



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

JULIANA DE MOURA MEDEIROS

**INVESTIGAÇÃO DE HEMOPARASITOS EM *Sapajus nigritus* (PRIMATES:
CEBIDAE) DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RIO DE JANEIRO**

SEROPÉDICA
2026





JULIANA DE MOURA MEDEIROS

INVESTIGAÇÃO DE HEMOPARASITOS EM *Sapajus nigritus* (PRIMATES: CEBIDAE)
DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RIO DE JANEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal, Área de concentração: Biodiversidade

Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Denise Monnerat Nogueira

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Central de Processamento Técnico

M488i Medeiros, Juliana de Moura, 1998-
INVESTIGAÇÃO DE HEMOPARASITOS EM Sapajus nigritus
(PRIMATES: CEBIDAE) DA ILHA DA MARAMBAIA,
MANGARATIBA, RIO DE JANEIRO / Juliana de Moura
Medeiros. - Seropédica, 2026.
116 f.: il.

Orientadora: Denise Monnerat Nogueira.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal, 2026.

1. Hemoparasitos de primatas. 2. Sapajus nigritus.
3. Mansonella sp.. 4. Microscopia e PCR. 5. Relação
parasito-hospedeiro. I. Nogueira, Denise Monnerat,
1961-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Animal III. Título.

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

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

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

JULIANA DE MOURA MEDEIROS

INVESTIGAÇÃO DE HEMOPARASITOS EM *Sapajus nigritus* (PRIMATES: CEBIDAE)
DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RIO DE JANEIRO

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre no Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de
concentração em Biodiversidade.

Dissertação aprovada em 26 de fevereiro de 2026.

BANCA EXAMINADORA:



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E
CONTRATOS

FOLHA DE ASSINATURAS

TERMO Nº 120/2026 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 11:10)

ANDRESA GUIMARAES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matricula: ###244#9

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 08:38)

DENISE MONNERAT NOGUEIRA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptG (12.28.01.00.00.00.50)
Matricula: ###390#1

(Assinado digitalmente em 10/03/2026 22:32)

JULLANA MACEDO RAIMUNDO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matricula: ###591#0

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 10:49)

MARCIA CHAME DOS SANTOS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.987-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 120, ano: 2026, tipo:
TERMO, data de emissão: 10/03/2026 e o código de verificação: a0dd74c1e4

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me ajudar a manter a fé.

Agradeço aos meus pais, Julia e Juarez, por me apoiarem sempre. O caminho percorrido até aqui é fruto da dedicação e dos valores que eu aprendi em casa. Sou o reflexo de vocês. A genética não me deixa mentir.

Agradeço à minha noiva, Carolina Branco, por ser meu alicerce. Sem você, nada disso seria possível. Obrigada pela parceria no dia a dia, pelo apoio e dedicação durante esses seis anos juntas.

Agradeço à minha madrinha, Zelinha, por todo o cuidado ao longo desses anos da vida acadêmica. Agradeço também aos meus tios Cláudio Moura e Luciana por todo o apoio.

Agradeço ao meu padrinho, Ivanildo, por estar presente em meu coração, sempre me dando esperanças.

Agradeço à minha orientadora, Denise M. Nogueira, por todos os ensinamentos ao longo desses seis anos. Ainda bem que os nossos caminhos se cruzaram, pois foi assim que pude enxergar a riqueza que existe nos primatas.

Agradeço aos meus amigos, Diogo P. Coimbra e Gustavo A. Quintanilha, que trabalham e convivem comigo todos os dias. É um prazer compartilhar conhecimentos, risadas, abraços e Marambaia com vocês. Isso deixa tudo mais leve.

Agradeço aos demais membros do DiGA, Ângelo, Julia e Camila por todos os momentos que passamos juntos.

Agradeço aos professores do Laboratório de Genética Animal por todo o suporte quando precisei. Especialmente à Marina M. Barbero, pelos conselhos e ajuda, e à professora Patrícia P. Gonzaga, pelas conversas e pela colaboração na disponibilização do controle positivo para *Plasmodium*. Agradeço também ao José Francisco por todo o auxílio no laboratório, sempre disposto a ajudar.

Agradeço aos meus parceiros de Marambaia, Alexandre C. Costa e Ana Elisa B. Medeiros por esses dois anos que passamos juntos. Vocês dois tornaram tudo mais fácil. Agradeço também à Beatriz Pereira e à Juliana Macedo pela ajuda nos campos. Aos professores Cristiane D. Baldani e Daniel A. Balthazar, também deixo o meu agradecimento.

Agradeço à professora Cláudia B. da Silva por toda a assistência nas análises de microscopia e genética molecular das microfilárias. Aprendi muito com você. Agradeço também ao Jonathan Silva pelo auxílio com os produtos de PCR.

Agradeço ao Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia pelo auxílio na logística do trabalho de campo e pela disponibilização do rancho para a alimentação da nossa equipe.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (PPGBA) por todo auxílio, especialmente o apoio financeiro para as idas aos Congressos.

Agradeço à agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da minha bolsa de mestrado.

Agradeço aos membros da banca examinadora por aceitarem o meu convite e pela imensa contribuição.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha caminhada até aqui.



Foto: Angelo Marzano.

*“If we do not do something to help these
creatures, we make a mockery of the whole
concept of justice.”*
(Jane Goodall)

RESUMO

MEDEIROS, Juliana de Moura. **Investigação de hemoparasitos em *Sapajus nigrinus* (Primates: Cebidae) da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro.** 2026. 118p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

Os primatas são considerados sentinelas em estudos de parasitologia e epidemiologia de Doenças Infecciosas Emergentes (DIE), devido à sua proximidade evolutiva com os humanos. O macaco-prego, *Sapajus nigrinus*, é endêmico da Mata Atlântica e habita a Ilha da Marambaia, no município de Mangaratiba, RJ, onde vive em proximidade com 430 moradores. Investigações sobre hemoparasitos ainda são limitadas nesta região. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a presença da hemoparasitofauna em *S. nigrinus* da Ilha da Marambaia, utilizando microscopia óptica e PCR para identificar as espécies. Também buscou analisar os aspectos epidemiológicos e compreender a relação parasito-hospedeiro, com base na carga parasitária e nos parâmetros clínicos e hematológicos dos animais. Os primatas foram capturados com armadilhas Tomahawk para avaliação clínica e coleta de sangue, destinada às análises moleculares e hematológicas, além da confecção de esfregaços sanguíneos. A extração de DNA seguiu o protocolo de fenol-clorofórmio, e a PCR foi usada para detectar microfilárias, *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp. e *Borrelia* sp. Os amplicons foram purificados, sequenciados e submetidos à análise filogenética, incluindo sequências disponíveis no GenBank. Um modelo linear multivariado foi utilizado para analisar a correlação entre a carga parasitária e os parâmetros hematológicos. Dos 27 *S. nigrinus* capturados, microfilárias foram detectadas em 25 (92,59%) por meio da amplificação da região *ITS1* e em 27 (100%) por meio do gene *12S rDNA*. Pela microscopia, as microfilárias foram detectadas em 22 indivíduos (81,48%). *Trypanosoma* sp. foi identificado em dois indivíduos apenas pela PCR. As microfilárias foram identificadas como *Mansonella* sp. por ambos os métodos. Não foram obtidos resultados satisfatórios no sequenciamento de *Trypanosoma* sp. Por meio da microscopia, a prevalência de microfilárias nos 27 indivíduos de *S. nigrinus* amostrados foi de $81,48\% \pm 7,48$, com uma intensidade média de $92,01 \pm 31,10$ e uma abundância média de $74,97 \pm 26,15$. Os macacos apresentaram-se clinicamente saudáveis. A análise multivariada indicou efeito significativo da carga parasitária apenas sobre os parâmetros hematológicos da série vermelha, sugerindo que *S. nigrinus* convive com microfilárias de *Mansonella* sp. sem apresentar sinais de doença grave, o que pode indicar tolerância imunológica.

Palavras-chave: Macaco-prego; Relação parasito-hospedeiro; Microfilária.

ABSTRACT

MEDEIROS, Juliana de Moura. **Investigation of hemoparasites in *Sapajus nigritus* (Primates: Cebidae) from Marambaia Island, Mangaratiba, Rio de Janeiro.** 2026. 118p. Dissertation (Master in Animal Biology) - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

Primates are considered sentinels in parasitology and epidemiological studies of Emerging Infectious Diseases (EIDs) due to their evolutionary proximity to humans. The capuchin monkey, *Sapajus nigritus*, is endemic to the Atlantic Forest and inhabits Marambaia Island, in the municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro, where it lives in close proximity to approximately 430 residents. Investigations on hemoparasites in this region are still limited. Thus, this study aimed to investigate the presence of hemoparasites in *S. nigritus* from Marambaia Island using optical microscopy and PCR to identify parasite species. It also sought to analyze epidemiological aspects and to understand the parasite-host relationship based on parasite load and the physical and hematological parameters of the animals. Primates were captured using Tomahawk traps for physical evaluation and blood collection for molecular and hematological analyses, as well as the preparation of blood smears. DNA extraction followed the phenol-chloroform protocol, and PCR was used to detect microfilariae, *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp., and *Borrelia* sp. Amplicons were purified, sequenced, and subjected to phylogenetic analysis, including sequences available in GenBank. A multivariate linear model was used to analyze the correlation between parasite load and hematological parameters. Of the 27 *S. nigritus* captured, microfilariae were detected in 25 (92.59%) using the *ITS1* region and in 27 (100%) using the *12S rDNA* gene. By microscopy, microfilariae were detected in 22 individuals (81.48%). *Trypanosoma* sp. was identified in two individuals only by PCR. The microfilariae were identified as *Mansonella* sp. by both methods. No satisfactory results were obtained for the sequencing of *Trypanosoma* sp. Based on microscopy, the prevalence of microfilariae in the *S. nigritus* population was $81.48\% \pm 7.48$, with a mean intensity of 92.01 ± 31.10 and a mean abundance of 74.97 ± 26.15 . The monkeys appeared clinically healthy. The multivariate analysis indicated a significant effect of parasite load only on red blood cell parameters, suggesting that *S. nigritus* coexists with *Mansonella* sp. microfilariae without showing signs of severe disease, which may indicate immunological tolerance.

Key-words: Capuchin monkey; Host-parasite relationship; Microfilariae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica das espécies de <i>Sapajus</i> sp. (Primates: Cebidae) na América do Sul.....	13
Figura 2 - Indivíduo de <i>Sapajus nigritus</i>	14
Figura 3 - Microfilária e um de seus vetores. A: Microfilária do gênero <i>Mansonella</i> sp. visualizada em esfregaço sanguíneo; B: Díptero hematófago, <i>Culicoides milnei</i>	17
Figura 4 - Ciclo de vida de <i>Mansonella ozzardi</i> no hospedeiro vertebrado e no vetor invertebrado.....	18
Figura 5 - Protozoário <i>Plasmodium</i> e um de seus vetores. A: Trofozoítos de <i>Plasmodium</i> sp. visualizados em uma lâmina de microscópio; B: Mosquito hematófago <i>Anopheles</i> sp.....	19
Figura 6 - Ciclo de vida do <i>Plasmodium falciparum</i> no hospedeiro vertebrado e invertebrado com as suas formas evolutivas: esporozoíto, trofozoíto, merozoíto e gametócito.....	21
Figura 7 - Bactéria <i>Borrelia</i> e um de seus vetores. A: Bactéria <i>B. burgdorferi</i> visualizada na lâmina de microscópio; B: Carrapato do gênero <i>Ixodes</i>	22
Figura 8 - Ciclo de vida da <i>Borrelia burgdorferi</i> nos diversos hospedeiros, incluindo os definitivos, secundários, acidentais e incompetentes.....	23
Figura 9 - Protozoário <i>Trypanosoma</i> e um de seus vetores. A: Tripomastigota sanguíneo de <i>T. minasense</i> visualizado em uma lâmina de microscópio; B: Inseto hematófago triatomíneo, <i>Rhodnius prolixus</i>	24
Figura 10 - Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> no hospedeiro vertebrado e no vetor invertebrado, com as suas formas evolutivas: tripomastigota e tripomastigota metacíclica, amastigota e epimastigota.....	26
Figura 11 - Locais de captura de indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. 1: Praia do Kutuca; 2: CADIM; 3: Buraco Quente; 4: Praia da Armação.....	32
Figura 12 - Armadilhas do tipo Tomahawk em plataforma de bambu para a captura de indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Suspensa no tronco das árvores com auxílio de cordas; B: No chão, presa no tronco das árvores.....	33

Figura 13 - Amostragem de indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Processo de sedação de um indivíduo de <i>S. nigritus</i> ; B: Equipe atuando na identificação individual e na coleta de amostras biológicas.....	34
Figura 14 - Microfilárias observadas ao microscópio óptico binocular, em lâminas de esfregaço sanguíneo de indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, fotografadas em um aumento de 400X. Barra de escala: 20 µm.....	41
Figura 15 - Géis de agarose a 1,5% com os <i>amplicons</i> da região <i>ITS1</i> (A) e do gene <i>12S rDNA</i> (B) de microfilárias em indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	42
Figura 16 - Gel de agarose a 1,5% com os <i>amplicons</i> do gene <i>18S rDNA</i> de <i>Trypanosoma</i> sp. em indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	42
Figura 17 - Representação das características morfológicas das microfilárias de nematóides filarídeos, incluindo a presença de bainha, formato da cauda e o arranjo da coluna nuclear...	51
Figura 18 - Esquema com a representação da medida do comprimento total (C) e da largura (L) das microfilárias detectadas nos indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> (Primates: Cebidae) da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	57
Figura 19 - Análises clínicas realizadas nos indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Frequência cardíaca sendo mensurada por auscultação, utilizando estetoscópio neonatal; B: Temperatura corporal aferida por via retal com termômetro digital.....	58
Figura 20 - Árvore filogenética com base no método de Máxima Verossimilhança a partir de fragmentos de 440-496 pb da região <i>ITS1</i> de microfilárias detectadas em amostras de sangue de oito indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. As sequências em cinza representam as amostras analisadas neste estudo.....	62
Figura 21 - Microfilárias de <i>Mansonella</i> sp. apresentando curto espaço cefálico com dois núcleos e cauda romba com núcleos até a extremidade (setas), observadas em esfregaço sanguíneo de <i>Sapajus nigritus</i> capturado na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. Barra de escala: 20 µm.....	63
Figura 22 - Agregado plaquetário e microfilária observados em esfregaço sanguíneo de <i>Sapajus nigritus</i> capturado na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	67

Figura 23 - Modelo linear multivariado mostrando a relação entre os parâmetros hematológicos da série vermelha e a carga parasitária de <i>Mansonella</i> sp. em 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	74
Figura 24 - Modelo linear multivariado mostrando a relação entre os parâmetros hematológicos da série branca e a carga parasitária de <i>Mansonella</i> sp. em 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	75
Figura 25 - Análise de correlação mostrando os efeitos positivos e negativos na relação entre a carga parasitária de <i>Mansonella</i> sp. e todos os parâmetros hematológicos em 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Lista dos <i>primers</i> utilizados nas Reações em Cadeia da Polimerase para detecção dos hemoparasitos microfilária, <i>Trypanosoma</i> , <i>Borrelia</i> e <i>Plasmodium</i> em <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, incluindo o tamanho do amplicon esperado.....	39
Tabela 2: Características morfométricas e morfológicas de três espécies de <i>Mansonella</i> : <i>M. perstans</i> , <i>M. ozzardi</i> e <i>M. streptocerca</i>	50
Tabela 3 - Marcadores moleculares utilizados para identificar microfilárias por meio da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase, detalhando o tipo (nuclear ou mitocondrial), tamanho do fragmento e sua respectiva referência.....	52
Tabela 4: Espécies do gênero <i>Sapajus</i> contempladas em estudos hematológicos conforme o contexto de amostragem e referências bibliográficas.....	54
Tabela 5 - Comparação das características morfológicas e morfométricas das microfilárias detectadas neste estudo em relação a <i>Mansonella ozzardi</i> , <i>M. perstans</i> e <i>M. streptocerca</i>	63
Tabela 6 - Carga parasitária de <i>Mansonella</i> sp. de cada indivíduo de <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, incluindo dados sobre sexo e idade.....	64
Tabela 7 - Parâmetros clínicos de 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, separados por classe etária e sexo, expressos como média $\pm$ desvio padrão.....	66
Tabela 8 - Parâmetros hematológicos de 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, com os respectivos valores de referência para o gênero <i>Sapajus</i>	68
Tabela 9 - Parâmetros hematológicos de 16 machos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados por faixa etária.....	70
Tabela 10 - Parâmetros hematológicos de 18 indivíduos adultos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados por sexo.....	71
Tabela 11 - Parâmetros hematológicos de 26 indivíduos de <i>Sapajus nigritus</i> capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados de acordo com o <i>status</i> parasitário avaliado por meio da microscopia.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DIE	Doenças Infecciosas Emergentes
PNH	Primatas Não Humanos
FA	Febre Amarela
PN	Primatas Neotropicais
APA	Área de Proteção Ambiental
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
IUCN	International Union for Conservation of Nature
DC	Doença de Chagas
OMS	Organização Mundial da Saúde
DL	Doença de Lyme
SBY	Síndrome de Baggio-Yoshinari
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
IM	Ilha da Marambaia
CADIM	Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia
cm	Centímetros
m	Metros
km	Quilômetros
km ²	Quilômetros quadrados
mg	Miligrama
Kg	Quilograma
mm	Milímetro
mL	Mililitro
min	Minutos
s	Segundos
h	Horas
ng	Nanograma
μL	Microlitro
μM	Micromolar
<i>ITS1</i>	<i>Internal Transcribed Spacer 1</i>
<i>18S rDNA</i>	gene do DNA ribossômico que codifica o <i>RNA ribossômico 18S</i>
<i>5.8S rDNA</i>	gene do DNA ribossômico que codifica o <i>RNA ribossômico 5.8S</i>
mM	Milimolar
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio

dNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
U	Unidades
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
LGA	Laboratório de Genética Animal
ICBS	Instituto de Ciências Biológica e da Saúde
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
pb	pares de bases
<i>SnM-PCR</i>	<i>semi-nested multiplex-PCR</i>
IMS	Ilha da Marambaia <i>Sapajus</i>
M	Macho
F	Fêmea
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
<i>OR</i>	<i>Odds Ratio</i>
IM	Ilha da Marambaia
CP	Controle positivo
L	<i>Ladder</i>
IgE	Imunoglobulina E
C	Comprimento
L	Largura
µm	Micrômetros
bpm	Batimentos por minuto
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
VG	Volume Globular
VCM	Volume Corpuscular Médio
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
PPT	Proteínas Plasmáticas Totais
DP	Desvio Padrão
EP	Erro Padrão
IC	Intervalo de Confiança
N	Número amostral

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus celsius
%	Porcentagem
x	Vezez
*	Significativo ($p < 0.05$)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 CAPÍTULO I: Análise da ocorrência de hemoparasitos em <i>Sapajus nigritus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, por meio da microscopia óptica e da Reação em Cadeia da Polimerase.....	8
2.1 Introdução.....	9
2.1.1 Hemoparasitos e sua importância.....	9
2.1.2 Os Primatas como Sentinelas em Saúde Pública.....	10
2.1.3 O gênero <i>Sapajus</i> e a espécie <i>Sapajus nigritus</i>	12
2.1.4 A Ilha da Marambaia e o contexto <i>One Health</i>	15
2.1.5 Hemoparasitos a serem investigados em <i>Sapajus nigritus</i> na Ilha da Marambaia....	16
2.1.5.1 Microfilárias.....	16
2.1.5.2 <i>Plasmodium</i> sp.....	19
2.1.5.3 <i>Borrelia</i> sp.....	22
2.1.5.4 <i>Trypanosoma</i> sp.....	24
2.1.6 Métodos diagnósticos.....	27
2.1.7 Justificativa.....	29
2.1.8 Objetivos.....	30
2.1.8.1 Objetivos específicos.....	30
2.2 Material e Métodos.....	31
2.2.1 Área de estudo.....	31
2.2.2 Captura, sedação e identificação individual.....	31
2.2.3 Coleta de amostra biológica e preparação dos esfregaços sanguíneos.....	34
2.2.4 Retorno anestésico, soltura e monitoramento pós-soltura.....	35
2.2.5 Análise microscópica.....	35
2.2.6 Análise genética molecular.....	35

2.2.6.1 Detecção de microfilárias por PCR.....	35
2.2.6.2 Detecção de <i>Trypanosoma</i> sp. por PCR.....	36
2.2.6.3 Detecção de <i>Plasmodium</i> sp. por PCR.....	36
2.2.6.4 Detecção de <i>Borrelia</i> sp. por PCR.....	37
2.2.7 Análise estatística para comparar a eficácia entre a microscopia e a PCR.....	40
2.3 Resultados e Discussão.....	40
2.3.1 Análise microscópica.....	40
2.3.2 Análise genética molecular.....	41
2.3.3 Análise estatística para comparar a eficácia entre a microscopia e a PCR.....	43
3 CAPÍTULO II: Análise da relação parasito-hospedeiro entre <i>Mansonella</i> sp. e indivíduos de <i>Sapajus nigratus</i> da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, por meio de dados clínicos e hematológicos.....	47
3.1 Introdução.....	48
3.1.1 Relação parasito-hospedeiro.....	48
3.1.2 Identificação das microfilárias.....	50
3.1.3 Impactos clínicos e hematológicos decorrentes de infecções por filarídeos.....	53
3.1.4 Justificativa.....	55
3.1.5 Objetivos.....	55
3.1.5.1 Objetivos específicos.....	55
3.2 Material e Métodos.....	56
3.2.1 Purificação dos <i>amplicons</i> e sequenciamento.....	56
3.2.2 Análise filogenética.....	56
3.2.3 Análise microscópica.....	57
3.2.4 Índices epidemiológicos e carga parasitária.....	57
3.2.5 Análise clínica.....	58
3.2.6 Parâmetros hematológicos.....	59
3.2.7 Análise estatística.....	60

3.3 Resultados e Discussão.....	61
3.3.1 Identificação da microfilária através da genética molecular.....	61
3.3.2 Identificação da microfilária através da microscopia.....	62
3.3.3 Índices epidemiológicos e carga parasitária.....	63
3.3.4 Análise clínica dos indivíduos de <i>Sapajus nigrinus</i>	65
3.3.5 Parâmetros hematológicos dos indivíduos de <i>Sapajus nigrinus</i>	67
3.3.6 Análise estatística entre a carga parasitária e os parâmetros hematológicos.....	73
4. CONCLUSÕES.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
ANEXOS.....	98
ANEXO A - DADOS REFERENTES AOS MACACOS-PREGO, <i>Sapajus nigrinus</i> , CAPTURADOS NOS QUATRO PONTOS DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ (continua).....	98
ANEXO B - SEQUÊNCIAS DO <i>ITS1</i> PARA IDENTIFICAÇÃO DAS MICROFILÁRIAS PRESENTES NOS INDIVÍDUOS DE <i>Sapajus nigrinus</i> DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ, COM SEUS RESPECTIVOS CÓDIGOS DE ACESSO DO GenBank (continua).....	101
ANEXO C - DESCRIÇÃO DAS SEQUÊNCIAS DO <i>ITS1</i> DO GenBank UTILIZADAS NESSE ESTUDO.....	103

1 INTRODUÇÃO

O presente estudo teve como objetivo realizar um levantamento inédito dos hemoparasitos em macacos-prego, *Sapajus nigritus* Goldfuss 1809, da Ilha da Marambaia (IM) por meio da microscopia e análise genética molecular. Até o momento, apenas um estudo investigou hemoparasitos em aves na IM (Brum *et al.*, 2016), restrito à microscopia, com o relato da ocorrência de três agentes infecciosos: a bactéria *Borrelia* sp., o protozoário *Plasmodium* sp. e microfilárias de nematóides filarídeos. A presença de um parasito em um determinado local justifica a investigação em outros hospedeiros no mesmo ambiente. Tal medida é essencial para mapear a distribuição geográfica, avaliar a capacidade de infectar outros animais, o impacto patogênico e monitorar enfermidades. Desse modo, esta dissertação visa elucidar três aspectos centrais: (i) a riqueza de hemoparasitos em macacos-prego da IM; (ii) os índices epidemiológicos de prevalência, abundância e intensidade média da infecção; (iii) a dinâmica da relação parasito-hospedeiro entre as microfilárias e os indivíduos de *S. nigritus* amostrados da IM.

Os dados estão organizados em dois capítulos. O primeiro, intitulado “Análise da ocorrência de hemoparasitos em indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, por meio da microscopia óptica e da Reação em Cadeia da Polimerase/PCR”, investiga a ocorrência de quatro hemoparasitos: os três já relatados na avifauna local (*Borrelia* sp., *Plasmodium* sp. e microfilárias) acrescidos da pesquisa pelo protozoário *Trypanosoma* sp. A triagem inicial foi realizada pela microscopia óptica, com o exame de esfregaços sanguíneos para a detecção de hemoparasitos. Para a análise molecular via PCR, foram utilizados marcadores específicos: o *ITS1* para detectar microfilárias; o *18S rDNA* para *Trypanosoma* sp.; o *ssrRNA* para *Plasmodium* e o gene *flaB* para *Borrelia* sp.

O segundo capítulo, intitulado “Análise da relação parasito-hospedeiro entre *Mansonella* sp. e indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, através de dados clínicos e hematológicos”, aborda a identificação taxonômica das microfilárias e a avaliação de seu impacto na saúde dos primatas. A caracterização do parasito integrou as abordagens microscópica e molecular, ao passo que a condição clínica dos hospedeiros foi aferida por meio de exames clínicos e hematológicos. Adicionalmente, foram calculados três índices epidemiológicos e a carga parasitária individual. Por fim, análises estatísticas avaliaram possíveis correlações entre essa carga e os parâmetros biológicos dos macacos-prego.

CAPÍTULO I

ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DE HEMOPARASITOS EM *Sapajus nigrinus* DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ, POR MEIO DA MICROSCOPIA ÓPTICA E DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE.

2 CAPÍTULO I: Análise da ocorrência de hemoparasitos em *Sapajus nigrinus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, por meio da microscopia óptica e da Reação em Cadeia da Polimerase.

RESUMO

O macaco-prego, *Sapajus nigrinus*, assim como outros primatas, pode compartilhar parasitos com os seres humanos devido à proximidade ecológica entre essas espécies. Diversos agentes infecciosos têm sido relatados em *Sapajus* spp., incluindo *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp. e microfilárias, comumente investigados por microscopia e PCR. Na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, vivem espécimes de *S. nigrinus* próximos a áreas habitadas, contudo, até o momento, não havia investigação sobre a hemoparasitofauna nesses animais. Este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de hemoparasitos em indivíduos de *S. nigrinus* da Ilha da Marambaia por meio da microscopia óptica e da PCR, além de comparar a eficácia dessas duas metodologias. Os macacos-prego foram capturados com armadilhas Tomahawk, sedados para a coleta de sangue e preparo de lâminas de esfregaço sanguíneo para posterior análise. Parte da amostra biológica foi utilizada para extração de DNA com o protocolo fenol-clorofórmio. Na análise molecular foram utilizados marcadores específicos: *ITS1* para detecção de microfilárias, *18S rDNA* para *Trypanosoma* sp., *ssrRNA* para *Plasmodium* sp. e *flaB* para *Borrelia* sp. O teste de McNemar foi utilizado para comparar a eficácia metodológica entre microscopia e PCR. De um total de 27 indivíduos de *S. nigrinus* capturados, microfilárias foram detectadas em 25 (92,59%) pela região *ITS1*, em 27 pelo gene *12 rDNA* (PCR) e em 22 (81,48%) pela microscopia. *Trypanosoma* sp. foi detectado em dois indivíduos, exclusivamente pela PCR. *Plasmodium* sp. e *Borrelia* sp. não foram detectados por nenhuma das metodologias. Apesar do maior número de detecções de hemoparasitos por PCR, não houve diferença significativa ($p = 0,248$) na eficácia das metodologias diagnósticas. Conclui-se que os indivíduos de *S. nigrinus* amostrados da Ilha da Marambaia apresentam alta prevalência de microfilárias, baixa de *Trypanosoma* sp., e que a integração da microscopia e da PCR minimiza o diagnóstico de falsos negativos, garantindo a acurácia.

Palavras-chave: Microfilária, *Trypanosoma*, Diagnóstico.

2.1 Introdução

2.1.1 Hemoparasitos e sua importância

A parasitologia pode ser definida amplamente como o ramo da ecologia em que um organismo serve de ambiente para outro (Levine, 1968). Os parasitos são definidos como organismos que vivem em associação com hospedeiros, dos quais obtêm proteção e recursos nutricionais (Neves *et al.*, 2018). Sob uma perspectiva ecológica, eles integram as teias alimentares como consumidores, ocupando nichos tão fundamentais quanto os de outros seres vivos (Rey, 2010). Os parasitos podem viver dentro ou fora do corpo do hospedeiro, sendo chamados de endoparasitos e ectoparasitos, respectivamente (Neves *et al.*, 2018). Já os hemoparasitos são endoparasitos encontrados no sangue do hospedeiro e, em sua maioria, transmitidos por artrópodes hematófagos (Araújo *et al.*, 2022).

Evidências indicam que os parasitos desempenham papel fundamental na manutenção dos ecossistemas, ao influenciarem a dinâmica populacional dos hospedeiros, contribuir para a estruturação de teias alimentares, e participarem da ciclagem de nutrientes e dos processos evolutivos (Hatcher *et al.*, 2012; Jephcott *et al.*, 2016). Em razão desses serviços ecossistêmicos, esses organismos respondem de forma sensível a distúrbios antropogênicos, incluindo a fragmentação dos habitats, mudanças climáticas, poluição e alterações na composição das comunidades de hospedeiros (Cable *et al.*, 2017). Diante disso, além de atuarem como bioindicadores da saúde e desequilíbrio ambiental, os parasitos são determinantes na avaliação do estado sanitário da fauna. A estreita relação com seus hospedeiros acarreta implicações para ambos que transcendem diferentes escalas temporais, manifestando-se desde infecções individuais até surtos epidêmicos (Hudson *et al.*, 1982).

As Doenças Infecciosas Emergentes (DIE) em animais silvestres de vida livre podem ser classificadas em três categorias: (i) associadas a transmissão de patógenos de animais domésticos para animais silvestres por meio do contato próximo; (ii) relacionadas a intervenções humanas; e (iii) aquelas sem envolvimento direto de animais domésticos ou humanos, nas quais os animais silvestres atuam como reservatórios de patógenos com potencial de infecção para outras espécies ou que representam uma ameaça à sobrevivência das populações silvestres (Daszak *et al.*, 2000). Nesse contexto, o conceito de Saúde Única (*One Health*), que reconhece a interdependência entre a saúde humana, a saúde animal e o meio ambiente (Nederlof *et al.*, 2025), torna-se particularmente relevante em estudos envolvendo a fauna silvestre e patógenos com potencial zoonótico.

2.1.2 Os Primatas como Sentinelas em Saúde Pública

Os Primatas Não Humanos (PNH) são hospedeiros naturais de diversos parasitos (Strait *et al.*, 2012). Em razão da sua proximidade filogenética com os seres humanos, que engloba aspectos físicos e cognitivos, os PNH desempenham um papel importante na pesquisa biomédica e na abordagem de Saúde Única (Phillips *et al.*, 2014; Votypka *et al.*, 2020).

Podemos citar como exemplo, o caso da Febre Amarela (FA), causada pelo Vírus da Febre Amarela (VFA), pertencente ao gênero *Flavivirus* e família *Flaviviridae* (Figueiredo *et al.*, 2020). É uma doença viral grave presente na África e na América do Sul, que afeta tanto os humanos quanto os PNH (Nederlof *et al.*, 2025). No Brasil, o VFA é transmitido por mosquitos infectados, *Haemagogus* e *Sabethes*, envolvidos no ciclo silvestre (Mares-Guia *et al.*, 2020). Os primatas possuem um papel importante como sentinelas para o monitoramento da doença, pois são considerados os principais hospedeiros no ciclo silvestre (BRASIL, 2018). Entre janeiro de 2016 e dezembro de 2017, sete países da América do Sul confirmaram casos da FA (Mares-Guia *et al.*, 2020). No Brasil, 1659 epizootias, 779 casos em seres humanos e 262 mortes foram registrados neste período, ocorrendo em sua maioria no Sudeste do país (BRASIL, 2018). Essa foi a mais severa epidemia de FA em 80 anos (Dietz *et al.*, 2019). No ciclo de monitoramento seguinte (julho de 2017 a junho de 2018), os números se elevaram significativamente: foram notificados 6.157 epizootias (704 confirmadas) e 5.052 casos humanos suspeitos, dos quais 1.127 foram confirmados, resultando em 331 óbitos (BRASIL, 2018). O impacto sobre a fauna silvestre foi devastador. Estima-se que mais de seis mil PNH tenham morrido nos estados de São Paulo e Espírito Santo apenas em 2017 (Fioravanti, 2018). No Rio de Janeiro, 752 mortes de primatas foram atribuídas à FA no mesmo período (Dietz *et al.*, 2019). Embora a transmissão em humanos tenha diminuído após as campanhas de vacinação iniciadas em 2017, as epizootias persistiram (BRASIL, 2018).

