

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**

BIANCA CARDOZO AFONSO

**INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE *Flavivirus* EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS
ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE ANIMAIS SILVESTRES DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

UBERLÂNDIA-MG

2018

BIANCA CARDOZO AFONSO

**INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE *Flavivirus* EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS
ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE ANIMAIS SILVESTRES DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Trabalho de Conclusão de Residência
apresentado ao Programa de Residência
Uniprofissional em Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial para obtenção do Título de
Especialista em Medicina de animais
selvagens.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto
Santos.

UBERLÂNDIA-MG

2018

Artigo a ser submetido ao Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Anexo A)

Investigação molecular de *Flavivirus* em primatas não-humanos atendidos no ambulatório de animais silvestres da Universidade Federal de Uberlândia

Molecular investigation of *Flavivirus* in non-human primates treated at the wildlife center of the Federal University of Uberlândia

Bianca Cardozo Afonso^{1*}; Victória Riquena Grosche²; Jacqueline Farinha Shimizu²; Ana Carolina Gomes Jardim²; Patrick McClure³; Jonathan Ball³; André Luiz Quagliatto Santos¹

¹Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia. *biavetufes@gmail.com

²Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

³School of Life Sciences, University of Nottingham.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo investigar a presença de material genético de *Flavivirus* em amostras sanguíneas de primatas não-humanos atendidos durante 2013 a 2018 no ambulatório de animais silvestres da Universidade Federal de Uberlândia, por meio do RT-PCR. Foram analisadas 30 amostras, sendo 28 de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), uma de macaco-prego (*Sapajus libidinosus*) e uma de bugio-preto (*Alouatta caraya*), a maioria de zonas urbanas do Triângulo Mineiro. Nenhuma das amostras foi positiva. Estes resultados não excluem a infecção, apenas demonstram que os animais não passavam pela fase de viremia e, portanto, não constituíam fonte de infecção para vetores, visto que alguns foram reintroduzidos ou encaminhados para zoológico após o atendimento ou período de tratamento. A introdução da pesquisa de *Flavivirus* pelo RT-PCR como avaliação pré-soltura de PNH atendidos em centros de triagem, seria fundamental para a vigilância da circulação destas arboviroses.

Palavras-chave: zoonoses, arboviroses, RT-PCR.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the presence of genetic material of *Flavivirus* in blood samples from non-human primates treated from 2013 to 2018 at the wildlife center of the Federal University of Uberlândia, using the RT-PCR technique. Thirty samples were analyzed, 28 of black-tufted marmoset (*Callithrix penicillata*), one of black-striped capuchin (*Sapajus libidinosus*) and one of black howler (*Alouatta caraya*), most of urban areas of the Triângulo Mineiro. None of the samples were positive. These results do not exclude the infection, they only demonstrate that the animals did not go through the viremia phase and, therefore, were not a source of infection for vectors, since some were reintroduced or sent to the zoological garden after the care or treatment period. The introduction of *Flavivirus* research by RT-PCR as a pre-release assessment of NHP treated at wildlife centers would be critical for the surveillance of the circulation of these arboviruses.

Keywords: zoonosis, arbovirus, RT-PCR.

INTRODUÇÃO

Os arbovírus do gênero *Flavivirus*, família Flaviviridae, estão envolvidos em importantes doenças zoonóticas emergentes e reemergentes em áreas tropicais, com quadros assintomáticos a graves tanto em humanos quanto animais (Gaunt et al., 2001; Mackenzie et al., 2004). No Brasil, já foram descritas infecções em humanos causadas pelos vírus da dengue (DENV), vírus da febre amarela (YFV), vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV), vírus Rocio (ROCV), vírus Ilhéus (ILHV), vírus Bussuquara (BSQV), vírus Cacipacoré (CPCV) (Figueiredo, 2000; Batista et al., 2011) e, em 2014 e 2015, os vírus do Nilo Ocidental (WNV) e vírus Zika (ZIKV), respectivamente (Organização Mundial da Saúde, 2014, 2015).

