



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

EDSON MOURA DA SILVA

RECIFE

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

**ENTEROPARASITOS COM POTENCIAL ZONÓTICO EM PRIMATAS NÃO
HUMANOS PROVENIENTES DE CATIVEIROS**

EDSON MOURA DA SILVA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Coorientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva

RECIFE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586e Silva, Edson Moura da
ENTEROPARASITOS COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM PRIMATAS NÃO HUMANOS
PROVENIENTES DE CATIVEIROS / Edson Moura da Silva. - 2020.
105 f. : il.
- Orientador: Leucio Camara Alves.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em
Bióciência Animal, Recife, 2020.
1. Parasitoses. 2. Silvestres. 3. Protozoários. 4. Helmintos. I. Alves, Leucio Camara, orient. II. Título

CDD 636.089

**ENTEROPARASITOS COM POTENCIAL ZONÓTICO EM PRIMATAS NÃO
HUMANOS PROVENIENTES DE CATIVEIROS**

EDSON MOURA DA SILVA

Aprovada em 21 de 02 de 2020

BANCA EXAMINADORA:

Professor Dr. Leucio Câmara Alves (Orientador)
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

Professora Dr^a Debora Rochely Alves Ferreira
Centro Universitário - UNIFIP

Professor Dr. João Carlos Gomes Borges
Universidade Federal da Paraíba - UFPB
Diretor de Pesquisa e Manejo da Fundação Mamíferos Aquáticos - FMA

Dr^a Maria Fernanda Melo Monteiro
Bióloga

Dr. Neurisvan Ramos Guerra
Médico Veterinário

Aos meus pais Edinaldo Moura (*In
memoriam*) e Benedita Emídio dos
Santos pelo amor, dedicação, apoio e
incentivo na minha vida.

“A vida me ensinou a nunca desistir

Nem ganhar, nem perder, mas procurar evoluir

Podem me tirar tudo que tenho

**Só não podem me tirar as coisas boas que eu já fiz
pra quem eu amo**

E eu sou feliz e canto e o universo é uma canção

E eu vou que vou

História, nossas histórias

Dias de luta, dias de glória”.

Alexandre Magno Abrão

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Pai celestial pela dádiva da vida.

Aos meus pais Edinaldo Moura da Silva (*in memoriam*) e Benedita Emídio dos Santos da Silva pelo exemplo de esperança, amor, humildade, sabedoria e fé.

Ao seu Cícero Leandro da Silva, por ter me ensinado a respeitar a natureza e viver em harmonia com a mesma, te agradeço meu velho pelos seus ensinamentos empíricos sobre a mãe natureza e também sou grato à sua mulher, dona Antônia Jorge Albuquerque, por me tratar como um filho.

Aos meus irmãos Edna Moura da Silva, Carlos Henrique Moura da Silva, Claudio Henrique Moura da Silva, Wedja Moura da Silva e Anne Caroline da Silva, agradeço ao Altíssimo a honra de ter me oferecido vocês como irmãos nesta existência.

À Juliana Carla Cavalcanti pelo apoio incondicional nas horas que mais necessito.

Ao professor Leucio Alves pela oportunidade, orientação e confiança.

À professora Maria Aparecida da Glória Faustino, pela sua constante disponibilidade.

A todos os companheiros (as) que fazem parte do LDP.

Aos professores Rafael Ramos da (UAG-UFRPE), José Wilton, Rinaldo Aparecido Mota, Jean Carlos (UFRPE) pela colaboração e solicitude de sempre.

Aos meus grandes amigos e irmãos que conquistei João Carlos Borges, Neurisvan Ramos Guerra e Luís Felipe que os espíritos de luz continuem iluminando vossos caminhos

Aos meus amigos de infância do meu pequeno Distrito de Luziápolis, João Firmino, Antonino Lopes, Renata Marques, Simone Silva, Marcela Barbosa, Moisés Araújo (*In memoriam*), Nivaldo Lacerda, Aldebaran Lacerda, Luciano de Jesus, Hilton Araújo, José Manoel dos Santos, sou grato a vocês porque vejo nos olhos de todos,

a sinceridade, orgulho e alegria em saber que estou realizando mais um sonho que não é só meu, mas também de todos vocês.

À Glaucia Grazielle, Maria Fernanda Monteiro, Debora Rochely, Andressa Melo e Osani Muniz pela força e incentivo nas horas que pensei em fraquejar.

À FACEPE pelo apoio financeiro.

RESUMO

Muitas espécies de animais silvestres são importantes reservatórios de agentes patogênicos, tendo como destaque os Primatas Não Humanos (PHNs). Apesar desses animais serem encontrados em diversos ambientes, as informações atuais mostram que as principais ameaças à essas espécies são a perda de habitat devido à agricultura, extração de madeira, pecuária, construção rodoviária, ferroviária, além de perdas diretas devido a caça e aprisionamento. Esses fatores resultam no isolamento desses animais e maior proximidade com humanos e animais domésticos. Com relação ao ambiente em cativeiro, os PHNs são notadamente de grande importância por partilharem diversos agentes patogênicos, destacando-se *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e helmintos gastrointestinais. Diante da percepção de que PHNs podem ser sentinelas e transmitir patógenos ao homem e, por outro lado serem infectados por patógenos a partir do contato com o homem, esse trabalho tem como objetivo a pesquisa de enteroparasitos com potencial zoonótico em primatas não humanos provenientes de cativeiros. Foram coletadas amostras fecais de 154 PHNs pertencentes aos gêneros *Aotus*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Saimiri*, *Callithrix* e *Sapajus* provenientes dos Centros de Triagem de Animais Silvestres e Zoológicos de quatro Estados Brasileiros (Alagoas, Paraíba, Pernambuco e São Paulo). Dessas amostras, 43 foram submetidas a comparação de cinco técnicas (Método Direto, Willis-Mollay, Hoffman, FLOTAC e Mini-FLOTAC), 154 analisadas pela técnica de Mini-FLOTAC para pesquisa de enteroparasitos e 134 pelas técnicas de FLOTAC, coloração de Kinyoun e Reação de Imunofluorescência direta para identificação de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. Como resultados observou-se que as técnicas de FLOTAC e Mini - FLOTAC foram mais eficientes. Quanto a identificação de enteroparasitas pela a técnica de Mini-Flotac, a prevalência geral foi de 30,51% (47/154) das amostras analisadas. Coinfecções foram observadas em 27,65% (13/47) das amostras positivas. Parasitismo por *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp. e *Oesophagostomum* spp. foram os mais comumente encontrados. Os resultados encontrados aqui revelam parasitismo de nematóides gastrointestinais nessas populações de PHNs, o que pode representar uma ameaça importante para a conservação dessas espécies. No que concerne à ocorrência de *Cryptosporidium* spp e *Giardia* spp., das amostras analisadas 17,90% (24/134) foram positivas a pelo menos um agente pesquisado. Particularmente, 17,90% (24/134) e 3,71% (5/134) foram positivos para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. os resultados aqui encontrados fornecem informações importantes sobre a infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em PHNs mantidos em cativeiros.

Palavra-chave: Parasitoses, Silvestres, Protozoários, Helmintos

ABSTRACT

Many species of wild animals are important reservoirs of pathogenic agents, with emphasis on Non-Human Primates (NHPs). Although these animals are found in different environments, current information shows that the main threats to these species are the loss of habitat due to agriculture, logging, cattle raising, road and rail construction, in addition to direct losses due to hunting and imprisonment. These factors result in the isolation of these animals and greater proximity to humans and domestic animals. Regarding the captive environment, NHPs are notably of great importance because they share several pathogens, especially *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. and gastrointestinal helminths. Faced with the perception that NHPs can be sentinels and transmit pathogens to humans and, on the other hand, be infected by pathogens from contact with humans, this study aims to investigate enteroparasites with zoonotic potential in non-human primates from captivity. Fecal samples were collected from 154 NHPs belonging to the genera *Aotus*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Saimiri*, *Callithrix* and *Sapajus* from the Wild Animal and Zoological Screening Centers of four Brazilian states (Alagoas, Paraíba, Pernambuco and São Paulo). Of these samples, 43 were subjected to a comparison of five techniques (Direct Method, Willis-Mollay, Hoffman, FLOTAC and Mini-FLOTAC), 154 analyzed by the Mini-FLOTAC technique for research of enteroparasites and 134 by the FLOTAC techniques, Kinyoun staining and Direct Immunofluorescence Reaction to identify *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. As a result, it was observed that the FLOTAC and Mini - FLOTAC techniques were more efficient. As for the identification of enteroparasites by the Mini-Flotac technique, the general prevalence was 30.51% (47/154) of the analyzed samples. Co-infections were observed in 27.65% (13/47) of the positive samples. Parasitism by *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp. and *Oesophagostomum* spp. were the most commonly found. The results found here reveal parasitism of gastrointestinal nematodes in these NHPs populations, which can represent an important threat to the conservation of these species. Regarding the occurrence of *Cryptosporidium* spp and *Giardia* spp., From the analyzed samples, 17.90% (24/134) were positive for at least one agent surveyed. In particular, 17.90% (24/134) and 3.71% (5/134) were positive for *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. the results found here provide important information about infection by *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in NHPs held in captivity.

Keyword: Parasitoses, Wild, Protozoa, Helminths

Sumário

1.INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
Diversidade biológica de animais	17
Primatas Não Humanos	18
Infecção por <i>Cryptosporidium</i> spp. em Primatas Não Humanos.....	19
Ciclo biológico	20
Sinais clínicos da criptosporidiose em Primatas Não Humanos	23
Diagnóstico da infecção por <i>Cryptosporidium</i> spp em Primatas Não Humanos.....	23
Controle, profilaxia e tratamento, da criptosporidiose em Primatas Não Humanos	30
Infecção por <i>Giardia</i> spp. em Primatas Não Humanos	31
Ciclo biológico	32
Sinais Clínicos da giardíase em Primatas Não Humanos	38
Diagnóstico de infecção por <i>Giardia</i> spp. em Primatas Não Humanos	38
Controle, Profilaxia e Tratamento da giardíase em Primatas Não Humanos	39
Infecção por helmintos em Primatas Não Humanos.....	40
Sinais Clínicos das helmintoses em Primatas Não Humanos	46
Diagnósticos das helmintoses em Primatas Não Humanos	46
Controle, Profilaxia e Tratamento das Helmintoses em Primatas Não Humanos	47
3. Referências Bibliográficas.....	48
4. OBJETIVOS	72
4.1 Objetivo Geral	72
4.2 Objetivos Específicos	72
ARTIGO 1	73
Comparison of FLOTAC, Mini-FLOTAC and classical parasitological techniques for detection of gastrointestinal parasites in neotropical non-human primates (NHP) in Brazil	73
ARTIGO 2	85
Gastrointestinal nematodes in nonhuman primates living in captivity	85
ARTIGO 3	95
<i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>Giardia</i> spp. em primatas não humanos (NHP) em cativeiro	95
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS

ELISA- Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

PCR- Reação em Cadeia da Polimerase

PHN- Primata Não Humano

IFA

LISTA DE FIGURA

Revisão de Literatura

Figura 1: Ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp.....22

Figura 2: Ciclo biológico da *Giardia* spp.....33

Artigo 2.

Figure 1. Brazilian states where fecal samples from nonhuman primates were collected.....88

Artigo 3

Figura 1. Estados brasileiros onde foram coletadas amostras fecais de primatas não humanos.....99

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1. Ocorrência e identificação das espécies de <i>Cryptosporidium</i> spp. em primatas não humanos de acordo com continente.....	25
Tabela 2. Ocorrência e identificação de <i>Giardia</i> spp. em primatas não humanos por continente.....	34
Tabela 3. Ocorrência e identificação de helmintos gastrointestinais não humanos por continente.....	41

Artigo 1

Table 1- Infections and co - infections by gastrointestinal parasites in Neotropical Primates in captivity.....	77
Table 2 - Evaluation of the techniques used in relation to the Willis technique as a gold standard in the diagnosis of gastrointestinal parasites in Neotropical Primates in captivity.....	79

Artigo 2

Table 1. Species of nonhuman primates in captivity studied according to origin.....	88
Table 2. Infections and coinfections by gastrointestinal nematodes according to species studied and origin.....	89

Artigo 3

Tabela 1. Prevalência de <i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>Giardia</i> spp. em Primatas Não Humanos mantido em cativeiros.....	100
---	-----

1.INTRODUÇÃO

A fauna brasileira envolve o conjunto de várias espécies de animais silvestres distribuídos em biomas com diferentes características (LIMA, 2007). Apesar do Brasil possuir uma das biodiversidades mais ricas do mundo, a ocupação humana desenfreada, o tráfico e sobretudo o desmatamento provocam a perda de cerca de 12 milhões de animais (NASSARO, 2015; DENIZ, 2017).

Assim, em diversos pontos do território nacional foram criados zoológicos, criadouros científicos e comerciais, institutos de pesquisa, centros de triagem e reabilitação (SANDERS; FEIJÓ, 2007; LEIRA et al., 2017), locais estes, onde ocorrem uma maior interação homem-animal, particularmente entre tratadores, biólogos, médicos veterinários e conservacionistas (GARCIA, 2006).

Estas interações tem facilitado a disseminação de agentes patogênicos para os hospedeiros e ambientes, estabelecendo assim uma nova relação parasita x hospedeiro e a criação de novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças (SEDGWICK et al., 1975; SIEMERING, 1986; CORRÊA; PASSOS, 2001), representando uma preocupação para as autoridades e profissionais voltados à saúde pública e medicina preventiva.

Com relação ao ambiente em cativeiro, os primatas não humanos são notadamente de grande importância por partilharem diversos agentes etiológicos com os humanos, em virtude da proximidade evolutiva e das características filogenéticas semelhantes (ANDRADE et al., 2002), de modo que ambos (PNHs) encontram-se susceptíveis a patógenos como herpesvírus B, vírus da raiva, hepatite, vírus ebola (ELMORE; EBERLE, 2008; SVOBODA et al., 2016; ZENG et al., 2017), *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium bovis* (RHODES et al., 2017; NAMASIVAYAM et al., 2019), *Leptospira* spp. (MINERVINO et al., 2018), *Toxoplasma gondii* (CANO-TERRIZA et al., 2019), *Trypanosoma* spp. (JANSEN et al., 2018), *Leishmania* spp. (PAIZ et al., 2019), *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. (SNAK et al., 2019; TANGTRONGSUP et al., 2019), além de uma série de helmintos gastrointestinais (CIBOT et al., 2015; ALCÂNTARA et al., 2016; FRIAS et al., 2019; OBANDA et al., 2019).

Entretanto, a maioria dos relatos das diversas enfermidades em PNHs revelam uma situação pontual, em decorrência de informações incompletas e fragmentadas, além do desconhecimento sobre os padrões de transmissão dessas doenças, não considerando a dinâmica das interações parasito e hospedeiros (STUART et al., 1988). Segundo

Diante da percepção de que primatas não humanos podem ser sentinelas e transmitir patógenos ao homem e, por outro lado serem infectados por patógenos a partir do contato com o homem, esse trabalho teve como objetivo pesquisar a ocorrência de enteroparasitos com potencial zoonótico em primatas não humanos provenientes de cativeiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Diversidade biológica de animais

A biodiversidade assegura o equilíbrio dos ecossistemas, sendo assim os danos provocados repercutem não só nas espécies que habitam determinado local, mas em todas as outras e no próprio ambiente, visto que afeta a tênue rede de relações entre as espécies e o meio em que vivem (BRITO;CÂMARA, 1998). Nas últimas décadas, dados apontaram que a ação do homem tem alterado cada vez mais a biodiversidade do planeta, ocasionando em alguns casos o desaparecimento das espécies (MENDONÇA et al., 2009).

O Brasil detém um dos maiores contingentes de espécies silvestres do planeta e situa-se entre os maiores em biodiversidade (DE SOUSA et al., 2011; BRANDON et al., 2005). Apesar desta posição privilegiada, o que se tem observado é o rápido declínio das populações animais e o crescente risco de extinção de espécies em decorrências da redução de habitats e do incremento da ocupação humana e exploração econômica (BRANCO, 2002).

Atualmente, os impactos antrópicos sobre os recursos naturais e a ruptura dos ciclos biológicos responsáveis pela manutenção da saúde das espécies e seus ecossistemas, possibilitaram o aparecimento de epidemias e epizootias, o que em muitas ocasiões torna vulnerável a saúde das populações silvestres, comprometendo assim, a manutenção da biodiversidade e do equilíbrio ecológico (BRAUN, 2013).

Muitos animais silvestres são importantes reservatórios de agentes patogênicos (MANGINI; SILVA, 2007) e a proximidade entre pessoas e espécies domésticas pode propiciar a adaptação em novos hospedeiros e a disseminação de patógenos que podem causar enfermidades em todas as espécies envolvidas (MANGINI; SILVA, 2007). No âmbito da conservação das espécies, a saúde pública, segurança, bem-estar animal e introdução de agentes patogênicos em populações selvagens são as principais preocupações na importação e manutenção de primatas não humanos (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 2019).

Primatas Não Humanos

São mamíferos pertencentes a Ordem Primates, na qual estão inseridos os símios e prossímios (GOODMAN et al., 1999), animais que conseguem se adaptarem mais facilmente que qualquer outra ordem de vertebrados, o que foi provavelmente responsável pelo sucesso evolutivo desse grupo (MARTIN, 1986).

Os PNHS apresentam características primitivas da classe Mammalia, como membros pentadáctilos e clavícula, mas em relação a outros mamíferos demonstram aumento do tamanho cerebral (principalmente da região do córtex), diferenciação na mobilidade dos dedos, aumento da importância da visão em relação ao olfato, dentre outras características. A diversidade morfológica (variedade de tamanhos e formas), comportamento e ecologia dos primatas são refletidos pelas diferenças de habitat, dieta, hábitos locomotores e organização social observada nessa ordem (NAPIER; NAPIER, 1967; VERONA; PISSINATTI, 2006; BICCA-MARQUES et al., 2011).

Com relação a taxonomia desses animais, podem ser evidenciadas duas subordens: Prosimii (Illiger, 1811) encontrada na ilha de Madagascar, continente africano e em países e ilhas do sudeste asiático; e a Anthropeidea (Mivart, 1864) dividida nas infraordens: Catarrhini (macacos do Velho Mundo) distribuída pelos continentes Asiático, Africano e Europeu; e Platyrrhini (macacos do Novo Mundo) encontrada desde o sul do México e América Central até o Norte da Argentina e Sul do Brasil (SZALAY ; DELSON, 1979; FLEAGLE, 1988).

Os Platyrrhini são constituídos de 21 gêneros, dos quais são conhecidas mais de 152 espécies (RYLANDS, 2012; SAMPAIO, 2015). Esses gêneros distribuem-se em cinco famílias, Callitrichidae, Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae (RYLANDS, 2012) onde algumas espécies dessas famílias encontram-se ameaçadas de extinção segundo a lista da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES).

Apesar dos PNHS serem encontrados em diversos ambientes, as informações atuais mostram que as principais ameaças à essas espécies são a perda de habitat devido à agricultura, extração de madeira, pecuária, construção rodoviária e ferroviária, além de perdas diretas devido a caça e aprisionamento (GONÇALVES, 2006; BOYLE, 2008; ESTRADA et al., 2017). Esses fatores resultam no isolamento

desses animais e maior proximidade com humanos e animais domésticos (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000).

Essa proximidade dos PHNs com os animais domésticos e humanos tem facilitado a disseminação de agentes patogênicos com caráter zoonótico (CONLY; JOHNSTON, 2008), dentre os quais se destacam: vírus da raiva, vírus ebola (AGUIAR et al., 2011; ZENG et al., 2017), *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium bovis* (RHODES et al., 2017; NAMASIVAYAM et al., 2019), *Leptospira* spp., (FERREIRA et al., 2011; MINERVINO et al., 2018), *Toxoplasma gondii* (CANO-TERRIZA et al., 2019), *Trypanosoma* spp. (JANSEN et al., 2018), *Leishmania* spp. (MALTA et al., 2010), *Cryptosporidium* spp. *Giardia* spp., (DU et al., 2015), além de uma série de helmintos gastrointestinais (CIBOT et al., 2015; ALCÂNTARA et al., 2016; FRIAS et al., 2019; OBANDA et al., 2019).

Infecção por *Cryptosporidium* spp. em Primatas Não Humanos

Cryptosporidium spp. é um enteroparasito zoonótico comumente encontrado nas fezes de diversas espécies de animais, assim como no ambiente (HAMILTON et al., 2018; CUNHA et al., 2019). Independente da espécie, possui distribuição cosmopolita, sendo considerada em pacientes humanos imunocomprometidos uma doença oportunista (PLUTZER; KARANIS, 2009; SCHILLER et al., 2018). Em animais imunodeprimidos, a infecção pode resultar em diarreia crônica debilitante, desidratação, má-absorção, enfraquecimento progressivo e morte (BORGES et al., 2009; DAYAO et al., 2019).

Recentemente, por meio de advento da filogenética molecular ficou estabelecido que o gênero *Cryptosporidium* pertence ao Filo Apicomplexa, Classe Gregarinomorphea, Subclasse Cryptogregarida, Ordem Cryptogregarida, Família Cryptosporiidae (CAVALIER- SMITH, 2014; RYAN et al., 2016) sendo composto por 30 espécies com 61 genótipos que acometem aves (SEIXAS et al., 2019), répteis (GAŁĘCKI; SOKÓŁ., 2015), peixes (PAPARINI et al., 2017), anfíbios (YIMMING et al., 20016) e mamíferos, incluindo o homem (CHEN et al., 2019; HOSSAIN et al., 2019).

Ciclo biológico

De acordo com a nova classificação do protozoário o ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp. pode ocorrer na presença ou ausência do hospedeiro (CLODE et al., 2015). No hospedeiro seu ciclo biológico epicelular (Figura 1), inicia-se com a ingestão de oocistos viáveis presentes na água ou alimentos contaminados, bem como fezes ou secreções de animais e humanos infectados (CABRAL et al., 2001; CHALMERS; DAVIES, 2010).

No trato gastrointestinal, ocorre o desencistamento dos oocistos pela ação das enzimas pancreáticas e sais biliares (SMITH et al., 2005). Os esporozoítos liberados aderem-se ou fixam-se à superfície das células epiteliais do trato gastrintestinal, através do antígeno tipo circumporozoíto, a um receptor presente nas vilosidades intestinais penetrando nos enterócitos, iniciando o processo de invasão, onde são envolvidos ou englobados pelas células epiteliais do hospedeiro na superfície luminal, e formam um vacúolo parasitóforo de localização intracelular extracitoplasmática (GALECKI; SOKÓT, 2015).

Uma organela de fixação ou de nutrição se desenvolve e os esporozoítos tornam-se mais esféricos e diferenciam-se em trofozoítos ou merozoítos (CHALMERS; DAVIES, 2010).