A vacinação é a principal ferramenta de prevenção contra FA no Brasil. A vacina comercial viva atenuada FA 17DD, produzida pela Fundação Oswaldo Cruz desde o final da década de 1930, foi incorporada ao Calendário Nacional de Vacinação em 1994, sendo recomendada para crianças a partir de 9 meses de idade (Domingues *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2021). Apesar da comprovada imunogenicidade e segurança em humanos, essa estratégia não interfere diretamente no ciclo silvestre do vírus, o que explica a persistência de epizootias. Nesse contexto, os bugios-ruivo, *Alouatta* sp., são amplamente afetados pela FA, sendo este gênero de PNH considerado o mais suscetível (Araújo *et al.*, 2011; Ferreguete *et*

al., 2020). Durante o período de surto de 2008 a 2009, foi relatada a morte de 2.013 bugios (Almeida *et al.*, 2012). A epidemia ocorrida de 2017 a 2018 representou uma ameaça à população da espécie que ocorre no Rio de Janeiro, *Alouatta guariba clamitans*, considerada como “Vulnerável” pela Lista Vermelha da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) (Ferreguete *et al.*, 2020). Outro marco alarmante ocorreu em maio de 2018, quando foi documentada a primeira morte por FA de um mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) (BRASIL, 2018). O evento também é crítico para a conservação, uma vez que essa espécie é classificada como “Em Perigo” pela IUCN. Consequentemente, observou-se um declínio de 32% no tamanho populacional da espécie em 2018, em comparação com os dados de 2014, que podem ser atribuídos à FA (Dietz *et al.*, 2019). Diante desse cenário, a vacina viva atenuada FA 17DD contra a FA foi aplicada experimentalmente em PNH com objetivo conservacionista, visando impedir a mortalidade em bugios e micos-leão-dourado e reduzir as epizootias (Miranda *et al.*, 2022). Estudos indicam que a vacinação em PNH apresenta perfil seguro e eficaz, caracterizado por baixa viremia e reduzida capacidade de infecção em mosquitos vetores, sem evidência de risco de manutenção do ciclo de transmissão (Miranda *et al.*, 2022; Fernandes *et al.*, 2021)

Primatas Neotropicais (PN) frequentemente não apresentam sinais clínicos evidentes ou até mesmo nenhum antes do óbito (Nederlof *et al.*, 2025). No entanto, a vigilância de doenças em fauna silvestre, incluindo a observação dos animais em campo e a interpretação dos dados obtidos são desafiadoras e escassas (Ryser-Degiorgis, 2013). Infecções por patógenos podem estar associadas a alterações comportamentais sutis, como letargia, anorexia, perda de peso corporal e diminuição do *grooming*, caracterizando os chamados “comportamentos de doença” (Hart, 1988). Além disso, evidências provenientes de primatas do Velho Mundo, como *Chlorocebus pygerythrus*, indicam que indivíduos febris podem sofrer alterações nas interações sociais, recebendo o dobro de agressão e maior probabilidade de se ferirem em comparação com a indivíduos afebris (McFarland *et al.*, 2021). A dificuldade de detecção de sinais clínicos e comportamentais contribui para a subnotificação de casos, resultando em impactos significativos para as populações de primatas. Estima-se que apenas 10% dos primatas silvestres vitimados pela FA foram efetivamente examinados (Fioravanti, 2018). Essa subnotificação reforça a necessidade imperativa de investigar as causas de morte de PNH, estratégia que serve também como vigilância sentinela para futuros surtos em humanos (Nederlof *et al.*, 2025). Existe, contudo, variação na sensibilidade à infecção entre os gêneros. Dentre os PN, os mais suscetíveis à FA são os bugios (*Alouatta* sp.) e saguis

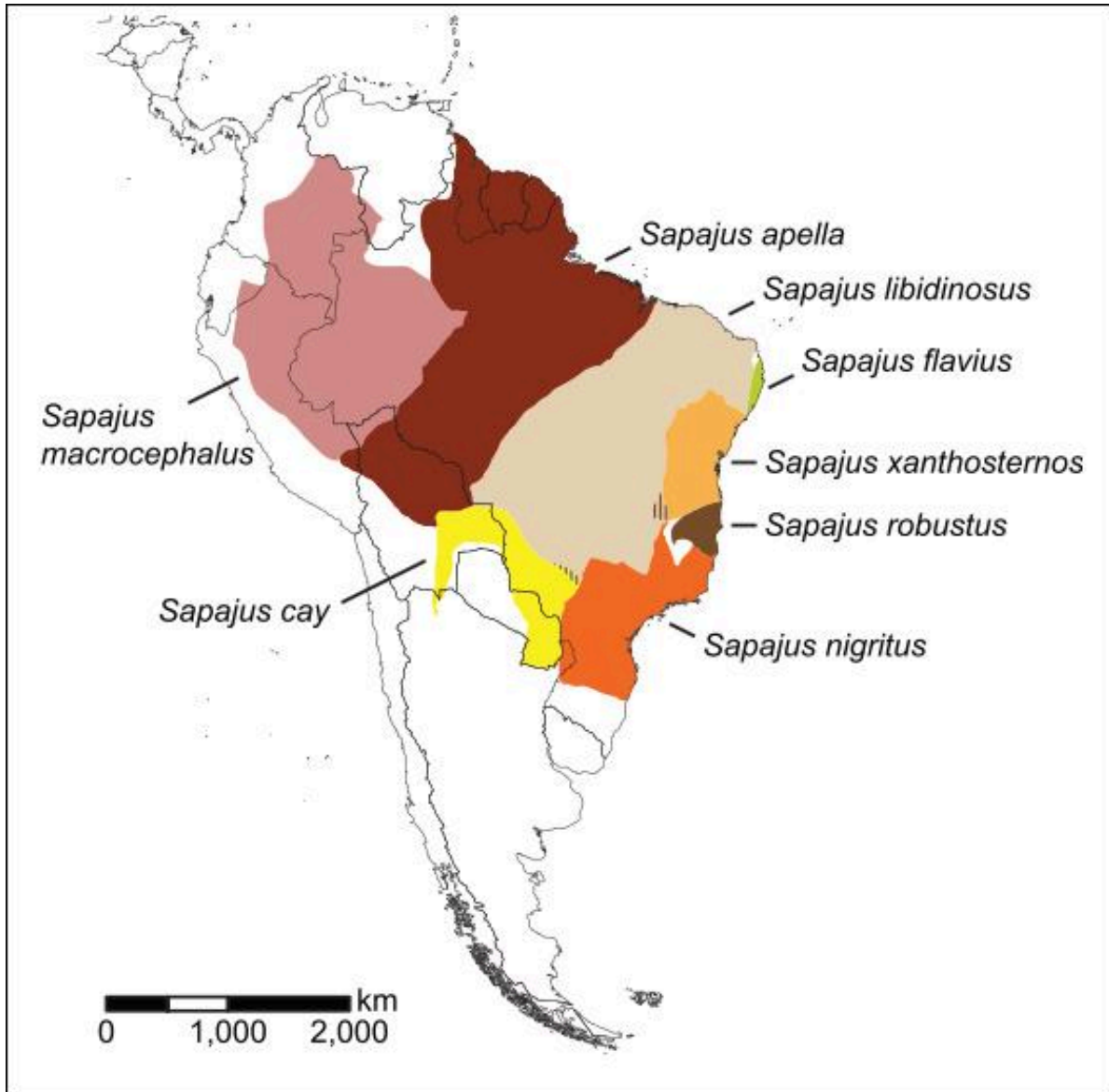
(*Callithrix* sp.), enquanto macacos-prego (*Sapajus* sp.), macacos titis (*Callicebus* sp.) e macacos-de-cheiro (*Saimiri* sp.) são considerados mais resistentes (Mares-Guia *et al.*, 2020).

Além do vírus da Febre Amarela, diversos hemoparasitos que infectam os PNH apresentam potencial zoonótico ou já são reconhecidos como agentes infecciosos em humanos. Entre eles, destacam-se as microfilárias e os gêneros *Plasmodium* sp., *Borrelia* sp. e *Trypanosoma* sp. Ressalta-se que na Ilha da Marambaia (IM), a circulação dos três primeiros agentes já foi detectada em aves por meio da microscopia (Brum *et al.*, 2016).

2.1.3 O gênero *Sapajus* e a espécie *Sapajus nigrinus*

Os macacos-prego, *Sapajus* sp. Kerr, 1792 (Platyrrhini: Cebidae), são PN com ampla distribuição pela América do Sul (Lynch-Alfaro *et al.*, 2012a). Atualmente, são reconhecidas oito espécies: *S. macrocephalus*, *S. apella*, *S. libidinosus*, *S. flavius*, *S. xanthosternus*, *S. cay*, *S. robustus* e *S. nigrinus* (Lynch-Alfaro *et al.*, 2012b), as quais ocupam grande parte do território brasileiro (Lynch-Alfaro *et al.*, 2012a; Delval *et al.*, 2024) (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição geográfica das espécies de *Sapajus* sp. (Primates: Cebidae) na América do Sul.



Fonte: Lynch-Alfaro *et al.* (2012a).

Classificações anteriores, baseadas em características fenotípicas, propuseram a subdivisão de *S. nigritus* em duas subespécies: *S. n. nigritus* e *S. n. cucullatus* (Groves, 2001; Rylands *et al.*, 2013). Atualmente, análises genéticas de DNA mitocondrial sugerem a separação desses táxons em duas espécies distintas: *S. nigritus*, associada à porção norte da distribuição, e *S. cucullatus*, restrita à porção sul, (Rylands & Mittermeier, 2024; Szyrwelski *et al.*, 2024), como demonstrado na Figura 1. Não obstante, o presente estudo adota a classificação conservadora, considerando *S. nigritus* como espécie única para toda a área de abrangência.

Sapajus nigritus é endêmico da Mata Atlântica, com distribuição que se estende ao sul do Rio Doce, nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, até a região Sul do Brasil, alcançando os municípios de Porto Alegre e Santa Cruz. Sua ocorrência abrange, ainda, a província de Misiones, no nordeste da Argentina (Fragaszy *et al.*, 2004; Vilanova *et al.*, 2005; Szyrwelski *et al.*, 2024). A pelagem apresenta coloração marrom-escura, podendo ser enegrecida. Os membros são mais escuros do que o restante do corpo, enquanto a região peitoral possui tom avermelhado (Fragaszy *et al.*, 2004), padrão que pode variar de acordo com a região geográfica. A face possui coloração mais clara contrastando com o capuz escuro e tufos proeminentes que podem ser eretos, voltados para os lados ou para frente (Figura 2). Contudo, a presença de tufos depende do estágio de desenvolvimento (variação ontogenética), sendo ausente em infantes e juvenis, mas presente em subadultos e adultos (Izawa, 1980).

Figura 2 - Indivíduo de *Sapajus nigritus*.



Fonte: BioDiversity4All; foto de Eden Fontes.

Segundo a IUCN, o *status* de conservação de *S. nigritus* é classificado como “*Near Threatened*” ou “Quase Ameaçado”, principalmente devido à fragmentação do habitat (Martins *et al.*, 2019). Considerada uma espécie onívora e com plasticidade trófica, esses macacos-prego conseguem sobreviver em fragmentos florestais, incluindo ambientes

antropizados (Brown & Zunino, 1990). Consequentemente, é frequentemente estigmatizado como praga por produtores rurais (Ludwig *et al.*, 2005). Entretanto, estudos demonstram que esses primatas prestam serviços ecossistêmicos essenciais, atuando no controle biológico de insetos tanto em ambientes florestais quanto em plantações agrícolas (Mikich *et al.*, 2015; Liebsch *et al.*, 2018). Tal comportamento deve-se ao fato de os invertebrados constituírem uma importante fonte de proteína para a espécie, especialmente durante a estação seca (Rothman *et al.*, 2014; Medeiros *et al.*, 2024).

O convívio estreito em áreas antropizadas expõe *S. nigritus* e os seres humanos ao compartilhamento de diversos patógenos. Já foi detectada em *Sapajus* spp. a presença de bactérias como *Leptospira* spp. e *Mycoplasma* spp., além de protozoários (*Toxoplasma gondii*, *Leishmania* sp., *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp.) e helmintos (*Dipetalonema* sp.). Víruses de importância médica, como a já citada Febre Amarela, Zika, Encefalite de Saint Louis, Raiva, Hepatite A, Papilomavírus e Vaccinia, também já foram registradas (Oliveira & Santos, 2023; Pereira *et al.*, 2023).

2.1.4 A Ilha da Marambaia e o contexto *One Health*

A Ilha da Marambaia (IM) apresenta longa história de ocupação humana (Kneip & Oliveira, 2005), desde os séculos XVIII e XIX, período em que existiam as atividades cafeeiras e postos de acolhimento e triagem de pessoas escravizadas (Pereira *et al.*, 1990; Conde *et al.*, 2005). Com a abolição da escravidão em 1888, as fazendas de café entraram em declínio, sendo a região da IM vendida pelos herdeiros. A população remanescente de quilombo permaneceu no território, mantendo atividades de subsistência, como a agricultura familiar e a pesca (Nóbrega, 2004). Atualmente, a região conta com mais de 430 moradores das populações descendentes de pessoas escravizadas, segundo levantamento feito pela própria comunidade em 2014 e informado pelo líder, Sr. Nilton Alves, da Associação de Moradores Remanescentes de Quilombo da Ilha da Marambaia (ARQIMAR) (Penedo, 2016; FUNDO BRASIL, 2026). A ARQIMAR atuou fortemente na estruturação da comunidade e na garantia de titulação do território por meio do acordo assinado no final de 2014 (O GLOBO, 2026). Também fazem parte da comunidade os servidores da Marinha do Brasil, que atuam no Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia (CADIM). Esta instituição realiza treinamentos no local desde o século XX, quando a Ilha foi comprada pela União (Nóbrega, 2004). A IM é considerada preservada e sob proteção legal, uma vez que está inserida na Área de Proteção Ambiental (APA) de Mangaratiba, instituída pelo Decreto Estadual nº

9.802/87 (RIO DE JANEIRO, 1987), reforçando a garantia de conservação do ecossistema local (Lourenço *et al.*, 2010).

Com a presença humana, os animais domésticos se fazem presentes. Estudos prévios documentaram a ocorrência de vetores e soropositividade para *Leishmania* spp. nos cães da região, indicando a circulação ativa da zoonose Leishmaniose Visceral Canina (LVC) na área (Novo *et al.*, 2013; Carmo *et al.*, 2014).

Nessa região também vivem animais silvestres, incluindo espécimes de macacos-prego-preto, *Sapajus nigritus*. Segundo Penedo (2016), relatos da comunidade indicam que esses primatas habitam a IM há pelo menos 130 anos. Nota-se, contudo, um aumento na frequência dos avistamentos ao longo do tempo. Uma das hipóteses para esse fenômeno é a alteração comportamental e a aproximação dos animais às áreas próximas aos domicílios, motivada pelo forrageamento em cultivos de subsistência. Tal premissa é corroborada pelo aumento dos registros visuais durante as épocas de frutificação (Penedo, 2016).

Neste contexto, a IM configura um cenário representativo da perspectiva *One Health* (Saúde Única). Este conceito reconhece que a saúde humana, animal e ecossistêmica está interconectada, com ênfase nas consequências, respostas e ações em face de zoonoses endêmicas e emergentes (Mackenzie & Jeggo, 2019). A coexistência de populações humanas, animais domésticos e silvestres em uma determinada área propicia diversas interfaces ecológicas, que podem influenciar a circulação e a manutenção de agentes infecciosos. Além disso, a ocorrência de uma zoonose estabelecida na região, a LVC, associada ao relato de três hemoparasitos (microfilárias, *Plasmodium* e *Borrelia*) com potencial zoonótico em aves, reforça a relevância dessa abordagem.

2.1.5 Hemoparasitos a serem investigados em *Sapajus nigritus* na Ilha da Marambaia

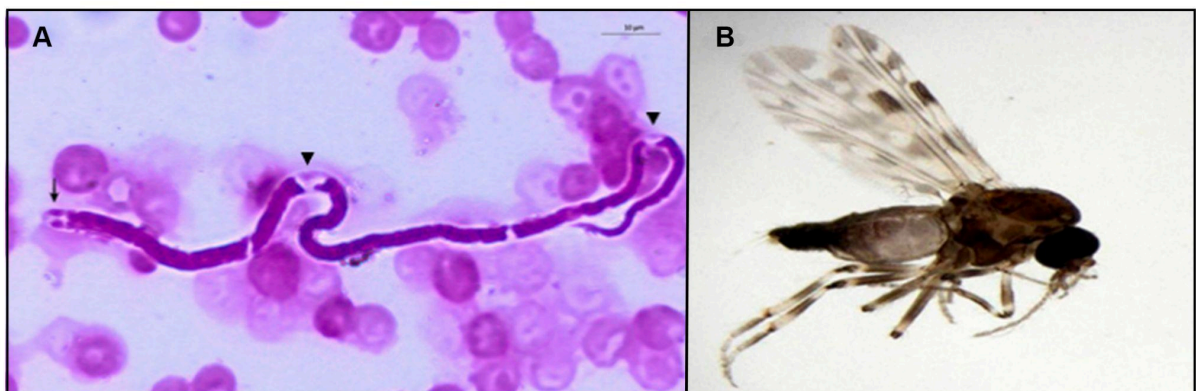
2.1.5.1 Microfilárias

A microfilária corresponde à fase larval (Figura 3A) circulante do ciclo de vida dos filarídeos. Estes, parasitos nematóides, em sua fase adulta, se localizam nas cavidades ou tecidos corporais do hospedeiro definitivo (Rey, 2010; Strait *et al.*, 2012). Os filarídeos da ordem Spirurida, família Onchocercidae, estão divididos em diversos gêneros. Dentre as espécies de importância médica global, destacam-se: *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca volvulus*, *Brugia malayi*, *Loa loa*, *Mansonella ozzardi*, *M. perstans* e *M. streptocerca* (Rey, 2010; Ta-Tang *et al.*, 2018). As três últimas são os agentes etiológicos da mansonelose,

considerada como a filariose humana mais negligenciada (Mediannikov & Ranque, 2018; Ritter *et al.*, 2025). A mansonelose apresenta ampla distribuição geográfica na África e na América Latina (Ta-Tang *et al.*, 2018). Estima-se que mais de 100 milhões de indivíduos estejam infectados com cerca de 600 milhões vivendo em áreas de risco (Debrah *et al.*, 2017). Dentre as espécies que infectam humanos, a *M. streptocerca* está restrita à região africana (Ta-Tang *et al.*, 2018). No Brasil, *M. perstans* foi identificada apenas na porção norte da Floresta Amazônica (Ta-Tang *et al.*, 2018; Medeiros *et al.*, 2023). Já *M. ozzardi* possui uma distribuição geográfica mais ampla, ocorrendo em grande parte da região Amazônica, incluindo os estados de Roraima, Mato Grosso e Acre (Medeiros *et al.*, 2023).

As microfilárias de *Mansonella* são transmitidas por dípteros hematófagos pertencentes a duas famílias. Os ceratopogonídeos (família Ceratopogonidae), conhecidos popularmente como mosquitos-pólvora ou maruins (Figura 3B), atuam como vetores das três espécies. Por outro lado, os simulídeos (família Simuliidae), ou moscas-negras, transmitem *M. ozzardi* em algumas regiões da América Latina (Ta-Tang *et al.*, 2018). Quanto à localização dos vermes adultos no hospedeiro, os espécimes de *M. perstans* alojam-se nas cavidades corporais serosas, principalmente peritoneais, podendo ocorrer também no tecido subcutâneo. Já *M. ozzardi* habita a cavidade torácica e os mesentérios da cavidade peritoneal. Por fim, *M. streptocerca* restringe-se aos tecidos subcutâneos da derme (Ta-Tang *et al.*, 2018).

Figura 3 - Microfilária e um de seus vetores. A: Microfilária do gênero *Mansonella* sp. visualizada em esfregaço sanguíneo; B: Díptero hematófago, *Culicoides milnei*.

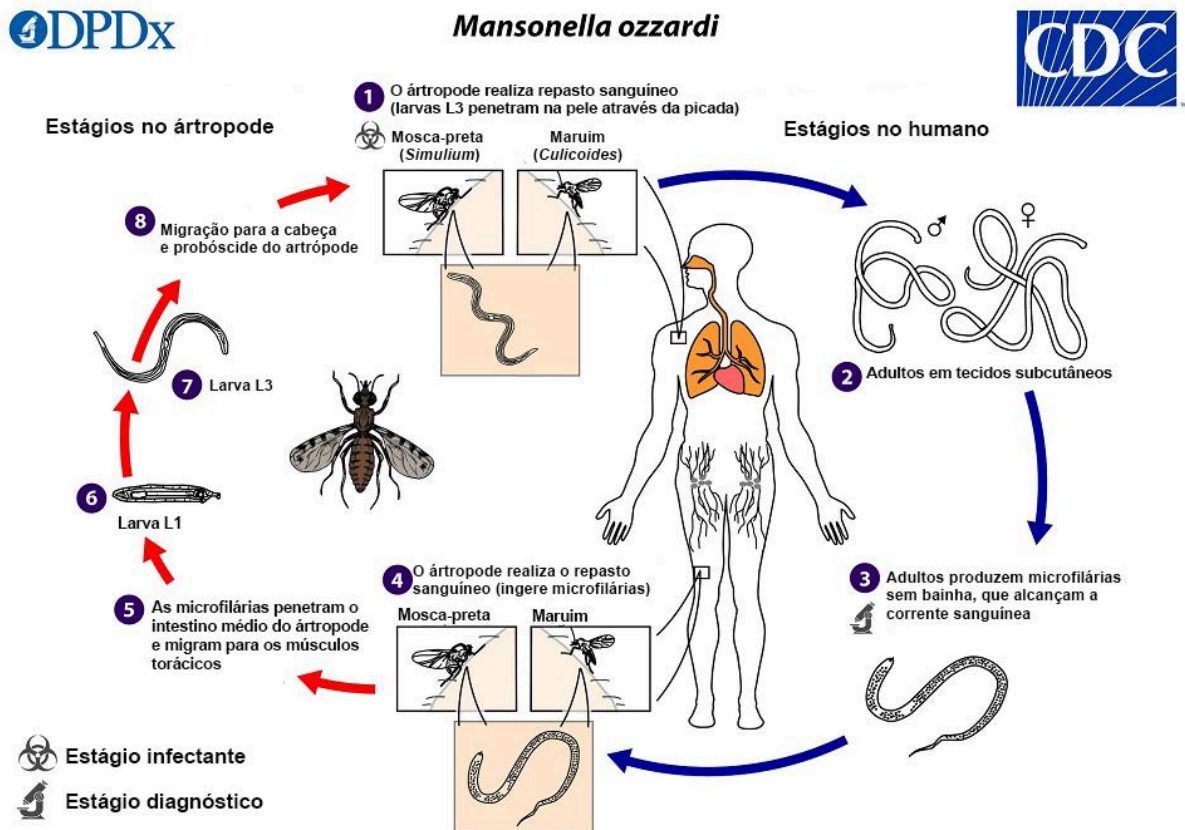


Fonte: A - Perles *et al.* (2023); B - Ritter *et al.* (2025).

No ciclo de vida da mansonelose, um artrópode infectado (*Culicoides* ou *Simulium*) transmite larvas infectantes de terceiro estágio (L3) durante o repasto sanguíneo. Estas larvas penetram na pele do hospedeiro humano e desenvolvem-se até a fase adulta, residindo no tecido subcutâneo ou nas cavidades corporais. Os vermes adultos produzem microfilárias que migram para a corrente sanguínea. Ao alimentar-se de um hospedeiro infectado, o vetor

ingere as microfilárias, as quais migram do intestino médio, através da hemocoele, até os músculos torácicos. Neste local, as microfilárias se diferenciam em larvas do primeiro estágio (L1) e evoluem sequencialmente até o terceiro estágio (L3), processo que dura de 6 a 12 dias. Por fim, as L3 migram para a probóscide do artrópode, onde estão prontas para infectar um novo hospedeiro (Ta-Tang *et al.*, 2018; CDC, 2026) (Figura 4).

Figura 4 - Ciclo de vida de *Mansonella ozzardi* no hospedeiro vertebrado e no vetor invertebrado.



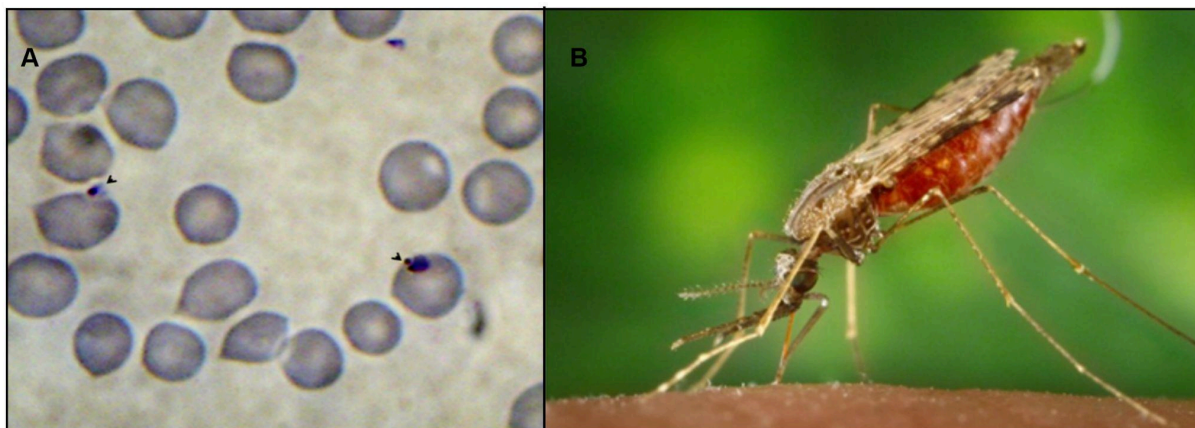
Fonte: Modificado de CDC (2026).

Em PN, já foram descritas 13 espécies de filarídeos, pertencentes aos gêneros *Mansonella* (*Tetrapetalonema*) e *Dipetalonema*. Esses parasitos foram registrados em saguis (*Callithrix* sp.), macacos-esquilo (*Saimiri* sp.), macacos-prego (*Cebus* sp. e *Sapajus* sp.), macacos-aranha (*Ateles* sp.), bugios (*Alouatta* sp.) e macacos-da-noite (*Aotus* sp.) (Toft & Eberhard, 1998; Strait *et al.*, 2012). Especificamente para *Sapajus flavius*, *Dipetalonema gracile* já foi reportada no Nordeste do Brasil. Em relação ao *S. nigritus*, *Dipetalonema* sp. foram encontradas em primatas do Rio Grande do Sul e da Argentina, sendo identificadas, nesta última localidade, como *Dipetalonema robini* (Vanderhoeven *et al.*, 2017; Ehlers *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2023).

2.1.5.2 *Plasmodium* sp.

O *Plasmodium* (Haemosporida: Plasmodiidae) é um protozoário parasita que infecta os eritrócitos (Rey, 2010) (Figura 5A), sendo transmitido através da picada do mosquito do gênero *Anopheles* (Rey, 2010) (Figura 5B).

Figura 5 - Protozoário *Plasmodium* e um de seus vetores. A: Trofozoítos de *Plasmodium* sp. visualizados em uma lâmina de microscópio; B: Mosquito hematófago *Anopheles* sp.



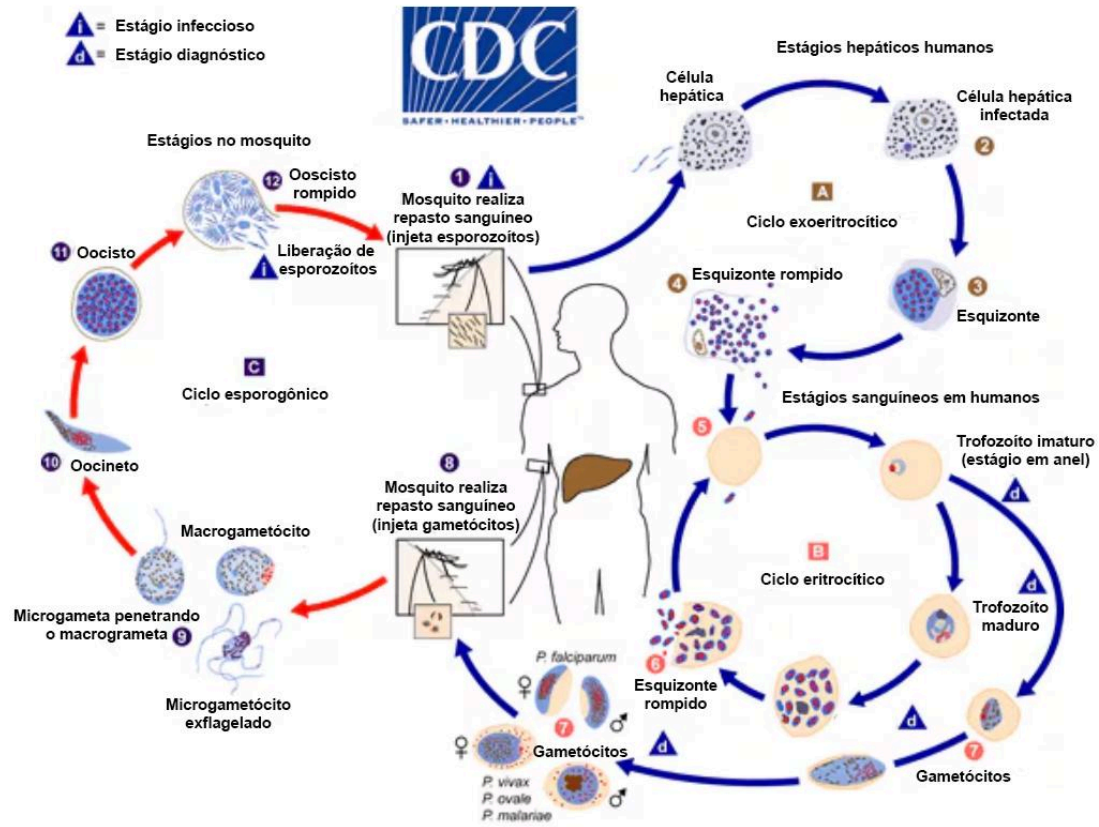
Fonte: A - Figueiredo *et al.* (2015); B - Google; foto de James Gathany.

O gênero *Plasmodium* é o causador de uma das doenças parasitárias mais importantes de Saúde Pública do mundo, a malária (Rey, 2010). De acordo com a OMS em 1998, 40% da população mundial vive em áreas de risco de infecção com registro de 1,5 a 2,7 milhões de óbitos anualmente (Rey, 2010). Em 2017, foram estimados 219 milhões de casos de malária, sendo 773 mil casos nas Américas e 236 mil no Brasil (WHO, 2018). Os países africanos são os que registram maior incidência, com 92% de todos os casos em 2017 (WHO, 2018). São conhecidas 172 espécies de *Plasmodium* (Leclerc *et al.*, 2004). Dentre essas, quatro parasitam seres humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae* (Leclerc *et al.*, 2004).

Assim como o *Trypanosoma*, o *Plasmodium* possui várias formas evolutivas. O ciclo de vida no hospedeiro vertebrado inicia-se quando a fêmea do mosquito *Anopheles*, ao picar uma pessoa, inocula esporozoítos de *Plasmodium* presentes em suas glândulas salivares. Ao utilizar proteínas de superfície, os esporozoítos realizam o movimento de escorregamento e migram através da circulação sanguínea e linfática até infectarem os hepatócitos do hospedeiro, onde ocorre uma nova infecção formando vacúolos parasitóforos. Dessa forma, os esporozoítos se diferenciam em trofozoítos pré-eritrocíticos e se multiplicam por esquizogonia, processo que dura de seis a 16 dias, formando esquizontes teciduais e, por fim, merozoítos. A célula hepática se rompe liberando os merozoítos na corrente sanguínea, através dos merossomos, iniciando a fase eritrocítica. Embora alguns sejam fagocitados e

destruídos pelas células de Kupffer, os que sobrevivem invadem as hemácias, onde se desenvolvem por esquizogonia, formando novos merozoítos. Durante esse processo, formas intermediárias são observadas, como os trofozoítos jovens, maduros, esquizontes e esquizontes maduros. Esse ciclo ocorre em intervalos regulares que são característicos de cada espécie. Depois de algum tempo da evolução da infecção, alguns parasitos diferenciam-se em gametócitos, forma sexuada, que não se dividem mais no hospedeiro. Ao realizar o repasto sanguíneo, o vetor ingere estes gametócitos. No intestino médio do inseto inicia-se a gametogênese (incluindo a exflagelação dos gametas) seguida da fecundação, formando o zigoto. O zigoto transforma-se em ocineto (forma móvel), que atravessa a parede intestinal e se encista sob a forma de oocisto. Múltiplas divisões esporogônicas ocorrem, dando origem aos esporozoítos que migram para as glândulas salivares do mosquito, estando prontos para serem inoculados em um novo hospedeiro (Rey, 2010; Bennink *et al.*, 2016; Neves *et al.*, 2018; CDC, 2026) (Figura 6).

Figura 6 - Ciclo de vida do *Plasmodium falciparum* no hospedeiro vertebrado e invertebrado com as suas formas evolutivas: esporozoítio, trofozoítio, merozoítio e gametócito.



Ciclo biológico de *Plasmodium falciparum*

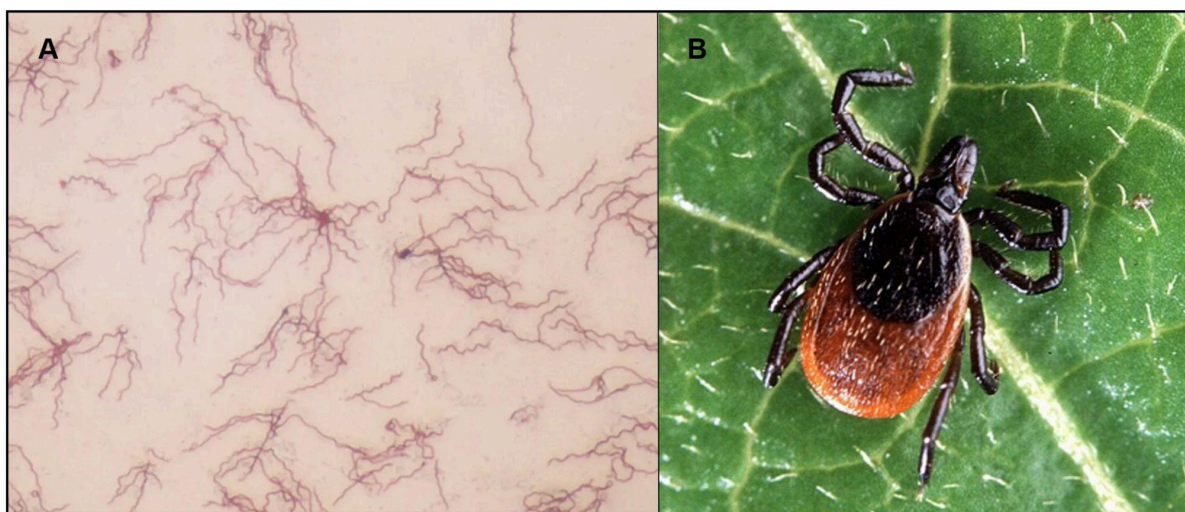
Fonte: Modificado de CDC (2026).

