

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL**

**OCORRÊNCIA DE AGENTES PATOGÊNICOS EM
FEZES DE BUGIOS-RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans*
(PRIMATES), EM UMA ÁREA IMPACTADA PELA
FEBRE AMARELA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Laurete Murer

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**OCORRÊNCIA DE AGENTES PATOGÊNICOS EM FEZES DE
BUGIOS-RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans* (PRIMATES), EM
UMA ÁREA IMPACTADA PELA FEBRE AMARELA**

Laurete Murer

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Área de Concentração em Bioecologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Biodiversidade Animal**

**Orientadora: Prof^ª. Vanessa Barbisan Fortes, Dr^ª.
Coorientadora: Prof^ª. Maristela Lovato, Dr^ª.**

Santa Maria, RS, Brasil

2014

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Murer, Laurete

Ocorrência de agentes patogênicos em fezes de bugios-ruivos, *Alouatta guariba clamitans* (Primates), em uma área impactada pela febre amarela / Laurete Murer.-2014.
43 p.; 30cm

Orientador: Vanessa Barbisan Fortes

Coorientador: Maristela Lovato

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, RS, 2014

1. Primatas neotropicais 2. Protistas 3. Enterobactérias 4. Zoonoses I. Fortes, Vanessa Barbisan II. Lovato, Maristela III. Título.

© 2014

Todos os direitos autorais reservados a Laurete Murer. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: laumurer@hotmail.com

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

Ocorrência de agentes patogênicos em fezes de bugios-ruivos, *Alouatta guariba clamitans* (Primates), em uma área impactada pela febre amarela

elaborada por

Laurete Murer

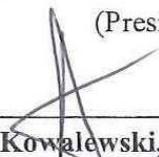
como requisito parcial para obtenção do grau de

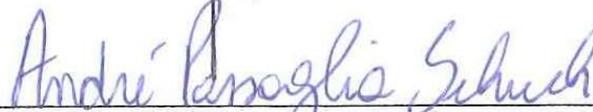
Mestre em Biodiversidade Animal

Comissão Examinadora:



Vanessa Barbisan Fortes, Dr^a., (UFSM)
(Presidente)


Miguel M. Kowalewski, Dr., (MACN/CONICET)



André Schuch, Dr., (UFSM)



Maristela Lovato, Dr^a., (UFSM)

Santa Maria, 26 de fevereiro de 2014.



Em um dia de festa no CISM, uma criatura conhecida como bugio desceu de uma árvore e veio ao meu colo, me fazendo um carinho... Fui chamada de maluca pelos colegas da graduação, pois segundo eles, bugios são agressivos... Mas eu gostei tanto dele!...

Não imaginava que, doze anos depois, estaria procurando por eles no meio do mato, coletando suas cacacas e realizando estudos com o objetivo de aprender um pouco sobre fatores que colocam em risco sua sobrevivência para poder, de alguma forma, contribuir com sua preservação. Em dois anos de contato, consegui aprender um pouco sobre seu comportamento e passei a gostar ainda mais deles.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador pela vida, pela força para lutar pelos meus sonhos e torná-los realidade e às Criaturas que pude conhecer em tantos dias de campo... Lindas!!!

A minha mãe Terezinha que, de onde estiver, tenho certeza me acompanha em todos os momentos e nesta hora sente-se orgulhosa e se alegra comigo.

Aos meus filhos Letícia e Bruno, que tantas vezes ficaram em casa torcendo para que a mamãe conseguisse coletar cacacas e que chegaram a dizer “Parece que a mamãe gosta mais dos bugios do que da gente”... Confesso que gosto muito dos bugios, mas meu amor por vocês é infinito. Vocês são a razão do meu viver.

Às minhas irmãs, Ana e Maria Teresa, que torceram por mim e em especial a Lucia, que sempre veio me socorrer nos momentos de sufoco, tomando conta de tudo, com especial atenção às minhas crianças. Amo vocês!

À minha orientadora, Professora Dr^a. Vanessa Barbisan Fortes, pela oportunidade de conhecer um pouco sobre nossos semelhantes, os primatas não humanos, pela amizade, pelas experiências vividas no campo, pelas macaquices, pelos atoleiros vencidos, insetos, a cobra coral e outras dificuldades enfrentadas sempre com bom humor e risadas... “Quem mandou querer estudar macacos?”...

À minha coorientadora, Professora Dr^a. Maristela Lovato, por ter me acolhido e acreditado em mim quando pude retomar minha vida profissional, sempre transmitindo além de seu conhecimento, alegria, amizade e força para enfrentar dificuldades de várias ordens que surgiram ao longo dessa caminhada. É para mim um exemplo a ser seguido. Agradeço por tudo e dedico esse trabalho.

À equipe do Laboratório Central de Diagnóstico e Patologias Aviárias e Núcleo de Estudos e Pesquisas em Animais Silvestres (LCDPA/NEPAS), em especial aos estagiários Marília Baialardi Ribeiro e Luan Machado “meus fiéis escudeiros”, pelo interesse e dedicação ao meu trabalho. À colega Lauren Sagave pelos momentos compartilhados... “um pechon”.

À equipe do Laboratório de Primatologia, pela amizade e parceria nas horas de campo, especialmente a Joana, com quem passei tantas horas procurando bugios, e tivemos até que fugir dos quatis..., dos temporais... Quantas histórias!!!...

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Animal pela oportunidade de realizar este curso de mestrado e ainda a CAPES, pela concessão de um ano de bolsa.

E a todos aqueles que não citei, mas que me deram estímulo para seguir meu caminho e chegar até aqui

Muito obrigada!

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal
Universidade Federal de Santa Maria

OCORRÊNCIA DE AGENTES PATOGÊNICOS EM FEZES DE BUGIOS-RUIVOS, *Alouatta guariba clamitans* (PRIMATES), EM UMA ÁREA IMPACTADA PELA FEBRE AMARELA

AUTORA: LAURETE MURER

ORIENTADORA: VANESSA BARBISAN FORTES

Santa Maria, 26 de fevereiro de 2014.

O bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) ocorre na Mata Atlântica dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul e em pequena porção do nordeste da Argentina. É classificado como vulnerável no Rio Grande do Sul devido principalmente à perda e fragmentação de habitat e ao recente surto de febre amarela silvestre (2008/2009). As intensas atividades antrópicas no meio selvagem, além da perda de habitat, podem favorecer a disseminação de agentes patogênicos como bactérias e parasitos, que ocorrem em animais domésticos e em humanos e que podem acometer também os animais selvagens. O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae e do protista *Cryptosporidium* sp. em fezes de bugios-ruivos de vida livre no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, bem como relacionar a riqueza de enterobactérias nas amostras com fatores ecológicos e ambientais como tamanho do grupo, tamanho do fragmento florestal, densidade de populações de bugios, distância com núcleos humanos mais próximos, distância para cursos d'água e sazonalidade. As amostras foram analisadas no Núcleo de Estudos e Pesquisas em Animais Silvestres (NEPAS/LCDPA) da Universidade Federal de Santa Maria. Foram detectadas vinte espécies de enterobactérias, e com as técnicas empregadas, as amostras foram negativas para *Salmonella* spp. e *Cryptosporidium* sp.. Nenhuma das variáveis ambientais analisadas teve influência sobre a riqueza das enterobactérias. Considerando que as populações de bugios do Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) sofreram uma drástica redução devida à febre amarela, e que alguns organismos encontrados nesse estudo podem estar interagindo com outros fatores e assim afetar a dinâmica populacional dos bugios. Acredita-se que a continuidade do monitoramento da saúde destas populações seja fundamental para melhorar a compreensão dos mecanismos das doenças, assim como para a conservação dessa espécie.

Palavras-chave: Primatas neotropicais. Protistas. Enterobactérias. Zoonoses.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal
Universidade Federal de Santa Maria

PATHOGENIC AGENTS IN FECES OF BROWN HOWLER MONKEYS, *Alouatta guariba clamitans* (PRIMATES), IN AN AREA IMPACTED BY YELLOW FEVER

AUTHOR: LAURETE MURER

ADVISER: VANESSA BARBISAN FORTES

Santa Maria, February, 26th, 2014.

Brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) occur in the Brazilian Atlantic Forest from the states of Minas Gerais and Rio de Janeiro to Rio Grande do Sul, and in a small area in northeastern Argentina. They are classified as Vulnerable in the state of Rio Grande do Sul due especially to the loss and fragmentation of their natural habitats, and also due to the deaths caused by the recent outbreak of sylvatic yellow fever (2008/2009). The intense human activities on natural habitats, besides the habitat loss, can favor the spread of pathogenic agents such as bacteria and other parasites which affect men and domestic animals, and which can also occur in wildlife animals. This study aimed at verifying the occurrence of Enterobacteriaceae and *Cryptosporidium* sp. in feces of free-ranging brown howler monkeys in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, and understanding the influence of ecological and environmental factors (group size, howler population density, fragment size, distance to the nearest human settlement, distance to the nearest river and seasonality) on the richness of such organisms. The samples were analyzed at the Center for Studies and Research on Wild Animals (NEPAS / LCDPA) of the Federal University of Santa Maria. Twenty Enterobacteriaceae species were detected, and with the techniques employed, the samples were negative for *Salmonella* spp. and *Cryptosporidium* sp. None of the environmental variables had significant influence on the wealth of Enterobacteriaceae. Considering that howler populations at CISM (Campo de Instrução de Santa Maria) fell dramatically due to yellow fever, and that some organisms found in this study may interact with other factors and affect the population dynamics of the howler. We believe that it is fundamental to continue monitoring the health of these populations in order to better understand disease mechanisms, as well as conserve this species.

