Luciana Cintra

**Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico
dos órgãos linfohematopoiéticos na síndrome de
emagrecimento progressivo dos calitriquídeos
mantidos em cativeiro**

São Paulo

2010

Luciana Cintra

**Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico dos órgãos
linfohematopoiéticos na síndrome de emagrecimento
progressivo dos calitriquídeos mantidos em cativeiro**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em ciências.

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientadora:

Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá

São Paulo

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
22/7/10

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2322
FMVZ

Cintra, Luciana

Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico dos órgãos
linfohematopoiéticos na síndrome de emagrecimento progressivo dos
calitriquídeos mantidos em cativeiro / Luciana Cintra. -- 2010.
125 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá.

1. *Callithrix* spp. 2. Síndrome de emagrecimento progressivo. 3. Órgãos
linfohematopoiéticos. 4. Anemia hemolítica. 5. Patologia. I. Título.

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo clínico e anatomopatológico dos órgãos linfo-hematopoiéticos na síndrome de emagrecimento progressivo dos calitriquídeos", protocolado sob o nº 1916/2010, utilizando 55 (cinquenta e cinco) saguis, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 26/05/2010.

We certify that the Research "Clinical and pathological study of hematopoietic and lymphoreticular organs in the wasting marmoset disease", protocol number 1916/2010, utilizing 55 (fifty-five) marmosets, under the responsibility Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 05/26/2010.

São Paulo, 27 de maio de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CINTRA, Luciana

Título: Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico dos órgãos
linfohematopoiéticos na síndrome de emagrecimento progressivo dos calitriquídeos
mantidos em cativeiro.

Dissertação apresentada para obtenção
do título de Mestre em Patologia pela
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais
Ao meu marido
Aos meus animais
A todos os animais

Agradecimentos

À Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá pela orientação e dedicação em todos os momentos do projeto.

Ao Prof. Dr. Paulo Maiorka pela oportunidade para iniciar o mestrado.

Aos colegas do Laboratório, Fernanda, Rafael, Cláudia, Thaissa, Danilo pelo apoio e grande ajuda no projeto.

Em especial a colega Maria Eugênia, que dedicou grande parte do seu tempo ao meu projeto, sempre me ajudando e apoiando nos momentos difíceis.

À Profa. Dra. Maria Isete Fares Franco nos ensinamentos e auxílio na leitura das infinitas lâminas de medula óssea.

À Cristiane Macedo Del Rio do Valle pela atenção e disposição em fornecer materiais importante para o conhecimento neste trabalho.

Aos alunos, funcionários e a Profa. Maria Lúcia Zaidan no auxílio para execução das fotos deste projeto.

Aos funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas pela paciência e preparo de todo o material do projeto

Aos funcionários do Laboratório de Histopatologia do VPT, Cláudio Arroyo e Luciano Antas Bugalho pelo apoio com as colorações das lâminas e pela paciência.

A colega Samantha Ive pelas dicas neste projeto.

Aos meus amigos por estarem ao meu lado sempre.

À todos os meus familiares.

Especialmentne aos meus pais e minha irmã pela que eu sou hoje.

Ao meu marido pelo carinho, incentivo e apoio nos momentos difíceis.

A todos que acreditaram que confiaram na execução deste projeto.

Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.
Fernando Pessoa

RESUMO

Cintra L. **Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico dos órgãos linfohematopoiéticos na síndrome de emagrecimento progressivo dos calitriquídeos.** [Clinical, laboratorial and pathological study of lymphohematopoietic organs in the wasting marmoset syndrome]. 2010. 125p. Dissertação de mestrado (Departamento de Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

A síndrome de emagrecimento progressivo (SEP) é responsável por elevada morbidade e mortalidade de calitriquídeos mantidos em cativeiro em diferentes instituições. Essa síndrome representa um desafio aos médicos veterinários por suas características ainda pouco esclarecidas e são poucos os estudos multidisciplinares que visam à avaliação dos diferentes sistemas, como os órgãos linfo-hematopoiéticos. O objetivo foi caracterizar a evolução e duração da SEP, associando os dados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos dos órgãos linfo-hematopoiéticos de saguis naturalmente acometidos por SEP no cativeiro. Foram analisadas as fichas clínicas, necroscópicas e os resultados das amostras de sangue e urina de 47 saguis doentes, *Callithrix spp.*, machos e fêmeas, que foram a óbito devido a SEP e eram provenientes de dois criadouros diferentes do estado de São Paulo. Os fragmentos dos órgãos linfo-hematopoiéticos, intestino delgado e do fígado foram processados e avaliados. Os resultados caracterizaram que a SEP acomete calitriquídeos de espécies diferentes, adultos, sem predisposição sexual, mantidos sob condições estáveis de manejo por em média 42 meses e a duração clínica varia de 41 dias a 1 ano e 7 meses. As características clínicas na fase inicial foram predominantemente sinais gastrintestinais e na fase terminal, sinais gastrintestinais e extra-intestinais. A anemia macrocítica normo ou hipocrômica com policromasia, esferocitose, presença de corpúsculos de Heinz e hemoglobinúria foi a alteração hematológica mais frequente. As lesões dos órgãos linfo-hematopoiéticos foram características de anemia hemolítica ou foram inespecíficas e reacionais caracterizadas por hiperplasia ou depleção das células da medula óssea, baço e linfonodo e lesões degenerativas no fígado. Na SEP, a associação clínica, laboratorial e anatomopatológica possibilitou a caracterização da evolução e duração clínica, da anemia e das alterações dos órgãos linfo-hematopoiéticos, cujas lesões foram consideradas secundárias à desnutrição crônica e progressiva decorrente da severa enterite atrófica.