As espécies de *Plasmodium* também causam infecção em PNH (Alvarenga *et al.*, 2015), havendo casos de transmissão para os humanos de forma natural ou acidental (Ta *et al.*, 2014). Globalmente, existem cerca de 29 espécies de *Plasmodium* que parasitam os PNH. Na região Neotropical destacam-se os relatos de *P. falciparum*, *P. brasilianum* e *P. simium* (Oliveira & Santos, 2023). Dentre os hospedeiros primatas identificados, estão: *Ateles* sp., *A. hybridus*, *Aotus nigriceps*, *Alouatta guariba clamitans*, *Plecturocebus dubius*, *P. caligatus*, *Callicebus personatus*, *Pithecia* sp., *Saimiri sciureus*, *Cebus* sp., *Sapajus* sp., *S. flavius*, *S. xanthosternus* e *S. robustus* (Bueno *et al.*, 2013; Alvarenga *et al.*, 2015; Figueiredo *et al.*, 2015; Bueno *et al.*, 2017; Chaves *et al.*, 2022).

2.1.5.3 *Borrelia* sp.

O gênero *Borrelia* (Spirochaetales: Borreliaceae) é constituído por bactérias espiroquetas que afetam tanto humanos quanto PNH (Oliveira & Santos, 2023) (Figura 7A). Ela é transmitida pela picada de carrapatos infectados, em geral, do gênero *Ixodes*, porém, já foi detectada também em espécies dos gêneros *Rhipicephalus*, *Amblyomma* e *Dermacentor* (Rezende *et al.*, 2012; Gonçalves *et al.*, 2013) (Figura 7B).

Figura 7 - Bactéria *Borrelia* e um de seus vetores. A: Bactéria *B. burgdorferi* visualizada na lâmina de microscópio; B: Carrapato do gênero *Ixodes*.



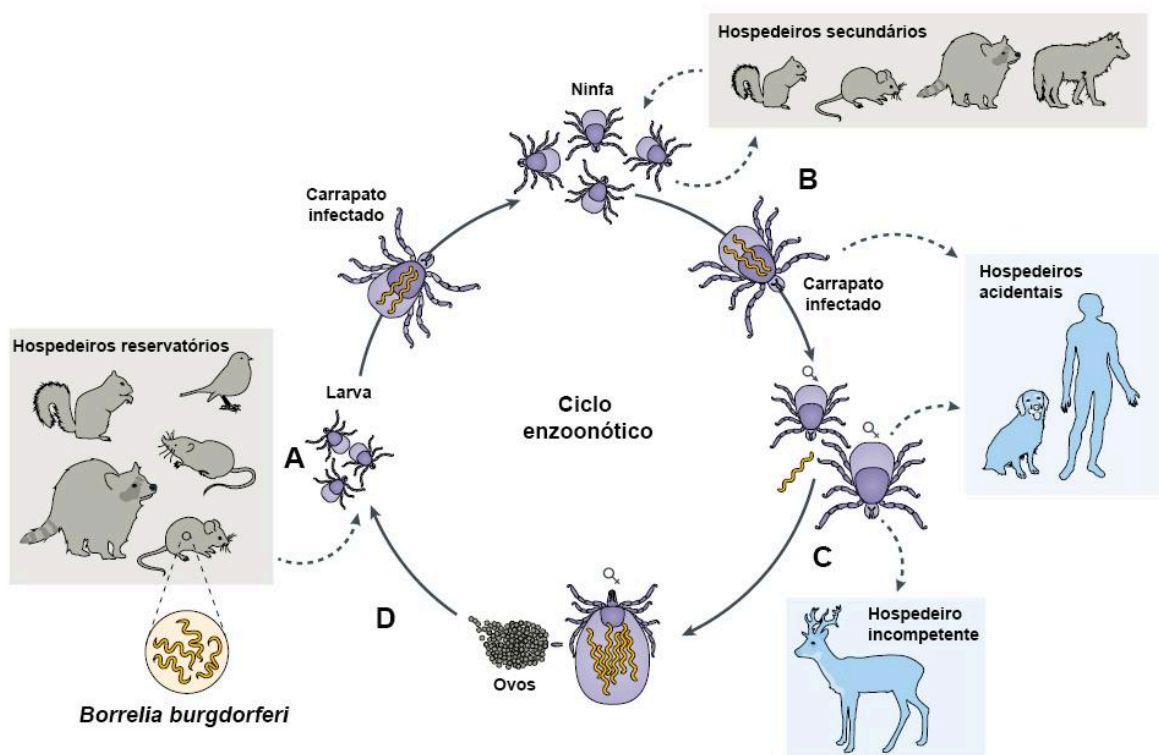
Fonte: A - Carolina.com.; B - Google.

A *Borrelia burgdorferi* causa a Doença de Lyme (DL), doença multissistêmica com alta incidência no Hemisfério Norte e ampla distribuição geográfica no planeta, incluindo a Ásia, Europa, América, África e Oceania (Kim *et al.*, 2020). Nos Estados Unidos, a DL foi descrita em 1975 e continua sendo uma grande preocupação em saúde pública. Estimativas recentes apontam uma incidência anual de 476.000 diagnósticos no país (Yoshinari *et al.*, 2010; CDC, 2025). No Brasil, a DL foi diagnosticada pela primeira vez em 1992 (Yoshinari *et al.*, 2010). Apesar de apresentar todas as manifestações clínicas da DL, ela difere das demais regiões, em relação à frequência dos episódios de infecção e aos eventos autoimunes, sendo denominada Síndrome de Baggio-Yoshinari (SBY) ou borreliose brasileira (Yoshinari *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2020).

No ciclo de vida, larvas do carrapato eclodem e buscam os primeiros hospedeiros (reservatórios), normalmente um pequeno mamífero ou ave. É neste momento, que os carrapatos podem adquirir a bactéria *B. burgdorferi* ao se alimentarem de um animal infectado (Figura 8A). As larvas sofrem muda e emergem como ninfas, as quais podem estar infectadas ou não com a bactéria. As ninfas recém emergidas procuram um segundo hospedeiro,

geralmente um pequeno ou médio mamífero com uma nova oportunidade de infecção pela bactéria. As ninfas já infectadas podem transmitir as espiroquetas aos hospedeiros, incluindo os acidentais, como seres humanos e animais domésticos (Figura 8B). Após a muda das ninfas, carrapatos adultos emergem e procuram um hospedeiro de grande porte (Figura 8C). Esse hospedeiro é considerado incompetente, pois os carrapatos não adquirem a bactéria a partir dele. No entanto, é essencial para a manutenção da população de carrapatos. Ao se desprender deste último hospedeiro, as fêmeas realizam a oviposição e morrem, reiniciando o ciclo de vida (Figura 8D) (Kurokawa *et al.*, 2020).

Figura 8 - Ciclo de vida da *Borrelia burgdorferi* nos diversos hospedeiros, incluindo os definitivos, secundários, acidentais e incompetentes.



Fonte: Modificado de Kurokawa *et al.* (2020).

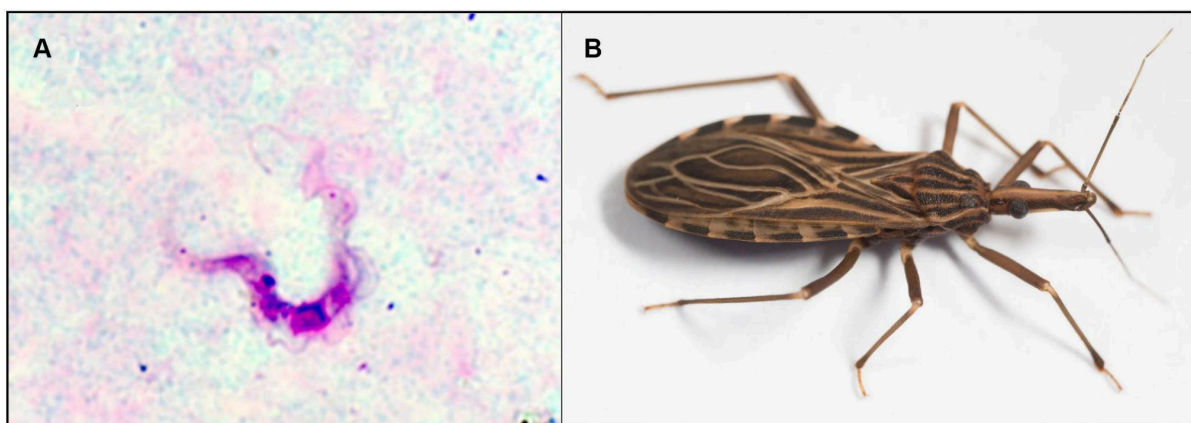
Primatas geralmente são utilizados como modelos experimentais para a DL (Oliveira & Santos, 2023) visando analisar as consequências da infecção e a extensão da inflamação cardíaca, já tendo sido descrita a miocardite em macaco-rhesus, *Macaca mulatta* (Cadavid *et al.*, 2004). No Brasil, *Borrelia* já foi relatada em 32 dentre 200 micos-leões-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) no Rio de Janeiro (Santos *et al.*, 2018). A detecção foi realizada por PCR, com posterior sequenciamento do gene 16S rRNA, evidenciando 99% de similaridade com *Borrelia burgdorferi*. No entanto, os dados carecem de comprovação, uma

vez que as sequências genéticas geradas no estudo, não foram depositadas no GenBank, até o momento, e a árvore filogenética não foi apresentada no estudo.

2.1.5.4 *Trypanosoma* sp.

Os tripanossomas (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) são protozoários parasitas que possuem um flagelo livre ou aderente ao corpo celular, além do cinetoplasto (Figura 9A). Esta organela consiste em uma região especializada da mitocôndria que abriga uma alta concentração de DNA extranuclear, o kDNA (Rey, 2010). Esse parasito infecta diversos insetos e vertebrados, sendo transmitido em sua maioria por vetores hematófagos da família Reduviidae, popularmente conhecidos como “barbeiros” (Figura 9B).

Figura 9 - Protozoário *Trypanosoma* e um de seus vetores. A: Tripomastigota sanguíneo de *T. minasense* visualizado em uma lâmina de microscópio; B: Inseto hematófago triatomíneo, *Rhodnius prolixus*.

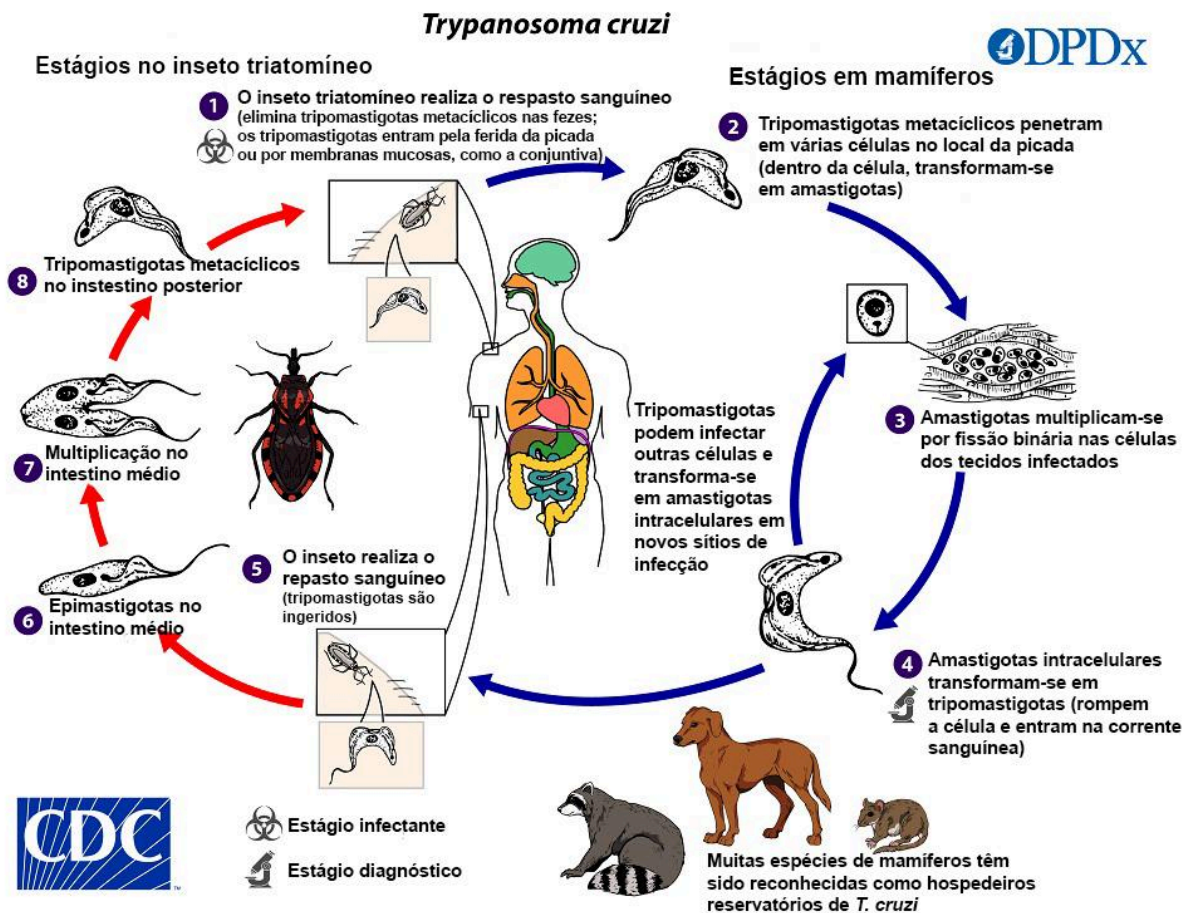


Fonte: A - Machado-Silva *et al.*, 2024; B - Britannica Editors; foto de Laura Payne.

Uma tripanossomíase de bastante relevância nas Américas é a Doença de Chagas (DC), causada pelo *Trypanosoma cruzi* (Rey, 2010). Com mais de 60 linhagens ou cepas descritas, a espécie constitui o chamado “complexo *cruzi*”, definição que abrange sua ampla variabilidade morfológica, fisiológica e ecológica (Rey, 2010). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou entre 16 e 18 milhões o número de indivíduos parasitados nas Américas (Rey, 2010). No Brasil, a DC apresenta ampla distribuição no território nacional. Atualmente a maior incidência registra-se na região Norte, seguida pelas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (BRASIL, 2020). Entre os anos de 2010 e 2016, foram notificados 1.510 casos da Doença de Chagas, sendo 1.220 (80,8%) no estado do Pará, na região Norte (Cardoso *et al.*, 2020). No cenário epidemiológico atual, a via oral representa a principal forma de contágio no país. No estado do Pará, neste mesmo período, 84% dos casos foram transmitidos através de alimentos contaminados (Cardoso *et al.*, 2020).

O *T. cruzi* possui várias formas evolutivas durante o ciclo biológico em seus hospedeiros. Nos vertebrados, formas amastigotas são encontradas intracelularmente, ao passo que a forma tripomastigota circula extracelularmente (Neves *et al.*, 2018). Os tripomastigotas metacíclicos são eliminados pelas fezes ou pela urina do vetor durante ou logo após o repasto sanguíneo. Durante esse momento, ocorre o contato com a pele e a penetração dos tripomastigotas nas células do hospedeiro. No citoplasma transformam-se em amastigotas, as quais se multiplicam por divisão binária simples na célula. Subsequentemente, ocorre a diferenciação inversa para a forma tripomastigota que rompe a membrana da célula hospedeira e alcança a corrente sanguínea, disseminando a infecção para outros tecidos ou órgãos (Neves *et al.*, 2018). O ciclo no vetor inicia-se quando o inseto triatomíneo ingere os tripomastigotas sanguíneos durante o repasto. No intestino médio dos insetos, os parasitos transformam-se em epimastigotas, forma replicativa. Por fim, migram para o reto, diferenciando-se em formas tripomastigotas metacíclicas (forma infectante) para a continuidade do ciclo de vida (Figura 10) (Neves *et al.*, 2018; Peña-Callejas *et al.*, 2022; CDC, 2026).

Figura 10 - Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* no hospedeiro vertebrado e no vetor invertebrado, com as suas formas evolutivas: tripomastigota e tripomastigota metacíclica, amastigota e epimastigota.



Fonte: Modificado de CDC (2026).

Considerada uma antroponose (Cardoso *et al.*, 2020), o agente etiológico também infecta os PNH. Dentre os PN, o macaco-prego-amarelo, *Sapajus libidinosus*, e o mico-leão-dourado, *Leontopithecus rosalia*, apresentam altas taxas de hemoculturas positivas para *T. cruzi* (Jansen *et al.*, 2018). Além dessas, a infecção por *T. cruzi* já foi relatada para outras espécies, incluindo *Sapajus* sp., *S. flavius* e *S. apella* (Bueno *et al.*, 2017; Cândido *et al.*, 2021; Guimarães *et al.*, 2022). Ademais, *T. minasense* e *T. rangeli* também infectam PNH na América Central e do Sul (Votykka *et al.*, 2020; Guimarães *et al.*, 2022). A primeira espécie é considerada mais frequentemente associada aos PNH (Machado-Silva *et al.*, 2024), sendo considerada não patogênica. Detectada inicialmente em *Callithrix penicillata* no século XX (Neves *et al.*, 2018), atualmente há registros em outras espécies. Na Mata Atlântica, por exemplo, *Sapajus nigritus* é considerado o hospedeiro com maior competência infectiva, comparado aos bugios (*Alouatta* sp.) e saguis (*Callithrix* sp.) (Machado-Silva *et al.*, 2024).

2.1.6 Métodos diagnósticos

Para a identificação de hemoparasitos, dois métodos são preferencialmente utilizados: análise microscópica de lâminas de esfregaço sanguíneo e análise molecular pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Valkiunas *et al.* 2006).

O microscópio foi desenvolvido no século XVII, quando foi possível ter a primeira visualização da forma dos parasitos (Parija *et al.*, 2025a). No entanto, a microscopia só se consolidou como uma ferramenta fundamental para o diagnóstico de infecção de hemoparasitos a partir do século XX (Parija, 2025a), com o desenvolvimento das colorações do tipo Romanowsky, com destaque para a coloração de Giemsa (Giemsa, 1904). A técnica consiste na visualização de hemoparasitos em esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro. Uma gota de sangue do hospedeiro é colocada na lâmina e distendida com o auxílio de uma lâmina extensora formando uma fina película (OPAS, 2020). Após a secagem ao ar, o material é fixado com metanol absoluto a 100% (Singh *et al.*, 2013; OPAS, 2020) e submetido à coloração por um tempo variável, de acordo com a concentração do corante utilizado (Giemsa, 1904; Singh *et al.*, 2013). A etapa final consiste na leitura da lâmina, utilizando-se preferencialmente o microscópio óptico binocular (OPAS, 2020).

Para o diagnóstico de *Plasmodium*, a microscopia com coloração de Giemsa é considerada padrão-ouro e com alta sensibilidade, sendo capaz de detectar o hemoparasito mesmo em densidades baixas, como por exemplo, de 5 a 10 parasitos/uL de sangue (OPAS, 2020). Esse método também é eficaz para detecção de *Trypanosoma*, *Borrelia* e microfilárias (Rosenblatt, 2009). Porém, para o primeiro, o esfregaço é eficiente principalmente em casos de alta parasitemia (fase aguda) (Neves *et al.*, 2018), tendo sua sensibilidade reduzida na fase crônica da doença (Gomes, 2025). No caso das microfilárias, em caso de baixa parasitemia, o método de gota espessa é o mais eficaz, permitindo a detecção de até 10 microfilárias/mL de sangue (Neves *et al.*, 2018). Entretanto, o esfregaço sanguíneo corado pelo Giemsa permanece indicado para a diferenciação morfológica entre as espécies de microfilária (Neves *et al.*, 2018). Já para *Borrelia*, a microscopia pode detectar concentrações entre 10^3 e 10^5 espiroquetas/mL durante episódios de febre recorrente, observando-se, porém, uma queda considerável na densidade bacteriana após esse período (Fotso & Drancourt, 2015).

Em razão da baixa parasitemia observada em alguns casos, torna-se de extrema importância a análise de múltiplas lâminas por indivíduo, estratégia que aumenta a

sensibilidade do diagnóstico (Cheesbrough, 2009). Como alternativa para superar limitações de sensibilidade, recomenda-se a utilização de métodos moleculares, como a PCR.

As vantagens da microscopia estão em visualizar os estágios de desenvolvimento, a morfologia do parasito para possível identificação, além de ter bom custo-benefício e fácil aplicabilidade de testagem, necessitando somente de um microscópio óptico (Parija, 2025b). Porém, essa metodologia apresenta limitações importantes. A identificação específica do hemoparasito pode ser comprometida pela sutileza das diferenças morfológicas, exigindo grande experiência do observador para manter a acurácia do diagnóstico (Melo, 2004). Além disso, em casos de baixa parasitemia, a sensibilidade é reduzida, aumentando a probabilidade de resultados falsos negativos, devido à ausência de parasitos na alíquota analisada (Melo, 2004). A PCR tem se mostrado uma alternativa mais eficaz para superar essas barreiras, pois o parasito pode ser detectado mesmo em baixa parasitemia (Valkiunas *et al.* 2006). Além disso, diante das sutis diferenças morfométricas que os parasitos podem apresentar, a caracterização molecular oferece uma maior precisão taxonômica possibilitando a análise das relações filogenéticas entre os organismos (Kimura, 1980; Morgulis *et al.*, 2008).

A PCR é uma técnica de biologia molecular onde um fragmento específico de DNA é sintetizado em bilhões de cópias *in vitro* (Mullis *et al.*, 1986). Desenvolvida em 1983 por Kary Mullis, a técnica revolucionou a ciência, lhe rendendo o prêmio Nobel de Química em 1993 (THE NOBEL PRIZE, 2026). Para a amplificação ocorrer, alguns reagentes são necessários na reação de PCR: o DNA de interesse, *primers*, desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dNTPs), cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e a enzima *Taq* DNA polimerase. Os *primers* são sequências curtas de nucleotídeos projetadas para flanquear a região-alvo a ser amplificada no DNA de interesse. Utiliza-se um par de *primers* (*forward* ou senso e *reverse* ou antissenso) que se ligam às fitas moldes antiparalelas após a etapa de desnaturação. Após o pareamento da região alvo pelos *primers*, a *Taq* DNA polimerase, termoestável e proveniente da bactéria *Thermus aquaticus*, catalisa a síntese das novas fitas de DNA ao incorporar os dNTPs livres. O $MgCl_2$ atua como cofator enzimático, essencial para a atividade enzimática (Sambrook *et al.*, 1989).

O processo ocorre em um termociclador e consiste na repetição de ciclos de diferentes temperaturas: (1) desnaturação (~95 °C) na qual ocorre o rompimento das pontes de hidrogênio e a separação das fitas de DNA; (2) anelamento (50 a 65 °C) que permite a ligação dos *primers* às sequências complementares no DNA molde; (3) extensão (68 a 72 °C), temperatura ótima para a *Taq* DNA polimerase sintetizar as novas fitas complementares

(Sambrook *et al.*, 1989). Geralmente, essas etapas são repetidas por 25 a 35 ciclos, gerando produtos que servem de molde para o próximo. Por fim, os produtos gerados são analisados por eletroforese em matriz de gel (agarose ou poliacrilamida) para o diagnóstico.

Diversos marcadores moleculares podem ser utilizados nessa técnica. Os genes ribossomais têm sido aplicados para investigação de parasitos por apresentarem regiões intergênicas evolutivamente conservadas intercaladas com regiões variáveis, específicas de cada espécie (Geysen *et al.*, 2003). Um exemplo é o gene que codifica a subunidade menor ribossomal (*18S rRNA*). Esse marcador é amplamente utilizado para detecção e diferenciação de gêneros como *Trypanosoma* (Geysen *et al.*, 2003; Sato *et al.*, 2008; Machado-Silva *et al.*, 2024) e *Plasmodium* (Rubio *et al.*, 1999; Figueiredo *et al.*, 2015), sendo sensível mesmo em casos de baixas parasitemias (Oyedeji *et al.*, 2007).

Outra região genômica amplamente utilizada para a detecção e distinção de espécies de microfilárias é o *Internal Transcribed Spacer* (*ITS1* e *ITS2*). Trata-se de regiões espaçadoras não codificantes do rDNA (Sato *et al.*, 2008; Ta-Tang *et al.*, 2018). Além disso, genes mitocondriais também podem ser utilizados para diagnosticar microfilárias, como o *12S rDNA* e o Citocromo C Oxidase 1 (*COXI/COI*) (Crainey *et al.*, 2018). Devido à herança materna e à ausência de recombinação, esses genes tendem a acumular mutações mais rapidamente, apresentando taxas de substituições superiores às do *ITS*, o que favorece estudos filogeográficos e de identificação (Vilas *et al.*, 2005).

Para o diagnóstico da *Borrelia*, o gene *flagellin* (*flaB*) codifica a proteína da flagelina bacteriana, altamente conservada em espiroquetas. Diante disso, ele é considerado o gene mais sensível para detectar o DNA deste hemoparasito (Yang *et al.*, 2012).

Por fim, a integração da microscopia óptica com a PCR apresenta resultados mais robustos, constituindo uma abordagem mais confiável para a identificação de hemoparasitos (Valkiunas *et al.*, 2006; Nateghpour *et al.*, 2011).

2.1.7 Justificativa

Embora existam estudos descrevendo a ocorrência de hemoparasitos nos PNH, investigações em populações de PN de vida livre — especialmente em ambientes insulares — ainda são escassas. No caso específico de *S. nigritus*, há uma notável carência de dados sobre a riqueza e a prevalência desses agentes. Na Ilha da Marambaia, o conhecimento sobre a hemoparasitofauna silvestre restringe-se a um único estudo realizado em aves, no qual Brum *et al.* (2016) identificaram protozoários do gênero *Plasmodium*, nematódeos filarídeos

(microfilária) e a bactéria *Borrelia* sp. Em contrapartida, para os macacos-prego da Ilha, embora existam dados morfológicos e genéticos que confirmaram a espécie como *S. nigritus* (Penedo, 2016, Penedo, 2020 e Penedo *et al.*, 2021), inexistem registros publicados sobre hemoparasitos carregados por estes animais. *Sapajus nigritus* é o único primata da região, habitando a IM há aproximadamente 130 anos, de acordo com o relato dos moradores. A presença desse primata em áreas próximas a habitações humanas e animais domésticos caracteriza a IM como uma interface silvestre-humano-doméstico, contexto no qual esses primatas podem atuar como sentinelas.

Desse modo, o presente estudo justifica-se pela necessidade de ampliar o conhecimento sobre a saúde de *S. nigritus* na IM. Para tanto, investigou-se a presença dos três hemoparasitos previamente relatados na avifauna local (*Plasmodium*, filarídeos e *Borrelia*), incluindo também o diagnóstico de *Trypanosoma* sp., visto que *S. nigritus* é reconhecido por apresentar uma alta competência infectiva para *T. minasense*. Esta pesquisa contribui para a vigilância de patógenos zoonóticos na IM, integrando aspectos de conservação animal sob a ótica da Saúde Única.

2.1.8 Objetivos

Os objetivos deste capítulo foram: investigar a ocorrência de hemoparasitos em amostras biológicas de indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, através da microscopia óptica e da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), além de comparar a eficácia dessas duas metodologias.

2.1.8.1 Objetivos específicos

a) Investigar a ocorrência de hemoparasitos em amostras de indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, através da microscopia óptica e da Reação em Cadeia da Polimerase/PCR.

H0: Os *S. nigritus* carregam hemoparasitos já relatados para a avifauna silvestre da Ilha da Marambaia; H1: Serão encontrados outros tipos de hemoparasitos ainda não relatados em outros animais silvestres na Ilha da Marambaia.

b) Comparar a eficácia entre a microscopia óptica e a Reação em Cadeia da Polimerase/PCR para detecção de hemoparasitos em indivíduos de *S. nigritus*.

H0: A metodologia da PCR é mais eficaz para detectar hemoparasitos em *S. nigritus*.

H1: As duas metodologias não diferem na eficácia de detecção de hemoparasitos.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Área de estudo

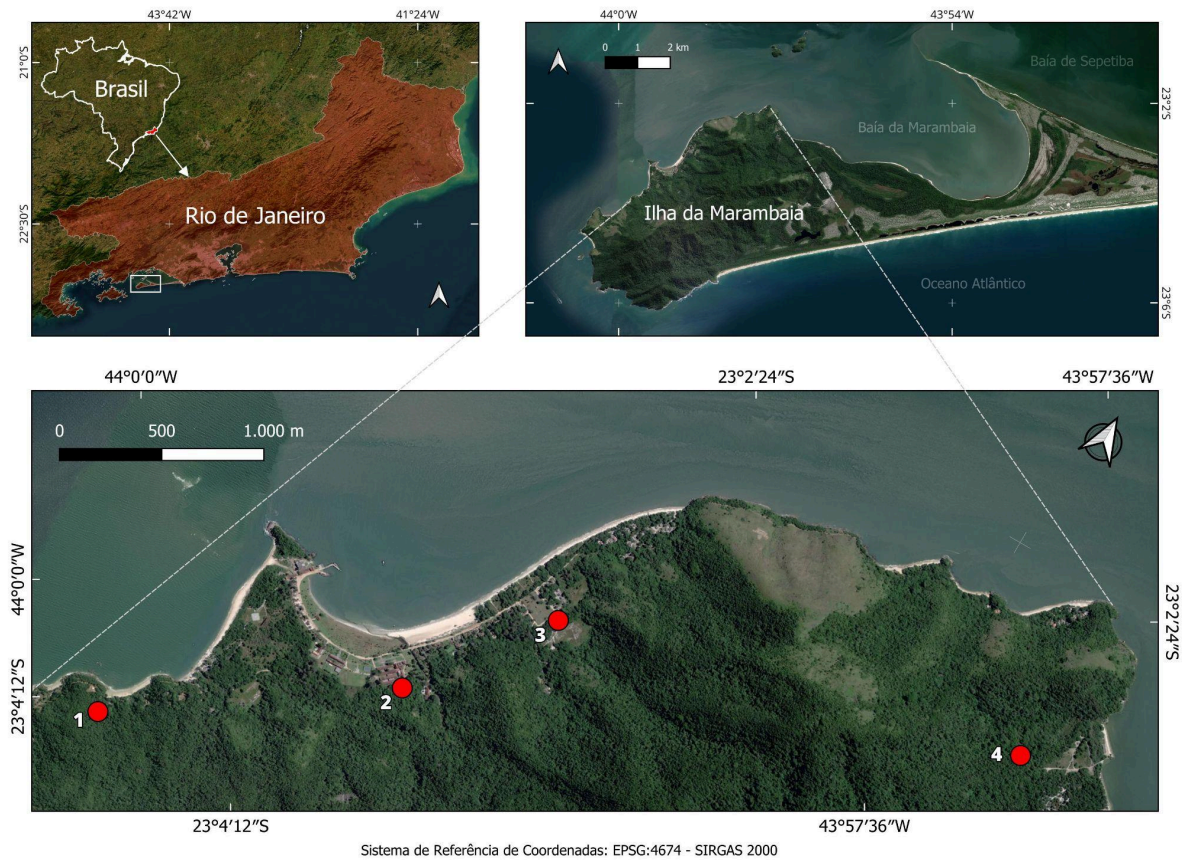
O estudo foi realizado na Ilha da Marambaia (23°04'S e 43°53'W), município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro. Essa área possui 42 km², apresentando relevo montanhoso com o pico Pico da Marambaia sendo o mais alto com 641 m de altitude (Pereira *et al.*, 1990). A Ilha está ligada ao continente através de uma estreita faixa arenosa de 40 km de extensão, conhecida como a Restinga da Marambaia (Conde *et al.*, 2005). Também é constituída por um importante remanescente de Floresta Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, ocupando uma área de 21,25 km², com predominância de mata secundária com sub-bosque denso, além de vegetação de Restinga e Mata Pluvial Costeira (Pereira *et al.*, 1990; Conde *et al.*, 2005). O dossel alcança 12 m de altura, mas também conta com a presença de árvores de até 30 m (Conde *et al.*, 2005). Já o macroclima da região é considerado tropical com verão chuvoso, inverno seco e médias mensais de temperatura sempre acima de 20 °C (Paula *et al.*, 2009).

2.2.2 Captura, sedação e identificação individual

Todos os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número 03/2024, sendo autorizados junto ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO/ICMBio), sob o número 93564.

As capturas foram realizadas entre abril de 2024 a julho de 2025 em idas periódicas (1x por mês) com duração média de três dias das 6 h às 16 h em quatro pontos da Ilha da Marambaia: (1) Praia do Kutuca; (2) CADIM; (3) Buraco Quente; (4) Praia da Armação (Figura 11), totalizando um esforço amostral de 480 h. Os pontos 1, 2 e 3 estão localizados próximos às residências dos moradores, enquanto o ponto 4 encontra-se mais afastado. A distância entre os pontos possui média de 1,600 km.

Figura 11 - Locais de captura de indivíduos de *Sapajus nigritus* na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. 1: Praia do Kutuca; 2: CADIM; 3: Buraco Quente; 4: Praia da Armação.



Fonte: QGIS. Elaborado por Gustavo Quintanilha.

As quatro armadilhas Tomahawk (duas com 70x40x40 cm e duas com 115x45x45 cm, sendo CxLxA) foram levadas para todos os pontos de captura. Frutas, como banana e manga, foram usadas para a ceva. Duas armadilhas foram montadas em plataformas de bambu para dar estabilidade, e foram içadas para o alto das árvores com auxílio de uma corda com marimba (Figura 12A), enquanto duas foram montadas no chão presas no tronco de árvores (Figura 12B), pois durante as capturas, notou-se que os primatas transitavam pelo chão com frequência. As armadilhas foram monitoradas à distância com o auxílio de um binóculo até a captura ser efetivada. Após a captura, as armadilhas foram trazidas até o chão e cobertas com pano preto para diminuir o estresse provocado aos indivíduos. Por fim, foram transportadas para o laboratório de campo, contendo mesa de procedimentos e insumos para coleta do material biológico, o qual foi montado em cada ponto de captura, conforme indicado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2017).

Figura 12 - Armadilhas do tipo Tomahawk em plataforma de bambu para a captura de indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Suspensa no tronco das árvores com auxílio de cordas; B: No chão, presa no tronco das árvores.



Fonte: Elaborada pela autora.

