



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

MARIANA PORTUGAL MATTIOLI

**CARACTERIZAÇÃO DA FISIOPATOGENIA DA INFECÇÃO
POR *Platynosomum amazonensis* EM PRIMATAS
NEOTROPICAIS DA ESPÉCIE *Callithrix penicillata***

**Monografia apresentada para
conclusão do Curso de Medicina
Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília**

Brasília DF

2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

MARIANA PORTUGAL MATTIOLI

**CARACTERIZAÇÃO DA FISIOPATOGENIA DA INFECÇÃO
POR *Platynosomum amazonensis* EM PRIMATAS
NEOTROPICAIS DA ESPÉCIE *Callithrix penicillata***

Monografia apresentada para conclusão
do Curso de Medicina Veterinária da
Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de Brasília

Orientador
Rafael Veríssimo Monteiro

Brasília DF

2012

Mattioli, Mariana Portugal

Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*. / Mariana Portugal Mattioli, orientação de Rafael Veríssimo Monteiro. – Brasília, 2012.

47 p.

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

1. Saguí de tufo pretos. 2. Hemograma em Primatas. 3. Ultrassom hepático. 4. Hepatopatia por Trematoda. I. Monteiro, Rafael Veríssimo II. Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Mariana Portugal Mattioli

Titulo da Monografia de Conclusão de Curso: Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*

Ano: 2012

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Mariana Portugal Mattioli

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: Mattioli, Mariana Portugal

Título: Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*

Ano: 2012

Monografia de conclusão de Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – FAV, da Universidade de Brasília.

Data: __/__/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rafael Veríssimo Monteiro

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Instituição: UNB

Prof. Dr^a Giane Regina Paludo

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Instituição: UNB

M.V. Me. Cecília Azevedo Dias

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Instituição: UNB

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Sílvia e Dê, o equilíbrio perfeito entre exigência e compreensão que me ensinaram que o que não tem solução, de fato, solucionado está e que o que tem solução só depende da gente. Vocês me tornaram a pessoa que eu sou. Muito obrigada pelo carinho, compreensão, paciência e até pelas brigas, sem vocês eu não teria chegado aqui.

Aos meus irmãos, Rodrigo e Marcelo, duas pessoas incríveis que foram meus exemplos a vida inteira e me ensinaram a correr atrás dos meus objetivos.

Ao meu orientador, Rafael, por me permitir fazer este projeto, pela disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas e pela paciência. Obrigada por todos os ensinamentos, por confiar e acreditar em mim.

À Ju, uma pessoa maravilhosa, companheira de projeto que nunca perdeu a paciência com meus esquecimentos e que eu adorei ter conhecido! Obrigada por tudo!

A todos do Centro de Primatologia por me receber de braços abertos, especialmente à Cecília que ajudou nas capturas e coletas. Foi um aprendizado enorme poder fazer este projeto. Obrigada!

A todos do laboratório de Patologia Clínica, principalmente à Professora Giane pela ajuda, paciência e disponibilização do laboratório, mesmo em período de obra em que era difícil caber três pessoas lá dentro. Muito obrigada!

Aos meus amigos que estiveram presente mesmo que de longe, com destaque e merecendo medalha de honra agradeço à Clarissa e a Leilane pela ajuda, conversas e risadas mesmo num período tão corrido.

RESUMO

MATTIOLI, M.P. Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*. Characterization of *Platynosomum amazonensis* infection in neotropical primates, *Callithrix penicillata*. 2012. 47 páginas. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília DF.

Para avaliar a fisiopatogenia do trematódeo *Platynosomum amazonensis* na espécie de primata brasileiro, *Callithrix penicillata*, mantidos em cativeiro no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília foram utilizados os seguintes parâmetros: alterações de coagulação sanguínea, aumento hepático perceptível à palpação no exame clínico, alterações séricas das enzimas hepáticas AST e ALT, leucograma, eritrograma e anormalidades hepáticas ultrassonográficas. Duas coletas foram realizadas em duas épocas distintas do ano, os mesmo animais foram submetidos aos procedimentos na primeira e na segunda coleta totalizando 20 indivíduos e 40 amostras de material para análise. As principais alterações encontradas foram anemia macrocítica hipocrômica; eosinofília; leucograma indicando infecção localizada; coagulação ruim; aumento hepático à palpação; e quadro sugestivo de hepatite no exame ultrassonográfico; estas alterações podem ser consideradas como sugestivas de infecção pelo *P. amazonensis* em *C. penicillata*.

Palavras chave: Sagui de tufos pretos, hemograma em Primatas, ultrassom hepático, hepatopatia por Trematoda

ABSTRACT

MATTIOLI, M.P. Characterization of *Platynosomum amazonensis* infection in neotropical primates, *Callithrix penicillata*. Caracterização da fisiopatogenia da infecção por *Platynosomum amazonensis* em primatas neotropicais da espécie *Callithrix penicillata*. 2012. 47 páginas. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília DF.

This study evaluated the pathogenesis of *Platynosomum amazonensis* in Brazilian specie of primate, *Callithrix penicillata*, kept in captivity in the Primate Center of Universidade de Brasília. In order to do so the following parameter were used, abnormal blood clotting, hepatomegaly perceptible on palpation, abnormalities in serum liver enzymes AST and ALT, complete blood count and ultrasound abnormalities of the liver . Two samples were collected in two distinct periods of the year; the same animals were subjected to the procedures in the two sampling periods , totaling 20 individuals and 40 samples of material for analysis. The alterations found were macrocytic hypochromic anemia, eosinophilia; white blood cells indicating localized infection; clotting bad, hepatomegaly perceptible on palpation, and ultrasonographic lesions suggestive of hepatitis. These abnormalities are suggestive of infection by *P. amazonensis* in *C. penicillata*.

Keywords: *Black-tufted marmoset, complete blood count in primates, hepatic ultrasound, trematode hepatopathy*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: CICLO BIOLÓGICO DA <i>FASCIOLA HEPATICA</i>	19
FIGURA 2: ESQUEMA REPRESENTANDO A CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO <i>PLATYNOSOMUM AMAZONENSIS</i>	20
FIGURA 3: ILUSTRAÇÃO MOSTRANDO AS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO <i>PLATYNOSOMUM AMAZONENSIS</i> . (Vo); ESÔFAGO (Es); FARINGE (Fa); CECO (Ce); PORO GENITAL (Pg); BOLSA DE CIRRO (Bc); TESTÍCULOS (T); OVÁRIO (Ov); GLÂNDULAS DE MEHLIS (Gm); VITELLARIA (Vi); VITELODUTOS (Vd); ÚTERO (Ut); PORO EXCRETOR (Pe); BEXIGA EXCRETORA (Be).	21
FIGURA 4: IMAGENS HEPÁTICAS CAPTURADAS POR TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA MOSTRANDO ALTERAÇÕES CAUSADAS PELA <i>FASCIOLA HEPATICA</i> EM HUMANOS. (A) SETAS INDICANDO ÁREAS HIPODENSAS CORRESPONDENTES Á CISTOS HEPÁTICOS. (B) FOCOS DE FIBROSE EM TOMOGRAFIA REALIZADA APÓS 11 MESES DE TRATAMENTO.	23
FIGURA 5: FOTOS DOS RECINTOS E VIVEIROS ONDE SÃO MANTIDOS OS SAGUIS DE TUFO PRETO NO CENTRO DE PRIMATOLOGIA DA UNB.	24
FIGURA 6: IMAGEM ULTRASSONOGRÁFICA MOSTRANDO O PARÊNQUIMA HEPÁTICO NORMAL DE <i>C. PENICILLATA</i> SUBMETIDO À PESQUISA.....	32
FIGURA 7: IMAGEM ULTRASSONOGRÁFICA MOSTRANDO O PARÊNQUIMA HEPÁTICO COM ASPECTO GRANULOSO DE <i>C. PENICILLATA</i> SUBMETIDO À DA PESQUISA.....	33
FIGURA 8: IMAGEM ULTRASSONOGRÁFICA DE LESÕES HEPÁTICAS CAUSADAS PELO <i>P. AMAZONENSIS</i> EM <i>C. PENICILLATA</i> SUBMETIDO À PESQUISA. (CH) CISTOS HEPÁTICOS; (FI) FOCOS DE FIBROSE NO PARÊNQUIMA HEPÁTICO; (PE) VESÍCULA BILIAR COM PAREDE ESPESADA; (GB) VESÍCULA BILIAR.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: ALTERAÇÕES DE LEUCÓCITOS, NEUTRÓFILOS, LINFÓCITOS, MONÓCITOS, EOSINÓFILOS, BASÓFILOS E BASTONETES ENCONTRADAS NOS SAGUIS DE TUFO PRETO.30

TABELA 2: ALTERAÇÕES SÉRICAS DE ALT, AST, ALBUMINA E PROTEÍNA TOTAL ENCONTRADAS NA ANÁLISE DO PERFIL HEPÁTICO BIOQUÍMICO DOS ANIMAIS.....30

TABELA 3: PORCENTAGEM DE ANIMAIS QUE APRESENTARAM QUADRO SUGESTIVO DE HEPATITE NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO.....31

TABELA 4: ALTERAÇÕES HEPÁTICAS ULTRASSONOGRÁFICAS SUGESTIVAS DE HEPATITE E A PORCENTAGEM DE SAGUIS DE TUFO PRETO QUE AS APRESENTARAM.32

TABELA 5: LESÕES SUGESTIVAS DE HEPATITE AO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO E O NÚMERO DE INDIVÍDUOS QUE AS APRESENTARAM NA PRIMEIRA COLETA.35

TABELA 6: LESÕES SUGESTIVAS DE HEPATITE AO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO E O NÚMERO DE INDIVÍDUOS QUE AS APRESENTARAM NA SEGUNDA COLETA.....35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	PRIMATAS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS	13
2.2	INFECÇÃO POR <i>P. AMAZONENSIS</i> NOS PRIMATAS DA ESPÉCIE <i>C. PENICILLATA</i> MANTIDOS NO CPUNB	16
2.3	TREMATÓDEOS E SUA PATOGENIA	17
2.3.1	<i>Aspectos gerais</i>	17
2.3.2	<i>Aspectos gerais e classificação taxonômica do <i>Platynosomum amazonensis</i></i>	19
2.3.3	<i>Patogenia da <i>Fasciola sp.</i> como modelo para <i>P. amazonensis</i></i>	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	LOCAL DA PESQUISA	24
3.2	ANIMAIS ENVOLVIDOS NA PESQUISA	24
3.3	PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO DO PROJETO	25
3.4	TRATAMENTOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DURANTE O PROJETO	25
3.5	COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS	25
3.5.1	<i>Contenção física e química</i>	25
3.5.2	<i>Exame clínico</i>	26
3.5.3	<i>Coleta de sangue</i>	26
3.5.4	<i>Coleta de fezes</i>	26
3.5.5	<i>Exame ultrassonográfico</i>	26
3.6	ANÁLISE DO MATERIAL BIOLÓGICO COLETADO	26
3.6.1	<i>Análise sanguínea</i>	26
3.6.2	<i>Análise do tempo de sangramento e aumento hepático através de palpação</i>	27
3.6.3	<i>Análise dos exames coproparasitológicos</i>	27
3.6.4	<i>Análise ultrassonográfica</i>	28
3.6.5	<i>Ranking de saúde dos animais</i>	28
4	RESULTADOS	29
4.1	ANIMAIS EXPERIMENTAIS	29
4.2	TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS	29
4.3	LEUCOGRAMA E ERITROGRAMA	29
4.4	COAGULAÇÃO SANGUÍNEA	30
4.5	PERFIL BIOQUÍMICO HEPÁTICO	30
4.6	EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS	31
4.7	IMAGENS ULTRASSONOGRÁFICAS ASSOCIADAS AO AUMENTO HEPÁTICO À PALPAÇÃO	31
4.8	RANKING DE SAÚDE	34
5	DISCUSSÃO	36
6	CONCLUSÃO	42
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

Primates são criados em cativeiro em basicamente três situações: animais de estimação, de exposição ou em criadouros como animais experimentais (RIBEIRO et al., 2007). A ampla utilização de símios como modelos experimentais se deve a sua proximidade genética com os humanos, que resulta em similaridades de várias ordens. Estas semelhanças se refletem na grande lista de zoonoses que estes dois taxa compartilham, na estrutura esquelética e na maneira com que esta cresce e se desenvolve, nas características sanguíneas, nos modelos dentários, no controle neural dos mecanismos de locomoção, e no processo de envelhecimento, entre outros (VILENSKY, 1988; WILLIAMS & BOWDEN, 1984).