Durante a maturação dos trofozoítos ocorre a multiplicação assexuada (esquizogonia ou merogonia) resultando na formação de esquizonte ou meronte tipo I, que contêm de seis a oito merozoítos haploides. A ruptura do esquizonte resulta na liberação dos merozoítos, que invadem as células epiteliais adjacentes, onde estes desenvolvem-se subsequentemente em esquizontes tipo II, que contêm quatro merozoítos (SMITH et al., 2005).

Os merozoítos tipo I podem originar novos merontes tipo I, possibilitando a reinfecção do animal, ou originar merontes tipo II, que são liberados no lúmen intestinal e infectam novas células, onde iniciam a fase sexuada do ciclo ou gametogonia (O'HARA; CHEN, 2011).

Os merozoítos da segunda geração, ao infectarem novas células, diferenciam-se em macrogamontes, que originarão os gametas femininos, ou em microgamontes,

que originarão os gametas masculinos (microgametas) iniciando assim o ciclo sexual (TYZZER, 1910; THOMPSON et al., 2005). Os microgamontes tornam-se multinucleados liberando os microgametas maduros que fecundam os macrogametas dentro do macrogamonte feminino, dando origem a um zigoto (O'HARA; CHEN, 2011).

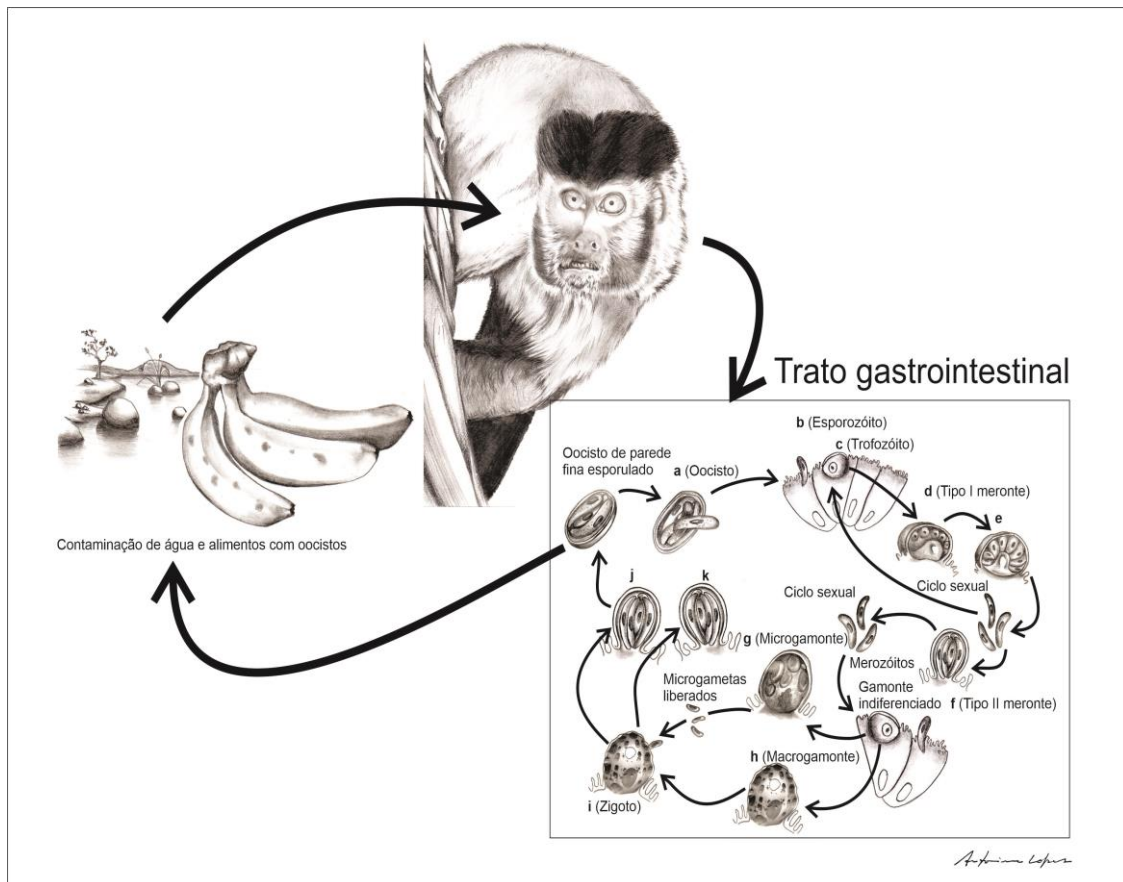
Após a fertilização, o zigoto passa por duas divisões nucleares, fase denominada esporogonia, e origina o oocisto esporulado contendo quatro esporozoítos. Estes encontram-se contidos dentro do oocisto, que finalmente é liberado do enterócito e eliminado ao meio ambiente ou na luz intestinal (THOMPSON et al., 2005).

Os oocistos formados se diferenciam em dois tipos: oocistos de parede fina que constituem a forma endógena infectante e permanecem no hospedeiro, já que estes oocistos sofrem o processo de excitação endogenamente e os esporozoítos são liberados na luz intestinal, os quais parasitam novos enterócitos (FAYER et al., 2000).

Já os oocistos de parede espessa possuem parede trilaminar, e são liberados do vacúolo parasitóforo e excretados nas fezes (TZIPORI; WARD, 2002).

A forma esporulada (infectante), é responsável pela transmissão entre hospedeiros, pois resistem às condições ambientais. A eliminação de oocistos esporulados nas fezes ou secreções respiratórias do hospedeiro infectado é responsável pela contaminação ambiental e transmissão da doença (THOMPSON et al., 2005).

Figura 1: Ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp.



Autor: Antonino Lopes, 2020

Já na ausência do hospedeiro, o ciclo de vida extracelular ocorre quando os oocistos de parede espessa se rompem liberando os seus quatro esporozoítos, que se transformam em trofozoítos podendo permanecer livres ou se unirem de dois em dois em um processo denominado sizígia. Um vacúolo membranoso se forma em torno destes trofozoítos livres, sendo o mesmo equivalente ao vacúolo parasitóforo formado quando o *Cryptosporidium* se encontra epitelial no epitélio do intestino do hospedeiro.

Logo em seguida ocorre a merogonia (reprodução assexuada) gerando os merontes do tipo I repletos de merozoítos do tipo I, os quais serão liberados e darão início à fase sexual do ciclo. Para tanto, os merozoítos do tipo I desenvolvem-se em merontes do tipo II contendo em seu interior os merozoítos do tipo II, onde estes darão origem aos microgamontes e aos macrogamontes. Os microgamontes tornam-se

multinucleados liberando os microgametas maduros que fertilizam os macrogametas dentro do macrogamonte (BOUZID et al., 2013; CLODE et al., 2015).

Em relação aos PNHs, os resultados de pesquisas realizadas em diversos países (Tabela 1) trazem uma abordagem molecular com a identificação das espécies de *Cryptosporidium* spp. envolvidas nas infecções desses primatas, sendo possível realizar inferências relativas a aspectos epidemiológicos da parasitose em ambientes naturais e centros de conservações (EKANAYAKE et al., 2006; PARSONS et al., 2015).

No Brasil, os trabalhos realizados baseiam-se em técnicas que não permitem a identificação da espécie envolvida (DA SILVA et al., 2008; DA SILVA et al., 2009), limitando o entendimento dos aspectos epidemiológicos das espécies envolvidas de *Cryptosporidium* spp.

Sinais clínicos da criptosporidiose em Primatas Não Humanos

De modo geral, a criptosporidiose em PNHs está associada ao acometimento do trato intestinal desses animais, tendo como sinais clínicos comuns a diarreia intermitente, predominantemente líquida e profusa que leva a desidratação, dor e distensão abdominal, êmese, síndrome de má absorção, apatia e perda progressiva de peso (MILLER et al. 1999; GOMEZ et al., 2000).

Diagnóstico da infecção por *Cryptosporidium* spp em Primatas Não Humanos

A identificação do agente pode ser realizada através de testes parasitológicos, técnicas sorológicas, além de testes moleculares (JEX et al., 2008; RYAN et al. 2016,). As técnicas parasitológicas mais utilizadas são as que se baseiam em colorações de esfregaços fecais (Kinyoun, Ziehl-Neelsen, Giemsa, Safranina Azul de Metileno e Verde Malaquita), que permitem identificar os oocistos de *Cryptosporidium* spp. (MA; SOAVE, 1983; BAXBY et al., 1984). Contudo, dentre as citadas, a coloração álcool-ácido resistente de Ziehl-Neelsen modificada e Kinyoun são as mais utilizadas na identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. (NEVES et al., 2010).

Por outro lado, existem outras técnicas que podem ser empregadas na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp., como a técnica de centrífugo-flutuação

em solução de sacarose (técnica de Sheather) e o método de centrífugo-sedimentação pelo formaldeído-éter (técnica de Ritchie modificada) (CURRENT ; GARCIA, 1991; SHEATHER,1923; RITCHIE, 1948).

Tabela1: Ocorrência e identificação das espécies de *Cryptosporidium* spp. em primatas não humanos de acordo com continente.

CONTINENTE	ESPÉCIES	PAÍS	MÉTODOS	ESPÉCIE	REFERÊNCIAS
Americano	<i>Alouatta fusca</i> e <i>Callithrix hibrido</i>	Brasil	Técnica de Coloração tricrômica modificado por Weber	<i>Cryptosporidium</i> spp	Carvalho Filho et al. (2006)
	<i>Cebus apela</i> , <i>Callithrix jacchus</i> , <i>C. penicillata</i> e <i>Macaca mulata</i>	Brasil	Técnica de Centrífugo-flutuação com sulfato de zinco e coloração de Ziehl-Neelsen modificada	<i>Cryptosporidium</i> spp	Da Silva et al. (2008)
	<i>Alouatta caraya</i> e <i>A. guariba</i>	Brasil	Técnica de Centrífugo-flutuação com sulfato de zinco	<i>Cryptosporidium</i> spp	Da Silva et al. (2009)
	<i>Alouatta pigra</i>	México	Teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)	<i>Cryptosporidium</i> spp	Vitazkova e Wade. (2006)
	<i>Alouatta caraya</i>	Argentina	Teste de Reação de Imunofluorescência Direta	<i>Cryptosporidium</i> spp	Kowalewski et al. (2011)
	<i>Alouatta caraya</i> , <i>Aotus nigriceps</i> e <i>Ateles chamek</i>	Brasil	Técnica de Ziehl-Neelsen modificado	<i>Cryptosporidium</i> spp	Ludwig e Marques, 2011
	<i>Cebus apella</i> , <i>C. albifrons</i> , <i>Saguinus fuscicollis weddelli</i> , <i>Lagothrix lagotricha</i> , <i>Ateles paniscus chamek</i> , <i>Saimiri sciureus</i> , <i>Aotus nigriceps</i> e <i>Alouatta seniculus</i>	Peru	Técnica de Ziehl-Neelsen	<i>Cryptosporidium</i> spp.	Guerreiro et al. (2012)
	<i>Callithrix</i> spp. e <i>Ateles Paniscus</i>	Brasil	Técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificado e Reação em cadeia da polimerase (PCR)	<i>C. parvum</i>	Snak et al. (2019)
Cont.					

Europeu	<i>Chimpansee trioglodytes</i> e <i>Callithrix argentata</i>	Polônia	Método direto	<i>Cryptosporidium</i> spp	Peisert et al. (1983)
	<i>Ateles belzebuth</i> , <i>Cercocebus torquatus lunulatus</i> , <i>Cercopithecus aethiops</i> , <i>C. campbelli</i> , <i>C. talapoin</i> e <i>Erythrocebus Lemur - nayottensis</i>	Espanha	Técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificado	<i>Cryptosporidium</i> spp	Gomez et al. (1992)
	<i>Papio cynocephalus</i>	Itália	Técnica de Coloração de Ziehl- Nielsen e Giemsa	<i>Cryptosporidium</i> spp	Fagiolini et al. (2010)
Asiático	<i>Semnopithecus priam</i>	Sri Lanka	Técnica de Coloração de Ziehl-Neelsen modificado e PCR	<i>Cryptosporidium</i> spp.	Ekanayake et al. (2006)
Cont.	<i>Macaca mulatta</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. hominis</i> , <i>C. parvum</i> e <i>C. felis</i>	Ye et al. (2012)
	<i>Macaca Fascicularis</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. hominis</i>	Ye et al. (2014)
	<i>Macaca mulatta</i> , <i>M. fascicularis</i> e	China	Técnica de Sheather, PCR e Sequenciamento	<i>Cryptosporidium hominis</i> e <i>C. Muris</i>	Karim et al. (2014)

Cont.

<i>Trachypithecus francoisi</i>					
<i>Macaca fascicularis</i>	China	Técnica de Sheather, PCR e Sequenciamento	<i>C. hominis</i>	Ye et al. (2014)	
<i>Macaca mulatta</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. parvum</i> e <i>C. andersoni</i>	Du et al. (2015)	
<i>Pongo abelii</i> e <i>Pongo pygmaeus wurmbii</i>	Indonésia	PCR e Sequenciamento	<i>C. muris</i> e <i>C. parvum</i>	Mynářová et al. (2016)	
<i>Macaca fascicularis</i>	Tailândia	PCR e Sequenciamento	<i>Cryptosporidium</i> spp. genótipo de macaco	Sricharern et al. (2016)	
<i>Macaca mulatta</i>	Índia	Teste de Reação de Imunofluorescência Direta	<i>Cryptosporidium</i> spp	Debenham et al. (2017)	

Africano	Vários primatas não humanos	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. Hominis</i> e <i>C. muris</i>	Li et al. (2017)
	<i>Macaca fascicularis</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. hominis</i> , <i>C. parvum</i> , <i>C. muris</i> e <i>C. ubiquitum</i>	Chen et al.(2019)
	<i>Macaca fascicularis</i> e <i>M. mulatta</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>C. Hominis</i>	Zhao et al. (2019)
	<i>Cercopithecus aethiops</i> e <i>Papio anubis</i>	Quênia	Técnica de Coloração de Ziehl-Neelsen modificada	<i>Cryptosporidium</i> spp	Muriuki et al. (1997)
	<i>Gorila gorilla</i>	Gabão	Técnica de Coloração de Ziehl-Neelsen e Teste de Reação de Imunofluorescência Direta	<i>Cryptosporidium</i> spp	Van Zijl Langhout et al. (2010)
	<i>Cercopithecus ascanius</i> e <i>Colobus polykomos</i>	Uganda	PCR e Sequenciamento	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> e <i>C. cuniculus</i>	Salyer et al. (2012)
	<i>Gorilla gorilla</i>	República Centro-Africana	PCR e Sequenciamento	<i>C.bovis</i>	Sak et al. (2013)

Cont.

<i>Prolemur simus</i> e <i>Microcebus rufus</i>	Madagáscar	Teste de Reação de Imunofluorescência direta	<i>Cryptosporidium</i> spp	Rasambainarivo et al.(2013)
<i>Pan</i> spp. e <i>Papio</i> spp.	Tanzânia	PCR e Sequenciamento	<i>C. hominis</i> e <i>C. suis</i>	Parsons et al. (2015).
<i>Gorila gorila</i> , <i>Pan paniscus</i> , <i>Cercocebus agilis</i> , <i>Cercopithecus cephus</i> , <i>Cercopithecus nictitans</i> e <i>Lophocebus albigena</i>	Camarões e Congo	PCR	<i>Cryptosporidium</i> spp	Butel et al. (2015)

Com relação aos métodos imunológicos, estes têm sido empregados em substituição à análise microscópica em fezes (KHEL et al., 1995), destacando-se o Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e Reação de imunofluorescência direta (IFD) (CURRENT; GARCIA, 1991; CHALMERS et al., 2011; MIRHASHEMI et al., 2015; DANIŠOVÁ et al., 2018), sendo este último, teste padrão ouro em laboratórios de referência dos Estados Unidos e Europa (CHECKLEY et al., 2015).

No entanto, os métodos parasitológicos e imunológicos não permitem a diferenciação entre as diversas espécies de *Cryptosporidium* spp., sendo os métodos moleculares utilizados para o diagnóstico e sequenciamento do agente (KOEHLER; ŠLAPETA; 2020; CAMARGO et al., 2018; DE ARAÚJO et al., 2018).

Controle, profilaxia e tratamento, da criptosporidiose em Primatas Não Humanos

Em cativeiro, medidas preventivas e de biossegurança envolvem monitoramento parasitológico periódico do plantel, isolamento de animais infectados, manutenção de baixa densidade de indivíduos por recinto, correto manejo de dejetos e, no caso de instituições nas quais o acesso público é permitido, recomenda-se a restrição do contato entre visitantes e animais silvestres em exposição (FAYER; XIAO, 2008; SAMUEL et al., 2001).

Eventos estressantes devem ser evitados, e tratadores devem ser considerados importantes carreadores mecânicos de oocistos entre recintos, o que torna essencial o uso de equipamentos de proteção individual e de corretas práticas de higiene sanitária (FAYER; XIAO, 2008; SAMUEL et al., 2001). Animais sinantrópicos (insetos, roedores, aves e outros) também podem representar importante papel na disseminação do agente, devendo ter seu acesso aos recintos controlado (SAMUEL et al., 2001).

No que se refere ao tratamento de criptosporidiose em PNHs, muitos fármacos têm sido utilizados, porém não se conhece ainda nenhuma molécula comprovadamente eficaz, sendo os protocolos usados ainda de caráter experimental (CUBAS et al., 2014). Entre os fármacos mais utilizados para o tratamento destacam-se a paramomicina, espiamicina, sulfa/trimetroprina, azitromicina e nitazoxanida, sendo esse último o mais usado no tratamento desses animais (SANTOS, 2014).

Infecção por *Giardia* spp. em Primatas Não Humanos

Giardia é um protozoário oportunista responsável por causar doenças entéricas que podem afetar humanos, animais domésticos e silvestres (PANTOJA et al., 2017; KASAEI et al., 2018). Devido a sua característica cosmopolita e por estar intensamente associada às precárias condições socioeconômicas e higiênico-sanitárias, este agente está inserido no grupo da Organização Mundial da Saúde Doenças Negligenciadas que reúne doenças negligenciadas nos países em desenvolvimento e que guardam estreita relação com a pobreza, com a falta de saneamento básico e com a qualidade da água de consumo (SAVIOLI et al., 2006).

Via de regra, a transmissão desse agente pode ocorrer de forma direta (oral-fecal), de indivíduo para indivíduo, ou indireta, por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados (CACCIÒ et al., 2005; XIAO; GRIFFITHS, 2020). Conforme a nova sistemática, o gênero *Giardia* é um grupo de parasito pertencente morfologicamente ao Filo Metamoda, Sub-filo Trichozoa, Super classe Eopharyngia, Classe Trepomonadea, Sub-classe Diplozoa, Ordem Giardiida e Família Giardiida (PLUTZER et al., 2010), que acomete uma variedade de hospedeiros, desde mamíferos domésticos (ZHONG et al., 2018; LI et al., 2019), silvestres (SPRENGER et al., 2018; JONES et al., 2019), aves (ICHIKAWA et al., 2019), répteis (CHAGAS et al., 2019), peixes (GHONEIM et al., 2012) e moluscos (COUPE et al., 2018) e o homem (KASAEI et al., 2018).

O consenso para a definição do número de espécies pertencentes ao gênero *Giardia* não tem sido fácil, assim como o esclarecimento para a correta denominação de cada um deles. É reconhecido atualmente que este gênero engloba seis espécies, sendo que a concepção inicial de que *G. lamblia* apenas se encontraria em humanos é errada, passando a ser descrita como sinônimo de *G. intestinalis* ou *G. duodenalis* sendo caracterizada por um complexo de espécies que engloba sete grupos ou *assemblages* com poucas diferenças morfológicas, mas que se dividem com base na análise genética (CACCIÒ; RYAN, 2008).

As subespécies A e B são as que apresentam uma maior gama de hospedeiros susceptíveis, em particular humanos e primatas não humanos, além de animais domésticos e selvagens, o que as destaca devido à importância do seu potencial zoonótico (TANGTRONGSUP; SCORZA, 2010).

Ciclo biológico

O ciclo biológico da *Giardia* spp. é simples e direto (Figura 2), ocorre em apenas um hospedeiro, apresentando duas formas morfolologicamente distintas, o cisto, que é a forma infectante, e o trofozoíto, forma vegetativa que habita o intestino do hospedeiro (CARRANZA;LUJÁN, 2010; ANKARKLEV et al., 2010).

O ciclo se inicia no hospedeiro suscetível com a ingestão de cistos, principalmente por meio de alimentos ou água contaminada (WANG et al., 2012). Após chegar ao estômago o cisto passa por um processo de desencistamento pela ação dos ácidos estomacais e enzimas digestivas, liberando seu conteúdo que rapidamente se diferencia em dois trofozoítos, que se multiplicam por divisão binária na luz do duodeno e do jejuno, e aderem à superfície epitelial por meio do disco sucltorial (MIHALCA, 2013).

Em condições favoráveis, ocorre o processo de encistamento na porção proximal do intestino grosso e são liberados nas fezes do hospedeiro (BOWMAN, 2009), podendo permanecer viáveis no ambiente por mais de dois meses, dependendo das condições de temperatura e umidade (FAYER; UNGAR, 1986).

Quanto à ocorrência de *Giardia* spp. em PNHs, há um grande interesse no mundo científico devido aos relatos de genótipos e subespécies desse parasito provenientes do homem, infectando PNHs (Tabela 2) nos continentes Asiático, Europeu e Africano (LEVECKE et al., 2009; BERRILLI et al., 2011; YE et al., 2012).

No Brasil, há uma carência de dados baseados em biologia molecular desse protozoário em primatas e a maioria das pesquisas ainda é realizada apenas por técnicas baseadas em microscopia ótica, que não é capaz de identificar os genótipos e subtipos desse parasita.

Tabela 2. Ocorrência e identificação de *Giardia* spp. em primatas não humanos por continente.