Palavras-chaves: *Callithrix spp.* Síndrome de emagrecimento progressivo. Órgãos linfohematopoiéticos. Anemia hemolítica. Patologia.

ABSTRACT

Cintra L. **Clinical, laboratorial and pathological study of lymphohematopoietic organs in the wasting marmoset syndrome.** [Estudo clínico, laboratorial e anatomopatológico dos órgãos linfohematopoiéticos na síndrome de emagrecimento progressivo dos calitriquídeos]. 2010. 125p. Dissertação de mestrado (Departamento de Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Wasting marmoset syndrome (WMS) causes high morbidity and mortality of marmosets and tamarins kept in captivity in different colonies. WMS challenges the veterinarian due to its unclear and not established features and there are few multidisciplinary studies that carried out an evaluation of different systems, such the lymphohematopoietic system. The aim was described the duration and evolution of illness based on an association of clinical, laboratory and pathological aspects of WMS. Medical record, laboratory data and pathological findings were analyzed of 47 *Callithrix* spp., males and females, sick marmosets that died due to WMS in two different colonies in São Paulo state. Tissue samples of small intestine, lymphohematopoietic system and liver were histological processed and evaluated. The results showed that WMS affects adult marmosets of different species; there are no sex-related differences, and the marmosets are at least 42 months under similar general management at colony. The clinical duration of WMS is from 41 days to 1 year and 7 months. The clinical features were gastrointestinal symptoms in the beginning and extra-gastrointestinal and gastrointestinal signs in the end. Normochromic or hypochromic macrocytic anemia with polychromasia, spherocytes, Heinz bodies, and hemoglobinuria is the common hematological result. The lymphohematopoietic system lesions were the common findings of hemolytic anemia or unspecific and reacting features such as hyperplasia or depletion of cell numbers of bone marrow, spleen and lymph node, and degenerative lesions of liver. The clinical, laboratory and pathological association allowed the characterization of evolution and duration of the WMS, the anemia and the lesions of lymphohematopoietic organs which lesions were considered secondary to chronic and progressive malnutrition as a result of severe atrophic

Keywords: *Callithrix* spp. Wasting marmoset syndrome. Lympho-hematopoietic organs. Hemolytic anemia. Ineffective erythropoiesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-de-tufo-preto, macho com intensa presença de corpúsculos de Heinz (caso 11, grupo II). Coloração Panótico, 40x.....	74
Figura 2 -	Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo do mesmo sagui da foto anterior. Monócito com grânulos acastanhados intracitoplasmáticos (compatíveis com hemossiderina) em sangue periférico. Coloração Panótico, 40x.....	74
Figura 3 -	Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-tufo-preto, fêmea, com distribuição das hemácias dentro do padrão de normalidade e considerado não anêmico (caso 2, grupo II). Coloração Rosenfeld, 20x.....	74
Figura 4 -	Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-tufo-preto, fêmea, doente com intensa anemia (hematócrito = 8%). Observar distribuição celular dispersa, hemácias com intensa policromasia, presença de eritroblastos (caso 12, grupo I). Coloração Rosenfeld, 20x.....	74
Figura 5 -	Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui híbrido, fêmea, anêmica (caso 11, grupo I). Presença de eritroblastos binucleados (seta). Coloração de Rosenfeld, 20x e 40x (foto menor).....	74
Figura 6 -	Fotomicrografia do intestino delgado de sagui (caso 11, grupo I). Severa enterite atrófica subtotal com hiperplasia de criptas. Coloração HE, 4x.....	78
Figura 7 -	Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo II (caso 1). Medula óssea hipocelular (20%) e atrofia serosa de gordura. Coloração de HE, 10x.....	90
Figura 8 -	Fotomicrografia de medula óssea de STP, macho, grupo I (caso 10). Medula óssea com 100% de tecido hematopoiético e hiperplasia de megacariócitos. Coloração HE, 10x.....	90
Figura 9 -	Fotomicrografia de medula óssea, STP, macho, mesmo animal figura anterior. Observar o intenso depósito de hemossiderina distribuída difusamente pelo órgão. Coloração de Azul de Perls, 10x.....	90
Figura 10 -	Fotomicrografia de medula óssea de STP, macho, mesmo animal figura anterior. Observar fibras reticulares circundando megacariócitos, aumento da presença de fibras em grau 2. Coloração de reticulina de Gomori, 20x.....	90
Figura 11 -	Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo I (caso 5). Medula óssea com predomínio de células mielóides, e ausência de depósitos de hemossiderina. Coloração de HE, 40x.....	90
Figura 12 -	Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo I (caso 12). Observar alterações na maturação da série eritróide com eritroblastos binucleados (setas). Coloração HE, 40x.....	90