Para que primatas submetidos a experimentos possam ser utilizados com a máxima eficácia e mínimas alterações nos resultados finais dos estudos é necessária a manutenção da fisiologia normal de cada espécie, além de possuírem características genéticas e sanitárias avaliadas regularmente, visando assegurar padrões pré-estabelecidos (MAJEROWICZ, 2005). Logo, animais com estado de saúde prejudicado por infecções, deficiências nutricionais, perda de peso, entre outros problemas comumente vistos, além de não fornecerem resultados confiáveis para uma pesquisa, tem maiores possibilidades de óbito. Cada animal que morre gera uma perda científica e econômica, assim como a necessidade de obtenção de um novo animal possuidor das características genéticas e sanitárias necessárias para substituí-lo. Sempre que um novo animal é inserido no biotério ou cativeiro o risco de transmissão de doenças aumenta, mesmo com a realização da quarentena, elevando então, o risco de novas mortes.

O Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUnB), mantém em cativeiro três espécies de primatas neotropicais: *Callithrix penicillata*, *Saimiri ustus*, *Cebus libidinosus*. Nas imediações do Centro encontram-se também populações silvestres de *Callithrix penicillata* e de *Alouata caraya*. Os animais da espécie *Callithrix penicillata* vem sofrendo com infecção por trematódeos desde o segundo semestre de 2006, quando foi registrada uma sequência de óbitos nos animais desta espécie e, após a necropsia, em dois destes animais foi encontrado o trematódeo no exame histopatológico do fígado. Em janeiro de 2007 foi iniciado o acompanhamento dos animais com exames de fezes mensais e necropsia dos animais que morreram.

Nos exames de fezes foram detectados ovos de trematódeos, e na inspeção da vesícula biliar dos animais que morreram, foi observado o parasito adulto. Segundo dados fornecidos pela Coordenadora de calitriquídeos do Centro de Primatologia, Marília Barros, relata que desde 2007 até julho de 2012 foram registradas 120 mortes de *Callithrix penicillata*, sendo que 27 destes animais apresentaram lesões hepáticas sugestivas de infecção por trematódeo à necropsia.

Ao fim do estudo, Melo (2008) identificou o gênero do trematódeo como *Platynosomum* sp.; posteriormente em 2012 a espécie foi identificada como *Platynosomum amazonensis* pelo Dr. Gino Chaves da Rocha do Laboratório de Parasitologia Veterinária e Doenças Parasitárias (LPVDP), da Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade de Brasília (FAV/UnB) em parceria com o Laboratório de Helminhos Parasitos de Vertebrados (LHPV), do IOC-Fiocruz/RJ representados pela Dra. Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire e pelo Dr. Marcelo Knoff. Esta espécie é do grupo dos trematódeos digenéticos, que possuem como hospedeiro intermediário (HI) principalmente moluscos terrestres. Há pouca informação sobre a relação parasito-hospedeiro quando se fala de trematódeos infectando primatas, mas sabe-se que após infectarem o hospedeiro definitivo (HD) a maior parte dos parasitos são encontrados na vesícula biliar e ductos biliares, alimentando-se de muco e bile. Infestações leves são pouco patogênicas, mas infestações maciças resultam em espessamento pronunciado dos ductos biliares e compressão traumática dos tecidos adjacentes, podendo ser associado a degeneração gordurosa e vacuolização das células hepáticas (KUNTZ, 1972).

Definir a patogenia de determinada infecção ainda não completamente esclarecida, como em nosso caso, é um desafio clínico onde é necessário conhecimento das técnicas de coleta de material biológico, estudo da fisiopatogenia comparada entre parasitos e hospedeiros e domínio das técnicas de análise laboratorial do material biológico na espécie em questão. Considerando estas questões, este estudo avaliou as alterações clínicas causadas pelo *Platynosomum amazonensis* na espécie de primata brasileiro, *Callithrix penicillata*, através de parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos, além de exames ultrassonográficos do fígado dos animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRIMATAS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS

Primatas foram pouco utilizados como modelo experimental até o final do século XIX. Apenas no século XX que os trabalhos de Landsteiner e Popper indicaram a utilidade destes animais no apoio às pesquisas. Entretanto, estes estudos não foram suficientes para impulsionar o desenvolvimento da primatologia naquela época (PISSINATI & ANDRADE, 2010). A valorização deste mercado só teve início com as descobertas e o aprimoramento das vacinas contra poliomielite nas décadas de 1950 e 1960, quando houve considerável crescimento científico e uma consequente motivação na criação de primatas em cativeiro e seu uso nas pesquisas (SALK et al., 1953).

No princípio da primatologia, a falta de conhecimento sobre manejo e riscos de contaminação com zoonoses causou perda do pessoal envolvido na criação de primatas. Essas perdas foram atribuídas, principalmente, a agentes virais letais, como ocorrido com o herpesvírus B, vírus Marburg (KISSLING et al., 1968; HULL, 1973; PALMER, 1987) e o vírus da hepatite (HILLIS, 1961). A partir destes episódios teve início a criação das normas rígidas de biossegurança e biosseguridade, tanto nos centros de primatologia quanto em qualquer outro estabelecimento que tivesse contato com os primatas ou com o material biológico deles retirado (PISSINATI & ANDRADE, 2010). Atualmente sabe-se que dentre os animais que transmitem zoonoses, os primatas apresentam a maior lista de doenças infecciosas de risco para os seres humanos (TUEBRA & DUNTHORN, 2012).

Este fato pode ser atribuído tanto à ampla distribuição geográfica destes animais, quanto a sua proximidade genética com os homens. Somado aos dois fatores citados anteriormente, a própria proximidade física entre primatas e humanos, provocada pela criação destes em cativeiro como modelos experimentais, já favorece um aumento na transmissibilidade de doenças entre os dois taxa. Nestes casos há maior possibilidade de contato entre fluidos corporais, fezes, saliva, sangue e, como estes são os principais meios de contaminação, o risco de infecção é alto em ambientes divididos por primatas e humanos (OIE, 2008; RIBEIRO et al., 2007).

A proximidade filogenética entre primatas não humanos (PNH) e o homem pode ser evidenciada na sua suscetibilidade a patologias comuns e nas características anatômicas, comportamentais e bioquímicas. A anatomia do sistema motor e esquelético, o sistema nervoso, o processo de envelhecimento e as características sanguíneas são exemplos de funções fisiológicas similares entre estes dois taxa. (VILENSKY, 1988; WILLIAMS & BOWDEN, 1984). Outra evidência do parentesco evolutivo entre PNH e homens é a similaridade da bioquímica cefálica (LEWIS et al., 1986) e das estruturas neurais (CARMICHAEL & PRICE, 1994). Estas características tornam os símios um dos modelos experimentais mais adequados para pesquisas biomédicas.

O gênero *Macaca*, formado por primatas do velho mundo, representa a maior parte dos primatas utilizados em pesquisas biomédicas. As principais espécies utilizadas, *M. mulatta*, *M. fascicularis* e *M. nemestrina* (GARDNER, 2008), tem origem asiática (NAPIER & NAPIER 1985), são onívoros e se adaptam bem em cativeiro. Outros primatas não humanos da África, (*Cercocebus atys*, babuínos e chimpanzés) também são utilizados em pesquisas (GARDNER, 2008). Dentre os primatas do velho mundo a espécie *M. mulatta* é mais encontrados na literatura quando tratamos de pesquisas biomédicas envolvendo PNH. Os macacos rhesus participaram de pesquisas sobre Doença de Parkinson (BORAUD et al., 1996), testes de vacinas para AIDS (WHITNEY & RUPRECHT, 2004), entre outros.

Há um crescente interesse na utilização de primatas neotropicais como modelos experimentais devido à sua capacidade de adaptação e à facilidade de reprodução em cativeiro. Seu pequeno tamanho diminui as doses necessárias para obtenção dos efeitos biológicos esperados em experimentos farmacológicos. Além disso, o fato de que podem viver em famílias dentro dos recintos, o fácil manejo e uma lista menor de zoonoses tornou esta família de primatas uma das menos caras de se manter em cativeiro (ABBOT, 2003; HUFF, 2003). Tais características influenciaram tanto no crescimento da utilização destes gêneros de primatas que Abbot (2003) relata um aumento de publicações utilizando saguis como modelos experimentais, entre os anos de 1990 e 2000 o número de publicações foi 40 vezes maior que as publicações feitas entre os anos de 1960 e 1970. Dentro deste grupo os animais mais utilizados para desenvolvimento de pesquisas são *Callithrix jacchus*, *Saimiri* sp., *Aotus* sp. e *Callicebus cupreus* (TARDIF et al., 2006).

Calitriquídeos vem sendo utilizados em estudos promissores como modelos experimentais em várias áreas de pesquisa biomédica, inclusive estudos helmintológicos. Warren & Simoes-jr (1966) desenvolveram uma pesquisa utilizando calitriquídeos para avaliar a resistência destes animais à infecção por *Schistosoma mansoni*, Denham et al. (1989) os utilizaram para infecções experimentais por *Brugia pahangi* e *B. malayi*, Melo (2011) utilizou *C. penicillata* como modelo experimental para infecção por estrogiloidíase e Maetz-reensing et al. (2012) estudaram a patologia da infecção experimental por poxvirus em *C. jachus*. A utilização de espécies de calitriquídeos como modelos experimentais em pesquisas biomédicas enfatiza a importância de expandir nosso conhecimento sobre os parasitas naturais desses animais, sabendo que existe a possibilidade de interferência em experimentos nos quais saguis são utilizados, uma vez que esses platirrinos são comumente parasitados por diversas espécies de helmintos (ORIHÉL, 1970; POTKAY, 1992; MELO, 2004).

O Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUUnB), foco do nosso estudo, sito à Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília(FAL), no município de Vargem Bonita, acerca de 25 km do centro de Brasília foi fundado em 1978 e seu plantel inicial era formado por *C. penicillata* e *C. jacchus*. Atualmente o CPUUnB é um centro de pesquisa credenciado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) para fins científicos com a finalidade de manter e criar primatas neotropicais para o desenvolvimento de pesquisas comportamentais e biomédicas. Lá são mantidos em cativeiro quatro espécies de primatas neotropicais: *C. penicillata*, *Saguinus midas*, *Saimiri ustus*, *Cebus libidinosus* e nas imediações do Centro encontram-se também populações silvestres de *C. penicillata* e de *Alouata caraya*. O CPUUnB tem caráter multidisciplinar com um equipe formada por profissionais das áreas psicologia, medicina, medicina veterinária, biologia e farmácia. As pesquisas lá desenvolvidas envolvem enriquecimento ambiental, neuropsicofarmacologia do medo e ansiedade, mecanismo de ação de drogas psicoativas, farmacodependência, neurociências e comportamento para o desenvolvimento de processos de aprendizagem e memória entre outras.

