. 1990), mas também na superfície da maioria dos linfócitos circulantes (cerca de 80%).

De Souza et al. (2017) identificaram um anticorpo monoclonal anti-humano capaz de detectar SIRP α (proteína reguladora de sinal) presente em leucócitos de *Saimiri sciureus*, o que pode facilitar o estudo do papel

imunomodulador da SIRP α quando a espécie for usada como modelo. (Carville et al. 2013) realizando imunoensaios com *Callithrix jacchus*, *Saimiri sciureus* e *Saguinus oedipus* revelaram que células *natural killers* (NK) das três espécies, apresentam um perfil fenotípico distinto dos humanos e primatas do Velho Mundo. Curiosamente, as células NK CD56 + eram principalmente células secretoras de citocinas, enquanto as células NK CD56 - CD16 + expressavam níveis significativamente maiores de perforina intracelular, sugerindo que essas células podem ter maior potencial de citotoxicidade. Células NK das espécies neotropicais também expressaram pouco ou nenhum CD8, o que foi bastante inesperado, por ser um marcador frequentemente utilizado como delineador da linhagem, em chimpanzés. Nas três espécies neotropicais ainda, as populações de células NK representaram apenas 5% das células mononucleares circulantes, contrastando com humanos e primatas do Velho Mundo, em que as frequências geralmente até 40% dos linfócitos (Caligiuri 2008; Reeves et al. 2011).

No contexto da imunotoxicologia, os estudos se concentram em condições laboratoriais padronizadas, onde colônias de primatas não-humanos (coortes) possuem origem, idade, sexo, histórico clínico conhecidas, geralmente pertencentes à mesma espécie (Hendrickx et al. 2002), com administração de um único componente, e por vezes, utilizando o mesmo animal como seu próprio controle (Krejsa et al. 2013); assegurando assim, maior poder estatístico para detectar efeito do tratamento. Não se tem conhecimento de nenhum estudo com primatas não-humanos que se proponha a analisar a modulação e os efeitos imunotóxicos sob condições reais de exposição a pesticidas.

A não detecção de resíduos de pesticidas no plasma dos PNH deste estudo não deve ser compreendida como ausência de influência ou de efeitos sob o sistema imune dos indivíduos. A renovação, ativação e diferenciação de células imunocompetentes necessárias para manter a imunocompetência estão sob o controle de muitos mecanismos compensatórios e a interrupção de um parâmetro pode não alterar necessariamente a função imunológica (Galloway & Handy 2003). Por outro lado, como não se sabe se existe um determinado nível de imunossupressão que pode ser universalmente tolerado, qualquer supressão consistente de uma função imune mensurável pode representar um risco potencial para o organismo (Selgrade 1999).

O perfil imunofenotípico da população residente deve ser analisado sob o contexto do ecoespaço antigênico local (Capri et al. 2014). Os desafios antigênicos a que os primatas estão expostos ao longo da vida, desde patógenos, poluentes, contaminantes, estímulos inflamatórios, a imunossenescência e os esforços para sobreviver em um ambiente perturbado, compõem sua “biografia imunológica” e traduzem o que atualmente possa representar seu status de “imunossuficiência” (Viney et al. 2005).

A natureza de uma resposta imune ótima dependerá de circunstâncias específicas e do estado de infecção do indivíduo, em vez de respostas genéricas (Viney & Riley 2014). O quanto os indivíduos são capazes de otimizar o gasto energético para manter uma resposta imune eficaz, em detrimento de outras demandas fisiológicas e recursos limitantes, ainda precisam maiores esclarecimentos (Graham et al. 2010). Embora a complexidade ambiental aumente o ruído experimental (Flies & Consortium 2020), tal abordagem eco-imunológica geralmente exhibe um imunofenótipo mais maduro e “experiente” com antígeno do que animais em laboratório (Flies et al. 2015), proporcionando uma visão mais realista do desenvolvimento e regulação do sistema imunológico (Abolins et al. 2017).

Conclusões e Considerações Finais

6 CONCLUSÕES

A população de primatas residentes às margens do rio Teles Pires, Mato Grosso, persistentemente exposta a agrotóxicos foi caracterizada clinicamente e não revelou sinais clínicos que pudessem ser diretamente relacionados aos contaminantes ambientais.

Resíduos de mesotriona, bromuconazol e fipronil foram detectados e quantificados em fígado e musculatura esquelética dos animais encontrados mortos. No plasma dos animais vivos não foi possível detectar nenhum ingrediente ativo ou metabólito circulante, talvez por efeito da matriz ou em razão do tempo de armazenamento prévio ao processamento.

Parâmetros hematológicos e bioquímicos apresentaram discretas distinções entre sexo, idade e estações do ano e muito similares a estudos com espécies congêneres. Hemoparasitas do gênero *Plasmodium*, *Trypanosoma* e filarídeos foram encontrados ao esfregaço sanguíneo, mas sem alterações hematológicas significantes. Em nível histopatológico, os animais com resíduos de fipronil, bromuconazol e mesotriona apresentaram lesões principalmente em fígado e tireóide compatíveis com o exame toxicológico, mas devido ao grau de autólise dos cadáveres não foi possível obter uma associação direta com a exposição.

A imunofenotipagem e caracterização de aspectos da imunidade celular não foi concluída em tempo hábil, mas tem boas perspectivas diante do estabelecimento do protocolo de imunomarcagem por meio da citometria de fluxo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização clínico-patológica das populações de primatas expostos a agrotóxicos na região do norte mato-grossense trouxe mais evidência a uma ameaça atualmente desconhecida. Ainda que alguns achados não configurem forte associação causa-efeito, a exposição, a bioacumulação e a persistência de alguns pesticidas em tecidos biológicos parece incontestável.

Diante da imensa quantidade de ingredientes ativos pulverizada anualmente na região de estudo, a proximidade com que os primatas residem e utilizam os diferentes elementos da paisagem, seja para alimentação, abrigo ou deslocamento e nossos achados toxicopatológicos, todos estes elementos combinados nos mostram o quão incipiente ainda se encontra nosso conhecimento acerca da toxicocinética dos pesticidas.

Espécies de primatas sob diferentes status de ameaça, podem ter capacidades distintas de metabolizar, biotransformar, excretar ou até repassar aos seus descendentes, afetando ainda mais a sobrevivência das populações. Setorizar a amostragem, ajustar a colheita de amostras ao calendário de pulverizações, explorar novas matrizes e/ou focar em uma única espécie são estratégias que podem auxiliar na determinação mais clara dos efeitos agudos e crônicos de cada processo. A criação de um banco sistematizado de tecidos biológicos dos primatas pode ser um ponto de partida.

Não se pode ignorar os aspectos socio-culturais e econômicos da região, onde estudos dessa natureza podem ser veementemente hostilizados, dificultados ou representar riscos. Há de se ter cautela ao abordar um tema que envolve e contrapõe saúde pública e interesses econômicos, mas que precisa ser ponderado com vistas ao estabelecimento de políticas públicas. A integração de políticas públicas, de estratégias de manejo e educação ambiental necessitam estar intimamente vinculadas ao conceito mais amplo de Conservação.

Fomento

8 FOMENTO

Este projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio de Bolsa de Estudos e Reserva Técnica do Processo nº 2017/26694-0.

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

REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

- ABDELHADYA, D. H., EL-MAGD, M. A., ELBIALY, Z. I. & SALEH, A. A. 2017. Bromuconazole-induced hepatotoxicity is accompanied by upregulation of PXR/CYP3A1 and downregulation of CAR/CYP2B1 gene expression. *Toxicology Mechanisms and Methods* 27:544–550. Taylor and Francis Ltd.
- ABOLINS, S., KING, E. C., LAZAROU, L., WELDON, L., HUGHES, L., DRESCHER, P., RAYNES, J. G., HAFALLA, J. C. R., VINEY, M. E. & RILE, E. M. 2017. The comparative immunology of wild and laboratory mice, *Mus musculus domesticus*. *Nature Communications* 8. Nature Publishing Group.
- AGOSTINI, I., HOLZMANN, I. & DI BITETTI, M. S. 2010. Are howler monkey species ecologically equivalent? trophic niche overlap in syntopic *Alouatta guariba clamitans* and *Alouatta caraya*. *American Journal of Primatology* 72:173–186.
- AHMED-ANSARI, A., BRODIE, A. R., FULTZ, P. N., ANDERSON, D. C., SELL, K. W. & MCCLURE, H. M. 1989. Flow microfluorometric analysis of peripheral blood mononuclear cells from nonhuman primates: Correlation of phenotype with immune function. *American Journal of Primatology* 17:107–131.
- ALBERTELLI, M. A. 2020. Other Small New World Monkeys. *Exotic Animal Laboratory Diagnosis*:241–254.
- ALEXANDER, P., PRESTELE, R., VERBURG, P. H., ARNETH, A., BARANZELLI, C., BATISTAE SILVA, F., BROWN, C., BUTLER, A., CALVIN, K., DENDONCKER, N., DOELMAN, J. C., DUNFORD, R., ENGSTRÖM, K., EITELBERG, D., FUJIMORI, S., HARRISON, P. A., HASEGAWA, T., HAVLIK, P., HOLZHAUER, S., HUMPENÖDER, F., JACOBS-CRISIONI, C., JAIN, A. K., KRISZTIN, T., KYLE, P., LAVALLE, C., LENTON, T., LIU, J., MEIYAPPAN, P., POPP, A., POWELL, T., SANDS, R. D., SCHALDACH, R., STEHFEST, E., STEINBUKS, J., TABEAU, A., VAN MEIJL, H., WISE, M. A. & ROUNSEVELL, M. D. A. 2017. Assessing uncertainties in land cover projections. *Global Change Biology* 23:767–781. Blackwell Publishing Ltd.
- ALLEN, J. M., REED, D. L., PEROTTI, M. A. & BRAIG, H. R. 2007. Evolutionary relationships of “*Candidatus riesia* spp.,” endosymbiotic Enterobacteriaceae living within hematophagous primate lice. *Applied and Environmental Microbiology* 73:1659–1664.
- ALMEIDA-ROCHA, J. M. DE, PERES, C. A. & OLIVEIRA, L. C. 2017. Primate responses to anthropogenic habitat disturbance: A pantropical meta-analysis. *Biological Conservation* 215:30–38. Elsevier Ltd.
- ALMOSNY, N. R. P. 2009. Patologia Clínica em Primatas. Pp. 69–88 in Kindlovits, A.; Kindlovits, L. M. (ed.). *Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais* (1st edition). L.F Livros, Rio de Janeiro.
- ANVISA, A. N. DE V. S. 2014. PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS (PARA). Pp. 1–33 in Gerência-Geral de Toxicologia (ed.). *PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS (PARA) - RELATÓRIO COMPLEMENTAR RELATIVO À SEGUNDA ETAPA DAS ANÁLISES DE AMOSTRAS COLETADAS EM 2012*. ANVISA, Brasília.