Figura 13 - Fotomicrografia do fígado STB, fêmea, grupo II (caso 11). Moderada necrose hepatocelular em Zona 3 e degeneração vacuolar microgoticular difusa. Coloração HE, 10x.....	92
Figura 14 A- Fotomicrografia do fígado STP, macho, grupo II (caso 12). Hemossiderose hepática severa. Coloração de Azul de Perls, 10x.....	92
Figura 14 B- Fotomicrografia do fígado mesmo animal. Hemossiderose hepática na qual foi verificado depósito de grânulos grandes de hemossiderina em macrófagos portais e células de Kupffer. Coloração de Azul de Perls, 20x.....	92
Figura 15 - Fotomicrografia do baço STP, macho, grupo II (caso 11). Depleção linfóide em baço. Coloração HE, 4x.....	92
Figura 16 - Fotomicrografia do baço STP, macho grupo II (caso 12). Severa hemossiderose esplênica. Coloração de Azul de Perls, 10x.....	92
Figura 17 - Fotomicrografia do fígado STB, fêmea, grupo II (caso 13). Mielolipoma hepático. Coloração HE, 10x.....	92
Figura 18 - Fotomicrografia do rim STP, macho, grupo II (caso 12). Observar pigmento de hemossiderina em túbulos renais corticais. Coloração de Azul de Perls, 20x.....	92

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Distribuição dos saguis do Criadouro Mucky (grupo I) segundo espécies e sexo. STB = sagüi-de-tufo-branco, STP = sagüi-de-tufo-preto, SCB = sagüi-de-cara-branca, SH = sagüi híbrido.....	50
Gráfico 2 -	Distribuição dos saguis do Criadouro AJB Soares (grupo II) segundo espécies e sexo. STB = sagüi-de-tufo-branco, STP = sagüi-de-tufo-preto, SH = sagüi híbrido.....	51
Gráfico 3 -	Histograma de distribuição das espécies e número de animais nos grupos 1 e 2. Para 1 = Criadouro Mucky e 2 = Criadouro AJB Soares.....	51
Gráfico 4 -	Histograma de distribuição dos animais segundo sexo nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky, 2 = Criadouro AJB Soares. A linha corresponde a curva de normalidade.....	52
Gráfico 5 -	Histograma de distribuição dos animais segundo a idade (meses) nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky (grupo I), 2 = criadouro AJB Soares (grupo II).....	52
Gráfico 6 -	Distribuição dos animais segundo a procedência em cada grupo. Grupo I = criadouro Mucky (azul), grupo II = criadouro AJB Soares (roxo).....	53
Gráfico 7 -	Histograma de distribuição dos animais segundo o tempo de cativeiro (meses) nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky, 2 = criadouro AJB Soares.....	54
Gráfico 8 -	Distribuição dos animais segundo a duração clínica da doença (meses) e as espécies dos saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.....	55
Gráfico 9 -	Distribuição dos animais segundo o sexo e a duração clínica da doença (meses). A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo, o asterisco valores extremo. As marcas nas caixas representam as médias.....	56
Gráfico 10 -	Sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional no grupo I.....	58
Gráfico 11 -	Sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional no grupo II.....	59
Gráfico 12 -	Resultado da análise da distribuição dos escores clínicos por períodos (ECP) entre os grupos. Os círculos sólidos (grupo I) e os vazios (grupo II) correspondem aos valores individuais. A linha é a mediana.....	60
Gráfico 13 -	Resultado da análise estatística da distribuição dos escores clínicos totais (ECT) entre os grupos. Os círculos sólidos (grupo I) e os vazios (grupo II) correspondem aos valores individuais. A linha é a mediana.....	60
Gráfico 14 -	Distribuição dos períodos de tempo para cada grupo segundo duração em dias.....	61
Gráfico 15 -	Resultado da análise de correlação entre escore clínico total (ECT) e a duração clínica da doença em dias. Os círculos representam os valores	