2.2 INFECÇÃO POR *P. amazonensis* NOS PRIMATAS DA ESPÉCIE *C. penicillata* MANTIDOS NO CPUUnB

Os animais da espécie *C. penicillata*, mantidos no CPUUnB, vem sofrendo com infecção por trematódeos desde o segundo semestre de 2006, quando foi registrada uma sequência de óbitos de animais desta espécie e, após a necropsia, em dois destes animais foi encontrado o trematódeo no exame histopatológico do fígado. Em janeiro de 2007 foi iniciado o acompanhamento dos calitriquídeos do CPUUnB com exames de fezes realizados mensalmente e necrópsia dos animais que morreram. Nos exames de fezes foram detectados ovos de trematódeos, e na inspeção da vesícula biliar à necrópsia, foi observado o parasito adulto. Ao fim desse estudo o parasito foi identificado como *Platynosomum* sp. (MELO, 2008). Os médicos veterinários responsáveis pelo CPUUnB relatam que atualmente os animais da espécie *C. penicillata* continuam sendo parasitados pelo trematódeo agora identificado como *Platynosomum amazonensis* pelo Dr. Gino Chaves da Rocha do LPVDP, da FAV/UnB LHPV, do IOC-Fiocruz/RJ representados pela Dra. Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire e pelo Dr. Marcelo Knoff. Em dados fornecidos pela Coordenadora de Saguis do Centro de Primatologia, Marília Barros, observa-se que o índice de óbitos de animais parasitados é alto e a frequência é maior no verão, tal peculiaridade pode ser explicada pelo ciclo do trematódeo que necessita de água para completar o seu ciclo biológico de forma mais eficiente e rápida. Desde 2007 a julho de 2012 foram registradas 120 mortes, 45 na estação seca e 75 na estação chuvosa. Destes animais, 27 apresentaram lesões hepáticas sugestivas de infecção por trematódeo à necropsia.

2.3 TREMATÓDEOS E SUA PATOGENIA

2.3.1 Aspectos gerais

A ordem Digenea compreende aproximadamente 18.000 espécies nominais, esse elevado número gera discussões em torno da possibilidade deste ser o maior grupo de parasitos metazoários internos (CRIBB et al., 2001). Os trematódeos digenéticos parasitam a maior parte dos vertebrados como hospedeiro definitivo (HD) e tem como primeiro hospedeiro intermediário (HI) gastrópodes e outros grupos de moluscos e utilizam diferentes filios como segundo HI (OLSON et al., 2003). Todos os trematódeos que parasitam cães, gatos, ruminantes equinos e suínos são dessa Ordem, por isso a sua maior importância na Medicina Veterinária (BOWMAN et al., 2006).

A Classe Trematoda pertence ao Filo Platyhelminthes, composto também pelas Classes Tubellaria e Cestoda. Os representantes deste Filo são achatados dorsoventralmente, possuem o corpo tipicamente flexível e são hermafroditas (BOWMAN et al., 2006). As espécies da Classe Trematoda possuem a forma típica de folha e são organismos exclusivamente parasitários, podendo ser endo ou ectoparasitas. Os espécimes adultos possuem sistema tegumentar não ciliado e o corpo não segmentado é recoberto por cutícula. Podem possuir uma ou mais ventosas conhecidas como ventosa oral, ventosa ventral (ou acetábulo) e ventosa genital. Possuem sistema digestório, geralmente, incompleto. São usualmente hermafroditas e podem ter ciclo evolutivo direto ou indireto (NEVES et al., 1995). Esta classe é dividida em três Ordens Monogenea, Aspidogastrea e Digenea. As duas primeiras tem ciclo evolutivo direto e são parasitas de animais aquáticos e anfíbios.

Os trematódeos digenéticos também apresentam diversas espécies que ocorrem tanto em humanos como em animais, em diferentes países do mundo, devido a esse caráter zoonótico estes vermes também são de extrema importância na Medicina Humana. Os principais representantes da Ordem Digenea são *Fasciola hepatica*, *Eurytrema* sp. e *Schistosoma* sp. (FAUST, 1958). Quando atingem a maturidade sexual estes parasitos tem como principal característica externa a presença do acetábulo (ou ventosa ventral) que deu a essa Classe o nome de Trematoda (Trematos = “dotado de buracos”). O corpo é recoberto por uma cutícula

de natureza acelular possivelmente de origem mesenquimal e pode se apresentar de forma lisa, com espinhos, escamas ou cerdas. A camada muscular é fina e se encontra abaixo da cutícula. Abaixo da camada muscular, preenchendo todo o espaço interno, encontra-se o mesênquima (ou parênquima). É no parênquima que encontram-se os sistemas digestório, reprodutor, excretor e nervoso (NEVES, 1995).

Os trematódeos da família Dicrocoeliidae são os mais comuns reportados em PNH. Estes parasitos tem fisiopatogenia semelhante a dos outros trematódeos de vesícula biliar, como a *Fasciola* sp. e sua principal característica parasitológica é habitar os tecidos hepáticos do hospedeiro definitivo quando jovens e os ductos biliares quando adultos causando proliferação do epitélio biliar. Nas infecções severas há espessamento pronunciado dos ductos biliares e compressão traumática dos tecidos adjacentes, podendo estar associado a degeneração gordurosa e vacuolização das células hepáticas (KUNTZ, 1972).

O ciclo biológico da família Dicrocoeliidae é semelhante ao da *Fasciola hepática* (Figura 1) (THATCHER, 1993) podendo apresentar variações entre espécies. A *F. hepatica* possui como HI moluscos terrestres. Os parasitos adultos habitam os ductos biliares do HD onde depositam seus ovos. Esses ovos são transportados para a luz do intestino juntamente com o suco biliar. Após alcançarem o intestino eles são excretados nas fezes. No meio externo, quando o ovo entra em contato com a água, se formam, em seu interior, os miracídios. O miracídio estará completamente desenvolvido e pronto para eclodir dentro de duas a quatro semanas na época de verão. Após a eclosão o miracídio nada até encontrar uma espécie de caracol adequada que será seu HI. No HI o miracídio migra para trato digestório onde forma o esporocisto. Dentro de cada esporocisto formam-se as rédias que crescem até atingirem tamanho suficiente para romper a parede do esporocisto e se deslocarem livremente pelos tecidos do caracol. As rédias originarão as cercárias que se desenvolverão em metacercárias por dois caminhos distintos. O primeiro caminho acontece quando o caramujo não é ingerido pelo HD: quando as cercárias estão completamente desenvolvidas dentro de um mês, se o clima for quente, elas saem do caramujo e alcançam a água onde buscam manter-se sobre alguma superfície o mais rápido possível; é nessa superfície que elas irão se transformar em metacercárias, forma infectante do trematódeo. O outro caminho para o desenvolvimento das metacercárias acontece quando o caramujo é ingerido pelo

HD, nesse caso as metacercárias irão se formar no intestino delgado do HD e migrar para o parênquima hepático na fase jovem até alcançarem a vesícula biliar através dos ductos biliares na fase adulta. (BOWMAN et al., 2006).

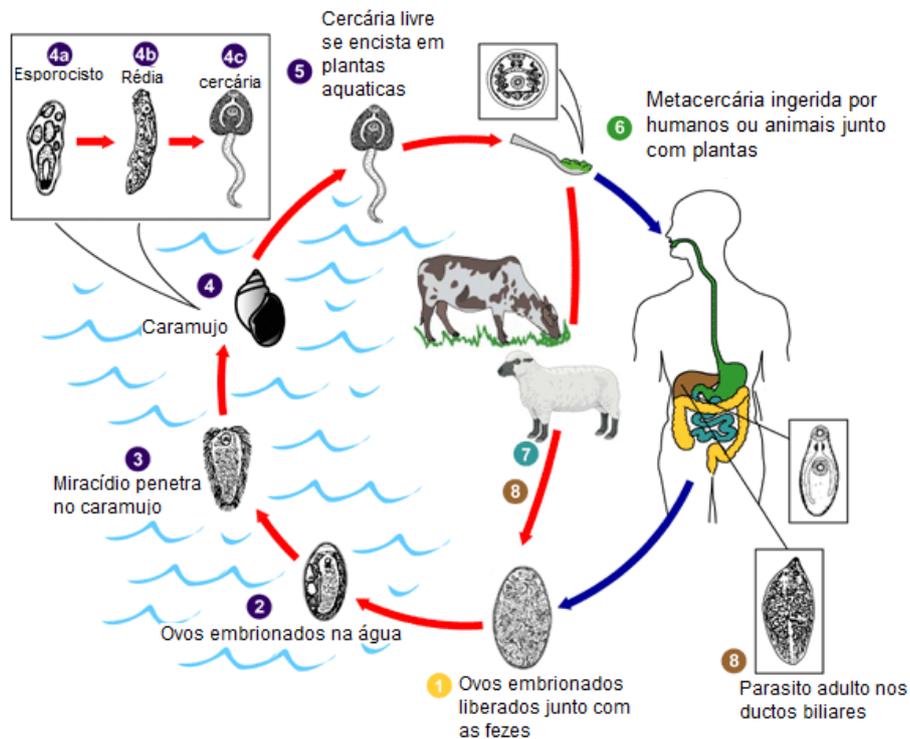


Figura 1: Ciclo biológico da *Fasciola hepatica*.

Fonte: www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Fascioliasis.htm

2.3.2 Aspectos gerais e classificação taxonômica do *Platynosomum amazonensis*

A espécie *P. amazonensis* (figura 2) foi descrita por Kingston e Cosgrove (1967) através de pesquisas parasitológicas em primatas do novo mundo, provenientes da bacia amazônica, utilizados em estudos laboratoriais. Foram encontrados trematódeos da Família Dicrocoeliidae nos ductos biliares, intestino e vesícula biliar de *Callimico goeldii* e *Saguinus nigricollis*. Os espécimes foram atribuídos ao gênero *Platynosomum* e descritos, posteriormente, como *P. amazonensis* e *P. marmoset*.

Após ser identificado o *P. amazonensis* foi relatado parasitando primatas da espécie *S. mystax* (TANTALEAN et al., 1990), *C. geoffroyi* (MELO, 2004) e em *C.*

jacchus (PORTER, 1972; POTKAY, 1992) mantidos em cativeiro. Segundo Kingston & Cosgrove (1967) o *P. amazonensis* possui corpo alongado e elipsoidal (Figura 3) e seus ovos tem coloração marrom escuro, são operculados, a casca é grossa e contém o miracídio completamente desenvolvido.

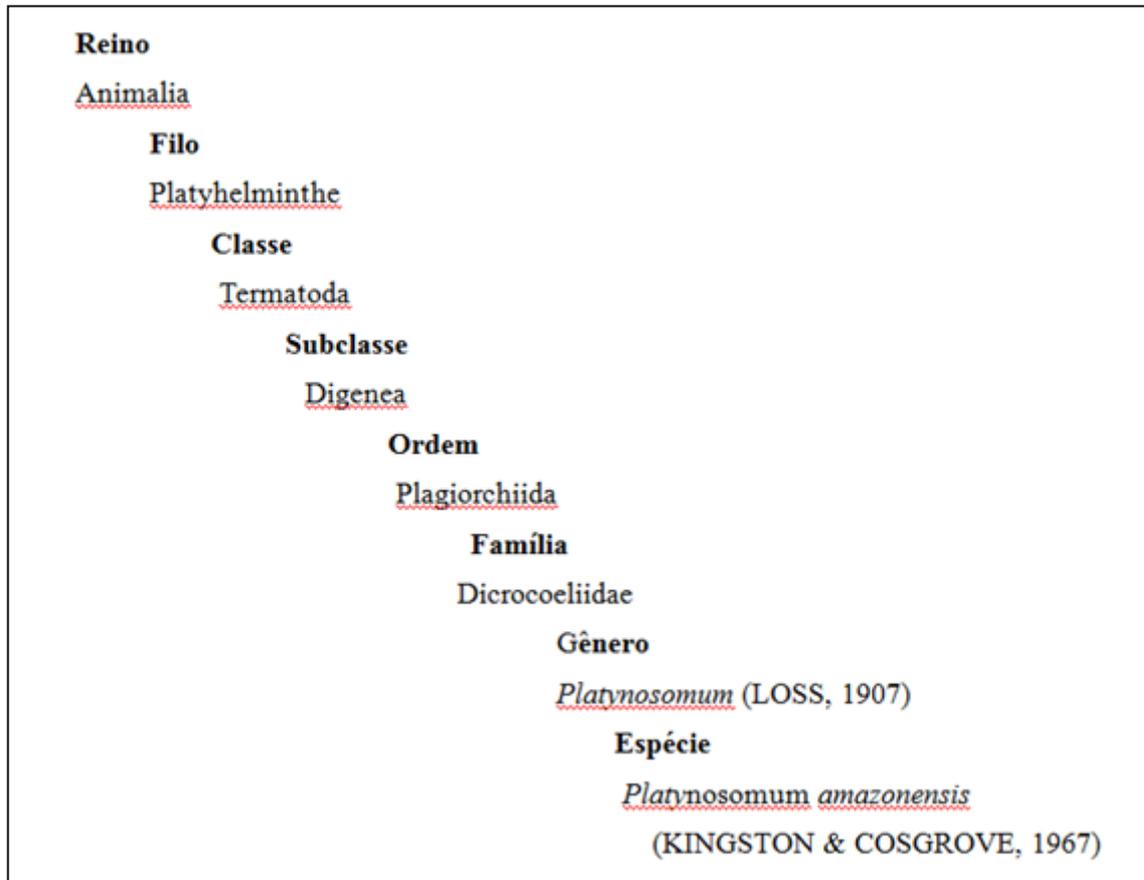


Figura 2: Esquema representando a classificação taxonômica do *Platynosomum amazonensis*.