Durante as atividades de campo, a equipe utilizou todos os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) preconizados para a realização dos procedimentos de contenção física e química, bem como para a coleta das amostras biológicas (BRASIL, 2017). No laboratório de campo, os primatas foram imobilizados em um dos lados da armadilha, com auxílio de hastes de ferro presas em suportes de madeira para serem sedados. Foi aplicada anestesia dissociativa através do uso combinado dos anestésicos (Cloridrato de Cetamina e Midazolam – 15 mg/Kg e 0,05 mg/Kg, respectivamente) via intramuscular, com seringas de 1 mL e agulha de 13 x 0,45 mm (Figura 13). Após o efeito da sedação, os animais foram retirados das armadilhas e levados para a mesa de procedimento (Figura 13). Inicialmente, o leitor de *microchip* foi passado na região interescapular para conferir se o animal já havia sido capturado e microchipado anteriormente, para então prosseguirmos com as análises. Na ausência de identificação pelo leitor, os primatas foram identificados com *microchip* subcutâneo *Partners*® (2x12 mm) nessa mesma região (Penedo *et al.*, 2021).

Figura 13 - Amostragem de indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Processo de sedação de um indivíduo de *S. nigritus*; B: Equipe atuando na identificação individual e na coleta de amostras biológicas.



Fonte: Elaborada pela autora.

A estimativa da idade dos indivíduos foi realizada conforme os critérios estabelecidos por Izawa (1980). Os infantes não apresentam tufos de pelo na cabeça e são totalmente dependentes das mães. Os juvenis, por sua vez, são de tamanho maior, ainda sem a presença de tufos, e a testa é coberta por pelos de coloração mais clara. O subadulto exhibe características que se situam entre os juvenis e os adultos, sendo essa distinção aplicável apenas aos machos. Os tufos de pelo no topo da cabeça são bem definidos em ambos os sexos; no caso dos machos, o adulto se apresenta de forma mais robusta em comparação ao subadulto, incluindo mandíbulas proeminentes.

O sexo foi determinado por meio da avaliação da genitália externa.

2.2.3 Coleta de amostra biológica e preparação dos esfregaços sanguíneos

Após a identificação, foi realizada a coleta de 5 mL de sangue da veia femoral de cada indivíduo de *S. nigritus* capturado, utilizando seringas de 5 mL e agulhas de calibre 20 x 0,55 mm. O sangue coletado (2 mL) foi transferido para um tubo estéril com EDTA, o qual foi armazenado a -20 °C até a transferência para o Laboratório de Genética Animal do Departamento de Genética do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde permaneceu congelado a -20 °C até a extração de DNA para análise genética molecular. Logo após a coleta, lâminas de esfregaço sanguíneo também foram preparadas para cada indivíduo capturado para pesquisa de hemoparasitos por meio da microscopia. Ainda em campo, as distensões sanguíneas foram

fixadas por imersão durante 10 min em metanol absoluto a 100% e secas em temperatura ambiente (Singh *et al.*, 2013).

2.2.4 Retorno anestésico, soltura e monitoramento pós-soltura

Após o término dos procedimentos, os animais foram colocados novamente dentro das armadilhas onde permaneceram até o retorno completo dos reflexos e do tônus muscular. Após ingerir banana e água, foram levados para a soltura nos mesmos locais onde haviam sido capturados. Após a soltura, os primatas continuavam sendo observados até a certificação de que se movimentavam com segurança.

2.2.5 Análise microscópica

No laboratório, as distensões sanguíneas foram submetidas à coloração em solução de Giemsa a 3% por 25 min, lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente (Singh *et al.*, 2013). As lâminas foram analisadas com um microscópio óptico EVEN®, inicialmente com aumento de 400x e 1000x (com óleo de imersão) para varredura do esfregaço para a detecção de possíveis hemoparasitos. O aumento de 1000x também foi utilizado para a confirmação e caracterização morfológica detalhada.

2.2.6 Análise genética molecular

O DNA foi extraído utilizando o protocolo Fenol-Clorofórmio (Sambrook *et al.*, 1989) a partir do sangue venoso total coletado. O DNA obtido foi quantificado em gel de agarose a 0,8% utilizando 1 µL de DNA padrão de peso molecular de fago *Lambda* nas concentrações de 10, 25 e 50 ng/µL como referência. Por meio da PCR, foram investigados quatro hemoparasitos a partir do DNA extraído: microfilárias, *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp. e *Borrelia* sp.

2.2.6.1 Detecção de microfilárias por PCR

Foi realizada uma PCR convencional para o diagnóstico das microfilárias com o par de *primers forward* S.r.ITS1-NC5/F1 e *reverse* NC13R (Tabela 1), que tiveram como alvo a amplificação da região ribossomal *ITS1* do DNA nuclear (Sato *et al.*, 2008). As reações foram preparadas para um volume final de 25 µL, contendo tampão *Colorless GoTaq® Reaction Buffer* (Promega©) em concentração final de 1x, 2 mM de MgCl₂ (Promega©), 0,2 mM de *mix* de dNTPs (Promega©), 0,5 µM de *primers*, 0,5U de *Taq* DNA polimerase (*GoTaq® DNA polymerase* - Promega©), 2 µL de DNA e água ultrapura para completar o volume final. A amplificação foi realizada utilizando os ciclos de temperatura descritos por Sato *et al.* (2008):

iniciando com a desnaturação inicial a 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de amplificação, consistindo de 94 °C por 45 s para manter as fitas desnaturadas, 65 °C por 60 s para o anelamento dos *primers* e 72 °C por 90 s para a síntese das novas fitas complementares pela *Taq* DNA polimerase, finalizando com uma extensão final a 72 °C por 7 min. Esperava-se obter um fragmento de aproximadamente 200 a 300 pb em caso positivo (Tabela 1) (Sato *et al.*, 2008).

Além do DNA nuclear, o gene *12S rDNA* do DNA mitocondrial também foi utilizado para detecção das microfilárias. Para essa reação, foi utilizado o par de *primers forward* 12SF e *reverse* 12SR (Tabela 1) (Marcos *et al.*, 2012). As reações foram preparadas para um volume final de 15 µL com a utilização de 7,5 µL do *Master Mix* (Nova Biotecnologia®), 1 µL de cada *primer*, 2 µL de DNA e água ultrapura para completar o volume final. A amplificação foi realizada com ciclos de temperatura descritos por Marcos *et al.* (2012): iniciando com 95 °C por 3 min, seguido de 40 ciclos a 94 °C por 30 s para a desnaturação das fitas, 55 °C por 45 s para o anelamento dos *primers* e 68 °C por 1min para a síntese das fitas, finalizando com uma extensão final a 72 °C por 7 min. Esperava-se obter um fragmento de aproximadamente 450 pb em caso positivo (Tabela 1) (Marcos *et al.*, 2012).

2.2.6.2 Detecção de *Trypanosoma* sp. por PCR

Para a detecção de *Trypanosoma* sp., foi utilizado o conjunto de *primers* 18ST nF2 e 18ST nR3 (Tabela 1) para amplificar um trecho do gene que codifica para a subunidade menor ribossomal *18S rDNA*. (Geysen *et al.*, 2003). As reações de PCR foram preparadas para um volume final de 15 µL utilizando 7,5 µL do *Master Mix* (Nova Biotecnologia®), 0,75 µL de cada *primer*, 3 µL de DNA e água ultrapura para completar o volume final. A amplificação foi realizada utilizando os ciclos de temperatura descritos por Geysen *et al.* (2003) com modificações: iniciando com a temperatura de 95 °C por 4 min, seguido de 40 ciclos de 94 °C por 30 s para a desnaturação das fitas, 58 °C por 45 s para o anelamento dos *primers* e 72 °C por 40 s para a síntese das fitas, e extensão final a 72 °C por 4 min. Esperava-se obter um fragmento de 700 a 800 pb em caso positivo (Tabela 1) (Geysen *et al.*, 2003).

2.2.6.3 Detecção de *Plasmodium* sp. por PCR

Para a detecção de *Plasmodium* sp., foi realizada uma *nested-PCR*. Para a primeira reação, três *primers* são utilizados: UNR (universal), HUF (mamíferos) e PLF (*Plasmodium*) (Tabela 1) para amplificar duas bandas: uma de 231 pb proveniente do anelamento dos

primers UNR-HUF, que funciona como um controle positivo para cada amostra, e uma de 783-821 pb proveniente do conjunto UNR-PLF que demonstra a infecção por *Plasmodium* sp. com base na amplificação de um trecho do gene que codifica para o RNA (ssrRNA) da subunidade menor ribossomal (Rubio *et al.*, 1999). A segunda amplificação é realizada apenas para os indivíduos positivos, preparada em uma única reação (*semi-nested multiplex-PCR/SnM-PCR*), com uma mistura de quatro iniciadores específicos para cada espécie de *Plasmodium* e um iniciador universal. São utilizados os *primers forward* PLF e *reverse* FAR para *P. falciparum*; MAR para *P. malarie* e VIR para *P. vivax* (Tabela 1). Infecções por diferentes espécies de *Plasmodium* resultam em produtos de diferentes tamanhos. Após eletroforese em gel de agarose, uma banda de 269 pb indica infecção por *Plasmodium malariae*, uma banda de 395 pb indica infecção por *P. falciparum*, uma banda de 436 pb sugere infecção por *P. ovale* e uma banda de 499 pb indica infecção por *P. vivax*. Infecções mistas apresentam as bandas correspondentes (Rubio *et al.*, 1999). A primeira reação foi preparada para um volume final de 25 µL, contendo tampão *Colorless GoTaq® Reaction Buffer* (Promega©) em concentração final de 1x, 1,5 mM de MgCl₂ (Promega©), 0,2 mM de *mix* de dNTPs (Promega©), 0,5 µM dos *primers* PLF e UNR e 0,03 µM do *primer* HUF, 1U de *Taq* DNA polimerase (*GoTaq® DNA polymerase* - Promega©), 5µL de DNA e água ultrapura para completar o volume final. Em caso de indivíduos positivos, a segunda reação é preparada para um volume final de 25 µL, contendo tampão *Colorless GoTaq® Reaction Buffer* (Promega©) em concentração final de 1x, 2,5 mM de MgCl₂ (Promega©), 0,2 mM de *mix* de dNTPs (Promega©), os *primers*, 1U de *Taq* DNA polimerase (*GoTaq® DNA polymerase* - Promega©), 2 µL do produto amplificado na primeira reação e água ultrapura para completar o volume final. A amplificação foi realizada utilizando os ciclos de temperatura descritos por Rubio *et al.* (1999): iniciando com 94 °C por 5 min, seguida de (para a primeira reação) 40 ciclos a 94 °C por 45 s para a desnaturação das fitas, 62 °C por 45 s para o anelamento dos *primers* e 72 °C por 60 s para a síntese das fitas, ou (para *SnM-PCR*) 35 ciclos de 94 °C por 20 s, 62 °C por 20 s e 72 °C por 30 s. O ciclo final foi seguido por uma extensão a 72 °C por 10 min.

2.2.6.4 Detecção de *Borrelia* sp. por PCR

Para a detecção de *Borrelia* sp., também foi realizada uma *nested-PCR*. Na primeira reação, foi utilizado o conjunto de *primers forward* FlaLL e *reverse* FlaRL para amplificar um fragmento de 665 pb do gene da flagelina da *Borrelia* (*flaB*) (Tabela 1) (Stromdahl *et al.*, 2003). A segunda reação é realizada em caso de indivíduos positivos, utilizando os *primers*

forward FlaLS e *reverse* FlaRS para amplificar um fragmento de 354 pb do gene *flaB* (Tabela 1) (Stromdahl *et al.*, 2003). A primeira reação foi preparada para um volume final de 25 µL, contendo tampão *Colorless GoTaq® Reaction Buffer* (Promega©) em concentração final de 1x, 2,5 mM de MgCl₂ (Promega©), 0,2 mM de *mix* de dNTPs (Promega©), 0,8 µM de *primers*, 1U de *Taq* DNA polimerase (*GoTaq® DNA polymerase* - Promega©), 1,5 µL de DNA e água ultrapura para completar o volume final. Em caso de indivíduos positivos, a segunda reação é preparada para um volume final de 25 µL, contendo tampão *Colorless GoTaq® Reaction Buffer* (Promega©) em concentração final de 1x, 2,5 mM de MgCl₂ (Promega©), 0,2 mM de *mix* de dNTPs Promega©, 0,8 µM de *primers*, 1U de *Taq* DNA polimerase (*GoTaq® DNA polymerase* - Promega©), 2 µL do produto amplificado na primeira reação e água ultrapura para completar o volume final. A amplificação foi realizada utilizando os ciclos de temperatura descritos por Stromdahl *et al.* (2003): iniciando com desnaturação das fitas de 95 °C por 3 min, seguida de 40 ciclos, com desnaturação a 95 °C por 1 min, anelamento dos *primers* a 55 °C por 1 min e síntese das fitas a 75 °C por 1 min. O ciclo final foi seguido por uma extensão a 72 °C por 10 min.

Tabela 1: Lista dos *primers* utilizados nas Reações em Cadeia da Polimerase para detecção dos hemoparasitos microfilária, *Trypanosoma*, *Borrelia* e *Plasmodium* em *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, incluindo o tamanho do amplicon esperado.

Hemoparasito	Tipo da PCR	Reação	Primers	Sequência 5'-3'	Tamanho dos amplicons
Microfilária	Convencional	Única	S.r.ITS1-NC5/F1	TTACGTCCCTGCCCTTTGTA	200-300 pb
			NC13R	GCTGCGTTCTTCATCGAT	
	Convencional		12SF	GTTCCAGAATAATCGGCTA	450 pb
			12SR	ATTGACGGATGRTTTGTACC	
<i>Trypanosoma sp.</i>	Convencional	Única	18ST nF2	CAACGATGACACCCATGAATTGGGGA	700-800 pb
			18ST nR3	TGCGCGACCAATAATTGCAATAC	
<i>Borrelia sp.</i>	Nested	1ª reação	FlaLL	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT	665 bp
			FlaRL	GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT	
		2ª reação	FlaLS	AACAGCTGAAGAGCTTGGAATG	354 pb
			FlaRS	CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC	
<i>Plasmodium sp.</i>	Semi-nested + multiplex	1ª reação	UNR	GACGGTATCTGATCGTCTT	783-812 pb (UNR-PLF) e 231 pb (UNR-HUF)
			HUF	GAGCCGCCTGGATACCG	
			PLF	AGTGTGTATCAATCGAGTTT	
		2ª reação	OVR	GCATAAGGAATGCAAAGAACAG	269 pb (<i>P. malariae</i>); 395 pb (<i>P. falciparum</i>); 436 pb (<i>P. ovale</i>); 499 pb (<i>P. vivax</i>)
			FAR	AGTTCCCCTAGAATAGTTACA	
			MAR	GCCCTCCAATTGCCTTCTG	
			VIR	AGGACTTCCAAGCCGAAGC	

Fonte: Elaborada pela autora.

Foi incluído um controle negativo para todas as reações de PCR, com água ao invés de DNA, para avaliar possíveis contaminações dos reagentes, além de um controle positivo. A amplificação ocorreu em um termociclador (*ProFlex™ PCR System - Applied Biosystems® ThermoFisher Inc.*).

Todos os produtos de PCR foram analisados em gel de agarose 1,5% adicionando 5 µL de cada produto acrescido do mesmo volume do corante *GelRed®* misturado ao tampão de arrasto (6x *Loading Buffer* - Promega©) na concentração de 40X. O gel com os produtos de PCR, foi submetido à eletroforese a 100V por 1h e 30 min. O resultado foi analisado no transiluminador *ClinX GenoSens 2000* e fotografado utilizando o *software* do aparelho. O tamanho dos *amplicons* foi comparado ao DNA *ladder* (100 pb *Ludwig Biotec LTDA.*).

2.2.7 Análise estatística para comparar a eficácia entre a microscopia e a PCR

A comparação entre os métodos diagnósticos foi realizada por meio de uma tabela de contingência 2x2 baseada nos resultados positivos e negativos obtidos para cada indivíduo por meio da amplificação da região *ITS1*. A diferença na taxa de detecção foi avaliada utilizando o teste de McNemar, adequado para dados pareados. Também foi realizado o Teste Exato de Fisher como análise complementar, permitindo a estimativa da razão de chances (*Odds Ratio/OR*) e o intervalo de confiança de 95%. Considerou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todos os testes. As análises estatísticas foram realizadas no ambiente computacional R versão 4.3.0 (R Core Team, 2023).

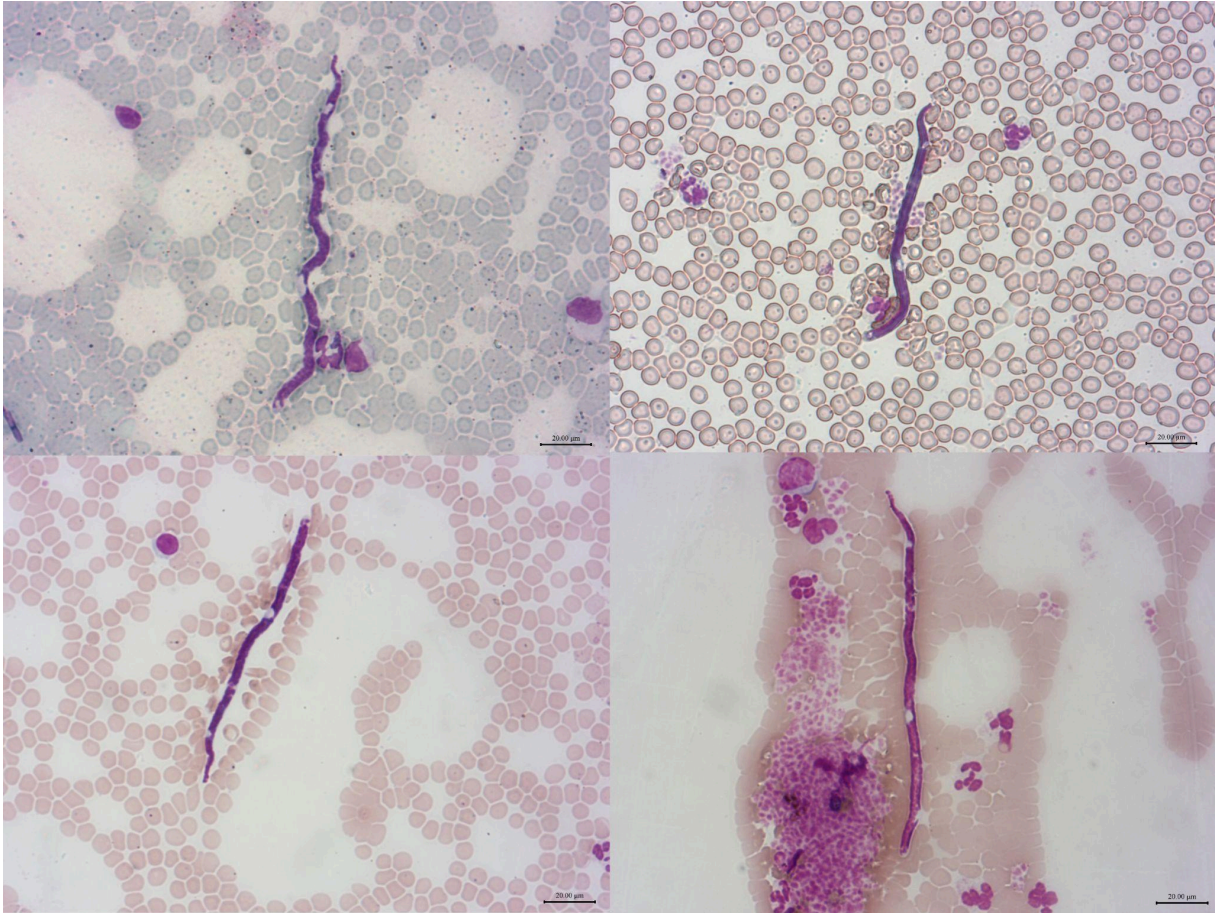
2.3 Resultados e Discussão

Foram capturados 27 macacos-prego na Ilha da Marambaia, sendo nove na Praia do Kutuca, 15 no CADIM, um no Buraco Quente e dois na Praia da Armação. Em relação ao sexo, foram 16 machos (7 adultos e 9 juvenis) e 11 fêmeas, todas adultas (Anexo A).

2.3.1 Análise microscópica

A análise microscópica das três lâminas de esfregaço sanguíneo de cada indivíduo, detectou 22 (81,48%) positivos para microfilária (Figura 14), enquanto que nenhum indivíduo foi positivo para *Trypanosoma* sp., *Borrelia* sp. e *Plasmodium* sp.

Figura 14 - Microfilárias observadas ao microscópio óptico binocular, em lâminas de esfregaço sanguíneo de indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, fotografadas em um aumento de 400X. Barra de escala: 20 µm.



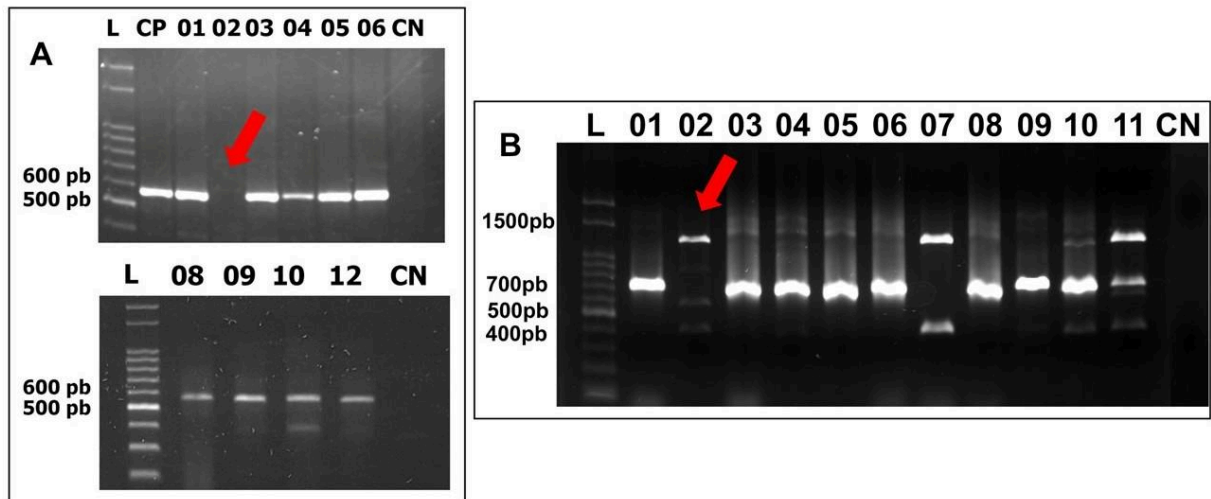
Fonte: Elaborada pela autora.

2.3.2 Análise genética molecular

Das 27 amostras, 25 (92,59%) foram positivas para microfilária por meio da PCR com amplificação de um fragmento do *ITS1*. No entanto, com a amplificação do fragmento do gene *12S*, 27 (100%) amostras foram positivas. Na Figura 15A, estão apresentados os *amplicons* do *ITS1* referentes às oito amostras que foram sequenciadas (01, 03, 05, 06, 08, 09, 10 e 12) e analisadas filogeneticamente no Capítulo II. Os fragmentos sequenciados possuem tamanho em torno de 580 pb, maior do que o esperado com a utilização deste *primer* (200-300 pb). Na Figura 15B, estão apresentados os *amplicons* do gene *12S*. Foi destacado o resultado positivo para o indivíduo 02 que havia sido negativo na primeira análise com a região *ITS1* com uma banda nítida em torno de 1250 pb. Neste caso, o fragmento foi em torno de 800 pb maior do que o esperado (450 pb) para caracterização genética de microfilárias em seres humanos. Uma banda menor em torno de 600 pb pode representar uma banda

inespecífica. A amostra 07 apresentou duas bandas em torno de 1250 pb e 400 bp. Já a amostra 11 apresentou três bandas (1250 pb, 700 pb e 400 pb) (Figura 15).

Figura 15 - Géis de agarose a 1,5% com os *amplicons* da região *ITS1* (A) e do gene *12S rDNA* (B) de microfilárias em indivíduos de *Sapajus nigrinus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.

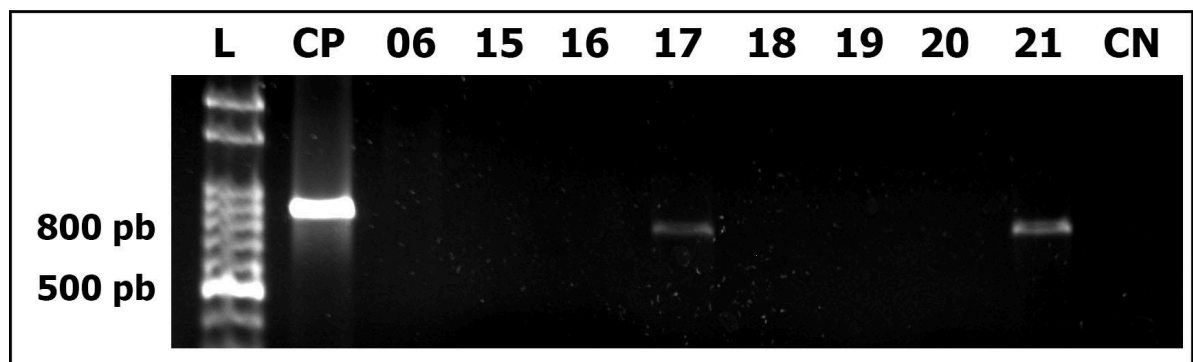


L: marcador de peso molecular (100 pb); CP: controle positivo para microfilárias; 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 e 12: indivíduos de *S. nigrinus*; CN: controle negativo.

Fonte: Elaborada pela autora.

Para *Trypanosoma* sp., foram positivas 2 amostras (7,4%) dentre as 27 (Figura 16). Não foi possível sequenciar essas duas amostras devido à baixa concentração do produto de PCR.

Figura 16 - Gel de agarose a 1,5% com os *amplicons* do gene *18S rDNA* de *Trypanosoma* sp. em indivíduos de *Sapajus nigrinus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



L: marcador de peso molecular (100 pb); CP: controle positivo para *Trypanosoma* sp.; 06, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21: indivíduos de *S. nigrinus*; CN: controle negativo. Fonte: Elaborada pela autora.

Nenhuma amostra foi positiva para *Borrelia* sp. e *Plasmodium* sp.

2.3.3 Análise estatística para comparar a eficácia entre a microscopia e a PCR

A PCR detectou microfilárias em 25 dos 27 indivíduos analisados por meio da amplificação da região *ITS1*, enquanto a microscopia identificou 22 indivíduos positivos. O teste de McNemar não indicou diferença significativa entre os métodos diagnósticos ($\chi^2 = 1,33$; $p = 0,248$). Esse resultado pode estar relacionado ao número reduzido de pares discordantes na análise (três indivíduos), pois todos os positivados por meio da microscopia também foram positivos pela PCR. Já o Teste Exato de Fisher revelou diferença significativa entre os métodos ($p = 0,028$), com *OR* tendendo ao infinito e intervalo de confiança amplo $(0,923-\infty)$.

Dos quatro hemoparasitos investigados, foram observados dois: microfilárias e *Trypanosoma*. O primeiro já havia sido detectado em aves (Brum *et al.*, 2016), enquanto o segundo foi detectado pela primeira vez em *S. nigritus* na IM. Esses resultados permitem rejeitar a hipótese nula (H_0) e corroborar a hipótese alternativa (H_1), dada a constatação de um parasito inédito para este hospedeiro e para esta localidade. Tanto o *Trypanosoma* quanto as microfilárias, possuem potencial zoonótico, e dependendo da espécie, estão associados à etiologias de relevância médica, como a Doença de Chagas e a mansonelose. Estima-se que 75% das DIE em humanos sejam de origem zoonótica (Belay *et al.*, 2017). Esse dado evidencia a necessidade de monitoramento de hemoparasitos em animais silvestres, que representam um ponto crucial de vigilância para novas enfermidades. Nesse contexto, por ser o único PNH da IM e devido à sua proximidade evolutiva com os seres humanos, *S. nigritus* pode desempenhar papel fundamental como sentinela (Phillips *et al.*, 2014).

Com relação ao diagnóstico, a detecção dos hemoparasitos via PCR é influenciada pela escolha do marcador molecular. Regiões ribossomais nucleares, como o *ITS1*, são amplamente utilizados devido ao seu alto grau de conservação e à presença de múltiplas cópias no genoma, o que favorece a diferenciação de espécies. Entretanto, genes mitocondriais, como o *12S rDNA*, apresentam taxas de evolução mais elevadas e menor conservação, o que pode aumentar a sensibilidade na detecção de variantes. Estudos indicam que o mtDNA é mais adequado para diagnosticar espécies com monofilia recíproca devido à sua alta taxa de mutação, evidenciando divergências genéticas sutis (Vilas *et al.*, 2005). Tal característica pode explicar a ocorrência de mais dois *amplicons* de microfilária amplificando um gene mitocondrial.

Apesar da amplificação do marcador *I2S* ter resultado em 100% de detecção de microfilárias, foram evidenciados fragmentos de diferentes tamanhos. Desse modo, a análise estatística foi realizada utilizando os dados da amplificação do *ITS1* (92,59% de positivos), pois o fragmento amplificado teve o mesmo tamanho para todos os indivíduos positivos, além dos produtos de PCR terem sido sequenciados (Capítulo 2). A PCR detectou três indivíduos positivos a mais em comparação com a microscopia, além do *Trypanosoma* ter sido detectado apenas por esse método, confirmando sua maior sensibilidade diagnóstica por meio do Teste Exato de Fisher ($p = 0,028$). Porém, o *OR* tendem ao infinito com intervalos de confiança amplo, evidenciando baixa precisão dessa estimativa. Isso se confirmou com a detecção pela PCR não diferir significativamente em relação à microscopia pelo teste de McNemar ($p = 0,248$) considerando os dados pareados. Desse modo, pode-se inferir que a investigação por meio da microscopia é eficaz, além de ser uma metodologia mais viável em decorrência do seu baixo custo.

Filarídeos dos gêneros *Mansonella* (*Tetrapetalonema*) e *Dipetalonema* são comuns em primatas silvestres com elevadas taxas de ocorrência, muitas vezes em coinfeções e com possível compartilhamento entre espécies de hospedeiros (Figueiredo, 2025; Conga *et al.*, 2023), sugerindo ciclos de transmissão complexos e contínuos em áreas naturais. Além da Amazônia, onde apesar da incidência relevante desses dois gêneros de filarídeos, a estabilidade destes parasitos é conhecida (Figueiredo, 2025; Conga *et al.*, 2018, 2019, 2023; Dias *et al.*, 2023), há registros significativos na Mata Atlântica, em *Alouatta guariba*, *Alouatta g. clamitans* e *S. nigritus* do Rio Grande do Sul (Souza *et al.*, 2023; Ehlers *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2023), *Callicebus nigrifrons* de Minas Gerais (Neri *et al.*, 1997) e *Callithrix* invasores do Sudeste (Coimbra, 2020). No caso da IM, a alta prevalência de microfilárias detectada nos indivíduos *S. nigritus* amostrados aponta para uma transmissão ativa e estável. Isso sugere, não apenas uma adaptação bem sucedida, mas também, a presença de vetores competentes.

A detecção de *Trypanosoma* em dois indivíduos, exclusivamente via PCR, evidencia uma baixa parasitemia, condição frequentemente não perceptível à microscopia (Valkiunas *et al.*, 2006). Alternativamente, essa baixa taxa de detecção pode ser atribuída ao ciclo circadiano do parasito, que oscila na intensidade da infecção ao longo do dia. Por exemplo, o *T. minasense*, para o qual o *S. nigritus* é considerado um hospedeiro competente, apresenta pico de parasitemia a partir das 16h (Deane, 1974). Visto que neste estudo, as capturas se

iniciavam em torno das 6h e finalizavam às 16h, é possível que o pico de parasitemia não tenha sido abrangido.

Em PNH, são esperados níveis muito reduzidos de parasitemia de *Plasmodium* sp. (Figueiredo *et al.*, 2015). No Maranhão, Figueiredo *et al.* (2015) relataram apenas 7,1% de positividade via microscopia contra 18,7% via PCR em 70 PNH (50 provenientes do CETAS e 20 de vida livre). Similarmente, Duarte *et al.* (2008) investigaram 448 PNH de três biomas: encontrando positividade para *Plasmodium* na PCR (12,67% na Mata Atlântica e 6,8% na Mata Atlântica Semi Decídua) onde a microscopia foi negativa.

A ausência da bactéria *Borrelia* pode ser explicada por alguns fatores. O primeiro está relacionado ao comportamento do vetor. Sendo transmitida por carrapatos, o risco de infecção em PNH diminui devido ao hábito de catação (*grooming*), frequente em *Sapajus* e, especificamente em *S. nigratus*, ocorrendo aproximadamente um evento a cada hora (Di Bitetti, 1997; Back *et al.*, 2019). Além disso, uma possível baixa parasitemia pode ter dificultado o diagnóstico. Neste estudo, ao combinar duas metodologias (microscopia e PCR), não foi detectado nenhum indivíduo positivo para *Plasmodium* sp. ou *Borrelia* sp. dentre os 27 indivíduos de *S. nigratus* analisados.

Por fim, considerando a elevada prevalência de 92,59% identificada através da região *ITS1* e de 100% pelo gene mitocondrial *12S rDNA* nos indivíduos de *S. nigratus* da IM, é imprescindível realizar uma análise aprofundada dos índices epidemiológicos (Bush *et al.*, 1997) e da dinâmica da relação parasito-hospedeiro. Essas avaliações foram minuciosamente abordadas no Capítulo II. Em contrapartida, a prevalência de 7,4% observada para o *Trypanosoma* sp. limitou a possibilidade de conduzir análises estatísticas significativas.

CAPÍTULO II

ANÁLISE DA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO ENTRE *Mansonella* sp. E INDIVÍDUOS DE *Sapajus nigrinus* DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ, POR MEIO DE DADOS CLÍNICOS E HEMATOLÓGICOS.