- APREA, C., COLOSIO, C., MAMMONE, T., MINOIA, C. & MARONI, M. 2002. Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods. P. *Journal of Chromatography B*. 191–219 pp.
- BAKER, D. L., FINCO-KENT, D. L., REAGAN, W. J., CONKLYN, M. J. & KAWABATA, T. T. 2008. Optimization and validation of a flow cytometric method for immunophenotyping peripheral blood lymphocytes from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Veterinary Clinical Pathology* 37:42–48.
- BEAUMIER, C. M., HARRIS, L. D., GOLDSTEIN, S., KLATT, N. R., WHITTED, S., MCGINTY, J., APETREI, C., PANDREA, I., HIRSCH, V. M. & BRENCHLEY, J. M. 2009. CD4 downregulation by memory CD4⁺ T cells in vivo renders African green monkeys resistant to progressive SIVagm infection. *Nature Medicine* 15:879–885. Nature Publishing Group.
- BELAND, M. F., BRONSON, R. T., MA, N. S. F., MCINTYRE, K. W., SEHGAL, P. K. & KEADLE, T. L. 1981. Karyotypic variation in susceptibility to hemolytic anemia and idiopathic eosinophilia of owl monkeys, *Aotus trivirgatus*. *Primates* 22:551–556.
- BELO, M. S. S. P.; PIGNATI, W.; DORES, E. F. G. C.; MOREIRA, J. C.; PERES, F. 2012. Uso de Agrotóxicos na produção de soja do Mato Grosso: um estudo preliminar de riscos ocupacionais e ambientais. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional* 37:78–88.
- BENEDETTI, A. L. 2003. Avaliação dos efeitos do agrotóxico glifosato sobre a saúde: estudos em modelo animal. 127f pp.
- BENESCH, M., DEEG, H. J., WELLS, D. & LOKEN, M. 2004. Flow cytometry for diagnosis and assessment of prognosis in patients with myelodysplastic syndromes. *Hematology* 9:171–177.
- VAN DER BERG, F., KUBIAK, R., BNEJEY, W., MAJEWSKI, M., YATES, S., REEVES, G., SMELT, J. & VAN DER LINDEN, A. 1999. Emission of Pesticides Into the Air. *Water, Air and Soil Pollution* 115:195–218.
- BHARATHRAJ, M. Y., VENUGOPAL, K., JALIGIDAD, K., KARIBASAPPA, H. & KUMAR, H. 2015. Fipronil compound consumption presenting as status epilepticus. *Toxicology International* 22:165–166. Medknow Publications.
- BHARATIYA, R., CHAGRAOUI, A., DE DEURWAERDERE, S., ARGIOLAS, A., MELIS, M. R., SANNA, F. & DE DEURWAERDERE, P. 2020. Chronic administration of fipronil heterogeneously alters the neurochemistry of monoaminergic systems in the rat brain. *International Journal of Molecular Sciences* 21:1–26. MDPI AG.
- BIO/DYNAMICS, INC. 1994. A chronic feeding study of glyphosate in mice. East Millstone. 177p pp.
- BLEAVINS, M. R., BROTT, D. A., ALVEY, J. D. & DE LA IGLESIA, F. A. 1993. Flow cytometric characterization of lymphocyte subpopulations in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 37:1–13.
- BOMBARDI, L. M. 2017. *Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil*.
- BONNET, J. L., BONNEMOY, F., DUSSER, M. & BOHATIER, J. 2008. Toxicity assessment of the herbicides sulcotrione and mesotrione toward two reference environmental microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and *Vibrio fischeri*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55:576–583.
- BONTROP, R. E. 2001. Non-human primates: Essential partners in biomedical research. *Immunological Reviews* 183:5–9.

- BOTELHO, R.G.; CURY, J.P.; TORNISIELO, V.L.; SANTOS, J. B. 2012. Herbicides and the Aquatic Environment. Pp. 149- in Hasaneen, M. N. (ed.). *Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds*. Environment. Pp. 149- in Hasaneen, M. N. (ed.). *Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds*.
- BOUBLI, J. P., BYRNE, H., DA SILVA, M. N. F., SILVA-JÚNIOR, J., COSTA ARAÚJO, R., BERTUOL, F., GONÇALVES, J., DE MELO, F. R., RYLANDS, A. B., MITTERMEIER, R. A., SILVA, F. E., NASH, S. D., CANALE, G., ALENCAR, R. DE M., ROSSI, R. V., CARNEIRO, J., SAMPAIO, I., FARIAS, I. P., SCHNEIDER, H. & HRBEK, T. 2019. On a new species of titi monkey (Primates: Plecturocebus Byme et al., 2016), from Alta Floresta, southern Amazon, Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 132:117–137. Elsevier.
- BRO, E., MILLOT, F., DECORS, A. & DEVILLERS, J. 2015. Quantification of potential exposure of gray partridge (*Perdix perdix*) to pesticide active substances in farmlands. *Science of the Total Environment* 521–522:315–325. Elsevier B.V.
- BRONCHAIN, O. J., CHESNEAU, A., MONSORO-BURQ, A. H., JOLIVET, P., PAILLARD, E., SCANLAN, T. S., DEMENEIX, B. A., SACHS, L. M. & POLLET, N. 2017. Implication of thyroid hormone signaling in neural crest cells migration: Evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies. *Molecular and Cellular Endocrinology* 439:233–246. Elsevier Ireland Ltd.
- CAETANO, J. M., TESSAROLO, G., DE OLIVEIRA, G., DA SILVA E SOUZA, K., FELIZOLA DINIZ-FILHO, J. A. & NABOUT, J. C. 2018. Geographical patterns in climate and agricultural technology drive soybean productivity in Brazil. *PLoS ONE* 13. Public Library of Science.
- CALDWELL, R. G., MARSHALL, P. & FISHEL, J. 2016. Method validation and reference range values for a peripheral blood immunophenotyping assay in non-human primates. *Journal of Immunotoxicology* 13:64–76.
- CALIGIURI, M. A. 2008. Human natural killer cells.
- CAMPBELL, T. W. 1991. Hematology of Exotic Animals. *The Compendium Collection* 6:950–956.
- CAMPBELL, T. W. 2007. Bioquímica Clínica de Mamíferos: Animais de Laboratório e Espécies Variadas. Pp. 433–477 in THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DeNICOLLA, D.; FETTMAN, N. J.; LASSEN, D. E.; REBAR, A.; WEISER, G. (ed.). *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária* (1st edition). ROCA, São Paulo.
- CAMPBELL, T. W. 2012. Chemical Chemistry of Mammals: Laboratory Animals and Miscellaneous Species. Pp. 571–581 in Mary Anna Thrall, Glade Weiser, Robin Allison, T. C. (ed.). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (2nd edition). John Wiley & Sons, Inc., Ames.
- CAPMOURTERES, V., ADAMS, J., BERG, A., FRASER, E., SWANTON, C. & ANAND, M. 2018. Precision conservation meets precision agriculture: A case study from southern Ontario. *Agricultural Systems* 167:176–185. Elsevier Ltd.
- CAPRI, M., SALVIOLI, S., MONTI, D., BUCCI, L., GARAGNANI, P., OTTAVIANI, E. & FRANCESCHI, C. 2014. The New Antigenic Ecospace of the Globalized World and its Impact on the Immune System: The Battleground of Trade-off and Antagonistic Pleiotropy. Pp. 125–145 in Malagoli, D. & Ottaviani, E. (eds.). *Eco-Immunology, Evolutionary Aspects and Future Perspectives* (1st edition). Springer, London.
- CARLES, L., JOLY, M., BONNEMOY, F., LEREMBOURE, M., DONNADIEU, F., BATISSON, I. & BESSE-HOGGAN, P. 2018. Biodegradation and toxicity of a maize herbicide mixture: mesotrione, nicosulfuron and S-metolachlor. *Journal of Hazardous Materials* 354:42–53. Elsevier B.V.