A manutenção destes vírus no ambiente silvestre envolve ciclos epidemiológicos (ciclo enzoótico ou silvestre) compostos por hospedeiros vertebrados, como aves e mamíferos, e vetores artrópodes hematófagos, principalmente mosquitos. A urbanização desorganizada, o desmatamento, alterações ecológicas e o transporte moderno favorecem a disseminação destes patógenos e seus vetores, assim como o aumento na população dos vetores nas áreas urbanas e peri-urbanas (ciclo urbano) (Gould e Solomon, 2008; Batista et al., 2012; Bichaud et al., 2014).

Os *Flavivirus* transmitidos por mosquitos estão divididos em dois grupos epidemiológicos: os vírus neurotrópicos e os não-neurotrópicos. O primeiro grupo é responsável por quadros febris e encefalite (SLEV, ROCV, WNV, ILHV, BSQV e CPCV), acometendo pessoas que vivem em regiões rurais próximas a matas, tendo como principal vetor mosquitos do gênero *Culex* e aves e roedores como principais hospedeiros. Os vírus não-neurotrópicos (YFV, DENV e ZIKV), com mosquitos do gênero *Aedes* como vetor principal e humanos e primatas não-humanos (PNH) como principais hospedeiros, são comuns em regiões peri-urbanas e urbanas, provocando doenças febris e hemorrágicas (Figueiredo, 2000; Gaunt et al., 2001; Gould e Solomon, 2008).

Evidências da circulação de diversos *Flavivirus* em animais silvestres no Brasil já foram relatados por meio de estudos de prevalência de anticorpos contra estes arbovírus (Pereira et al., 2001; Batista et al., 2012, 2013; Svoboda et al., 2014). A presença de proteção pode indicar que alguns destes vírus permanecem em silêncio no país (Batista et al., 2012) e que as espécies investigadas podem atuar como reservatório ou servir como sentinela para a atividade dos vírus (Kading et al., 2013).

Por serem espécies arbóreas diurnas, os PNH são os vertebrados mais infectados, atuando como hospedeiros amplificadores, possíveis reservatórios e importantes sentinelas naturais na vigilância de vários vírus (Batista et al., 2012; Romano, 2014). Apesar de existir o Sistema de Vigilância de Epizootias em Primatas Não-humanos (Brasil, 2014) para monitoramento principalmente da febre amarela (FA) nestes animais, existe carência em estudos da prevalência de *Flavivirus* nas populações em vida livre, incluindo nas zonas peri-urbana e urbana, assim como um monitoramento mais eficaz, visto que o mesmo só ocorre durante surtos e não de forma preventiva (Batista et al., 2013; Kading et al., 2013).

O Triângulo Mineiro (Minas Gerais, Brasil) é considerado uma região endêmica para FA silvestre (Brasil, 2018), tornando necessária a vigilância efetiva da circulação e manutenção viral nos hospedeiros silvestres. Diante disso, objetivou-se com este estudo investigar a presença de *Flavivirus* em amostras sanguíneas de PNH atendidos no ambulatório de animais silvestres da Universidade Federal de Uberlândia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas para detecção de material genético de *Flavivirus*, 30 amostras sanguíneas de primatas não-humanos (PNH) de vida livre, do banco de material biológico do Ambulatório de Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). As amostras foram coletadas durante o atendimento clínico aos PNH, entre os anos de 2013 e 2018, e armazenadas em microtubos (soro) ou em tubos com anticoagulante EDTA (sangue total) e congeladas a -10°C. O levantamento dos dados da procedência e do histórico clínico dos animais foi obtido pelas informações registradas nas fichas clínicas.