3 CAPÍTULO II: Análise da relação parasito-hospedeiro entre *Mansonella* sp. e indivíduos de *Sapajus nigritus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, por meio de dados clínicos e hematológicos

RESUMO

Os primatas não humanos (PNH) compartilham uma variedade de parasitos com os seres humanos. Um exemplo notável são os nematóides filarídeos, incluindo aqueles pertencentes ao gênero *Dipetalonema Mansonella*. Embora sejam consideradas não patogênicas para os PNH, alterações hematológicas, como a eosinofilia, já foram documentadas em humanos em decorrência da infecção por *Mansonella*. O presente estudo teve como objetivo identificar as microfilárias presentes nos indivíduos de *Sapajus nigritus* que habitam a Ilha da Marambaia, localizada no município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro, Brasil, além de avaliar os índices epidemiológicos e analisar a relação parasito-hospedeiro por meio da associação entre a carga parasitária e parâmetros físicos e hematológicos. Foram capturados 27 indivíduos de *S. nigritus*, e as microfilárias foram identificadas por meio da PCR, com o sequenciamento do *ITS1*, além de análise por microscopia baseada em características morfológicas e morfométricas. Também foram coletados dados sobre parâmetros clínicos e hematológicos para avaliar o estado de saúde desses primatas. As microfilárias foram detectadas em 25 indivíduos (92,59%) por PCR e em 22 (81,48%) por microscopia, sendo identificadas como *Mansonella* sp. Além disso, apresentaram alta intensidade e elevada abundância média. Os macacos-prego foram avaliados como saudáveis com base nos dados clínicos e hematológicos. A análise estatística, realizada por meio de um modelo linear multivariado, evidenciou uma correlação positiva e significativa entre a carga parasitária e os parâmetros da série vermelha, enquanto uma correlação negativa não significativa foi observada com os parâmetros da série branca. Uma análise de correlação com cada parâmetro hematológico confirmou esses resultados. Esses achados sugerem que os primatas coexistem com as microfilárias sem manifestação evidente de patologia clínica, embora essa condição possa estar associada a um aumento da suscetibilidade. Nesse contexto, torna-se particularmente relevante compreender as interações entre hospedeiros e parasitas em populações silvestres de PNH, sobretudo em ambientes onde há potencial de interação entre eles e populações humanas.

Palavras-chave: Microfilária, Carga parasitária, Tolerância imunológica.

3.1 Introdução

No capítulo anterior, os hemoparasitos detectados nos primatas foram apresentados de forma geral, com ênfase na ocorrência em nível de gênero. No entanto, a compreensão da dinâmica da interação parasito-hospedeiro demanda uma abordagem mais específica, considerando as particularidades biológicas, ecológicas e patogênicas dos parasitos envolvidos. Dentre os hemoparasitos identificados, as microfilárias destacam-se por sua elevada frequência de detecção em indivíduos de *S. nigritus*, o que não ocorreu para *Trypanosoma*. Assim, neste capítulo, será realizada a caracterização morfológica e molecular das microfilárias, seguida da análise dos dados clínicos e hematológicos dos indivíduos amostrados para elucidar aspectos da relação parasito-hospedeiro em um contexto de primatas de vida livre.

3.1.1 Relação parasito-hospedeiro

A relação parasito-hospedeiro é uma interação íntima e dinâmica, na qual o parasito depende do hospedeiro para completar o seu ciclo de vida (Crofton, 1971). A especialização do hospedeiro é atribuída a compensações adaptativas associadas ao desempenho do parasito em diferentes espécies, as quais estão diretamente relacionadas à disponibilidade e à previsibilidade relativa desses organismos explorados no ambiente (Solomon *et al.*, 2015). Os parasitos conseguem influenciar a sobrevivência e a reprodução dos hospedeiros, atuando diretamente, por meio de efeitos patológicos, ou indiretamente, por meio da redução de sua condição geral (Gillespie *et al.*, 2008). Embora os PNH raramente apresentem sinais clínicos evidentes decorrentes de infecções parasitárias (Strait *et al.*, 2012), a interação parasito-hospedeiro é complexa e modulada por fatores ecológicos, imunológicos e fisiológicos (Gillespie *et al.*, 2008).

Padrões de mortalidade e morbidade variam significativamente conforme o contexto. Por exemplo, Milton (1996) observou que o padrão de mortalidade observado em bugios (*Alouatta palliata*), em decorrência de infecções por uma mosca-varejeira parasita (*Alouattamyia baeri*), é influenciado por diversas variáveis, incluindo a idade, a condição física e a carga larval do indivíduo afetado. Já em humanos, estudos epidemiológicos sobre a prevalência das infecções de microfilárias demonstram uma forte associação demográfica (Medeiros *et al.*, 2009; Debrah *et al.*, 2017). Ao realizar uma investigação sobre a prevalência de *M. ozzardi* em 921 indivíduos oriundos de comunidades ribeirinhas na região Purus, na Amazônia, Medeiros *et al.* (2009) constataram que a prevalência é significativamente maior

entre homens do que entre mulheres, além de ser mais pronunciada em faixas etárias mais avançadas em ambos os sexos. Em diversas situações, a ausência de sinais clínicos evidentes nessas infecções reflete um estado de equilíbrio evolutivo, no qual o parasita consegue estabelecer infecções crônicas de baixa patogenicidade, enquanto o hospedeiro desenvolve tolerância imunológica (Maizels *et al.*, 2004).

A compreensão da dinâmica das infecções parasitárias demanda a realização de estudos epidemiológicos específicos fundamentados em descritores quantitativos, conforme recomendado por Bush *et al.* (1997). Destacam-se: (1) a prevalência, que representa a proporção de hospedeiros infectados por um ou mais indivíduos de uma determinada espécie de parasito em relação ao total de hospedeiros examinados; (2) a intensidade média refere-se ao número médio de indivíduos de uma espécie de parasito encontrados por hospedeiro infectado; (3) a abundância média corresponde ao número médio de indivíduos de uma espécie de parasito em uma amostra de hospedeiros, incluindo aqueles não infectados (Bush *et al.*, 1997). Tais parâmetros são sensíveis ao grau de preservação e perturbação ambiental.

A acelerada expansão humana em regiões florestais altera a estrutura do habitat, regimes climáticos e a ecologia, incluindo o parasitismo (Solórzano-García *et al.*, 2023). Isso pode impactar a prevalência de doenças parasitárias, mudando a abundância, densidade dos patógenos, além de facilitar a exposição a novos parasitos, influenciando integradamente na saúde dos ecossistemas, fauna silvestre e populações humanas (Solórzano-García *et al.*, 2023). Uma pesquisa envolvendo 286 macacos-vervet, *Chlorocebus pygerythrus*, revelou que a riqueza e a abundância de parasitos e a carga parasitária foram maiores em ambientes antropizados (Thatcher *et al.*, 2018). Por outro lado, em estudo de Solórzano-García *et al.* (2023) ao analisarem parasitos gastrointestinais em populações de mamíferos silvestres em paisagens heterogêneas, identificaram que a riqueza parasitária foi superior em ambientes mais preservados, enquanto a intensidade parasitária foi mais elevada em áreas perturbadas.

Essa modificação na dinâmica patógeno-hospedeiro-ambiente está intimamente ligada às DIE, pois a antropização intensifica as interfaces entre humanos, animais domésticos, vetores e fauna silvestre, favorecendo o *spillover* e a circulação de agentes infecciosos em diversos hospedeiros (Daszak *et al.*, 2000). Em ambientes insulares como a IM, essas interações podem assumir características particulares. O *S. nigritus*, único primata da Ilha, pode atuar como hospedeiro natural e potencial de diversos parasitos infecciosos que também acometem os seres humanos devido à proximidade filogenética, incluindo os filarídeos. Nesse contexto, analisar a relação parasito-hospedeiro entre os patógenos e esses primatas permite

compreender como fatores ecológicos, epidemiológicos e fisiológicos influenciam a dinâmica das infecções, além de contribuir para a avaliação de riscos zoonóticos.

3.1.2 Identificação das microfilárias

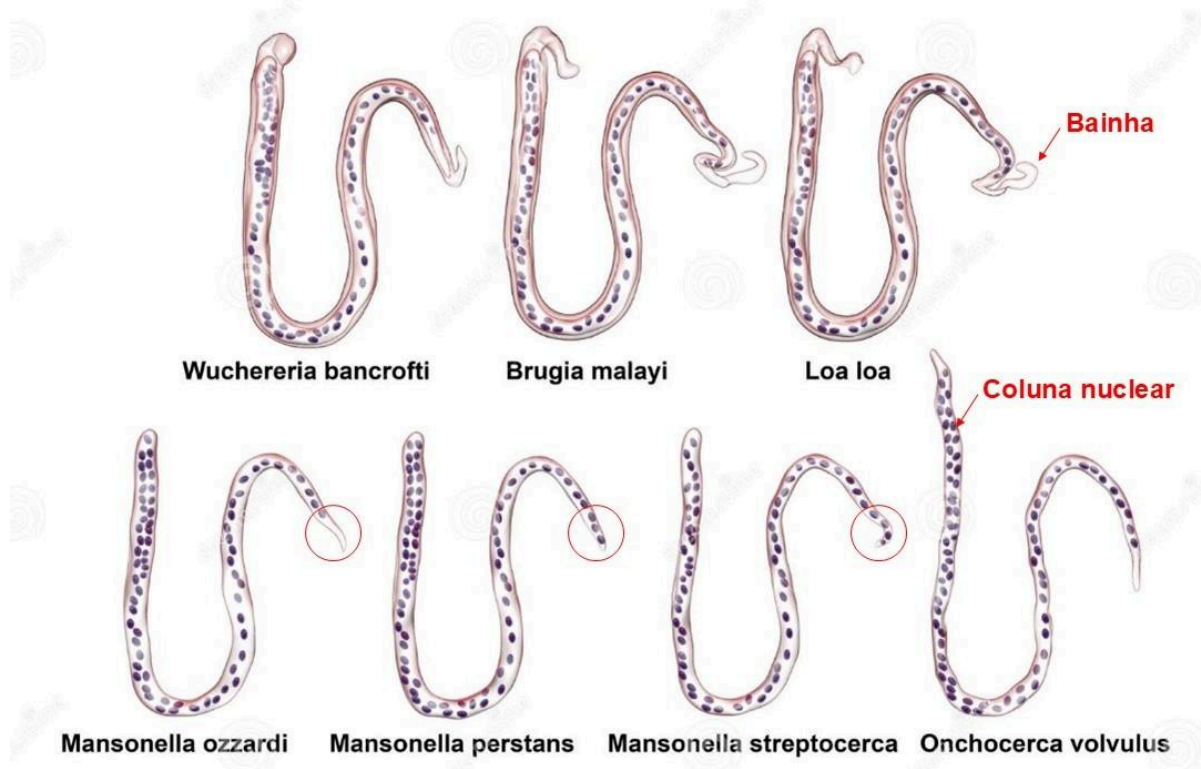
A identificação das microfilárias por meio da microscopia baseia-se na análise de diversas características morfológicas, tais como a morfometria (comprimento e largura do corpo), presença ou ausência de bainha, o arranjo da coluna nuclear e formato da extremidade caudal (Mathison *et al.*, 2019). O tamanho da microfilária pode ser um indicativo útil na determinação da espécie; no entanto, a mensuração precisa do comprimento pode ser dificultada caso a microfilária se apresente dobrada ou enrolada. Além disso, observa-se frequentemente uma sobreposição de medidas, como observado no comprimento do corpo das espécies de *Mansonella*: *M. ozzardi* (190-200 μm), *M. perstans* (163-203 μm) e *M. streptocerca* (180 e 240 μm) (Tabela 2) (Mathison *et al.*, 2019). A detecção de bainha também apresenta limitações técnicas, uma vez que a posição da microfilária pode induzir a erros de interpretação. Destaca-se a ausência desta estrutura apenas em *Mansonella* sp. e *Onchocerca volvulus* (Figura 17) (Mathison *et al.*, 2019). Portanto, o arranjo da coluna nuclear, associado ao formato da cauda, constitui o critério mais relevante para diferenciação de espécies (Mathison *et al.*, 2019). No contexto diferencial de *Mansonella*, *M. perstans* caracteriza-se por uma cauda romba com os núcleos se estendendo até a extremidade; *M. ozzardi* apresenta uma cauda longa e afilada livre de núcleos na ponta; e *M. streptocerca* caracteriza-se por uma cauda em formato de gancho, com núcleos se estendendo até a ponta (Tabela 2; Figura 17) (Ta-Tang *et al.*, 2018).

Tabela 2: Características morfométricas e morfológicas de três espécies de *Mansonella*: *M. perstans*, *M. ozzardi* e *M. streptocerca*.

Espécie	Tamanho (μm)	Cauda	Coluna nuclear
<i>M. perstans</i>	163 – 203	Romba/Arredondada	Presentes até a ponta da cauda
<i>M. ozzardi</i>	190 – 200	Longa/Afilada	Ausentes na ponta da cauda
<i>M. streptocerca</i>	180 – 240	Formato de Gancho	Presentes até a ponta da cauda

Fonte: Mathison *et al.* (2019). Elaborada pela autora.

Figura 17 - Representação das características morfológicas das microfilárias de nematóides filarídeos, incluindo a presença de bainha, formato da cauda e o arranjo da coluna nuclear.



Fonte: Modificado de Dreamstime.com.

Marcadores moleculares nucleares e mitocondriais constituem ferramentas valiosas para a identificação molecular de microfilárias por meio da técnica de PCR. Entre os alvos nucleares destacam-se os espaçadores transcritos internos (*ITS1* e *ITS2*) e o gene ribossomal *5S*. O *ITS1*, por apresentar uma taxa de substituição superior à do *ITS2* (Vilas *et al.*, 2005), gera fragmentos polimórficos variando entre 286 e 344 pb, dependendo da espécie (Tabela 3) (Ta-Tang *et al.*, 2010). Já, em relação aos genes mitocondriais, como o *12S rRNA* e *COX1* bem como o gene nuclear *5S rDNA* os tamanhos esperados dos *amplicons* são distintos: aproximadamente 450 pb para o *12S*, 380 pb para o *5S* e 680 pb para o *COX1* (Tabela 3) (Marcos *et al.*, 2012).

Tabela 3 - Marcadores moleculares utilizados para identificar microfilárias por meio da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase, detalhando o tipo (nuclear ou mitocondrial), tamanho do fragmento e sua respectiva referência.

Marcador molecular	Tipo (Localização)	Tamanho do fragmento (pb)	Referência
<i>ITS1</i>	Nuclear (Espaçador)	286 – 344	Ta-Tang <i>et al.</i> (2010)
<i>ITS2</i>	Nuclear (Espaçador)	Variável	Crainey <i>et al.</i> (2018); Chan <i>et al.</i> (2020)
<i>5S rDNA</i>	Nuclear	380	Marcos <i>et al.</i> (2012)
<i>12S rDNA</i>	Mitocondrial	450	Marcos <i>et al.</i> (2012)
<i>COX1</i>	Mitocondrial	680	Marcos <i>et al.</i> (2012)

Fonte: Elaborada pela autora.

A espécie microfilária pode ser identificada por meio da análise filogenética do fragmento obtido (Kimura, 1980; Morgulis *et al.*, 2008). Para tal, é imprescindível a realização do sequenciamento do produto da PCR.

O sequenciamento de DNA foi desenvolvido em 1977 por Frederick Sanger e seus colaboradores, utilizando o método de terminação em cadeia (Sanger *et al.*, 1977) e, entre as décadas de 1980 e 1990, foi introduzido o sequenciamento automatizado, eliminando a necessidade de gel de agarose para a análise da sequência obtida (Smith *et al.*, 1986). Em ambos os processos, a reação ocorre de maneira semelhante. O princípio da reação envolve a purificação dos produtos da PCR para a remoção de interferentes (*primers*, nucleotídeos livres e enzimas), servindo como DNA molde para o processo de sequenciamento. Nesta reação, é imprescindível a presença de um *primer* complementar, além da DNA polimerase, dNTPs e didesoxinucleotídeos trifosfatados (ddNTPs) marcados. Durante a síntese, a DNA polimerase incorpora aleatoriamente os dNTPs e ddNTPs. A adição de qualquer ddNTP resulta na interrupção imediata da elongação da cadeia, devido à ausência do grupo hidroxila (-OH) na posição 3', impedindo a formação da ligação fosfodiéster com o próximo nucleotídeo. Anteriormente, esse processo era realizado em quatro reações distintas, cada uma contendo um ddNTP (ddATP, ddCTP, ddGTP e ddTTP). No contexto do sequenciamento automatizado, os nucleotídeos terminadores são marcados com fluorocromos, possibilitando a execução em um único tubo. Os fragmentos gerados, de tamanhos variados, são separados por eletroforese capilar no sequenciador automático. Durante a migração dos fragmentos, um laser excita os fluorocromos, resultando na formação de um eletroferograma. Assim, a sequência de nucleotídeos é determinada pela ordem de detecção dos ddNTPs, permitindo uma análise mais

ágil e precisa (Smith *et al.*, 1986). Por fim, a sequência é submetida à análises bioinformáticas. *Softwares* como o MEGA, permitem que essas sequências sejam comparadas com outras depositadas no GenBank referentes ao mesmo gene para inferência taxonômica (Morgulis *et al.*, 2008) e estimativa de distância genética, considerando modelos de substituição de nucleotídeos, como transições e transversões (Kimura, 1980).

3.1.3 Impactos clínicos e hematológicos decorrentes de infecções por filarídeos

Em humanos, infecções por *Mansonella* sp. são frequentemente associadas à eosinofilia e ao aumento dos níveis totais de IgE, ainda que os sinais clínicos sejam leves ou inespecíficos (Ritter *et al.*, 2025). Além disso, febre moderada, sensação de frio nos membros inferiores, dores nas articulações, dores de cabeça e lesões oculares foram atribuídos à infecção por *M. ozzardi* (Batista *et al.*, 1960; Cohen *et al.*, 2008; Medeiros *et al.*, 2009).

Em PNH, manifestações clínicas decorrentes da infecção por filarídeos podem ocorrer em casos de alta parasitemia, incluindo lesões macroscópicas patológicas identificadas *post-mortem* (Ehlers *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2023). A presença dos nematoides também pode impactar os parâmetros hematológicos dos primatas (Costa *et al.*, 2024). Alterações hematológicas em macacos-cinomolgo (*Macaca fascicularis*), primatas do Velho Mundo, como: redução dos níveis de hemoglobina e hematócrito, eosinofilia e aumento da proteína total, decorrentes da infecção pelo filarídeo *Edesonfilaria malayensis*, já foram relatados (Nonoyama *et al.*, 1984). Já para os PN, a literatura é escassa. Existe apenas um estudo que analisou a influência da infecção por microfilárias em mico-leão-da-cara-dourada, *Leontopithecus chrysomelas*, no qual se observou aumento nos níveis de hemoglobina em indivíduos positivos (Costa *et al.*, 2024). Esse cenário evidencia a carência de estudos aprofundados sobre a sintomatologia ou alterações hematológicas associadas a essas infecções em PN (Mediannikov & Ranque, 2018).

Diante disso, a investigação parasitária em PNH, mapeando áreas de risco e avaliando a relação hospedeiro-parasito, é fundamental para monitorar a saúde dessas populações e as Doenças Infecciosas Emergentes, especialmente em vida livre (Solórzano-Garcia & De León, 2018; Zinner *et al.*, 2023). Para esse propósito, os parâmetros clínicos e laboratoriais são ferramentas fundamentais para a detecção de possíveis patologias associadas à presença de parasitos (Ferreira *et al.*, 2018). Entretanto, a interpretação dessas alterações enfrenta limitações devido à escassez de valores de referência (Moore, 2000) para os PN (Lima *et al.*, 2014), visto que a maioria dos estudos concentra-se em primatas do Velho Mundo, como

rhesus (*Macaca mulatta*) e chimpanzés (Ihrigh *et al.*, 2001; Buchl & Howard, 1997; Shah *et al.*, 2022; Avazi *et al.*, 2025).

No que se refere ao gênero *Sapajus*, os dados hematológicos na literatura são escassos e fragmentados, com uma predominância de publicações focadas na espécie *S. apella*, cujos indivíduos são exclusivamente de cativeiro, conforme detalhado na Tabela 4. Observa-se que, para as demais espécies do gênero, além do número reduzido de referências, a maioria dos estudos também envolve animais mantidos em cativeiro (Tabela 4). Essa situação evidencia a necessidade urgente de ampliar o conhecimento sobre os valores de referência para esses PN, incluindo estudos com animais de vida livre.

Tabela 4: Espécies do gênero *Sapajus* contempladas em estudos hematológicos conforme o contexto de amostragem e referências bibliográficas.

Espécie de <i>Sapajus</i>	Contexto	Referências
<i>Sapajus apella</i>	Maior volume de estudos; animais mantidos em cativeiro	Larsson <i>et al.</i> (1999); Naves <i>et al.</i> (2006); Wirz <i>et al.</i> (2008); Núñez <i>et al.</i> (2008); Ospina <i>et al.</i> (2012); Silva <i>et al.</i> (2023)
<i>S. libidinosus</i>	Animais de vida livre e mantidos em cativeiro	Ribeiro <i>et al.</i> (2015); Ferreira <i>et al.</i> (2018); Abreu-Sousa <i>et al.</i> (2020); Hernandez-Cruz <i>et al.</i> (2022)
<i>S. flavius</i>	Animais mantidos em cativeiro	Teixeira <i>et al.</i> (2013)
<i>S. nigritus e S. cay</i>	Citados como <i>Sapajus</i> spp.; animais de vida livre	Flaiban <i>et al.</i> (2008)
<i>Sapajus sp.</i>	Animais mantidos em cativeiro	Monteiro <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Elaborada pela autora.

Além dos parâmetros hematológicos, a realização de um exame físico constitui uma abordagem complementar essencial (Flaiban *et al.*, 2008), pois, para os referidos parâmetros serem estabelecidos de maneira confiável, é imprescindível que os indivíduos se apresentem clinicamente saudáveis no momento da coleta de sangue (Souvignet *et al.*, 2019).

Vale ressaltar que as alterações nos parâmetros eritrocitários podem indicar anemia, hemorragia ou redução do volume plasmático devido à desidratação, enquanto variações nos leucócitos refletem condições infecciosas, inflamatórias, tóxicas ou relacionadas ao estresse (Jain, 1993).

3.1.4 Justificativa

A atual escassez de estudos que avaliem, integradamente, os impactos decorrentes da infecção por filarídeos em PN limita a compreensão do papel desses parasitos na saúde individual e populacional desses animais. Nesse contexto, torna-se imperativa a identificação taxonômica precisa — unindo microscopia e biologia molecular (PCR) — das microfilárias detectadas nos indivíduos de *S. nigritus* da Ilha da Marambaia. Essa identificação é essencial para determinar o potencial zoonótico no parasito, considerando especialmente a possível transmissão cruzada na interface silvestre-humano-doméstico, sob a perspectiva da Saúde Única. A análise detalhada dos índices epidemiológicos, incluindo a quantificação da carga parasitária, fornece subsídios críticos para futuras estratégias de manejo, controle e monitoramento de riscos sanitários locais. Paralelamente, a correlação desses dados com os perfis clínicos e hematológicos de *S. nigritus* permitirá elucidar a patogenicidade da infecção por microfilária, preenchendo lacunas sobre a biologia da espécie e contribuindo para a conservação desses primatas.

3.1.5 Objetivos

Neste capítulo, objetivou-se: identificar as microfilárias presentes nos indivíduos de *S. nigritus* por meio da microscopia e da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), avaliar índices epidemiológicos da infecção e analisar a relação hospedeiro-parasito com base no exame clínico e hematológico dos macacos-prego.

3.1.5.1 Objetivos específicos

a) Identificar molecularmente a espécie de microfilária detectada nos indivíduos de *S. nigritus* da Ilha da Marambaia, por meio do sequenciamento dos produtos de PCR.

H0: As espécies encontradas correspondem às microfilárias classicamente descritos para o gênero, especificamente, *Dipetalonema gracile*; H1: Os *S. nigritus* da Marambaia carregam microfilárias distintas das relatadas na literatura clássica.

b) Estimar os índices epidemiológicos: prevalência, abundância e intensidade média das microfilárias nos indivíduos amostrados.

H0: Os indivíduos amostrados apresentam alta prevalência de infecção associada a baixa intensidade e abundância média parasitária, refletindo um equilíbrio evolutivo típico de ambientes conservados; H1: Os indivíduos amostrados apresentam padrões de infecção alterados, com mudanças na prevalência e aumento da intensidade e

abundância média parasitária, indicativos de estresse ambiental ou maior exposição decorrente da interface com áreas antropizadas.

c) Avaliar a relação parasito-hospedeiro por meio de exame clínico e hematológico dos macacos-prego capturados, para avaliar possíveis patologias.

H0: Os primatas não apresentam alterações clínicas ou hematológicas que possam ser associadas à infecção por microfilárias; H1: A presença das microfilárias está associada às alterações patológicas detectadas, especialmente em indivíduos com alta carga parasitária.

3.2 Material e Métodos

As licenças, área de estudo, procedimentos para captura, sedação, identificação individual, coleta de amostra biológica, preparação dos esfregaços sanguíneos, retorno anestésico, soltura e monitoramento pós-soltura estão descritos no tópico 2.2, itens 2.2.1 a 2.2.4 do Capítulo I.

3.2.1 Purificação dos *amplicons* e sequenciamento

Os fragmentos amplificados para o *ITS1* descritos no tópico 3, item 3.2 do Capítulo I, foram purificados utilizando o reagente *ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent*. Esse reagente contém as enzimas Exonuclease I e Fosfatase Alcalina para degradar *primers* e dNTPs não incorporados da reação anterior. Para isso, misturaram-se 5 µL de cada produto de PCR com 2 µL do reagente purificador. As amostras foram submetidas a um ciclo de incubação a 37 °C por 15 min (para degradação enzimática), seguido da inativação térmica a 80 °C por 15 min. Posteriormente, o sequenciamento dos nucleotídeos foi realizado pelo método de Sanger utilizando um sequenciador automático ABI 3500 (*Applied Biosystems*). A análise das sequências brutas e a inspeção da qualidade dos eletroferogramas foram conduzidas no programa *BioEdit* v.7.2.5, com posterior verificação e edição manual.

3.2.2 Análise filogenética

A identidade taxonômica das sequências geradas foi verificada mediante comparação com depósitos no GenBank (NCBI) utilizando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTn). Foram avaliados parâmetros de cobertura para verificação da (*Query Cover*) e o percentual de identidade para validar a similaridade com as espécies referência. Posteriormente, as sequências obtidas foram alinhadas com as sequências recuperadas do banco de dados usando o algoritmo ClustalW. A reconstrução filogenética foi realizada pelo

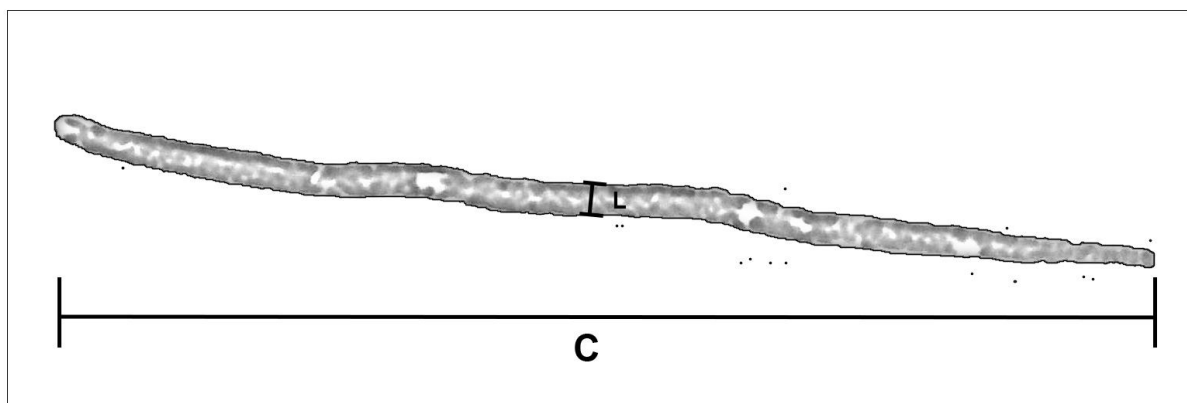
método de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood*), adotando-se o modelo evolutivo de Kimura dois parâmetros (K2P), com 1000 repetições de *bootstrap*, (Kimura, 1980; Morgulis *et al.*, 2008), sendo todas as análises realizadas no *software* MEGA 12.

3.2.3 Análise microscópica

A análise microscópica inicial está descrita no tópico 2.2, item 2.2.5 no Capítulo I.

Adicionalmente, foi realizada a caracterização morfológica e morfométrica de 30 microfilárias utilizando microscópio óptico *Olympus BX45®* acoplado ao *software* de análise de imagens *D'Cell®*. Para a morfometria, foram mensurados o comprimento total e a largura do corpo (Figura 18). Também foram avaliados os critérios morfológicos qualitativos: presença ou ausência de bainha, tipo de cauda (romba ou afilada) e a extensão da coluna nuclear até a extremidade da cauda, conforme chaves taxonômicas descritas por Mathison *et al.* (2019).

Figura 18 - Esquema com a representação da medida do comprimento total (C) e da largura (L) das microfilárias detectadas nos indivíduos de *Sapajus nigritus* (Primates: Cebidae) da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: Elaborado pela autora e por Diogo Pignatara Coimbra.

3.2.4 Índices epidemiológicos e carga parasitária

Os descritores quantitativos da infecção: prevalência, intensidade média e abundância média foram calculados segundo as definições e recomendações propostas por Bush *et al.* (1997).

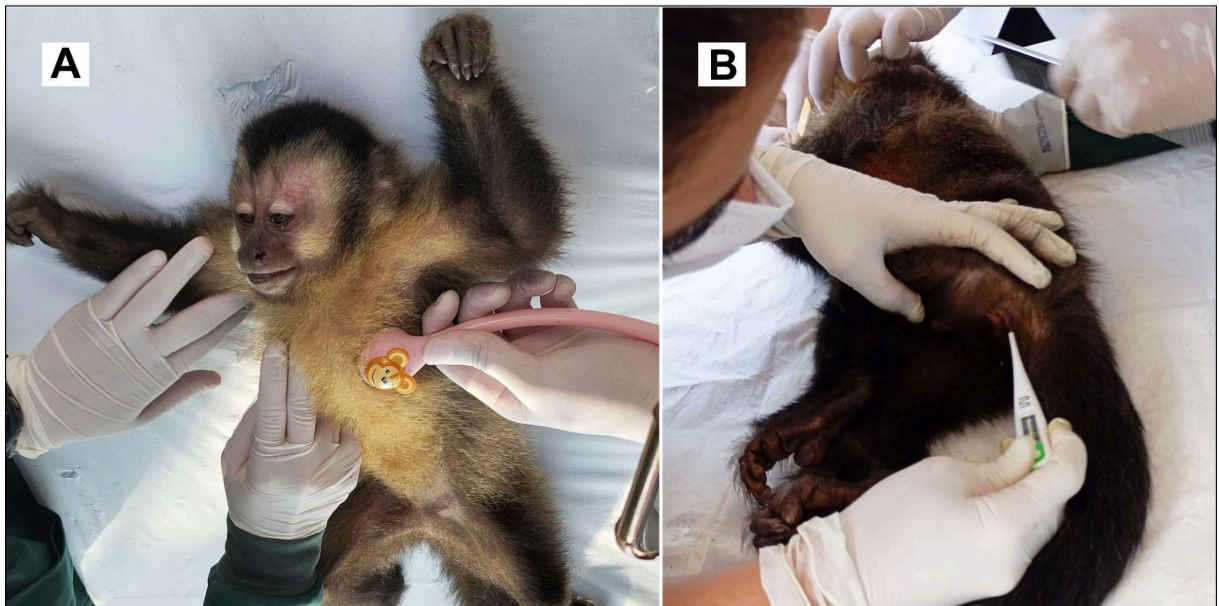
Para a contagem das microfilárias foram analisadas três lâminas de esfregaço sanguíneo por indivíduo, com auxílio de um contador manual de quatro dígitos. A média obtida representa a carga parasitária.

3.2.5 Análise clínica

O exame clínico dos animais foi realizado sob sedação. A avaliação do estado nutricional baseou-se no sistema de escore de condição corporal (*Body Condition Scoring*) utilizando uma escala subjetiva de 1 (emaciado) a 5 (obeso), conforme Clingerman & Summers (2005). Também realizou-se a inspeção visual e palpação abdominal para a presença de alopecia, ectoparasitos, feridas, cicatrizes e alterações abdominais.

A frequência cardíaca (batimentos por minuto, bpm) foi mensurada por auscultação com estetoscópio neonatal (*Littmann®*) (Figura 19A), enquanto a frequência respiratória (movimentos por minuto, mpm) foi determinada pela contagem dos movimentos torácicos ou abdominais. Os parâmetros vitais foram monitorados a cada cinco minutos durante todo o procedimento, seguindo diretrizes de segurança anestésica (MCGIL UNIVERSITY, 2025). A temperatura corporal foi aferida por via retal com termômetro digital (Cortopassi & Yanai, 2014) (Figura 19B).

Figura 19 - Análises clínicas realizadas nos indivíduos de *Sapajus nigratus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. A: Frequência cardíaca sendo mensurada por auscultação, utilizando estetoscópio neonatal; B: Temperatura corporal aferida por via retal com termômetro digital.



Fonte: Elaborada pela autora.

A coloração das mucosas foi classificada como normocrômica ou hipocrômica e a mensuração do tempo de preenchimento capilar foi aferida por meio de compressão gengival. Adicionalmente, a glicemia foi determinada com uso de glicosímetro (Descarpak®) imediatamente após a coleta a partir de sangue coletado da veia femoral.

Por fim, o estado de hidratação dos animais foi estimado com base na avaliação da elasticidade da pele, coloração e umidade das mucosas, presença de enoftalmia, tempo de preenchimento capilar e condição geral (incluindo nível de consciência, postura e temperatura das extremidades). A interpretação desses parâmetros seguiu os critérios descritos por Feitosa (2014), considerando a perda de peso corporal associada à desidratação da seguinte forma: até 5% (não aparente), 6–8% (leve), 8–10% (moderada), 10–12% (grave) e >12% (muito grave).

3.2.6 Parâmetros hematológicos

Dos 5 mL de sangue coletado (descrito no tópico 2, item 2.3 do Capítulo I), 0,5 mL foi acondicionado em um microtubo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante para as análises hematológicas.

A contagem global de eritrócitos e leucócitos foi realizada manualmente na câmara de Neubauer (Weiser, 2022a). O volume globular (VG) foi determinado pela técnica do microhematócrito (Schmidt, 2017), enquanto a concentração de hemoglobina foi mensurada pelo método da cianometametemoglobina, utilizando o reagente de Drabkin, em analisador bioquímico semiautomático (*Bio-200/Bioplus*®). Com base nesses parâmetros, os índices hematimétricos - volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados segundo as fórmulas de Wintrobe (Schmidt, 2017).