- CARLES, L., JOLY, M. & JOLY, P. 2017, September 1. Mesotrione Herbicide: Efficiency, Effects, and Fate in the Environment after 15 Years of Agricultural Use. Wiley-VCH Verlag.
- CARNEIRO, L. A., SILVEIRA, F. T., CAMPOS, M. B., BRÍGIDO, M. DO C. DE O., GOMES, C. M. C., CORBETT, C. E. P. & LAURENTI, M. D. 2011. Susceptibilidade do macaco *Cebus apella* (Primata: Cebidae) à infecção experimental por leishmaniasis (*L.*) infantum chagasi. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 53:45–50.
- CARVALHO, F. P. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science and Policy* 9:685–692.
- CARVILLE, A., EVANS, T. I. & REEVES, R. K. 2013. Characterization of circulating natural killer cells in neotropical primates. *PLoS ONE* 8.
- CASSENS, U., GÖHDE, W., KULING, G., GRÖNING, A., SCHLENKE, P., LEHMAN, L. G., TRAORÉ, Y., SERVAIS, J., HENIN, Y., REICHEL, D. & GREVE, B. 2004. Simplified volumetric flow cytometry allows feasible and accurate determination of CD4 T lymphocytes in immunodeficient patients worldwide. *Antiviral Therapy* 9:395–405.
- CAULKETT, N. A. & ARMENO, J. M. 2013. Imobilização Química de Mamíferos Terrestres de Vida Livre. Pp. 884–913 *Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária* (1st edition). ROCA, São Paulo.
- CHALIFOUX, L. V., BRONSON, R. T., SEHGAL, P., BLAKE, B. J. & KING, N. W. 1981. Nephritis and hemolytic anemia in owl monkeys (*Aotus trivirgatus*). *Veterinary pathology* 18:23–37.
- CHAPMAN, C. A. & CHAPMAN, L. J. 1987. Social Responses to the Traumatic Injury of a Juvenile Spider Monkey (*Ateles geoffroyi*). P. PRIMATES. . 271–275 pp.
- CHAPMAN, C. A. & PERES, C. A. 2021. Primate conservation: Lessons learned in the last 20 years can guide future efforts. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*:evan.21920.
- CICMANEC, J. L., LOEB, W. F. & VALERIO, M. G. 1974. Lymphoma in owl monkeys (*Aotus trivirgatus*) inoculated with Herpesvirus saimiri: clinical, hematologic and pathologic findings. *Journal of Medical Primatology* 3:8–17.
- COLBORN, T., VOM SAAL, F. S. & SOTO, A. M. 1993. Developmental Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. *Environmental Health Perspectives* 101:378–383.
- COMANS-BITTER, W. M., DE GROOT, R., VAN DEN BEEMD, R., NEIJENS, H. J., HOP, W. C. J., GROENEVELD, K., HOOIJKAAS, H. & VAN DONGEN, J. J. M. 1997. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood: Reference values for lymphocyte subpopulations. *Journal of Pediatrics* 130:388–393.
- CONTAMIN, H., LOIZON, S., BOURREAU, E., MICHEL, J. C., GARRAUD, O., MERCEREAU-PUIJALON, O. & BEHR, C. 2005. Flow cytometry identification and characterization of mononuclear cell subsets in the neotropical primate *Saimiri sciureus* (squirrel monkey). *Journal of Immunological Methods* 297:61–71.
- DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D.; COELHO, R. S.; PEREIRA, J. D.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. 2003. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate- Roundup® in Wistar rats. *Toxicology Letters*:45–52.
- DELMAS, P. 1995. Biochemical markers for the assessment of bone turnover. Pp. 319–333 in Riggs BL, M. L. (ed.). *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management* (2nd edition). Lippincott-Raven, Philadelphia.

- DELUYCKER, A. M. 2012. Insect Prey Foraging Strategies in *Callicebus oenanthe* in Northern Peru. *American Journal of Primatology* 74:450–461.
- DEMIR, O., ÖZDEMİR, Ö., TOY, A. K., ARSLAN, Z. & SEVIN, S. 2021. Acute fipronil intoxication in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 68:181–184. Chartered Inst. of Building Services Engineers.
- DUTRA DE ARMAS, E., TERESA, R., MONTEIRO, R., ANTUNES, P. M., ALICE, M. & FIRME, P. 2007. DIAGNÓSTICO ESPAÇO-TEMPORAL DA OCORRÊNCIA DE HERBICIDAS NAS ÁGUAS SUPERFICIAIS E SEDIMENTOS DO RIO CORUMBATAÍ E PRINCIPAIS AFLUENTES. *Quim. Nova* 30:1119–1127.
- EHRENKRANZ, J., FUALAL, J., NDIZIHIWE, A., CLARKE, I. & ALDER, S. 2011. Neonatal age and point of CareTSH testing in the monitoring of iodine deficiency disorders: Findings from western Uganda. *Thyroid* 21:183–188.
- EIGENBROD, F., BECKMANN, M., DUNNETT, S., GRAHAM, L., HOLLAND, R. A., MEYFROIDT, P., SEPPELT, R., SONG, X. P., SPAKE, R., VÁCLAVÍK, T. & VERBURG, P. H. 2020. Identifying Agricultural Frontiers for Modeling Global Cropland Expansion. *One Earth* 3:504–514. Cell Press.
- ELLINGSWORTH, L. R., OSBURN, B. I., HAYASHI, L. G. & HOLMBERG, C. A. 1983. Characterization of Rhesus macaque peripheral blood T-Lymphocyte Subpopulations. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 4:517–532.
- ESTRADA, A. 2013. Socioeconomic Contexts of Primate Conservation: Population, Poverty, Global Economic Demands, and Sustainable Land Use. *American Journal of Primatology* 75:30–45.
- ESTRADA, A., GARBER, P. A. & CHAUDHARY, A. 2020. Current and future trends in socio-economic, demographic and governance factors affecting global primate conservation. *PeerJ* 8. PeerJ Inc.
- ESTRADA, A., GARBER, P. A., RYLANDS, A. B., ROOS, C., FERNANDEZ-DUQUE, E., FIORE, A. DI, NEKARIS, K. A., NIJMAN, V., HEYMANN, E. W., LAMBERT, J. E., ROVERO, F., BARELLI, C. & BAOGUO, L. 2017. Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. *Science Advances* 3:e1600946.
- ESTRADA, A., RABOY, B. E. & OLIVEIRA, L. C. 2012. Agroecosystems and Primate Conservation in The Tropics: A Review. *American Journal of Primatology* 74:696–711.
- ETTLIN, R. A. 2013. Toxicologic Pathology in the 21st Century. *Toxicologic Pathology* 41:689–708.
- FALCONER, K. 2002. Pesticide environmental indicators and environmental policy. *Journal of Environmental Management* 65:285–300. Elsevier BV.
- FELISBINO, K., SANTOS-FILHO, R., PIANCINI, L. D. S., CESTARI, M. M. & LEME, D. M. 2018. Mesotrione herbicide does not cause genotoxicity, but modulates the genotoxic effects of Atrazine when assessed in mixture using a plant test system (*Allium cepa*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 150:83–88. Academic Press Inc.
- FERON, V. J., CASSEE, F. R., GROTEN, J. P., VAN VLIET, P. W. & VAN ZORGE, J. A. 2002. International issues on human health effects of exposure to chemical mixtures. *Environmental Health Perspectives* 110:893–899.
- FERRARI, S. F.; LOPES, M. A. 1995. Comparison of Gut Proportions in Four Small-Bodied Amazon Cebids. *American Journal of Primatology*:139–142.