As amostras de sangue total foram descongeladas e centrifugadas para obtenção do soro. Em seguida, foram realizados a extração do RNA das amostras (Direct-zol™ RNA MiniPrep Plus Kit, Zymo Research, EUA), o cDNA (RNA to cDNA EcoDry™ Premix, ClonTech, EUA) e, por último, a amplificação por meio da reação em cadeia pela polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) com o primer PanFlavi 1s+2R 270 pb (Patrick McClure, dados não publicados) como triagem para presença de RNA de *Flavivirus*. Caso fossem positivas, as amostras seriam testadas com os primers específicos para cada vírus. Foi utilizado um Ladder de 100 pb (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Thermo Scientific™, EUA) e eletroforese a 90 V por 45 minutos em gel de agarose a 2%. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biomédicas da UFU, seguindo os protocolos descritos em cada kit e a técnica de PCR estabelecida pelo laboratório.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras analisadas, 93,33% (28/30) pertenciam à espécie sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata* E. Geoffroy, 1812), 3,33% (1/30) a macaco-prego (*Sapajus libidinosus* Spix, 1823) e 3,33% (1/30) a bugio-preto (*Alouatta caraya* Humboldt, 1812) (Anexo B). A maioria dos indivíduos eram adultos (24/30), machos (22/30) e provenientes de áreas urbanas (17/30) (Tab. 1).

As três espécies são típicas do cerrado (Fialho, 2015; Ludwig, 2015; Rímoli et al., 2015), contudo, saguis-de-tufo-preto apresentam grande capacidade de adaptação em áreas antropizadas (Traad et al., 2012), justificando assim a maior prevalência desta espécie entre os PNH no atendimento no setor e, consequentemente, no número de amostras avaliadas. A adaptação está relacionada à disponibilidade de itens alimentares

Tabela 1. Procedência e histórico clínico dos primatas não-humanos com amostras avaliadas neste estudo e atendidos entre 2013 e 2018 no Setor de Animais Silvestres da UFU.

ID	Espécie	Idade	Sexo	Origem	Histórico	Sinais Clínicos	Suspeita/Diagnóstico	Destinação
S01	<i>C. penicillata</i>	Adulto	F	Desconhecida	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecida
S02	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	Desconhecida	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecida
S03	<i>C. penicillata</i>	Adulto	F	Desconhecida	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecida
S04	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	Desconhecida	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecida
S05	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	Desconhecida	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecida
B01	<i>A. caraya</i>	Adulto	M	Desconhecida	Desconhecido	SA, manso	Mantido em observação	Zoológico
S06	<i>C. penicillata</i>	Adulto	F	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Apático e pouco responsivo	Trauma	Óbito
S07	<i>C. penicillata</i>	Filhote	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Apático, magro, polifruturado e deformado	Alteração osteometabólica	Eutanásia
S08	<i>C. penicillata</i>	Filhote	Desc.	ZU/Udi	Caiu de uma árvore	SA	Mantido em observação	Soltura
S09	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZR/Estr. do Sul	Animal com suspeita de atropelamento	Prostrado, polifruturado, paralisia	Trauma	Eutanásia
S10	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZR/Udi	Animal com suspeita de atropelamento	Polifruturado	Trauma	Eutanásia
S11	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZR/Udi	Animal estava há três dias debilitado. Outros animais do bando morreram	Apatico, atáxico, lesões difusas na cavidade oral e pênis	Herpes	Eutanásia
S12	<i>C. penicillata</i>	Adulto	F	ZR/Udi	Animal encontrado debilitado, juntamente com outro que foi a óbito	Magro, prostrado, linfonodos reativos, lesões difusas na cavidade oral	Herpes	Eutanásia
S13	<i>C. penicillata</i>	Jovem	M	ZR/Arag	Chegou filhote. Abandonado pelos pais	SA	Mantido em observação	Soltura
S14	<i>C. penicillata</i>	Jovem	M	ZU/Udi	Chegou filhote. Estava sozinho em via pública	SA	Mantido em observação	Soltura
S15	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Arag		Fratura na mão esquerda	Trauma	Soltura
S16	<i>C. penicillata</i>	Jovem	F	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública			Soltura
S17	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Animal atacado por cão	Fratura na coluna lombar e lacerações pelo corpo	Trauma por ataque de cão	Eutanásia
S18	<i>C. penicillata</i>	Desc.	Desc.	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
S19	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Apatia, paralisia	Trauma - lesão na coluna cervical	Eutanásia
S20	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Desconhecido	Trauma	Eutanásia
S21	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Desconhecido	Trauma	Eutanásia
S22	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Desconhecido	Trauma	Eutanásia
S23	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Animal atropelado	TCE e trauma pulmonar	TCE	Óbito
S24	<i>C. penicillata</i>	Adulto	Desc.	ZU/Itui.	Encontrado debilitado em via pública, com suspeita de choque elétrico	Necrose nos membros e queimadura de terceiro grau pelo corpo	Trauma por choque elétrico	Óbito
S25	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado debilitado em via pública	Incoordenação, anisocoria, opistotomo, bradicardia, bradipneia, epistaxe	TCE	Eutanásia
S26	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Brigou com outros saguis.	Alerta, apático, lesões na cabeça e membros	Trauma por briga	Óbito
P01	<i>S. libidinosus</i>	Adulto	M	ZR/Udi	Animal atacado por cão	Feridas por mordidas	Trauma por ataque de cão	Soltura
S27	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado apático em via pública	Apatia, dócil	Mantido em observação	Soltura
S28	<i>C. penicillata</i>	Adulto	M	ZU/Udi	Encontrado apático em via pública	SA	Mantido em observação	Soltura