Continente	Espécies	País	Métodos	Espécies	Referências
Americano	<i>Alouatta pigra</i>	México	ELISA	<i>Giardia</i> spp.	Vitazkova e Wade (2006)
	<i>Alouatta clamitans</i>	Brasil	Técnica de Faust, PCR e Sequenciamento	<i>Giardia</i> spp. <i>G. duodenalis</i> assemblage A	Volotão et al. (2008)
	<i>Callithrix jacchus</i>	Estados Unidos	ELISA	<i>Gardia</i> spp.	Kramer et al. (2009)
	<i>Alouatta caraya</i>	Argentina	Técnica de Reação de Imunofluorescência direta	<i>Giardia</i> spp	Kowalewski et al. (2011)
	<i>Cebus capucinus</i>	Costa Rica	Técnica de Reação de Imunofluorescência direta	<i>Giardia</i> spp.	Parr et al. (2013)
	<i>Alouatta caraya</i> , <i>A. fusca</i> , <i>A. seniculus</i> e <i>Ateles belzebuth</i>	Brasil	Técnica de Faust, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage A	David et al. (2014)

Cont.	<i>Macaca mulatta</i> , <i>M. fascicularis</i> e <i>Trachypithecus francoisi</i>	China	Técnica de Sheather, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Karim et al. (2014)
	<i>Saimiri</i> , <i>Macaca</i> , <i>Cebuella</i> , <i>Callithrix</i> , <i>Callibella</i> , <i>Mico</i> , <i>Saguinus</i> , <i>Leontopithecus</i> , <i>Callicebus</i> , <i>Sapajus</i> , <i>Pithecia</i> , <i>Chiropotes</i> , <i>Cacajao</i> , <i>Alouatta</i> e <i>Ateles</i> , <i>Brachyteles</i>	Brasil	Técnica de Faust	<i>Giardia</i> spp.	Barbosa et al. (2015)
Africano	<i>Cercopithecus ascanius</i>	Uganda	Técnica de Reação de Imunofluorescência direta	<i>Giardia</i> spp.	Salzer, et al. (2007)
	<i>Procolobus badius tephrosceles</i> , <i>Colobus</i>	Uganda	PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B e E.	Johnston et al. (2010)
	<i>Guereza</i> e <i>Cercopithecus ascanius</i>				
	<i>Gorilla beringei beringei</i>	Ruanda	Técnica de Reação de Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Hogan, et al. (2014)
	<i>Pan troglodytes</i> , <i>Mandrillus Sphinx</i> e <i>Procolobus Kirkii</i>	Congo	Técnica de Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assembléias B	Debenham et al. (2015)
Asiático	<i>Macaca fascicularis</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assembléias Ae B	Ye et al. (2015)

Cont.

<i>Macaca mulatta</i> e <i>Saimiri leucogenys</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>G. intestinalis</i> assemblage E	Du et al. (2015)
<i>Pongo abelii</i> e <i>Pongo pygmaeus wurmbii</i>	Indonésia	PCR e Sequenciamento	<i>G. intestinalis</i> assemblage B	Mynářová et al. (2016)
<i>Macaca mulatta</i>	Índia	Técnica de Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. intestinalis</i> assemblage B	Debenham et al. (2017)
Vários primatas não humanos	China	PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage A e B	Li et al. (2017)
<i>Macaca fascicularis</i>	Tailândia	PCR e Sequenciamento	<i>G. intestinalis</i> assemblage A	Sricharern et al. (2016)
<i>Macaca fascicularis</i> , <i>Macaca mulatta</i> e <i>Nomascus leucogenys</i>	China	PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Zhong et al. (2017)

Cont.

	<i>Hylobates agilis</i> , <i>Hylobates lar</i> e <i>Hylobates pileatus</i>	Tailândia	Técnica de Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Tangtrongsup et al. (2019)
Europa	<i>Catta do lêmure</i> , <i>Colobus guereza</i> , <i>Paella de Cebus</i> , <i>Pan-trogloditas</i> , <i>Hylobates lar</i> e <i>Semnopithecus entellus</i> ,	Croácia	Técnica de Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Beck et al. (2011)
	<i>Lemur catta</i>	Itália	Método de concentração de formol-acetato de etila, Imunofluorescência direta, PCR e Sequenciamento	<i>G. duodenalis</i> assemblage B	Berrilli et al. (2011)
	<i>Hapalemur aureus</i> , <i>Eulemur rufus</i> , <i>E. rubriventer</i> , <i>Varecia rubra</i> , <i>Cercopithecus hamlyn</i> , <i>C. neglectus</i> , <i>Lemur catta</i> , <i>Mandrillus leucophaeus</i> , <i>Gorilla gorila</i> , <i>Cercocebus atys</i> , <i>Eulemur fulvus mayottensis</i> e <i>Pan troglodytes</i>	Espanha	Método de concentração de formol-acetato de etila, PCR e Sequenciamento	<i>G. intestinalis</i> assemblage A e B	Martínez-Díaz et al. (2011)

Sinais Clínicos da giardíase em Primatas Não Humanos

De modo geral, os PNHS são portadores assintomáticos desse agente, entretanto em situações de estresse e imunossupressão, estes podem apresentar quadros clínicos severos (GENOY- PUERTO et al., 2010; SANTOS, 2011).

Os sinais clínicos diferem de indivíduo para indivíduo, podendo culminar em síndrome de má absorção, anorexia, desidratação, anemia e óbito, o que ocorre mais comumente em indivíduos jovens e/ ou imunossuprimidos (OLSON et al., 2002; RYAN; CACCIÒ, 2013). Além disso, determinadas espécies de PHNs, em especial as do gênero *Alouatta*, demonstram maior sensibilidade às infecções por esse protozoário, quando comparadas a animais de outras ordens (GENOY- PUERTO et al., 2010).

Diagnóstico de infecção por *Giardia* spp. em Primatas Não Humanos

O diagnóstico laboratorial de *Giardia* spp. tem sido realizado por três grupos de exames: parasitológicos, imunológicos e moleculares (FAUST et al. 1939; HOOSHYAR et al., 2019).

O diagnóstico parasitológico da *Giardia* spp. é realizado por meio da identificação por microscopia óptica de trofozoítos ou cistos em amostras fecais a partir de esfregaços corados com tricrômico iodo e hematoxilina férrica (KOEHLER et al., 2014). Além disso, os cistos podem ser visibilizados por meio de técnicas de concentração, utilizando sulfato de zinco (FAUST et al., 1939), sacarose (SHEATHER, 1923) e formalina (RITCHIE, 1948).

A centrífugo-flutuação com sulfato de zinco é um dos métodos mais utilizados para a detecção de cistos de *Giardia* spp., por sua eficiência, praticidade e rapidez. No entanto resultados negativos são corriqueiros devido à dificuldade para visibilizar os cistos nas amostras (FAUST et al., 1939).

Em detrimento a isso, nos últimos anos foi proposto o uso do Mini- FLOTAC e FLOTAC, técnicas que demonstraram maior sensibilidade na identificação do patógeno, quando comparadas aos métodos clássicos (CRINGOLI et al., 2010; MAURELLI et al., 2014).

A detecção do parasito em amostras biológicas também pode ser realizada por meio de métodos imunológicos, como a reação de imunofluorescência direta (IFA) e teste imunoenzimático (ELISA) (XIAO; HERD, 1994; GARCIA et al., 2003; PEPE et al., 2019).

Métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento molecular têm sido aplicados por oferecerem benefícios em comparação com os demais, sobretudo por permitir a caracterização molecular das diferentes espécies e genótipos, além da rapidez e facilidade na execução (IVANOV, 2010; DAVID et al., 2014; ZHONG et al., 2018).

Controle, Profilaxia e Tratamento da giardíase em Primatas Não Humanos

Medidas preventivas da *Giardia* spp. podem ser realizadas por meio da remoção frequente das fezes dos espaços em que os animais se encontram confinados, com subsequente desinfecção (ETTINGER; FELDMAN, 1997; KOSKI, 2002), prevenção da contaminação fecal dos comedouros, bebedouros e saneamento do ambiente (BOWMAN, 2009; DAVID et al., 2014).

Por outro lado, os cistos podem ser inativados pela maioria dos compostos a base de amônio quaternário e vapor de água à pressão (SAMUEL et al., 2001; KAHN, 2010).

O tratamento de infecções por *Giardia* spp. não deve ser a simples eliminação de sinais clínicos. Recomenda-se que animais assintomáticos sejam também tratados, pois os mesmos podem permanecer como fonte de infecção a outros indivíduos e ao ambiente, além de se tornarem susceptíveis aos outros agentes infecciosos.

A giardíase em geral é tratada com fármacos do grupo dos nitroimidazóis, como metronidazol, tinidazol e secnidazol (ORTEGA-PIÉRRES et al., 2009). Existe uma segunda linha de fármacos onde estão os benzimidazóis, como albendazol, febendazol e mebendazol, estes menos efetivos que os primeiros (ORTEGA-PIÉRRES et al., 2010). Outros fármacos como a paramomicina e a nitazoxanida também são usados, principalmente em casos de resistências ou intolerância a outros medicamentos (ORTEGA-PIÉRRES et al., 2009). Recomenda-se sempre repetir o

exame de fezes a cada 15 dias, para ter certeza que o tratamento foi eficaz (NEVES et al. 2005). A utilização de probióticos, poderá ser realizada com a finalidade de restaurar a microbiota intestinal do animal (HUMEN et al., 2005, VENTURA et al., 2018).

Infecção por helmintos em Primatas Não Humanos

Em geral PNHs são hospedeiros de diversas espécies de helmintos (trematódeos, cestóides, acantocéfalos, e nematódeos) (Tabela 3) (PEREA-RODRIGUEZ et al., 2010; SALES et al., 2010; CORRÊA et al., 2016), cuja transmissão pode ocorrer de forma direta, de hospedeiro para hospedeiro, ou de forma indireta, mediante a ingestão de água ou alimentos contaminados (LINDSAY et al., 2019). A transmissão também pode estar associada à diversidade alimentar, condições do ambiente, comportamento, sexo, idade, genética, como também às relações ecológicas intraespecíficas e interespecíficas (PACHECO et al., 2003).

Cerca de 250 espécies de helmintos foram identificadas parasitando PNHs, dentre estes, os mais comuns são os nematódeos que causam poucos sinais clínicos aparentes (SANTOS et al., 2006), sendo os gêneros mais frequentes *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichuris* e *Ancylostoma* (CLEAVELAND et al., 2001).

Pesquisas em PNHs no mundo relatam que helmintos gastrointestinais infectam todos os grupos de primatas (KARERE; MUNENE, 2002), no entanto os de cativeiro apresentam elevadas taxas de morbidade e mortalidade, frequentemente associadas a uma grande população de animais em ambiente restrito (recinto), favorecendo a disseminação do parasito e o declínio populacional (VERWEIJ et al., 2003; JOHNSON-DELANEY, 2009; LI et al., 2019; GOMES, 2011).

Apesar disso, poucos estudos quantificam dados sobre a prevalência desses parasitas em zoológicos e centros de conservações (SANCHEZ et al., 2009; NATH et al., 2012; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2013) e estudos existentes limitaram seu foco a espécies específicas de primatas, espécies parasitas ou zoológicos específicos (SANCHEZ et al., 2009; RIVERA et al., 2010).

Tabela 3. Ocorrência e identificação de helmintos gastrointestinais em primatas não humanos por continente

Continente	Gênero ou Espécie	Parasito	País	Métodos	Referências
Americano	<i>Aotus nancymae</i> , <i>A. vociferans</i> ,	Trematoda, Nematoda, Acanthocephala e cestoda	Peru	Método Direto e Técnica de Sheather	Michaud et al. (2003)
	<i>Saguinus labiatus</i> , <i>S. mystax</i> , <i>Saimiri boliviensis peruviansis</i> , <i>S. sciureus macrodon</i> , <i>Lagothrix lagotricha</i> e <i>Cacajao calvus rubicundus</i>				
	<i>Cebus apella</i> , <i>Cebus albifrons</i> , <i>Saguinus fuscicollis weddelli</i> , <i>Lagothrix lagotricha</i> , <i>Ateles paniscus chamek</i> , <i>Saimiri sciureus</i> , <i>Aotus nigriceps</i> e <i>Alouatta seniculus</i>	<i>Strongyloides cebus</i> , <i>Paratriotaenia oedipomidatis</i> , <i>Prosthernorchis elegans</i> , Trichostrongylidae e Oxyuroideo,	Peru	Métodos Direto, Técnica de Ritchie, Sheather e Hoffman	Guerreiro et al. (2012)
	<i>Alouatta palliata mexicana</i> e <i>A. pigra</i>	Ascarididae, <i>Acanthocephala</i> sp., <i>Nematoda</i> sp., <i>Parabronema</i> sp., Strongylidae, <i>Raillietina</i> sp., Trematoda sp., <i>Controrchis biliophilus</i> , <i>Prosthernorchis elegans</i> e <i>Trypanoxyuris minutus</i>	México	Técnica de Foreyt, Dryden e Gillespie	Trejo-Macías e Estrada. (2012)
	<i>Callithrix</i>	Dilepididae, Ancylostomatidae, <i>Prosthernorchis</i> sp., e <i>Primasubulura jacchi</i>	Brasil	Técnica de Hoffman-Pons-Janner	Tavela et al. (2013)
	<i>Cebus capucinus</i>	<i>Filariopsis barreto</i> , <i>Strongyloides</i> sp., e <i>Prosthernorchis</i> sp.	Costa Rica	Técnica de Sheather, Hoffman e Necropsia	Parr et al. (2013)

Cont.

<i>Cebus apella</i> e <i>Ateles geoffroyi</i>	<i>Enterobius</i> spp.	Brasil	Técnica de Hoffmann, Willis	Sprenger et al. (2018)
<i>Ateles</i> e <i>Leontopithecus</i>	Oxyuridae e Strongyloidea	Brasil	Técnica de Hoffman e Faust	David et al. (2014)
<i>Saimiri</i> , <i>Macaca</i> , <i>Cebuella</i> , <i>Callithrix</i> , <i>Callibella</i> , Mico, <i>Saguinus</i> , <i>Leontopithecus</i> , <i>Callicebus</i> , <i>Sapajus</i> , <i>Pithecia</i> , <i>Chiropotes</i> , <i>Cacajao</i> , <i>Alouatta</i> , <i>Ateles</i> e <i>Brachyteles</i>	<i>Trichuris trichiura</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , Oxyuridae, Larva de nematódeos, <i>Hymenolepis</i> sp. e Acanthocephalidae	Brasil	Técnica de Hoffman, Sheather, Ritchie e Lutz	Barbosa et al. (2015)
<i>Sapajus</i>	<i>Ancylostoma</i> sp. e <i>Strongyloides</i> sp.	Brasil	Técnica Willis e Hoffman	Alcântara et al. (2016)
<i>Callithrix</i> e <i>Leontopithecus</i>	<i>Prosthenorchis elegias</i>	Brasil	Necrópsia	Catenacci et al. (2016)
<i>Callimico</i>	<i>Echinococcus multilocularis</i>	Canadá	Necrópsia	Christiansen et al. (2015)
<i>Callithrix penicillata</i>	<i>Platynosomum illiciens</i>	Brasil	Necrópsia	Pinto et al. (2017)
<i>Alouatta seniculus</i> , <i>Ateles hybridus</i> e <i>Cebus versicolor</i>	Trichuridae, Trichostrongylidae, Oxyuridae, Strongyloididae, Ancylostomatidae, Ascarididae e Gnathostomatidae	Colômbia	Método direto	Rondon et al. (2017)

Cont.**Africano**

<i>Cebus albifrons</i>	<i>Hymenolepis</i> sp., <i>Trongyloides</i> sp., <i>Capillaria</i> sp. e <i>Prosthenorchis elegans</i>	Equador	Técnica de Ritchie	Martin-Solano et al. (2017)
<i>Alouatta pigra</i>	<i>Controrchis</i> spp. e <i>Trypanoxyuris</i> Spp	México	Técnica de FLOTAC e Mini- FLOTAC	Alvarado-Villalobos et al. (2017)
<i>Saimiri sciureus</i> e <i>Sapajus apella</i>	<i>Ascaris</i> sp., <i>Capillaria</i> sp., <i>Strongyloidea</i> e taenídeo	Brasil	Técnica de Willis e Hoffmann	Figueiredo et al. (2018)
<i>Alouatta caraya</i>	<i>Ascaris</i> sp. e <i>Ancylostoma</i> sp.	Brasil	Técnica de Faust, Hoffman, Pons & Janer e Willis-Mollay	Silva et al. (2018)
<i>Papio</i> , <i>Cercopithecus</i> e <i>Chlorocebus</i>	<i>Strongyloide flleborni</i> , <i>Oesophagostomum</i> sp. <i>Trichostrongylus</i> sp., <i>Trichuris trinchira</i> , <i>Enterobius</i> sp., <i>Streptopharagus</i> sp. e <i>Schistosoma mansonii</i>	Quênia	Método Direto, Técnica de Esfregaço de espessura de kato e Harada eMori	Munene et a. (1998)
<i>Pan troglodytes</i> e <i>Colobus guereza</i>	<i>Anatrichosoma</i> sp., <i>Subulura</i> sp., <i>Spirurida</i> , <i>Protospirura Muricola</i> <i>Strongylida</i> , <i>Strongyloides</i> sp. e <i>Trichuris</i> sp.	Tanzânia	Técnica de Sheather e Blagg.	Petrášová et al. (2010)
<i>Ateles Paniscus</i>	<i>Oesophagostomum pachycephalum</i> , <i>Primasubulura distans</i> , <i>Streptopharagus pigmentatus</i> , <i>Ternidens deminutus</i> e <i>Trichuris</i> sp.	Tanzânia	Necrópsia	Kooriyama et al. (2010)
<i>Procolobus badius</i> <i>tephrosceles</i> , <i>Cercopithecus ascanius schmidtii</i> ,	<i>Oesophagostomum</i> spp., <i>Strongyloides</i> sp., <i>Trichuris</i> sp., <i>Bertiella studeri</i> , <i>Streptopharagus</i> ,	Tanzânia	Kit fecal de concentrador de parasitas (FPC)	Kooriyama et al. (2012)

Cont.	Asiático	<i>Cercopithecus aethiops pygerythrus</i> e <i>Papio cynocephalus</i>	<i>Primasubulura</i> , Dicrocoeliidae, <i>Chitwoodspirura</i> sp., <i>Probstmayria gombensis</i> e <i>Enterobius</i> sp.		(Evergreen Scientific, Los Angeles, CA, EUA).	
		<i>Cercopithecus</i> , <i>Erythrocebus</i> e <i>Papio</i> spp.	<i>Capillaria</i> spp., <i>Strongyles</i> spp. e <i>Trichuris</i> spp.	Nigéria	Método Direto, Técnica de Wills e Hoffman	Egbetade et al. (2014)
		<i>Gorilla</i> e <i>Pan</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i> e <i>Strongyloides fuelleborni</i>	Uganda	PCR	Hasegawa et al. (2016)
		<i>Gorila gorila</i> e <i>Cercocebus agilis</i>	<i>Oesophagostomum bifurcum</i> , <i>Necator americanus</i> e <i>Necator</i> sp	República Centro-Africana	Meio de Cultura e PCR	Pafčo et al. (2018)
		<i>Avahi occidentalis</i> e <i>Lepilemur edwardsi</i>	<i>Strongylida</i> e <i>Oxyuridae</i> ,	Madagascar	Técnica de Willis	Hokan et al. (2018)
		<i>Cercopithecus diana</i> e <i>Macaca nigra</i>	<i>Echinococcus multiloculares</i>	Japão	Técnica de Histopatológica, Western blotting e ELISA	Yamano et al. (2014)
		Vários primatas não humanos	<i>Trichuris</i> spp., <i>Strongyloides</i> spp., <i>Ascaris</i> spp., <i>Physaloptera</i> spp., <i>Ancylostoma</i> spp. e <i>Enterobius</i> spp.	China	Técnica de Sheather	Li et al. (2017)
		<i>Nasalis larvatus</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris</i> spp., <i>Strongyloides fuelleborni</i> , <i>Ternidens</i> spp. e <i>Enterobius</i> spp.	Malásia	Técnica de Gillespie	Klaus et al. (2017)
		<i>Macaca arctoides</i> , <i>M. fascicularis</i> , <i>M. nemestrina</i> , <i>Nasalis larvatus</i> , <i>Presbytis rubicunda</i> , <i>Trachypithecus cristatus</i> , <i>T. obscurus</i> , <i>Hylobates agilis</i> , <i>H. lar</i> ,	Nematódeos, cestódeos e trematódeos	Malásia	Técnica Wills, Hoffman e Necropsia	Adrus et al. (2019)

Europeu	<i>Symphalangus syndactylus</i> e <i>Pongo pygmaeus</i>				
	<i>Macaca Macaca</i> e <i>Macaca radiata</i>	<i>Ancylostoma</i> sp., <i>Ascaris</i> sp., <i>Bunostomum</i> sp., <i>Enterobius vermicularis</i> , <i>Haemonchus</i> sp., <i>Oesophagostomum</i> sp., <i>Spirurids</i> , <i>Strongyloides</i> sp., <i>Trichuris</i> sp., <i>Toxocara</i> sp., <i>Trichostrongylus</i> sp., <i>Diphyllobothrium</i> sp., <i>Moniezia</i> sp., <i>Hymenolepis nana</i> , <i>Taenia</i> sp. e <i>Dipylidium caninum</i>	Índia	Técnica de Wills, Hoffman e McMaster	Kumar et al. (2018)
	<i>Hylobates agilis</i> , <i>Hylobates lar</i> , e <i>H. pileatus</i>	<i>Strongyloides</i> spp.	Tailândia	Técnica de Faust	Tangtrongsup et al. (2019)
	<i>Papio cynocephalus</i>	<i>Trichuris</i> sp. e <i>Strongyloides fuelleborni</i>	Itália	Técnica de Wills e Hoffman	Fagiolini et al. (2010)
	<i>Macaca fuscata</i> , <i>M. fasciculari</i> e <i>Papio cynocephalus ursinus</i>	<i>Trichuris</i> spp. e <i>Strongyloides stercoralis</i>	Romênia	Técnica de Willis	Dărăbuș et al. (2014)

Sinais Clínicos das helmintoses em Primatas Não Humanos

As manifestações clínicas por helmintos gastrointestinais não são tão características como nos animais domésticos e, em várias situações os animais são assintomáticos, podendo em alguns casos manifestarem sinais clínicos como anorexia, pelos eriçados, mucosas pálidas e apatia (TAVERNARD, 2017).

Diagnósticos das helmintoses em Primatas Não Humanos

Na rotina laboratorial, o diagnóstico das helmintoses intestinais se dá mediante a utilização de técnicas parasitológicas em amostras fecais, pois apresentam custo baixo (MELO et al., 1989; WILCOX; COURA, 1991). Sendo assim, as técnicas coproparasitológicas são ferramentas essenciais para o correto diagnóstico das helmintoses, além de avaliar a intensidade das infecções parasitárias, que podem refletir as condições higiênico-sanitárias que uma população está submetida (VAZ, 2001).

A recuperação e a identificação de ovos de helmintos podem ser realizadas com a utilização de diferentes métodos coproparasitológicos (SANT'ANNA et al., 2013), particularmente flutuação, centrífugo-flutuação, sedimentação, utilizando soluções com diferentes densidades com a finalidade de permitir o correto diagnóstico (NOVAES; MARTINS, 2015). Apesar do baixo custo e fácil operação, estas técnicas apresentam baixa sensibilidade. Em função disto, as técnicas multivalentes de FLOTAC e Mini-FLOTAC, estão sendo utilizadas no diagnóstico parasitológico por apresentar alta sensibilidade e especificidade (CRINGOLI et al., 2010).

Entre as técnicas de flutuação destacam -se Willis-Mollay e Sheather, que tem como princípio a flutuação de ovos de nematoides e oocistos de protozoários em soluções saturadas (NEVES, 2005; ROSS et al., 2011). Já as técnicas de sedimentação (Método de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz) são indicadas para a recuperação de ovos pesados que não flutuam em soluções saturadas, como é o caso de ovos de trematódeos e alguns cestoides, além do isolamento de óleos e gorduras da maior parte dos detritos (TÁPARO et al. 2006; SANT'ANNA et al., 2013).