- FISK, A. T., DE WIT, C. A., WAYLAND, M., KUZYK, Z. Z., BURGESS, N., LETCHER, R., BRAUNE, B., NORSTROM, R., BLUM, S. P., SANDAU, C., LIE, E., LARSEN, H. J. S., SKAARE, J. U. & MUIR, D. C. G. 2005, December 1. An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canadian arctic wildlife.
- FLAIBAN, K. K. M. D. C., SPOHR, K. A. H., MALANSKI, L. D. S., SVOBODA, W. K., SHIOZAWA, M. M., HILST, C. L. S., AGUIAR, L. M., LUDWIG, G., PASSOS, F. C., NAVARRO, I. T., BALARIN, M. R. S. & LISBÔA, J. A. N. 2008. Hematologic values of free-ranging *Cebus cay* and *Cebus nigrinus* in Southern Brazil. *International Journal of Primatology* 29:1375–1382.
- FLIES, A. S. & CONSORTIUM, W. 2020. Rewilding immunology- Integrating comparative immunology can improve human, animal, and ecosystem health. *Science* 369:37–38.
- FLIES, A. S., MANSFIELD, L. S., GRANT, C. K., WELDELE, M. L. & HOLEKAMP, K. E. 2015. Markedly elevated antibody responses in wild versus captive spotted hyenas show that environmental and ecological factors are important modulators of immunity. *PLoS ONE* 10. Public Library of Science.
- FOX, M., BRIEVA, C., MORENO, C., MACWILLIAMS, P. & THOMAS, C. 2008. Hematologic and serum biochemistry reference values in wild-caught white-footed tamarins (*Saguinus leucopus*) housed in captivity. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 39:548–557.
- GALLOWAY, T. & HANDY, R. 2003. Immunotoxicity of Organophosphorous Pesticides. P. *Ecotoxicology*.
- GARCÍA-FERÍA, L. M., CHAPMAN, C. A., PASTOR-NIETO, R. & SERIO-SILVA, J. C. 2017. Biochemical and hematological evaluations of black howler monkeys (*Alouatta pigra*) in highly degraded landscapes in Mexico. *Journal of Medical Primatology* 46:304–310.
- GARIBALDI, L. A., AIZEN, M. A., KLEIN, A. M., CUNNINGHAM, S. A. & HARDER, L. D. 2011. Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:5909–5914. National Academy of Sciences.
- GASNIER, C., DUMONT, C., BENACHOUR, N., CLAIR, E., CHAGNON, M. C. & SÉRALINI, G. E. 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology* 262:184–191.
- GELUK, A., ELFERINK, D. G., SLIERENDREGT, B. L., VAN MEIJGAARDEN, K. E., VRIES, R. R. P., OTTENHOFF, T. H. M. & BONTROP, R. E. 1993. Evolutionary conservation of major histocompatibility complex-DR/peptide/T cell interactions in primates. *Journal of Experimental Medicine* 177:979–987.
- GHISI, N. DE C., OLIVEIRA, E. C. DE & PRIOLI, A. J. 2016. Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency? A systematic and meta-analytic review. *Chemosphere* 145:42–54.
- GIRAudeau, M., SEPP, T., UJVARI, B., EWALD, P. W. & THOMAS, F. 2018, July 1. Human activities might influence oncogenic processes in wild animal populations. Nature Publishing Group.
- GRAHAM, A. L., HAYWARD, A. D., WATT, K. A., PILKINGTON, J. G., PEMBERTON, J. M. & NUSSEY, D. H. 2010. Fitness correlates of heritable variation in antibody responsiveness in a wild mammal. *Science* 330:662–665.
- GRASS, I., KUBITZA, C., KRISHNA, V. V., MAIZE, I. & CORRE, M. D. 2020. Trade-offs between multifunctionality and profit in tropical smallholder landscapes.

- GROUX, H., PERRAUT, R., GARRAUD, O., POINGT, J. P. & GYSIN, J. 1990. Functional characterization of the antibody-mediated protection against blood stages of *Plasmodium falciparum* in the monkey *Saimiri sciureus*. *European Journal of Immunology* 20:2317–2323.
- GUALDA-BARROS, J.; NASCIMENTO, F. O.; AMARAL, M. K. 2012. A new species of *CalliCebus* Thomas, 1903 (primates, pitheciidae) from the states of Mato Grosso and Pará, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia* 52:261–279.
- GUERRERO, J. E., PACHECO, D. P., SUÁREZ, C. F., MARTÍNEZ, P., ARISTIZABAL, F., MONCADA, C. A., PATARROYO, M. E. & PATARROYO, M. A. 2003. Characterizing T-cell receptor γ -variable gene in *Aotus nancymae* owl monkey peripheral blood. *Tissue Antigens* 62:472–482.
- GUIMARÃES, V. Y., DE ALBUQUERQUE, A. C. A., DO VALE E SILVA, A. H. C., WILMSEN, M. O., LUX HOPPE, E. G. & TAKAHIRA, R. K. 2020. Island and Riverine populations of *Alouatta belzebul* from the Brazilian Amazon parasitized by *Pediculus mjobergi*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 22. Elsevier B.V.
- GUST, D. A., GORDON, T. P., WILSON, M. E., BRODIE, A. R., AHMED-ANSARI, A. & MCCLURE, H. M. 1992. Removal from natal social group to peer housing affects cortisol levels and absolute numbers of T cell subsets in juvenile rhesus monkeys. *Brain Behavior and Immunity* 6:189–199.
- HAGLOCK, C., WOLF, C. & POKLIS, A. 2008. A novel method for the determination of guanfacine in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology* 32:544–546.
- HANNAH, L., ROEHRDANZ, P. R., KRISHNA BAHADUR, K. C., FRASER, E. D. G., DONATTI, C. I., SAENZ, L., WRIGHT, T. M., HIJMANS, R. J., MULLIGAN, M., BERG, A. & VAN SOESBERGEN, A. 2020. The environmental consequences of climate-driven agricultural frontiers. *PLoS ONE* 15. Public Library of Science.
- HASCHEK, W. M., WALLIG, M. A. & ROUSEAUX, C. 2010. *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. P. (C. G. R. M. A. W. Wanda M. Haschek, Ed.) (2nd edition). Academic Press, London. 1–686 pp.
- HAVILL, L. M., SNIDER, C. L., LELAND, M. M., HUBBARD, G. B., THERIOT, S. R. & MAHANEY, M. C. 2003. Hematology and blood biochemistry in infant baboons (*Papio hamadryas*). *Journal of Medical Primatology* 32:131–138.
- HAYES, T. B. & HANSEN, M. 2017. From silent spring to silent night: Agrochemicals and the anthropocene. *Elementa: Science of the Anthropocene* 5.
- HENDRICKX, A. G., MAKORI, N. & PETERSON, P. 2002. The nonhuman primate as a model of developmental immunotoxicity. *Human and Experimental Toxicology* 21:537–542.
- HUTCHINS, M. & BARASH, D. P. 1976. Grooming in primates: Implications for its utilitarian function. *Primates* 17:145–150.
- IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. 2012. Chemical agents and related occupations. Lyon, France. 1–628 pp.
- IWANAGA, S. & FERRARI, S. F. 2001. Party size and diet of syntopic atelids (*Ateles chamek* and *Lagothrix cana*) in southwestern Brazilian Amazonia. *Folia Primatologica* 72:217–227.
- IWATA, M., ESHIMA, Y., KAGECHIKA, H. & MIYAURA, H. 2004. The endocrine disruptors nonylphenol and octylphenol exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development. *Immunology Letters* 94:135–139.

- JAIN, N. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Pennsylvania. 989 pp.
- KANG, Y., KHAN, S. & MA, X. 2009. Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security - A review. Science Press.
- KANJA, L. W., SKAARE, J. U., OJWANG, S. B. O. & MAITAI, C. K. 1992. A Comparison of Organochlorine Pesticide Residues in Maternal Adipose Tissue, Maternal Blood, Cord Blood, and Human Milk from Mother/Infant Pairs. *P. Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21–24 pp.
- KARESH, W. B., WALLACE, R. B., LILIAN E PAINTER, R., RUMIZ, D., BRASELTON, W. E., DIERENFELD, E. S. & PUCHE, H. 1998. Immobilization and health assessment of free-ranging black spider monkeys (*Ateles paniscus chamek*). *American Journal of Primatology* 44:107–123.
- KARTHEEK, R. M. & DAVID, M. 2018. Assessment of fipronil toxicity on wistar rats: A hepatotoxic perspective. *Toxicology Reports* 5:448–456. Elsevier Inc.
- KERR, M. G. 2002. *Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Biochemistry and Haematology* (1st edition). Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 436 pp.
- KINZEY, W. G. & WRIGHT, P. C. 1982. Grooming behavior in the titi monkey (*Callicebus torquatus*). *American Journal of Primatology* 3:267–275.
- KOWALEWSKI, M. M., GARBER, P. A., CORTÉS-ORTIZ, L., URBANI, B., YOULATUS, D. 2015. *Howler Monkeys: Adaptive radiation, systematics, and morphology*. P. (M. M. ; Kowalewski and D. Garber, P. A.; Cortés-Ortiz, L.; Urbani, B.; Youlatus, Eds.) *Howler Monkeys: Adaptive Radiation, Systematics, and Morphology*. Springer, New York. 425 pp.
- KREJSA, C. M., NERADILEK, M. B., POLISSAR, N. L., COX, N., CLARK, D., COWAN, L., BUSSIÈRE, J. & LEBREC, H. 2013. An inter-laboratory retrospective analysis of immunotoxicological endpoints in non-human primates: Flow cytometry immunophenotyping. *Journal of Immunotoxicology* 10:361–372.
- KRIEF, S., BERNY, P., GUMISIRIZA, F., GROSS, R., DEMENEIX, B., FINI, J. B., CHAPMAN, C. A., CHAPMAN, L. J., SEGUYA, A. & WASSWA, J. 2017. Agricultural expansion as risk to endangered wildlife: Pesticide exposure in wild chimpanzees and baboons displaying facial dysplasia. *Science of the Total Environment* 598:647–656. Elsevier B.V.
- KRIEF, S., KRIEF, J. M., SEGUYA, A., COULY, G. & LEVI, G. 2014. Facial dysplasia in wild chimpanzees. *Journal of Medical Primatology* 43:280–283. Blackwell Publishing Ltd.
- KRIEF, S., WATTS, D. P., MITANI, J. C., KRIEF, J. M., CIBOT, M., BORTOLAMIOL, S., SEGUYA, A. G. & COULY, G. 2015. Two cases of cleft lip and other congenital anomalies in wild chimpanzees living in Kibale National Park, Uganda. *Cleft Palate-Craniofacial Journal* 52:743–750. American Cleft Palate Craniofacial Association.
- KUKOWSKI, K., MARTINSKÁ, V., SEDGEMAN, C. A., KUPLIC, P., KOZLIAK, E. I., FISHER, S. & KUBÁTOVÁ, A. 2017. Fate of triazoles in softwood upon environmental exposure. *Chemosphere* 184:261–268. Elsevier Ltd.
- KUNG, P. C., GOLDSTEIN, G., REINHERZ, E. L. & SCHLOSSMAN, S. F. 1979. Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. *Science* 206:347–349.
- KWISSA, M., NAKAYA, H. I., OLUOCH, H. & PULENDRAN, B. 2012. Distinct TLR adjuvants differentially stimulate systemic and local innate immune responses in nonhuman primates. *Blood* 119:2044–2055.