ID: Identificação dos animais; M: macho; F: fêmea; ZR: zona rural; ZU: zona urbana; Udi: Uberlândia; Estr. do Sul: Estrela do Sul; Arag: Araguari; Itui: Ituiutaba; SC: sinal clínico; SA: sem alterações; TCE: trauma crânioencefálico; Desconhecido/desc.: dados não constam nas fichas.

(frutas, vegetais, insetos, ovos de aves) em parques, fragmentos urbanos de matas, quintais de residências e outros locais dentro ou próximo de cidades, bem como ao oferecimento de alimentos por humanos e o roubo nas casas ou mesmo lixeiras (De Paula et al., 2005; Silva et al., 2014). Além disso, a habilidade de extrair seiva das árvores garante alimento na escassez dos demais itens e constitui vantagem adaptativa na reprodução, na estabilidade dos grupos e na necessidade de menor espaço territorial (Rylands, 1996; De Paula et al., 2005).

Nenhuma das amostras analisadas por RT-PCR foi positiva para *Flavivirus* (Fig. 1). Estes resultados não excluem a infecção, apenas demonstram que os animais não estavam passando pela fase de viremia no momento das coletas, ou seja, talvez estivessem já na fase de manifestação clínica, fossem assintomáticos ou realmente não se encontravam infectados. Estes resultados negativos são importantes do ponto de vista epidemiológico, pois permitem afirmar que os animais não constituíam fonte de infecção para vetores (Rocha et al., 2015) no momento da destinação, visto que alguns animais foram reintroduzidos (8/30) ou encaminhados para zoológico (1/30).



Figura 1. Resultados negativos do RT-PCR para PanFlavi das amostras sanguíneas de primatas não-humanos atendidos no setor de animais silvestres da Universidade Federal de Uberlândia, entre 2013 a 2018. L: Ladder; CN: Controle negativo; CP: Controle positivo.

Rocha et al. (2015) também investigaram a presença de *Flavivirus* por meio do RT-PCR em amostras de *Callithrix* spp., *Sapajus* spp. e *Alouatta* spp. de vida livre e sem sinais clínicos. Os indivíduos foram capturados no Paraná e no Mato Grosso do Sul, em regiões com presença humana e de vetores. Assim como no presente estudo, os autores não detectaram material genético dos vírus e concluíram que não havia risco, no momento da coleta, dos animais servirem como fonte de infecção para os vetores da região.