	individuais. Teste de correlação de Spearman, coeficiente de correlação = - 0,289 e p = 0,1307.....	62
Gráfico 16 -	Resultado da avaliação da perda de peso (%) e as espécies de saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.....	63
Gráfico 17 -	Resultado da avaliação da perda de peso (%) entre os sexos dos saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.....	63
Gráfico 18 -	Distribuição dos pesos corpóreos (gramas) segundo o peso usual, peso no período P1 (peso 1), P2 (peso 2), P3 (peso 3) e P4 (peso 4) para cada grupo, sendo grupo I (azul) e grupo II (roxo).....	64
Gráfico 19 -	Distribuição do número de aplicações de ferro injetável nos grupos estudados. Os círculos correspondem aos valores individuais. Círculos sólidos representam o grupo I e os vazios o grupo II.....	65
Gráfico 20 -	Distribuição dos pesos (gramas) dos saguis na necropsopia segundo os grupos estudados. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo. Para 1 = grupo I e 2 = grupo II.....	75
Gráfico 21 -	Resultado da análise da celularidade medular (%) segundo os grupos. Para 1= grupo I e 2 = grupo II. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.....	79
Gráfico 22 -	Resultado da análise semiquantitativa do depósito de hemossiderina no baço segundo os escores de 0 a 3 e o grupo. Os círculos correspondem aos valores individuais. Círculos sólidos representam o grupo I e os vazios o grupo II. A linha representa mediana.....	81
Gráfico 23 -	Resultado da análise semiquantitativa do depósito de hemossiderina nas células de Kupffer segundo os escores. Os círculos correspondem aos valores individuais. Círculos sólidos representam o grupo I e os vazios o grupo II. A linha representa mediana.....	82
Gráfico 24 -	Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose nas células de Kupffer (escore total) e número de aplicações de ferro injetável no grupo II.	84
Gráfico 25 -	Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose esplênica (escore) e número de aplicações de ferro injetável no grupo II.....	85
Gráfico 26 -	Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose esplênica (escore) e corpúsculos de Heinz em esfregaço sangüíneo (escore) de saguis doentes.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição dos saguis por grupo, segundo espécie, sexo, idade, local de nascimento e tempo de cativeiro.....	38
Tabela 2 -	Duração clínica da doença quanto à média, aos valores máximo e mínimo no grupo I e II estudados.....	54
Tabela 3 -	Distribuição dos animais segundo a duração clínica da doença (meses) e as espécies estudadas.....	55
Tabela 4 -	Duração (dias) dos períodos de aparecimento dos sinais e sintomas observados nos saguis do grupo I e II.....	61
Tabela 5 -	Distribuição da média, valores mínimo e máximo do peso usual (gramas), peso final (gramas) e perda de peso (%) dos saguis segundo os grupos I e II.....	62
Tabela 6 -	Resultados do primeiro exame de urina I, eritrograma e avaliação do esfregaço sangüíneo dos animais doentes estudados.....	67
Tabela 7 -	Resultados dos eritogramas, avaliação da série vermelha em esfregaço sangüíneo e hemoglobinúria dos saguis doentes realizados durante manifestação clínica da SEP.....	68
Tabela 8 -	Resultados do último exame de urina I, hemograma e avaliação do esfregaço sangüíneo dos animais doentes segundo o grupo.....	70
Tabela 9 -	Resultados dos hematócritos, presença de sangue oculto no exame de urina e avaliação da presença de hemácias no sedimento urinário avaliados nos animais durante a sintomatologia de SEP segundo o grupo.....	71
Tabela 10 -	Resultados dos exames de hematócrito e presença de sangue oculto, presença de hemácias no sedimento urinário realizados com amostras colhidas no dia do óbito dos animais doentes.....	72
Tabela 11 -	Principais descrições macroscópicas relatadas segundo a frequência e o grupo.....	77
Tabela 12 -	Resultado da análise semiquantitativa dos depósitos de hemossiderina no fígado segundo localização, escore e porcentagem.....	83
Tabela 13 -	Resultados de hematócrito, número de esferócitos, corpúsculos de Heinz, presença de hematopoese extramedular, hemossiderose e hemoglobinúria segundo os casos e os resultados do último exame laboratorial antes do óbito.....	87
Tabela 14 -	Avaliação do intestino delgado dos animais grupo I.....	121
Tabela 15 -	Avaliação do intestino delgado dos animais grupo II.....	122
Tabela 16 -	Valores de referências conforme espécie.....	125