- LAABS, V., AMELUNG, W., PINTO, A. & ZECH, W. 2002. Fate of Pesticides in Tropical Soils of Brazil under Field Conditions. *Journal of Environmental Quality* 31:256–268. Wiley.
- LALAH, J. O. & WANDIGA, S. O. 1996. Adsorption/desorption and mobility of carbofuran in soil samples from Kenya. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56:575–583.
- LAURANCE, W. F. 2007. Have we overstated the tropical biodiversity crisis? *Trends in Ecology and Evolution* 22:65–70.
- LAURANCE, W. F., CLEMENTS, G. R., SLOAN, S., O'CONNELL, C. S., MUELLER, N. D., GOOSEM, M., VENTER, O., EDWARDS, D. P., PHALAN, B., BALMFORD, A., VAN DER REE, R. & ARREA, I. B. 2014. A global strategy for road building. *Nature* 513:229–232. Nature Publishing Group.
- LAURANCE, WILLIAM F.; BALMFORD, A. 2013. A global map for road building. *Nature* 495:308–309.
- LEGHAIT, J., GAYRARD, V., TOUTAIN, P. L., PICARD-HAGEN, N. & VIGUIÉ, C. 2010. Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep? *Toxicology Letters* 194:51–57.
- LEHMAN-MCKEEMAN, L. D. 2013. Biochemical and Molecular Basis of Toxicity. Pp. 15–38 *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Elsevier Inc.
- LEONARD, V. H. J., HODGE, G., REYES-DEL VALLE, J., MCCHESENEY, M. B. & CATTANEO, R. 2010. Measles Virus Selectively Blind to Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM; CD150) Is Attenuated and Induces Strong Adaptive Immune Responses in Rhesus Monkeys. *Journal of Virology* 84:3413–3420.
- LU, M., DU, J., ZHOU, P., CHEN, H., LU, C. & ZHANG, Q. 2015. Endocrine disrupting potential of fipronil and its metabolite in reporter gene assays. *Chemosphere* 120:246–251. Elsevier Ltd.
- MA, J., BU, Y. & LI, X. 2015. Immunological and histopathological responses of the kidney of common carp (*Cyprinus carpio* L.) sublethally exposed to glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 39:1–8. Elsevier B.V.
- MA, J. & LI, X. 2015. Alteration in the cytokine levels and histopathological damage in common carp induced by glyphosate. *Chemosphere* 128:293–298. Elsevier Ltd.
- MARTIN, A., COOLSAET, B., CORBERA, E. & DAWSON, N. M. 2018. Land use intensification: the promise of sustainability and the reality of trade-offs.
- MATHUR, B., AGARWAL, H. C., JOHNSON, S. & SAIKIA, N. 2005. Analysis Of Pesticide Residues In Blood Samples From Villages Of Punjab. New Delhi.
- MATTAPALLIL, J. J., DOUEK, D. C., HILL, B., NISHIMURA, Y., MARTIN, M. & ROEDERER, M. 2005. Massive infection and loss of memory CD4⁺ T cells in multiple tissues during a acute SIV infection. *Nature* 434:1093–1097.
- MEIER-AUGENSTEIN, W. 2019. From stable isotope ecology to forensic isotope ecology — Isotopes' tales. *Forensic Science International* 300:89–98. Elsevier Ireland Ltd.
- MELO, C. M. F.; DANEZE, E. R.; MENDES, N. S.; RAMOS, I. A. S.; MORALES-DONOSO, J. A.; FERNANDES, S. J.; MACHADO, R. Z.; ANDRE, M. R.; SOBREIRA, M. 2019. Genetic diversity and hematological and biochemical alterations in *Alouatta* primates naturally infected with hemoplasmas in Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 63:104–111. Elsevier.

- MILLOT, F., BERNY, P., DECORS, A. & BRO, E. 2015. Little field evidence of direct acute and short-term effects of current pesticides on the grey partridge. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 117:41–61. Academic Press.
- MILTON, K. 1981. Food Choice and Digestive Strategies of Two Sympatric Primate Species. *The American Naturalist* 117:496–505.
- MMA, .. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2014. Lista Nacional das Espécies de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e invertebrados terrestres ameaçados de extinção. Instrução Normativa n° 444 de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial da União, Brasília.
- MOORE, D. M. 2000. Hematology of Non-Human Primates. Pp. 1133–1144 in FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N. C. (ed.). *Schalm's Veterinary Hematology* (5th edition). Lippincott Williams & Wilkins, Canada.
- MOREIRA, E. F., BOSCOLO, D. & VIANA, B. F. 2018. Beyond good and evil: Context-dependent effects of agriculture on pollinators' communities and its interactions. *Oecologia Australis* 22:489–502. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).
- NAGY, K. A. & MILTON, K. 1979. Aspects of dietary quality, nutrient assimilation and water balance in wild howler monkeys (*Alouatta palliata*). *Oecologia* 39:249–258.
- NAKAI, E. 2007. Fissão-fusão em *Cebus nigratus*: flexibilidade social como estratégia de ocupação de ambientes limitantes. São Paulo. 1–116 pp.
- NI, Y., LAI, J., WAN, J. & CHEN, L. 2014. Photosynthetic responses and accumulation of mesotrione in two freshwater algae. *Environmental Sciences: Processes and Impacts* 16:2288–2294. Royal Society of Chemistry.
- NIEMANN, L., SIEKE, C., PFEIL, R. & SOLECKI, R. 2015, March 1. A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. Birkhauser Verlag AG.
- NOOIJ, F. J. M., JONKER, M. & BALNER, H. 1986. Differentiation antigens on rhesus monkey lymphocytes I. Characterization of RhT3, a CD3-like antigen on T cells. *European Journal of Immunology* 16:981–984.
- NOVO NORTE AMBIENTAL (NNA) - COMPANHIA ENERGÉTICA SINOP (CES). 2013. UHE SINOP - PBA PROJETO BÁSICO AMBIENTAL. Companhia Energética Sinop, Sinop.
- OLBERG, R. A. 2007. Monkeys and Gibbons. Pp. 375–386 in WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. (ed.). *Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia* (1st edition). Blackwell Publishing, Ames.
- OLIVEIRA, L.; ESTRADA, A. 2017. Agroecosystems. P. in Fuentes, A. (ed.). *The International Encyclopedia of Primatology* (1st edition). John Wiley & Sons, Inc., Oxford, UK.
- PEAKALL, D. 1992. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*. P. (D. Peakall, Ed.). SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V, Ottawa. 1–312 pp.
- PELKONEN, O. & RAUNIO, H. 1997. Metabolic Activation of Toxins: Tissue-specific Expression and Metabolism in Target Organs. P. *Environ Health Perspect.* 767–774 pp.
- PIGNATI, W. A., MACHADO, J. M. H. & CABRAL, J. F. 2007. Acidente rural amplia do: O caso das “chuvas” de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde - MT. *Ciencia e Saude Coletiva* 12:105–114.
- PIGNATI, W., OLIVEIRA, N. P. & DA SILVA, A. M. C. 2014. Vigilância aos agrotóxicos: Quantificação do uso e previsão de impactos na saúde-trabalho-ambiente para os municípios Brasileiros. *Ciencia e Saude Coletiva* 19:4669–4678.