A fase de viremia, que constitui a circulação viral na corrente sanguínea e o período onde o vetor pode se infectar ao se alimentar no hospedeiro (Contigiani et al., 2017), para YFV em PNH é de curta duração, variando de 2 a 5 dias; nas formas mais graves da FA pode chegar até 9 dias (Romano, 2014). *Callithrix jacchus* infectados experimentalmente com ZIKV apresentaram tempo de viremia semelhante ao de humanos, de 7 a 9 dias (Chiu et al., 2017). Neste período, o diagnóstico é dado por exames diretos, cuja finalidade é isolar o vírus numa cultura de tecidos ou identificar o RNA viral pelo RT-PCR. Este último também é o mais indicado nos casos em que as amostras foram prejudicadas pela má conservação, além de ser um exame mais rápido. Após a viremia, o diagnóstico é realizado com base na sorologia (Romano, 2014; Contigiani et al., 2017).

No Brasil, *Flavivirus* foram detectados em diversas espécies de PNH e regiões do país. YFV foi detectada em *Alouatta guariba clamitans* no Espírito Santo em 2017 por RT-PCR (Bonaldo et al., 2017) e ZIKV em *C. jacchus* e *S. libidinosus* numa área epidêmica do Ceará em 2015 pela técnica do Real-Time PCR (Favoretto et al., 2016). No Mato Grosso do Sul, *Cebus apella* (Batista et al., 2012), *Sapajus* sp. e *A. caraya* (Batista et al., 2013) apresentaram anticorpos contra *Flavivirus* não específico e contra CPCV. No sul do país, anticorpos contra SLEV foram encontrados em *A. caraya*, *Sapajus nigritus* e *Sapajus cay* (Svoboda et al., 2014).

No México (Loza-Rubio et al., 2016) e na Argentina (Morales et al., 2017), foi detectada a presença de anticorpos contra WNV em *Ateles geoffroy*, *Alouatta pigra* e *A. caraya*, demonstrando que o vírus está circulando entre PNH na América latina. Na Argentina, no mesmo estudo com *A. caraya*, também foram detectados anticorpos contra SLEV, DENV-1, DENV-3, ILHV, BSQV e *Flavivirus* não específico. A detecção de DENV e ZIKV em PNH é preocupante, pois pode acarretar no

estabelecimento do ciclo silvestre, assim como ocorreu com a febre amarela, o que dificultaria ainda mais o controle (Morales et al., 2017).

Várias epizootias por FA no Brasil foram relatadas nos últimos anos, levando a óbito um grande número de PNH. Entre 2008 e 2009, Pará, Tocantins, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo registraram mortes de primatas confirmadas para FA. Porém, foi no Rio Grande do Sul onde houve o maior número de óbitos, com 830 *A. caraya* e 1.183 *A. guariba clamitans* encontrados mortos, além de alguns animais dos gêneros *Cebus* e *Callithrix* (Romano, 2014; Vasconcelos, 2017). Entre julho de 2017 e fevereiro de 2018, o Ministério da Saúde confirmou 522 epizootias, sendo uma no Espírito Santo, uma no Mato Grosso, duas no Tocantins, 12 no Rio de Janeiro, 55 em Minas Gerais e 451 em São Paulo (Brasil, 2018).

Os casos de epizootias confirmados entre 2017 e 2018 no estado de Minas Gerais concentram-se em regiões fora do Triângulo Mineiro. Contudo, além da confirmação da circulação do YFV no estado, a região do Triângulo faz fronteira com estados onde o vírus também já foi detectado em PNH.

A condição debilitada (10/30) ou mesmo apenas a apatia (2/30) apresentada pelos animais deste estudo, podem ser em decorrência de processo infeccioso. As doenças causadas por *Flavivirus* podem provocar quadros leves, com febre baixa ou moderada, astenia e apatia, até quadros graves, com doenças neurológicas e hemorrágicas (Romano, 2014; Contigiani et al., 2017). Animais debilitados podem estar mais susceptíveis a ataques (3/30) e atropelamentos (3/30), podendo as consequentes lesões mascarar os sinais clínicos das flavivirose. Assim, seria fundamental a instituição de exames moleculares, como o RT-PCR, como protocolo pré-soltura, visto a importância destes animais como hospedeiros amplificadores.