Keywords: Neotropical primates. Protist. Enterobacteria. Zoonosis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fezes de bugios-ruivos encontradas no ambiente (A) (Fonte: MURER, 2013).
Coleta de amostras (B) (Fonte: MURER, 2013)23
- Figura 2 – Localização do Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) (A) (Fonte:
VEIGA, 2013). Locais de coleta de amostras no CISM (Sarandi, Redondo,
Sede, Gravatás I e Piquenique) e entorno (Pains, São José da Porteirinha e
Passo do Verde) (B) (Fonte: Google Earth, 4/9/2013)25

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados dos testes bioquímicos presuntivos para as 53 amostras de fezes de bugios analisadas a partir de dois meios de cultura (Xilose Lisina Desoxicolato e Ágar Verde Brilhante), número (N) e percentual (%) de amostras onde foram identificadas as enterobactérias29
- Tabela 2 – Características dos locais de estudo e da população de *A. guariba clamitans*, DNH= distância para o núcleo humano mais próximo; DCA= distância para o rio mais próximo; D= densidade de bugios; T1= trilha um; T2= trilha dois; B= borda31
- Tabela 3 – Resumo dos efeitos incluídos no Modelo Linear Generalizado Misto explicando a riqueza de enterobactérias por amostra (Distribuição de Poisson com função de ligação Identidade)32

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Bugio-ruivo macho no Campo de Instrução de Santa Maria – RS.....	43
Anexo B – Fêmeas de Bugio-ruivo no Campo de Instrução de Santa Maria – RS	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 CAPÍTULO I Ocorrência de agentes patogênicos em fezes de bugios-ruivos, <i>Alouatta guariba clamitans</i> (Primates), em uma área impactada pela febre amarela	18
Resumo	18
Abstract	19
Introdução	20
Material e Métodos	22
Resultados e Discussão	27
Conclusões	34
Referências	34
3 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	43

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Alouatta* é composto por catorze espécies (IUCN, 2013) com ampla distribuição geográfica na região Neotropical, ocorrendo desde 21°17'N em Yucatán, México (SERIO-SILVA et al., 2005) até 31°10' Sul, no Rio Grande do Sul, Brasil (PRINTES et al., 2001). No Rio Grande do Sul, ocorre nas Florestas Ombrófilas Densa e Mista, na Floresta Estacional Semidecidual e na transição entre as matas de galeria e a Floresta Estacional Decidual na região do Pampa (BICCA-MARQUES, 2013). Ao longo de sua distribuição geográfica ocupam diferentes tipos de florestas, com variados graus de perturbação, podendo sobreviver até mesmo em fragmentos florestais muito pequenos e diretamente afetados por atividades humanas (BICCA-MARQUES, 2003).

A. guariba clamitans (Cabrera, 1940) aparece na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN) na categoria LC (Preocupação Menor), enquanto no estado do Rio Grande do Sul foi mantido na categoria VU (Vulnerável) na revisão da Lista Vermelha realizada em 2013 (FZB, 2013). Esta classificação no estado se deve principalmente à perda e alteração de seu habitat, da caça, comércio ilegal e surtos de febre amarela silvestre (BICCA-MARQUES, 2013; VEIGA, 2013).

Entre o final do ano de 2008 e o início de 2009 ocorreu um surto de febre amarela silvestre no Rio Grande do Sul, quando casos confirmados e suspeitos de epizootia em primatas não humanos provocaram a morte de 1.183 bugios-ruivos (*A. guariba clamitans*) em 153 municípios gaúchos, entre eles Santa Maria (ALMEIDA et al., 2012). Esse fato, se somado a outras ameaças potenciais para as populações de bugios-ruivos do estado (perseguição e caça, outras enfermidades, degradação e perda de habitat, entre outras) podem comprometer sua persistência em muitas áreas em médio prazo, como foi sugerido por VEIGA (2013).

A invasão dos habitats naturais por diferentes atividades humanas (desmatamento ou reflorestamento, queimadas, inundações, avanços de fronteiras para o desenvolvimento agrícola, e, inclusive, turismo ecológico e pesquisa) aumentam a frequência de contato do homem com primatas de vida livre, elevando os riscos de transmissão de doenças antropozoonóticas, em especial as arbovirose, ao homem ou aos primatas silvestres (DASZAK et al., 2000; ADAMS et al., 2001; GODOY et al., 2004; FLORES & TRAESEL,

2012). Tais doenças podem provocar a redução da abundância e densidade das populações e redução da abrangência geográfica das espécies de primatas não humanos (STONER, 1996; WALLIS & LEE, 1999). O alto potencial para transmissão cruzada de patógenos entre humanos, animais domésticos e primatas silvestres aumenta as chances de ocorrência de doenças novas ou pouco frequentes nestes animais, criando desafios para a conservação da biodiversidade e da saúde global (RACANIELLO, 2004; ANGONESI et al., 2009; KOWALEWSKI & GILLESPIE, 2009; KOWALEWSKI et al., 2011). Em bugios, por exemplo, a proximidade com habitações humanas pode estar favorecendo a infecção com parasitos comuns a humanos, cães e gatos, além de bovinos e suínos, bem como a transmissão cruzada de parasitos entre humanos e bugios (RACANIELLO, 2004; ANGONESI et al., 2009).

De acordo com CATÃO-DIAS (2003) há muito se sabe que enfermidades, especialmente as infecto-parasitárias, quando introduzidas em um novo habitat exercem impacto considerável sobre a manutenção da biodiversidade. Existem muitos relatos que descrevem os efeitos das doenças introduzidas em populações de animais em vida livre, como por exemplo, a transmissão do vírus da cinomose canina pelos cães utilizados nos trenós às focas caranguejeiras (*Leptonychotes weddelli*) habitantes das costas da Antártida, e o mesmo vírus, disseminado por cães domésticos, que teria provocado a extinção do cachorro do mato africano (*Lycaon pictus*) na região do Chobe National Park, Botswana (CATÃO-DIAS, *op cit.*). Porém, embora os parasitos estejam envolvidos em muitos processos ecológicos, influenciando a coexistência de espécies e o funcionamento dos ecossistemas, até recentemente a Ecologia de Comunidades ignorava os parasitos e a Parasitologia, por sua vez, ignorava o contexto ecológico no qual as doenças infecciosas se propagavam (HATCHER & DUNN, 2011).

Um aspecto já relatado é que características do habitat podem influenciar fortemente padrões de parasitismo em primatas de vida livre, como o aumento da prevalência de infecções em primatas que vivem em ambientes úmidos, quando comparado com ambientes áridos; ou ainda o corte seletivo e fragmentação de florestas que podem afetar a dinâmica primatas-parasitos de modo dramático (GILLESPIE, 2006; GILLESPIE & CHAPMAN, 2006). A degradação e fragmentação de florestas e o isolamento de populações faz com que os animais permaneçam em áreas restritas, aumentando a exposição e as possibilidades de infecção e reinfecção, resultando em aumento da prevalência e intensidade e, conseqüentemente, da mortalidade (STONER, 1996).

Para bugios mantidos em cativeiro, sabe-se que a água consumida pode ser fonte de infecção por protistas gastrintestinais (SILVA et al., 2009). GODOY et al. (2004) consideram que a maior parte dos parasitos (*Trichuris* sp., *Eimeria* sp. e *Trichostrongylus* sp.) encontrados em seu estudo pode estar relacionada com contaminação de alimentos ou água. As condições de cativeiro podem favorecer o aumento dos níveis de infecção devido ao stress e queda da imunidade dos animais, ou mesmo ao aumento do contato com outros indivíduos, com humanos e animais domésticos no período pós-quarentena (MULLER et al., 2000).

Nos ecossistemas naturais os parasitos desempenham um papel central, afetando a ecologia e evolução das interações entre espécies, o crescimento e regulação da população de hospedeiros e da biodiversidade da comunidade (HATCHER & DUNN, 2011). Assim, identificar os princípios gerais que regem a ocorrência e prevalência de parasitos é fundamental para o planejamento de conservação animal e proteção da saúde humana (KOWALEWSKI & GILLESPIE, 2009).

A ocorrência de infecções parasitárias no gênero *Alouatta* tem sido relatada por diferentes autores, mas apenas em poucas espécies e geralmente para animais de cativeiro (STONER & DI PIERRO, 2005), o que torna de grande relevância os estudos que objetivam diagnosticar os agentes potencialmente patogênicos que acometem esses animais e suas taxas de infecção em distintos habitats naturais.

O gênero *Alouatta* se alimenta basicamente com folhas, mas também frutos, flores, sementes e caules tenros de uma grande variedade de espécies (SIGRIST, 2012; FORTES, 2008). Sabe-se que a microbiota gastrointestinal realiza a degradação da celulose, contribuindo significativamente com a saúde e nutrição do animal e que em habitats degradados, onde há menor diversidade de fontes de alimentos, a diversidade da microbiota intestinal também é menor (AMATO et al., 2013).

As enterobactérias são microorganismos Gram negativos, aeróbicos, em forma de bastonetes, móveis por flagelos peritríquios, porém algumas são imóveis, com ou sem cápsula e fermentadoras de açúcar. São encontradas no intestino de animais e de humanos, eliminadas com as fezes que podem contaminar a água e o solo (SEGABINAZI, 2004). Entre essas estão as bactérias do gênero *Salmonella*, as quais têm grande importância dentro da Saúde Pública e Animal por serem reconhecidos agentes de zoonoses no mundo, estando estritamente relacionadas a processos entéricos e septicemias (CARVALHO, 2007).