- PIÑA, T. E. N., CARVALHO, W. D., ROSALINO, L. M. C. & HILÁRIO, R. R. 2019. Drivers of mammal richness, diversity and occurrence in heterogeneous landscapes composed by plantation forests and natural environments. *Forest Ecology and Management* 449. Elsevier B.V.
- POKLIS, A. 1997. *Analytics/Forensic Toxicology. Applications of Toxicology*, Santa Barbara.
- PRANTL, E. M., KRAMER, M., SCHMIDT, C. K., KNAUER, M., GARTISER, S., SHULIAKEVICH, A., MILAS, J., GLATT, H., MEINL, W. & HOLLERT, H. 2018. Comparison of in vitro test systems using bacterial and mammalian cells for genotoxicity assessment within the “health-related indication value (HRIV) concept. *Environmental Science and Pollution Research* 25:3996–4010. Environmental Science and Pollution Research.
- PRESTELE, R., ALEXANDER, P., ROUNSEVELL, M. D. A., ARNETH, A., CALVIN, K., DOELMAN, J., EITELBERG, D. A., ENGSTRÖM, K., FUJIMORI, S., HASEGAWA, T., HAVLIK, P., HUMPENÖDER, F., JAIN, A. K., KRISZTIN, T., KYLE, P., MEIYAPPAN, P., POPP, A., SANDS, R. D., SCHALDACH, R., SCHÜNGEL, J., STEHFEST, E., TABEAU, A., VAN MEIJL, H., VAN VLIET, J. & VERBURG, P. H. 2016. Hotspots of uncertainty in land-use and land-cover change projections: a global-scale model comparison. *Global Change Biology* 22:3967–3983. Blackwell Publishing Ltd.
- PRICE, C. L., PARKER, J. E., WARRILOW, A. G., KELLY, D. E. & KELLY, S. L. 2015. Azole fungicides - understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. *Pest Management Science* 71:1054–1058. John Wiley and Sons Ltd.
- RABOY, B. E., NEVES, L. G., ZEIGLER, S., SARAIVA, N. A., CARDOSO, N., DOS SANTOS, G. R., BALLOU, J. D. & LEIMGRUBER, P. 2010. Strength of Habitat and Landscape Metrics in Predicting Golden-Headed Lion Tamarin Presence or Absence in Forest Patches in Southern Bahia, Brazil. *Biotropica* 42:388–397.
- RAUH, V. A., PERERA, F. P., HORTON, M. K., WHYATT, R. M., BANSAL, R., HAO, X., LIU, J., BARR, D. B., SLOTKIN, T. A. & PETERSON, B. S. 2012. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:7871–7876.
- REED, D. L., LIGHT, J. E., ALLEN, J. M. & KIRCHMAN, J. J. 2007. Pair of lice lost or parasites regained: The evolutionary history of anthropoid primate lice. *BMC Biology* 5:1–11.
- REEVES, R. K., EVANS, T. I., FULTZ, P. N. & JOHNSON, R. P. 2011. Potential confusion of contaminating CD16+ myeloid DCs with anergic CD16+ NK cells in chimpanzees. *European Journal of Immunology* 41:1070–1074.
- REIMANN, K. A., WAITE, B. C. D., LEE-PARRITZ, D. E., LIN, W., UCHANSKA-ZIEGLER, B., O’CONNELL, M. J. & LETVIN, N. L. 1994. Use of human leukocyte-specific monoclonal antibodies for clinically immunophenotyping lymphocytes of rhesus monkeys. *Cytometry* 17:102–108.
- DI RENZO, F., BACCHETTA, R., BIZZO, A., GIAVINI, E. & MENEGOLA, E. 2011. Is the amphibian *X. laevis* WEC a good alternative method to rodent WEC teratogenicity assay? The example of the three triazole derivative fungicides Triadimefon, Tebuconazole, Cyproconazole. *Reproductive Toxicology* 32:220–226.
- RICCIO, E. K., PRATT-RICCIO, L. R., BIANCO-JÚNIOR, C., SANCHEZ, V., TOTINO, P. R., CARVALHO, L. J. & DANIEL-RIBEIRO, C. T. 2015. Molecular and immunological tools for the evaluation of the

- cellular immune response in the neotropical monkey *Saimiri sciureus*, a non-human primate model for malaria research. *Malaria Journal* 14:1–17. ???
- RIGOTTO, R. M., VASCONCELOS, D. P. E & ROCHA, M. M. 2014. Pesticide use in Brazil and problems for public health. *Cadernos de Saúde Pública* 30:1360–1362.
- ROVIROSA-HERNÁNDEZ, M. J., CABA, M., GARCÍA-ORDUÑA, F., LÓPEZ-MUÑOZ, J. J. D., CANALES-ESPINOSA, D. & HERMIDA-LAGUNES, J. 2012. Hematological and biochemical blood values in wild populations of black howler monkeys (*Alouatta pigra*) of Campeche, México. *Journal of Medical Primatology* 41:309–316.
- SAMET, J. M. & WAGES, P. A. 2018, February 1. Oxidative stress from environmental exposures. Elsevier B.V.
- SÁNCHEZ-SARMIENTO, A. M., ZWARG, T., FERNANDES-SANTOS, R. C., GUIMARÃES-LUIZ, T., GENOY-PUERTO, A. & MATUSHIMA, E. R. 2015. Hematological parameters and the variations resulting from stress of *Alouatta caraya* during a wildlife rescue program in Brazil. *American Journal of Primatology* 77:246–253.
- SÁNCHEZ-VILLAGRA, M. R., POPE, T. R. & SALAS, V. 1998. Relation of intergroup variation in allogrooming to group social structure and ectoparasite loads in red howlers (*Alouatta seniculus*). *International Journal of Primatology* 19:473–491.
- SANTOS, L. C. & CUBAS, P. H. 2014. Colheita e Conservação de Amostras Biológicas. Pp. 1554-1564. in CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (ed.). *Tratado de Animais Selvagens-Medicina Veterinária* (2nd edition). ROCA, São Paulo.
- SCHALM, O. W. 1975. *Veterinary Hematology*. P. (O. W. SCHALM, Ed.) (3rd edition). Lea & Febiger, Philadelphia. 807 pp.
- SCHIAVETTA, A. M., HARRE, J. G., WAGNER, E., SIMMONS, M. & RAVIPRAKASH, K. 2003. Variable susceptibility of the owl monkey (*Aotus nancymae*) to four serotypes of dengue virus. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 42:12–20.
- SCHINO, G. 2007. Grooming and agonistic support: A meta-analysis of primate reciprocal altruism. *Behavioral Ecology* 18:115–120.
- SCHINO, G. & AURELI, F. 2008. Trade-offs in primate grooming reciprocation: Testing behavioural flexibility and correlated evolution. *Biological Journal of the Linnean Society* 95:439–446.
- SCHROTH, G., FONSECA, G. A. B., HARVEY, C. A., GASCON, C., VASCONCELOS, H. L., IZAC, A. N., ANGELSEN, A., FINEGAN, B., KAIMOWITZ, D., KRAUSS, U., LAURANCE, S. G. W., LAURANCE, W. F., NASI, R., NAUGHTON-TREVES, L., NIESTEN, E., RICHARDSON, D. M., SOMARRIBA, E., TUCKER, N. I. J., VINCENT, G. & WILKIE, D. S. 2004. The role of Agroforestry in Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes. Pp. 1–12 in SCHROTH, G.; FONSECA, G. B.; HARVEY, C. A. A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H. L.; IZAC, A. N. (ed.). *Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes Agroforestry* (1st edition). Island Press, Washington, DC.
- SCHUH, E., BERER, K., MULAZZANI, M., FEIL, K., MEINL, I., LAHM, H., KRANE, M., LANGE, R., PFANNES, K., SUBKLEWE, M., GÜRKOV, R., BRADL, M., HOHLFELD, R., KÜMPFEL, T., MEINL, E. & KRUMBHOLZ, M. 2016. Features of Human CD3 + CD20 + T Cells. *The Journal of Immunology* 197:1111–1117.

- SCHÜTZE, A., MORALES-AGUDELO, P., VIDAL, M., CALAFAT, A. M. & OSPINA, M. 2021. Quantification of glyphosate and other organophosphorus compounds in human urine via ion chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 274. Elsevier Ltd.
- SEEGER, B., MENTZ, A., KNEBEL, C., SCHMIDT, F., BEDNARZ, H., NIEHAUS, K., ALBAUM, S., KALINOWSKI, J., NOLL, T., STEINBERG, P., MARX-STOELTING, P. & HEISE, T. 2019. Assessment of mixture toxicity of (tri)azoles and their hepatotoxic effects in vitro by means of omics technologies. *Archives of Toxicology* 93:2321–2333. Springer Verlag.
- SELGRADE, M. K. 1999. Use of immunotoxicity data in health risk assessments: uncertainties and research to improve the process. P. *Toxicology*. . 59–72 pp.
- SELL, K. W. 1989. Phenotypic and Functional Differences in NK and LAK Cells in the Peripheral Blood of Sooty Mangabeys and Rhesus Macaques ' 18.
- SERDAR, B., LEBLANC, W. G., NORRIS, J. M. & MIRIAM DICKINSON, L. 2014. Potential effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and selected organochlorine pesticides (OCPs) on immune cells and blood biochemistry measures: A cross-sectional assessment of the NHANES 2003-2004 data. *Environmental Health: A Global Access Science Source* 13. BioMed Central Ltd.
- SILVA, C. R. 2007. Registro de Alimentação Noturna em Macaco-Prego (Cebus apella). *Neotropical Primates* 14:72–74.
- SILVA JUNIOR, C. A. & LIMA, M. 2018. Soy Moratorium in Mato Grosso: Deforestation undermines the agreement. *Land Use Policy* 71:540–542. Elsevier.
- SILVA, M. R. L. R. 2014. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE CELULAR DO HERBICIDA GLIFOSATO EM *Astyanax* spp. *Saúde e Meio Ambiente* 3:62–69.
- SINDAG - SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. 2017. Dados de produção e consumo de agrotóxicos. SINDAG, Cuiabá.
- SMITH, R. J. & JUNGERS, W. L. 1997. Body mass in comparative primatology. *Journal of Human Evolution* 32:523–559.
- DE SOUZA, H. A. DOS S., COSTA-CORREA, E. H., BIANCO-JUNIOR, C., RIBEIRO ANDRADE, M. C., LIMA-JUNIOR, J. DA C., PRATT-RICCIO, L. R., DANIEL-RIBEIRO, C. T. & TOTINO, P. R. R. 2017. Detection of signal regulatory protein α in *Saimiri sciureus* (squirrel monkey) by anti-human monoclonal antibody. *Frontiers in Immunology* 8.
- SPRUIJT, B. M., VAN HOOFF, J. A. R. A. M. & GISPEN, W. H. 1992. Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiological Reviews* 72:825–852.
- STASIENIUK, E. V. Z. 2009. Digestibilidade de dietas e avaliação de alimentos protéicos em sagüi-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*). *Dissertação de Mestrado*.
- STOCKHAM, SL; SCOTT, M. 2008. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. P. (M. Stockham, SL; SCOTT, Ed.) (2nd edition). Blackwell Publishing Limited, Oxford, UK. 928 pp.
- SULLIVAN, N. J., GEISBERT, T. W., GELSBERG, J. B., XU, L., YANG, Z. Y., ROEDERER, M., KOUP, R. A., JAHRLING, P. B. & NABEL, G. J. 2003. Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates. *Nature* 424:681–684.
- SUSSMAN, R. W. & KINZEY, W. G. 1984. The ecological role of the callitrichidae: A review. *American Journal of Physical Anthropology* 64:419–449.