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Parâmetros clínicos considerados segundo as alterações e os escores estabelecidos para caracterização da evolução clínica da SEP.....	43
Quadro 2 -	Avaliação e graduação para fibras reticulares e colágenas segundo Bauermeister adaptada por Alves (2009).....	49
Quadro 3 -	Listagem das alterações clínicas relatadas nas fichas dos saguis estudados.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
(+)	escore de análise semi-quantitativa das alterações observadas
<	Menor
>	Maior
®	marca registrada
°C	graus Celsius
+	Avaliação semi-quantitativa
↓	Hipocelular
↑	Hipercelular
A	Adrenal
A1AT	alfa-1 antitripsina
Alteraç.	Alteração
B	Baço
Cel.	Celularidade
CENP	Centro Nacional de Primatas
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular
cm	Centímetros
CPB	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros
DC	Doença celíaca
Dens.	densidade urinária
Deple	Depleção
DP	Desvio padrão
ECP	escore clínico por período
ECT	Escore clínico total
Eritr.	Eritroblastos
Eritrof.	Eritrofagocitose
Esf.	Esferócitos
Esp.	Espécie
Espl	Esplênica
F	Fígado
g	Gramas
g/dl	gramas por decilitro
G:E	Granulocítica:eritrocítica
Gp	Grupo
Hb	Hemoglobina
HE	Coloração hematoxilina-eosina
He	Hemácias
Heinz	corpúsculos de Heinz
HEM	hematopoeese extramedular
Hgm	Hemoglobinúria
Ht	Hematócrito
HK	Hemossiderose células de Kupffer
HE	Coloração de hematoxilina-eosina
Hep.	Hepática
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

L	Linfonodo
LIE	Linfócitos intra-epiteliais
m	Metro
Mega	Série megacariocítica
mg/kg	miligrama por kilo
mg/kg ⁻¹	miligrama por kilo sobrescrito a -1
ml	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbicos
MO	Medula óssea
N°	Número
no.	Número
N	Normocelular
NR	não realizado
ONGs	organizações não governamentais
P1	período 1
P2	período 2
P3	período 3
P4	período 4
PAS	coloração Ácido Periódico + Reativo De Schiff
Poli	Policromasia
PtU	proteína urinária
Ret.	Reticulócitos
rpm	rotações por minuto
SCB	sagui-cara-branca
SE	Série eritrocítica
SEP	Síndrome de Emagrecimento Progressivo
SH	sagui híbrido
SM	Série mielocítica
STB	sagui-tufo-branco
STP	sagui-tufo-preto
VCM	volume corpuscular médio
vilo	vilosidade intestinal
μ ³	micro cubo
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
3	REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1	APRESENTAÇÃO DOS CALITRIQUÍDEOS: TAXONOMIA, ASPECTOS DA BIOLOGIA E CONSERVAÇÃO	21
3.2	MANUTENÇÃO DOS CALITRIQUÍDEOS NO CATIVEIRO : CONDIÇÕES DE RECINTO E DIETA OFERECIDA EM CATIVEIRO.....	23
3.3	CONSIDERAÇÕES SOBRE A SÍNDROME DE EMAGRECIMENTO PROGRESSIVO DOS CALITRIQUÍDEOS	25
3.4	ANATOMIA E HISTOLOGIA DOS ÓRGÃOS LINFOHEMATOPOIÉTICOS	29
4.3.1	Medula Óssea	29
3.4.2	Baço	30
3.4.3	Linfonodo	31
3.4.4	Timo	33
3.4.5	Fígado	34
3.5	AS PRINCIPAIS PATOLOGIAS ENCONTRADAS NOS ÓRGÃOS LINFOHEMATOPOIÉTICOS DE CALITRIQUÍDEOS	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	CASUÍSTICA	37
4.2	Alterações definidoras de SEP	39
4.2.1	Critérios de inclusão e exclusão	39
4.3	CONDIÇÕES DE MANUTENÇÃO DOS SAGUIS.....	39
4.3.1	A associação Mucky de Proteção aos Pequenos Primatas	39
4.3.2	O Criadouro comercial A.J.B. Soares	41
4.4	AVALIAÇÃO CLÍNICA	42
4.5	EXAMES LABORATORIAIS	45
4.6	EXAME ANATOMOPATOLÓGICO DOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS	46
4.5.1	Necropsopia	46
4.5.2	Histopatologia	47
4.6.3	Colorações histoquímicas utilizadas	47
4.6.3.1	Giemsa	47
4.6.3.2	Azul de Perls	47
4.6.3.3	Coloração para avaliação estrutural.....	48
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	49

5	RESULTADOS	50
5.1	CASUÍSTICA	50
5.2	CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA	54
5.3	ANÁLISE DA DOENÇA CLÍNICA: SINAIS E SINTOMAS, EVOLUÇÃO E ESCORE CLÍNICO	56
5.3.1	Análise dos tratamentos empregados	66
5.4	AVALIAÇÕES LABORATORIAIS	66
5.5	AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA	75
5.5.1	Macroscopia	75
5.5.2	Microscopia	77
5.5.2.1	Avaliação dos fragmentos do intestino	78
5.5.2.3	Medula óssea	78
5.5.2.4	Baço	80
5.5.2.5	Linfonodo	81
5.5.2.6	Timo	81
5.5.2.7	Fígado	82
5.5.3	Avaliação da correlação entre hemossiderose hepática e esplênica e o tratamento empregado	84
5.5.4	Caracterização dos animais utilizando parâmetros laboratoriais e histopatológicos dos órgãos linfo-hematopoiéticos	85
5.5.5	Análise da correlação entre hemossiderose splênica e a presença de corpúsculos de Heinz em esfregaço sanguíneo	88
6	DISCUSSÃO	93
6.1	A SEP ACOMETE CALITRIQUÍDEOS DE DIFERENTES INSTITUIÇÕES COM AS MESMAS CARACTERÍSTICAS, EVOLUÇÃO E DURAÇÃO?	93
6.2	COMO É POSSÍVEL DIAGNOSTICAR PRECOCEMENTE E CARACTERIZAR A ANEMIA NA SEP?	97
6.3	QUAIS SÃO AS ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS NA SEP?	100
6.4	É POSSÍVEL TRATAR A ANEMIA NA SEP?	104
7	CONCLUSÃO	109
	REFERÊNCIAS	111
	APÊNDICES	121
	ANEXOS	123