Adicionalmente, Mini-FLOTAC e FLOTAC são duas novas técnicas multivalentes usadas para a identificação qualitativa e quantitativa de ovos, oocistos,

cistos e larvas de parasitos gastrintestinais e bronco pulmonares em fezes de diversos animais incluindo os silvestres, que tem como fundamento a centrifugação da amostra fecal e flutuação das estruturas parasitárias por meio da utilização de soluções saturadas e um aparelho desenvolvido para realização das técnicas (CRINGOLI et al., 2010; CRINGOLI et al., 2013; SILVA et al., 2013).

Por último, a necrópsia tem sido o método mais utilizado para pesquisa e identificação de helmintos em diversas populações animais, particularmente em animais vítimas de atropelamento, já que neste meio de diagnóstico ocorre a identificação de espécimes de helmintos adultos, podendo confirmar, refutar, ou estabelecer o diagnóstico definitivo (PEIXOTO; BARROS, 1998).

Controle, Profilaxia e Tratamento das Helmintoses em Primatas Não Humanos

Segundo Andrade (2002), em centros em que não existe controle efetivo de parasitas é importante fazer vermifugação profilática. Além disso, para manter um nível de higienização constante e adequado, é necessária a descontaminação de todas as instalações e fômites, objetos e áreas de contato constantes de animais, para prevenir a disseminação de doenças, além de reduzir e controlar os helmintos.

A prática de higienização deve ser feita diariamente. Recomenda-se a utilização de solução de hipoclorito de sódio ou produtos similares, aptos a higienizar qualquer superfície. Além disso, a fumigação com formaldeído ou similares também é aconselhável após o término de um programa de quarentena, com fins de esterilização do ambiente (ANDRADE, 2002).

Os fármacos de escolha para o tratamento desses agentes em PNHs vão depender da eficiência do mesmo em determinadas ordens. Dentre os mais usados citam-se: Albendazol, ivermectina, benzimidazol, pirantel febendazol, praziquantel, mebendazol, pirantel, Fembendazol, Mebendazol e Tiabendazol (CUBAS et al., 2007).

3. Referências Bibliográficas

ADRUS, M. et al. Gastrointestinal parasites of zoonotic importance observed in the wild, urban, and captive populations of non-human primates in Malaysia. **Journal of Medical Primatology**, v. 48, n. 1, p. 22-31, 2019.

AGUIAR, T. Risco de transmissão do vírus da raiva oriundo de sagui (*Callithrix jacchus*), domiciliado e semidomiciliado, para o homem na região metropolitana de Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 356-363, 2011.

ANDRADE, M. C. R. Criação e manejo de primatas não humanos. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**, v. 1, 2002.

ALCÂNTARA, D. S. et al. Estudo coproparasitológico da espécie *Cebus libidinosus* (macaco-prego). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1609-1612, 2016.

ALVARADO-VILLALOBOS, M A et al. Flotation techniques (FLOTAC and mini-FLOTAC) for detecting gastrointestinal parasites in howler monkeys. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 586, 2017.

ANKARKLEV, J. et al. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. **Nature Reviews Microbiology**, v.8, p. 413–422, 2010.

BARBOSA, AS. et al. *Balantidium coli* and other gastrointestinal parasites in captives non-human primates of the Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of medical primatology**, v. 44, n. 1, p. 18-26, 2015.

BATISTA, P. M. et al. Detection of arboviruses of public health interest in free-living New World primates (*Sapajus* spp.; *Alouatta caraya*) captured in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 6, p. 684-690, 2013.

BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C. A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. **Epidemiology & Infection**, v. 93, n. 2, p. 317-323, 1984.

- BECK, R. et al. Prevalence and molecular typing of *Giardia* spp. in captive mammals at the zoo of Zagreb, Croatia. **Veterinary parasitology**, v. 175, n. 1-2, p. 40-46, 2011.
- BERRILLI, F. et al. *Giardia duodenalis* assemblages and Entamoeba species infecting non-human primates in an Italian zoological garden: zoonotic potential and management traits. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 199, 2011.
- BICCA-MARQUES, J. C.; SILVA, V. M.; GOMES, D. F. Ordem Primates. In: REIS, N. R.; PERRACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (eds.) Mamíferos do Brasil. 2ª edição, 2011, p. 107-150.
- BLAGG, W. et al. A New Concentration Technic for the Demonstration of Protozoa and Helminth Eggs in Feces1. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, n. 1, p. 23-28, 1955.
- BOUZID, M. et al. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 1, p. 115-134, 2013.
- BORGES, J. C. G. et al. Ocorrência de infecção por *Cryptosporidium* spp. em peixe-boi marinho (*Trichechus manatus*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 60-61, 2009.
- BOYLE, S. A. Human impacts on primate conservation in central Amazonia. **Tropical Conservation Science**, v.1, n. 1, p. 6-17, 2008.
- BOWMAN, D. G. **Parasitology for veterinarians**, 8th edition. St. Louis: **Saunders**. 2009. p. 84-114.
- BRANCO, A. M. Centro de Manejo de Animais Silvestres. In: Giovanini, D. (Org.). Animais silvestres: vida à venda. Brasília, DF: Dupligráfica, 2002. p. 235-253.
- BRANDON, K et al. Conservação brasileira: desafios e oportunidades. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 7-13, 2005.
- BRAUN, B. **Power over life: biosecurity as biopolitics**. In: DOBSON, Kezia; TAYLOR, Sarah L.; DOBSON, Andrew (eds.). Biosecurity: the socio-politics of invasive species and infectious diseases. London: Routledge, 2013. p. 45-58.
- BRITO, F. A.; CÂMARA, J. B. D. Democratização e gestão ambiental: em busca do desenvolvimento sustentável. Petrópolis: **Vozes**, 1998.

- BUTEL, C. et al. Assessment of infections with microsporidia and *Cryptosporidium* spp. in fecal samples from wild primate populations from Cameroon and Democratic Republic of Congo. **International Journal of Primatology**, v. 36, n. 2, p. 227-243, 2015.
- CABRAL, D. D. et al. Exame de fezes de mamíferos silvestres para verificação de parasitismo por *Cryptosporidium* sp. **Bioscience Journal**, v. 7, n.1, p. 77-83, 2001.
- CACCIO, S. M. et al. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**, v. 21 n. 9, p. 430- 437, 2005.
- CACCIÒ, S. M.; RYAN, U. Molecular Epidemiology of Giardiasis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 160, n. 2, p.75-80, 2008.
- CAMARGO, V.S. et al. Detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in captive canaries (*Serinus canaria*) using different diagnostic methods. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n.1, p. 60-65, 2018.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **CCAC guidelines: Nonhuman primates**. Ottawa, Ontario, 20019, 96p. Disponível em: https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/CCAC_NonhumanPrimates_Guidelines-2019.pdf. Acesso em 10 dez. 2019
- CANO-TERRIZA, D. et al. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive nonhuman primates in zoos in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 65, p. 54-57, 2019.
- CARVALHO FILHO, P. R. et al. Intestinal Protozoa in apprehended New World Nonhuman Primates. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 3, p. 354-361, 2006.
- CARRANZA, P. G.; LUJÁN, H. D. New insights regarding the biology of *Giardia lamblia*. **Microbes and Infection**, v. 12, p. 71-80, 2010.
- CATENACCI, L.S. et al. Occurrence of *Prosthenoorchis elegans* in Free-living Primates from the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 52, n. 2, p. 364–368, 2016.

CAVALIER-SMITH, T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. **European Journal of Protistology**, v. 50, n.5, p. 472-495, 2014.

CIBOT, M. et al. Nodular worm infections in wild non-human primates and humans living in the Sebitoli area (Kibale National Park, Uganda): do high spatial proximity favor zoonotic transmission? **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 10, p. 1-17, 2015.

CONLY, M. D; JOHNSTON, M. D. The infectious diseases consequences of monkey business. **Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 12-14, 2008.

CHALMERS, R. M; DAVIES, A. P. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 138–146, 2010.

CHALMERS, R. M. et al. Comparison of diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the UK. **Journal of medical microbiology**, v. 60, n. 11, p. 1598-1604, 2011.

CHAGAS, C. R. F. et al. *Giardia* spp., ten years of parasitological data in the biggest zoo of Latin America. **Annals of parasitology**, v. 65, n. 1, p. 35-51, 2019.

CHEN, L. et al. *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* subtypes in crab-eating macaques. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 350, 2019.

CHECKLEY, W. et al. A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for *cryptosporidium*. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 85-94, 2015.

CHRISTIANSEN, E. F. et al. infection of a Goeldi's monkey (*Callimico goeldii*) with a european strain of *Echinococcus multilocularis* in a canadian institution. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 46, n. 2, p. 378–381, 2015.

CLEAVELAND, S.; LAURENSEN, M.K.; TAYLOR, L.H. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences**, v. 356, n. 356, p. 991–999, 2001.

CLODE, P. L.; KOH, W. H.; THOMPSON, R. C. A. Life without a host cell: what is *Cryptosporidium*?. **Trends in parasitology**, v. 31, n. 12, p. 614-624, 2015.

CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press. p. 493-499, 2001.

CORRÊA, P. et al. Checklist of helminth parasites of wild primates from Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 87, n. 3, p. 908-918, 2016.

COUPE, A. et al. First report of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts and *Giardia duodenalis* in commercial green-lipped mussels (*Perna canaliculus*) in New Zealand. **Parasitology research**, v. 117, n. 5, p. 1453-1463, 2018.

CRINGOLI, G. et al. FLOTAC: new multivalente techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. **Nature Protocols**, v. 5, p. 503-515, 2010.

CRINGOLI, G. et al. Geospatial (s) tools: integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. **Geospatial Health**, v. 7, n. 2, p. 399-404, 2013.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens - medicina veterinária**. 1ª (ed.) São Paulo: Roca, 2007.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014.

CUNHA, M. J. R. et al. Molecular identification of *Enterocytozoon bieneusi*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in Brazilian captive birds. **Parasitology research**, v. 116, p. 487–493, 2017.

CUNHA, F. S. et al. New insights into the detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* with emphasis in Brazilian studies: a review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2019.

CURRENT, W. L.; GARCIA, L. S. Cryptosporidiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4. n. 3, p. 325-358, 1991.

DANIŠOVÁ, O. et al. Sensitivity, specificity and comparison of three commercially available immunological tests in the diagnosis of *Cryptosporidium* species in animals. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 177-183, 2018.

DĂRĂBUȘ, G. et al. Endoparasites in mammals from seven zoological gardens in Romania. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.45, n.2, p. 239–246, 2014.

D'ÁVILA DE FREITAS AGUIAR, T. et al. Risco de transmissão do vírus da raiva oriundo de sagui (*Callithrix jacchus*), domiciliado e semidomiciliado para o homem na região metropolitana de Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 356-363, 2011.

DA SILVA, A. S. et al. Ocorrência de protozoários gastrintestinais em primatas mantidos em cativeiro na região sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 38.n. 9, p. 2658-2661, 2008.

DA SILVA, A. et al. Protozoários gastrintestinais em bugios (*Alouatta* sp.) mantidos em cativeiro. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n. 2, p. 669-672, 2009.

DAVID, E. B. et al. Molecular typing of *Giardia duodenalis* isolates from nonhuman primates housed in a Brazilian zoo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 49-54, 2014

DAYAO, D A. et al. An immunocompetent rat model of infection with *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum*. **International journal for parasitology**, P. -13, 2019.

DASZAK, P; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. **science**, v. 287, n. 5452, p. 443-449, 2000.

DEBENHAM, J. J. et al. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*), mandrills (*Mandrillus sphinx*) and wild Zanzibar red colobus monkeys (*Procolobus kirkii*). **Journal of medical primatology**, v. 44, n. 2, p. 60-65, 2015.

DEBENHAM, J. J. et al. Occurrence of *Giardia*, *Cryptosporidium*, and *Entamoeba* in wild rhesus macaques (*Macaca mulatta*) living in urban and semi-rural North-West India. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 1, p. 29-34, 2017.

DE ARAÚJO, R. S. et al. Detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* species and *Giardia* assemblages in two watersheds in the metropolitan region of São Paulo, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 15, p. 15191-15203, 2018.

DE CARLI, G. A. **Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas**. Medsi, Rio de Janeiro, 2011.

DE SOUSA, G. et al. A Importância da educação ambiental na escola nas séries iniciais. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 4, n. 1, P. 1-17, 2011.

DINIZ, M. H. Defaunação: a atual crise da biodiversidade. **Revista Brasileira de Direito Animal**, v. 12, n. 1, p. 15-52, 2017.

DRYDEN, M. W. et al. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. **Veterinary Therapeutics**, v. 6, n. 1, p. 15-28, 2005.

DU, S. Z. et al. *Cryptosporidium* spp., *Giardia intestinalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in Captive Non-Human Primates in Qinling Mountains. **Korean Journal of Parasitology**, v. 53, n. 4, p. 395-402, 2015.

EGBETADE, A. et al. Gastrointestinal helminths of resident wildlife at the Federal University of Agriculture Zoological Park, Abeokuta. **Sokoto Journal of Veterinary Sciences**, v. 12, n.3, p. 26-31, 2014.

EKANAYAKE, D. K. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* and other enteric parasites among wild non-human primates in Polonnaruwa, Sri Lanka. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 2, p. 322-329, 2006.

ELMORE, D; EBERLE, R. Monkey B virus (*Cercopithecine herpesvirus1*). **Comparative medicine**, v. 58, n. 1, p. 11-21, 2008.

ESTRADA, A. et al. Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. **Science Advances**, v. 18, n. 3, p. 1-16, 2017.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Tratado de medicina interna veterinária, São Paulo, Manole Ltda, 4 ed, v. 1, p. 556-557, 1997.

FAGIOLINI, M. et al. Gastrointestinal parasites in mammals of two Italian zoological gardens. **Journal of zoo and Wildlife Medicine**, v. 41, n. 4, p. 662–670, 2010.

FAHEY, T. Cryptosporidiosis. **Primary Care Update for OB/GYNS**, v. 10, n. 2, p. 75-80, 2003.

FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. **The Journal of Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 241-262, 1939.

FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2 ed. Boca Raton: IWA Publishing, CRC. Press, 2008, 576p. FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of Protozoa and helminths in feces. **The Journal of Parasitology**, v.25, p. 65-241, 1939.

FAYER, R.; UNGAR, B. L. P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiology Reviews**, v.50, p. 458-483, 1986.

FAYER, R. et al. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v.30, n. 12-13, p. 1305-22, 2000.

FERREIRA, D. R. A. et al. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em *Cebus* spp. mantidos em cativeiro no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 11, p. 1019-1023, 2011.

FIGUEIREDO, M. A. P. et al. Gastrointestinal parasites of the center for screening of wild animals from São Luís, Maranhão State, Brazil. **Ars Veterinaria**, v. 34, n. 2, p. 60-68, 2018.

FLEAGLE, J. G. Primate Adaption and Evolution. Academic Press, New York. 1988, p.486.

FOREYT, W. **Veterinary Parasitology: Reference Manual**. Ames, Iowa: Blackwell, 2001.

FRIAS, L. et al. Molecular characterization of nodule worm in a community of Bornean primates. **Ecology and evolution**, v. 9, n. 7, p. 3937-3945, 2019.

GALĘCKI, S. Treatment of cryptosporidiosis in captive green iguanas (*Iguana iguana*) **Veterinary Parasitology**, v. 252, p. 17–21, 2018.

GAŁĘCKI, R.; SOKÓŁ, R. *Cryptosporidium canis* and *C. felis* as a potential risk to humans. **Polish Journal of Natural Sciences**, v. 30, n. 2, p. 203-12, 2015.

GARCIA L. S. et al. Commercial assay for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens by rapid solid-phase qualitative immunochromatography. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 209-212, 2003.

GARCIA, V. A. R. **O Processo De Aprendizagem No Zoológico De Sorocaba: Análise Da Atividade Educativa Visita Orientada A Partir Dos Objetos Biológicos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Educação). Faculdade de Educação. Universidade de São Paulo. 2006.

GENOY- PUERTO, A. et al. **Intestinal protozoan infection in wild Black Howler monkeys (*Alouata caraca*) rescued during the construction of a hydroelectric dam, and its impacts on wildlife rescue programs**. In: 59TH Annual International Conference of the Wildlife Association, 59., 2010, Iguazú, Argentina. 2010.p.28.

GILLESPIE, T. R.; GREINER, E. C.; CHAPMAN, C. A. Gastrointestinal parasites of the colobus monkeys of Uganda. **The Journal of parasitology**, v. 91, n.3, p. 569-573, 2005.

Gillespie, T. R. Non-invasive assessment of gastro-intestinal parasite infections in free-ranging primates. **International Journal of Primatology**, v. 27, n. 4, p. 1129, 2006.

GOMEZ, M. S. et al. Detection of oocysts of *Cryptosporidium* in several species of monkeys and in one prosimian species at the Barcelona Zoo. **Parasitology Research**, v. 78, n. 7, p. 619-620, 1992.

GOODMAN, M. et al. Primate evolution at the DNA level and a classification of hominoids. **Journal of Molecular Evolution**, v. 30, n.3, p: 260-266, 1999.

GOMEZ, M. S. et al. Further report on *Cryptosporidium* in Barcelona zoo mammals. **Parasitology Research**, v. 86, n.4, p. 318-323, 2000.

GOMES, C. W. C. **Levantamento de helmintos gastrintestinais em primatas de vida livre e cativeiro a região de Grande Porto Alegre, RS**. 2011, 32 f. (Monografia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GONÇALVES, C. S. **Distribuição e conservação do macaco prego (*Cebus nigritus*- Goldfuus, 1809) e documentação do conhecimento ecológico local na região do Parque Estadual de Itapeva e arredores, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.** 2006. 126 f. (Dissertação de Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.

GHONEIM, N. H. et al. Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. **Parasitology Research**, v. 110, p. 2193-2196, 2012.

GUERRERO, F. et al. Identificación de parásitos gastrointestinales en primates no humanos del zoológico parque natural de Pucallpa, Perú. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 23, n. 4, p. 469-478, 2012.

HAMILTON, K. A. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater and surface water environments. **Journal of environmental quality**, v. 47, n. 5, p. 1006-1023, 2018.

HASEGAWA, H. Strongyloides infections of humans and great apes in Dzanga-Sangha Protected Areas, Central African Republic and in degraded forest fragments in Bulindi, Uganda. **Parasitology International**, v. 65, p. 367–370, 2016.

HOOSHYAR, H. et al. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. **Gastroenterol Hepatol Bed Bench**, v.12, n. 1, p.3-12, 2019.

HOKAN, M. et al. Are sleeping site ecology and season linked to intestinal helminth prevalence and diversity in two sympatric, nocturnal and arboreal primate hosts (*Lepilemur edwardsi* and *Avahi occidentalis*). **BMC ecology**, v. 18, n. 1, p. 22, 2018.

HOSSAIN, M. J. et al. *Cryptosporidium* infection in rural Gambian children: Epidemiology and risk factors. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 7, p. e0007607, 2019.

HUMEN, M.A. et al. *Lactobacillus johnsonii* La1 antagonizes *Giardia intestinalis* in vivo. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 2, p. 1265-1269, 2005.

ICHIKAWA, R. S. et al. Detection and molecular characterization of *Giardia* spp. in captive Psittaciformes in Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 164, p. 10-12, 2019.

ILLIGER, J. C. W. **Prodomus Systematics Mammalium et Avium Additis Terminis Zoographicis Utriusque Classis, Eorunque Versione Germanica**. Berlim, Berolini, Sumptibus C. Salfeld, XVIII+301p, 1811.

IVANOV, A. I. *Giardia* and giardiasis. Bulg. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 13, n. 2, p. 65-80, 2010.

JANSEN, A. M; DAS CHAGAS XAVIER, S. C; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 502, 2018.

JEX, A. R. et al. *Cryptosporidium* — Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 304-317, 2008.

JOHNSON-DELANEY, C. A. Parasites of captive nonhuman primates. **The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice**, v. 12, p. 81- 563, 2009.

JOHNSTON, A R. et al. Molecular epidemiology of cross-species *Giardia duodenalis* transmission in western Uganda. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 5, p. e683, 2010.

JONES, K. R.; LALL, K. R.; GARCIA, G, W. Endoparasites of Selected Native Non-Domesticated Mammals in the Neotropics (New World Tropics). **Veterinary sciences**, v. 6, n. 4, p. 87, 2019.

KAHN, C.M. **Merck veterinary manual**. Whitehouse Station, NJ: Merck, 2010;190-192.

KARIM, M. R. et al. Multilocus typing of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* from non-human primates in China. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 13, p. 1039-1047, 2014.

KOORIYAMA, T. et al. Case report of helminths and mite infection in the red-tailed monkey, *Cercopithecus ascanius schmidt*, in Mahale Mountains National Park, Tanzania. **Primates**, v.51, p.183-188, 2010.

KOORIYAMA, T. et al. Parasitology of five primates in Mahale Mountains National Park, Tanzania. **Primates**, v. 53, n. 4, p. 365-375, 2012.

KARERE G.; MUNENE E: Some gastrointestinal tract parasites in wild De Brazza's monkeys (*Cercopithecus neglectus*) in Kenya. **Veterinary Parasitology**, v. 110, p. 153–157, 2002.

KASAEI, R. Molecular genotyping of *Giardia duodenalis* in children from Behbahan, southwestern Iran. **Parasitology Research**, v. 117, n. 5, p. 1425-1431, 2018.

KLAUS, A. et al. Co-infection patterns of intestinal parasites in arboreal primates (proboscis monkeys, *Nasalis larvatus*) in Borneo. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 320-329, 2017.

KHEL, K. S. C.; CICIRELLO, H.; HAVENS, P. L. Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 416-418, 1995.

KOEHLER, A, V.; ŠLAPETA, J. Use of Markers to Determine *Cryptosporidium* Genotypes for Epidemiology Tracking and Detection. In: **Cryptosporidium**. Humana, New York, NY, 2020. p. 117-127.

KOWALEWSKI, M. M. et al. Black and Gold Howler Monkeys (*Alouatta caraya*) as Sentinels of Ecosystem Health: Patterns of Zoonotic Protozoa Infection Relative to Degree of Human–Primate Contact. **American Journal of Primatology**. v. 73, p.75-83, 2011.

KOEHLER, A. V. et al. *Giardia*/ giardiasis – A perspective on diagnostic and analytical tools. **Biotechnology Advances**. v. 32, p. 280-289, 2014.

KOSKI, M. A. Dermatologic diseases in psittacine birds: Na investigational approach. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 1, n. 3, p. 105-124, 2002.

KRAMER, Joshua A. et al. Treatment of giardiasis in common marmosets (*Callithrix jacchus*) with tinidazole. **Comparative medicine**, v. 59, n. 2, p. 174-179, 2009.