Figura 3: Ilustração mostrando as características morfológicas do *Platynosomum amazonensis*. (Vo); esôfago (Es); faringe (Fa); ceco (Ce); poro genital (Pg); bolsa de cirro (Bc); testículos (T); ovário (Ov); glândulas de Mehlis (Gm); vitellaria (Vi); vitelodutos (Vd); útero (Ut); poro excretor (Pe); bexiga excretora (Be).

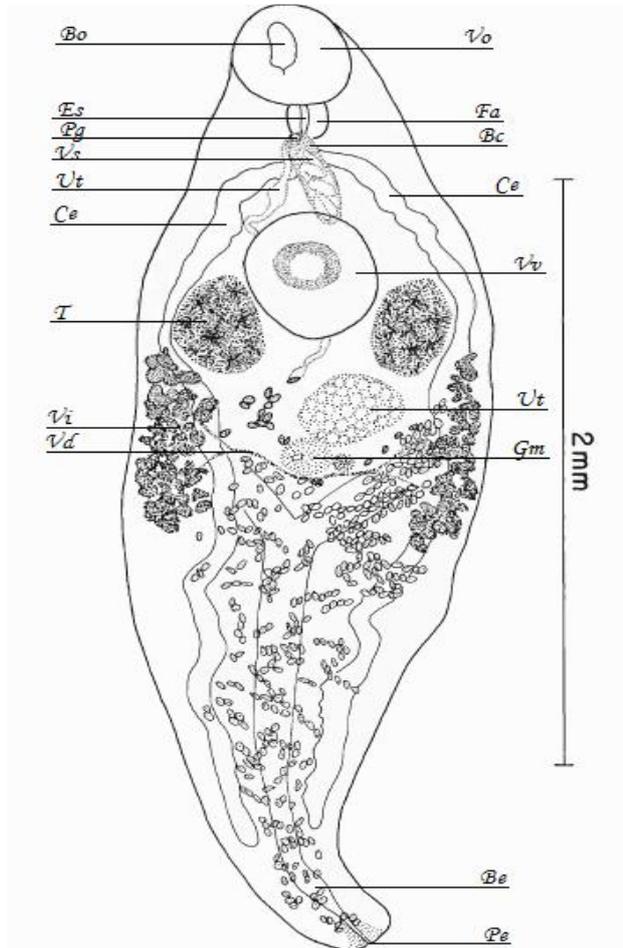


Figura 4: Ilustração mostrando as características morfológicas do *Platynosomum amazonensis*. (Vo); esôfago (Es); faringe (Fa); ceco (Ce); poro genital (Pg); bolsa de cirro (Bc); testículos (T); ovário (Ov); glândulas de Mehlis (Gm); vitellaria (Vi); vitelodutos (Vd); útero (Ut); poro excretor (Pe); bexiga excretora (Be).

Fonte: Kingston & Cosgrove (1967)

2.3.3 Patogenia da *Fasciola* sp. como modelo para *P. amazonensis*

A *F. hepatica* e a *F. gigantica* são parasitos com distribuição mundial relatada em seres humanos e diversas espécies de animais, principalmente ovinos, bovinos e búfalos em diversos países. Estas espécies são os principais parasitos causadores de doenças hepáticas em animais que habitam regiões temperadas e tropicais, respectivamente (ROBINSON & DALTON, 2009). Em humanos a fasciolose é reconhecida como uma importante doença zoonótica emergente (KEISER & UTZINGER, 2005).

A fisiopatogenia da *Fasciola* sp. pode ser comparada a dos outros trematódeos que parasitam fígado e ductos biliares de seus diferentes hospedeiros definitivos, pois sua principal característica é a destruição do parênquima hepático. Como as funções deste órgão são semelhantes em humanos e animais espera-se que ao ser lesionado as manifestações clínicas sejam semelhantes. A patogenia deste parasito é descrita em diversos estudos em seus diferentes HD nos quais as características da infecção são similares. Em humanos El-kholy et al. (2008) desenvolveram um estudo onde foram avaliadas 30 pessoas infectadas por *Fasciola* sp., sendo que 15 delas se encontravam em estágios crônicos da fasciolose e as outras 15 se encontravam na fase aguda da infecção. Todos os indivíduos foram submetidos aos seguintes exames laboratoriais, leucograma, eritrograma, exame coproparasitológico e estudo bioquímico com análise da função hepática por meio do nível sérico das enzimas AST, ALT e GGT. Nos resultados os pacientes, tanto na fase aguda quanto crônica, apresentaram anemia, leucograma característico de infecção com leucocitose e eosinofilia, níveis séricos de ALT, AST e GGT aumentados nos pacientes na fase aguda e normais nos pacientes com quadro crônico e identificação dos ovos do parasito ao exame coproparasitológico.

Kaya (2011) desenvolveu um estudo com humanos infectados por *F. hepatica* e relatou como principais alterações hematológicas anemia, leucocitose, aumento de ALT e AST e eosinofilia nos indivíduos em que a infecção estava na fase aguda. Em semelhante trabalho Fica et al. (2012) também observaram leucocitose e severa eosinofilia em humanos com fasciolose aguda.

Marcos (2008) descreve as mesmas alterações laboratoriais descritas por El-kholy (2008) em 10 pacientes com infecção por *Fasciola* sp. submetidos aos mesmos exames. Descreve também as lesões hepáticas causadas pelo parasito em imagens tomográficas onde a presença de cistos hepáticos (Figura 4A) em pacientes com quadro agudo corresponde ao local onde a forma jovem do parasito se alojou antes de migrar para a vesícula biliar. Na forma crônica o estudo mostrou a associação da fasciolose com a formação de focos de calcificação (Figura 4B) no parênquima hepático e quadro sugestivo de fibrose hepática.

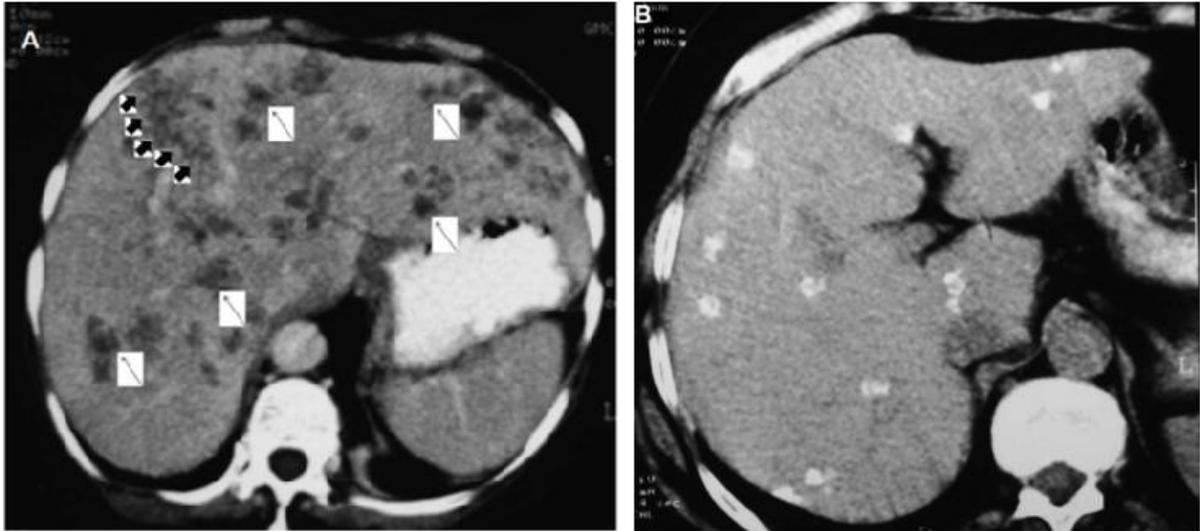


Figura 5: Imagens hepáticas capturadas por tomografia computadorizada mostrando alterações causadas pela *Fasciola hepatica* em humanos. (A) Setas indicando áreas hipodensas correspondentes á cistos hepáticos. (B) Focos de fibrose em tomografia realizada após 11 meses de tratamento.

Fonte: Marcos, 2008

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DA PESQUISA

O projeto foi desenvolvido no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília onde os primatas ficam distribuídos em três galpões. O galpão dos calitriquídeos fica situado em meio à vegetação local de cerrado e próximo à mata de galeria. Na entrada encontra-se uma antessala com uma mesa de procedimentos, armários e pias, separada do restante do galpão por um portão gradeado, onde são realizados procedimentos médicos de rotina. O galpão é dividido em dois corredores de recintos cada um com 12 viveiros separados por um corredor de segurança. Em cada viveiro vivem dois a três indivíduos, normalmente casais ou famílias. As paredes que separam os viveiros são de concreto (Figura 5A), as portas dos recintos são gradeadas e ficam voltadas para o corredor de segurança (Figura 5A), as outras áreas dos viveiros são gradeadas. Cada viveiro possui um bebedouro, poleiros e um ninho. Por serem gradeados, os viveiros permitem que os saguis tenham contato com animais de vida livre (Figura 5B).



Figura 6: Fotos dos Recintos e viveiros onde são mantidos os saguis de tufo preto no Centro de Primatologia da UnB.

Fonte: Melo (2008)

3.2 ANIMAIS ENVOLVIDOS NA PESQUISA

Durante o projeto foram submetido aos procedimentos um total de 24 animais. Destes 24 animais 20, 10 machos e 10 fêmeas, foram capturados e examinados

tanto na primeira quanto na segunda coleta fornecendo 40 amostras de material para análise. Os outros quatro animais participaram ou da primeira ou da segunda coleta e por isso seus resultados não entraram na análise de dados

3.3 PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO DO PROJETO

As coletas foram realizadas em duas épocas do ano. A primeira foi no mês de agosto de 2011 e a segunda coleta foi no mês de fevereiro de 2012.

3.4 TRATAMENTOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DURANTE O PROJETO

Os tratamentos realizados no período do projeto foram feitos pelo pessoal do CPUnB de forma independente ao projeto. Na primeira fase do projeto foram feitos dois tipos de tratamentos. O primeiro foi feito por três dias consecutivos nos dias 11, 12 e 13 de julho com o vermífugo Nitoxozanida de nome comercial. O segundo tratamento foi feito nos dias 01, 02 e 03 de agosto, e neste tratamento os animais dos viveiros um ao 12 foram vermifugados com Praziquantel e os animais dos viveiros 13 ao 24 foram vermifugados com Nitoxozanida.