1 INTRODUÇÃO

O crescimento dos centros urbanos e a dispersão da humanidade têm provocado devastações de florestas e da fauna existente. Os ecossistemas definidos estão sendo destruídos e alterados, afetando muitas espécies existentes no país. O Brasil possui a maior diversidade de primatas neotropicais do mundo, porém 30 % das espécies estão ameaçadas de extinção.

Existe um crescente interesse na criação e manutenção dos calitriquídeos em cativeiro, não só para a conservação das espécies em risco, mas para utilização destes animais como modelo experimental na área biomédica e farmacêutica, devido sua estreita relação filogenética com o homem.

No Brasil, os biotérios de criação e/ou experimentação que utilizam primatas neotropicais e do velho mundo são unidades, muitas vezes, integrantes de instituições públicas de pesquisa, como a Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, o Instituto Butantã e o Centro Nacional de Primatas - CENP localizados nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Pará, respectivamente.

Dentre as espécies de primatas utilizadas em pesquisa destacam-se o *Pan troglodytes* (chimpanzé), os primatas do Velho Mundo como *Macaca mulatta* (macaco rhesus), *M. fascicularis*, *M. nemestrina*, *Cercopithecus aethiops*, *Papio sp.* (babuíños) e *Erythrocebus patas*; e exemplares de primatas do Novo Mundo incluindo *Samiri sciureus* (mico-de-cheiro), *Aotus trivirgatus* (macaco-da-noite), *Ateles sp.* (macaco aranha), *Saguinus sp.* (micos), *Callithrix sp.* (saguís) e *Cebus sp.* (macaco prego) (SIROIS, 2008).

O sagüi-de-tufo-branco, *Callithrix jacchus*, está entre as espécies de primatas mais utilizadas na pesquisa biomédica, principalmente nos Estados Unidos, devido ao seu pequeno tamanho e os baixos custos para sua alimentação e manutenção.

Apesar do interesse na criação dos calitriquídeos, existem dificuldades na manutenção desses animais em cativeiro. Entre os problemas se destacam as doenças infecto-parasitárias de difícil controle e diagnóstico e as doenças pouco esclarecidas como a Síndrome de Emagrecimento Progressivo (SEP), enfermidade de alta morbidade e mortalidade em sagüís mantidos em cativeiro. A etiologia dessa síndrome ainda não foi completamente estabelecida e é foco de estudo para alguns pesquisadores em diferentes partes do mundo.

Os calitriquídeos acometidos pela SEP apresentam sintomas gastrintestinais, como diarreia intermitente associada à perda de peso progressiva e sinais inespecíficos como anemia com presença de corpúsculo de Heinz. Dentre as alterações anatomopatológicas, destacam-se atrofia de vilosidades intestinais e

hiperplasia de criptas, ocasionando quadro de má-absorção intestinal; e alterações em órgãos linfo-hematopoiéticos já descritos como hematopoese extramedular, intensa hemossiderose e focos de eritrofagocitose em órgãos como fígado, baço e linfonodo.

Atualmente, são escassos os estudos multidisciplinares que correlacionam alterações clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas dos órgãos linfo-hematopoiéticos na SEP. Assim, este estudo pretende caracterizar de forma original a evolução e duração da SEP, associando os dados clínicos e laboratoriais e especificamente visa à caracterização das alterações clínico-laboratoriais e macro e microscópicas dos órgãos linfo-hematopoiéticos. Neste contexto, as etiologias possíveis para anemia descrita na SEP serão discutidas e comparadas a outras doenças que ocorrem em primatas humanos e não-humanos e, por fim, temas relacionados ao processo serão apontados para pesquisas futuras.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do estudo foi a descrição das alterações dos órgãos linfo-hematopoiéticos e a descrição da evolução e duração clínica da SEP e, para tanto, foi realizada a associação das alterações clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas de saguis naturalmente acometidos por SEP e mantidos em cativeiro.