O gênero *Salmonella* não faz parte da microbiota normal de macacos de vida livre, porém esses animais podem ser carreadores assintomáticos e a doença, normalmente esporádica, pode vir a ser epizootica (ANDRADE et al., 2010). Os sorotipos que já foram

isolados de primatas não humanos são *S. Enteritidis*, *S. Typhimurim*, *S. Choleraesuis*, *S. Anatum*, *S. Stanley*, *S. Derby*, *S. Oranienburg*, *S. Sandiego*, *S. Bareilly*, *S. Braenderup*, *S. Miami*, *S. Worthington*, *S. Manhattan*, *S. Newport*, *S. Sundsvall*, *S. Heidelberg* e *S. Javiana* (PAUL-MURPHY, 1993). Recentemente, a *S. Yoruba* (sorotipo considerado exótico no Brasil, mas um patógeno emergente na Europa) foi isolada em primata no Zoológico de Guarulhos - SP, sendo a possível fonte de infecção o contato com outros animais ou a ingestão de alimentos contaminados (KNÖBL et al., 2011).

A ingestão é a principal via de infecção na salmonelose, sendo as fezes a fonte de contaminação ao meio ambiente. Os microrganismos podem estar presentes nos alimentos, água e solo, ou outras superfícies contaminadas. Em solo úmido, água, fezes, alimentos e superfícies com matéria orgânica as salmonelas podem sobreviver por longos períodos. Animais portadores são fontes de infecção mais importantes que os doentes clínicos, uma vez que excretam as bactérias pelas fezes, na maioria das vezes, de forma intermitente, por meses ou anos. O desenvolvimento e a duração do estado de portador dependem da interação de fatores como sorotipo, quantidade de bactérias ingeridas, espécie e idade do animal infectado. Uma vez estabelecida a condição de portador, fatores estressantes como transporte, superpopulação, parto, infecções concomitantes ou administração de drogas imunossupressoras podem levar à ativação ou reativação da doença, ou à simples excreção bacteriana (QUINN, 2005; CARVALHO, 2007).

Cryptosporidium é um parasito protista cujo ciclo de vida envolve reprodução sexuada e assexuada dentro do mesmo hospedeiro (monoxeno). A transmissão ocorre por meio de material contaminado com fezes contendo oocistos, que são infectivos já no momento da excreção, e que podem ser ingeridos pelos hospedeiros susceptíveis. Infectam uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, causando diarreia e outras desordens entéricas (WEST et al., 2013) e os oocistos excretados por estes hospedeiros podem ser encontrados em nosso meio ambiente (SMITH & NICHOLS, 2010), sendo resistentes a desinfetantes comumente utilizados no tratamento da água de abastecimento e de recreação, constituindo um grande problema de saúde pública (MONTEIRO, 2011).

Existem poucos estudos na literatura evidenciando a ocorrência desse organismo em primatas de vida livre. Alguns apresentam resultados negativos, como WEST et al. (2013) que pesquisando 140 amostras de fezes de três espécies de primatas de vida livre da Amazônia Peruana, encontraram todos os resultados negativos, exceto para um macho juvenil. Estudos na África evidenciaram a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em primatas que habitam florestas fragmentadas, mas não em floresta contínua (*Cercopithecus ascanius* e *Procolobus*

*rufomitratu*s: Kibale National Park, Uganda; SALZER et al., 2007). Também demonstraram que o contato com humanos é determinante para a ocorrência desse protista em primatas (*Gorilla gorilla berengei*: Bwindi Impenetrable National Park, Uganda; NIZEYI et al., 1999; *Macaca sinica* e *Trachypithecus vetulus*; EKANAYAKE et al., 2006).

A disponibilidade incipiente de dados sobre parasitismo em bugios em diferentes áreas de estudo, somada à habilidade desses animais para sobreviver em ambientes modificados e em crescente contato com comunidades humanas faz desses animais modelos ideais para estudar a dinâmica da transmissão de doenças infecciosas entre primatas silvestres, humanos e animais domésticos (KOWALEWSKI & GILLESPIE, 2009). Como forma de aumentar o conhecimento sobre os primatas e seus agentes infecciosos no contexto da fragmentação de habitat, o objetivo principal deste trabalho foi verificar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae, com ênfase em *Salmonella* spp., e do protista *Cryptosporidium* sp. em *Alouatta guariba clamitans* no Campo de Instrução de Santa Maria e seu entorno, além de procurar identificar os fatores ecológicos e ambientais que melhor expliquem a ocorrência desses agentes infecciosos nas populações de bugios.

A área de estudo reúne, em um mesmo local, bugios, humanos e animais domésticos, somando-se a isso ainda a questão da fragmentação de habitat e o surto de febre amarela silvestre registrada em 2008/2009, sendo, portanto, uma área ideal para a realização deste trabalho.

2 CAPÍTULO I

Ocorrência de agentes patogênicos em fezes de bugios-ruivos, *Alouatta guariba clamitans* (Primates), em uma área impactada pela febre amarela

Laurete Murer^{I*}, Luan Machado^I, Marília Baialardi Ribeiro^I, Maristela Lovato^I,
Vanessa Barbisan Fortes^{II}

RESUMO

O bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) é classificado como vulnerável no Rio Grande do Sul devido principalmente à perda e fragmentação de habitat e ao recente surto de febre amarela silvestre (2008/2009). Uma vez que doenças infecciosas são reconhecidamente causadoras de declínios populacionais e podem representar uma ameaça adicional aos bugios, o presente estudo objetivou verificar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae, com ênfase em *Salmonella* spp., e do protista *Cryptosporidium* sp. em *Alouatta guariba clamitans* de vida livre, no Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) e seu entorno, além de procurar identificar os fatores ecológicos e ambientais (tamanho do grupo, densidade populacional de bugios, tamanho do fragmento, distância para o agrupamento humano mais próximo, distância para o curso d'água mais próximo, temperatura média mensal e pluviosidade mensal acumulada) que melhor expliquem a riqueza desses agentes infecciosos nas populações de bugios. Durante os meses de janeiro/2013 a outubro/2013 foram coletadas 61 amostras de fezes frescas do ambiente. Nas amostras analisadas foram detectadas bactérias da família Enterobacteriaceae, como *E. coli* e *Yersinia pestis*, porém, com as técnicas empregadas, as amostras foram negativas para *Salmonella* spp. e *Cryptosporidium* sp.. As variáveis ambientais analisadas não tiveram influência sobre a riqueza de enterobactérias. Tendo em vista que as populações de bugios do Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) já se encontram severamente reduzidas pela febre amarela, e que alguns dos organismos encontrados nesse estudo apresentam potencial patogênico, podendo interagir com outros fatores e também afetar a dinâmica populacional dos bugios, a continuidade do monitoramento da saúde destas populações é imprescindível, tanto para a melhor compreensão dos mecanismos das doenças, quanto para a conservação dessa espécie em nível regional.

Palavras-chave: Primatas neotropicais, protistas, enterobactérias, zoonoses

^I Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Prédio 44, Camobi, Santa Maria, RS, Brasil. 97105-900. Telefone: (55) 3220-8072. E-mail: laumurer@hotmail.com *Autor para correspondência.

^{II} Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas CESNORS/ Universidade Federal de Santa Maria

ABSTRACT

Brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) are classified as Vulnerable in the state of Rio Grande do Sul due especially to the loss and fragmentation of their natural habitats, and also due to deaths caused by the recent outbreak of sylvatic yellow fever (2008/2009). Since infectious diseases are known to cause population declines and may represent an additional threat to the howlers. This study aimed at verifying the occurrence of Enterobacteriaceae (in special, *Salmonella* spp.) and *Cryptosporidium* sp. in feces of free-ranging brown howler monkeys at Santa Maria, Rio Grande do Sul, and identifying the ecological and environmental factors (group size, howler population density, fragment size, distance to the nearest human settlement, distance to the nearest river, mean monthly temperature and accumulated monthly rainfall) that better explain the richness of such infectious agents in the populations of brown howler monkeys. From January to October 2013 we collected 61 fresh fecal samples from the environment. Bacteria from the Enterobacteriaceae family, such as *E. coli* and *Yersinea pestis* were found in samples collected from the environment. However, due to the techniques employed, the samples were negative for *Salmonella* spp and *Cryptosporidium* sp.. Environmental variables did not influence the richness of the Enterobacteriaceae. Considering that the populations of brown howler monkeys at Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) were severely reduced by the recent outbreak of yellow fever, and that some organisms detected in this study are potentially pathogenic and may interact with other factors affecting howler population dynamics, it is essential to monitor the health of these populations, both for better understanding diseases mechanisms, and for the conservation of this species at a regional level.

Key words: Neotropical primates, protist, enterobacteria, zoonosis

INTRODUÇÃO

Entre os primatas neotropicais, o gênero *Alouatta* tem a mais ampla distribuição geográfica na América Latina, ocorrendo desde Yucatán, México até o Rio Grande do Sul e em pequena porção do nordeste da Argentina (PRINTES et al., 2001; SERIO-SILVA et al., 2005; BICCA-MARQUES, 2013). O bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) é classificado como Vulnerável no Rio Grande do Sul devido, principalmente, à perda e alteração de habitat além da caça, comércio ilegal de mascotes e surtos de febre amarela silvestre (FZB, 2013).

O impacto das doenças, em especial as infecto-parasitárias, sobre a preservação da biodiversidade tem recebido a cada dia mais atenção por parte de técnicos e pesquisadores envolvidos na questão conservacionista. A avaliação do risco de ocorrência de uma enfermidade depende do conhecimento das informações epidemiológicas dos patógenos e de suas relações com hospedeiros potenciais (CATÃO-DIAS, 2003). Agentes potencialmente patogênicos tais como enterobactérias e protistas podem ser importante causa de enfermidades para animais silvestres (SALZER et al., 2007; KNÖBL et al., 2011).