Na segunda fase do projeto, realizada em fevereiro de 2012, o tratamento foi dividido em três etapas utilizando o vermífugo Ricobendazole. O primeiro tratamento foi feito no dia 18 de janeiro, o segundo tratamento no dia 26 de janeiro e o terceiro tratamento foi feito no dia 27 de março, a última aplicação só foi feita nos animais que continuaram positivos para a parasitose nos exames realizados após o segundo tratamento.

3.5 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

3.5.1 Contenção física e química

Todos os animais foram contidos, inicialmente, de forma manual com uso de puçá de contenção e auxílio de luvas de raspa de couro, em seguida foi realizada a contenção química com Cetamina 20mg/kg adicionada de 1mg/kg de xilazina (FASANO, 2010; MONTEIRO et al., 2010), os animais são pesados mensalmente e a dosagem foi calculada com o peso da última pesagem de rotina e após a anestesia, cada animal era pesado novamente para a coleta de sangue. Os animais foram monitorados clinicamente durante o período trans-anestésico (aferições de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura a cada 5 minutos).

3.5.2 Exame clínico

No exame clínico foi avaliado estado nutricional do animal; mucosa ocular, oral, e peniana/vaginal; linfonodos; cavidade oral e saúde dentária; temperatura; e peso. Além disso foi analisado o tempo de sangramento e feita a palpação hepática para identificação dos animais com fígado aumentado.

3.5.3 Coleta de sangue

O sangue foi coletado por punção da veia femoral no complexo arteriovenoso da região inguinal, com seringa de três mL e agulha 25x6. A coleta não ultrapassou o limite máximo 1% do peso vivo do animal. Assumindo-se um peso médio adulto nesta espécie como 300g, o limite máximo de coleta estabelecido foi de três mL de sangue.

3.5.4 Coleta de fezes

A coleta das fezes foi feita pelo pessoal do CPUnB em forma de “pool” por viveiro, portanto quando o resultado era positivo todos os animais do viveiro eram considerados positivos para a parasitose. No dia da coleta o chão de cada recinto era forrado com plástico limpo antes da alimentação, após aproximadamente duas horas as fezes eram recolhidas e armazenadas em novos sacos plásticos limpos, identificados e mantidos em isopor com gelo ou na geladeira até chegarem ao laboratório onde eram analisados.

3.5.5 Exame ultrassonográfico

O ultrassom hepático foi realizado com aparelho de ultrassom Mylab Vet acoplado a um transdutor de 12 Mhz e para o exame os o animais foram posicionados em decúbito dorsal.

3.6 ANÁLISE DO MATERIAL BIOLÓGICO COLETADO

3.6.1 Análise sanguínea

Após a colheita do sangue 1,5 ml era depositado em microtubo tipo eppendorf heparinizado, para realização da contagem de células brancas e vermelhas. O restante do sangue era colocado no tubo de sangue para bioquímico, os tubos eram acondicionados em isopor com gelo até chegarem ao laboratório de Patologia

Clínica da UnB. O sangue para bioquímico era dessorado na centrífuga a 7.000 rpm durante 15 minutos, o soro foi utilizado para a análise bioquímica do perfil hepático, foram aferidos os níveis séricos de ALT, AST, proteína total e albumina, os exames foram realizados com kit comerciais Labtest® e o uso de um Espectrofotômetro BIO 2000 semi-automático.

Com o sangue com anticagulante foi realizado o leucograma e eritrograma com contagem manual de células vermelhas e brancas obtidas em câmaras de Neubauer, bem como o hematócrito, obtido por centrifugação do sangue em capilares. Destes valores foram calculados os seguintes índices: hemoglobina corpuscular média (HCM); volume corpuscular médio (VCM); e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O leucograma foi feito com esfregaço de sangue e coloração pelo método panótipo, após esse procedimento era feita a diferenciação leucocitária em 100 células.

3.6.2 Análise do tempo de sangramento e aumento hepático através de palpação

O tempo de sangramento foi analisado após a colheita do sangue. Foi estabelecido um tempo máximo de três minutos para que parasse o sangramento no local da punção sanguínea, neste caso a coagulação primária era considerada normal e classificada como boa, qualquer tempo maior que este classificava a coagulação como ruim.

Para a análise do fígado à palpação foram fornecidos números de acordo com a percepção de aumento hepático ou não. Fígado não palpável recebia o valor zero (normal); fígado detectável, mas não ultrapassando o limite das costelas era classificado como um (levemente aumentado) e quando o fígado era palpável e ultrapassava o limite das costelas era classificado como dois (aumentado).

3.6.3 Análise dos exames coproparasitológicos

Os exames coproparasitológicos foram feitos pelo método de Hoffmann, que consiste em dissolver uma pequena quantidade (2 a 5 gramas) de fezes em água, essa suspensão é coada em uma taça de sedimentação, onde fica por 2 a 24 horas. E com este sedimento se faz uma lâmina que é adicionada de lugol para leitura (Chaves et al., 1979).

3.6.4 Análise ultrassonográfica

A análise das imagens ultrassonográficas da vesícula biliar e do fígado foram realizadas por Marlon Ferrari, Doutorando da Universidade Federal de Goiás. Na avaliação hepática os parâmetros analisados foram biometria, forma, contornos e dimensões do fígado, ecoetextura e ecogenicidade do parênquima hepático, vias biliares intra-hepáticas, vasos hepáticos e portais. A vesícula biliar foi avaliada em seus contornos, dimensões, espessura da parede e conteúdo interno.

3.6.5 Ranking de saúde dos animais

Os animais foram classificados de acordo com seu estado de saúde. Para tanto foram avaliados os resultados do eritrograma, leucograma, das enzimas ALT e AST e da proteína total plasmática como indicadores de condição de saúde em comparação com valores de referência encontrados na literatura. O valor individual de cada parâmetro, para cada animal, foi classificado como aumentado ou diminuído em relação àqueles valores de referência. O limite considerado para definir os valores aumentados ou diminuídos foi a média mais ou menos um desvio padrão, com base nas referências para cada parâmetro. Para cada parâmetro com o valor alterado era atribuído um ponto negativo para o indivíduo, que recebia uma pontuação final resultante da soma dos pontos de todos os parâmetros. A partir da pontuação final dos animais foi calculada a média e o desvio padrão do somatório dos pontos e os animais que apresentaram o número de pontos negativos maiores que o somatório da média com um desvio padrão foram classificados como em estado grave de saúde. O cálculo de média, desvio padrão e a análise de saúde dos animais foram feitos separadamente para cada uma das duas coletas. A coagulação ruim e o aumento hepático à palpação também somavam um ponto negativo ao ranking de saúde.

Monteiro et al. (2010) foi a referência utilizada para análise dos parâmetros de VG. Para analisar o número de hemácias, concentração de hemoglobina por hemácia, VCM, CHCM, HCM, todos as células do leucograma, proteína total plasmática, albumina, AST e ALT a referência utilizada foi Yarbrouh et al. (1984).

4 RESULTADOS

4.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Vinte animais, 10 machos e 10 fêmeas com peso médio de 321,9 gramas variando de 245g a 410g foram capturados e examinados tanto na primeira quanto na segunda coleta.

4.2 TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS

Foram coletadas e analisadas laboratorialmente um total de 40 amostras sanguíneas, 40 imagens hepáticas ultrassonográficas, além de 29 coletas de fezes por animal para exame coproparasitológico. Todos os animais passaram por exame clínico na primeira e na segunda coleta assim como pela avaliação de palpação hepática e análise do tempo de sangramento.

4.3 LEUCOGRAMA E ERITROGRAMA

Na análise do eritrograma foi observado anemia em 61,1% e 55% dos animais na primeira e na segunda coleta, respectivamente. Dos casos de anemia 44,4% (na primeira coleta) e 50% (na segunda coleta) apresentaram anemia macrocítica hipocrômica. As alterações observadas no leucograma estão especificadas na tabela 1.

Tabela 1: Alterações de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e bastonetes encontradas nos saguis de tufo preto.

	Primeira coleta (%)	Segunda coleta (%)
Leucopenia	44,4	20
Leucócitose	11,1	30
Neutropenia	38,9	10
Neutrofilia	11,1	65
Linfopenia	50	50
Linfocitose	11,1	5
Monocitose	16,7	20
Eosinofilia	50	20
Basofilia	11,1	10
Desvio à esquerda regenerativo	0	45

4.4 COAGULAÇÃO SANGUÍNEA

Na primeira coleta 42,8% dos animais apresentaram aumento do tempo de sangramento. Na segunda coleta este percentual diminuiu para 25%.

4.5 PERFIL BIOQUÍMICO HEPÁTICO

As alterações encontradas nos níveis séricos de proteína total plasmática, albumina, AST e ALT estão descritas na tabela 2.

Tabela 2: Alterações séricas de ALT, AST, albumina e proteína total encontradas na análise do perfil hepático bioquímico dos animais.

	Primeira coleta (%)	Segunda coleta (%)
Hipoteinemia	16,7	41,2
Hipoalbuminemia	0	15
Aumento sérico de AST	20	5
Diminuição sérica de AST	6,7	55
Aumento sérico de ALT	37,5	10
Diminuição sérica de ALT	37,5	90

4.6 EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS

Das 29 mostras de fezes analisadas para cada viveiro de animais que participaram do projeto apenas um viveiro, com dois animais, obtiveram todos os resultados negativos, os outros 18 animais tiveram pelo menos um resultado positivo com a presença de ovos do *P. amazonensis*.

4.7 IMAGENS ULTRASSONOGRÁFICAS ASSOCIADAS AO AUMENTO HEPÁTICO À PALPAÇÃO

Ao exame de ultrassom a principal alteração encontrada foi um quadro sugestivo de hepatite. As porcentagens de animais que apresentaram este quadro e as principais alterações que indicaram hepatite estão descritas nas tabelas 3 e 4. As imagens ultrassonográficas consideradas normais (Figura 6) apresentaram volume hepático normal, parede da vesícula biliar hipercóica, parênquima hepático com ecotextura hipercóica homogenia ou hipocóica homogenia. As imagens ultrassonográficas sugestivas de hepatite tiveram como principais alterações parênquima hepático com aspecto granuloso (figura 7), cistos hepáticos (figura 8), espessamento da parede da vesícula biliar (figura 8) e focos de fibrose distribuídos pelo parênquima hepático (figura 8). À palpação hepática 27,8% dos animais apresentaram aumento hepático na primeira coleta e 55,5% na segunda.

Tabela 3: Porcentagem de animais que apresentaram quadro sugestivo de hepatite no exame ultrassonográfico.

	Primeira coleta (%)	Segunda coleta (%)
Animais que apresentaram quadro sugestivo de hepatite no exame ultrassonográfico	45	30
Animais que não apresentaram alterações no exame ultrassonográfico	55	70

Tabela 4: Alterações hepáticas ultrassonográficas sugestivas de hepatite e a porcentagem de saguis de tufo preto que as apresentaram.

	Primeira coleta (%)	Segunda coleta (%)
Volume hepático aumentado sugerindo hepatomegalia	20	55
Estruturas hipoecóicas, hiperecóicas e anaecóicas formando estruturas com aspecto de mosaico no parênquima hepático	5	30
Parênquima hepático com aspecto granuloso	40	85
Espessamento da parede da vesícula biliar	5	30
Estruturas anecóicas encapsuladas na região perivesicular sugerindo cistos parasitários	0	15

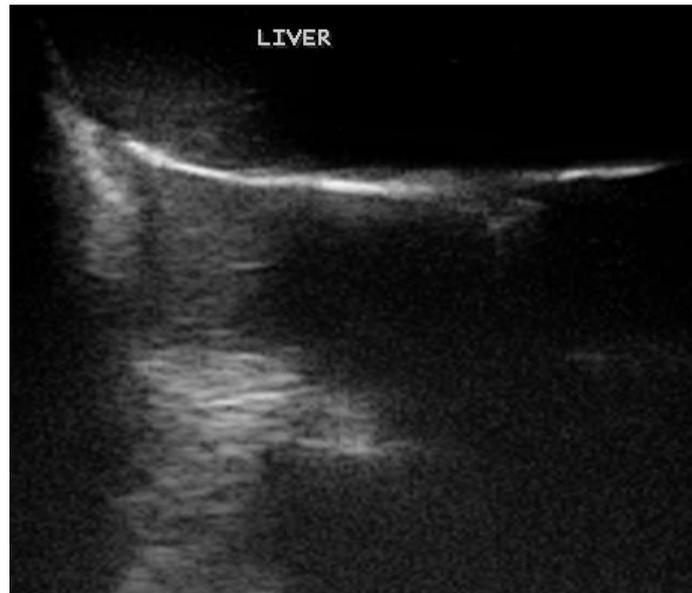


Figura 7: Imagem ultrassonográfica mostrando o Parênquima hepático normal de *C. penicillata* submetido à pesquisa.