Os objetivos específicos do estudo foram:

1. Descrição epidemiológica dos saguis acometidos por SEP e que são mantidos em diferentes criadouros.
2. Descrição da duração e evolução clínica segundo os sinais e sintomas da SEP.
3. Caracterização laboratorial da anemia.
4. Caracterização hematológica e das alterações anatomopatológicas dos órgãos linfo-hematopoiéticos de saguis acometidos por SEP.
5. Caracterização macro e microscópica dos órgãos linfo-hematopoiéticos de saguis acometidos por SEP utilizando colorações específicas.
6. Análise do tratamento e as alterações clínicas e anatomopatológicas descritas nos órgãos linfo-hematopoiéticos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 APRESENTAÇÃO DOS CALITRIQUÍDEOS: TAXONOMIA, ASPECTOS DA BIOLOGIA E CONSERVAÇÃO

A ordem Primata é subdividida em duas subordens: Prosimii e Anthropeidea. Os prossímios são os primatas mais primitivos de tamanho pequeno a médio e com aparência similar aos esquilos. Os antropóides, também chamados de símios, incluem duas infraordens taxonômicas: Platyrrhini e Catarrhin (NOVAK, 1991; ROWE, 196; SIROIS, 2008).

Os platirrinos estão distribuídos na América do Sul e Central e dentre estes estão os calitriquídeos que são classificados taxonomicamente em Infraordem Platyrrhini, Superfamília Ceboidea, Família Callitrichidae e Subfamília Callitrichinae. Já a subfamília Callitrichinae é composta por cinco gêneros, sendo estes: *Callimico*, *Cebuella*, *Callithrix*, *Saguinus* e *Leontopithecus* (ANKEL-SIMONS, 2007).

Os calitriquídeos, gênero *Callithrix* (Erleben, 1777), chamados popularmente de sagüis e micos, são nativos da fauna brasileira. No Brasil, as principais espécies desse gênero e suas distribuições geográficas são: *C. jacchus* (sagüi-de-tufo-branco), encontrado no nordeste brasileiro; *C. penicillata* (sagüi-de-tufo-preto), no Brasil Central, alcançando a costa leste no Estado da Bahia; *Callithrix kuhlii* (sagüi-de-Weid), endêmico da Bahia; *C. geoffroyi* (sagüi-de-cara-branca), principalmente encontrado no Espírito Santo e Minas Gerais (ALMEIDA; VASCONCELOS, 2007); as espécies *C. flaviceps* (sagüi-da-serra) e *C. aurita* (sagüi-da-serra-escuro) são principalmente distribuídos nas montanhas do sudeste brasileiro (GRELLE; CERQUEIRA, 2006).

Atualmente, as espécies *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata* são observados em parques e áreas verdes da cidade de São Paulo devido ao escape de cativeiros clandestinos e como resultado de solturas sem critérios. Tal fato demonstra as consequências das atividades humanas e da degradação do habitat dessas espécies (ALMEIDA; VASCONCELOS, 2007).

Os calitriquídeos são animais de pequeno porte apresentam tamanho médio variando entre 190 e 248 mm de comprimento, peso médio entre 261 e 323 gramas e estimativa de vida de 12 anos em cativeiro (VERONA; PISSINATI, 2007). A fêmea atinge a puberdade aos 22 meses. O período gestacional dura 148 dias, sendo o peso do neonato de aproximadamente 27 gramas, e o desmame ocorre aos 91 dias (SIROIS, 2008).

Os saguis são considerados monógamos, sendo que um macho acasala somente com uma fêmea, durante o período de reprodução ou durante toda a vida (RYLANDS, 1989). Esses primatas vivem em grupos familiares e o número de animais por grupo pode variar de três a quinze indivíduos. A composição do grupo também pode variar de dois a três machos e duas a três fêmeas adultas, a prole é composta por um a dois subadultos, um a dois juvenis, e um a dois infantis (FARIA, 1989).

Na maioria das espécies, as fêmeas adultas apresentam maior massa corpórea e os machos adultos maior relação ao comprimento cabeça-corpo (BURITY; PISSINATTI; SOUZA, 2007).

A dieta dos calitriquídeos selvagens é composta principalmente por exsudatos de plantas, pequenos insetos, vertebrados e frutas (MARTINS; SETZ, 2000).

Os calitriquídeos que estão na lista nacional das espécies da fauna ameaçadas de extinção são os *Callithrix aurita* e *Callithrix flaviceps* (BRASIL, 2003). Segundo o Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros (CPB), outros calitriquídeos estão em ameaça como *Callithrix argentata leucippe* e *Callithrix humeralifer*.

A partir de 1993, o Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) publicou diversas portarias e instruções normativas, com o intuito de ordenar a criação de animais silvestres em cativeiro.