KUMAR, S. et al. Prevalence of gastrointestinal parasites in bonnet macaque and possible consequences of their unmanaged relocations. **PloS one**, v. 13, n. 11, p. e0207495, 2018.

LEIRA, M. H. et al. Bem-estar dos animais nos zoológicos e a bioética ambiental. **Pubvet**, v. 11, p. 538-645, 2017.

LEVECKE, B. et al. Molecular characterisation of *Giardia duodenalis* in captive non-human primates reveals mixed assemblage A and B infections and novel polymorphisms. **International Journal for Parasitology**, v.39, p. 1595-160, 2009.

LI, J. et al. An investigation of parasitic infections and review of molecular characterization of the intestinal protozoa in nonhuman primates in China from 2009 to 2015. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 1, p. 8-15, 2017.

LI, J. et al. Genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in dogs and cats in Guangdong, China. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2019.

LIMA, G. G. A conservação da fauna e da flora silvestres no Brasil: a questão do tráfico ilegal de plantas e animais silvestres e o desenvolvimento sustentável. **Revista Jurídica da Presidência**, v. 9, n. 86, p. 134-150, 2007.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; SANTÍN-DURÁN, M. Coccidia and Other Protozoa. **Diseases of Swine**, p. 1015–1027, 2019.

LUDWIG, R.; MARQUES, S. M. T. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in mammals at a zoo in southern Brazil. **Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitologia**, v. 70, n. 1, p. 122-128, 2011.

MA, P.; SOAVE, R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. **Journal of Infectious Diseases**, v. 147, n. 5, p. 824-828, 1983.

MANGINI, P. R.; SILVA, J.C. R. **Medicina da conservação: aspectos gerais**. In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Ed.) Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. São Paulo, SP: Roc, 2007.p. 1258-1268.

MARTIN, D. P. Primates. In: FOWLER, M. E. **Zoo and wild animal medicine**. 2° edition. Morris Animal Foundation. 1986, p. 657-710.

MARTÍNEZ-DÍAZ, R A. et al. Occurrence and genetic characterization of *Giardia duodenalis* from captive nonhuman primates by multi-locus sequence analysis. **Parasitology research**, v. 109, n. 3, p. 539-544, 2011.

MALTA, M. C. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.169, n. 1-2, p. 193-7, 2010.

MARTIN-SOLANO, S. et al. Gastrointestinal parasites in captive and free-ranging *Cebus albifrons* in the Western Amazon, Ecuador. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 209-218, 2017.

MAURELLI, M. P. et al. Mini-FLOTAC, a new tool for copromicroscopic diagnosis of common intestinal nematodes in dogs. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2014.

MELLO, R. T. et al. Estudo comparativo entre os métodos “Coprotest” e de Hoffman, Pons e Janer no diagnóstico de parasitoses intestinais. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Minas Gerais**, v.10, p.9-15, 1989.

MENDONÇA, L. B. et al. On the possible extinction of Bird species in the Upper Paraná River floodplain. Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 2, p. 747-755, 2009.

MICHAUD, C. et al. A survey for helminth parasites in feral New World non-human primate populations and its comparison with parasitological data from man in the region. **Journal of Medical Primatology**, v. 32, n. 6, p. 341-345, 2003.

MIHALCA, A. D. **Textbook of veterinary parasitology: Introduction to parasitology. Protozoology**. Cluj-Napoca, Romania: Academic Pres. 2013, p. 205.

MIRHASHEMI, M. E. et al. Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. **Experimental parasitology**, v. 151, n. 152, p. 14-20, 2015.

MILLER, R. A. et al. Clinical and parasitologic aspects of cryptosporidiosis in nonhuman primates. **Laboratory animal Science**, v.40, n.1, p.:42-6, 1990.

MINERVINO, A. H. H. et al. Antibodies against *Brucella abortus* and *Leptospira* spp. in captive mammals in the states of Pará and Rio Grande do Norte, Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 49, n. 2, p. 355-360, 2018.

MUNENE, E. et al. Helminth and protozoan gastrointestinal tract parasites in captive and wild-trapped African non-human Primates. **Veterinary Parasitology**. v. 78, n. 3, p. 195-201, 1998.

MURIUKI, S. M. K. et al. The presence of *Cryptosporidium* oocysts in stools of clinically diarrhoeic and normal nonhuman primates in Kenya. **Veterinary parasitology**, v. 72, n. 2, p. 141-147, 1997.

MYNÁŘOVÁ, A. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon* spp. and *Giardia intestinalis* in wild, semi-wild and captive orangutans (*Pongo abelii* and *pongo pygmaeus*) on Sumatra and Borneo, Indonesia. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. 1-15, 2016.

NAMASIVAYAM, S. et al. Correlation between Disease Severity and the Intestinal Microbiome in *Mycobacterium tuberculosis*-Infected Rhesus Macaques. **mBio**, v. 10, n. 3, p. 1-7, 2019.

NAPIER, J. R.; NAPIER, P. H. **A Handbook of Living Primates**. London: Academic Press, 1967. 456 p.

NASSARO, A. L. F. Tráfico de animais silvestres e policiamento ambiental (oeste do Estado de São Paulo, 1998 a 2012). **Coleção PROPG Digital (UNESP)**, 2015.

NATH, B. G.; ISLAM, S.; CHAKRABORTY, A. Prevalence of parasitic infection in captive non-human primates of Assam State Zoo, India. **Veterinary World**, v. 5, p. 614-616, 2012.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARD, P. M. **Parasitologia Humana**. Ed. Atheneu, 10 ed. 324- 327. São Paulo, 2005.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**; 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo, Atheneu, 2010.

NOVAES, M. T; MARTINS, I. V. F. Avaliação de diferentes técnicas parasitológicas no diagnóstico de helmintoses caninas. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37(Supl.1), p. 71-76, 2015.

OBANDA, V. et al. Infection dynamics of gastrointestinal helminths in sympatric non-human primates, livestock and wild ruminants in Kenya. **PloS one**, v. 14, n. 6, p. e0217929, 2019.

O'HARA, S. P.; CHEN, X. M. The cell biology of *Cryptosporidium* infection. **Microbes and Infection**, v. 13, n. 8, p. 30-721, 2011.

OLSON, B. E.; OLSON, M. E.; WALLIS, P. M. *Giardia*: The cosmopolitan parasite. Wallingford: CABI Publishing, 2002, 329p.

ORTEGA-PIÉRRES, G. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium*: from molecules to diseases. Oxfordshire: CABI, 2009, 502p.

PACHECO, L. R. et al. Parasitismo natural em Sauás, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823): Variação na eliminação de ovos de Nematoda e Cestoda. *Neotropical Primates*, v. 11, n. 1, p. 29 - 32, 2003.

PAFČO, B et al. Metabarcoding analysis of strongylid nematode diversity in two sympatric primate species. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 5933, 2018.

PARR, N. A.; FEDIGAN, L. M.; KUTZ, S. J. A coprological survey of parasites in white-faced capuchins (*Cebus capucinus*) from Sector Santa Rosa, ACG, Costa Rica. **Folia Primatologica**, v. 84, n. 2, p. 102-114, 2013.

PANAYOTOVA-PENCHEVA, M. S. Parasites in captive animals: A review of studies in some european zoos. **Der Zoologische Garten**, v. 82, n. 1-2, p. 60-71, 2013.

PANTOJA, D, K, S, Q. et al. *Cryptosporidium* spp. oocysts and *giardia* spp. cysts in coatis (*Nasua nasua* L. 1766) from Pará, Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 11, p. 175-179, 2017.

PAPARINI, A. *Cryptosporidium* in fish: alternative sequencing approaches and analyses at multiple loci to resolve mixed infections. **Parasitology**, v. 144, n. 13, p. 1811-1820, 2018.

PAIZ, L. M. et al. Antibodies and Molecular Detection of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in Samples of Free-Ranging Marmosets (Primates: Callitrichidae: *Callithrix* spp.) in an Area of Canine Visceral Leishmaniasis in Southeastern Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 19, n. 4, p. 249-254, 2019.

PARSONS, M. B. et al. Epidemiology and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. in Humans, Wild Primates, and Domesticated Animals in the

Greater Gombe Ecosystem, Tanzania. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. 1-13, 2015.

PEIXOTO, P. V.; BARROS, C. S. L. A importância da necropsia em medicina veterinária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n. 3-4, 1998.

PEISERT, W. et al. *Giardia* infection in animals in Poznań Zoo. **Veterinary Parasitology**, v. 13, n: 2, 183-186, 1983.

PEPE, P. et al. Comparative cost-effectiveness of immunoassays and FLOTAC for diagnosing *Giardia* spp. infection in dogs. **Parasites & vectors**, v.12, n.1, p. 1-5, 2019.

PEREA-RODRIGUEZ, J. P. et al. Gastrointestinal parasites of owlmonkeys (*Aotus azari azari*) in the Argentinian Chaco. **Neotropical Primates**, v.17, n. 1, p. 7-11, 2010.

PEREIRA, W. L. A. et al. Ocorrência de Hepatites virais, helmintíases e protozooses em primatas neotropicais procedentes de criação domiciliar: afecções de transmissão fecal-oral com potencial zoonótico. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, n.3, p. 57-60, 2010.

PETRÁŠOVÁ, J. et al. Gastrointestinal parasites of indigenous and introduced primate species of Rubondo Island National Park, Tanzania. **International Journal of Primatology**, v. 31, n. 5, p. 920-936, 2010.

PETRONETO, B. S. et al. Protozoários intestinais em chinchilas (*Chinchilla lanigera*) criadas em cativeiro, na região serrana do Estado do Espírito Santo, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.9, n.1, p.65-70, 2015.

PINTO, H, A. et al. *Platynosomum illiciens* (Trematoda: Dicrocoeliidae) in captive Black-tufted marmoset *Callithrix penicillata* (Primates: cebidae) Brazil: a morphometric analyses with taxonomic comments on species of platynosomum from nonhuman Primates. **Journal of Parasitology**, v. 103, n.1, p.14-21, 2017.

PLUTZER, J.; KARANIS, P. Genetic polymorphism in *Cryptosporidium* species: an update. **Veterinary parasitology**, v.165, n. 3-4, p. 187-199, 2009.

PLUTZER, J.; ONGERTH, J.; KARANIS, P. *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213 321–333, 2010.

RASAMBAINARIVO, F. T. Survey of *Giardia* and *Cryptosporidium* in lemurs from the Ranomafana National Park, Madagascar. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 49, n. 3, 741–743, 2013.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the United States Army Medical Department**, v. 8, p. 326, 1948.

RIVERA, W. L. et al. *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* infections in captive macaques (*Macaca fascicularis*) in the Philippines. **Primates**, v. 51, p.69-74, 2010.

RHODES, S. J. et al. Using data from macaques to predict gamma interferon responses after Mycobacterium bovis BCG vaccination in humans: a proof-of-concept study of immunostimulation/immunodynamic modeling methods. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 24, n. 3, p. 1-11, 2017.

RONDON, S. et al. Seasonality, richness and prevalence of intestinal parasites of three neotropical primates (*Alouatta seniculus*, *Ateles hybridus* and *Cebus versicolor*) in a fragmented forest in Colombia. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**. v. 6, p. 202-208, 2017.

ROSS, M. et al. Prevalência de ovos, larvas, cistos e oocistos de parasitas com potencial zoonótico em praças públicas e áreas de lazer na cidade de Cruz Alta, RS: Análise preliminar. **Anais: XVI Seminário interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão**, 2011.

RYAN, U.; CACCIÒ, S. M. Zoonotic Potential of *Giardia*. **International Journal Parasitology**, v. 43, p. 943-956, 2013.

RYAN, U. et al. It's official - *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? **Water Research**, v. 105, p. 305-313, 2016.

RYLANDS, A. B. et al. Neotropical Primates: taxonomy and recently described species and subspecies. **International Zoo Yearbook**, v. 46, p. 11-24, 2012.

SAK, B.; et al. Long-term monitoring of microsporidia, *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in western Lowland Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) at different stages of habituation in Dzanga Sangha Protected Areas, Central African Republic. **PLoS One**, v. 7, n. 8, p. 1-10, 2013.

SNACK, A; DA SILVEIRA DELGADO, L. E; OSAKI, S. C. *Cryptosporidium parvum* in captive primates of Parque Municipal Danilo Galafassi, Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 987-992, 2019.

SALZER, J. S. et al. *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. Infections in Primates in Fragmented and Undisturbed Forest in Western Uganda. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 2, p. 439-440, 2007.

SALYER, S. J. et al. Epidemiology and Molecular Relationships of *Cryptosporidium* spp. in People, Primates, and Livestock from Western Uganda. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 4, p. e1597, 2012.

SALES, I. S.; RUIZ-MIRANDA, C. R.; SANTOS, C. P. Helminths found in marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*) introduced to the region of occurrence of golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 171, n. 1-2, p. 123 - 129, 2010.

SAMUEL, W. M.; PYBUS, M. J.; KOCAN, A. A. **Parasitic diseases of Wild mammals**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 2001, 559p.

SAMPAIO, R. F. Re-description and assessment of the taxonomic status of *Saguinus fuscicollis cruzlimai*, Hershkovitz, 1966 (Primates, Callitrichinae). **Primates**, v. 56, n. 2, 131-144, 2015.

SANCHEZ, V. V. V. et al. Prevalence of gastrointestinal parasites among captive primates in Panama. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, p. 9-2644, 2009.

SANDERS, A; FEIJÓ, A. G. Uma reflexão sobre animais selvagens cativos em zoológicos na sociedade atual. In: **Adaptado do artigo publicado nos anais do III Congresso Internacional Transdisciplinar Ambiente e Direito**. 2007.

SANTOS, M. V. S. **Levantamento de helmintos intestinais em bugio-ruivo, *Alouatta guariba* (Primates, Atelidae) na mata Ribeirão Cachoeira, no distrito de Souza**s. 2006. 84 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de São Paulo, Campinas, SP, 2006.

SANTOS, R. C. F. **Importância de mamíferos neotropicais na epidemiologia de protozoonoses: diagnósticos, caracterização molecular e aspectos ecológicos da infecção por *Giardia* e *Cryptosporidium***. 2011, 156p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SANT'ANNA, L. M. L.; DE JESUS OLIVEIRA, F.; DE MELO, C. M. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas baseada no princípio de sedimentação espontânea (Hoffman) e Parasitokit®. **Scire Salutis**, v. 3, n. 1, p. 6-15, 2013.

SAVIOLI, L.; SMITH, H.; THOMPSON, A. - *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 5, p. 203-8, 2006.

SCHILLER, J. et al. Case Report: A *Cryptosporidium* infection in a patient with relapsed T-lymphoblastic lymphoma undergoing allogeneic stem cell transplantation. **European journal of haematology**, v. 100, n. 4, p. 383-385, 2018.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **Journal of Comparative Pathology**, v.36, p.266-275, 1923.

SEDGWICK, C. J.; ROBINSON, P. T.; LOCHNER, F. K. Zoonoses: a zoo's concern. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 167, n. 9, p. 828-829, 1975.

SEIXAS, M. et al. Primeiro estudo de ocorrência de *Cryptosporidium spp.* em pomba-de-bando (*Zenaida auriculata*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 3, p. 489-492, 2019.

SIEMERING, H. **Zoonoses**. In: FOWLER, M.E. (Ed.). Zoo & wild animal medicine. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 63-68, 1986.

SILVA, L. M. R. et al. Mini-FLOTAC for the diagnosis of Eimeria infection in goats: an alternative to McMaster. **Small Ruminant Research**, v. 114, n. 2-3, p. 280-283, 2013.

SILVA, M. T. F. et al. Ocorrência de parasitos intestinais em Bugio-preto (*Alouatta caraya*) do Parque Zoobotânico de Teresina, Piauí. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 317, 2018.

SMITH, H. V. et al. *Cryptosporidium* excystation and invasion: getting to the guts of the matter. **Trends in Parasitology**, v. 21, p. 133-142, 2005.

SPRENGER, L K. et al. Occurrence of gastrointestinal parasites in wild animals in state of Paraná, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 231-238, 2018.

SRICHARERN, W. et al. Molecular detection and prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. among long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Thailand. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 40, p. 310-314, 2016.

STUART, M. et al. Parasites of Wild Howlers (*Alouatta* spp.). **International Journal of Primatology**, v. 19, n.3, p. 493 – 512, 1988.

SVOBODA, W. K. et al. Serological detection of hepatitis a virus in free-ranging neotropical primates (*Sapajus* spp., *Alouatta caraya*) from the Paraná river basin, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, n. 9, 2016.

SZALAY, F. S.; DELSON, E. **Evolutionary History of the Primates**. Academic Press, New York. 1979, p. 595.

TANGTRONGSUP, S.; SCORZA, V. Update on the diagnostic and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 25, n. 3, p. 155-162, 2010.

TANGTRONGSUP, S et al. Intestinal Parasites and the Occurrence of Zoonotic *Giardia duodenalis* Genotype in Captive Gibbons at Krabokkoo Wildlife Breeding Center, Thailand. **Frontiers in veterinary science**, v. 6, n. 110, p. 1-8, 2019.

TÁPARO, C. V. et al. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2006.

TAVELA, A. O. et al. Helminths of wild hybrid marmosets (*Callithrix* sp.) living in an environment with high human activity. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, n.3, p. 391-397, 2013.

TERRESTRIAL ANIMAL HEALTH CODE. **Zoonoses Transmissible from Non-Human. World Organisation for Animal Health**. 2019. Disponível em: https://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_zoonoses_non_human_primate.htm . Acesso em: 10/07/2019.

THOMPSON, R. A. et al. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. **Advances in parasitology**, v. 59, p. 77-158, 2005.

TREJO-MACÍAS, G.; ESTRADA, A. Risk factors connected to gastrointestinal parasites in mantled *Alouatta palliata mexicana* and black howler monkeys *Alouatta pigra* living in continuous and in fragmented rainforests in Mexico. **Current Zoology**, v. 58, n. 3, p. 375-383, 2012.

TYZZER, E. E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. **Journal of Medical Research**, v.23, n. 3, p.487-510, 1910.

TZIPORI, S.; WARD, H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. **Microbes and infection**, v. 4, n.10, p. 1047-1058, 2002.

VAN ZIJLL LANGHOUT, M. et al. Validation of multiple diagnostic techniques to detect *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. in free-ranging western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) and observations on the prevalence of these protozoan infections in two populations in Gabon. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 41, n. 2, p. 210-217, 2010.

VAZ A.J. **Diagnóstico imunológico das parasitoses**, p.505-539. In: De Carli A.G. (Ed.), *Parasitologia. Clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas*. Editora Atheneu, São Paulo, 2001.

VENTURA, L. L. A. et al. Effect of probiotics on giardiasis. Where are we? **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 2, p. 1-7, 2018.

VERONA, C. E. S.; PISSINATTI, A. **Primatas do Novo Mundo (Sagui, macaco prego, macaco aranha e bugio)**. In: CUBAS, Z.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de animais Selvagens*. São Paulo: Roca, 2006, p. 358-377.

VERWEIJ, J. J. et al. *Entamoeba histolytica* infections in captive primates. **Parasitology Research**, v. 90, n. 2, p. 3 - 100, 2003.

VITAZKOVA, S. K.; WADE, S. E. Parasites of free-ranging black howler monkeys (*Alouatta pigra*) from Belize and Mexico. **American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists**, v. 68, n. 11, p. 1089-1097, 2006.

XIAO, L.; HERD, R. P. Infection pattern of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. **Veterinary Parasitology**, v. 55, n. 3, p. 257–262, 1994.

XIAO, L.; GRIFFITHS, J. K. **Cryptosporidiosis**. In: Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Content Repository Only! p. 712-718, 2020.

YAMANO, K. et al. First detection of *Echinococcus multilocularis* infection in two species of nonhuman primates raised in a zoo: a fatal case in *Cercopithecus diana* and a strongly suspected case of spontaneous recovery in *Macaca nigra*. **Parasitology international**, v. 63, n. 4, p. 621-626, 2014.

YE, J. et al. Anthroponotic enteric parasites in monkeys in public park, China. **Emerging infectious diseases**, v. 18, n. 10, p. 1640, 2012.

YE, J. et al. Occurrence of human-pathogenic *Enterocytozoon bieneusi*, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* genotypes in laboratory macaques in Guangxi, China. **Parasitology international**, v. 63, n. 1, p. 132-137, 2014.

YIMMING, B. et al. Molecular Identification of *Cryptosporidium* Species from Pet Snakes in Thailand. **Korean Journal of Parasitology**, v. 54, n. 4, p 423-429, 2016.

VOLOTÃO, A. C. C. et al. Genotyping of *Giardia duodenalis* from southern brown howler monkeys (*Alouatta clamitans*) from Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 158, n. 1-2, p. 133-137, 2008.

WANG, A. et al. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* species in dog park attending dogs compared to non-dog park attending dogs in one region of Colorado. **Veterinary Parasitology**, v. 184, n. 2-4, p.335-340, 2012.

WILLCOX, H. P.; COURA, J. R. The efficiency of Lutz, Kato-Katz and Baermann-Moraes (adapted) techniques association to the diagnosis of intestinal helminths. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.86, n.4, p.457-460, 1991.

ZENG, X. et al. Identification and pathological characterization of persistent asymptomatic Ebola virus infection in rhesus monkeys. **Nature microbiology**, v. 2, n. 9, p. 17113, 2017.

ZHAO, Wei et al. Molecular prevalence and subtyping of *Cryptosporidium hominis* among captive long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) and rhesus macaques

(*Macaca mulatta*) from Hainan Island, southern China. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 192, 2019.

ZHONG, Z. et al. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in captive non-human primates in Sichuan and Guizhou provinces, Southwestern China. **PloS one**, v. 12, n. 9, p. 1-9, 2017.

ZHONG, Z. et al. Occurrence and genotyping of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* in pre-weaned dairy calves in central Sichuan province, China. **Parasite**, v. 25, n. 15, p. 1-7, 2018.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

- Identificar enteroparasitos com potencial zoonótico em primatas não humanos provenientes de cativeiros.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a ocorrência do parasitismo por helmintos em primatas não humanos mantidos em cativeiros;
- Comparar as técnicas parasitológicas tradicionais com FLOTAC e Mini-FLOTAC para identificação de enteroparasitas de primatas não humanos neotropicais de cativeiros no Brasil;
- Avaliar a frequência da infecção *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em primatas não humanos neotropicais provenientes de zoológicos, centros de manejo, conservação e de triagem de animais silvestres.

ARTIGO 1

Comparison of FLOTAC, Mini-FLOTAC and classical parasitological techniques for detection of gastrointestinal parasites in neotropical non-human primates (NHP) in Brazil

Capítulo estruturado em formato de artigo e submetido para o periódico *Acta Parasitologica*

Comparison of FLOTAC, Mini-FLOTAC and classical parasitological techniques for detection of gastrointestinal parasites in neotropical non-human primates (NHP) in Brazil

Edson Moura da Silva¹, Maria Fernanda Melo Monteiro¹, Maria Aparecida da Gloria Faustino¹, Rafael Antonio do Nascimento Ramos², José Wilton Pinheiro Junior¹, Maria Vanuza Nunes de Meireles¹, Natália Costa Teixeira dos Santos³, Giuseppe Cringoli⁴, Laura Rinaldi⁴, Davide Ianniello⁴, Michele Capasso^{5,6,7}, Leucio Câmara Alves¹

¹Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil.