A contagem diferencial dos leucócitos e a estimativa plaquetária indireta foi realizada a partir de esfregaços sanguíneos via microscopia óptica (aumento de 400X) em esfregaços sanguíneos (Brahimi *et al.*, 2009, Weiser, 2022a). Por fim, as proteínas plasmáticas totais (PPT) foram mensuradas utilizando refratômetro manual, conforme descrito por Weiser (2022b).

A análise do perfil hematológico foi realizada considerando o total dos indivíduos amostrados (N = 26). Posteriormente, os dados foram categorizados por sexo (machos e fêmeas adultos), por faixa etária (machos adultos e juvenis, devido à ausência de fêmeas juvenis) e por *status* parasitário. Este último foi definido com base na análise microscópica, na qual as microfilárias não foram detectadas em cinco indivíduos (N = 0), possivelmente devido à uma menor carga parasitária, e foram observadas em 21 indivíduos, com cargas parasitárias variáveis.

3.2.7 Análise estatística

Inicialmente, foi aplicado um teste U de Mann-Whitney, devido a existência de dados não paramétricos conforme indicado pelo teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965), para verificar se os parâmetros hematológicos diferiram de acordo com as características biológicas avaliadas (sexo, idade e *status* parasitário) obtendo valores de p , mediana e intervalo interquartilico (IQR).

Para investigar a relação da carga parasitária com os parâmetros hematológicos, foi inicialmente realizada uma análise de normalidade (Shapiro-Wilk) para cada parâmetro. Em seguida, foi aplicado um modelo linear multivariado (*manyglm*) (Kutner, 2005), considerando como resposta os parâmetros hematológicos divididos em série vermelha (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, VGM e CHGM) e série branca (leucócitos, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos), e como preditora, a carga parasitária. A carga parasitária foi considerada tanto em seu valor original quanto transformada por logaritmo ($\log I_p$), com o objetivo de reduzir a assimetria da distribuição e minimizar a influência de *outliers*. Entretanto, considerando que os dados apresentaram forte padrão de agregação entre os hospedeiros, a carga parasitária foi mantida em sua escala original (Wilson *et al.*, 1997). Os resultados demonstraram significância por meio do valor de p , e a força de associação por meio do valor de R^2 de Hooper. A visualização dos resultados foi realizada por meio de gráficos de dispersão com ajuste linear (*geom_smooth*) para cada variável, permitindo uma interpretação conjunta.

Adicionalmente, foi utilizada uma análise de correlação para investigar a associação isolada entre a carga parasitária e cada parâmetro hematológico, incluindo as plaquetas e as proteínas plasmáticas totais, as quais não entraram na análise multivariada. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para os dados com distribuição normal e o coeficiente de Spearman para dados não paramétricos (Pearson, 1895; Spearman, 1904). Os resultados das correlações incluíram o coeficiente de correlação e o valor de p para cada parâmetro hematológico. Para visualização, foi criado um *heatmap* usando *ggplot2*.

Considerou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todos os testes. As análises estatísticas e a confecção dos gráficos foram realizadas no ambiente computacional R versão 4.3.0 (R Core Team, 2023).

3.3 Resultados e Discussão

As informações referentes ao código, identificação do *microchip*, data de captura, local, sexo, idade e peso dos 27 macacos-prego capturados encontram-se detalhadas no Anexo A.

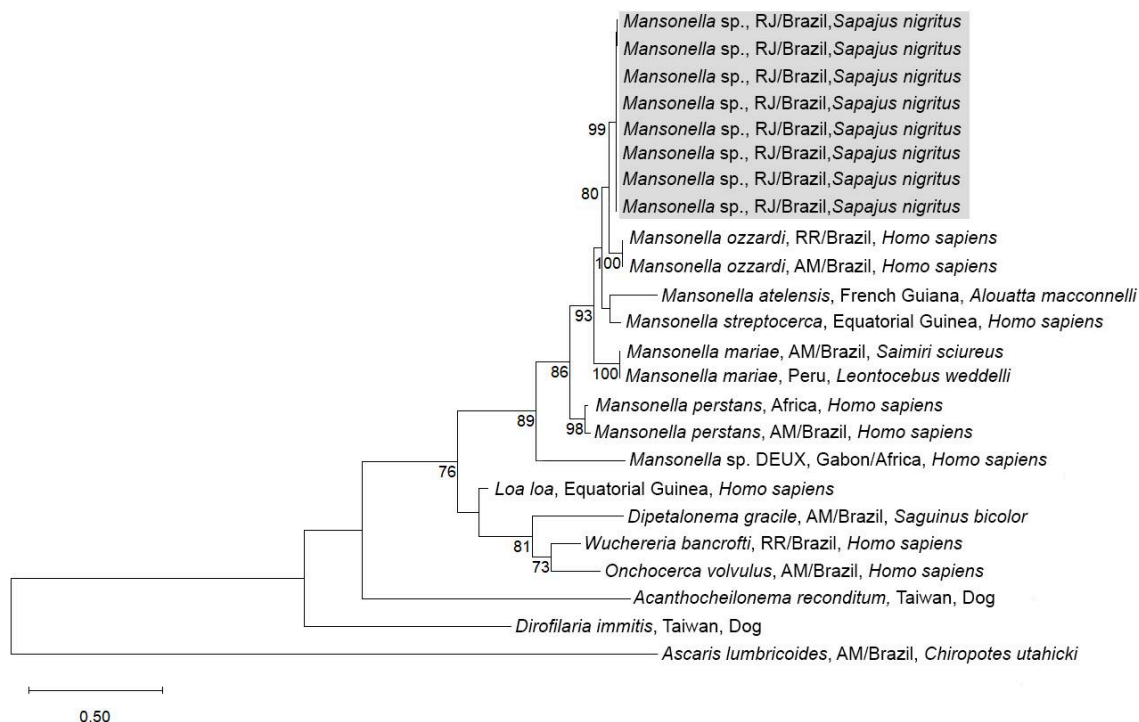
3.3.1 Identificação da microfilária através da genética molecular

A triagem molecular por PCR demonstrou maior taxa de detecção do parasito, com positividade em 25 indivíduos (92,59%; n = 25/27) por meio do *ITS1*, e 100% (n = 27/27) por meio do gene *I2S* em comparação aos 22 detectados (81,48%; n = 22/27) via microscopia.

Para caracterização molecular foram selecionadas oito amostras da região *ITS1* que apresentaram *amplicons* de alta qualidade e pureza (Anexo B). As sequências foram depositadas no GenBank sob os números de acesso de PX684364 - PX684371. A sequência de consenso gerada abrangeu uma região composta pela extremidade 3' do gene *18S rDNA*, o espaçador interno transcrito (*ITS1*) e a extremidade 5' do gene *5.8S rDNA*. A análise de similaridade (BLASTn), revelou 100% de cobertura (*Query Cover*), *E-value* de 0.0 e 91,48% de *Percent Identity* com *M. ozzardi*, além de 100% de *Query Cover*, 4e-108 de *E-value* e 93,21% de *Percent Identity* com *M. perstans*.

Consistente com a baixa identidade nucleotídica percentual com *M. ozzardi* e *M. perstans*, a análise filogenética posicionou as sequências obtidas neste estudo em um clado monofilético distinto com 99% de sustentação, recuperado como clado irmão de *M. ozzardi*, com suporte de *bootstrap* de 80% (Figura 20). Todas as sequências do GenBank utilizadas para a construção da árvore encontram-se detalhadas no Anexo C.

Figura 20 - Árvore filogenética com base no método de Máxima Verossimilhança a partir de fragmentos de 440-496 pb da região *ITS1* de microfilárias detectadas em amostras de sangue de oito indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. As sequências em cinza representam as amostras analisadas neste estudo.

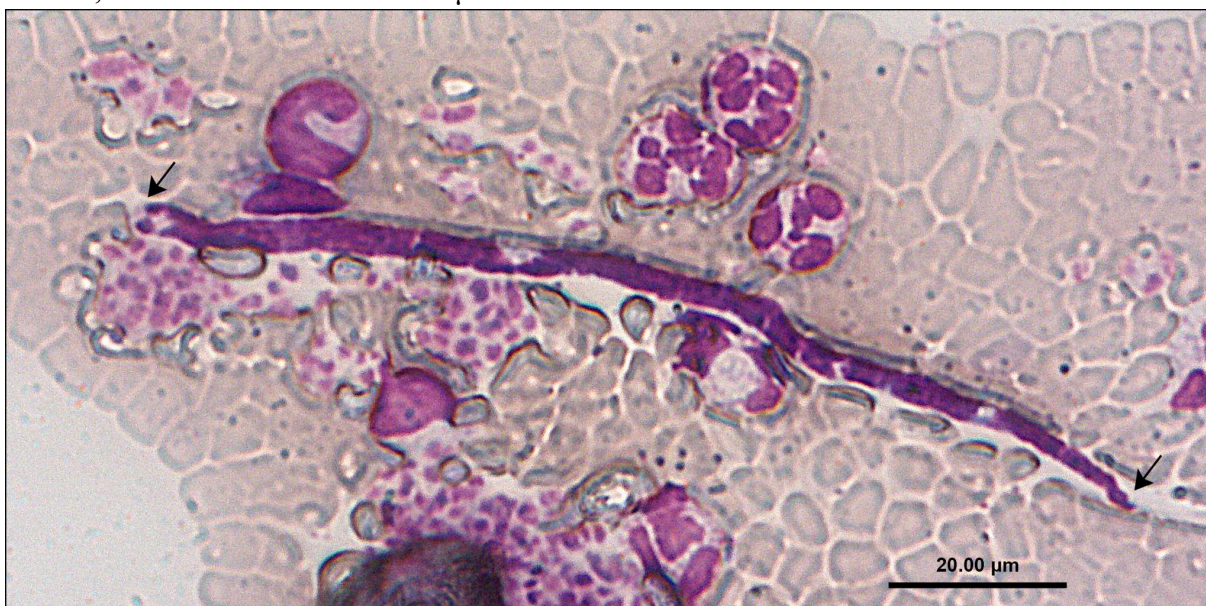


Fonte: Elaborada pela autora.

3.3.2 Identificação da microfilária através da microscopia

Na análise microscópica, observou-se ausência de bainha em todas as microfilárias (Figura 21), característica diagnóstica compatível com o gênero *Mansonella*. Além disso, observou-se na extremidade anterior um curto espaço cefálico com dois núcleos e cauda romba, com núcleos estendendo-se até a extremidade (Figura 21), característica descrita para *Mansonella perstans* (Tabela 5). Embora esse padrão morfológico qualitativo se assemelhe ao descrito na literatura para *M. perstans*, houve divergência nos parâmetros quantitativos.

Figura 21 - Microfilárias de *Mansonella* sp. apresentando curto espaço cefálico com dois núcleos e cauda romba com núcleos até a extremidade (setas), observadas em esfregaço sanguíneo de *Sapajus nigritus* capturado na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. Barra de escala: 20 μ m.



Fonte: Elaborada pela autora.

A análise morfométrica registrou um comprimento médio de $133,62 \pm DP\ 22,11\ \mu$ m e largura média de $3,28 \pm DP\ 0,48\ \mu$ m. Essas dimensões são inferiores aos valores de referência descritos tanto para *M. perstans* quanto para *M. ozzardi* (Mathison *et al.*, 2019) (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparação das características morfológicas e morfométricas das microfilárias detectadas neste estudo em relação a *Mansonella ozzardi*, *M. perstans* e *M. streptocerca*.

Característica	Este estudo	<i>M. perstans</i>	<i>M. ozzardi</i>	<i>M. streptocerca</i>
Comprimento (μ m)	$133,62 \pm 22,11$	- (163–203)	- (190–200)	- (180–240)
Largura (μ m)	$3,28 \pm 0,48$	5	5	5
Ausência de bainha	+	+	+	+
2 núcleos na extremidade anterior	+	+	-	-
Cauda romba	+	+	-	-
Coluna nuclear até a ponta da cauda	+	+	-	+

Fonte: Ta-Tang *et al.* (2018); Mathison *et al.* (2019). Elaborada pela autora.

Diante principalmente das divergências relativas ao comprimento e largura, muito abaixo das demais espécies, as microfilárias foram identificadas como *Mansonella* sp.

3.3.3 Índices epidemiológicos e carga parasitária

A prevalência de microfilárias nos indivíduos de *S. nigrinus* amostrados por meio da microscopia foi de 81,48% $\pm$ DP 7,48 (IC 95%: 61,92–93,70%), a intensidade média foi de 92,01 $\pm$ DP 31,10 (IC 95%: 27,42–156,58) e a abundância média foi de 74,97 $\pm$ DP 26,15 (IC 95%: 21,22–128,72) (Tabela 6). A carga parasitária (média de três esfregaços sanguíneos) de cada indivíduo está detalhada na Tabela 6.

Tabela 6 - Carga parasitária de *Mansonella* sp. de cada indivíduo de *Sapajus nigrinus* da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, incluindo dados sobre sexo e idade.

ID	Sexo	Idade	Carga parasitária
IMS01	M	Adulto	32
IMS02	F	Adulto	0
IMS03	M	Juvenil	223,33
IMS04	F	Adulto	4,33
IMS05	M	Adulto	19,66
IMS06	M	Adulto	546,33
IMS07	F	Adulto	0
IMS08	M	Juvenil	3
IMS09	M	Juvenil	55,66
IMS10	M	Juvenil	14,66
IMS11	F	Adulto	0
IMS12	F	Adulto	160,66
IMS13	M	Juvenil	67,66
IMS14	M	Juvenil	3,33
IMS15	F	Adulto	0
IMS16	M	Adulto	440
IMS17	F	Adulto	2,5
IMS18	F	Adulto	149,33
IMS19	F	Adulto	0
IMS20	M	Adulto	13,66
IMS21	M	Juvenil	1
IMS22	M	Juvenil	37,66
IMS23	F	Adulto	4
IMS24	M	Adulto	168,66
IMS25	F	Adulto	26
IMS26	M	Adulto	73
IMS27	M	Juvenil	32

IMS: Ilha da Marambaia *Sapajus*; F: Fêmea; M: Macho. Fonte: Elaborada pela autora.

3.3.4 Análise clínica dos indivíduos de *Sapajus nigritus*

A análise clínica foi realizada em 26 macacos-prego, uma vez que não foi possível fazer as medições em um indivíduo, e o nível de glicose no sangue foi aferido em 24 indivíduos. Os valores dos parâmetros clínicos de peso, escore corporal, frequência cardíaca e respiratória, tempo de preenchimento capilar, temperatura corporal e glicemia foram calculados para todos os indivíduos e posteriormente estratificados por categoria etária (adultos *vs.* juvenis) e sexo (machos *vs.* fêmeas) (Tabela 7). Os animais foram considerados saudáveis de acordo com o escore corporal (Fortman *et al.*, 2018).

Em relação ao estado de hidratação, 10 indivíduos foram classificados como hidratados, 11 como levemente desidratados e 5 como desidratados. Quanto à coloração das mucosas, 19 indivíduos apresentaram mucosas normocoradas e 7 apresentaram mucosas pálidas.

Tabela 7 - Parâmetros clínicos de 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, separados por classe etária e sexo, expressos como média $\pm$ desvio padrão.

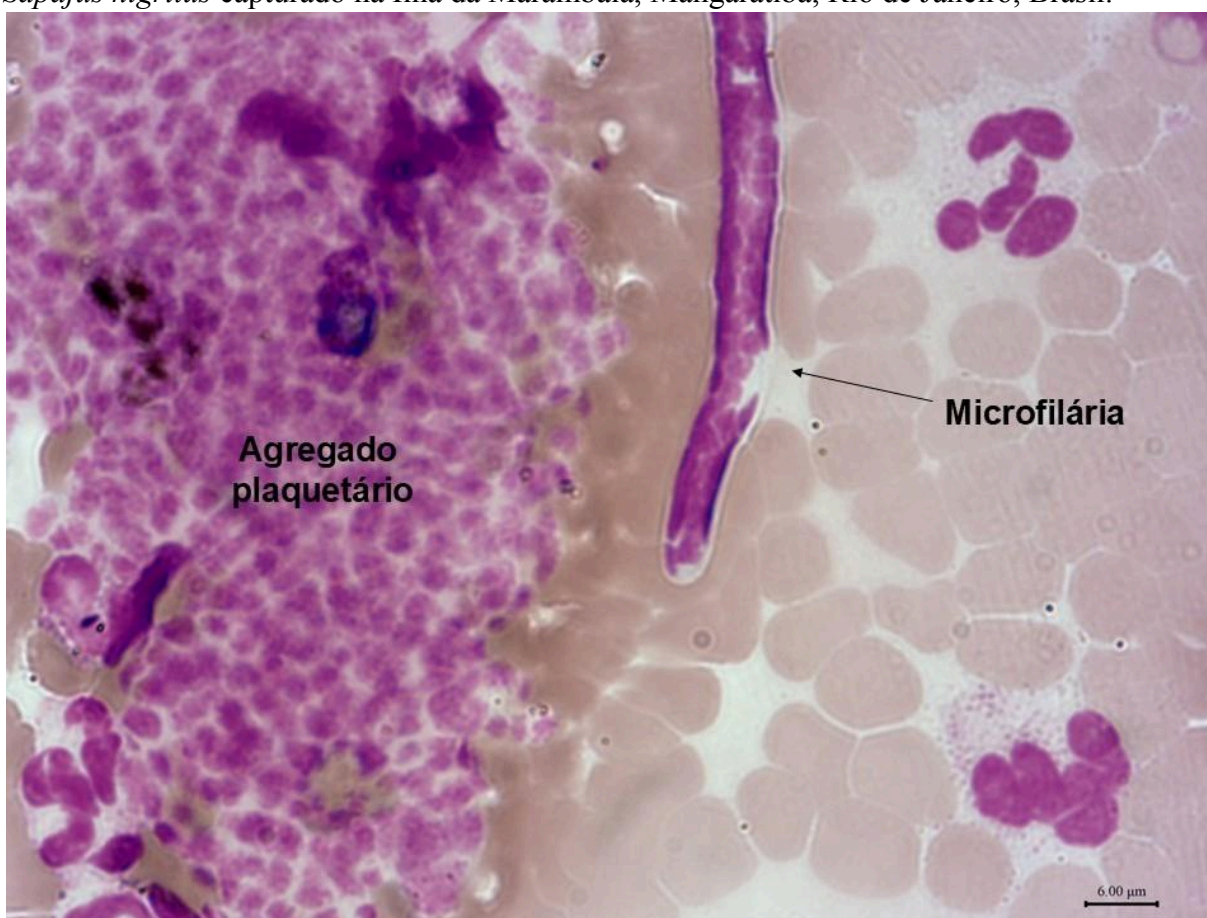
Parâmetros	Total	Adultos	Juvenis	Machos	Fêmeas
Número de indivíduos	26 (24 para Glicemia)	18	9	16	11
Peso corporal	2,41 $\pm$ 0,86	2,80 $\pm$ 0,80	1,71 $\pm$ 0,34	2,42 $\pm$ 1,12	2,40 $\pm$ 0,31
Escore Corporal	2,90 $\pm$ 0,37	3,03 $\pm$ 0,33	2,69 $\pm$ 0,37	2,73 $\pm$ 0,32	3,14 $\pm$ 0,32
Frequência Cardíaca	247,08 $\pm$ 52,03	242,06 $\pm$ 58,68	259,37 $\pm$ 39,22	247 $\pm$ 58,26	247,18 $\pm$ 44,88
Frequência Respiratória	112,38 $\pm$ 25,89	112,71 $\pm$ 29,52	113,5 $\pm$ 19,26	107,46 $\pm$ 19,48	119,09 $\pm$ 32,87
Tempo de Preenchimento Capilar	1,2 $\pm$ 0,45	1,29 $\pm$ 0,53	1,06 $\pm$ 0,18	1,03 $\pm$ 0,13	1,45 $\pm$ 0,61
Temperatura Retal	39,46 $\pm$ 0,71	39,36 $\pm$ 0,82	39,71 $\pm$ 0,39	39,6 $\pm$ 0,38	39,27 $\pm$ 0,1
Glicemia	121,92 $\pm$ 53,46	107,37 $\pm$ 34,65	130,29 $\pm$ 47,53	132,38 $\pm$ 62,09	109,54 $\pm$ 40,47

Fonte: Elaborada pela autora.

3.3.5 Parâmetros hematológicos dos indivíduos de *Sapajus nigrinus*

A análise do perfil hematológico foi realizada com sucesso em 26 indivíduos de *S. nigrinus* (uma vez que não foi possível obter esses dados para um indivíduo) e foi comparado com diversas referências, considerando o gênero *Sapajus*, para uma melhor amplitude dos dados (Tabela 8). Destaca-se que foi observada agregação plaquetária em 21 (80,7%) indivíduos (Figura 22), requerendo cautela na interpretação quantitativa das plaquetas para estes indivíduos.

Figura 22 - Agregado plaquetário e microfilária observados em esfregaço sanguíneo de *Sapajus nigrinus* capturado na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 8 - Parâmetros hematológicos de 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, com os respectivos valores de referência para o gênero *Sapajus*.

Parâmetros	Média	DP	Mediana	EP	IC95%	Valores de referência
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,01	0,40	5,99	0,08	5,85 - 6,17	4,43 ¹ - 6,82 ²
Hemoglobina (g/dL)	14,03	1,08	14	0,21	13,60 - 14,47	11,02 ³ - 15,10 ⁴
Hematócrito (%)	43,54	3,21	43	0,63	42,24 - 44,84	37,97 ⁵ - 46,60 ⁴
VCM (fL)	72,40	1,19	72,45	0,23	71,92 - 72,88	67,90 ⁶ - 82,30 ⁴
CHCM (g/dL)	32,21	0,34	32,2	0,07	32,08 - 32,35	27,64 ³ - 33,74 ⁷
PPT (g/dL)	7,47	0,67	7,5	0,13	7,20 - 7,75	6,80 ⁸ - 9,00 ⁸
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	14.688,46	4.903,09	14,65	961,57	12.708,06 - 16.668,86	7.200 ⁹ - 21.660 ³
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	726,92	812,05	430,50	159,25	398,92 - 1.054,92	210 ¹⁰ - 903 ¹¹
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10.899,65	4.207,5	11.311,5	825,16	9.200,21 - 12.599,1	3.000 ¹² - 16.320 ³
Linfócitos ($\times 10^3/\mu$)	2.767,61	1.417,36	2.318,5	277,97	2.195,13 - 3.340,10	3.101 ⁴ - 4.590 ³
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	273,57	207,49	189,00	40,69	189,77 - 357,39	186 ¹¹ - 860 ³
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	123.300	118.500	69.200	13.600	95.320 - 151.220	53.000 ⁸ - 455.440 ¹²

DP: Desvio Padrão; EP: Erro Padrão; IC95%: 95% Intervalo de Confiança; PCV: VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; PPT: Proteína Plasmática Total; ¹Silva *et al.* (2023); ²Naves *et al.* (2006); ³Hernandez-Cruz *et al.* (2022); ⁴Souvignet *et al.* (2019); ⁵Ospina (2009); ⁶Teixeira (2013); ⁷Ramalho (2014); ⁸Abreu-Sousa *et al.* (2020); ⁹Ospina *et al.* (2009); ¹⁰Ferreira *et al.* (2018); ¹¹Ramalho (2014); ¹²Monteiro *et al.* (2016). Fonte: Elaborada pela autora.

No perfil hematológico segundo a faixa etária, os machos adultos apresentaram maiores valores para os parâmetros da série vermelha e PPT, enquanto os machos juvenis apresentaram maiores valores para os parâmetros da série branca e plaquetas (Tabela 9). O teste *U* de Mann-Whitney identificou diferenças significativas nos eritrócitos ($p = 0,03$), hemoglobina ($p = 0,02$), hematócrito ($p = 0,01$) e VCM ($p = 0,04$) (Tabela 9). Além disso, leucócitos e linfócitos apresentaram tendência à diferença entre os grupos ($p = 0,05$).

No perfil hematológico segundo o sexo, os machos adultos demonstraram maiores valores para os parâmetros da série vermelha, com exceção do CHCM, além de plaquetas, linfócitos e monócitos, enquanto fêmeas adultas apresentaram maiores valores de leucócitos, eosinófilos e neutrófilos (Tabela 10). Foram observadas diferenças significativas nos eritrócitos ($p = 0,04$), hemoglobina ($p = 0,02$), hematócrito ($p = 0,01$), VCM ($p = 0,02$) e linfócitos ($p = 0,04$), com maiores valores nos machos (Tabela 10).

No perfil hematológico segundo o *status* parasitário, os indivíduos positivos para *Mansonella* sp. apresentaram um padrão sugestivo de resposta inflamatória, caracterizado por maiores valores de leucócitos, linfócitos, monócitos e neutrófilos, sendo este último significativamente maior em comparação aos indivíduos negativos ($p = 0,04$) (Tabela 11). No entanto, esses parâmetros se encontram dentro dos valores de referência, não indicando um quadro patológico. Além disso, os indivíduos positivos apresentaram menores valores para os parâmetros da série vermelha (Tabela 11).

Tabela 9 - Parâmetros hematológicos de 16 machos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados por faixa etária.

Parâmetros	Faixa etária		
	Machos adultos (N =7)	Machos juvenis (N=9)	Teste <i>U</i>
	Mediana (IQR 25°-75°)	Mediana (IQR 25°-75°)	Valor de <i>p</i>
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,35 (6,26–6,64)	5,91 (5,53–6,1)	0,03*
Hemoglobina (g/dL)	15,15 (14,8–15,57)	13,50 (12,8–14,4)	0,02*
Hematócrito (%)	47 (46,25–48,5)	42 (40–45)	0,01*
VCM (fL)	73,65 (73–73,85)	72,3 (71,1–73)	0,04*
CHCM (g/dL)	32,2 (32,02–32,3)	32,1 (32–32,4)	0,9
PPT (g/dL)	7,6 (7,45–7,75)	6,8 (6,6–7,4)	0,1
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10.250 (7.670–17.250)	16.800 (14.700–20.900)	0,05
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	256,5 (201,75–352,50)	486 (294–836)	0,17
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8.002,5 (5.414,25–13.659)	11.928 (11.703–14.652)	0,22
Linfócitos ($\times 10^3/\mu$)	2.060 (1.836–2.654,5)	4.031 (2.646–4.698)	0,05*
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	173 (153,5–189,5)	402 (168–444)	0,11
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	97.500 (45.750–167.250)	123.000 (87.000–210.000)	0,29

DP: Desvio Padrão; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; PPT: Proteína Plasmática Total; Teste *U*: teste *U* de Mann-Whitney; *Significativo ($p < 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 10 - Parâmetros hematológicos de 18 indivíduos adultos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados por sexo.

Parâmetros	Sexo		
	Machos adultos (N =7)	Fêmeas adultas (N=11)	Teste <i>U</i>
	Mediana (IQR 25°-75°)	Mediana (IQR 25°-75°)	Valor de <i>p</i>
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,35 (6,26–6,64)	5,92 (5,71–6,06)	0,04*
Hemoglobina (g/dL)	15,15 (14,8–15,57)	13,6 (13,25–14,25)	0,02*
Hematócrito (%)	47 (46,25–48,50)	42 (41,50–43,50)	0,01*
VCM (fL)	73,65 (73–73,85)	71,90 (71,5–72,70)	0,02*
CHCM (g/dL)	32,2 (32,02–32,30)	32,3 (31,95–32,5)	0,76
PPT (g/dL)	7,6 (7,45–7,75)	7,8 (7,2–8,1)	0,69
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10.250 (7.670–17.250)	13.400 (10.600–15.750)	0,51
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	256,5 (201,75–352,50)	534 (242–949)	0,39
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8.002,50 (5.414,50–13.659)	9.916 (8.079,5–12.524,5)	0,72
Linfócitos ($\times 10^3/\mu$)	2.060 (1.836,75–2.654,50)	1.651 (1.381,50–2.720,50)	0,45
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	173 (153,5–189,5)	168 (130,5–325)	0,88
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	97.500 (45.750–167.250)	96.000 (66.000–126.250)	0,80

DP: Desvio Padrão; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; PPT: Proteína Plasmática Total; Teste *U*: teste *U* de Mann-Whitney; *Significativo ($p < 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 11 - Parâmetros hematológicos de 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil, categorizados de acordo com o *status* parasitário avaliado por meio da microscopia.

Parâmetros	<i>Status</i> parasitário		
	Positivos (N = 21)	Negativos (N= 5)	Teste <i>U</i>
	Mediana (IQR 25°-75°)	Mediana (IQR 25°-75°)	Valor de <i>p</i>
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,92 (5,62–6,34)	6,04 (5,99–6,08)	0,64
Hemoglobina (g/dL)	13,90 (13,1–15,1)	14,10 (13,90–14,40)	0,69
Hematócrito (%)	43 (41–47)	43 (43–44)	0,67
VCM (fL)	72,7 (71,7–73,6)	71,80 (71,80–72,40)	0,70
CHCM (g/dL)	32,10 (32–32,40)	32,40 (32,30–32,70)	0,19
PPT (g/dL)	7,40 (7–7,80)	7 (7,2–8)	0,53
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	14.700 (13.400–19.000)	8.900 (8.000–12.700)	0,07
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	423 (222–836)	560 (350–1.016)	0,56
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	11.928 (9.916–14.652)	6.319 (5.840–9.906)	0,04*
Linfócitos ($\times 10^3/\mu$)	2.646 (1.617–3.916)	2.030 (1.651–2.225)	0,40
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	278 (158–402)	160 (127–168)	0,14
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	123.000 (75.000–177.000)	66.000 (66.000–96.000)	0,27

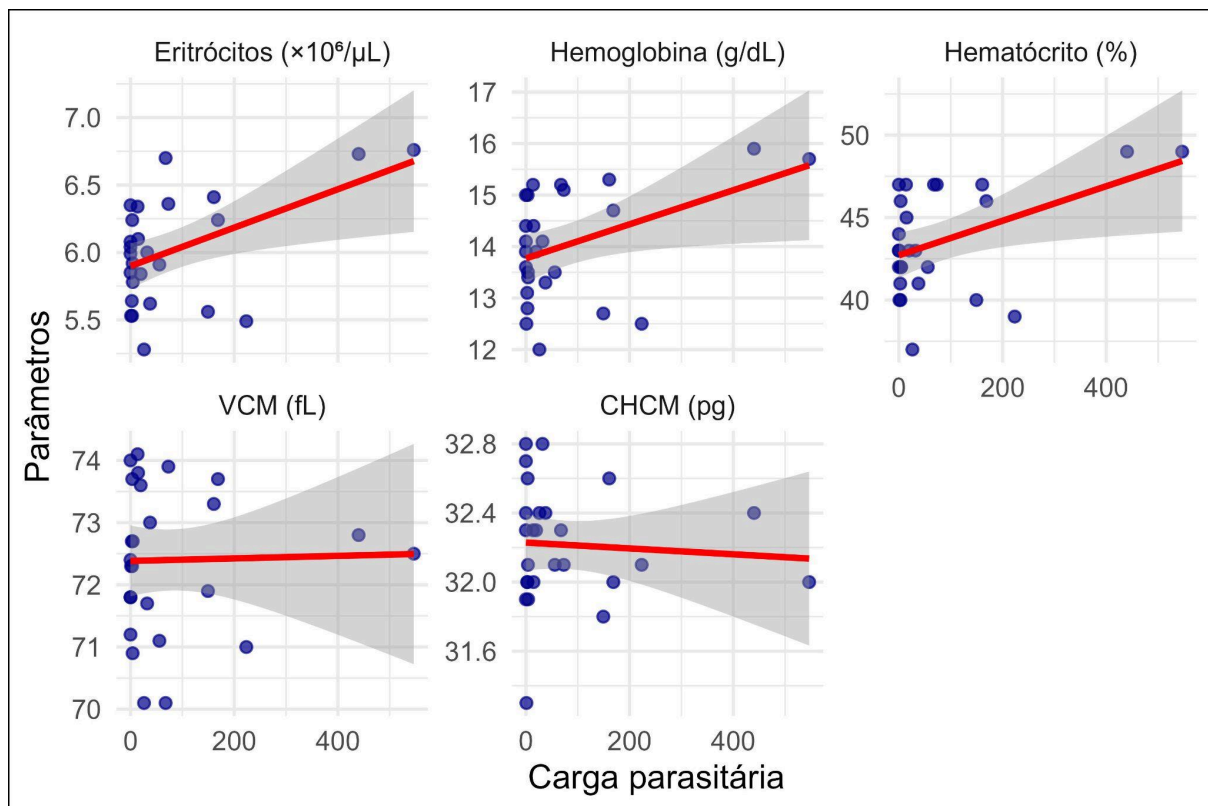
DP: Desvio Padrão; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; PPT: Proteína Plasmática Total; Teste *U*: teste *U* de Mann-Whitney; *Significativo ($p < 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora.

3.3.6 Análise estatística entre a carga parasitária e os parâmetros hematológicos

A análise multivariada indicou efeito significativo da carga parasitária de *Mansonella* sp. sobre os parâmetros da série vermelha ($p = 0,03$), com o coeficiente de determinação multivariado $R^2 = 0,1764$, indicando que a carga parasitária explicou 17,6% da variabilidade dos parâmetros hematológicos, e sugerindo um efeito explicativo moderado (Figura 23). Além disso, foi observado que os valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito se elevam com o aumento da carga parasitária (Figura 23).