A família Enterobacteriaceae, formada por bacilos Gram negativos, contém mais de 28 gêneros e de 80 espécies. Os principais patógenos de animais são *Escherichia coli*, espécies de *Salmonella* e espécies de *Yersinia* que podem causar doenças entéricas e sistêmicas. Tem distribuição mundial, habitam o trato intestinal de animais e humanos e contaminam vegetação, solo e água. Espécies de *Proteus*, *Enterobacter aerogenes* e *Klebsiella pneumoniae* são patógenos oportunistas (QUINN et al., 2005).

As salmoneloses são as doenças infecciosas mais comuns e acometem aproximadamente 10-15% de primatas não humanos mantidos em cativeiro. Representam cerca de 1/3 de mortes espontâneas em macacos jovens. Surtos têm sido relatados em primatas não humanos, em zoológicos, favorecidos pela contaminação com fezes de roedores e pássaros. A *S. Typhimurium*, *S. Stanley* e *S. Enteritidis* são os sorotipos mais comumente isolados de primatas não humanos (PAUL – MURPHY, 1993).

Outra Enterobactéria importante é a *Escherichia coli* que pode estar presente na flora intestinal normal de primatas não humanos. Muitas linhagens de baixa virulência podem causar infecções oportunistas se localizadas em ambiente extra-intestinal como glândula mamária e trato urinário. Linhagens patogênicas possuem fatores de virulência que permitem a colonização de superfícies mucosas e consequente produção de doença (QUINN et al., 2005). Sinais clínicos observados em macacos incluem hemorragia da mucosa do trato

gastrointestinal, linfonodos mesentéricos congestos e aumentados, e edema e hemorragia pulmonar. Há diferentes cepas de *E. coli* que são classificadas de acordo com as lesões produzidas (BURGOS-RODRIGUEZ, 2011).

Entre as enteroparasitoses de importância para a saúde animal e humana, as coccidioses se destacam por representarem problema em casos de superpopulação ou destruição de hábitat (LALLO & BONDAN, 2006; MALTA & LUPPI, 2007). Os parasitos coccídeos pertencem a duas famílias: Eimeriidae (gêneros *Ciclospora*, *Eimeria* e *Isospora*) e Cryptosporidiidae (gênero *Cryptosporidium*) (MALTA & LUPPI, 2007). *Cryptosporidium* sp. é um protista de distribuição cosmopolita, que infecta humanos, animais domésticos e muitos vertebrados selvagens (KVAC, M. et al., 2014; LALLO & BONDAN, 2006). Criptosporidiose tem sido descrita em animais e humanos, sobretudo em crianças, adultos não-imunes e indivíduos imunodeficientes, causando diarreia, sendo uma conhecida zoonose. As formas infectantes são os oocistos, os quais são veiculados pela água sendo fecal-oral a principal forma de infecção, podendo ocorrer também de humano para humano, de animal para humano e de humano para animal (SODRÉ & FRANCO, 2001; MONTEIRO, 2011; SALYER et al., 2012).

Animais selvagens podem abrigar suas próprias espécies adaptadas e que podem não ser infecciosas para os seres humanos. Enquanto aumenta a amplitude dos estudos moleculares, é necessário definir o potencial zoonótico dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. encontrados em nosso meio ambiente (SMITH & NICHOLS, 2010). Utilizando métodos moleculares, SALYER et al. (2012) realizaram estudos envolvendo pessoas, gado bovino e primatas não humanos em uma região do Kibale National Park, Uganda, concluindo que o *Cryptosporidium* sp. pode ser transmitido entre espécies, como resultado de ações antropogênicas sobre a floresta, embora o parasito não pareça ter efeitos relevantes sobre a saúde humana ou animal, talvez devido ao permanente baixo nível de excreção e à imunidade adquirida pelos hospedeiros. A proximidade com humanos também é relatada como responsável pela ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em *Gorilla gorilla berengei* (NIZEYI et al., 1999), *Macaca sinica* e *Trachypithecus vetulus* (EKANAYAKE et al., 2006).

Os primatas são particularmente vulneráveis às infecções parasitárias porque muitas espécies vivem em grupos caracterizados por interações sociais frequentes que facilitam a transmissão de parasitas entre os indivíduos, podendo ser mais prevalente em populações que habitem em ambientes modificados por humanos (TREJO-MACÍAS et al., 2007). Vários estudos indicam que em habitats fragmentados, as populações de primatas estão sujeitas a maior contaminação por parasitos nematóides de humanos e animais domésticos, que

populações em habitats contínuos (CHAPMAN et al., 2005, 2006; GILLESPIE & CHAPMAN, 2006). Estudos recentes demonstram que padrões de perturbação de habitat, incluindo corte seletivo e fragmentação de florestas podem afetar a dinâmica primata-parasita de maneira dramática (GILLESPIE 2006). São conhecidos vários estudos sobre esses efeitos relacionados com parasitos e em outros primatas, porém, para enterobactérias e para o primata em estudo, ainda pouco se sabe.

Assim, como forma de aumentar o conhecimento sobre os primatas e seus agentes infecciosos no contexto da fragmentação de habitat, o objetivo principal deste trabalho foi verificar a ocorrência de bactérias da família Enterobacteriaceae, com ênfase em *Salmonella* spp., e do protista *Cryptosporidium* sp. em *Alouatta guariba clamitans* no Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) e seu entorno. Além disso, procurou-se identificar os fatores ecológicos e ambientais que melhor expliquem a riqueza desses agentes infecciosos nas populações de bugios, elegendo-se as seguintes variáveis explicativas: o tamanho do grupo, a área do fragmento, a densidade de bugios, a proximidade de núcleos humanos, a proximidade com cursos d'água, a temperatura ambiente e a pluviosidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Área do estudo

Esse estudo foi realizado no Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) (29°43'-29°44'S; 53°42'-53°44'W), uma área com 5.876 ha pertencente ao Ministério da Defesa (Exército Brasileiro) localizada em Santa Maria, estado do Rio Grande do Sul, e em áreas do entorno: Balneário Passo do Verde (29°56'0.28"S; 53°42'40.28"O), distritos de São José da Porteira (29°56'9.77"S; 53°44'39.89"O) e Pains (29°48'33.62"S; 53°42'5.89"O), as quais estão situadas em uma região de transição entre a Savana e a Floresta Estacional Decidual, onde a fisionomia natural da vegetação é representada por fragmentos florestais entremeados por campos nativos (TEIXEIRA et al., 1986).

No interior do CISM a presença humana é pequena, estando limitada a períodos de manobras militares e manejo do gado bovino. Segundo informações fornecidas pelo comando do CISM, durante o período de coleta de dados desse trabalho cerca de 1.200 militares circularam nessa área, porém nas áreas amostradas o número foi muito pequeno (cerca de 60 militares em dois fragmentos) e por muito poucos dias (sete dias alternados). Já as áreas do

entorno são propriedades particulares que diferem quanto à intensidade de presença humana. Enquanto nos distritos de Pains e São José da Porteirinha as áreas de amostragem provavelmente tenham acesso restrito somente aos donos da propriedade e seus funcionários, no Balneário Passo de Verde existe uma vila com residências de veraneio e os grupos de bugios dos quais foram coletadas as amostras circulam pelas árvores dos pátios dessas residências.

Amostragem

Para as coletas, foram realizadas saídas de campo, quando se procurava localizar os grupos ao nascer do sol e observá-los até que defecassem, no intuito de coletar amostras por indivíduos. Em razão da dificuldade de encontrar os bugios em algumas áreas, muitas vezes não se conseguia observar a defecação. Devido a isso, era realizada uma varredura no ambiente e sempre que se encontravam fezes recentes, essas também eram coletadas, embora nesse caso identificadas apenas por grupo e não por indivíduo (Figura 1. A). As amostras eram recolhidas e acondicionadas em frascos estéreis, tendo-se o cuidado de desprezar as porções de fezes em contato com o solo e com o ambiente, coletando-se a porção mais central do bolo fecal (Figura 1. B).



Figura 1 – A. Fezes recentes encontradas no ambiente (Fonte: MURER, 2013). B. Coleta de amostras (Fonte: MURER, 2013).

O material era conservado em bolsa térmica, com gelo, até chegar ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Animais Silvestres (NEPAS) do Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias (LCDPA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) para análise.

Durante o período de 12 de janeiro de 2013 a 16 de outubro de 2013 foram coletadas 61 amostras de fezes de bugios-ruivos de vida livre, procedentes de 14 grupos os quais são

habitantes da Sede, de quatro fragmentos florestais do CISM, além de áreas próximas (distritos de São José da Porteira e Pains, e Balneário Passo do Verde) (Figura 2). No CISM, embora a área seja extensa e com muitos fragmentos florestais, segundo VEIGA (2013) após o recente surto de febre amarela em 2008, os bugios só permaneceram em seis fragmentos, tendo sido avistados apenas 61 indivíduos em 58 dias (431 horas) de amostragem. Em nossas amostragens foram localizados bugios e/ou fezes em quatro fragmentos florestais, além da Sede do CISM. Para aumentar o número de amostras, partiu-se para buscas em áreas próximas.

Retornamos aos mesmos locais para coletas nos meses quentes (estações primavera e verão: outubro a março) e frios (estações outono e inverno: abril a setembro), com o objetivo de comparar resultados e verificar a possibilidade de maior eliminação do agente em determinado período do ano.