Fonte: Marlon Ferrari



Figura 8: Imagem ultrassonográfica mostrando o Parênquima hepático com aspecto granuloso de *C. penicillata* submetido à da pesquisa.

Fonte: Marlon Ferrari

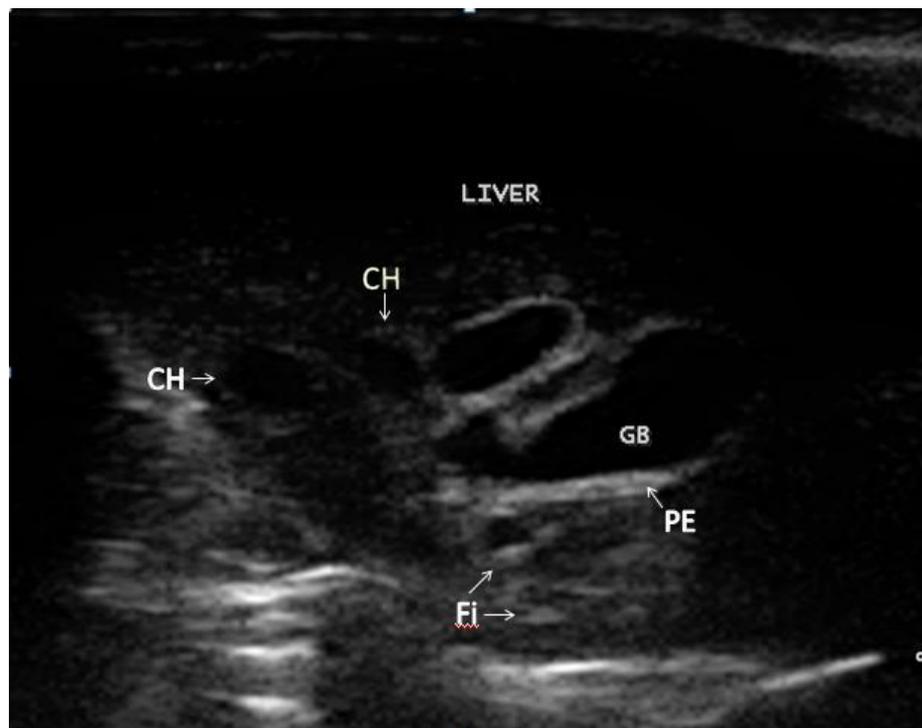


Figura 9: Imagem ultrassonográfica de lesões hepáticas causadas pelo *P. amazonensis* em *C. penicillata* submetido à pesquisa. (CH) cistos hepáticos; (Fi) focos de fibrose no parênquima hepático; (PE) Vesícula biliar com parede espessada; (GB) Vesícula biliar

Fonte: Marlon Ferrari

4.8 RANKING DE SAÚDE

Após a análise do eritrograma, leucograma, das enzimas séricas hepáticas, da coagulação e do aumento hepático à palpação e classificação dos animais de acordo com o ranking de saúde, quatro animais apresentaram pior condição de saúde na primeira coleta e cinco na segunda coleta. As principais alterações encontradas nestes animais estão descritas nas tabelas 5 e 6, respectivamente. A frequência absoluta de animais e sua pontuação dentro dos limites estabelecidos para sua classificação dentro do ranking de saúde nas duas coletas são detalhadas nos gráficos 1 e 2.

Gráfico 1: Frequência Absoluta de animais dentro dos limites de pontuação do ranking de saúde na primeira coleta.

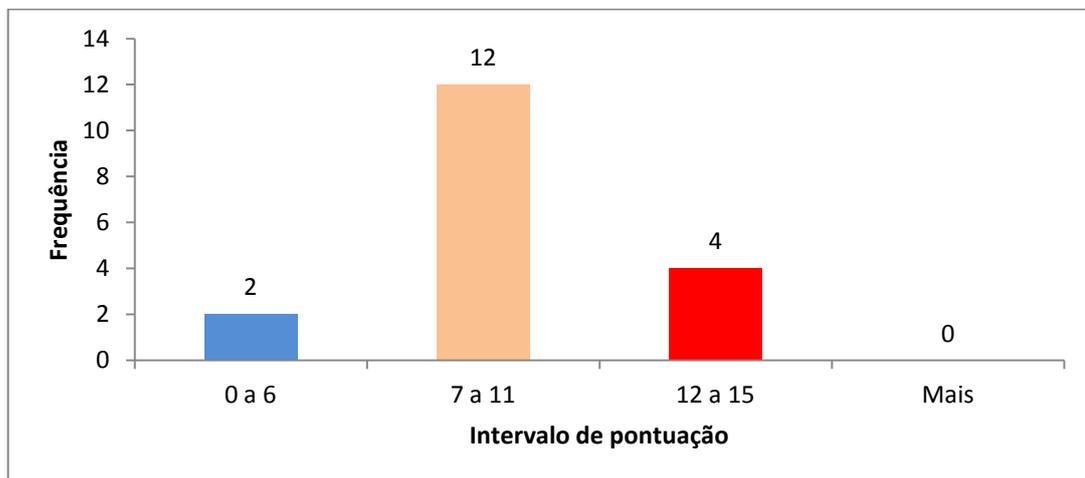


Gráfico 2: Frequência Absoluta de animais dentro dos limites de pontuação do ranking de saúde na primeira coleta.

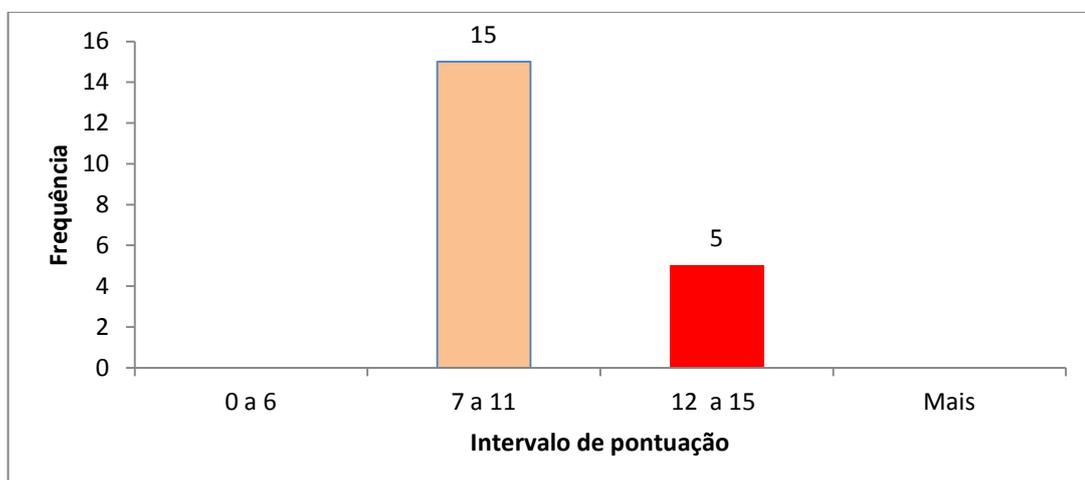


Tabela 5: Lesões sugestivas de hepatite ao exame ultrassonográfico e o número de indivíduos que as apresentaram na primeira coleta.

Parâmetros alterados	Primeira coleta
Anemia	4
Aumento do tempo de sangramento	2
Leucograma característico de infecção	4
Leucopenia por linfopenia	3
Eosinofilia	4
Aumento sérico de ALT	2
Aumento sérico de AST	2

Tabela 6: Lesões sugestivas de hepatite ao exame ultrassonográfico e o número de indivíduos que as apresentaram na segunda coleta.

Parâmetros alterados	Segunda coleta
Anemia	4
Aumento do tempo de sangramento	3
Leucograma característico de infecção	5
Leucocitose por neutrofilia	4
Eosinofilia	5
Diminuição sérica de ALT	4
Diminuição sérica de AST	4
Hipoproteinemia	4
Hipalbuminemia	4

5 DISCUSSÃO

A caracterização da fisiopatogenia da infecção por *P. amazonensis* é escassa na literatura. Por ser um trematódeo e ter mecanismos de infecção semelhantes ao da *Fasciola* sp. assumi-se que a fisiopatogenia destes dois parasitos é semelhante em seus diversos hospedeiros definitivos. Isto é embasado no fato de que sua principal característica é a destruição do parênquima hepático; como este órgão exerce as mesmas funções em humanos e animais uma vez lesionado e com sua capacidade prejudicada espera-se que as manifestações clínicas sejam semelhantes.

A principal alteração encontrada no eritrograma dos animais infectados pelo *P. amazonensis*, na primeira e na segunda coleta, nos animais classificados como mais debilitados pelo ranking de saúde e nos animais menos debilitados, foi a anemia macrocítica hipocrômica. Este tipo de anemia é caracterizada pela aumento VCM e diminuição do CHCM e pode ser diretamente relacionada com lesão hepática (vide abaixo). Estes achados estão de acordo com os encontrados em humanos por Marcos (2008), El-kholy (2008), Farag et al. (1998) que relatou anemia em 50% dos seus pacientes com fasciolose e Massoud et al. (2001) que descreveu anemia hipocrômica em pacientes com fasciolose.

A anemia pode estar associada a três fatores: (1) O parasito produz uma substância tóxica (WEI, 1984) que afeta a hipófise levando a uma redução na síntese de hormônios tireotróficos e adrenocorticotróficos com diminuição da eritropoese (GRAFTS, 1957). (2) À síntese e excreção de prolina, nos moldes da realizada pela *Fasciola* sp., causaria lise dos eritrócitos (SPENGLER, 1981). (3) Hemorragias focais causadas no momento em que a metacercaria penetra na parede do duodeno e pela migração das formas jovens do parasito pelo parênquima hepático (KILADZE, 2000). A hemorragia e a hemólise por si só podem causar anemia macrocítica hipocrômica devido à regeneração celular com liberação de células imaturas na circulação sanguínea. Células liberadas antes da maturação completa apresentam aumento de volume corpuscular e diminuição na concentração de hemoglobina (TVEDTEN, 2010).

A macrocitose ocorre quando se tem ou a presença de células jovens na circulação, ou a diminuição das divisões celulares pelas quais a célula se tornar um eritrócito maduro (TVEDTEN, 2010). No processo fisiológico de formação das

hemácias diversos nutrientes são fundamentais para que o contínuo processo de eritropoese ocorra corretamente. Dentre estes nutrientes alguns estão relacionados ao fígado, tais como a vitamina B12 (cianocobalamina) e o ácido fólico. Ambos atuam no processo de maturação dos eritrócitos sendo necessários para a síntese de DNA e RNA, respectivamente. A cianocobalamina é absorvida pelas células intestinais através da ação de cálcio e do fator intrínseco liberado pelas células parietais do estômago. Após absorvida esta vitamina alcança a circulação sanguínea onde se liga à transcobalamina II, uma proteína transportadora sintetizada pelo fígado responsável por levar a cianocobalamina aos tecidos. O fígado também participa no metabolismo da vitamina B12 através da síntese da proteína transcobalamina I que se liga a metilcobalamina (forma coenzimática da vitamina B12 nos tecidos) deixando a cianocobalamina na sua forma de armazenamento (EWAN, 1996). Portanto, o quadro de lesões hepáticas graves sugestivas de hepatite ou fibrose do parênquima hepático que os animais apresentam explica a anemia macrocítica, uma vez que a ineficiência dos hepatócitos interfere na produção da transcobalamina II, sem a qual não há transporte da Vitamina B12 para os tecidos e conseqüentemente a maturação dos eritrócitos durante a eritropoese que é prejudicada. Células imaturas, maiores ou com maior volume, são liberadas na circulação sanguínea caracterizando a anemia macrocítica.