As semelhanças genéticas e fisiológicas entre PNH e humanos (Batista et al., 2013) e a presença frequente de algumas espécies em ambientes urbanos e peri-urbanos, tornam as investigações de arboviroses de potencial zoonótico nestes animais necessárias e de fundamental importância para saúde pública.

CONCLUSÃO

Todas as amostras avaliadas foram negativas, o que não exclui a infecção, mas demonstra que os animais não passavam pela fase de viremia no momento da coleta das

amostras e, portanto, não representavam fonte de infecção para vetores no momento da reintrodução no habitat ou destinação para zoológico.

Sugere-se a introdução do RT-PCR para *Flavivirus* como protocolo pré-soltura de PNH atendidos em centros de triagem de animais silvestres, como forma de evitar a introdução de indivíduos infectados e capturar informações da circulação destas arboviroses.

REFERÊNCIAS

BATISTA, W.C. TAVARES, G.D.S.B.; VIEIRA, D.S. et al. Notification of the first isolation of Cacipacore virus in a human in the State of Rondônia, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v. 44, n. 4, p. 528-530, 2011.

BATISTA, P.M.; ANDREOTTI, R.; CHIANG, J.O. et al. Seroepidemiological monitoring in sentinel animals and vectors as part of arbovirus surveillance in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v. 45, n. 2, p. 168-173, 2012.

BATISTA, P.M.; ANDREOTTI, R.; ALMEIDA, P.S. 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. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v. 46, n. 6, p. 684-690, 2013.

BICHAUD, L.; LAMBALLERIE, X.; ALKAN, C. et al. Arthropods as a source of new RNA viruses. Micro. Pathog., v. 77, p. 136-141, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela. 2 ed. Brasília : Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epizootias_primatas_entomologia.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe nº 14. Monitoramento do Período Sazonal da Febre Amarela: Brasil – 2017/2018, 2018.

- Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/fevereiro/21/Informe-n14-FA-20fev18-c.pdf>>. Acessado em: 22 fev. 2018.
- CHIU, C.Y.; SÁNCHEZ-SAN MARTÍN, C.; BOUQUET, J. et al. Experimental Zika Virus Inoculation in a New World Monkey Model Reproduces Key Features of the Human Infection. *Sci. Rep.*, v. 7, n. 1, p. 17126, 2017.
- CONTIGIANI M.S.; DIAZ, L.A.; SPINSANTI, L.I. General Aspects on Arboviruses In: MARCONDES, C. B. *Arthropod borne diseases*. Switzerland: Springer International Publishing, 2017. Cap. 5, p. 61-71.
- DE PAULA, H.M.G.; TÁVORA, R.S.; ALMEIDA, M.V. et al. Estudos preliminares da presença de sagüis no município de Bauru, São Paulo, Brasil. *Neotrop. Primates*, v. 13, n. 3, p. 6-11, 2005.
- FAVORETTO, S.; ARAUJO, D., OLIVEIRA, D. et al. First detection of Zika virus in neotropical primates in Brazil: a possible new reservoir. *bioRxiv*, p. 049395, 2016.
- FIALHO, M.S.; VALENÇA-MONTENEGRO, M.M.; BEZERRA, B.M. et al. Avaliação do Risco de Extinção de *Sapajus libidinosus* (Spix, 1823) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. ICMBio, 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7274-mamiferos-sapajus-libidinosus-macaco-prego>>. Acessado em: 20 jan. 2018.
- FIGUEIREDO, L.T.M. The brazilian flaviviruses. *Microbes Infect.*, v. 2, n. 13, p. 1643-1649, 2000.
- GAUNT, M.W.; SALL, A.A.; LAMBALLERIE, X. et al. Phylogenetic relationships of flaviviruses correlate with their epidemiology, disease association and biogeography. *J. Gen. Virol.*, v. 82, n. 8, p. 1867-1876, 2001.
- GOULD, E.A.; SOLOMON, T. Pathogenic flaviviruses. *The Lancet*, v. 371, n. 9611, p. 500-509, 2008.