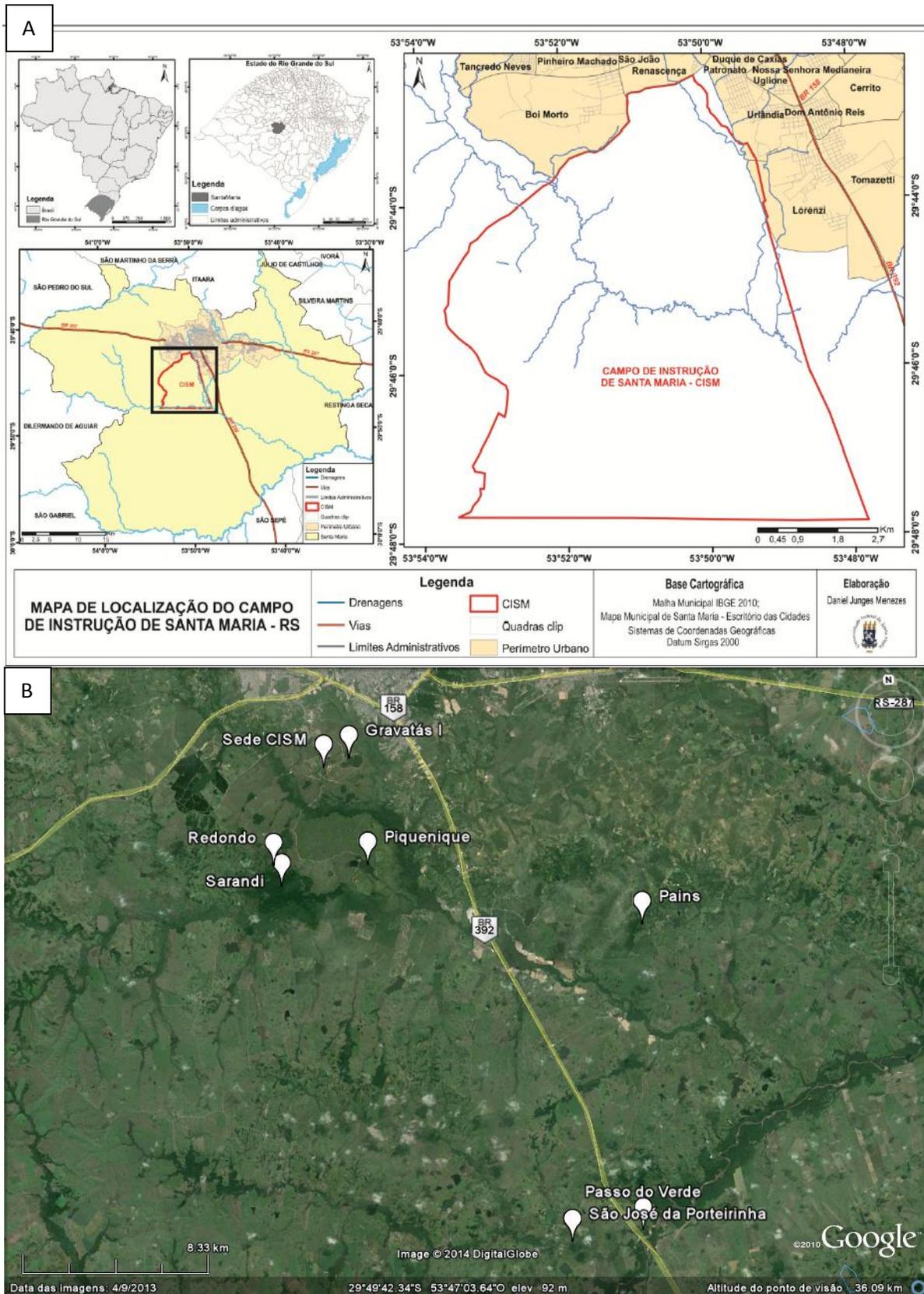


Figura 2 – A. Localização do Campo de Instrução de Santa Maria (CISM) (Fonte: VEIGA, 2013). B. Locais de coleta de amostras no CISM (Sarandi, Redondo, Sede, Gravatás I e Piquenique) e entorno (Pains, São José da Porteirainha e Passo do Verde) (Fonte: Google Earth, 4/9/2013).

Pesquisa de bactérias da família Enterobacteriaceae

No LCDPA, foram realizadas análises microbiológicas qualitativas de 53 amostras segundo a metodologia para *Salmonella* spp. (BRASIL, 1995 e BRASIL 2003).

As amostras foram colocadas em caldo de pré-enriquecimento não seletivo (Água peptonada a 1%) e incubadas em estufa a 37°C/24 h. Após esse período, 1 mL do caldo foi transferido aos tubos contendo 9 mL de caldo Tetracionato (TT) acrescido de solução verde brilhante e iodo-iodeto e mais 100 µL aos tubos contendo 9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), sendo incubadas novamente em estufa a 42°C/24 h. A partir desses caldos foram semeadas em placas com meio Ágar Verde Brilhante (VB) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Após 24 h em estufa a 37°C, as colônias foram submetidas às seguintes provas bioquímicas: Ágar três açúcares e ferro (TSI), Ágar lisina-ferro (LIA), meio Sulphyde Indol Motility (SIM), Caldo uréia e Citrato de Simmons. Após incubação a 37°C/24 h foi realizada a leitura e interpretação das provas bioquímicas de acordo com MACFADDIN (1999). Para amostras suspeitas realizava-se a série bioquímica completa, sorologia poli “O” e remessa ao laboratório de Enterobactérias Fiocruz para classificação final.

Pesquisa de *Cryptosporidium* sp.

Para pesquisa de *Cryptosporidium* sp. foi preparado, para cada amostra, um esfregaço fino com as fezes. Após secar em temperatura ambiente, foi fixado em uma chama e em seguida foi coberto com uma solução comercial de fucsina carbólica de Ziehl-Neelsen por dois minutos. Depois disso foi lavado com água corrente e a seguir, com álcool ácido (3% HCl e 70% etanol) até descorar e ficar num tom levemente rosado. A lâmina foi agitada para eliminar o líquido e coberta com solução comercial de azul brilhante a 0,5% por dois minutos. Novamente foi lavada com água corrente e seca com papel absorvente. Foi examinada em microscópio óptico em aumento de 400x. A observação de estruturas suspeitas de oocistos (coradas em vermelho sobre o fundo que fica esverdeado) levava a exame mais detalhado com óleo de imersão em 1000x.

As amostras que ainda restavam no laboratório, conservadas em formol 10%, foram enviadas a um laboratório comercial especializado para pesquisa de *Cryptosporidium* sp. pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Análise estatística

Para análise da influência da paisagem sobre a incidência de agentes infecciosos, foram usados Modelos Lineares Generalizados Mistos para avaliar a influência das variáveis preditoras sobre a riqueza de enterobactérias. O modelo foi ajustado à distribuição de Poisson com função de ligação Identidade. As variáveis preditoras selecionadas foram temperatura média mensal (TMM), pluviosidade mensal acumulada (PLUV), distância para núcleos humanos mais próximos (DHUM), distância para corpos d'água mais próximos (DAGUA), área do fragmento (AREA), densidade populacional de bugios (DENS) e tamanho do grupo (TGRUPO). A seleção dos modelos candidatos foi feita através do critério de Máxima Quasi-Verossimilhança Penalizada (PQL). Foi considerada a identidade do fragmento e a identidade do grupo de onde provieram as amostras como fatores aleatórios e especificou-se uma estrutura aninhada para os mesmos. Iniciou-se com o modelo completo (incluindo todas as variáveis possivelmente explicativas), e em etapas seguintes se retirou aquelas que foram menos relevantes. Todos os modelos testados pressupõem a existência de autocorrelação espacial entre os fragmentos. Todas as análises foram realizadas através do programa R (R CORE TEAM, 2014).

Os dados da temperatura ambiente média mensal e da pluviosidade mensal acumulada registrados durante os meses de coleta foram obtidos a partir da Rede do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia, no sítio <http://www.inmet.gov.br>).

Os locais de coleta possuem diferentes características, as quais foram observadas e medidas através do Google Earth sobre os itens: área do fragmento, distância para o núcleo humano mais próximo (DNH); distância para o curso d'água mais próximo (DCA); densidade de bugios (D) e tipo de matriz.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aspecto das fezes variou ao longo do período de coletas, principalmente quanto à consistência que, na primavera era mais mole, o que se explica pelo fato de os bugios serem predominantemente folívoros, mas também se alimentarem de flores e frutos. Sua alimentação varia de acordo com o que a natureza oferece em diferentes estações do ano, por consequência as fezes também variam sua aparência (MIRANDA & PASSOS, 2004). Acredita-se que seus recursos hídricos sejam supridos pela alimentação com folhas novas e frutos. Nos meses em

que são encontradas folhas maduras, os bugios procuram água nas briófitas das árvores, e em períodos muito secos, descem das árvores em busca de água (MIRANDA et al., 2005).

Pesquisa de bactérias da família Enterobacteriaceae

Do total de 53 amostras analisadas, nenhuma foi positiva no exame microbiológico para *Salmonella* spp.. Os meios seletivos/indicadores ágar verde-brilhante (VB) e ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) foram utilizados para diferenciar salmonelas de outros enteropatógenos, já que no ágar VB as colônias de salmonela e o meio ao redor desenvolvem coloração vermelha e no ágar XLD as colônias da maioria dos sorotipos de salmonela são vermelhas com centros pretos (QUINN et al., 2005). Em nosso estudo não foram observadas colônias com as características fenotípicas descritas acima e foi confirmada depois, pelos testes bioquímicos, a ausência de *Salmonella* spp..