A hipocromia é provocada pela diminuição da concentração de hemoglobina da hemácia (TVEDTEN, 2010). A hemoglobina é um complexo formado pela proteína globina histona composta por quatro cadeias polipeptídicas (alfa, beta, gama e delta), cada uma destas cadeias se liga a um grupo heme formado por um composto metálico contendo um átomo de ferro (SWENSON, 1996). A síntese do grupo heme depende do ferro e da proteína transferrina que o transporta no plasma sanguíneo. Esta proteína é produzida pelo fígado que, juntamente com o baço e a medula óssea, também é responsável pelo armazenamento do ferro na forma de ferritina (HAYS & SWENSON, 1996). A diminuição da síntese do grupo heme provoca diminuição da concentração de hemoglobina no eritrócito (GUALANDRO, 2000). Logo, na lesão hepática grave a ferritina não é sintetizada adequadamente, tem-se diminuição da concentração de hemoglobina do eritrócito e diminuição da liberação de ferritina pelo fígado levando à anemia hipocrômica. Outro fator que pode estar associado a este tipo de anemia nos primatas do CPUUnB é o fato de que

situações de estresse estimulam o hipotálamo, a adenohipófise e o córtex da adrenal com conseqüente liberação de hormônios adrenocorticais, estes, por sua vez, diminuem a concentração plasmática de ferro (HAYS & SWENSON, 1996). Quando associamos a diminuição da síntese de transferrina e da reserva de ferro hepática ao fato de que primatas utilizados como modelos experimentais estão expostos diariamente a fatores de estresse, e possivelmente possuem concentrações séricas de ferro menores que as concentrações fisiológicas, temos um fator agravante na diminuição da síntese do grupo heme.

A hipoproteinemia presente em 41,2% dos animais na segunda coleta e o aumento do tempo de sangramento se explicam pelo fato do fígado ser a principal fonte de proteínas plasmáticas não imunológicas e o local primário da síntese da maior parte dos fatores de coagulação (Fatores I, II, IX, X, XI, XII, XIII), do plasminogênio e dos inibidores alfa1-antitripsina e alfa2-macroglobulina (GENTRY & DOWNIE, 1996), portanto quando há insuficiência hepática com conseqüente déficit na síntese de proteínas e dos fatores da cascata de coagulação há um aumento patológico no tempo da coagulação sanguínea.

As alterações mais expressivas encontradas no leucograma dos primatas da pesquisa foram leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda regenerativo e eosinofilia. O desvio à esquerda regenerativo é caracterizado pela manutenção da distribuição piramidal dos neutrófilos, ou seja, o número de bastonetes e outras células jovens é inferior ao número de neutrófilos maduros. A neutrofilia ocorre, principalmente, em duas situações, (1) lesões inflamatórias e infecciosas, (2) aumento da concentração plasmática de catecolaminas e glicocorticoides (BIONDO, 2005). Em 25% dos animais avaliados na 2ª coleta, a leucocitose e a neutrofilia eram superiores à média em mais de duas vezes o desvio padrão de referência para a espécie, o que sugere uma leucocitose por infecção. Sempre que se analisa um leucograma indicando leucocitose (sobretudo se a espécie analisada for silvestre) é importante lembrar que a liberação de catecolaminas no momento da coleta, ou corticóides durante um processo de estresse crônico, até mesmo um processo de doença como o parasitismo apresentado por estes animais, podem provocar uma leucocitose por neutrofilia (BIONDO, 2005). Para evitar interpretações errôneas é importante considerar três fatores: a leucocitose provocada por glicocorticoides e catecolaminas não superam um valor de duas vezes o desvio padrão da média de

referência para a espécie; não há eosinofilia no leucograma de estresse; e os bastonetes estão ausentes (BIONDO, 2005).

No presente estudo, a expressiva eosinofilia encontrada nos animais é característica da infecção parasitária, também descrita por Kaya et al. (2011) e Fica et al. (2012) em animais parasitados por trematódeos. Verona (2008) avaliou *C. jacchus* de cativeiro e vida-livre do Rio de Janeiro com diversos parasitas e hemoparasitas, e demonstrou que o parâmetro comum que menos varia nas diversas infecções são os eosinófilos.

Em relação à quantificação sérica das enzimas ALT e AST, observou-se um aumento do ALT na primeira coleta, achado este compatível com os estudos desenvolvidos em humanos por Marcos (2008), El-Kholy (2008) que relataram aumento sérico de ALT em pacientes com fasciolose aguda. ALT é uma enzima presente no interior do hepatócito, portando quando há lise destas células a ALT extravasa provocando aumento em sua concentração sérica (Thrall, 2007). Os dados da 2ª coleta mostraram uma diminuição da ALT e AST, Lopes et al. (2007) considera o fato de que estas alterações podem não ter significado clínico. Porém o observado neste trabalho foi uma diminuição de ALT e AST em 50% dos animais, sugerindo perda parênquima hepático devido a formação de focos de fibrose nos locais por onde a larva do parasito migra e nos locais dos cistos hepáticos. Estas alterações podem evoluir para um quadro irreversível de cirrose.

A hepatomegalia aparente à palpação hepática e no exame ultrassonográfico dos animais é decorrente da reação inflamatória local provocada pela migração da larva do parasito pelo parênquima hepático até os ductos biliares, onde também provoca inflamação. Esta reação inflamatória foi caracterizada por Sousa et al. (2008) que descreveu a presença de infiltrado portal e periportal linfocítico inflamatório em exame histopatológico do parênquima hepático de *C. jacchus* parasitados por *Platynosomum* sp.

A ultrassonografia de um fígado hígido deve apresentar uma ecotextura homogênea (MATSUOKA., 2011), logo a ecotextura hiperecoica heterogênea observada nos animais deste estudo sugere lesão hepática. Na fase aguda de doenças hepáticas inflamatórias é comum que os padrões hepáticos ultrassonográficos mantenham-se normais, sendo que as alterações nas

características teciduais do parênquima são mais comuns na fase crônica de tais doenças (MATSUOKA et al., 2011). Também foram observadas áreas anecóicas próximas da vesícula biliar. Estas alterações são condizentes com as alterações relatadas em estudo desenvolvido por Sousa et al. (2008) que descreveu fibrose portal em cerca de 30% dos primatas da espécie *C. jacchus* parasitados por *Platynosomum* sp., dilatação das vias biliares intra hepáticas e leve espessamento fibroso da vesícula biliar. Neste mesmo estudo também foi observado infiltrado portal e periportal linfocítico inflamatório em todos os animais, colangite ascendente com a presença de neutrófilos polimorfonucleares na região portal e no lúmen de interlúbulos biliares, hepatopatia fibrosa crônica (padrão biliar) e cirrose.

Marcos et al. (2008) descreveu a presença de cistos hepáticos (Figura 4A) observados em imagens tomográficas no parênquima hepático de humanos parasitados por *Fasciola* sp. na fase aguda da infecção. Estes cistos correspondem ao local onde a forma jovem do parasito se aloja antes de migrar para os ductos biliares. Também foram observados focos de calcificação (Figura 4B) no parênquima hepático após tratamento. Em uma análise comparativa entre as alterações descritas em humanos percebe-se que as mesmas alterações se repetem nos primatas parasitados pelo *P. amazonensis*. Podemos ainda comparar os cistos e os focos de fibrose presentes nas imagens ultrassonográficas (Figura 7 e 8) dos primatas como sendo as mesmas alterações encontradas nas imagens tomográficas da pesquisa realizada por Marcos (2008) em humanos (Figura 4).

Na análise do ranking de saúde das quatro indivíduos foram classificados como apresentando quadro grave de lesão hepática na primeira coleta e cinco na segunda coleta. Destes animais apenas um animal ficou entre os piores do ranking nas duas coletas, duas fêmeas em estado mais grave de saúde na segunda coleta estavam prenhes no período da primeira coleta. Temos então que três animais melhoraram da primeira para a segunda coleta, um animal que já estava em estado grave piorou, duas fêmeas que estavam prenhes passaram a apresentar um quadro sugestivo de lesão hepática grave na segunda coleta, e dois animais não classificados como debilitados na primeira coleta tiveram piora no quadro da lesão hepática na segunda.

A platinossomíase causa sequelas orgânicas permanentes no parênquima hepático. Por ser um órgão multifuncional, necessário em diversos processos metabólicos o funcionamento alterado do fígado interfere não só na saúde dos animais como nas pesquisas neles desenvolvidas. Uma pesquisa que envolve um fármaco metabolizado pelo fígado, por exemplo, não terá os resultados que teria em um animal saudável, ressaltando a importância de manter primatas utilizados em pesquisa biomédica em estado hígido.

A parasitose que está acometendo os animais da espécie *C. penicillata* não vem sendo combatida com sucesso tendo em vista que já dura sete anos. No ano 2012 houve oscilação de porcentagens de animais com resultados negativos e positivos ao exame coproparasitológicos, mostrando um processo de reinfecção. Para que este ciclo de tratamento, melhora e reinfecção seja interrompido o ideal seria a identificação do HI e sua eliminação do ambiente. Outra solução no caso da não identificação deste hospedeiro seria o isolamento dos animais impedindo o contato destes com animais de vida livre, criando um ambiente onde o HI não pudesse se estabelecer.

6 CONCLUSÃO

A revisão dos resultados deste trabalho confirma a existência de uma doença clínica causada pela parasitose por *P. amazonensis* nos saguis de tufo preto do CPUUnB. A doença é caracterizada por:

- anemia macrocítica hipocrômica;
- leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda regenerativo;
- eosinofilia;
- aumento sérico de ALT sugerindo infecção ativa;
- diminuição sérica de ALT, AST e hipoproteinemia, quando há perda de parênquima hepático;
- hepatomegalia à palpação;
- aumento do tempo de coagulação sanguínea; e
- quadro sugestivo de hepatite ao exame ultrassonográfico.

Estes exames são, portanto, considerados de eleição para avaliar a patogenicidade da infecção pelo parasito em questão.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, D.H.; BARNETT, D.K.; COLMAN, R.J.; YAMAMOTO, M.E.; SCHULTZ-DARKEN, N.J. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. **Comparative Medicine**. v. 53, n° 4, p 339 – 350, 2003.

BIONDO, A.W. Interpretação do leucograma. In: GONZÁLES, F. H. D.; SANTOS, A. P. **Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p 29 – 35, 2005.

BORAUD, T.; BEZARD, E.; BIOULAC, B.; GROSS, C. High frequency stimulation of the internal globus pallidus (GPi) simultaneously improves parkinsonian symptoms and reduces the firing frequency of GPi neurons in the MPTP treated monkey. **Neuroscience Letter**. v. 215, n° 1, p 17–20, aug 1996.

BOWMAN, D.D.; LYNN, R.C.; EBERHARD, M. L.; ALCARAZ, A. Helintos. In: BOWMAN, D.D. *Parasitologia veterinária de Georgis*. 8th Ed. Editora Manóle, Rio de Janeiro, 2006. p 115 – 130.

CARMICHAEL, S.T.; PRICE, J.L. Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. **Journal of Comparative Neurology**. v 346, n°3, p 366–402, Aug 1994

CRAFTS, R.C. MEINEKE, H.A. Influence of the pituitary on haemopoiesis. **American Journal of clinical Nutrition**. v 5, n° 4, p 453 – 460, 1957.