KADING, R.C.; BORLAND, E.M.; CRANFIELD, M.; POWERS, A.M. Prevalence of antibodies to alphaviruses and flaviviruses in free-ranging game animals and nonhuman primates in the greater Congo basin. *J. Wildl. Dis.*, v. 49, n. 3, p. 587-599, 2013.

LOZA-RUBIO, E.; ROJAS-ANAYA, E.; LOPEZ-RAMIREZ, R.D.C. et al. Prevalence of neutralizing antibodies against West Nile virus (WNV) in monkeys (*Ateles geoffroyi* and *Alouatta pigra*) and crocodiles (*Crocodylus acutus* and *C. acutus*–*C. moreletti* hybrids) in Mexico. *Epidemiol Infect.*, v. 144, n. 11, p. 2371-2373, 2016.

LUDWIG, G.; BICCA-MARQUES, C.; RÍMOLE, J. et al. Avaliação do Risco de Extinção de *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. ICMBio, 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7176-mamiferos-alouatta-caraya-bugio-preto>>. Acessado em: 20 jan. 2018.

MORALES, M.A.; FABBRI, C.M.; ZUNINO, G.E. et al. Detection of the mosquito-borne flaviviruses, West Nile, Dengue, Saint Louis Encephalitis, Ilheus, Bussuquara, and Yellow Fever in free-ranging black howlers (*Alouatta caraya*) of Northeastern Argentina. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 11, n. 2, 2017.

MACKENZIE, J.S.; GUBLER, D.J.; PETERSEN, L.R. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat. Med.*, v. 10, n. 12, p. S98, 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. West Nile virus - Brazil. 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/don/15-december-2014-wnv/en/>>. Acessado em: 20 jan. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Zika virus infection – Brazil and Colombia. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/don/21-october-2015-zika/en/>>. Acessado em: 20 jan. 2018.

RÍMOLI, J.; PEREIRA, D.G.; VALLE, R.R. Avaliação do Risco de Extinção de *Callithrix penicillata* (É. Geoffroy, 1812) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. ICMBio, 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7207-mamiferos-callithrix-penicillata-sagui-de-tufos-pretos>>. Acessado em: 20 jan. 2018.

ROCHA, T.C.; BATISTA, P.M., ANDREOTTI, R. et al. Evaluation of arboviruses of public health interest in free-living non-human primates (*Alouatta* spp., *Callithrix* spp., *Sapajus* spp.) in Brazil. Ver. Soc. Bras. Med. Trop., v. 48, n. 2, p. 143-148, 2015.

ROMANO, A.P.M. Febre amarela. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. Tratado de animais selvagens: medicina veterinária. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 59, p. 1263-1281.

RYLANDS, A.B. Habitat and the evolution of social and reproductive behavior in Callitrichidae. Am. J. Primatol., v. 38, n. 1, p. 5-18, 1996.

SILVA, J.M.; ALBUQUERQUE, J.R.; OLIVEIRA, M.A.B. Em busca de alimento: um estudo sobre a influência de itens providos por humanos na dieta de um grupo de *Callithrix jacchus* (Linnaeus 1758) de vida livre, no Parque Estadual Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil. A Primatologia no Brasil. Curitiba: SBPr, 2014. v. 13, cap. 11, p. 152-160, 2014.

TRAAD, R.M.; LEITE, J.C.M.; WECKERLIN, P.; TRINDADE, S. Introdução das espécies exóticas *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) e *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) em ambientes urbanos (Primates: Callitrichidae). Rev. Meio Amb. Sust., v. 2, n. 1, p. 9-23, 2012.

VASCONCELOS, P.F.C. Yellow fever. In: MARCONDES, C.B. Arthropod borne diseases. Switzerland: Springer International Publishing, 2017. Cap. 8, p. 101-113.

ANEXO A - Normas para publicação do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Artigo científico

- É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.
- Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.
- O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.
- O número de Referências não deve exceder a 30.