O primeiro registro de infecção por *Salmonella* spp. em bugios-ruivos de cativeiro ocorreu em 2008, quando das 32 amostras de fezes analisadas, apenas uma foi positiva para o agente pesquisado (SOUZA JÚNIOR et al., 2008). Em estudo realizado com 28 *Cebus* spp. mantidos em Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS/IBAMA) do Nordeste do Brasil, FERREIRA et al. (2012) obtiveram cinco amostras positivas para *Salmonella* spp. e identificaram três sorovares: Infantis, Panama e Newport. Em bugios existem poucos estudos sobre a microbiota bacteriana e seu potencial patogênico (CORONADO et al., 2004) e em nossa pesquisa bibliográfica não encontrou-se relatos da presença destes agentes em animais de vida livre.

Outras enterobactérias patogênicas foram detectadas, sendo *E. coli* a que prevaleceu, além de *Yersinia pestis*. Dentre os patógenos oportunistas, *Enterobacter aerogenes* prevaleceu e *Klebsiella pneumoniae* foi detectada em menor percentual de amostras (Tabela 1). Estes achados são importantes porque se sabe que em condições de stress, os agentes encontrados podem se manifestar clinicamente nos bugios, causando doenças que podem levar à morte e contribuindo com o declínio da população.

A riqueza média de enterobactérias foi de 3,11 espécies por amostra, variando de uma a sete espécies (Desvio padrão= 1,5 espécies). Apenas duas amostras, procedentes do Balneário Passo do Verde, contiveram uma única espécie de bactéria e a moda foi de duas espécies.

Tabela 1 – Resultados dos testes bioquímicos presuntivos para as 53 amostras de fezes de bugios analisadas a partir de dois meios de cultura (Xilose Lisina Desoxicolato e Ágar Verde Brilhante), número (N) e percentual (%) de amostras onde foram identificadas as enterobactérias.

Meio de cultura	XLD				VB			
	Meses quentes		Meses frios		Meses quentes		Meses frios	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>E. coli</i>	27	50,94	15	28,30	31	58,49	17	32,07
<i>Enterobacter aerogenes</i>	18	33,96	11	20,75	30	56,60	8	15,09
<i>Cedecea</i> sp.	10	18,87	2	3,77	8	15,09	0	0
<i>Yersinea pestis</i>	5	9,43	0	0	0	0	0	0
<i>Providencia stuartii</i>	4	7,55	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiela oxytoca</i>	3	5,66	1	1,88	2	3,77	1	1,88
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	3	5,66	1	1,88	4	7,55	0	0
<i>Citobacter freundii</i>	3	5,66	2	3,77	2	3,77	0	0
<i>Enterobacter gergoviae</i>	2	3,77	0	0	1	1,88	0	0
<i>K. pneumoniae</i> ssp. <i>Pne.</i>	2	3,77	0	0	1	1,88	0	0
<i>Serratia odorifera</i>	2	3,77	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,88	2	3,77	2	3,77	0	0
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1,88	0	0	2	3,77	0	0
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1,88	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	1,88	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	1,88	0	0	0	0	0	0
<i>Citobacter amalonaticus</i>	1	1,88	0	0	0	0	0	0
<i>Citobacter diversus</i>	1	1,88	0	0	0	0	0	0
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	0	0	2	3,77	0	0
<i>Serratia</i> sp.	0	0	0	0	1	1,88	0	0

Pesquisa de *Cryptosporidium* sp.

Por meio da microscopia de luz não foram observadas estruturas compatíveis com oocistos de *Cryptosporidium* sp. nas 53 amostras de fezes de bugios. Destas, as 23 amostras enviadas para pesquisa de *Cryptosporidium* sp. por PCR, tiveram resultado inconclusivo.

LALLO & BONDAN (2006) observaram em seus estudos que o diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. pela a técnica de PCR permitiu a detecção de um número maior de casos positivos do que a microscopia de luz, porém no presente estudo não foi detectado material genético compatível com *Cryptosporidium* sp. nas amostras analisadas por PCR, provavelmente pelo fato de as mesmas estarem conservadas em formol 10%. GILBERT et al.(2007) e SCORSATO & TELES (2011) ressaltam que a técnica da PCR não pode ser utilizada como único método de diagnóstico, devendo ser observada a presença de falsos negativos e que é indispensável analisar a qualidade e o estado de conservação das amostras, uma vez que a fixação com formaldeído, a mais utilizada para coleta de amostras a campo, resulta no enovelamento de proteínas nucleares, formação de ligações entre proteínas e DNA e fragmentação do último, sendo capaz de alterar o diagnóstico molecular.

Acredita-se que os casos clínicos de criptosporidiose em animais selvagens sejam consequência de intervenção humana (MALTA & LUPPI, 2007), o que foi corroborado por NIZEYI et al. (1999) em um estudo com gorilas da montanha no Bwindi Impenetrable National Park, Uganda: a maioria das infecções (73%) por *Cryptosporidium* sp. ocorreram em gorilas habituados com humanos, comparados aos não habituados, devido principalmente ao crescimento do ecoturismo. Em nosso estudo esse patógeno não foi detectado possivelmente porque a presença humana é baixa na maioria das áreas e, além disso, nas áreas com maior presença humana (Balneário Passo do Verde e sede do CISM) existe saneamento básico. Contudo, a continuidade dos estudos se faz necessária para o monitoramento desta condição de ausência de *Cryptosporidium* sp..

Efeitos de fatores ambientais e demográficos e sobre a riqueza de enterobactérias

Os registros para a temperatura ambiente média mensal durante os meses de coleta variaram entre 30,27°C em janeiro a 18,90°C em junho de 2013 e a pluviosidade mensal acumulada variou entre 188,6 mm em março a 69.2 mm em setembro de 2013. Os valores das outras variáveis explicativas utilizadas no cálculo estatístico estão apresentados na Tabela 2.

O modelo utilizado para a análise estatística selecionado incluiu apenas temperatura média mensal (TMM), pluviosidade mensal acumulada (PLUV), distância para corpos d'água mais próximos (DAGUA), área do fragmento (AREA) e densidade populacional de bugios (DENS) como variáveis explicativas, porém nenhuma delas foi significativa (Tabela 3). Os resultados negativos para as variáveis ambientais preditoras sugerem que estes microorganismos estejam presentes naturalmente na flora intestinal dos bugios, independente

da condição ambiental a que estejam sujeitos. Por ser este o primeiro trabalho com enterobactérias para essa espécie em vida livre, não se tem parâmetros para comparação. As bactérias de caráter oportunista podem aumentar em número e causar doenças caso ocorra algum desequilíbrio na condição fisiológica do animal (ex.: stress e queda de imunidade, desequilíbrio em outros constituintes normais da flora intestinal). Em seu estudo, AMATO et al. (2013) verificaram que bugios que ocupam habitats de pior qualidade consomem dietas menos diversas e correspondentemente tem microbiota intestinal menos diversa, e que esse desequilíbrio na flora intestinal pode estar relacionado à queda de imunidade e à maior predisposição para a instalação de agentes patogênicos.

Tabela 2 – Características dos locais de estudo e da população de *A. guariba clamitans*, DNH= distância para o núcleo humano mais próximo; DCA= distância para o rio mais próximo; D= densidade de bugios; T1= trilha um; T2= trilha dois; B= borda.

Local de coleta	Área (ha)	DNH(m)	DCA (m)	D(ind/ha)	Tipo de matriz	
Sarandi	977,30	T1	3.189	3.088	0,2	pastagem
		T2	2.525	3.513	0,2	pastagem
		B	1.856	3.781	0,2	pastagem
Sede	2,46	0	2.200	2,4	pastagem	
Gravatás I	12,10	1.000	1.130	0,2	pastagem	
Capão Redondo	5,70	2.500	3.160	1,6	pastagem	
Capão do Piquenique	38,30	4.800	1.490	0,9	pastagem	
Balneário Passo do Verde	24,90	0	190	0,7	lavoura de arroz	
São José da Porteira	-	2.270	2.796	-	lavoura de arroz	
Pains	68,47	607	3.513	-	Pastagem	

Tabela 3 – Resumo dos efeitos incluídos no Modelo Linear Generalizado Misto explicando a riqueza de enterobactérias por amostra (Distribuição de Poisson com função de ligação Identidade).

Variável	Graus de				
	Estimativa	Erro Padrão	Liberdade	t	p
(Intercepto)	-0.7376466	0.7280298	27	-10.132.093	0.3200
Temperatura Média Mensal	0.0615899	0.0327728	27	18.793.014	0.0710
Pluviosidade	-0.0007124	0.0046786	27	-0.1522754	0.8801
Distância p/ corpos d'água	0.0001095	0.0001697	3	0.6452685	0.5647
Área do fragmento	-0.0000356	0.0005273	3	-0.0674400	0.9505
Densidade de bugios	0.0315198	0.1712822	3	0.1840227	0.8657

t = valor do teste de significância; p= nível de significância do teste

Em grupos com maior número de indivíduos, o contato social entre seus membros e a circulação de um maior número de indivíduos pelas mesmas árvores e rotas de deslocamento poderia favorecer a contaminação cruzada entre eles. Estudos realizados com *Alouatta pigra* no México indicaram que a prevalência de parasitos está associada ao tamanho médio do grupo, mas não à densidade populacional (TREJO-MACÍAS et al., 2007). FREELAND (1979, 1980) *apud* GILLESPIE (2006) relatam que em *Lophocebus albigena* e *Cercopithecus mitis* o tamanho do grupo se relaciona de forma positiva com o número de infecções por protistas que cada grupo manteve e em *Lophocebus albigena* a existência de relação positiva do tamanho do grupo também com a prevalência de infecções por protistas. CÔTÉ & POULIN, 1995 *apud* GILLESPIE (2006) realizaram uma meta-análise de uma grande variedade de relações parasita-hospedeiro em animais sociais obtendo uma correlação positiva entre intensidade de infecção e tamanho do grupo. Porém, em nosso estudo, essa foi a variável com menor poder explicativo, e então excluída do modelo inicial.