- TAKENAKA, A., MATSUMOTO, Y., NAGAYA, A., WATANABE, K., GOTO, S., SURYOBROTO, B. & TAKENAKA, O. 2000. Plasma cholesterol levels in free-ranging macaques compared with captive macaques and humans. *Primates* 41:299–309.
- TAN, B. L. L. & MOHD, M. A. 2003. Analysis of selected pesticides and alkylphenols in human cord blood by gas chromatograph-mass spectrometer. *Talanta* 61:385–391. Elsevier.
- THEMAG, E. 2010. Estudo de Impacto Ambiental - EIA da AHE Sinop, MT. Companhia Energética Sinop, Cuiabá.
- DE THOISY, B. & RICHARD-HANSEN, C. 1997. Diet and social behaviour changes in a red howler monkey (*Alouatta seniculus*) troop in a highly degraded rain forest. *Folia Primatologica* 68:357–361.
- UDA, A., TANABAYASHI, K., MUKAI, R. & YACHI, M. 2001. CD3 polymorphism in cynomolgus monkeys: 141–147.
- UNSWORTH, J. B., WAUCHOPE, R. D., KLEIN, A., DORN, E., ZEEH, B., YEH, S. M., AKERBLOM, M. & RACKE, K. D. 1999. SIGNIFICANCE OF THE LONG RANGE TRANSPORT OF PESTICIDES IN THE ATMOSPHERE. *Pure and Applied Chemistry* 71:1359–1383. Portugal.
- VEIGA, L. M.; FERRARI, S. F. 2006. Predation of Arthropods by Southern Bearded Sakis (*Chiropotes satanas*) in Eastern Brazilian Amazonia. *American Journal of Physiology*:209–215.
- VENTER, O., SANDERSON, E. W., MAGRACH, A., ALLAN, J. R., BEHER, J., JONES, K. R., POSSINGHAM, H. P., LAURANCE, W. F., WOOD, P., FEKETE, B. M., LEVY, M. A. & WATSON, J. E. M. 2016. Sixteen years of change in the global terrestrial human footprint and implications for biodiversity conservation. *Nature Communications* 7. Nature Publishing Group.
- VIDAL, M. D. 2012. Protocolo para coleta de dados sobre primatas em Unidades de Conservação da Amazônia.
- VIÉ, J. C., MOREAU, B., DE THOISY, B., FOURNIER, P. & GENTY, C. 1998. Hematology and serum biochemistry values of free-ranging red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) from French Guiana. *Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians* 29:142–9.
- VINEY, M. E.; RILEY, E. M. 2014. From Immunology to Eco-immunology: More than a New name. Pp. 1–20 in Malagoli D., O. E. (ed.). *Eco-Immunology* (1st edition). Springer, Dordrecht.
- VINEY, M. E., RILEY, E. M. & BUCHANAN, K. L. 2005. Optimal immune responses: Immunocompetence revisited. *Trends in Ecology and Evolution* 20:665–669.
- WANG, S., STEINICHE, T., ROMANAK, K. A., JOHNSON, E., QUIRÓS, R., MUTEGEKI, R., WASSERMAN, M. D. & VENIER, M. 2019. Atmospheric Occurrence of Legacy Pesticides, Current Use Pesticides, and Flame Retardants in and around Protected Areas in Costa Rica and Uganda. *Environmental Science and Technology* 53:6171–6181. American Chemical Society.
- WATSON, J. E. M., SHANAHAN, D. F., DI MARCO, M., ALLAN, J., LAURANCE, W. F., SANDERSON, E. W., MACKEY, B. & VENTER, O. 2016. Catastrophic Declines in Wilderness Areas Undermine Global Environment Targets. *Current Biology* 26:2929–2934. Cell Press.
- WEISS, D. J.; WARDROP, K. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology* (6th edition). Wiley Blackwell, Iowa. 1206 pp.
- WEISS, W. R. & JIANG, C. G. 2012. Protective CD8⁺ T lymphocytes in primates immunized with malaria sporozoites. *PLoS ONE* 7.

- WILLE-REECE, U., FLYNN, B. J., LORÉ, K., KOUP, R. A., KEDL, R. M., MATTAPALLIL, J. J., WEISS, W. R., ROEDERER, M. & SEDER, R. A. 2005. HIV Gag protein conjugated to a Toll-like receptor 7/8 agonist improves the magnitude and quality of Th1 and CD8⁺ T cell responses in nonhuman primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:15190–15194.
- WOOLLEN, B. H. 1993. BIOLOGICAL MONITORING FOR PESTICIDE ABSORPTION[^]. *Ann occup Hyg* 37:525–540.
- WREN, C. D. 1991. Cause-effect linkages between chemicals and populations of mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra canadensis*) in the great lakes basin. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 33:549–585.
- WRIGHT, P. C. 1989. The nocturnal primate niche in the New World. *Journal of Human Evolution* 18:635–658.
- WRIGHT, S. J. & MULLER-LANDAU, H. C. 2006. The Future of Tropical Forest Species 1 Amazon Basin and Guiana Shield , or the Congo Basin and western Given the importance of habitat loss to estimates of future. *Biotropica* 38:287–301.
- WU, S., JI, X., WANG, J., WU, H., HAN, J., ZHANG, H., XU, J. & QIAN, M. 2021. Fungicide bromuconazole has the potential to induce hepatotoxicity at the physiological, metabolomic and transcriptomic levels in rats. *Environmental Pollution* 280. Elsevier Ltd.
- XIE, L., XU, F., LIU, S., JI, Y., ZHOU, Q., WU, Q., GONG, W., CHENG, K., LI, J., LI, L., FANG, L., ZHOU, L. & XIE, P. 2013. Age- and Sex-Based Hematological and Biochemical Parameters for *Macaca fascicularis*. *PLoS ONE* 8:2–9.
- YOSHIDA, T., SAITO, A., IWASAKI, Y., IIJIMA, S., KUROSAWA, T., KATAKAI, Y., YASUTOMI, Y., REIMANN, K. A., HAYAKAWA, T. & AKARI, H. 2010. Characterization of natural killer cells in tamarins: A technical basis for studies of innate immunity. *Frontiers in Microbiology* 1.

***APÊNDICE:
Estudos e Análises Complementares***

10 APÊNDICE: ESTUDOS E ANÁLISES COMPLEMENTARES

10.1 *Citologia Vaginal*

Um total de 26 fêmeas amostradas neste estudo foram submetidas a exame citológico vaginal. Durante o exame clínico das fêmeas procedeu-se a higienização da vulva e colheita do material para citologia com auxílio de swabs estéreis umedecidos com solução fisiológica, introduzidos no canal vaginal e subsequentemente estendidos em lâminas histológicas numeradas. As lâminas imediatamente fixadas em álcool 95% foram posteriormente coradas com corantes do tipo Romanowski (Giemsa) e foram examinadas em microscópio óptico com o auxílio do Departamento de Reprodução Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Unesp – Botucatu, SP.

O exame físico do trato reprodutivo junto à avaliação citopatológica permitirão a estimativa da fase do ciclo estral, a detecção de afecções vaginais e reprodutivas das diferentes espécies de PNH. Os esfregaços vaginais foram examinados utilizando a técnica de contagem de 100 células por lâmina, observando os tipos celulares característicos de cada período reprodutivo (Tabela 18).

Tabela 18. Exame físico do trato reprodutivo, avaliação citopatológica e sugestão de fase do ciclo estral de espécies selecionadas de primatas neotropicais.

Identificação			Idade	Celularidade	Diferencial de Células (100 células)						
					Parabasais (PB)		Intermediárias Pequenas (IP)		Intermediárias Grandes (IG)		Superficiais Nucleadas (SN)
40	<i>Sapajus apella</i>	AD	Baixa	0	4	41	5	50	-		
41	<i>Aotus infulatus</i>	AD	Alta	0	0	1	3	96	-		
46	<i>Aotus infulatus</i>	AD	Alta	0	1	33	1	66	-		
49	<i>Aotus infulatus</i>	AD	Moderada	0	1	7	31	61	-		
43	<i>Ateles chamek</i>	AD	Alta	0	5	88	1	6	-		
47	<i>Ateles chamek</i>	SN	Alta	0	3	57	19	22	-		
75	<i>Ateles chamek</i>	AD	Moderada	1	5	77	4	5	-		
84	<i>Ateles chamek</i>	SN	Alta	0	5	92	2	1	-		
51	<i>Aloatta caraya</i>	AD	Baixa	5	21	51	5	18	-		
52	<i>Aloatta caraya</i>	AD	Baixa	0	0	0	13	88	-		
67	<i>Aloatta caraya</i>	AD	Moderada	0	1	23	10	66	-		
55	<i>Ateles marginatus</i>	AD	Alta	0	6	76	2	16	-		
57	<i>Ateles marginatus</i>	JV	Moderada	2	25	65	0	10	-		
90	<i>Ateles marginatus</i>	AD	Alta	2	70	21	2	5	-		
70	<i>Ateles marginatus</i>	AD	Alta	0	5	84	3	11	-		
71	<i>Ateles marginatus</i>	AD	Alta	0	19	77	2	2	-		
76	<i>Ateles marginatus</i>	SN	Alta	1	37	53	0	9	+		
91	<i>Chiropotes albinasus</i>	AD	Moderada	3	21	41	5	30	+		
80	<i>Chiropotes albinasus</i>	AD	Baixa	0	5	85	2	8	-		
87	<i>Chiropotes albinasus</i>	AD	Alta	0	5	70	2	23	-		
58	<i>Mico emiliae</i>	AD	Baixa	0	0	0	3	97	-		
59	<i>Mico emiliae</i>	AD	Moderada	0	5	26	7	62	-		
66	<i>Mico emiliae</i>	AD	Moderada	0	0	1	9	90	-		
73	<i>Mico emiliae</i>	AD	Moderada	0	7	23	5	65	-		
74	<i>Mico emiliae</i>	JV	Alta	0	2	3	12	84	-		