Preparação dos textos para publicação

- Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

Formatação do texto

- O texto NÃO deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.
- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

- **Título:** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

- **Autores e Filiação:** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.
- **Resumo e Abstract:** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.
- **Palavras-chave e Keywords:** No máximo cinco e no mínimo duas*. na submissão usar somente o Keyword (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.
- **Introdução:** Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.
- **Material e Métodos:** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).
- **Resultados:** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.
 - *Tabela.* Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

- **Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a **correspondente referência deve figurar nas Referências.**

- **Discussão:** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).
- **Conclusões:** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, SEM revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.
- **Agradecimentos:** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.
- **Referências:** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, adaptadas para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

- A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:
 - *Autoria única:* (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

- *Dois autores*: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);
- *Mais de dois autores*: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979);
- *Mais de um artigo citado*: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

- **Citação de citação.** Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.
- **Comunicação pessoal.** Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. Am. J. Vet. Res., v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. Not. Med. Vet., n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. Anais... São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerId-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

ANEXO B – Imagens representativas das espécies de primatas não-humanos citados

Gênero *Callithrix* (Callitrichidae, Primates)



Figura 2 – A: Sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*). Fonte: Alberto Rossetini. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/41519/0>>. Acesso em: 10 fev. 2018. B: sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*). Fonte: Leszek Leszczynski. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/41518/0>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

Gênero *Sapajus* (*Cebus*) (Cebidae, Primates)



Figura 3 – Macacos pregos. A: *Sapajus libidinosus*. Fonte: Miguel Rangel (2012). Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Macaco_prego_libidinosus.jpg>. Acesso em: 10 fev. 2018. B: *Sapajus (Cebus) apella*. Fonte: Geiser Trivelato. Disponível em: <<http://geisertrivelato.webs.com/apps/photos/photo?photoid=122047428>>. Acesso em: 10 fev. 2018. C: *Sapajus nigritus*. Fonte: Eloisa Neves. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/porta/fanabrasileira/estado-de-conservacao/7277-mamiferos-sapajus-nigritus-nigritus-macaco-prego>>. Acesso em: 10 fev. 2018. D:

Sapajus cay. Fonte: João Vitor Andriola (2017). Disponível em: <<http://www.biofaces.com/post/58136/sapajus-cay/>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

Gênero *Alouatta* (Atelidae, Primates)



Figura 4 – A: Casal de bugio-preto (*Alouatta caraya*). Fonte: Dante Andres Meller (2017). Disponível em: <<http://avemissoes.blogspot.com.br/2017/07/passarinhando-no-primeiro-dos-sete-povos.html>>. Acesso em: 10 fev. 2018. B: Casal de bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*). Fonte: Gabriela Ludwig. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservacao/7179-mamiferos-alouatta-guariba-clamitans-guariba-ruivo%3E>>. Acesso em: 10 fev. 2018. C: Macho de bugio-negro-de-Yucatán (*Alouatta pigra*). Fonte: Rainforest Alliance. Disponível em: <<https://www.rainforest-alliance.org/species/howler-monkey>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

Gênero *Ateles* (Atelidae, Primates)

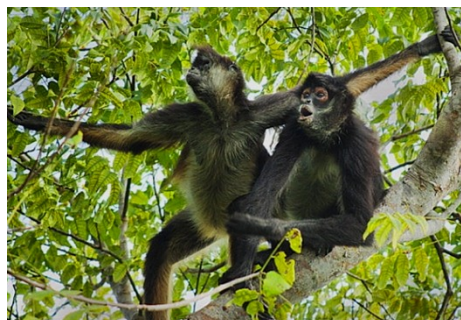


Figura 5 – Macaco-aranha (*Ateles geoffroy*). Fonte: Kevin Schafer. Disponível em: <https://www.mindenpictures.com/search/preview/yucatan-spider-monkey-ateles-geoffroyi-yucatanensis-pair-in-tree-yucatan/0_00536734.html>. Acesso em: 10 fev. 2018.