A distância até o núcleo humano mais próximo ou até cursos d'água não teve influência. Isso ocorreu provavelmente porque a maior parte das amostras foi coletada em fragmentos muito distantes de tais áreas. Assim, a circulação de pessoas provenientes de tais núcleos é bastante improvável na maioria das áreas amostradas. Da mesma forma, as chances de circulação de animais (ex.: graxains-do-campo (*Psedalopex gymnocercus*), ou mesmo bovinos), nos fragmentos amostrados, que tenham se contaminado com enterobactérias ao beber água desses rios é bastante remota. É provável que as grandes distâncias não interfiram na disseminação das bactérias. Ainda, os dois fragmentos onde há circulação intensa de

pessoas (Balneário Passo do Verde e Sede do CISM) dispõem de saneamento básico e por isso os bugios não entram em contato com dejetos humanos.

Da mesma forma, contrariando as expectativas, a densidade de bugios-ruivos nas áreas amostradas não influenciou a riqueza de enterobactérias. Alguns pesquisadores afirmam que a densidade do hospedeiro é de fundamental importância para as taxas de infecção de parasitos transmitidos diretamente, estando positivamente correlacionada com a prevalência e a diversidade de parasitos, porém, estudos que analisaram simultaneamente a densidade de primatas e características do habitat em relação à prevalência de parasitos revelaram que as características do habitat podem ser melhores preditoras de infecções parasitárias. Estudos futuros são necessários para distinguir de forma mais sistemática os efeitos da densidade do hospedeiro e das características do habitat (GILLESPIE, 2006).

Dados de VEIGA (2013) mostram que as densidades de bugios em todos os fragmentos amostrados caíram significativamente após o último surto de febre amarela silvestre (2008/2009). Desse modo entende-se que em nenhum fragmento as densidades encontradas atualmente sejam altas o suficiente para interferir de forma decisiva na riqueza de enterobactérias encontrada nos indivíduos amostrados. Adicionalmente, sob condições de baixa densidade há provavelmente menor sobreposição de áreas domiciliares entre os grupos remanescentes, de modo que também se reduz a transmissão de patógenos entre grupos.

Apesar da aparente diferença entre o número total de enterobactérias identificadas nos meses quentes e frios, no presente estudo a análise estatística revelou que a pluviosidade mensal acumulada e as temperaturas médias não influenciaram os resultados, embora as temperaturas tenham se aproximado da significância estatística ($p=0,07$). Embora a variação da temperatura média entre os meses de coleta não tenha sido tão extrema, ficando dentro da faixa de temperatura ótima de crescimento das enterobactérias (que é de 22°C a 37°C), esse resultado sugere uma influência sutil desse fator. Temperaturas mais elevadas poderiam ocasionar uma proliferação mais rápida das enterobactérias, aumentando as chances de contaminação dos bugios. Porém, GILLESPIE (2006), sugere que evidenciar padrões gerais de infecção sazonal em primatas é equívoco, porque há padrões claros de infecções sazonais para algumas espécies de primatas e nenhum padrão claro para outras. Além disso, ressalta-se que a análise estatística considerou apenas a riqueza de espécies de enterobactérias e não o número de colônias obtidas a partir de cada amostra.

CONCLUSÕES

No presente estudo foram detectadas vinte espécies de enterobactérias, algumas delas patogênicas, como *Escherichia coli* e *Yersinia pestis* e outras com potencial patogênico, como *Enterobacter aerogenes* e *Klebsiella pneumoniae*, mas *Salmonella* spp. não foi isolada de nenhuma amostra, bem como não foi diagnosticada a presença do protista *Cryptosporidium* sp.

Os fatores ambientais e ecológicos analisados não se mostraram influentes sobre a riqueza de enterobactérias, exceto pela temperatura que ficou próxima da significância.

Considera-se de extrema importância a continuidade do monitoramento dos grupos pelos próximos anos, a fim de avaliar os fatores de risco ligados a infecções por *Cryptosporidium* sp. e enterobactérias nos bugios-ruivos, e avaliar o possível impacto desses agentes sobre sua saúde e sobrevivência.

Agradecimentos: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de um ano de bolsa de mestrado à autora Laurete Murer. À equipe do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Animais Silvestres (NEPAS/LCDPA) da Universidade Federal de Santa Maria pela parceria no processamento das amostras.

REFERÊNCIAS

AMATO, K. R. et al. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. **The International Society for Microbial Ecology**, v. 7, p. 1344-1353, 2013.

BICCA-MARQUES, J. C. Primates. In: WEBER, M. M. et al. (Orgs). **Mamíferos do Rio Grande do Sul**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2013, p. 111-113.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa 126 de 03 de novembro de 1995**. Normas de credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico de Salmoneloses aviárias (*S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Thyphimurium*). In: Diário da República Federativa do Brasil. Brasília, 1995.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa SDA N.62, de 26 de agosto de 2003**. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. In: Diário da República Federativa do Brasil. Brasília, 2003.

BURGOS-RODRIGUEZ, A. G. Zoonotic Diseases of Primates. **Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice**, v. 14, p. 557-575, 2011.

CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3. p. 32-34, 2003.

CHAPMAN, C. A. et al. Primates and the ecology of their infectious diseases: How will anthropogenic change affect host-parasite interactions? **Evolutionary Anthropology**, v. 14, p. 134-144, 2005.

CHAPMAN, C. A. et al. Life on the Edge: Gastrointestinal parasites from the forest edge and interior primate groups. **American Journal of Primatology**, v. 68, p. 397-409, 2006.

CORONADO, M. M. G. et al. Flora bacteriana oral y su perfil de sensibilidad a antibióticos en monos da Costa Rica (*Alouatta palliata* y *Ateles geoffroyi*). **Neotropical Primates**, v. 12, n. 1, p.12-30, 2004.

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

FERREIRA, D. R. A. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. em *Cebus* spp. mantidos em Centros de Triagem de Animais Silvestres no Nordeste do Brasil. **Revista Biotemas**, v.25, n. 2, p. 181-186, 2012.

FZB. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. **Consulta Pública**: avaliação do estado de conservação de espécies – Fauna – RS – 2012/2013. 2013. Disponível em :<http://www.liv.fzb.rs.gov.br/livcpl/?id_modulo=1&id_uf=23>. Acesso em 28 out. 2013.

GILBERT, M. T. P. et al. The Isolation of Nucleic Acids from Fixed, Paraffin-Embedded Tissues-Which Methods Are Useful When? **PLoS ONE**, v. 2, n. 6: e537, p. 1-12, 2007.

GILLESPIE, T. R. Noninvasive Assessment of Gastrointestinal Parasite Infections in Free-Ranging Primates. **International Journal of Primatology**, v. 27, n. 4, p. 1129-1143, 2006.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A. Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. **Conservation Biology**, v. 20, n. 2, p. 441-448, 2006.

KNÖBL, T. et al. *Salmonella* Yoruba infection in white-tufted-ear marmoset (*Callithrix jacchus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 8, p. 707-710, 2011.

KVAC, M. et al. Gastroenteritis by the *Cryptosporidium* Hedgehog genotype in an immunocompetent man. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 347-349, 2014.

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

MACFADDIN, J. F. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**, Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999, p. 732-802.

MALTA, M. C. C.; LUPPI, M. M. Marsupialia – Didelphimorphia (Gambá, Cuíca). In: CUBAS, Z. S. et al. **Tratado de Animais Selvagens- Medicina Veterinária**, São Paulo: Roca, 2007, p.340-357.

MIRANDA, J. M. D.; PASSOS, F. C. Hábito alimentar de *Alouatta guariba* (Humboldt) (Primates, Atelidae) em Floresta de Araucária, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 821–826, 2004.

MIRANDA, J. M. D. et al. Formas não usuais para a obtenção de água por *Alouatta guariba clamitans* em ambiente de floresta com araucária no sul do Brasil. **Neotropical Primates**, v. 13, n. 2, p.21-23, 2005.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**, São Paulo: Roca, 2011, p. 308.

NIZEYI, J. B. et al. *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. infections in mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) of the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. **The Journal of Parasitology**, v. 85, n. 6, p. 1084-1088, 1999.

PAUL-MURPHY J. Bacterial enterocolitis in nonhuman primates, p.344-347. In: Fowler M.E. (Ed.), **Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy**. 3rd ed, Philadelphia: W.B. Saunders, 1993, 512p.

PRINTES, R. C. et al. *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940: a new southern limit for the species and for Neotropical primates. **Neotropical Primates**, v. 9, p. 118-121, 2001.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 115-130.

R CORE TEAM (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

SALYER, S. J. et al. Epidemiology and Molecular Relationships of *Cryptosporidium* spp. in People, Primates, and Livestock from Western Uganda. **Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 4, p. 1-6, 2012.

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, p. 439-440, 2007.

SCORSATO A.P.; TELLES J.E.Q. Fatores que interferem na qualidade do DNA extraído de amostras biológicas armazenadas em blocos de parafina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 541-548, 2011.

SERIO-SILVA, J. C. et al. (2005) Mapping primate populations in the Yucatán peninsula, México: a first assessment. In.: ESTRADA, A.; GARBER, P. A.; PAVELKA, M.; LUECKE, L. (Ed.). **New Perspectives in The Study of Mesoamerican Primates: distribution, ecology, behavior and conservation**. Chicago : Springer, 2005, p. 489-511.

SMITH, H. V.; NICHOLS, R. A. B. *Cryptosporidium*: Detection in water and food. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 61-79, 2010.