CRIBB, T.H.; BRAY, R.A.; LITTLEWOOD D.T.J.; PICHELIN, S.; HERNIOU, E.A. The Digenea. In: LITTLEWOOD D.T.J and BRAY, R.A. **Interrelationships of the Platyhelminthes**. Taylor & Francis, London, 2001. p 168 – 185.

DENHAM, D.A.; SUSWILLO, P.R.; HETHERINGTON, C.M. Experimental *Brugia pahangi* and *B. malayi* infections of callitrichid primates. **Journal of Helminthology**. V.63, n°2, p 84 – 86, jun 1989

EL KHOLY, Z. A. F.; HESHMAT, M. G.; SHAHEEN E.E.; EL SHEETY, A.G. Bile acids assessment in fascioliasis as a hepatobiliary disease. **Journal of the Medical Research Institute**. v. 29, p 47-52, 2008.

EWAN, R.C. Vitaminas. In SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1996. p 466 – 467.

FARAG, H.E.; EL-KHOBY, T. A.; SALEM, A.L, ABOU EL-HODA, M.M. Triclabendazole in the treatment of established human fascioliasis. **La Revue de Santé de la Méditerranée Orientale**.v.4, n°2, p 244 – 251, 1998.

FASANO, D.M. Anestesia e Controle da Dor. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA, J.F. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 2010. p 365-384.

FICA, A.; DABANCH, J.; FARIAS, C.; CASTRO, M.; JERCIC, M.I.; WEITZEL, T.

Acute fascioliasis – clinical and epidemiological features of four patients in Chile. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 18, n° 1, p 91 – 96. Jan 2012.

GARDNER, M.B.; LUCIW, P.A. Macaque Models of Human Infectious Disease. Institute for Laboratory Animal Research.v. 49, n°2, p 220 – 255, 2008.

GENTRY, P.A.; DOWNIE, H.G. Coagulação sanguínea e homeostase. In SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1996. p 27.

GUALANDRO, F.S.M. Diagnóstico diferencial das anemias. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 22, n° 5, p 7 – 10, 2000.

HAYS, V.W.; SWENSON, M.J. Ossos e minerais. In SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1996. p 480

HILLIS, W.D. An outbreak of infectious hepatitis among chimpanzee handlers at United States Air Force base. **American journal of Hygiene**. v. 73, n°3, p 316 – 328, 1961.

HUFF, J.L.; BARRY, P.A. B-Virus (*Cercopithecine herpesvirus 1*) infection in humans and macaques: potential for zoonotic disease. **Emerging Infectious Diseases**. v. 9, n°2, p 246 – 250, Feb 2003.

HULL, R. N. Biohazards associated with simians viruses. In: HELLMAN, A.; OXMAN, M. N & POLLACK, R. **Biohazards in Biological Research**. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, New York, 1973. p 3 – 40.

KAYA, M.; BESTAS, R.; SETIN, S. Clinical presentation and management of Fasciola hepatica infection: Single-center experience. **World Journal of Gastroenterology**. v. 17, n° 44, p 4899 – 4904, Nov 2011.

KEISER, J.; UTZINGER, J. Trends in the core literature on tropical medicine: A bibliometric analysis from 1952-2002. **Scientometrics**.v 62,n° 3, p 351 – 365, 2005.

KINGSTON, N., COSGROVE, G.E. Two new species of Platynosomum (Trematoda: Dicrocoeliidae) from South American monkeys. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**. 1967. v. 34, n° 2, p 147 – 151.

KISSLING, R. E.; ROBINSON, R.Q.; MURPHY, F.A.; WHITFIELD, S.G. Agent of disease contracted from green monkeys. **Science**. v.160, pg 888 – 890, May 1968.

KUNTZ, R.E. Trematodes of the intestinal tract and biliary passages. In: FIENNES, R.N.T.W. **Pathology of Simian Primates**, Part II: Infectious and Parasitic Diseases. 1972. New york. p. 104-123

LEWIS, D.A.; CAMPBELL, M.J.; FOOTE,.; GOLDSTEIN, M.; MORRISON, J.H. The distribution of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers in primate neocortex is widespread but regionally specific. **Journal of Neuroscience**. v. 7, n°1, p 279 – 290, Jan 1987.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária** 3. ed. – Santa Maria, 2007. 107 p.

MAETZ-RENSING, K.; STAHL-HENNIG, C.; KRAMSKI, M.; PAULI, G.; ELLERBROK, H. KAUP, F.J. The Pathology of Experimental Poxvirus Infection in Common Marmosets (*Callithrix jacchus*): Further Characterization of a New Primate Model for Orthopoxvirus Infections. **Journal of Comparative Pathology**. v. 146, p 230 – 242, Feb 2012.

MAJEROWICZ, J. **Procedimentos de biossegurança para as novas instalações do laboratório de experimentação animal (Laean) de bio-manguinhos**. 2005. 101f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de imunobiológicos). Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz de Tecnologia em Imunobiológicos; 2005.

MARCOS, L.A.; TAGLE, M.; TERASHIMA, A.; BUSSALLEU, A. et al. Natural history, clinikoradiologic correlates, and response to triclabendazole in acute massive fascioliasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v 78, n° 2, p 222 – 227, Feb 2008.

MASSOUND, A.; LE-SIS, S. SALAMA, O. MASSOUND, A.F. Preliminary study of therapeutic efficiency of a new fasciolicidal drug derived from commiphora Molmol (Myrrh). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**.v 65, p 96 – 99, 2001.

MATSUOKA, M. W.; OLIVEIRA, I. R. S.; ZANOTO, A.; KODAIRA, S.K.; MARINHO, L. E.; JACOB FILHO, W.; CERRI, G.G. Contribuição da ultrassonografia para o diagnóstico das alterações histopatológicas presentes na hepatite C crônica, com ênfase na esteatose hepática – Parte I. **Radiologia Brasileira**. v. 44, n°3, p 141–146, 2011.

MELO, A.L. Helminth parasites of *Callithrix geoffroyi*. **Laboratory Primate Newsletter**. 2004. v. 43, n° 2, p.7 – 9.

MELO, A.L.; MATYI, V.L.; MARTINS, W.A. *Callithrix penicillata* as a nonhuman primate model for strongyloidiasis. **Primates**. 2012. v. 53, n° 3, p 303 – 309

MELO, D.S.V. **Identificação e controle de trematódeos de vesícula biliar em *Callithrix penicillata* naturalmente parasitados**. 2008. 36f. Dissertação (Mestrado em saúde animal). Universidade de Brasília, Brasília 2008.

MONTEIRO, R.V.; DIETZ J.M.; JASEN A.M. The impact of concomitant infections by *trypanosoma cruzi* and intestinal helminths health of wild golden and golden-headed lion tamarins. **Research in Veterinary Science**, v 89, p 27 – 35. Aug 2010.

NAPIER, J.R.; NAPIER, P.H. **The Natural History of the Primates**. Cambridge Massaschusetts: The MIT Press.1985.

NEVES, D.T.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia humana**. 9. Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 524p., 1995

OIE: Organização Mundial de Saúde Animal. Código Sanitário de Animais Terrestres. **Zoonoses transmissíveis por primatas não humanos**. São Paulo:

OIE; 2008.

OLSON, P.D; CRIBB, T.H.; TKACH, V.V; BRAY, R.A.; LITTLEWOOD, D.T.J. Phylogeny and classification of the digenea (Platyhelminthes: trematoda). **International Journal of Parasitology**. v. **33**, n°7 pg 733 – 755, Jul 2003.

ORIHIEL, T.C. The helminth parasites of nonhuman primates and man. **Laboratory of Animal care**. v 20, n°2, p 395 – 401, Apr 1970.

PALMER, A. E. B vírus, herpesvirus simiae: historical perspective. **Journal of Medical Primatology**. 1987. v. 16, n°2, p 99 – 130.

PISSINATI, A.; ANDRADE, M. C. R. Histórico. In ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA, J.F. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 2010. P 21 – 39.

POTKAY, S. Diseases of the Callitrichidae: A review. **Journal of Medical Primatology**. v. 21, n°4, p 189 – 236, 1992,

PORTER, J. Parasites of marmosets. **Laboratory Animal Science Journal**. v. 22, n°4 p 503 – 506, Aug 1972.

ROBINSON, M.W.; DALTON, J.P. Zoonotic helminth infection with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society**. v 364, p 2763 – 2776, Sep 2009

RIBEIRO, A.S.S.; PALHA, M.D.C.; TOURINHO, M.M. et al. Utilização dos recursos naturais por comunidades humanas do Parque Ecoturístico do Guamá, Belém, Pará. **Acta Amazônica**. v.37, n° 2 p 235 – 240, Jun 2007.

SALK, J.; BENNETT, B.L., LEWIS, L.J, WARD, E.N. YOUNGNER, J.S. Studies in human subjects on active immunization against poliomyelitis 1. A preliminary report of experiments in progress. **Journal of the American Medical Association**. v.151, n° 13, p 1081 – 1098, Mar 1953.

SOUZA, M.B.C. ; LEÃO, A.C.; COUTINHO, J.F.V.; RAMOS, A.M.O. Histopathology findings in common marmosets (*Callithrix jacchus* Linnaeus, 1758) with chronic weight loss associated with bile tract obstruction by infestation with *Platynosomum* (Loos, 1907). **Primates**. v. 49, n°8, p 283–287, 2008.

SPENGLER, R.N.; ISSEROFF, H. Fascioliasis: is the anemia caused by haematophagia? **Journal of parasitology**. v. 67, n°6, p 886 – 892, 1981.

SWENSON, M.J. Propriedade fisiológicas e constituintes químicos e celulares do sangue. In SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1996. p 27.

TANTALEAN, M.; GONZALO, A.; MONTOYA, E. Notes on some helminth parasites from Peruvian monkeys. **Laboratory Primate Newsletter**. v. 29, n°2 p 6 – 8, 1990.

- TARDIF, S.; BALES, K.; WILLIAMS, L. et al. Preparing New World monkeys for laboratory research. **Institute for Laboratory Animal Research Journal**. v. 47, n° 4, p 307 – 315, 2006.
- THATCHER, V. E. **Trematódeos Neotropicais**. 1933. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) 553p.
- THRALL, M. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1 ed. Roca: São Paulo, p. 335-354, 2007.
- TUEBRA, G.; DUNTHORN, M. Many Neglected Tropical Diseases May Have Originated in the Paleolithic or Before: New Insights from Genetics. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 6, n° 3, e1393, Mar 2012.
- TVEDTEN, H. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: WEISS, D.J; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, 2010; p 152 – 161.
- VERONA, C. E. S. **Parasitos em sagüi-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) no Rio de Janeiro**. [Tese de doutorado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz; 2008.
- VILENSKY, J.A. Neural control of locomotion in primates: comparisons with cats. **American Journal of Physical Anthropology**. v. 75, n° 2. P 283 – 284, 1988.
- WARREN, K.S.; SIMÕES, J.J. The marmoset: a primate resistant to *Schistosoma mansoni* infection. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**. v.15, p 153 -155, Mar 1966.
- WEI, D. Fasciola and fascioliasis. In: WU, Z.J; MAO, S.P.; WANG, J.W. **Chinese medical Encyclopaedia. Parasitology and parasitic diseases**. Shanghai, Shanghai Publishing House for Science and Technology. p 67 – 69, 1984 .
- WILLIAMS, D.D; BOWDEN, D.M. A nonhuman primate model for the osteopenia of aging. In: SCARPELLI, D.G.; MIGAKI, G. **Comparative Pathobiology of Major Age-related Diseases: Current Status and Research Frontiers**. p 207–219. New York: Alan R. Liss. 1984
- WHITNEY, J.B.; RUPRECHT, R. M. Live attenuated HIV vaccines: pitfalls and prospects. **Current Opinion in Infectious Diseases**. v17, n° 1, p 17 – 26, Feb 2004.
- YARBROUGH, L.W.; TOLLETT, J.L.; MONTREY, R.D.; BEATTIE, R.J. Serum biochemical haematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). **Laboratory Animal Science**. 1984. v. 34, p 276 – 280.