²Academic Unit of Garanhuns, Federal University Rural of Pernambuco, Garanhuns, Brazil.

³Wild Animal Screening Center, Pernambuco, Recife, Brazil.

⁴Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, CREMOPAR, Campania Region, Italy.

⁵Zoo di Napoli, Naples, NA, Italy

⁶ Zoo delle Star, Fossignano, LT, Italy

⁷ Zoo d'Abruzzo, Rocca San Giovanni, CH, Italy

Abstract

Background: Endoparasites are quite commonly present in wild animals, particularly in non-human primates. Detection of gastrointestinal parasites in these animals has usually been performed using classical methods, but sometimes its low sensitivity is responsible for false-negative results. Therefore, the aim of this study was to compare the FLOTAC, Mini- FLOTAC and classical parasitological techniques for detection of gastrointestinal parasites in neotropical non-human primates in Brazil.

Results: Fecal samples (n = 43) were collected from neotropical non-human primates at the Wild Animal Screening Center in Pernambuco, Brazil. Of all samples analyzed, 76.7% (33/43) detected the presence of gastrointestinal parasites in at least one of the techniques used. In particular, 9.30% (4/43) were positive through direct examination; followed by 23% (10/43) at sedimentation; 34.88% (15/43) at flotation; 48.83% (21/43) at Mini-FLOTAC, and 65.11% (28/43) at FLOTAC.

Conclusion: In conclusion, FLOTAC and Mini-FLOTAC were the most efficient methods for diagnosing gastrointestinal parasites in neotropical non-human primates.

Key words: coproparasitological diagnosis, conservation medicine, parasitism, neotropical primates

Introduction

Although *non-human primates* (NHPs) are found in many environments around the world, anthropic action has given rise to major threats to these species. These disturbances are affecting species diversity in natural environments [1]. Some degree of ecological change including agroindustry development, deforestation, livestock, mining and construction of dams and highways in these habitats [2] may cause a change at the *wildland-urban interface* (WUI), such that transmission of or exposure to pathogens is favored among these animals [3].

Thus, NHPs can be affected by different species of parasites, some of them of medical concern such as *Toxoplasma gondii* [4], *Trypanosoma* spp. [5] and *Leishmania* spp. [6]. On the other hand, several intestinal parasites causing only asymptomatic or mild disorders can occur in NHPs [7,8,9]. These include *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. [10], and a several of species of helminths [11,12].

Detection of gastrointestinal parasites in NHPs has usually been performed using classical methods such as flotation [13], centrifugal flotation [14], spontaneous sedimentation [15] or direct examination [16]. Despite low cost and easy execution, these techniques present low sensitivity, which can lead to false negative diagnoses [17].

A new technique known as FLOTAC has been developed and proposed for diagnosing gastrointestinal parasites in animals and humans [18]. In several studies, it has been shown to have high sensitivity, specificity and accuracy when compared with other methods. On the other hand, the Mini-FLOTAC technique has been developed since 2013 as a novel direct method for diagnosing intestinal parasitic infections. Mini-FLOTAC attempts to address the challenge of using modern technology and matching high sensitivity with affordability [19].

Accordingly, the present study aimed to assess the performance of the FLOTAC, Mini-FLOTAC and classical parasitological techniques for diagnosing gastrointestinal parasites in neotropical primates.

Methods

Ethics statement

This study was conducted in accordance with the licenses granted by the Research *Ethics Committee* for *Animal use* of the Federal Rural University of Pernambuco (CEUA-UFRPE), Brazil (license number 18/2018), and by the Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO) (license number 60975-1).

Animals and area of study

Fecal samples ($n = 43$) were collected from two neotropical NHP species: 16 from common marmosets (*Callithrix jacchus*) and 27 from capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*). The animals were being kept at the Pernambuco Wild Animal Screening Center (CETAS-Tangará), which is located in the Guabiraba district of Recife, Pernambuco ($7^{\circ} 56' 49''$ S and $34^{\circ} 58' 48''$ W). All the NHPs were kept in individual or paired pens, and were fed basically on leaves, fruits and extruded feed.

Samples and laboratory processing

Fresh fecal samples from the NHPs were collected on clean paper that was placed under each pen for a period of 24 hours. This procedure was repeated for two days to form a pool of stool samples from each animal. Each of these pooled samples was collected into a plastic vials and maintained in isothermal boxes (4°C) until laboratory processing. Data about each animal were recorded in individual clinical charts.

Samples were analyzed using five different techniques (i.e., direct examination using Lugol's iodine staining; Willis-Mollay flotation technique [13], spontaneous sedimentation of Hoffman, Pons, and Janer [15], FLOTAC [18], and Mini-FLOTAC [19] for detection of eggs, larvae, cysts and/or oocysts. The FLOTAC and Mini-FLOTAC techniques were performed using two flotation solutions (saturated sodium chloride 1.200 and zinc sulfate 1.350).

The Willis-Mollay flotation technique was used as the gold standard test. All methods were performed in accordance with the instructions reported in the original description of each technique.

Data analysis

Data were analyzed through the chi-square or Fisher's exact test was used. The significance level was taken to be 5% [20]. In addition, Kappa concordance analysis was used to compare the results. The kappa values were interpreted in accordance [21]. The sensitivity, specificity, positive predictive

value (+PV), negative predictive value (-PV), accuracy, true estimated prevalence, and incorrect classification were determined based on the Willis technique as the gold standard. The InStat software [22] was used to calculate all the parameters. The concordance calculations were performed through the website <http://www.winepi.net/uk/index>.

Results

Out of all samples analyzed 76.7% (33/43) scored positive for the presence immature forms of gastrointestinal parasites in at least one technique employed. In particular, 50% (8/16) and 77.77% (21/27) of *C. jacchus* and *S. libidinosus* were positive, respectively ($p = 0.062$).

The infection rates observed through the different methodologies were 9.30% (4/43) using direct examination; 23.25% (10/43) using Hoffman's method; 34.88% (15/43) using the Willis technique; 48.83% (21/43) using by Mini-FLOTAC; and 65.11% (28/43) using FLOTAC (Table 1). All samples of *C. jacchus* were negative at direct examination, Hoffman's method and Willis-Mollay flotation technique.

Ancylostoma spp. and *Strongyloides* spp. were the species most frequently detected, regardless of the method used. *Oesophagostomum* spp. was detected in *S. libidinosus* by using the FLOTAC and Mini-FLOTAC technique, whereas *Platynosomum* spp. and oocysts of *Isospora* spp. were detected by the FLOTAC in *C. jacchus*.

Values of sensitivity, specificity, real prevalence, estimated prevalence, positive predictive value (+ PV), negative predictive value (- PV), accuracy and incorrect classification are shown in Table 2.

Table 1- Infections and co - infections by gastrointestinal parasites in Neotropical Primates in captivity.

Techniques	Parasites	Positivity (%; n/N)
Direct Examination	<i>Ancylostoma</i> spp.	75% (03/4)
	<i>Strongyloides</i> spp.	75% (03/4)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	75% (03/4)
Hoffman	<i>Ancylostoma</i> spp.	100% (10/10)
	<i>Strongyloides</i> spp.	30% (3/10)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	30% (3/10)
Willis	<i>Ancylostoma</i> spp.	100% (15/15)
	<i>Strongyloides</i> spp.	46,66% (7/15)

Mini-FLOTAC	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	40% (6/15)
	Ascaridade	4,46% (1/21)
	<i>Oesophagostomum</i> spp.	19,04% (4/21)
	<i>Strongyloides</i> spp.	57,14% (12/21)
	<i>Ancylostoma</i> spp.	90,47% (19/21)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	47,6% (10/21)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp. + <i>Oesophagostomum</i> spp.	19,04% (4/21)
FLOTAC	<i>Isospora</i> spp.	3,57% (1/28)
	<i>Platynossomun</i> spp.	3,57% (1/28)
	<i>Toxocara</i> spp.	3,57% (1/28)
	<i>Strongyloides</i> spp.	3,57% (14/28)
	<i>Oesophagostomum</i> spp.	7,14% (2/28)
	<i>Ancylostoma</i> spp.	85,71% (24/28)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Isospora</i> spp.	3,5% (1/28)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp. + <i>Oesophagostomum</i> spp.	7,1% (2/28)
	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	42,8% (12/28)

Table 2 - Evaluation of the techniques used in relation to the Willis technique as a gold standard in the diagnosis of gastrointestinal parasites in Neotropical Primates in captivity.

Parameters (%)								
Technique / Parasite	Sensitivity	True prevalence	Predictive value (+)	Predictive Value (-)	Accuracy	Incorrect classification	Kappa	P value
Exame Direto								
<i>Ancylostoma</i> spp.	20,0	100,0	100,0	70,0	72,1	27,9	0,246	0,036
<i>Strongyloides</i> spp.	16,7	94,6	33,3	87,5	83,7	16,3	0,142	0,370
Hoffman								
<i>Ancylostoma</i> spp.	60,0	96,4	90,0	81,8	83,7	16,3	0,612	0,000
<i>Strongyloides</i> spp.	0,0	91,9	0,0	85,0	79,1	20,9	0,000	0,629
Mini-FLOTAC								
<i>Ancylostoma</i> spp.	80,0	78,6	66,7	88,0	79,1	20,9	0,560	0,000
<i>Strongyloides</i> spp.	66,7	78,4	33,3	93,5	76,7	23,3	0,317	0,041
<i>Ascaridade</i>	0,0	97,7	0,0	100,0,	97,7	2,3	0,000	0,760
<i>Oesophagostomum</i> spp.	0,0	83,7	0,0	100,0	83,7	16,3	0,000	0,000
FLOTAC								
<i>Ancylostoma</i> spp.	100,0	60,7	57,7	100,0	74,4	25,6	0,519	0,000
<i>Strongyloides</i> spp.	100,0	64,9	31,6	100,0	69,8	30,2	0,340	0,004
<i>Isospora</i> spp.	0,0	97,7	0,0	100,0,	97,7	2,3	0,000	0,760
<i>Platynossoma</i> spp.	0,0	97,7	0,0	100,0,	97,7	2,3	0,000	0,752
<i>Oesophagostomum</i> spp.	0,0	97,7	0,0	100,0,	97,7	2,3	0,000	0,042
<i>Toxocara</i> spp.	0,0	97,7	0,0	100,0,	97,7	2,3	0,000	0,760

Discussion

This study assessed for the first time five different copromicroscopic techniques to diagnosing gastrointestinal parasites in NHP from *Brazil*. The overall frequency (76.7%) herein obtained was similar to observed in previous studies where a frequency of 74.20% was reported in *M. mulatta* [23]. Conversely, it was lower than data (92.3%) reported for *Nasalis larvatus* [24]. The findings of this study demonstrated that NHPs are commonly affected by gastrointestinal parasites, but frequently without clinical manifestations [7,8,9].

A wide diversity of nematodes have been retrieved in NHPs throughout the world [9,25]. From an epidemiological perspective, data of the present study are important since some nematode species herein detected (e.g., *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp. and *Ascaris*) present a zoonotic aspect. It has already been demonstrated that hookworms may be shared between humans and NHPs that cohabit [26]. Therefore, this finding is important particularly for zoo workers that are in close contact with NHPs, and consequently are more exposed to the risk through the contact with feces.

FLOTAC and Mini-FLOTAC techniques were the most efficient methods for diagnosing gastrointestinal parasites, particularly *Oesophagostomum* spp. eggs in *S. libidinosus* and *Platynosomum* spp. eggs and *Isospora* spp. oocysts in *C. jacchus*. It is important to note that factors such as age, genetic, parasite load and NHP species may influence the parasitological results [27,28,29].

Recently, the Mini-FLOTAC technique has been recommended using the Mini-FLOTAC technique for detection of gastrointestinal parasites in the howler monkey, especially if many samples are analyzed [30]. This technique has high sensitivity when compared with classical methods (e.g., EPG counts), thus enabling qualitative and quantitative analyses of parasite load without the need of specialized devices.

In conclusion, the FLOTAC and Mini-FLOTAC were the most efficient methods for diagnosing gastrointestinal parasites in *C. jacchus* and *S. libidinosus*; therefore it is recommended its use in surveys performed in NHPs since are techniques with high sensitivity and accuracy.

Additional file

Acknowledgements

The authors thank the Wild Animal Screening Center (CETAS-Tangará) Recife, Pernambuco, Brazil.

PP, DI, MEM, MPM, AB carried out analysis, interpreted data and helped to draft manuscript, PP and LC drafted the manuscript, GC and LR conceived and coordinated the study. All authors read and approved the final manuscript.

Authors' contributions

EMS, MFMM, MAGF, MVNM, NCTS, carried out analysis, interpreted data and helped to draft manuscript, JWP: performed the statistical analysis, GC, LR, DI and MC reviewed the article, LCA: conceived and coordinated the study. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

Funding for this study and the publication of the results was provided by the authors.

Ethics approval and consent to participate

This study was approved by the Research Ethics Committee for Animal use of the Federal Rural University of Pernambuco (CEUA-UFRPE), Brazil (license number 18/2018), and by the Biodiversity Information and Authorization System

(SISBIO) (License number 60975-1).

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

References

1. Sousa WP (1984) The role of disturbance in natural communities. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 15:353-391.

2. Estrada A, Garber PA, Rylands AB, Roos C, Fernandez-Duque E, Di Fiore A et al (2017) Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. *Science Advances*, *Science Advances*, 3: 1:e1600946.doi: 10.1126/sciadv.1600946.
3. Hassell JM, Bego M, Ward MJ (2017) Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife–Livestock–Human Interface. *Trends Ecol Evol* 32:55-67. doi:10.1016 / j. tree.2016.09.012.
4. Molina CV, Catão-Dias, JL, Ferreira JS, Vasconcellos AS, Gennari SM, Valle RR et al (2014) Sero-epidemiological survey for brucellosis, leptospirosis, and toxoplasmosis in free-ranging *Alouatta caraya* and *Callithrix penicillata* from São Paulo State, Brazil. *J Med Primatol* 43:197-201.doi.org/10.1111/jmp.12112.
5. Minuzzi-Souza TTC, Nitz N, Knox MB (2016) Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. *Parasites & Vectors* 9: 1-6.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.016.
6. Malta MC (2010) Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. *Vet Parasitol* 7:169, 193. doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.016
7. Karim MR, Zhang S, Jian F, Li J, Zhou C, Zhang, L et al (2014) Multilocus typing of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* from non-human primates in China. *Int J Parasitol Parasites* 44:1039-1047. doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.006
8. Kouassi RYW, McGraw SW, Yao PK, Abou-Bacar A, Brunet J, Pesson B et al (2015) Diversity and prevalence of gastrointestinal parasites in seven non-human primates of the Taï National Park, Côte d'Ivoire. *Parasite* 22:1- 12.doi.org/10.1051/parasite/2015001
9. Li J, Qi M, Chang Y, Wang R, Li T, Dong H, Zhang L (2015) Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in captive wildlife at Zhengzhou Zoo, China. *J Eukaryot Microbiol* 62:833 – 839.doi.org/10.1111/jeu.12269
10. David EB, Patti M, Coradi ST, Oliveira-Sequeira TCG, Ribolla PEM, Guimarães S (2014) Molecular typing of *Giardia duodenalis* isolates from nonhuman primates housed in a Brazilian zoo. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 56: 49-54.doi: 10.1590 / S0036-46652014000100007
11. Alcântara DS, Mendonça IL, Fernandes neto VP, Carniel PG, Pessoa FB (2016) Estudo coproparasitológico da espécie *Cebus libidinosus* (macaco-prego) *Arq Bras Med Vet Zootec* 68:1609-1612. doi.org/10.1590/1678-4162-9102

12. McLennan MR, Hasegawa H, Bardi M (2017) Gastrointestinal parasite infections and self-medication in wild chimpanzees surviving in degraded forest fragments within an agricultural landscape mosaic in Uganda. PLoS ONE, 12: 1-29. doi.org/10.1371/journal.pone.0180431
13. Willis HH (1921) A simple levitation method for the detection of hookworm ova. Med J Aust 2:375-376.
14. Faust EC, D'Antoni JS, Odom VA (1938) Critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. Am J Trop Med Hyg 1-18: 169-183. doi.org/10.4269/ajtmh.1938.s1-18.169
15. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL (1934) The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. J Public Health 9:281-98.
16. Garcia LS (2001) Diagnostic medical parasitology, 4th ed. ASM press, Washington, DC, pp 723.
17. De Carli GA (2011) Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas. Rio de Janeiro: Medsi, pp 455-459.
18. Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J (2010) FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nat Protoc 5: 503-515. doi: 10.1038 / nprot.2009.235
19. Cringoli G, Rinaldi L, Albonico M, Bergquist R, Utzinger J et al (2013) Geospatial (s)tools: integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. Geospatial Health 7: 399-404. doi.org/10.4081/gh.2013.97
20. Zar JH (1999) Biostatistical analysis. 4^a ed. New Jersey, Prentice-Hall, Inc. p 663.
21. Landis JR, Koch GG (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33, 159-174.
22. Graphpad Software, INC. <http://www.winepi.net/uk/index>. Accessed June 5, 2018.
23. Adhikari P., Dhakal P (2018) Prevalence of gastro-intestinal parasites of rhesus macaque (*Macaca mulatta* Zimmermann, 1780) and hanuman langur (*Semnopithecus entellus* Dufresne, 1797) in Devghat, Chitwan, Nepal. J Inst Sci Technol 22:12-18. doi: 10.3126 / jist.v22i2.19590

24. Klaus A, Zimmermann E, Roper KM (2017) Co-infection patterns of intestinal parasites in arboreal primates (proboscis monkeys, *Nasalis larvatus*) in Borneo. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 6:320–329.
25. Solorzano-García B, Pérez-Ponce de Leon G (2017) Helminth parasites of howler and spider monkeys in Mexico: Insights into molecular diagnostic methods and their importance for zoonotic diseases and host conservation. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 6:76 - 84. doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.04.001
26. Hasegawa H, Modrý D, Kitagawa M, Shutt KA, Todd A, Kalousová B et al (2014) Humans and Great Apes Cohabiting the Forest Ecosystem in Central African Republic Harbour the Same Hookworms. *PLoS Negl Trop Dis* 8: 1-11. doi.org/10.1371/journal.pntd.0002715
27. De Souza-Dantas LM, Bastos OPM, Brener B (2007) Técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco no diagnóstico de helmintos gastrintestinais de gatos domésticos. *Cienc Rural* 37: 904-906. doi.org/10.1590/S0103-84782007000300051
28. Dias PAD, Rangel-Negrín A (2015) **Diets of howler monkeys**. In: Kowalewski M, Garber P, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatos D, editors. *Howler monkeys. Developments in primatology: progress and prospects*. New York, NY: Springer. pp 21-56.
29. Pozo-Montuy G, Serio-Silva JC (2006) Comportamiento alimentario de monos aulladores negros (*Alouatta pigra* Lawrence, Cebidae) en hábitat fragmentado en Balancán, Tabasco, México. *Acta Zool Mex* 22: 53-66.
30. Alvarado-Villalobos MA, Cringoli G, Maurelli MP (2017) Flotation techniques (FLOTAC and mini-FLOTAC) for detecting gastrointestinal parasites in howler monkeys. *Parasite Vector* 10:1-8. doi: 10.1186 / s13071-017-2532-7

ARTIGO 2

Gastrointestinal nematodes in nonhuman primates living in captivity

Capítulo estruturado em formato de artigo e submetido para o periódico *Parasitology Research*

Gastrointestinal nematodes in nonhuman primates living in captivity

Edson Moura da Silva¹, Maria Vanuza Nunes de Meireles¹, José Wilton Pinheiro Junior¹, Rafael Antonio do Nascimento Ramos², Jean Carlos Ramos da Silva¹, Giuseppe Cringoli³, Laura Rinaldi³, Leucio Camara Alves¹

¹Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil.

²Academic Unit of Garanhuns, Federal University Rural of Pernambuco, Garanhuns, Brazil.

³Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, CREMOPAR,

Abstract

Parasitism in nonhuman primates (NHPs) is influenced by biotic and abiotic factors, as well as the biology and ecology of parasites. Many studies have shown that parasites are often transmitted from wild or captive NHPs to humans or vice versa. These animals, especially those in captivity, are susceptible to gastrointestinal infections that are often zoonotic. Therefore, the aim of this study was to evaluate the occurrence of gastrointestinal nematodes in NHPs in captivity, from different locations in Brazil. Fecal samples (n = 154) were collected and analyzed through Mini-FLOTAC[®] technique. Eggs of gastrointestinal nematodes were detected in 30.51% (47/154) of the analyzed samples. Coinfections were observed in 27.65% (13/47) of the positive samples. Parasitism by *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp. and *Oesophagostomum* spp. were the most commonly observed. The results found here reveal parasitism of gastrointestinal nematodes in these populations of NHPs, which may represent an important threat for the conservation of these species. Finally, this is a pivotal finding for public health because of the threat posed by parasite transmission from these animals onto humans.

Keywords: gastrointestinal parasites, infection, nonhuman primates, zoonotic.

Introduction

Currently, most nonhuman primates (NHPs) live in anthropized environments such as parks, private properties, zoos or conservation centers (Estrada et al. 2017; Fan et al. 2014; Mazumder 2014; Sabbatini et al. 2006). In captivity, NHPs represent one of the most exposed wildlife groups to pathogens due to their role in public entertainment (Moss and Esson 2010). The close phylogenetic relationship between these animals and humans has resulted in a high probability for pathogen sharing (Xie et al. 2018; Dixit et al. 2018; Honap et al., 2018), which mostly present a zoonotic concern (Leroy et al. 2004).

Several gastrointestinal parasites, particularly the nematodes of the genera *Strongyloides*, *Oesophagostomum*, *Ascaris*, *Ancylostoma*, *Trichuris* and *Trichostrongylus*, have been frequently reported in these animals (Adrus et al. 2018; Hoka et al. 2018; Klaus et al. 2017; Alcântara et al. 2016; Shemshadi et al. 2014), most of which conveyed via contaminated food or water (Coffey et al. 2007; Sharif et al. 2015;). Studies on the prevalence of these agents in captive NHPs worldwide show different morbidity and mortality rates (Johnson-Delaney, 2009; Lee et al. 2010). However, few studies have been conducted in Brazil on animals in zoos and conservation centers (Da Silva Barbosa et al. 2014; Zanzani et al. 2015; Alcântara et al. 2016; Sprenger et al. 2018). Therefore, the aim of this study was to evaluate the occurrence of gastrointestinal nematodes in captive NHPs, from different locations in Brazil.