SODRÉ, F. C.; FRANCO, R. M. B. Novos aspectos sobre um tema bem conhecido: *Cryptosporidium*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 33, n. 2, p. 97-107, 2001.

SOUZA JÚNIOR, J. C. et al. Nota sobre infecção por *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. em bugios-ruivos, *Alouatta clamitans* Cabrera, 1940 (Primates: Atelidae) mantidos em cativeiro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 4, p. 266-268, 2008.

TEIXEIRA, M.B. et al. Vegetação: as regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos. Estudo fitogeográfico. In: Veloso, H.P. & Góes-Filho, L. (Eds.), Projeto RADAM BRASIL. **Levantamento de Recursos Naturais**, v. 33, p. 541-632, IBGE, 1986.

TREJO-MACÍAS, G. et al. 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, p. 931-945, 2007.

VEIGA, J. B. **Tamanho e densidade das populações de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940 (Primates, Atelidae) no Campo de Instrução de Santa Maria e áreas vizinhas**. 65f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2013.

3 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização deste trabalho concluímos que:

1. Pela técnica da microscopia de luz, não foi detectado o protista *Cryptosporidium* sp. nas amostras analisadas, nem foi possível detectá-lo pela técnica de PCR.

2. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas, porém outras vinte enterobactérias foram identificadas, algumas delas patogênicas, como *E. coli* e *Yersinia pestis* e outras com potencial patogênico, como *Enterobacter aerogenes* e *Klebsiella pneumoniae*.

3. Os fatores ecológicos e ambientais analisados não alteraram a microbiota intestinal dos bugios, apenas a temperatura ficou próxima da significância estatística ($p=0,07$) sobre a riqueza de enterobactérias com potencial zoonótico encontradas nas amostras.

4. Qualquer agente patogênico tem potencial para causar outras reduções populacionais e inviabilizar, em longo prazo, sua permanência na área. Desse modo, é imprescindível que os estudos sejam continuados a fim de acompanhar o estado de saúde dessas populações, para melhor compreender os mecanismos das doenças (sejam as de ocorrência natural ou introduzidas por humanos e animais domésticos) e contribuir para a conservação da espécie em nível regional.

5. Estão em andamento análises de outros enteroparasitos cujos resultados deverão somar importantes informações ao presente estudo.

REFERÊNCIAS

ADAMS et al. Self-reported medical history survey of humans as a measure of health risks to chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) of Kibale National Park. **Oryx**, v. 35, p. 308–312, 2001.

ALMEIDA, M. A. B. et al. Yellow fever outbreak affecting *Alouatta* populations in southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008–2009. **American Journal of Primatology**, v. 74, p. 68–76, 2012.

AMATO, K. R. et al. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. **The International Society for Microbial Ecology**, v. 7, p. 1344-1353, 2013.

ANDRADE et al. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2010, 472 p.

ANGONESI, P. S. et al. Endoparasitos em Muriquis-do-Norte, *Brachyteles hypoxantus*, isolados em Pequeno Fragmento de Mata Atlântica. **Neotropical Primates**, v. 16, n. 1, p. 15-18, 2009.

BICCA-MARQUES, J. C. Primates. In: WEBER, M. M. et al. (organizadores). **Mamíferos do Rio Grande do Sul**, Santa Maria: Ed. da UFSM, 2013, p. 111-113.

BICCA-MARQUES, J. C. How do Howler Monkeys Cope with Habitat Fragmentation? In: MARSH, L. K. (Ed.). **Primates in Fragments: Ecology and Conservation**, New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 2003, p. 283-303.

CARVALHO, V. M. Colibacilose e Salmonelose. In: CUBAS, Z. S. et al. **Tratado de Animais Selvagens- Medicina Veterinária**, São Paulo : ed. Roca, 2007, p. 742-750.

CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3. p. 32-34, 2003.

DASZAK, P. et al. Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. **Science**, v. 287, p. 443-449, 2000.

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

FLORES, E. F.; TRAESEL, C. K. Epidemiologia da infecções víricas. In: FLORES, E. F. (organizador). **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**, Santa Maria : Ed. da UFSM, 2012, 2ª ed., p. 279-324.

FORTES, V. B. **Ecologia e comportamento do bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitas* Cabrera, 1940) em fragmentos florestais na Depressão Central do Rio Grande do Sul, Brasil**. 130 f. Tese (Doutorado em Zoologia), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2008.

FZB. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. **Consulta Pública**: avaliação do estado de conservação de espécies – Fauna – RS – 2012/2013. 2013. Disponível em <http://www.liv.fzb.rs.gov.br/livcpl/?id_modulo=1&id_uf=23>. Acesso em 28 out. 2013.

GILLESPIE, T. R. Noninvasive Assessment of Gastrointestinal Parasite Infections in Free-Ranging Primates. **International Journal of Primatology**, v. 27, n. 4, p. 1129-1143, 2006.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A. Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. **Conservation Biology**, v. 20, p. 441-448, 2006.

GODOY, K. C. I. et al. Infecção por Endoparasitas em um Grupo de Bugios-Pretos (*Alouatta caraya*) em um Fragmento Florestal no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Neotropical Primates**, v. 12, n. 2, p. 63-68, 2004.

HATCHER, M. J.; DUNN, A. M. **Parasites in Ecological Communities: From Interactions to Ecosystems**, Cambridge : Cambridge University Press, 2011, 445p.

IUCN - International Union for the Conservation of Nature. **Red List of Threatened Species**. Versão (2013) <www.iucnredlist.org>. Consultada em 11 de novembro de 2013.

KNÖBL, T. et al. *Salmonella* Yoruba infection in white-tufted-ear marmoset (*Callithrix jacchus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 8, p. 707-710, 2011.

KOWALEWSKI, M. M.; GILLESPIE, T. R. Ecological and Anthropogenic Influences on Patterns of Parasitism in Free-Ranging Primates: A Meta-analysis of the Genus *Alouatta*. In: GARBER, P. A.; ESTRADA, A.; BICCA-MARQUES, J. C.; HEYMANN, E. W.; STRIER,

K. B. (Ed.). **South American Primates: comparative perspectives in the study of behavior, ecology, and conservation**. New York : Springer, 2009, p. 433-461.

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.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**, São Paulo: Roca, 2011, p. 146-148.

MULLER, G. C. K. et al. Levantamento preliminar de endoparasitos do tubo digestivo de bugios *Alouatta guariba clamitans*. **Neotropical Primates**, v. 8, n. 3, p. 107-108, 2000.

NIZEYI, J. B. et al. *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. infections in gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) of the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. **Journal of Parasitology**, v. 85, n. 6, p. 1084-1088, 1999.

PAUL-MURPHY J. Bacterial enterocolitis in nonhuman primates, p. 344-347. In: Fowler M.E. (Ed.), **Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy**. 3rd ed, Philadelphia: W.B. Saunders, 1993, 512p.

PRINTES, R. C. et al. *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940: a new southern limit for the species and for Neotropical primates. **Neotropical Primates**, v. 9, p. 118-121, 2001.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005, 512p.

RACANIELLO, V. R. Emerging infectious disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 6, p. 796-798, 2004.

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, p. 439-440, 2007.

SEGABINAZI, S. D. **Presença de bactérias da família Enterobacteriaceae nas superfícies externa e interna de *Alphitobius diaperinus* (PANZER) oriundos de granjas avícolas dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 99 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2004.

SERIO-SILVA, J. C. et al. (2005) Mapping primate populations in the Yucatán peninsula, México: a first assessment. In.: ESTRADA, A.; GARBER, P. A.; PAVELKA, M.; LUECKE, L. (Ed.). **New Perspectives in The Study of Mesoamerican Primates: distribution, ecology, behavior and conservation**. New York: Springer, 2005, p. 489-511.

SIGRIST, T. **Mamíferos do Brasil uma visão artística**. Vinhedo: avisbrasilis editora, 2012, p. 368-372.

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

SMITH, H. V.; NICHOLS, R. A. B. *Cryptosporidium*: Detection in water and food. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 61-79, 2010.

STONER, K. E. Prevalence and Intensity of Intestinal Parasites in Mantled Howling Monkeys (*Alouatta palliata*) in Northeastern Costa Rica: Implications for Conservation Biology. **Conservation Biology**, v. 10, n. 2, p. 539-546, 1996.

STONER, K. E.; DI PIERRO, A. M. G. Intestinal parasitic infections in *Alouatta pigra* in tropical rainforest in Lacandona, Chiapas, Mexico: implications for behavioral ecology and conservation. In: ESTRADA, A.; GARBER, P. A.; PAVELKA, M.; LUECKE, L. (Ed.). **New Perspectives in The Study of Mesoamerican Primates: distribution, ecology, behavior and conservation**. Chicago: Springer, 2005, p. 215-240.

VEIGA, J. B. **Tamanho e densidade das populações de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940 (Primates, Atelidae) no Campo de Instrução de Santa Maria e áreas vizinhas**. 65f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2013.

WALLIS, J.; LEE, P. Primate conservation: the prevention of disease transmission. **International Journal of Primatology**, v. 20, p. 803–826, 1999.

WEST, K. A. et al. Patterns of Infection with *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. in Three Species of Free-Ranging Primates in the Peruvian Amazon. **International Journal of Primatology**, v. 34, n. 5, p. 939-945, 2013.

ANEXOS



Anexo A – Bugio-ruivo macho no Campo de Instrução de Santa Maria. Foto: Joana B. da Veiga, 2013.



Anexo B – Fêmeas de Bugio-ruivo no Campo de Instrução de Santa Maria. Foto: Joana B. da Veiga 2013.