Identificação		Células e Estruturas não vaginais					Citólise			
		HE	NT	BACT_Livre	BACT_Aderida	MUCO	Espumosas	Cariorrhexis	Picnose	Cariólise
40	<i>Sapajus apella</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
41	<i>Aotus infulatus</i>	-	-	++	++	-	-	-	+	-
46	<i>Aotus infulatus</i>	-	-	++	++	-	+	-	-	+
49	<i>Aotus infulatus</i>	+	+	+++	+++	-	-	-	+	-
43	<i>Ateles chamek</i>	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
47	<i>Ateles chamek</i>	-	-	+++	+++	++	+++	-	-	-
75	<i>Ateles chamek</i>	-	++	+++	+++	+	+++	+	+	+
84	<i>Ateles chamek</i>	-	++	+++	+++	++	-	++	++	++
51	<i>Aloatta caraya</i>	+++	+	++	++	++	-	+++	+++	+++
52	<i>Aloatta caraya</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-
67	<i>Aloatta caraya</i>	+	-	+++	+++	+	+	+	+	-
55	<i>Ateles marginatus</i>	-	-	++	++	+	++	+	-	+
57	<i>Ateles marginatus</i>	+	-	+	-	++	+	-	+	-
90	<i>Ateles marginatus</i>	+	-	+	+	++	-	+++	+++	+++
70	<i>Ateles marginatus</i>	+	-	+++	+++	+++	+++	+	+	+
71	<i>Ateles marginatus</i>	-	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
76	<i>Ateles marginatus</i>	+	+++	+++	+++	++	++	+	-	+
91	<i>Chiropotes albinasus</i>	+++	-	+	+	+	++	+	+	+
80	<i>Chiropotes albinasus</i>	+	++	-	-	-	++	++	++	+
87	<i>Chiropotes albinasus</i>	+	+	+	++	+	+	-	+	+
58	<i>Mico emiliae</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-
59	<i>Mico emiliae</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-
66	<i>Mico emiliae</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-
73	<i>Mico emiliae</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-
74	<i>Mico emiliae</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-

Identificação		Sugestão de Fase	Exame Físico do Trato Reprodutivo			
			Lactação	Prenhez	Intumescimento Genitália	Mamilo Estendidos
40	<i>Sapajus apella</i>	Proestro (Final)	sim	não	não	sim
41	<i>Aotus infulatus</i>	Estro	não	não	não	não
46	<i>Aotus infulatus</i>	Proestro (Final)_ Anestro (Final)	não	não	não	não
49	<i>Aotus infulatus</i>	Estro	não	não	não	não
43	<i>Ateles chamek</i>	Anestro (Final)_ Proestro (Início)	não	não	não	não
47	<i>Ateles chamek</i>	Anestro (Início)	não	não	não	não
75	<i>Ateles chamek</i>	Anestro_Diestro	não	não	não	não
84	<i>Ateles chamek</i>	Anestro (Final)_ Proestro (Início)	não	não	não	não
51	<i>Aloatta caraya</i>	Anestro_ Proestro (Início)	não	não	não	não
52	<i>Aloatta caraya</i>	Estro	não	não	não	não
67	<i>Aloatta caraya</i>	Proestro (Final)	sim	não	não	não
55	<i>Ateles marginatus</i>	Anestro	não	sim	não	não
57	<i>Ateles marginatus</i>	Anestro	não	não	não	não
90	<i>Ateles marginatus</i>	Diestro	não	não	pouco	não
70	<i>Ateles marginatus</i>	Diestro(Início)_ Metaestro	não	não	não	não
71	<i>Ateles marginatus</i>	Anestro_ Proestro (Início)	sim	não	não	sim
76	<i>Ateles marginatus</i>	Diestro_ Anestro (Final)_ Proestro (Início)	não	não	não	não
91	<i>Chiropotes albinasus</i>	Metaestro_ Anestro	não	sim	não	não
80	<i>Chiropotes albinasus</i>	Anestro	não	não	não	sim
87	<i>Chiropotes albinasus</i>	Diestro_ Anestro (Início)_ Proestro (Início)	não	não	não	não
58	<i>Mico emiliae</i>	Estro	não	não	não	não
59	<i>Mico emiliae</i>	Proestro (Final)	não	não	não	não
66	<i>Mico emiliae</i>	Estro	não	não	não	não
73	<i>Mico emiliae</i>	Proestro (Final)	não	não	pouco	não
74	<i>Mico emiliae</i>	Estro	não	não	não	não

10.2 Isótopos Estáveis

Na ocasião do exame clínico dos espécimes, 44 amostras de pelos foram obtidas com o intuito de realizar análise isotópica, ampliando o conhecimento a respeito das relações tróficas entre as espécies de primatas. Em parceria estabelecida com o Centro de Isótopos Estáveis (CIE), aos cuidados do Dr. Vladimir Eliodoro, do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), Unesp, tem-se como objetivo, por meio da análise os isótopos estáveis de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) em amostras de pelos dos PNH sob forte influência da monocultura intensiva, compreender as fontes e componentes da cadeia alimentar das espécies, atestando inclusive a interação trófica entre estas e o ambiente.

O $\delta^{13}\text{C}$ fornece informações sobre o ciclo fotossintético dos produtores primários da teia alimentar (C3, C4) e o $\delta^{15}\text{N}$ fornece informações sobre os processos fisiológicos que envolvem esse elemento nos diversos organismos envolvidos na teia alimentar (Meier-Augenstein 2019). As amostras foram analisadas em um sistema de fluxo contínuo de espectrometria de massa de razão isotópica (CF-IRMS) contendo um analisador elementar-EA (Flash 2000 – Thermo Scientific) acoplado a um espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS - Delta V Advantage – Thermo Scientific) por meio de uma interface de gases (Conflo IV – Thermo Scientific).

Raros são os estudos não invasivos que permitam a identificação do comprimento trófico de populações de primatas, tampouco dos itens alimentares utilizados em paisagens drasticamente alteradas pela lavoura, como na área de estudo. A determinação da existência de sobreposição de nicho trófico poderá auxiliar, ainda, na compreensão da ocorrência de eventual competição e se esta seria devido à estrutura da paisagem.

10.3 Taxonomia e Filogenética

Alíquotas de coágulo e tecido foram extraídas com o intuito de subsidiar estudos filogenéticos e taxonômicos dos diversos grupos amostrados. Um fragmento de ponta de orelha foi extraído no momento do exame clínico, bem como o isolamento do coágulo para os estudos moleculares. Os coágulos foram destinados ao Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação, UFSCar, São Carlos, Brasil, aos cuidados da Profa. Dra. Patrícia Freitas.

No caso das amostras de *A. caraya* por exemplo, estes exames contribuirão para elucidar as imprecisões taxonômicas do gênero e melhor compreender as relações evolutivas entre as espécies. Está em curso um estudo molecular que visa caracterizar Unidades Taxonômicas Moleculares (MOTUs) e compreender as relações genéticas existentes entre os diferentes *taxa* identificados. Para tanto, algumas das espécies válidas de *Alouatta* (Groves, 2001), de ocorrência no Brasil, como *A. caraya*, *A. belzebul*, *A. guariba* e *A. seniculus* serão analisadas por meio de marcadores genéticos, além do uso de ferramentas computacionais para análises de DNA *barcoding*. Estas mesmas amostras estão sendo preparadas para extração e sequenciamento genômico, posteriormente serão utilizadas para análises genômicas e genética populacional.

Os fragmentos de tecido (ponta de orelha) foram encaminhados ao LEGAL (Laboratório de Evolução e Genética Animal) da Universidade Federal do Amazonas, aos cuidados do Dr. Rodrigo Araújo. O laboratório, chefiado pela Profa. Dra. Izeni Farias e Prof. Dr. Tomas Hrbek, atualmente desenvolve um projeto com a temática da taxonomia e filogenética de primatas neotropicais, utilizando uma abordagem integrativa, com sequenciamento de nova geração, morfologia e distribuição geográfica, com ênfase nas espécies com ocorrência na Amazônia.

Anexos

Anexo 1 – Autorização SISBIO

Anexo 2 – Atestado Comitê de Ética

Anexo 3 – Declaração de Aceite USP

Anexo 4 – Comprovante Cadastro SISGEN

Anexo 5 – Condições e Compostos investigados no plasma das diferentes espécies de primatas

Anexo 6 – Compostos, metabólitos, razão massa/carga, método untarget

Anexo 7 – Relatórios de Necrópsia