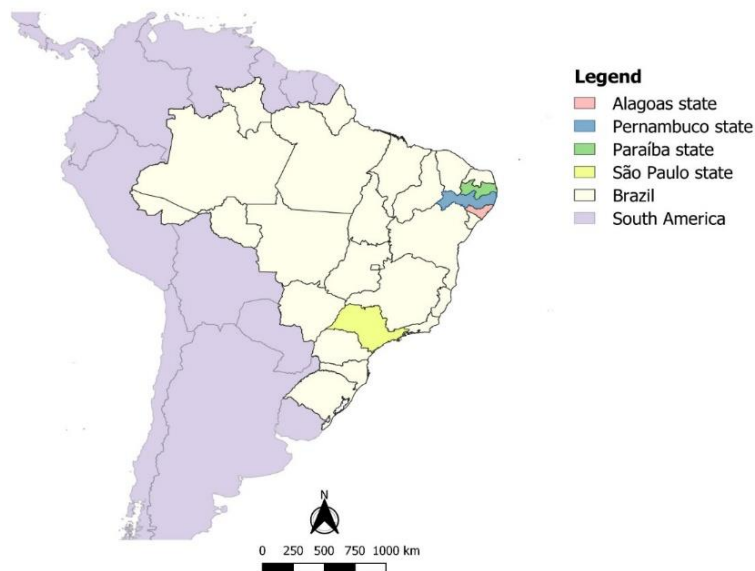
Material and Methods

Area of study and ethical aspects

The study was carried out at the Wild Animal Screening Centers (Cetas-Ibama): Maceió, Alagoas (9° 36' 54" S and 35° 44' 27" W), Cabedelo, Paraíba (7° 03' 47" S and 34° 51' 21" W), Recife, Pernambuco (7° 56' 49" S and 34° 58' 48" W), Arruda Câmara Zoobotanical Park, João Pessoa, Paraíba (7° 06' 49" S and 34° 52' 30" W), Parque dois Irmãos, Recife, Pernambuco (8° 00' 37" S and 34° 56' 41" W) and Mata Ciliar Association, Jundiá, São Paulo (23° 10' 37" S and 40° 56' 33" W) (Figure 1).

All procedures performed here were previously approved by the Animal Research Ethics Committee of the Federal Rural University of Pernambuco (CEUA-UFRPE), Brazil (number 18/2018), and by the Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO) (number 60975-1).

Figure 1. Brazilian states where fecal samples from nonhuman primates were collected.



Sample collection and laboratory processing

From April 2018 to March 2019, fecal samples ($n = 154$) of NHPs of various species were collected (Table 1), stored in plastic vials containing 2.5% potassium dichromate solution, and stored in isothermal boxes (8°C) until laboratory processing. The animals were in enclosures containing two or more animal feeder and drinker devices. The number of samples collected was in the same proportion of animals found in each room.

Table 1. Species of nonhuman primates in captivity studied according to origin.

Species	Nº of Specimen	State
<i>Sapajus flavius</i>	28	AL/PB/PE
<i>Sapajus libidinosus</i>	77	AL/PB/PE
<i>Saimiri sciureus</i>	03	PB/PE
<i>Aotus infulatus</i>	01	PE
<i>Alouatta belzebul</i>	02	PE
<i>Alouatta guariba</i>	07	SP
<i>Ateles Paniscus</i>	03	PE
<i>Ateles marginatus</i>	01	
<i>Lagothrix lagotrixha</i>	01	PE
<i>Callithrix jacchus</i>	16	PE
<i>Callithrix penicillata</i>	12	SP

<i>Pan troglodytes</i>	01	PE
<i>Macaca mulatta</i>	02	PB

* Alagoas - AL / Paraíba - PB / Pernambuco – PE/ São Paulo – SP

Each sample was individually analyzed through the use of Mini-FLOTAC® technique (Cringoli et al. 2013; Maurelli et al. 2014) with sodium chloride (s. 1,200) and zinc sulfate (s. 1,350) solutions.

The data was analyzed using descriptive statistics to obtain absolute (AF) and relative (RF) frequencies.

Results

Eggs of gastrointestinal nematodes were detected in 30.51% (47/154) of the samples analyzed, with coinfections being observed in 27.65% (13/47) of the positive samples. Parasitism by *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp. and *Oesophagostomum* spp. were the most commonly observed (Table 2).

Table 2. Infections and coinfections by gastrointestinal nematodes according to species studied and origin.

Site	Species	Nematodes	Prevalence
Cetas – Maceió- AL	<i>Sapajus libidinosus</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	50% (3/6)
	<i>Sapajus libidinosus</i>	<i>Oesophagostomum</i> spp.	16,66% (1/6)
	<i>Sapajus libidinosus</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.+ <i>Oesophagostomum</i> spp.	33,33% (2/6)
Cetas – Cabedelo – PB	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	33,33% (1/3)
	<i>Sapajus flavius</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	33,33% (1/3)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ascaris</i> spp	33,33% (1/3)
Cetas – Tangará – PE	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ascaris</i> spp	4.54% (1/22)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	40,90% (9/22)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Oesophagostomum</i> spp.	9.09% (2/22)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Strongyloides</i> spp.	13,63% (3/22)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp.	18,1% (4/22)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Strongyloides</i> spp. + <i>Oesophagostomum</i> spp.	13,63% (3/22)
Zoo de João Pessoa – PB	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	60% (3/5)
	<i>Macaca mulatta</i>	<i>Oesophagostomum</i> spp	20% (1/5)
	<i>Sapajus flavius</i>	<i>Ancylostoma</i> spp. + <i>Oesophagostomum</i> spp.	20% (1/5)

Zoo de Recife-PE	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	9,09 (1/11)
	<i>Sapajus flavius</i>	<i>Ancylostoma</i> spp.	63,63% (7/11)
	<i>Sapajus libidinos</i>	<i>Strongyloides</i> spp.	9,09% (1/11)
	<i>Sapajus flavius</i>	<i>Ancylostoma</i> spp. <i>Strongyloides</i> spp.	+ 18,18% (2/11)
Mata Ciliar – SP	-	-	0% (0/19)

Discussion

This study demonstrated parasitism by a wide variety of nematodes in captive NHPs from different locations in Brazil. The overall positivity detected (i.e., 30.51%), as well as the parasitic diversity, varied in comparison to previous similar studies (Fagiolini et al. 2010; Thawait et al. 2014; Zanzani et al. 2015; Kvapil et al. 2017; Barros et al. 2018; Capasso et al. 2019). Most probably, these differences were related to environmental conditions, animal management, feeding behavior (Getachew et al. 2010) and the coproparasitological technique employed. Another important fact to note is the presence of invasive animal species, particularly domestic carnivores, in the vicinity of the parks, or isolated on private properties, zoos or conservation centers. These animals can eliminate eggs and larvae in feces, which may favor environmental contamination (Barros et al. 2018) and consequent transmission to NHPs (Pessoa, 1988 White et al., 2019), thus increasing the risk of parasitic infection (Altizer et al., 2003).

Studies conducted in different locations around the world have shown that regardless of the parasitological techniques used, the helminth genera most commonly found in both free-living and captive NHP belong to the genera *Ancylostoma*, *Strongyloides* and *Oesophagostomum* (Botero Correa et al., 2011; Alcântara et al., 2016). It is important to emphasize that some of these species are of great significance in relation to public health (Freitas et al. 2001; Pourrut et al. 2011; Van De et al. 2019).

Ancylostoma spp. is a common nematode in primates, as well as in humans (Orihel, 1971), and has been found in diverse populations of NHPs in Africa (Petrášová et al. 2010; a Kouassi et al. 2015). However, proximity to humans can cause human-animal transmission to occur, as the same species of *Ancylostoma* spp. can parasitize both humans and NHPs (Mattia et al., 2012; Traversa 2012; Tavela et al. 2013).

Similarly, *Strongyloides* spp. is considered one of the most commonly found helminths in both wild and captive NHPs (Labes et al. 2011; Kouassi et al. 2015), particularly *S. fuelleborni* (Gillespie and Chapman 2006). It is likely that this prevalence is due to the life cycle of this pathogen, which alternates between free and parasitic life cycles, as well as its capacity for self-infection and transmammmary transmission (Olsen et al. 2009, Thamsborg et al. 2017). Thus, captive NHPs pose an imminent risk to animal-keepers due to contact with the fecal material of these animals, which may cause infection, given that the *Strongyloides* spp. in both NHPs and humans is percutaneous (Schad, 1989; Gillespie and Chapman, 2006).

Similarly, *Oesophagostomum* spp. is a parasite that often infects NHPs in various areas of the world (Ghai et al. 2014; Li et al. 2015; Adrus et al., 2018; Terio et al., 2018). Infection can lead to nodular esophagostomosis, particularly in large NHPs, without however showing any clinical signs (Krief et al. 2008). In captivity, infection may be caused by high population density, longer soil exposure and poor hygiene (Pérez et al. 2007; Bezjian et al. 2008; Ruch, 1959), in addition to coprophagy behavior (Krief et al. 2008). Some studies support the hypothesis that the environmental behavior of these NHPs also influences the prevalence rates, since the most arboreal species have lower exposure to *Oesophagostomum* spp. larvae than the terrestrial species (Ghai et al. 2014; Kooriyama et al. 2012). *Oesophagostomum* spp. is one of the most common parasites identified in African primates (Howells et al. 2011, Kooriyama et al. 2012, Ryan et al. 2012). In humans, *Oesophagostomum* causes esophagostomosis resulting in the formation of granulomas, caseous lesions, or abscesses in intestinal walls; however, great apes are known to develop nodular esophagostomosis without the associated severe clinical signs (Krief et al., 2008) or associated morbidity and mortality (Huffman et al. 1997).

Interestingly, eggs from *Ascaris* spp. were present in two animals from two different locations. Ascarid infection has often been reported in NHPs (Orihel and Seibold, 1972). It is noteworthy that eggs of this parasite persist in the soil for long periods of time and may remain viable for years (Newton-

Fisher et al. 2006). Since the ascarid species found in NHPs and humans are the same, infection among these primates is possible (Toft 1986), so due to its zoonotic character controlling this helminth is important (Strait et al., 2012).

The occurrence of co-infections is common and may result from environmental contamination (Maia and Goveia, 2002). In this regard, it is important to remember that most of the time infections do not occur only by one nematode species, but rather by the pathogenic effects of a number of species, especially in highly parasitized animals (Amarante, 2005).

Therefore, the results of the study revealed parasitism of gastrointestinal nematodes in these populations of NHPs, which may threaten the conservation of these species.

Reference

Adrus M, Zainudin R, Ahamad M, Jayasilan MA, Abdullah MT (2018) Gastrointestinal parasites of zoonotic importance observed in the wild, urban, and captive populations of non-human primates in Malaysia. *J Med Primatol* 48: 22-31. <https://doi.org/10.1111/jmp.12389>

Altizer S, Nunn CL, Thrall PH, Gittleman JL, Antonovics J, Cunningham AA, Dobson AP, Ezenwa V, Jones KE, Pedersen AB, Poss M, Pulliam JRC (2003). Social organization and disease risk in mammals: integrating theory and empirical studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 34: 517-547. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.030102.151725>

Alcântara DS, Mendonça IL, Fernandes Neto VP, Carniel PG, Pessoa, FB (2016) Fecal study of the species *Cebus libidinosus* (capuchin monkey). *Arq bras med vet Zootec* 68: 1609-1612. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9102>

AMARANTE AFT (2005) Controle da verminose ovina. *Rev. CFMV* 11:21-32, 2005.

Barros, LA., Sant, LX, Magalhães, BSN (2017). Prevalência de parasitos gastrointestinais em mamíferos selvagens do Jardim Zoológico do Rio de Janeiro. *R bras Ci Vet* 24: 179-183

Bezjian M, Gillespie TR, Chapman CA, Greiner EC (2008) Coprologic evidence of gastrointestinal helminths of forest baboons, *Papio anubis*, in Kibale National Park, Uganda. *J Wildl Dis* 44: 878-887. <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-44.4.878>

Botero Correa LC, Fernández AD, Forero NM, Rosas SG, Soler-Tovar D (2011) Análisis retrospectivo de las enfermedades parasitarias del mono ardilla (*Saimiri sciureus*) en dos condiciones *ex situ* en el noroccidente de los Andes suramericanos. *Rev Med Vet* 22: 85-93.

Capasso M, Aureli, MP, Ianniello, D, Alves, LC, Amadesi, A, Laricchiuta, P, Silvestre P, Campolo M, Cringoli G, Rinaldi, L (2019) Use of Mini-FLOTAC and Fill-FLOTAC for rapidly diagnosing parasitic infections in zoo mammals. *Braz J Vet Parasitol* 28: 168-171. doi: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180087>

Coffey, R, Cummins, E, Cormican, M, Flaherty, VO, Kelly, S (2007) Microbial exposure assessment of waterborne pathogens. *Hum Ecol Risk Assess* 13: 1313-1351. <https://doi.org/10.1080/10807030701655582>

Cringoli G, Rinaldi L, Albonico M, Bergquist R, Utzinger J (2013) Geospatial (s)tools: integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. *Geospat Health* 7:399-404. <https://doi.org/10.4081/gh.2013.97>

Da Silva Barbosa, A, Pissinatti, A, Dib, LV, de Siqueira, MP, Cardozo, ML, Fonseca, ABM, Amendoeira, MRR (2015) *Balantidium coli* and other gastrointestinal parasites in captives non-human primates of the Rio de Janeiro, Brazil. *J. Med. Primatol* 44:18-26. <https://doi.org/10.1111/jmp.12140>

Dixit, J, Zachariah, A, Sajesh, PK, Chandramohan B, Shanmuganatham V, Karanth, KP (2018) Reinvestigating the status of malaria parasite (*Plasmodium* sp.) in Indian non-human primates. *PLoS Negl Trop Dis* 12: 1-20. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006801>

Estrada A, Garber PA, Rylands AB, Roos C, Fernandez-Duque E, Di Fiore A, Nekaris KA, Nijman V, Heymann EW, Lambert JE, Rovero F, Barelli C, Setchell JM, Gillespie TR, Mittermeier RA, Arreaga

- LV, de Guinea M, Gouveia S, Dobrovolski R, Shanee S, Shanee N, Boyle SA, Fuentes A, MacKinnon KC, Amato KR, Meyer AL, Wich S, Sussman RW, Pan R, Kone I, Li B (2017) Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. *Sci Adv* 18: 1-16. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600946>
- Fan PF, Fei HL, Luo, AD (2014) Ecological extinction of the critically endangered northern white-cheeked gibbon *Nomascus leucogenys* in China. *Oryx* 48: 52-55. <https://doi.org/10.1017/s0030605312001305>
- Fagiolini M, Lia R, Laricchiuta P, Cavicchio P, Mannella R, Cafarchia C, Otranto D, Finotelo R, Perrucci, S (2010) Gastrointestinal parasites in mammals of two Italian zoological gardens. *J Zoo Wildl Med* 41: 662-670. <http://dx.doi.org/10.1638/2010-0049.1>
- Freitas MFL, Oliveira JB, Cavalcanti MDB, Oliveira RA, Evencio-Sobrinho A (2001) Perfil coproparasitológico de mamíferos silvestres em cativeiro em el Estado de Pernambuco, Brasil. *Parasitolo Dia* 25: p.121- 125. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-07202001000300009>
- Ghai RR, Chapman CA, Omeja PA, Davies TJ, Goldberg TL (2014) Nodule worm infection in humans and wild primates in Uganda: cryptic species in a newly identified region of human transmission. *PLoS Negl Trop Dis* 8: 1-9. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002641>
- Getachew M, Trawford A, Feseha G, Reid SWJ (2010) Gastrointestinal parasites of working donkeys of Ethiopia. *Trop Anim Health Pro* 42: 27-33. <http://doi.org/10.1007/s11250-009-9381-0>
- Gillespie TR, Chapman, CA (2006) Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. *Conserv Biol* 20: 441-448. <http://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00290.x>
- Honap TP, Pfister LA, Housman G, Mills S, Tarara RP, Suzuki K, Cuozzo FP, Sauter ML, Rosenberg MS, Stone AC (2018) *Mycobacterium leprae* genomes from naturally infected nonhuman primates **PLoS Negl Trop Dis** 12: 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006190>
- Johnson-Delaney, CA (2009) Parasites of captive nonhuman primates. *Vet Clin N Am Exotic Anim Pract*. 12: 563-581. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2009.07.002>
- Hokan M, Zimmermann E, Radespiel U, Andriatsitohaina B, Rasoloharijaona S, Strube C (2018) Are sleeping site ecology and season linked to intestinal helminth prevalence and diversity in two sympatric, nocturnal and arboreal primate hosts (*Lepilemur edwardsi* and *Avahi occidentalis*)? *BMC Ecol* 18: 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0178-8>
- Howells ME, Pruett J, Gillespie T R (2011) Patterns of gastro-intestinal parasites and commensals as an index of population and ecosystem health: the case of sympatric Western chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) and Guinea baboons (*Papio hamadryas papio*) at Fongoli, Senegal. *Am J Primatol*. 73:173-179. <https://doi.org/10.1002/ajp.20884>
- Huffman MA, Gotoh S, Turner LA, Hamai M, Yoshida K (1997) Seasonal trends in intestinal nematode infection and medicinal plant use among chimpanzees in the Mahale Mountains, Tanzania. *Primates* 38:111-125.
- Kvapil P, Kastelic M, Dovč A, Bártošová E, Čížek P, Lima N, Štrus Š (2017) An eight-year survey of the intestinal parasites of carnivores, hoofed mammals, primates, ratites and reptiles in the Ljubljana zoo in Slovenia. *Folia Parasitol* 64: 1-6. <https://doi.org/10.14411/fp.2017.013>
- Klaus A, Zimmermann E, Röper, KM, Radespiel U, Nathan S, Goossens B, Strube, C (2017) Co-infection patterns of intestinal parasites in arboreal primates (*Proboscis* monkeys, *Nasalis larvatus*) in Borneo. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 6: 320-329. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.09.005>
- Kooriyama, T, Hasegawa H, Shimozuru M, Tsubota T, Nishida T, Iwaki T (2012) Parasitology of five primates in Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Primates*, 53: 365-375. <https://doi.org/10.1007/s10329-012-0311-9>
- Krief1S, Jamart A, Mahe S, Leendertz FH, Matz-Rensing K, Crespeau F, Bain O, Guillot J (2008) Clinical and pathologic manifestation of oesophagostomosis in African great apes: does self-medication in wild

apes influence disease progression? J Med Primatol 37:188-195, 2008.doi:10.1111/j.1600-0684.2008.00285.x.

Kouassi RYW, McGraw SW, Yao PK, Abou-Bacar A, Brunet J, Pesson B, Bonfoh B, N'goran EK, Candolfi E (2015) Diversity and prevalence of gastrointestinal parasites in seven non-human primates of the Taï National Park, Côte d'Ivoire. Parasite, 22: 1-12. <https://doi.org/10.1051/parasite/2015001>

Li M, Zhao B, Li B, Wang Q, Niu L, Deng J, Gu X, Peng P, Wang T, Yang, G (2015) Prevalence of gastrointestinal parasites in captive non-human primates of twenty-four zoological gardens in China. J Med Primatol 44: 168-173.<https://doi.org/10.1111/jmp.12170>

Lee, JI, Kang, S, Kim, N, Lee, C, Ahn, K, Kwon, H, Kim, S (2010) Investigation of helminths and protozoans infecting old world monkeys: captive vervet, cynomolgus, and rhesus monkeys. Korean J Vet Res 50: 273-277.

Labes EM, Nurcahyo W, Deplazes P, Mathis A (2011) Genetic characterization of *Strongyloides* spp. from captive, semi-captive and wild bornean orangutans (*Pongo pygmaeus*) in central and east Kalimantan, Borneo, Indonesia. Parasitology 138:1417-1422. <https://doi.org/10.1017/S0031182011001284>

Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, Souquiere S, Kilbourne A, Forment JM, Bermejo M, Smit S, Karesh, W, Swanepoel, R, Zaki, SR, Rollin, PE (2004). Multiple ebola virus transmission events and rapid decline of Central African wildlife. Science 303: 387-390. <https://doi.org/10.1126/science.1092528>

Maia OB, Gouveia AMG (2002) Birth and mortality of maned wolves *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) in captivity. Revista Brasileira de Biologia 62:25-32. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842002000100004>

Mattia S, Colli CM, Adami CM, Guilherme GF, Nishi L, Rubinsky- Elefant G, Marchioro AA, Gomes, ML, Falavigna-Guilherme, AL (2012). Seroprevalence of *Toxocara* infection in children and environmental contamination of urban areas in Paraná State, Brazil. J Helminthol 86: 440-445.<http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X11000666>

Mazumder MK (2014) Diversity, habitat preferences, and conservation of the primates of Southern Assam, India: The story of a primate paradise. J Asia Pac Biodivers 7:347–354. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2014.10.001>

Maurelli MP, Rinaldi L, Alfano S, Pepe P, Coles GC, Cringoli G (2014) Mini-FLOTAC, a new tool for copromicroscopic diagnosis of common intestinal nematodes in dogs. Parasit Vectors 6: 1-13. <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/356>

Moss A, Esson M (2010) Visitor Interest in Zoo Animals and the Implications for Collection Planning and Zoo Education Programmes. Zoo Biol 29: 715–731. <https://doi.org/10.1002/zoo.20316>

Newton-Fisher N, Paterson J, Notman H, Reynolds V (2006) Primates of Western Uganda. Springer. Orihel TC (1971) *Necator americanus* infection in primates J Parasitol, 57, 117-121. <https://doi.org/10.2307/3277764>

Orihel TC, Seibold HR (1972) Nematodes of the bowel and tissues. In: Fiennes RNT-W (ed) Pathology of simian primates. Part II. Infectious and parasitic diseases. S Karger, Basel, pp 76-103.

Olsen A, van Lieshout L, Marti H, Polderman T, Polman K (2009) Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans R Soc Trop Med Hyg 103: 967-972. <http://doi.org/10.1016/j.trstmh.2009.02.013>

Pourrut X, Diffo JLD, Somo RM, Bilong CB, Delaporte E, LeBreton M, Gonzalez JP (2011) Prevalence of gastrointestinal parasites in primate bushmeat and pets in Cameroon. Vet Parasitol 175: 187-191. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.023>

Pérez J, Ramírez D, Hernández CA (2007) *Prosthenoorchis* sp en titíes grises (*Saguinus leucopus*). Rev CES Med Vet Zootec 2: 51-57.