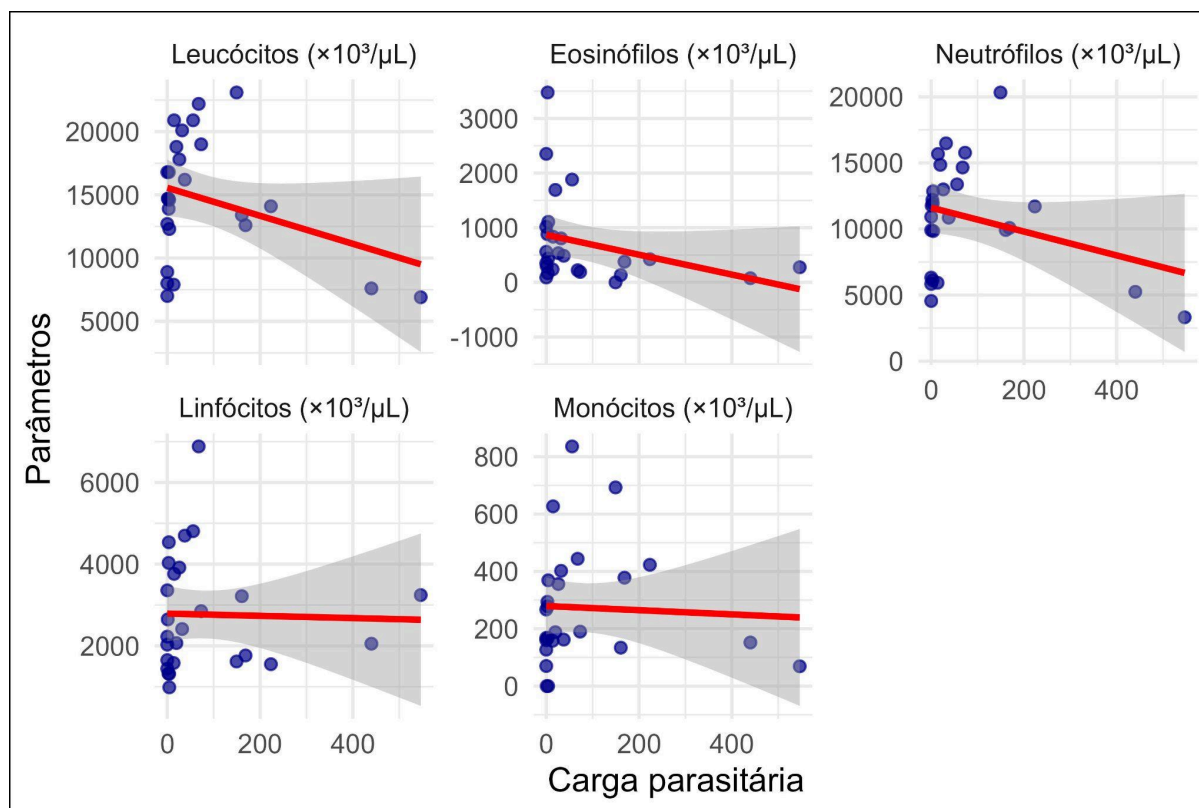
Em relação a série branca, não foi observado efeito significativo da carga parasitária de *Mansonella* sp. sobre os parâmetros ($p = 0,22$) com coeficiente $R^2 = 0,0887$, indicando que a carga parasitária explica apenas 8,8% da variação global desses parâmetros (efeito explicativo fraco) (Figura 24). Porém, foi observado que os valores de leucócitos, neutrófilos e eosinófilos diminuem com o aumento da carga parasitária (Figura 24).

Figura 23 - Modelo linear multivariado mostrando a relação entre os parâmetros hematológicos da série vermelha e a carga parasitária de *Mansonella* sp. em 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: RStudio; Elaborada pela autora.

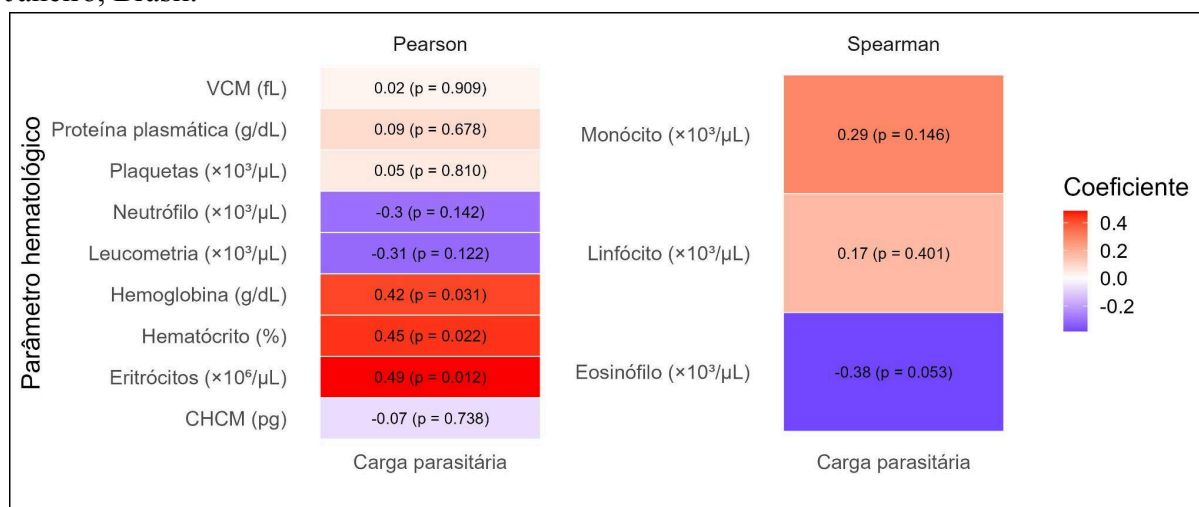
Figura 24 - Modelo linear multivariado mostrando a relação entre os parâmetros hematológicos da série branca e a carga parasitária de *Mansonella* sp. em 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: RStudio; Elaborada pela autora.

A análise de correlação entre a carga parasitária de *Mansonella* sp. e cada parâmetro hematológico revelou diferentes padrões de associação. Conforme o coeficiente de correlação de Pearson, observamos uma correlação moderada positiva significativa entre a carga parasitária de *Mansonella* sp. e os valores de eritrócitos ($r = 0,49$, $p = 0,012$), hematócrito ($r = 0,45$, $p = 0,022$) e hemoglobina ($r = 0,42$, $p = 0,031$), indicando que indivíduos com maiores cargas parasitárias tendem a apresentar aumento desses parâmetros (Figura 25). Em contrapartida, foram observadas correlações fracas negativas e não significativas entre a carga parasitária de *Mansonella* sp. e as contagens de neutrófilos ($r = -0,3$, $p = 0,142$) e de leucócitos totais ($r = -0,31$, $p = 0,122$), sugerindo que esses parâmetros tendem a diminuir, porém, sem alteração significativa (Figura 25). Utilizando o coeficiente de *Spearman*, que considera relações não lineares, observamos uma correlação fraca negativa com tendência significativa entre a carga parasitária de *Mansonella* sp. e os eosinófilos ($\rho = -0,38$, $p = 0,053$), indicando que este parâmetro diminui quase significativamente com o aumento da carga parasitária (Figura 25).

Figura 25 - Análise de correlação mostrando os efeitos positivos e negativos na relação entre a carga parasitária de *Mansonella* sp. e todos os parâmetros hematológicos em 26 indivíduos de *Sapajus nigritus* capturados na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: RStudio; Elaborada pela autora.

Neste estudo, registramos pela primeira vez *Mansonella* sp. em *S. nigritus*, com alta prevalência (92,59% indivíduos positivos por PCR por meio do *ITS1* e 100% por meio do gene *12S rDNA*). As análises filogenéticas da região *ITS1* agruparam nossas sequências próximas a *M. ozzardi* (80% de *bootstrap*), porém formando clado distinto e bem sustentado (99%). A identidade nucleotídica foi de 91,48% com *M. ozzardi* e 93,21% com *M. perstans*. Apesar da amplificação de regiões conservadas (*18S* e *5.8S rDNA*), a divergência consistente nas sequências sugere a presença de uma *Mansonella* sp. distinta. Essa diferenciação pode ser influenciada pelo contexto insular da área de estudo, uma vez que o isolamento geográfico e a área reduzida podem moldar a diversidade genética, segundo a Teoria da Biogeografia de Ilhas (MacArthur & Wilson, 1967), ou seja, em populações pequenas e isoladas, variantes genéticas podem se fixar de forma aleatória ao longo do tempo, resultando em diferenciação genética. Ademais, a identificação de *Mansonella* por meio da microscopia e da PCR leva à rejeição da hipótese nula (H_0) e ao aceite da hipótese alternativa (H_1), evidenciando o primeiro registro desse gênero de filarídeo em *S. nigritus*. Além da alta prevalência, também foram observadas alta intensidade de infecção e elevada abundância média das microfilárias observadas por microscopia. Pela IM ser considerada uma região conservada, era esperado o oposto, pois uma maior intensidade e abundância podem estar relacionadas à condição física precária do hospedeiro devido a um maior estresse (Thatcher *et al.*, 2018; Solórzano-García *et al.*, 2023), ocorrendo em áreas antropizadas. Neste caso, valores elevados de intensidade e

abundância média parasitária podem relevar um estado de cronicidade da relação entre as microfilárias e os indivíduos de *S. nigritus*.

Devido à inexistência de valores de referência específicos para *S. nigritus* de vida livre, comparamos nossos dados com parâmetros gerais para *Sapajus* spp. (Flaiban *et al.*, 2008), em animais de vida livre, embora sem investigação de hemoparasitos. Os valores da série vermelha (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito/PCV, VCM, CHCM), plaquetas e PPT foram consistentes com a literatura (Tabela 8). Entretanto, as plaquetas apresentaram grande variação, podendo ser devido à agregação plaquetária observada na maioria das amostras, o que dificultou a mensuração precisa. Em primatas, a coleta de sangue é difícil, feita mediante captura em armadilha e o estresse favorece a liberação de fatores teciduais que ativam as plaquetas rapidamente, resultando em agregação plaquetária (Corewyn *et al.*, 2023). Em relação aos valores médios mais elevados de leucócitos, eosinófilos e neutrófilos, estes ainda se mantiveram nos valores de referência (Tabela 8). As contagens médias de linfócitos e monócitos foram menores em comparação com outros estudos, porém também permaneceram no intervalo de confiança (Tabela 8).

Quanto ao sexo, corroborando achados prévios (Souvignet *et al.*, 2019; Larsson *et al.*, 1999), as fêmeas apresentaram menores contagens de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito em relação aos machos, com diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,04$, $p = 0,02$, $p = 0,01$, respectivamente) (Tabela 10). Esse padrão pode estar relacionado a fatores fisiológicos, podendo ser atribuído à menstruação das fêmeas (Souvignet *et al.*, 2019) ou à maior massa muscular dos machos (Larsson *et al.*, 1999).

Estudo prévio relatou que indivíduos juvenis apresentam valores mais elevados de hematócrito, hemoglobina e linfócitos, além de menores contagens de neutrófilos em comparação aos adultos (Souvignet *et al.*, 2019). No presente estudo, entretanto, apenas os linfócitos apresentaram valores mais elevados em juvenis, enquanto hematócrito e hemoglobina foram inferiores, e os neutrófilos superiores, quando comparados aos adultos (Tabela 9). Os valores de linfócitos apresentaram tendência à diferença significativa ($p = 0,05$), confirmando a premissa de que o leucograma seria influenciado apenas pela idade (Riviello & Wirz, 2001).

Considerando o *status* parasitário com o diagnóstico de microfilárias por microscopia, as contagens de eritrócitos, hemoglobina, VCM e CHCM foram menores em indivíduos positivos para microfilárias, enquanto os valores de PPT e plaquetas foram maiores (Tabela

11). As contagens de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos foram maiores em indivíduos positivos, enquanto os eosinófilos foram menores (Tabela 11). Nos animais, os leucócitos são responsáveis pela proteção do organismo contra diversos patógenos (Abreu-Sousa *et al.*, 2020). Neste estudo, os valores de leucócitos não diferiram significativamente ($p = 0,07$) entre indivíduos positivos e negativos. Os linfócitos, que podem refletir alterações na replicação celular decorrentes de agentes infecciosos (Lapin, 1973; Weinberg, 2014), também não diferiram significativamente ($p = 0,40$). Eritrócitos, hemoglobina e hematócrito auxiliam no diagnóstico de anemia e na avaliação de sua gravidade (Thrall *et al.*, 2015). Os valores de eritrócitos e hemoglobina foram menores em indivíduos positivos, enquanto tiveram o mesmo valor de hematócrito; entretanto, não diferiram significativamente dos indivíduos negativos (Tabela 11). Além disso, os valores de hemoglobina e hematócrito estão dentro da faixa de referência para *Sapajus* spp. (Tabela 8), indicando que esses indivíduos não estavam anêmicos. Dos 26 indivíduos, apenas seis apresentaram mucosas pálidas, enquanto 16 estavam desidratados. A desidratação pode mascarar a anemia, tornando necessários os valores de PPT para avaliação (Barger, 2003). Contudo, neste caso, os valores de PPT não variaram substancialmente e não diferiram significativamente ($p = 0,53$) entre indivíduos positivos e negativos (Tabela 11).

Na análise multivariada, foi observado efeito significativo da carga parasitária nos parâmetros da série vermelha, e não significativo na série branca. Porém, foi observado um aumento nos valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito com o aumento da carga parasitária (Figura 23), enquanto foi observado um decréscimo do valor de leucócito, eosinófilo e neutrófilo (Figura 24). Na análise de correlação, foi observada uma correlação moderada positiva significativa entre os parâmetros da série vermelha, particularmente eritrócitos, hemoglobina e hematócrito (Figura 25). Achado semelhante foi relatado em micos-leões-de-cara-dourada infectados por microfilárias, que demonstraram valores de hemoglobina mais elevados em indivíduos positivos (Costa *et al.*, 2024). Em contraste, os parâmetros da série branca (especialmente leucócitos, eosinófilos e neutrófilos), apresentaram correlação fraca negativa e não significativa com a carga parasitária em nosso estudo (Figura 25).

A presença de microfilárias no hospedeiro é geralmente associada à anemia (Bezerra *et al.*, 2021; Parkouda *et al.*, 2024). Nesses casos, a anemia é considerada não regenerativa, com curso clínico crônico e início lento, frequentemente acompanhada de neutropenia e trombocitopenia (Bezerra *et al.*, 2021). Os *S. nigritus* analisados da IM não estavam

anêmicos, uma vez que os valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito estavam dentro dos valores de referência. Embora os valores de neutrófilos tenham sido maiores em indivíduos positivos, a correlação com a carga parasitária de *Mansonella* sp. foi negativa ($r = -0,3$), ou seja, quanto maior carga parasitária, menor a contagem de neutrófilos, corroborado por achados anteriores (Bezerra *et al.*, 2021). Níveis elevados de eosinófilos são tipicamente observados em infecções causadas por *M. perstans*, devido à reação imunológica do hospedeiro contra os vermes filariais adultos (Baird *et al.*, 1988; Ta-Tang *et al.*, 2018). Neste estudo, ocorreu o oposto: os valores de eosinófilos diminuem com o aumento da carga parasitária (Figura 24), refletindo seus menores valores em indivíduos positivos em comparação aos negativos, embora sem diferença significativa ($p = 0,56$) (Tabela 11). Um estudo demonstrou que indivíduos infectados por *M. ozzardi* apresentam respostas imunológicas semelhantes a indivíduos não infectados. Foram observadas respostas linfoproliferativas comparáveis frente a antígenos filariais e não relacionados, além de padrões semelhantes na produção de citocinas regulatórias (Abrahim *et al.*, 2019). Esses achados sugerem que a infecção por esse filarídeo não produz alteração significativa na resposta imune. Isso é consistente com o presente estudo, uma vez que a série branca apresentou correlação fraca negativa com a carga parasitária de *Mansonella* sp. Desse modo, a hipótese nula (H0) e alternativa (H1) surpreendentemente se sobrepõem, pois mesmo com alta carga parasitária, os indivíduos de *S. nigritus* não apresentam sinais clínicos de doenças decorrentes dessa infecção.

Ao ser avaliada a resposta imune de indivíduos infectados por *M. perstans*, foram detectados baixos níveis de citocinas inflamatórias e regulatórias, produzindo um perfil imunológico atenuado que indicou forte imunomodulação induzida pelo parasito (Ritter *et al.*, 2018). Neste estudo, foi observado que indivíduos adultos apresentam valores mais elevados dos parâmetros da série vermelha, enquanto juvenis apresentaram maiores valores da série branca. Esse padrão pode estar relacionado ao tempo de infecção. Os adultos, potencialmente expostos ao patógeno por períodos mais prolongados, podem desenvolver uma adaptação fisiológica, com uma resposta inflamatória crônica e modulada. Nos juvenis, possivelmente com estágios de infecção mais recentes, tendem a apresentar um sistema imune mais ativo, responsivo e não modulado. Os mecanismos de adaptação do parasito ao hospedeiro seguem as mesmas regras de adaptação ao ambiente, como condição para a sobrevivência da espécie (Ferreira, 1973), resultando em uma tolerância adaptativa que reduz a reatividade imunológica do hospedeiro aos seus parasitos (Sprent, 1959). Ainda assim, a

correlação negativa entre a carga parasitária e os parâmetros da série branca, enfatizando a tendência na diminuição dos eosinófilos, pode indicar um enfraquecimento do sistema imune dos primatas, o que pode ser crítico, caso sejam infectados por outro parasito, tornando-os mais suscetíveis.

Diante dessa possível adaptação bem-sucedida, tornam-se essenciais estudos futuros para confirmar a espécie do filarídeo detectado, bem como investigar os vetores envolvidos, seu potencial zoonótico e sua real influência sobre a saúde dos indivíduos de *S. nigritus*, único hospedeiro identificado até o momento.

4. CONCLUSÕES

Os 27 indivíduos de *Sapajus nigrinus* amostrados na Ilha da Marambaia apresentaram prevalência de 92,59% de microfilárias por meio da PCR utilizando o marcador *ITS1*. Em contraste, *Trypanosoma* sp. apresentou baixa ocorrência, sendo detectado apenas em dois indivíduos.

Não há evidências da circulação de *Plasmodium* sp. e *Borrelia* sp. nos indivíduos de *S. nigrinus* amostrados, dada a ausência de detecção tanto por microscopia óptica quanto por PCR.

A PCR detectou um maior número de indivíduos positivos em relação à microscopia; no entanto, não houve diferença significativa quanto à precisão entre os métodos de diagnóstico empregados. A combinação de ambas as técnicas é recomendada para maximizar a acurácia e minimizar falsos negativos.

A identificação das microfilárias foi realizada por meio do sequenciamento da região *ITS1*, indicando que elas provavelmente não correspondem às espécies previamente descritas de *Mansonella*, hipótese também sustentada pela análise morfométrica da microfilária.

Apesar das altas taxas de prevalência, intensidade e abundância média parasitária, os espécimes de *S. nigrinus* apresentaram-se clinicamente hígidos de acordo com os parâmetros clínicos e hematológicos avaliados no estudo.

Os parâmetros hematológicos dentro das faixas de referência e a correlação fraca e não significativa entre a carga parasitária e a série branca sugerem um estado de tolerância imunológica ou uma resposta modulada à infecção por *Mansonella* sp.

A relação filogenética estreita entre as sequências de *Mansonella* sp. detectadas em *S. nigrinus* e *M. ozzardi* reforça a importância do monitoramento da interface parasito-hospedeiro em ambientes silvestres, especialmente em áreas de sobreposição entre humanos e PNH, como na Ilha da Marambaia.

REFERÊNCIAS

- ABRAHIM, Claudia M. M. *et al.* Detection of *Mansonella ozzardi* among blood donors from highly endemic interior cities of Amazonas state, northern Brazil. **Transfusion**, v. 59, n. 3, p. 1044–1051, 2019.
- ABREU SOUSA, Gabriel *et al.* Haematological and biochemical parameters of wild capuchin monkeys in Brasília, Federal District—Brazil. **Journal of Medical Primatology**, v. 49, n. 4, p. 1–7, 2020.
- ALMEIDA, Marco Antônio B. de *et al.* Yellow fever outbreak affecting *Alouatta* populations in Southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008–2009. **American Journal of Primatology**, v. 74, n. 1, p. 68–76, 2012.
- ALVARENGA, Denise A. M. *et al.* Simian malaria in the Brazilian Atlantic forest: First description of natural infection of capuchin monkeys (Cebinae subfamily) by *Plasmodium simium*. **Malaria Journal**, v. 14, n. 1, 2015.
- ARAÚJO, Francisco A. A. *et al.* Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 527–536, 2011.
- ARAÚJO, Roniuz R. de *et al.* Avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães: Revisão. **Pubvet**, v. 16, n. 10, 2022.
- AVAZI, Daniel *et al.* Haemato-Biochemical Profile Of A Wounded Captive Adult Female Chimpanzee (*Pan troglodytes*). **Journal of Research in Veterinary Medicine**, v. 44, n. 1, p. 66–69, 2025.
- BACK, Janaína P.; SUZIN, Adriane; AGUIAR, Lucas M.. Activity budget and social behavior of urban capuchin monkeys, *Sapajus* sp. (Primates: Cebidae). **Zoologia**, v. 36, e30845, 2019.
- BAIRD, John Kevin.; NEAFIE, Ronaldi C.; CONNOR, Daniel H. Nodules in the conjunctiva, bung-eye, and bulge-eye in Africa caused by *Mansonella perstans*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 38, n. 3, p. 553–557, 1988.
- BARGER, Anne M. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, p. 1207–1222, 2003.
- BATISTA, Djalma; OLIVEIRA, Wallace Ramos; RABELLO, Virgínia Dupré. Estudo da patogenicidade da e da sintomatologia da *Mansonella ozzardi* (mansonelose). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 5, p. 281–289, 1960.
- BELAY, Ermias D. *et al.* Zoonotic disease programs for enhancing global health security. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, p. S65–S70, 2017.
- BENNINK, Sandra; KIESOW, Meike J.; PRADEL, Gabriele. The development of malaria parasites in the mosquito midgut. **Cellular Microbiology**, v. 18, n. 7, p. 905–918, 2016.

BEZERRA, Lorena S. *et al.* Perfil epidemiológico, hematológico e bioquímico em cães com *Dirofilaria* sp. no Ceará. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e23010817252, 2021.

BRAHIMI, Mohamed *et al.* The estimation of platelet count from a blood smear on the basis of the red cell: Platelet ratio. **Turkish Journal of Haematology**, v. 26, p. 21–24, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-amarela/publicacoes/guia_vigilancia_epizootias_primatas_entomologia.pdf/view. Acesso em: 6 mar. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monitoramento do período sazonal da febre amarela: Brasil — 2017/2018**. Informe Epidemiológico, v. 27, 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2018/novembro/arquivos/informe-no-27-febre-amarela>. Acesso em: 16 maio 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas: 14 de abril – Dia Mundial. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, v. 51, n. esp., p. 1–43, abr. 2020. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 16 de jan. 2026.

BROWN, Alejandro D.; ZUNINO, Gabriel E. Dietary variability in *Cebus apella* in extreme habitats: evidence for adaptability. **Folia Primatologica**, v. 54, p. 187–195, 1990.

BRUM, Winnie M. *et al.* Parasitismo em aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 11, p. 1101–1108, 2016.

BUENO, Marina G. *et al.* Survey of *Plasmodium* spp. in free-ranging neotropical primates from the brazilian Amazon region impacted by anthropogenic actions. **EcoHealth**, v. 10, p. 48–53, 2013.

BUENO, Marina Galvão *et al.* Infectious Diseases in Free-Ranging Blonde Capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. **International Journal of Primatology**, v. 38, n. 6, p. 1017–1031, 2017.

BUSH, Albert O. *et al.* Parasitology meets ecology on its own terms. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.

BUCHL, Susan J.; HOWARD, Barbara. Hematologic and serum biochemical and electrolyte values in clinically normal domestically bred rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) according to age, sex and gravidity. **Laboratory Animal Science**, v. 47, n. 5, p. 528–533, 1997.

CABLE, Joanne *et al.* Global change, parasite transmission and disease control: Lessons from ecology. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, 2017.

CADAVID, Diego *et al.* Cardiac involvement in non-human primates infected with the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. **Laboratory Investigation**, v. 84, n. 11, p. 1439–1450, 2004.

CÂNDIDO, Stéfano Luís *et al.* Molecular detection of trypanosomatids in neotropical primates in the state of Mato Grosso, Midwest, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 2, e001321, 2021.

CARDOSO, Luana P. *et al.* Spatial distribution of Chagas disease and its correlation with health services. **Revista da Escola de Enfermagem**, v. 54, e03565, 2020.

CARMO, Livia A. L. do *et al.* Serological survey of cases of canine visceral leishmaniasis and evaluation of phlebotomine fauna on Marambaia Island, municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro state, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 247–251, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Lyme disease: Data and statistics**. Atlanta: CDC. Disponível em: <https://www.cdc.gov/lyme/data-research/facts-stats/index.html>. 2025. Acesso em: 2 fevereiro 2026.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Malaria**. Atlanta: CDC. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>. 2026. Acesso em: 16 jan.

CHAVES, Andrea *et al.* Presence and potential distribution of malaria-infected New World primates of Costa Rica. **Malaria Journal**, v. 21, n. 1, 2022.

CHEESBROUGH, Monica. **Tropical medicine microscopy**. Norfolk: Tropical Health Technology, 2009.

CLINGERMAN, Katherine J.; SUMMERS, Laura. Development of a body condition scoring system for nonhuman primates using *Macaca mulatta* as a model. **Lab Animal**, v. 34, n. 5, p. 31–34, 2005.

COHEN, Jacob M.; RIBEIRO, Jefferson A. S.; MARTINS, Marilaine. Ocular manifestations in mansonelliasis. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 2, p. 167–171, 2008.

COIMBRA, Diogo P. **Investigação de hemoparasitos em indivíduos do gênero *Callithrix* (Primates: Callitrichidae) de vida livre e cativeiro na região metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil**. 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2020.

CONDE, Maria M. S.; LIMA, Heloisa R. P.; PEIXOTO, Ariane L. Aspectos florísticos e vegetacionais da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil. In: MENEZES, Luiz F. T.; PEIXOTO, Ariane L.; ARAUJO, Dorothea S. D. (org.). **História Natural da Marambaia**. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005. p. 15–38.

CONGA, David F. *et al.* Occurrence of *Dipetalonema gracile* in a wild population of woolly monkey *Lagothrix poeppigii* in the northeastern Peruvian Amazon. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 154–160, 2018.

CONGA, David F. *et al.* First report of filarial nematodes in free-living pitheciid primates. **Systematic Parasitology**, v. 96, n. 2, p. 257–264, 2019.

CONGA, David F. *et al.* Filarial hyperinfection in two neotropical primates from eastern Amazon peri-urban areas. **Journal of Medical Primatology**, v. 52, n. 4, p. 272–275, 2023.

COREWYN, Lisa C. *et al.* Hematology and blood biochemistry in a declining population of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata palliata*) at La Pacifica, Costa Rica. **Journal of Medical Primatology**, v. 52, n. 6, p. 353–360, 2023.

CORTOPASSI, Silvia R. G.; YANAI, Patricia R. Terapia intensiva. *In*: CUBAS, Zalmir S.; SILVA, Jean C. R.; CATÃO-DIAS, José Luiz. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. p. 1884–1896.

COSTA, Thaise da S. O. *et al.* Ocorrência de microfilárias em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) no Sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 31, n. 1, p. 25–29, 2024.

CRAINEY, James L. *et al.* *Mansonella ozzardi* mitogenome and pseudogene characterisation provides new perspectives on filarial parasite systematics and CO-1 barcoding. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, e6158, 2018.

CROFTON, H. D. A model of host-parasite relationships. **Parasitology**, v.63, p. 343-364, 1971.

DASZAK, Peter; CUNNINGHAM, Andrew A.; HYATT, Alex D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife-Threats to Biodiversity and Human Health. **Science**, v. 287, p. 443–448, 2000.

DEANE, Leonidas M.; SILVA, José E. da; LOURES FILHO, Luiz. Nycthemeral variation in the parasitaemia of *Trypanosoma minasense* in naturally infected marmosets of the genus *Callithrix* (Primates: Callithrichidae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 16, n. 1, p. 1–6, 1974.

DEBRAH, Linda B. *et al.* Epidemiology of *Mansonella perstans* in the middle belt of Ghana. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2017.

DELVAL, I.; ARAUJO, G.; LYNCH, J. W. Capuchins. *In*: **Encyclopedia of Sexual Psychology and Behavior**. Living ed. Cham: Springer Nature, 2024. p. 1–17.

DI BITETTI, Mario S. Evidence for an important social role of allogrooming in a platyrrhine primate. **Animal Behaviour**, v. 54, p.199-211, 1997.

DIAS, Cindy A. *et al.* First report of *Mansonella* sp. and *Dipetalonema gracile* in the Amazonian city-dwelling threatened primate, *Saguinus bicolor*. **Frontiers in Tropical Diseases**, v. 4, 2023.

- DIETZ, James M. *et al.* Yellow fever in Brazil threatens successful recovery of endangered golden lion tamarins. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, e12926, 2019.
- DOMINGUES, Carla M. A. S. *et al.* Relato de experiência Programa Nacional de Imunização: a política de introdução de novas vacinas. **Revista Eletrônica Gestão & Saúde**, v. 6, p. 3250–74, 2015.
- DUARTE, Ana M. R. de C. *et al.* Natural *Plasmodium* infections in Brazilian wild monkeys: Reservoirs for human infections? **Acta Tropica**, v. 107, n. 2, p. 179–185, 2008.
- EHLERS, Luiza Presser *et al.* Pathological findings associated with *Dipetalonema* spp. (Spirurida, Onchocercidae) infection in two species of Neotropical monkeys from Brazil. **Parasitology Research**, v. 122, n. 9, p. 1973–1982, 2023.
- FEITOSA, Francisco A. Avaliação geral do estado de saúde. *In*: FEITOSA, Francisco A. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2014. p. 120–128.
- FERNANDES, André T.da S. *et al.* Safety and immunogenicity of 17DD attenuated yellow fever vaccine in howler monkeys (*Alouatta* spp.). **Journal of Medical Primatology**, v. 50, n. 1, p. 36–45, 2021.
- FERREGUETE, Thiago *et al.* Yellow fever virus infection in neotropical primates: epidemiological surveillance and impact on *Alouatta* populations. **Viruses**, v. 12, n. 10, p. 1071, 2020.
- FERREIRA, Luiz Fernando. O fenômeno parasitismo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 7, n. 4, p. 262–277, 1973.
- FERREIRA, Adriano F. *et al.* Hematological profile of captive bearded capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) from northeastern Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 10, 2018.
- FIGUEIREDO, Mayra A. P. *et al.* Infecção natural de *Plasmodium* em primatas neotropicais da Ilha de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 122–128, 2015.
- FIGUEIREDO, Poliana de O. *et al.* Re-emergence of yellow fever in Brazil during 2016–2019: Challenges, lessons learned, and perspectives. **Viruses**, v. 12, n. 11, 2020.
- FIGUEIREDO, Christiano. T. **Infecção por filárias em *Saguinus midas* (LINNAEUS, 1758) e *Saguinus bicolor* (SPIX, 1823) na Amazônia Central**. 2025. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2025.
- FIORAVANTI, Carlos. **O alarme dos macacos**. Pesquisa FAPESP, 11 jan. 2018. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/2018/01/11/o-alarme-dos-macacos/>. Acesso em: 16 jan. 2026.
- FLAIBAN, Karina K. M. da C. *et al.* Hematologic values of free-ranging *Cebus cay* and *Cebus nigritus* in Southern Brazil. **International Journal of Primatology**, v. 29, n. 5, p. 1375–1382, 2008.

FORTMAN, Jeffrey D. *et al.* **The laboratory nonhuman primate**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2018.

FOTSO, Aurélien F.; DRANCOURT, Michel. Laboratory Diagnosis of Tick-Borne African Relapsing Fevers: Latest Developments. **Frontiers in Public Health**, v. 3, e254, 2015.

FRAGASZY, Dorothy M.; VISALBERGHI, Elisabetta; FEDIGAN, Linda M. **The complete capuchin**. New York: Cambridge University Press, 2004.

FUNDO BRASIL DE DIREITOS HUMANOS. **Associação da Comunidade dos Remanescentes de Quilombo da Ilha da Marambaia (ARQIMAR – Rio de Janeiro)**.

Disponível em:

<https://www.fundobrasil.org.br/projeto/associacao-da-comunidade-dos-remanescentes-de-quilombo-da-ilha-da-marambaia-arqimar-rio-de-janeiro/>. Acesso em: 28 mar. 2026.

GEYSEN, D.; DELESPAUX, V.; GEERTS, S. PCR-RFLP using Ssu-rDNA amplification as an easy method for species-specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 110, p. 171–180, 2003.

GIEMSA, Gustav. Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung. **Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**, v. 37, p. 308–311, 1904.

GILLESPIE, Thomas R.; NUNN, Charles L.; LEENDERTZ, Fabian H. Integrative approaches to the study of primate infectious disease: Implications for biodiversity conservation and global health. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 137, n. S47, p. 53–69, 2008.

GOMES, Yara de M. Diagnóstico laboratorial da doença de Chagas. **Portal da Doença de Chagas – Fiocruz**, Fundação Oswaldo Cruz, 2025. Disponível em: <https://chagas.fiocruz.br/doenca/diagnostico/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

GONÇALVES, Daniela *et al.* First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Paraná (Brazil). **Journal of Microbiology**, v.44, n. 3, p. 883-887, 2013.

GROVES, Colin P. **Primate taxonomy**. 1. ed. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 2001. 350 p.

GUIMARÃES, Andresa *et al.* Molecular detection and phylogenetic analysis of *Trypanosoma* spp. in Neotropical primates from Rio de Janeiro State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 42, e07059, 2022.

HATCHER, Melanie J.; DICK, Jaimie T. A.; DUNN, Alison M. Diverse effects of parasites in ecosystems: Linking interdependent processes. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 10, n. 4, p. 186–194, 2012.

HART, Benjamin L. Biological Basis of the Behavior of Sick Animals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 12, p. 123-137, 1988.

HERNÁNDEZ-CRUZ, Guillermina *et al.* Haematology, physiological parameters, morphometry and parasitological status of rescued bearded capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*). **Journal of Medical Primatology**, v. 51, n. 4, p. 213–222, 2022.

HUDSON, Peter J. *et al.* Ecology of wildlife diseases. In: HUDSON, P. J. *et al.* **The ecology of wildlife diseases**. Oxford: Oxford University Press, p. 1–6, 1982.

IHRIG, Melanie *et al.* Comparative Medicine Hematologic and Serum Biochemical Reference Intervals for the Chimpanzee (*Pan troglodytes*) Categorized by Age and Sex. **Comparative Medicine**, v. 51, n. 1, p. 30-37, 2001.

IZAWA, Kosei. Social Behavior of the Wild Black-capped Capuchin (*Cebus apella*). **Primates**, v. 21, n. 4, p. 443–467, 1980.

JAIN, Nemi C.. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

JANSEN, Ana Maria; XAVIER, Samanta C. das C.; ROQUE, André L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites and Vectors**, v.11, n.1, e502, 2018.

JEPHCOTT, Thomas G. *et al.* Host-parasite interactions in food webs: Diversity, stability, and coevolution. **Food Webs**, v. 6, 2016.

KNEIP, L. M.; OLIVEIRA, N. V. Amoladores e polidores líticos fixos da Ilha da Marambaia. In: MENEZES, L. F. T.; PEIXOTO, A. L.; ARAÚJO, D. S. D. (org.). **História Natural da Marambaia**. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005. p. 15–38.

KIM, Seong Y. *et al.* Geographical distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ticks collected from wild rodents in the republic of Korea. **Pathogens**, v. 9, n. 11, p. 1–9, 2020.

KIMURA, Motoo. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KUTNER, Michael H. *et al.* **Applied linear statistical models**. 5. ed. New York: McGraw-Hill/Irwin, 2005.

KUROKAWA, Cheyne *et al.* Interactions between *Borrelia burgdorferi* and ticks. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 10, p. 587–600, 2020.

LAPIN, Boris A. The importance of monkeys for the study of malignant tumors in man. In: BOURNE, Geoffrey H. (ed.). **Nonhuman primates and medical research**. New York; London: Academic Press, 1973. p. 213–224.

LARSSON, Maria Helena M. A. *et al.* Hematological values of *Cebus apella* anesthetized with ketamine. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 3, p. 131–135, 1999.

LECLERC, M. C. *et al.* Evolutionary relationships between 15 *Plasmodium* species from New and Old World primates (including humans): An 18S rDNA cladistic analysis. **Parasitology**, v. 129, n. 6, p. 677–684, 2004.

LIEBSCH, Dieter; MIKICH, Sandra Bos; ALMEIDA, Adriana de. **Espécies e práticas indicadas para o enriquecimento da Floresta com Araucária visando reduzir os danos causados por macacos-prego a plantações florestais**. 1. ed. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2018.

LIMA, David B. C. *et al.* Avaliação do perfil hematológico, bioquímico e esfregaço de sangue periférico com vistas ao perfil sanitário em primatas do gênero *Cebus* mantidos em cativeiro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1847–1853, 2014.

LOURENÇO, Elizabete C. *et al.* Bat diversity of Ilha da Marambaia, Southern Rio de Janeiro State, Brazil (Chiroptera, Mammalia). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 70, n. 3, p. 511–519, 2010.

LUDWIG, Gabriela; AGUIAR, Lucas M.; ROCHA, Vlamir J. Uma avaliação da dieta, da área de vida e das estimativas populacionais de *Cebus nigratus* (Goldfuss, 1809) em um fragmento florestal no Norte do estado do Paraná. **Neotropical Primates**, v. 13, n. 3, p. 12–18, 2005.

LYNCH-ALFARO, Jessica W. *et al.* Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. **Journal of Biogeography**, v. 39, n. 2, p. 272–288, 2012a.

LYNCH-ALFARO, Jessica W.; SILVA JR., José de Sousa e; RYLANDS, Anthony B. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. **American Journal of Primatology**, v. 74, n. 4, p. 273–286, 2012b.

MACARTHUR, Robert H.; WILSON, Edward O. **The theory of island biogeography**. Princeton: Princeton University Press, 1967.

MACHADO-SILVA, Maria Paula *et al.* High infection prevalences by *Trypanosoma minasense* in non-human primates from the Southeast region of Brazil. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 1 dez. 2024.

MACKENZIE, John S.; JEGGO, Martyn. The One Health approach—why is it so important? **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 88, n. 4, 2019.

MAIZELS, Rick M. *et al.* Helminth parasites-masters of regulation. **Immunological Reviews**, v. 201, p. 89–116, 2004.

MARCOS, Luis A. *et al.* Short report: Genetic characterization of atypical *Mansonella* (*Mansonella*) *ozzardi* microfilariae in human blood samples from Northeastern Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 491–494, 2012.

MARES-GUIA, Maria Angélica M. de M. *et al.* Yellow fever epizootics in non-human primates, Southeast and Northeast Brazil (2017 and 2018). **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 90, 2020.

MARTINS, Juliana N. *et al.* *Sapajus nigritus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, e.T136717A70614508, 2019.

MATHISON, Blaine A.; COUTURIER, Marc Roger; PRITT, Bobbi S. Diagnostic Identification and Differentiation of Microfilariae. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 10, e00706-19, 2019.

MCFARLAND, Richard *et al.* Fevers and the social costs of acute infection in wild vervet monkeys. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 44, e2107881118, 2021.

MCGILL UNIVERSITY. **Non-human primate anesthesia**. Montreal: McGill University, 2025.

MONTEIRO, Frederico O. B. *et al.* HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMISTRY EVALUATION IN CAPUCHIN MONKEYS FROM THE ILLEGAL CAPTIVITY. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10, n. 1, p. 92–97, 2016.

MEDEIROS, Jansen F. *et al.* *Mansonella ozzardi* in Brazil: prevalence of infection in riverine communities in the Purus region, in the state of Amazonas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 104, n. 1, p. 74-80, 2009.

MEDEIROS, Jansen F. *et al.* A field trial of a PCR-based *Mansonella ozzardi* diagnosis assay detects high-levels of submicroscopic *M. ozzardi* infections in both venous blood samples and FTA® card dried blood spots. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, 2015.

MEDEIROS, Jansen F.; AGUIRRE, André de A. R.; PESSOA, Felipe A. C. Inaccurate recording of *Mansonella perstans* in free-ranging primates outside its endemic area in Brazil? **Primates**, v. 64, n. 6, p. 595–597, 2023.

MEDEIROS, Juliana de M. *et al.* Identification of insect body fragments found in fecal samples of *Sapajus nigritus* (Primates: Cebidae) from five conservation units in Rio de Janeiro state, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, supl. 1, e20231272, 2024.

MEDIANNIKOV, O.; RANQUE, S. Mansonellosis, the most neglected human filariasis. **New Microbes and New Infections**, v. 26, p. S19–S22, 2018.

MELO, F.R. Helminth parasites of *Callithrix geoffroyi*. **Laboratory Primate Newsletter**, v. 46, n. 2, p. 7-9, 2004.

MIKICH, Sandra B. *et al.* **The role of black capuchins *Sapajus nigritus* in seed dispersal and in the potential control of insects within cultivated fields and forests**. Brasília, DF: Embrapa Florestas, 2015.

MILTON, Katharine. Effects of bot fly (*Alouattamyia baevi*) parasitism on a free-ranging howler monkey (*Alouatta palliata*) population in PanamaJ. **Journal of Zoology**, v. 239, 39-63, 1996.

MIRANDA, Rafaella M. *et al.* Neotropical Sylvatic Mosquitoes and *Aedes aegypti* Are Not Competent to Transmit 17DD Attenuated Yellow Fever Virus from Vaccinated Viremic New World Non-Human Primates. **Viruses**, v. 14, n. 10, 2022.

MOORE, David M. Hematology of nonhuman primates. In: FELDMAN, Bernard F.; ZINKL, John G.; JAIN, Nemi C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 1133–1144, 2000.

MULLIS, Kary B. *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 51, p. 263–273, 1986.

MORGULIS, Aleksandr *et al.* Database indexing for production MegaBLAST searches. **Bioinformatics**, v. 24, p. 1757–1764, 2008.

NATEGHPOUR, Mehdi. *et al.* Comparison of microscopical examination and semi-nested multiplex polymerase chain reaction in diagnosis of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v. 17, n. 1, 2011.

NAVES, Elisete de A. *et al.* VALORES HEMATOLÓGICOS DE MACACO PREGO (*Cebus apella*-Linnaeus, 1758) EM CATIVEIRO. **Bioscience Journal**, v. 22, p. 125–131, 2006.

NEDERLOF, Remco A. *et al.* Yellow Fever in Non-Human Primates: A Veterinary Guide from a One Health Perspective. **Veterinary Sciences**, 1 abr. 2025.

NERI, Francisco M.; FRAIHA, Vera T.; MELO, André L. Presença de microfilárias em sangue periférico de *Callicebus personatus nigrifrons* (Spix, 1823, Primates: Cebidae) coletados em resgate faunístico durante a construção da usina hidrelétrica Nova Ponte-MG. In: SOUZA, Maria B. C.; MENEZES, Ana Lúcia L. L. (ed.), **A Primatologia no Brasil** – 6. ed., p. 199-204, 1997.

NEVES, David Pereira *et al.* **Parasitologia Humana**. 14. ed. São Paulo: Atheneu, 2018.

NÓBREGA, L. M. Marambaia: imaginário e história. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Humanas**, Seropédica, v. 26, n. 1–2, p. 115–123, 2004.

NONOYAMA, Takashi *et al.* A pathological study in cynomolgus monkeys infected with *Edesonfilaria malayensis*. **Laboratory Animal Science**, v. 34, p. 604–609, 1984.

LEVINE, N. **Infectious blood diseases of man and animals**. New York: Academic Press, 1968.

NOVO, Shênia P. C. *et al.* Survey of sandfly vectors of leishmaniasis in Marambaia Island, municipality of Mangaratiba, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 231–233, 2013.

NÚÑEZ, H. *et al.* Blood biochemical indicators in young and adult *Cebus apella* of both sexes. **Journal of Medical Primatology**, v. 37, n. 1, p. 12–17, 2008.

OLIVEIRA, Ayisa R.; SANTOS, Renato L.. Infectious diseases of neotropical primates. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 16, n. 1, p. 1–34, 2023.

O GLOBO. **Acordo vai manter comunidade quilombola na Marambaia**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <https://oglobo.globo.com/rio/acordo-vai-manter-comunidade-quilombola-na-marambaia-14661359>. Acesso em: 22 mar. 2026.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Bases do Diagnóstico Microscópico da Malária. Parte I: Guia do Aluno**. Brasília, D.F.: Organização Pan-Americana da Saúde; 2020. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52941>.

OSPINA, Pedro A. S. *et al.* VALORES HEMATOLÓGICOS DEL MACHÍN NEGRO (*Cebus apella*) MANTENIDO EN CAUTIVERIO. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 20, n. 1, 2012.

OYEDEJI, Segun I. *et al.* Comparison of PCR-based detection of *Plasmodium falciparum* infections based on single and multicopy genes. **Malaria Journal**, v. 6, n. 1, art. 112, 2007.

PARIJA, Subhash C.; PODDAR, Abhijit. Parasitic diagnosis: A journey from basic microscopy to cutting-edge technology. **Tropical Parasitology**, Springer/Medknow, v. 15, n. 2, p. 71–80, 2025a.

PARIJA, Subhash C.. Revisiting microscopy in parasitology. **Tropical Parasitology**, v. 15, n. 1, p. 1, 2025b.

PARKOUDA, Soulemane; SAIDOU, Mahmoudou; BISSEYE, Cyrille. Microfilariae Prevalence and its Association with Anemia Among First-time Blood Donors in Lambaréné, Gabon. **Balkan Medical Journal**, v. 41, n. 2, p. 139–143, 2024.

PAULA, Renata R. de; PEREIRA, Mário G.; MENEZES, Luís Fernando T. de. Aporte de nutrientes e decomposição da serapilheira em três fragmentos florestais periodicamente inundados na Ilha da Marambaia, RJ. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 2, p. 139–148, 2009.

PEARSON, Karl. Note on regression and inheritance in the case of two parents. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 58, p. 240–242, 1895.

PEÑA-CALLEJAS, Gabriela *et al.* Enfermedad de Chagas: biología y transmisión de *Trypanosoma cruzi*. **TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 25, p. 1–19, 2022.

PENEDO, Diego M. **Análise genética e fenotípica de macacos-prego da Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro**. 2016. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

PENEDO, Diego M. **Análise fenotípica, citogenética e de genética molecular em macaco-prego-preto, *Sapajus nigritus* (Platyrrhini, Cebidae), em localidades dos estados do Rio de Janeiro e de São Paulo, Brasil.** (Doutorado em Biologia Animal) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, 2020.

PENEDO, Diego M. *et al.* Genetic analysis of an insular population of *Sapajus nigritus* (Primates: Cebidae) in Rio de Janeiro state, Brazil. **Primates**, v. 62, n. 2, p. 395–406, 2021.

PEREIRA, Luiz. A.; XEREZ, Roberto.; PEREIRA, Angela. M. C. Ilha da Marambaia (baía de Sepetiba, RJ): resumo fisiográfico, histórico e importância ecológica atual. **Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, v. 42, n. 5/6, p. 384–389, 1990.

PEREIRA, Bibiana da R. *et al.* Infecção multissistêmica por *Dipetalonema* spp. em um macaco-prego (*Sapajus nigritus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 24, 2023.

PERLES, Livia. *et al.* *Mansonella* sp. and associated *Wolbachia* endosymbionts in ring-tailed coatis (*Nasua nasua*) in periurban areas from Midwestern Brazil. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 22, p. 14–19, 2023.

PHILLIPS, Kimberley A. *et al.* Why primate models matter. **American Journal of Primatology**, 2014.

RAMALHO, Ayodhya. C. **Avaliação da sanidade de macacos-prego-galego (*Sapajus flavius*) mantidos em cativeiro no estado da Paraíba.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2014.

REY, Luís. **Bases da parasitologia médica.** 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. 2010.

REZENDE, Jania. *et al.* Primary embryonic cells of *Rhipicephalus microplus* and *Amblyomma cajennense* ticks as a substrate for the development of *Borrelia burgdorferi* (strain G39/40). **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 3, p. 577-582, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, 2023. Disponível em: <https://cran.r-project.org/doc/manuals/r-release/fullrefman.pdf>.

RIBEIRO, Cynthia L. B. *et al.* Análise hematológica de macacos-prego (*Sapajus libidinosus* Spix, 1923) e bugios (*Alouatta caraya* Humboldt, 1812) de vida livre no sul do estado de Tocantins, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 2, 110-114, 2015.

RIO DE JANEIRO. **Decreto no 9.802, de 12 de março de 1987.** Cria a Área de Proteção Ambiental de Mangaratiba e dá outras providências, 1987.

RITTER, Manuel *et al.* *Mansonella perstans* microfilaremic individuals are characterized by enhanced type 2 helper T and regulatory T and B cell subsets and dampened systemic innate and adaptive immune responses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, 2018.

RITTER, Manuel *et al.* *Mansonella perstans* – the forgotten filaria. **Trends in Parasitology**, v.41, n. 10, 2025.

RIVIELLO, Cristina; WIRZ, Andrea. Haematology and blood chemistry of *Cebus apella* in relation to sex and age. **Journal of Medical Primatology**, v. 30, p. 308–312, 2001.

ROSENBLATT, Jon E. Laboratory Diagnosis of Infections Due to Blood and Tissue Parasites. **Clinical Infectious Diseases**, v.49, n. 7, p. 1103-1108, 2009.

ROTHMAN, Jessica M. *et al.* Nutritional contributions of insects to primate diets: implications for primate evolution. **Journal of Human Evolution**, v. 71, p. 59–69, 2014.

RUBIO, José. M. *et al.* Semi-nested, multiplex polymerase chain reaction for detection of human malaria parasites and evidence of *Plasmodium vivax* infection in Equatorial Guinea. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 2, p. 183–187, 1999.

RYLANDS, Anthony B. *et al.* Species accounts of Cebidae. In: MITTERMEIER, Russell A.; RYLANDS, Anthony B.; WILSON, Don E. (ed.). **Handbook of the mammals of the world: Primates**. Barcelona: Lynx Edicions, v. 3, p. 390–413, 2013.

RYLANDS, Anthony B.; MITTERMEIER, Russell A. Taxonomy and systematics of the Neotropical primates: a review and update. **Frontiers in Conservation Science**, v. 5, e1391303, 2024.

RYSER-DEGIORGIS, Marie-Pierre. Wildlife health investigations: needs, challenges and recommendations. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 223, p. 1–17, 2013.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: a laboratory manual**. 2. ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press – CHS. 1989.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. **DNA sequencing with chain-terminating inhibitors**. Proc. Natl. Acad. Sci USA, v. 74, n.12, p. 5463-5467, 1977.

SANTOS, Aline V. P. *et al.* Molecular detection of *Borrelia burgdorferi* in free-living golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, e53, 2018.

SATO, Hiroshi *et al.* Prevalence and Molecular Phylogenetic Characterization of *Trypanosoma (Megatrypanum) minasense* in the Peripheral Blood of Small Neotropical Primates after a Quarantine PeriodSource: **The Journal of Parasitology**, v. 94, n. 5, p. 1128–1138, 2008.

SCHMIDT, Elizabeth M. dos S. Patologia clínica em aves. In: CUBAS, Zalmir S.; SILVA, Jean C. R.; CATÃO-DIAS, José Luiz. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, v. 2, 2017.

SHAH, Niraj A. *et al.* Hematological and biochemical reference intervals of wild-caught and inhouse adult Indian rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Laboratory Animal Research**, v. 38, n. 1, 2022.

SHAPIRO, Samuel S.; WILK, Martin B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, Oxford, v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1965.

SILVA, Vitória Santos da *et al.* Síndrome de Baggio-Yoshinari: uma revisão da literatura. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 503–511, 2020.

SILVA, Gessiane Pereira *et al.* Hematological and serum biochemistry evaluation in howler monkeys (*Alouatta caraya*) and capuchin monkeys (*Sapajus apella*): A comparative study. **Journal of Medical Primatology**, v. 52, n. 3, p. 170–185, 2023.

SINGH, Gurjeet; RAKSHA; URHEKAR, Ad. Advanced Techniques for Detection of Filariasis-A Review. **International Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 1, n. 1, p. 17–22, 2013.

SMITH, Lloyd M. *et al.* Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. **Nature**, v. 321, p. 674–679, 1986.

SOLOMON, Nwabueze U. *et al.* A review of host-parasite relationships. **Annual Research & Review in Biology**, v. 5, n. 5, p. 372–384, 2015.

SOLÓRZANO-GARCÍA, Brenda; LEÓN, Pérez-Ponce de, Gerardo. Parasites of Neotropical Primates: A Review. **International Journal of Primatology**, v. 39, p. 155–182, 2018.

SOLÓRZANO-GARCÍA, Brenda; WHITE, Jennifer M.; SHEDDEN, Aralisa. Parasitism in heterogeneous landscapes: Association between conserved habitats and gastrointestinal parasites in populations of wild mammals. **Acta Tropica**, v. 237, 2023.

SOUVIGNET, Thomas *et al.* **EAZA Best Practice Guidelines: Capuchin Monkeys (*Sapajus sp.* and *Cebus sp.*)**. 1. ed. Amsterdam: European Association of Zoos and Aquaria, 2019.

SOUZA, Viviane Kelin *et al.* Emergence of *Mansonella* sp. in free-ranging primates in southern Brazil. **Primates**, v. 64, n. 1, p. 153–159, 2023.

SPEARMAN, Charles. The proof and measurement of association between two things. **The American Journal of Psychology**, v. 15, n. 1, p. 72–101, 1904.

SPRENT, John F. A. Parasitism, immunity and evolution. *In: The evolution of living organisms: a symposium of the Royal Society of Victoria*. Victoria: Royal Society of Victoria, 1959.

STRAIT, Karen; ELSE, James G.; EBERHARD, Mark L. Parasitic Diseases of Nonhuman Primates. *In: Nonhuman Primates in Biomedical Research.*: Elsevier Inc., p. 197–297, 2012.

STROMDAHL, Ellen Y. *et al.* Evidence of *Borrelia lonestari* DNA in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) Removed from Humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5557–5562, 2003.

SZYNWELSKI, Bruna E. *et al.* Phylogeography, genetic diversity, and intraspecific genetic structure of the black-horned capuchin (*Sapajus nigritus*). **American Journal of Primatology**, v. 86, n. 1, 2024.

TA, Thuy H. *et al.* **First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi***. *Malaria Journal*, v.13, n. 1, 2014.

TA TANG, Thuy-Huong *et al.* Nested PCR to detect and distinguish the sympatric filarial species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 6, p. 823–828, 2010.

TA-TANG, Thuy-Huong *et al.* Mansonellosis: current perspectives. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 9, p. 9–24, 2018.

TEIXEIRA, Magda G. *et al.* Hematologic and blood chemistry values of healthy *Cebus flavius* kept in northeast of Brazil. **Journal of Medical Primatology**, v. 42, n. 2, p. 51–56, 2013.

THE NOBEL PRIZE. **Kary B. Mullis – Facts**. 2026. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/facts/>. Acesso em: 27 abr. 2026.

THRALL, Mary Anna *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015.

THATCHER, Harriet R.; DOWNS, Colleen T.; KOYAMA, Nicola F. Using parasitic load to measure the effect of anthropogenic disturbance on vervet monkeys. **EcoHealth**, v. 15, n. 3, p. 676–681, 2018.

TOFT, J. D.; EBERHARD, M. L. **Parasitic Diseases**. 3. ed. Academic Press, 1998.

VALKIŪNAS, Gediminas *et al.* Nested cytochrome B polymerase chain reaction diagnostics underestimate mixed infections of avian blood haemosporidian parasite: microscopy is still essential. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 2, p. 418–422, 2006.

VANDERHOEVEN, Ezequiel; NOTARNICOLA, Juliana; AGOSTINI, Ilaria. First record of *Dipetalonema robini* Petit, Bain & Roussilhon 1985 (Nematoda: Onchocercidae) parasitizing *Sapajus nigritus* in northeastern Argentina. **Mastozoología Neotropical**, v. 24, n. 2, p. 483–488, 2017.

VILANOVA, Rafaela *et al.* Limites climáticos e vegetacionais das distribuições de *Cebus nigritus* e *Cebus robustus* (Cebinae, Platyrrhini). **Neotropical Primates**, v. 13, n. 1, p. 14–19, 2005.

VILAS, Román.; CRISCIONE, Charles. D.; BLOUIN, Michael. S. A comparison between mitochondrial DNA and the ribosomal internal transcribed regions in prospecting for cryptic species of platyhelminth parasites. **Parasitology**, v. 131, n. 6, p. 839–846, 2005.

VOTYPKA, Jan; BRZONOVA, Jana; PETRZELKOVA, Klara J. Trypanosomiasis and Filariasis. In: **Neglected Diseases in Monkeys**. Springer International Publishing, 2020. p. 343–371.

WEINBERG, Robert A. **The biology of cancer**. New York: Garland Science LLC; Taylor & Francis Group, 2014.

WEISER, Glenn. Sample collection and processing, preparations for clinical microscopy and analysis of laboratory service options. *In*: THRALL, Mary Anna et al. **Veterinary hematology, clinical chemistry, and cytology**. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022a. p. 30–45.

WEISER, Glenn. Laboratory technology for veterinary medicine. *In*: THRALL, Mary Anna et al. **Veterinary hematology, clinical chemistry, and cytology**. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022b. p. 3–29.

WILSON, K. et al. Chapter 2: Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes 1. *In*: HUDSON, Peter. J. et al. (ed.). **The ecology of wildlife diseases**. Oxford: Oxford University Press, 2002. p. 6–44.

WIRZ, Annarita; TRUPPA, Valentina; RIVIELLO, M. Cristina. Hematological and plasma biochemical values for captive tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). **American Journal of Primatology**, v. 70, n. 5, p. 463–472, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World malaria report 2018**. Geneva: World Health Organization, 2018.

YANG, Jifei et al. Evaluation of molecular methods for detection of *Borrelia burgdorferi* senso lato in ticks. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 73, n. 1, p. 80–83, 2012.

YOSHINARI, Natalino Hajime et al. Brazilian Lyme-Like Disease or Baggio-Yoshinari Syndrome: exotic and emerging brazilian tick-borne zoonosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363–369, 2010.

ZINNER, Dietmar; PACIÊNCIA, Filipa M. D.; ROOS, Christian. Host–Parasite Coevolution in Primates. **Life**, v.13, e823, 2023.

ANEXOS

ANEXO A - DADOS REFERENTES AOS MACACOS-PREGO, *Sapajus nigritus*, CAPTURADOS NOS QUATRO PONTOS DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ (continua).

Código	Identificação (microchip)	Data	Local	Sexo	Idade	Peso (kg)
IMS01	934000011723417	26/04/2024	Praia do Kutuca	M	Adulto	2,810
IMS02	939000004095885	27/06/2024	Praia do Kutuca	F	Adulto	2,410
IMS03	934000011723437	25/07/2024	Praia da Armação	M	Juvenil	1,350
IMS04	939000004095930	25/07/2024	Praia da Armação	F	Adulto	2,020
IMS05	939000004095941	26/07/2024	CADIM	M	Adulto	2,700
IMS06	939000004096337	26/07/2024	CADIM	M	Adulto	2,900
IMS07	900233003307431	04/10/2024	CADIM	F	Adulto	2,770
IMS08	900233003307435	14/12/2024	CADIM	M	Juvenil	1,250
IMS09	900233003307432	14/12/2024	CADIM	M	Juvenil	1,920
IMS10	900233003307425	22/01/2025	Praia do Kutuca	M	Juvenil	1,640
IMS11	900233003307421	20/02/2025	CADIM	F	Adulto	2,280

ANEXO A - DADOS REFERENTES AOS MACACOS-PREGO, *Sapajus nigritus*, CAPTURADOS NOS QUATRO PONTOS DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ (continua).

IMS12	900233003307424	21/03/2025	CADIM	F	Adulto	3,000
IMS13	900233003307423	21/03/2025	CADIM	M	Juvenil	1,940
IMS14	900233003307433	21/03/2025	CADIM	M	Juvenil	1,150
IMS15	900233003307411	01/05/2025	Buraco Quente	F	Adulto	2,000
IMS16	900233003307422	24/06/2025	CADIM	M	Adulto	4,790
IMS17	900233003307434	24/06/2025	CADIM	F	Adulto	2,450
IMS18	900233003307412	24/06/2025	CADIM	F	Adulto	2,460
IMS19	900233003307415	25/06/2025	CADIM	F	Adulto	2,600
IMS20	900233002207414	25/06/2025	CADIM	M	Adulto	4,600
IMS21	900233003307413	25/06/2025	CADIM	M	Juvenil	2,030
IMS22	900233003307420	22/07/2025	Praia do Kutuca	M	Juvenil	1,980
IMS23	900233003307419	22/07/2025	Praia do Kutuca	F	Adulto	2,150

ANEXO A - DADOS REFERENTES AOS MACACOS-PREGO, *Sapajus nigritus*, CAPTURADOS NOS QUATRO PONTOS DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ (conclusão).

IMS24	900233002207416	22/07/2025	Praia do Kutuca	M	Adulto	3,220
IMS25	900233003307417	23/07/2025	Praia do Kutuca	F	Adulto	2,240
IMS26	900233003307418	23/07/2025	Praia do Kutuca	M	Adulto	3,000
IMS27	900233003307486	23/07/2025	Praia do Kutuca	M	Juvenil	1,780

IMS: Ilha da Marambaia *Sapajus*; F: Fêmea; M: Macho. Fonte: Elaborada pela autora.

ANEXO B - SEQUÊNCIAS DO ITS1 PARA IDENTIFICAÇÃO DAS MICROFILÁRIAS PRESENTES NOS INDIVÍDUOS DE *Sapajus nigrus* DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ, COM SEUS RESPECTIVOS CÓDIGOS DE ACESSO DO GenBank (continua).

IMS01 - PX684364.1

AACCTTACGAGGTGGAGATTCTTTGGTGGAAACCGCTTTAATCGCAGTGGCTTGA
ACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT
ACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAACAATAAAATGTTATCCATAATTATTACT
ATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATATCTAATGAATAGTTAAATAATAATTGATAC
AATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGTGTCTATACTTTATCCAAATTATCGCCTAAA
CCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGATAGCTTAATTAATTTTGTATAAGAAATTAA
TTAAGTAGACTTAATAAGCATTATGCTAAATATGCTACCAACAAATAAATACACAC
ACATACATACAATTGTAATTTTGTAGAAAAAATAAAAAAA

IMS03 - PX684365.1

GCTGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAGATTCTTTGGTGGAAACCGCTTTAATCGCA
GTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA
AGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAACAATAAAATGTTATCCATA
TTATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATATCTAATGAATAGTTAAATA
TAATTGATACAATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGTGTCTATACTTTATCCAAATT
ATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGATAGCTTAATTAATTTTGTAT
AAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGCATTATGCTAAATATGCTACCAACAAAT
AAATACACACACATACATACAATTGTAATTTTGTAGAAAAAATAAAAAA

IMS05 - PX684366.1

GGAGACTGCTGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAGATTCTTTGGTGGAAACCGCTT
TAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAAC
CTGCGGAAGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAACAATAAAATGTT
ATCCATAATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATATCTAATGAATAG
TTAAATAATAATTGATACAATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGTGTCTATACTTTA
TCCAAATTATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGATAGCTTAATTA
TTTTTGTTAAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGCATTATGCTAAATATGCTACC
AACAAATAAATACACACACATACATACAATTGTAATTTTGTAGAAAAAATAAAAAA

IMS06- PX684367.1

TGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAGATTCTTTGGTGGAAACCGCTTTAATCGCAGT
GGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG
GATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAACAATAAAATGTTATCCATAATT
ATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATATCTAATGAATAGTTAAATAATA
ATTGATACAATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGTGTCTATACTTTATCCAAATTAT
CGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGATAGCTTAATTAATTTTGTATA
GAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGCATTATGCTAAATATGCTACCAACAAATAA
ATACACACACATACATACAATTGTAATTTTGTAGAAAAAATAAAAAA

ANEXO B - SEQUÊNCIAS DO ITS1 PARA IDENTIFICAÇÃO DAS MICROFILÁRIAS PRESENTES NOS INDIVÍDUOS DE *Sapajus nigrurus* DA ILHA DA MARAMBAIA, MANGARATIBA, RJ, COM SEUS RESPECTIVOS CÓDIGOS DE ACESSO DO GenBank (conclusão).

IMS08 - PX684368.1

AGACTGCTGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAGATTCTTTGGTGGAAACCGCTTTA
ATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCT
GCGGAAGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAACAATAAAATGTTAT
CCATAATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATATCTAATGAATAGTT
AAATAATAATTGATACAATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGTGTCTATACTTTATC
CAAATTATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGATAGCTTAATTAATT
TTTGATAAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGCATTTATGCTAAATATGCTACCA
ACAAATAAATACACACACATACATAAATTGTAATTTTTAGAAAAATAAAAAA

IMS09 - PX684369.1

GGAAACCGCTTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAACAAGGTTTC
CGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATACATAATAA
CAATAAAATGTTATCCATAATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTATTTTAATA
TCTAATGAATAGTTAAATAATAATTGATACAATTGAATTAACGGTGATATACGTTGGT
GTCTATACTTTATCCAAATTATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGATAAAGCGA
TAGCTTAATTAATTTTTGWTAAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGCATTTATGC
TAAATATGCTACCAACAAATAAATACACACACATACATAAATTG

IMS10 - PX684370.1

TGAGCCGTTTCGAGAAAAGCGGAGACTGCTGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAG
ATTCTTTGGTGGAAACCGCTTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTA
ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAA
TACATAATAACAATAAAATGTTATCCATAATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGC
TATTTTAATATCTAATGAATAGTTAAATAATAATTGATACAATTGAATTAACGGTGAT
ATACGTTGGTGTCTATACTTTATCCAAATTATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAA
GATAAAGCGATAGCTTAATTAATTTTTGATAAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAA
GCATTTATGCTAAATATGCTACCAACAAATAAATACACACACATACATAAATTGTA
ATTTTLAGAAAAAATAAAAAAGAAATTTTAACTCTTAGCGG

IMS12 - PX684371.1

GAGCCGTTTTGAGAAAAGCGGAGACTGCTGTTTTGAAACCTTACGAGGTGGAGAT
TCTTTGGTGGAAACCGCTTTAATCGCAGTGGCTTGAACCGGGCAAAAGTCGTAAC
AAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAACGAGCTTCAAAACAAATA
CATAATAACAATAAAATGTTATCCATAATTATTACTATTCATTTTTATTAATTGCTA
TTTTAATATCTAATGAATAGTTAAATAATAATTGATACAATTGAATTAACGGTGATAT
ACGTTGGTGTCTATACTTTATCCAAATTATCGCCTAAACCGTCGATAATGATGAAGA
TAAAGCGATAGCTTAATTAATTTTTGATAAGAAATTAATTAAGTAGACTTAATAAGC
ATTTATGCTAAATATGCTACCAACAAATAAATACACACACATACATAAATTGTAATT
TTAGAAAAAATAAAAA

ANEXO C - DESCRIÇÃO DAS SEQUÊNCIAS DO ITS1 DO GenBank UTILIZADAS NESSE ESTUDO.

Região intergênica ITS1			
Códigos <i>GenBank</i>	Espécie filária	Hospedeiro	Localidade
MZ727043.1	<i>Dipetalonema gracile</i>	<i>Saguinus bicolor</i>	Amazonas/Brasil
EU272178.1	<i>Wuchereria bancrofti</i>	Humanos	Roraima/Brasil e África
MT341521.1	<i>Mansonella atelensis</i>	<i>Alouatta macconnelli</i>	Guiana Francesa
KX932484.1	<i>Mansonella mariae</i>	<i>Leontocebus weddelli</i> e <i>Saguinus imperator</i>	Peru
KR868771.1	<i>Mansonella streptocerca</i>	Humanos	Guiné Equatorial
DQ995498.1	<i>Mansonella perstans</i>	Humanos	Espanha; de origem africana
EU272180.1	<i>Mansonella ozzardi</i>	Humanos	Roraima/Brasil e África
PQ882781.1	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Chiropotes utahicki</i>	Amazonas/Brasil
AF217801.2	<i>Acanthocheilonema reconditum</i>	Cão	-
AF217800.2	<i>Dirofilaria immitis</i>	Cão	Taiwan/China
EU272184.1	<i>Mansonella perstans</i>	Humanos	Amazonas/Brasil
MN821054.1	<i>Mansonella sp. DEUX</i>	Humanos	Gabon/Africa
EU272179.1	<i>Onchocerca volvulus</i>	Humanos	Amazonas/Brasil
EU272176.1	<i>Loa loa</i>	Humanos	Guiné Equatorial
AB362562.1	<i>Mansonella mariae</i>	<i>Saimiri sciureus</i>	Amazonas/Brasil
MN432519.1	<i>Mansonella ozzardi</i>	Humanos	Amazonas/Brasil

Fonte: GenBank. Elaborada pela autora.