- Petrášová J, Modrý D, Huffman MA, Mapua MI, Bobáková L, Mazoch V, Singh J, Kaur T, Petrželková, KJ (2010) Gastrointestinal parasites of indigenous and introduced primate species of Rubondo Island National Park, Tanzania. *Int J Primatol* 31:920-936. <https://doi.org/10.1007/s10764-010-9439-x>
- Sabbatini G, Stamatii M, Tavares, MCH, Giuliani MV, Visalberghi E (2006) Interactions between humans and capuchin monkeys (*Cebus libidinosus*) in the Parque Nacional de Brasília, Brazil. *Appl Anim Behav Sci* 97: 272-283. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.07.002>
- Ruch TC (1959) Diseases of laboratory primates. Philadelphia: W.B. Saunders. Salzer JS, Rwegu IB, Goldberg TL, Kuhlenschmidt MS, Gillespie T R (2007). *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. infections in primates in fragmented and undisturbed forest in Western Uganda. *J Parasitol* 93: 439-440. <https://doi.org/10.1645/GE-970R1.1>
- Ryan SJ, Brashares JS, Walsh C, Milbers K, Kilroy C, Chapman CA (2012) A survey of gastrointestinal parasites of olive baboons (*Papio anubis*) in human settlement areas of Mole National Park, Ghana. *J Parasitol* 98: 885-889. <https://doi.org/10.1645/GE-2976.1>
- Sharif M, Daryani A, Kia E, Rezaei, F, Nasiri M, Nasrolahei M (2015) Prevalence of intestinal parasites among food handlers of Sari, Northern Iran. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 57:139-144. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652015000200007>
- Schad GA, Aikens LM, Smith G (1989) *Strongyloides stercoralis*: Is There a Canonical Migratory Route through the Host? *The Journal of Parasitology*, J. Parasitol., 75: 740-749 740. <https://doi.org/10.2307/3283059>
- Shemshadi B, Ranjbar-Bahadori S, Jahani S (2015) Prevalence and intensity of intestinal helminths in carnivores and primates at Vakilabad Zoo in Mashhad, Iran. *Comp Clin Path* 24: 387-391. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-1909-7>
- Sprenger, LK, Yoshitani, UY, Buzatti, A, Molento, MB (2018). Occurrence of gastrointestinal parasites in wild animals in state of Paraná, Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc* 90: 231-238. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720150030>
- Strait K, Else J, Eberhard M (2012) Parasitic diseases of nonhuman primates. In: Abee C, Mansfield K, Tardif S, Morris T (Eds.) *Nonhuman Primates In Biomedical Research*. Academic Press, pp. 197-297.
- Tavela ADO, Fuzessy LF, Silva VHD, Silva FDFRD, Junior MC, Silva IDO, Souza VB (2013). Helminths of wild hybrid marmosets (*Callithrix* sp.) living in an environment with high human activity. *Rev Bras Parasitol Vet* 22: 391-397. <http://doi.org/10.1590/s1984-29612013000300012>
- Toft JD (1986) The pathoparasitology of nonhuman primates: a review. In *Primates* (pp. 571-679). Springer, New York, NY.
- Tamsborg SM, Ketzis J, Horii Y, Matthews JB (2017) *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. *Parasitology* 144:274-84. <https://doi.org/10.1017/S0031182016001116>
- Thawait VK, Maiti SK, Dixit AA (2014) Prevalence of gastro-intestinal parasites in captive wild animals of Nandan Van Zoo, Raipur, Chhattisgarh. *Vet World* 7: 1-4: <http://doi.org/10.14202/vetworld.2014.448-451>
- Traversa D (2012) Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasit Vectors* 5: 91-110. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-5-91>
- Van De N, Minh PN, Duyet LV, Mas-Coma S (2019) Strongyloidiasis in northern Vietnam: epidemiology, clinical characteristics and molecular diagnosis of the causal agent parasites vectors 12:1-12. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3776-1>
- Xie Y, Zhao B, Hoberg EP, Li M, Zhou X, Gu, X, Lai W, Peng X, Yang G (2018) Genetic characterisation and phylogenetic status of whipworms (*Trichuris* spp.) from captive non-human primates in China, determined by nuclear and mitochondrial sequencing. *Parasit Vectors* 11: 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3100-5>
- White MAF, Whiley H, Ross, KE (2019). A Review of *Strongyloides* spp. Environmental Sources Worldwide. *Pathogens* 8: 1-28. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030091>

Zanzani, SA, Gazzonis, AL, Epis, S, Manfredi, MT (2015) Study of the gastrointestinal parasitic fauna of captive non-human primates (*Macaca fascicularis*). *Parasitol Res* 115: 307-312. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4748-9>

ARTIGO 3

***Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em primatas não humanos (NHP) em cativeiro**

***Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em primatas não humanos (NHP) em cativeiro**

Resumo

Apesar dos Primatas Não Humanos (PNHs) serem encontrados em diversos ambientes, as informações atuais mostram que as principais ameaças à essas espécies estão diretamente ligadas a efeitos antropogênicos. Esses fatores resultam no isolamento desses animais e maior proximidade com humanos e animais domésticos, o que tem facilitado a disseminação de agentes patogênicos com caráter zoonótico, dentre os quais destacam-se *Cryptosporidium* spp e *Giardia* spp. Esses protozoários são considerados importantes agentes causadores de diarreia em seres humanos e animais domésticos, no entanto, informações sobre seus potenciais impactos nas populações de PNHs de cativeiros ainda são escassas, o que reforça a necessidade de investigação da saúde desses animais em cativeiros para evitar a disseminação dos patógenos tanto para os animais que chegam nos centros conservacionistas, como para os destinados a programas de reintrodução. Deste modo, objetivou-se neste estudo detectar *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em PNHs mantidos em cativeiros. Amostras fecais de 134 PNHs pertencentes a cinco gêneros foram coletadas. As amostras foram analisadas através da técnica de Kinyoun para identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp., e pela técnica de FLOTAC® para detecção de cistos de *Giardia* sp. Posteriormente, todas as amostras foram submetidas ao teste de Reação de Imunofluorescência direta. De todas as amostras analisadas 17,90% (24/134) foram positivas a pelo menos um agente pesquisado. Particularmente, 17,90% (24/134) e 3,71% (5/134) foram positivos para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., respectivamente. Sendo assim, os resultados aqui encontrados fornecem informações importantes sobre a infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em PNHs mantidos em cativeiros.

Palavra-chave: Primatas, Protozoários, Primatas não humanos, Zoonoses

Abstrat

Although Non-Human Primates (NPHs) are found in different environments, current information shows that the main threats to these species are directly linked to anthropogenic effects. These factors result in the isolation of these animals and greater proximity to humans and domestic animals, which has facilitated the dissemination of pathogenic agents with a zoonotic character, among which *Cryptosporidium* spp and *Giardia* spp stand out. These protozoa are considered important agents that cause diarrhea in humans and domestic animals, however, information about their potential impacts on NPH populations in captivity is still scarce, which reinforces the need to investigate the health of these animals in captivity to avoid dissemination of pathogens both to animals arriving at conservation centers and to those destined for reintroduction programs. Thus, the aim of this study was to detect *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in PNHs held in captivity. Fecal samples from 134 PNHs belonging to five genera were collected. The samples were analyzed using the Kinyoun technique to identify oocysts of *Cryptosporidium* spp., And by the FLOTAC® technique to detect cysts of *Giardia* sp. Subsequently, all samples were subjected to the direct Immunofluorescence Reaction test. Of all analyzed samples, 17.90% (24/134) were

positive for at least one agent surveyed. In particular, 17.90% (24/134) and 3.71% (5/134) were positive for *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp., respectively. Therefore, the results found here provide important information about infection by *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in NPHs held in captivity.

Keyword: Primate, Protozoa, Non-human primates, Zoonosis

Introdução

Muitas espécies de animais silvestres são importantes reservatórios de agentes patogênicos e a proximidade entre pessoas e espécies domésticas pode propiciar a adaptação a novos hospedeiros e a disseminação de patógenos, que podem causar enfermidades em todas as espécies envolvidas (HOLMES, 1996; CALEY; HOME, 2004).

Atualmente, a maioria dos Primatas não Humanos (PNHs) vivem em ambientes antropizados, com mosaicos agrícolas, assentamentos humanos e fragmentos florestais protegidos (ESTRADA et al. 2017; FAN et al., 2014; MAZUMDER, 2014). De modo geral, esses animais são considerados reservatórios de diversos patógenos de caráter zoonótico, nos quais se destacam os parasitos gastrointestinais (TREJO-MACÍAS et al., 2007; DEBENHAM et al., 2015; ALCÂNTARA et al., 2016). Em cativeiros, a transmissão desses patógenos entre PNHs e humanos, pode ser facilitada pela estreita relação taxonômica entre si (DIXIT et al., 2018). Além disso, a ocorrência e as espécies de parasitos podem variar de acordo com o manuseio e das condições dos recintos (DEBENHAM et al., 2015).

Entre os parasitos gastrointestinais, particularmente os protozoários do gênero *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. representam uma preocupação para os profissionais que trabalham em contato direto com esses animais, tendo em vista que esses agentes são capazes de infectar uma ampla gama de hospedeiros vertebrados (HAMILTON et al., 2018; KASAEI et al., 2018). Ambos possuem como principal forma de transmissão a direta (oral-fecal), de indivíduo para indivíduo ou indireta por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados (FERREIRA et al., 2018; ITOH et al., 2019; PIGNATA et al., 2019).

Embora se reconheça que *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. são importantes causas de diarreia em seres humanos e animais domésticos, informações sobre seus potenciais impactos nas populações de PNHs ainda são escassas (KARIM et al.,

2014; SNAK et al., 2019). É importante destacar que essas informações são de suma importância, visto que algumas pesquisas demonstraram que a transmissão desses protozoários em PNHS está diretamente ligada a efeitos antropogênicos (NIZEYI et al., 2002; JOHNSTON et al., 2010).

A possibilidade de ocorrência desses animais sem sinais clínicos claros reforça a necessidade de investigação e monitoramento da saúde dos PNHS em cativeiros para evitar a disseminação dos patógenos, tanto para os animais que chegam nos centros conservacionistas, como para aqueles destinados a programas de reintrodução além dos humanos. Deste modo, objetivou-se neste estudo detectar *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em PNHS mantidos em cativeiros.

Material e Métodos

Aspectos éticos

Este estudo foi conduzido de acordo com as licenças concedidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa para Uso Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA-UFRPE) (licença número 18/2018) e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) (licença número 60975-1).

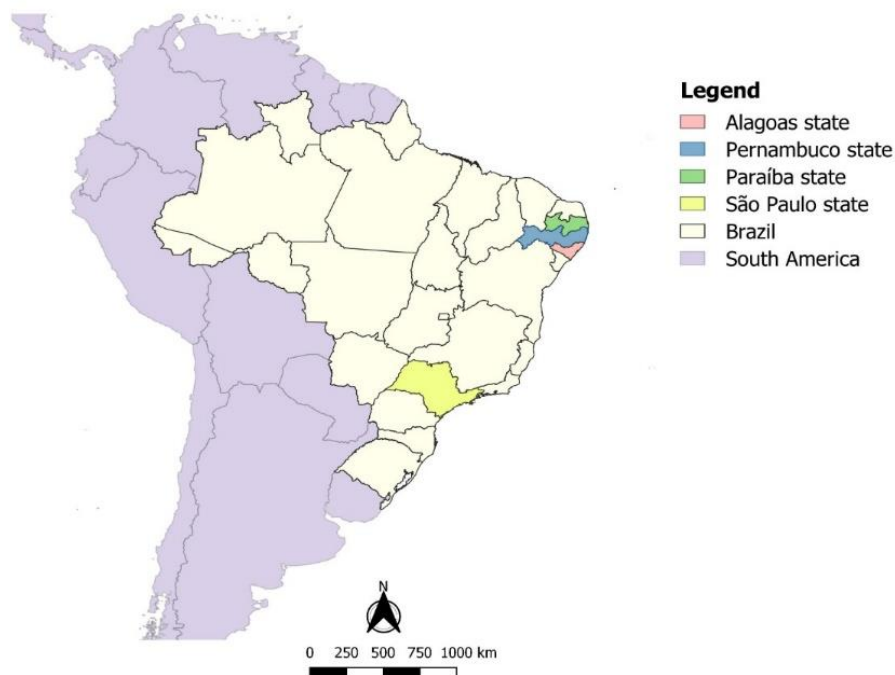
Animais e Área de estudo

De abril de 2018 a março de 2019 foram coletadas amostras fecais de 134 PNHS pertencentes aos gêneros *Aotus* (n = 1), *Alouatta* (n = 9), *Ateles* (n = 3), *Lagothrix* (n = 1), *Pan* (1), *Saimiri* (n = 3), *Callithrix* (n = 11) e *Sapajus* (n = 105), provenientes dos Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS/IBAMA) nos municípios de Maceió (9° 36'54"S e 35°44'27"W), Cabedelo (7°03'47"S e 34°51'21"W), Recife (7°56' 49"S e 34°58'48"W) e João Pessoa (7°06'49" S e 34°52'30"W). Além do Parque Dois Irmãos, localizado no município de Recife (8°00'37" S e 34°56'41"W) e da Associação Mata Ciliar, localizada no município de Jundiaí (23°10'37" S e 40°56'33" W). Todos os animais se encontravam em recintos contendo comedouros e bebedouros e nenhum deles apresentava sinal clínico sugestivo da infecção por protozoários gastrointestinais.

As amostras fecais foram coletadas diretamente do solo, colhendo-se apenas a porção apical das fezes, a fim de evitar a contaminação ambiental. Em seguida, foram colocadas em recipientes plásticos contendo dicromato de potássio 2,5%,

identificadas individualmente e armazenadas em caixas isotérmicas com temperatura controlada (2 e 8 °C) até o processamento laboratorial. O número de amostras colhidas foi baseado no número de animais presentes em cada recinto.

Figura 1. Estados brasileiros onde foram coletadas amostras fecais de primatas não humanos.



Processamento laboratorial

As amostras foram analisadas através da técnica de Kinyoun (BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996) para identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp., e pela técnica de FLOTAC® (CRINGOLI et al., 2010) para detecção de cistos de *Giardia* sp. Posteriormente, todas as amostras foram submetidas ao teste de Imunofluorescência direta (Kit Merifluor® *Cryptosporidium/Giardia*; Meridian Biociências) e oocistos e cistos foram identificados com base em sua forma, tamanho e imunofluorescência padrão de intensidade (REBOREDO-FERNÁNDEZ et al., 2015).

Resultados e Discussão

De todas as amostras analisadas 17,90% (24/134) foram positivas a pelo menos um agente pesquisado. Particularmente, 17,90% (24/134) e 3,71% (5/134) foram positivas para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., respectivamente. Infecções por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foram encontradas em quatro espécies de

PNHs e coinfeção em três espécies. Os resultados detalhados de acordo com cada espécie de PNHs, agente etiológico e técnicas utilizadas estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Prevalência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em Primatas Não Humanos mantidos em cativeiros

Gênero	Nome Científico	<i>Cryptosporidium</i> spp.		<i>Giardia</i> spp.	
		*Kinyoun	*MeriFluor®	*FLOTAC	*MeriFluor®
		n/N (x%)	n/N (x%)	n/N (x%)	n/N (x%)
<i>Sapajus</i>	<i>S. libidinosus</i>	19,48% (15/77)	(16/77) 20,77%	(0/77) 0%	(1/77) 1,29%
<i>Sapajus</i>	<i>S. flavius</i>	10,71% (3/28)	(7/28) 25,0%	(0/28) 0%	(1/28) 3,57%
<i>Ateles</i>	<i>A. marginatus</i>	(0/1) 0%	(0/1) 100%	(0/1) 0%	(0/1) 0%
<i>Callithrix</i>	<i>C. jacchus</i>	(0/4) 0%	(1/4) 25%	(0/4) 0%	(2/4) 50%
<i>Alouatta</i>	<i>A. guariba</i>	(0/7) 0%	(0/7) 0%	(0/7) 0%	(1/7) 14,28%

Este estudo avaliou a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. nas fezes de PNHs mantidos em cativeiros. A positividade geral aqui observada (17,90%) é considerada alta, sobretudo considerando estudos previamente realizados que reportam uma frequência de 1,8 e 5,5% (LI et al., 2017; DEBENHAM et al., 2015).

Sabe-se que a ação mútua destes patógenos entre os animais está diretamente relacionada superlotação dos recintos, o que aumenta a probabilidade de transmissão direta entre indivíduos suscetíveis (jovens e imunossuprimidos) (HUGHES-HANKS et al., 2005). Além disso, o contato com humanos, o tipo de água fornecida e a presença de animais sinantrópicos nos recintos podem ser considerados fatores de risco (WOLFE et al., 1998; NIZEYI et al., 2002; GRACZYK et al., 2002; SALZER et al., 2007).

Cryptosporidium spp. e *Giardia* spp. têm sido geralmente associados a manifestação clínica intestinal, resultando em quadros diarreicos (BOUZID et al., 2013). Embora esse seja o principal sinal clínico, em nenhuma amostra analisada neste estudo foi observada característica do quadro. É importante notar que em PNHs, os sinais clínicos são mais comumente demonstrados em situações de estresse e em animais imunodeprimidos (KALISHMAN et al., 1996; RYAN; CACCIÒ, 2013; HAHN; CAPUANO, 2010).

Sobre a coinfecção, esse achado é comum, tendo em vista que os agentes possuem as mesmas vias de transmissão, ciclo de vida monoxênico, demandam de baixa dose infectante, e um curto período pré-patente (THOMPSON; MONIS, 2004).

A maior positividade observada para o gênero *Sapajus* está relacionada ao seu hábito alimentar generalista aliado a grande flexibilidade comportamental e ecológica (DE LA SALLES et al., 2018). Sendo assim, os resultados aqui encontrados fornecem informações importantes sobre a infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em PNHs mantidos em cativeiros.

Referência

BOUZID, M. et al. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n.1, p. 115-134, 2013.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Infecções oportunistas por parasitas em AIDS: técnicas de diagnóstico**. Ministério da Saúde, MMA, Brasília, 1996.

CALEY, P.; HOME, J. Disease transmission between and within species, and the implications for disease control. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 1, p. 94-104, 2004.

CRINGOLI, G. et al. FLOTAC: new multivalente techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. **Nature Protocols**, v. 5, p. 503-515, 2010.

DEBENHAM, J. J. et al. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*), mandrills (*Mandrillus sphinx*) and wild Zanzibar red colobus monkeys (*Procolobus kirkii*). **Journal of medical primatology**, v. 44, n. 2, p. 60-65, 2015.

DE LA SALLES, A. Y. F. et al. Aspectos biológicos e comportamentais de *Sapajus libidinosus*: Revisão. **PUBVET**, v. 12, p. 139, 2018.

DIXIT, J. et al. Reinvestigating the status of malaria parasite (*Plasmodium* sp.) in Indian non-human primates. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 12, p. 1-20, 2018.

ESTRADA, A. et al. Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. **Science Advances**, v. 18, n. 3, p. 1-16, 2017.

FAN, P. F. et al. Ecological extinction of the critically endangered northern white-cheeked gibbon *Nomascus leucogenys* in China. **Oryx**, v. 48, n.1, p. 52-55, 2014.

FERREIRA, F.P. et al. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 3, p. 327-337, 2018.

GRACZYK, T. K. **Zoonotic infections and conservation**. In: AGUIRRE, A. A.; OSTFELD, R. S.; TABOR, G. M.; HOUSE, C.; PEARL, M. C. (ed.). Conservation medicine: ecological health in practice. New York: Oxford University Press, 2002, p. 220-228.

HAHN, N. E.; CAPUANO, S. V. Successful treatment of cryptosporidiosis in 2 common marmosets (*Callithrix jacchus*) by using paromomycin. **Journal of American Association for Laboratory Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 873-875, 2010.

HAMILTON, K. A. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater and surface water environments. **Journal of environmental quality**, v. 47, n. 5, p. 1006-1023, 2018.

HOLMES, J. C. Parasites as threats to biodiversity in shrinking ecosystems. *Biodiversity and Conservation*, v. 5, n. 8, p. 1975-1983, 1996.

ITOH, N. et al. Molecular Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in Breeding Kennel Dogs. **The Korean journal of parasitology**, v. 57, n. 2: 197-200 57.2: 197, 2019.

JOHNSTON, A R. et al. Molecular epidemiology of cross-species *Giardia duodenalis* transmission in western Uganda. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 5, p. 1-7, 2010.

KALISHMAN, J. et al. Survey of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in a captive population of common marmosets. *Lab. Anim. Sci.* V. 46, n. 1, p.116–119, 1996.

KARIM, M. R. et al. Multilocus typing of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* from non-human primates in China. **International journal for parasitology**, v. 44, n.13, p. 1039-1047, 2014.

KASAEI, R. Molecular genotyping of *Giardia duodenalis* in children from Behbahan, southwestern Iran. **Parasitology Research**, v. 117, n. 5, p. 1425-1431, 2018.

LI, J. et al. An investigation of parasitic infections and review of molecular characterization of the intestinal protozoa in nonhuman primates in China from 2009 to 2015. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.6. n.1, p. 8-15, 2017.

MAZUMDER, M. K. Diversity, habitat preferences, and conservation of the primates of southern Assam, India: The story of a primate paradise. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 7, n.4, p. 347-354, 2014.

NIZEYI, J. et al. Cryptosporidiosis in people sharing habitats with free-ranging mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*), Uganda. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 66, n.4, p. 442-444, 2002.

PIGNATA, C. et al. *Cryptosporidium* Oocyst Contamination in Drinking Water: A Case Study in Italy. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 11, p. 1-10, 2019.

REBOREDO-FERNÁNDEZ, A. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium* in cetaceans on the European Atlantic coast. **Parasitology research**, 114, n. 2, 693–698, 2015.

RYAN, U.; CACCIÒ, S. M. Zoonotic Potential of *Giardia*. **International Journal Parasitology**, v. 43, p. 943-956, 2013.

SALZER, J. S., et al. *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. infections in primates in fragmented and undisturbed forest in western Uganda. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 2, p. 439-441, 2007.

SNAK, A.; DA SILVEIRA DELGADO, L. E.; OSAKI, S. Cr. *Cryptosporidium parvum* in captive primates of Parque Municipal Danilo Galafassi, Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 987-992, 2019.

THOMPSON, R. C. A.; MONIS, P. T. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. **Advances in parasitology**, v. 58, n. 95, p. 69, 2004.

TREJO-MACÍAS, G.; ESTRADA, A.; CABRERA, M.A.M. Survey of helminth parasites in populations of *Alouatta palliate Mexicana* and *A. pigra* in continuous and in

fragmented habitat in Southern Mexico. **International Journal of Primatology**, v. 28, n. 4, 931-945, 2007.

WOLFE, N. D. et al. Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link? **Emerging infectious diseases**, v., 4, n.2, p. 149-158, 1998.

5. CONCLUSÕES GERAIS

- As técnicas FLOTAC e Mini-FLOTAC foram as mais eficientes quando comparadas com as tradicionais para detecção de parasitas gastrointestinais de Primatas Não Humanos; portanto, recomenda-se o uso na rotina laboratorial da medicina veterinária.
- Os nematóides gastrointestinais encontrados nos Primatas Não Humanos são de grande importância, uma vez que alguns desses parasitos são de caráter zoonótico, legitimando o perigo não só para a saúde dos animais, mas também a saúde das pessoas que trabalham diretamente com estes animais.
- A presença de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. nos PNHs sugerem que esses animais podem contribuir para transmissão desses agentes para outros animais, incluindo o homem.