A criação em cativeiro é muito importante para a conservação destas espécies. Os criadouros comerciais têm um importante papel na preservação de animais silvestres, além da manutenção dos animais apreendidos do tráfico em operações de fiscalização, oferecem opção ao cidadão de aquisição de animais nascidos em cativeiro, sem a necessidade de capturar animais de vida livre, minimizando potencialmente o tráfico ilegal. O principal papel do criador conservacionista, segundo Pobleto (2010), é aquisição de animais sem valor comercial imediato, apreendidos e em péssimas condições de saúde. Neste contexto, os dois criadores, embora com condições de manejo e objetivos diferentes, desempenham funções importantes uma vez que são responsáveis pela manutenção dos espécimes, considerando o cuidar deste animal cativo, garantindo e proporcionando assistência veterinária e alimentação adequada, por toda a vida.

Os primatas não humanos são utilizados como modelos animais devido a sua proximidade filogenética com os seres humanos (VITANE; MANCIOCCO, 2004; KORU et al., 2008). Porém, ainda é pequeno o percentual desses animais utilizados na pesquisa biomédica e corresponde a menos de 0,1% de todos os animais de laboratório (VITALE; MANCIOCCO, 2004).

O primeiro centro de experimentação com primatas não humanos surgiu na União Soviética em 1923, utilizando babuínos e chimpanzés como modelos experimentais (JOHNSSEN, 1995).

Os calitriquídeos tornaram-se reconhecidos como modelos animais em meados dos anos 60 nos Estados Unidos (VITALE; MANCIOCCO, 2004). Hoje, na pesquisa biomédica, estão entre os primatas não humanos mais utilizados como modelo experimental devido ao seu pequeno tamanho, o que facilita o manejo e porque eles apresentam uma boa fertilidade em cativeiro (IGARASHI et al., 1997; HIBINO et al., 2001).

Esses pequenos primatas são bons modelos biológicos para doenças humanas, sendo susceptíveis a doenças infecciosas e espontâneas semelhantes ao homem, como por exemplo, colites e neoplasias de cólon (BROWN et al., 1985; MANSFIELD, 2003). Além disso, esses pequenos primatas são utilizados em pesquisas farmacológicas e toxicológicas, principalmente na Europa e Inglaterra (LOWENSTINE, 2003).

As comissões européias indicam que a Inglaterra é o maior país que mais utiliza primatas não-humanos como modelos experimentais, seguido pela França e Alemanha (VITALE; MANCIOCCO, 2004).

Na Europa, foi organizado um grupo de pesquisa (Marmoset Research Group – EMRG) sem fins lucrativos para facilitar a comunicação interdisciplinar entre instituições acadêmicas e indústrias, que realizam pesquisas biológicas ou biomédicas, a fim de otimizar o uso de saguis na pesquisa (ABBOTT, 2003).

Nos Estados Unidos, os centros de pesquisas de primatas coordenam o uso de primatas neotropicais vivos, como também de quaisquer tecidos disponíveis entre os cientistas. O Interagency Primate Steering Committee, fundado em 1974, apresenta um plano nacional que recomenda e revisa as propostas de pesquisa no uso desses animais (SIROUS, 2008).

3.2 MANUTENÇÃO DOS CALITRIQUÍDEOS: CONDIÇÕES DE RECINTO E DIETA OFERECIDA EM CATIVEIRO

Comparada a de outros primatas, a criação de calitriquídeos apresenta vantagens por demandar menor espaço físico, menor custo de manutenção e fácil manejo. Além disso, a reprodução e crescimento dos saguis são rápidos, podendo ter dois partos gemelares por ano e chegar à idade reprodutiva no segundo ano de vida (LOGAN; KHAN, 1996; TEIXEIRA, 2008).

Na criação de calitriquídeos, como de qualquer outra espécie, deve sempre tentar evitar o estresse respeitando as características espécies-específicas. Uma das maneiras é garantindo as necessidades sociais naturais desses animais, devendo-se alojar dois indivíduos juntos desde que se dêem bem (VITALE; MANCIOCCO, 2004).

Para Pissinatti (1993), os recinos variam de tamanho, dependendo das espécies, recursos, espaço disponível, técnica empregada e objetivo que se pretende crinado calitriquídeos.

Segundo Wiisman (1999), galhos de madeira devem ser colocados na gaiola que os saguis possam empoleirar, além disso, eles fazem furos na madeira auxiliando no cuidado aos dentes. Os calitriquídeos gostam de dormir em caixas, principalmente quando colocado cobertores e bichos de pelúcia. Os brinquedos, cordas, balanços e outros equipamentos de gaiolas podem ser fornecidos para o exercício e recreio (WIISMAN, 1999).

Nas criações em sistema fechado é recomendado que a temperatura ambiental seja mantida entre 27 a 30°C e a umidade relativa do ar em 50%, evitando problemas respiratórios. Períodos alternados de 12 horas de iluminação natural ou artificial e escuridão são importantes para manter a biologia natural da espécie (IGRAM, 1975).

Os calitriquídeos necessitam de exposição à luz solar natural, devido a exigências de vitamina D3. Assim, é necessário que eles sejam alojados em gaiolas com presença de luz natural e áreas de sombra, para poderem se proteger do sol quando necessário (TEIXEIRA, 2008).

Uma dieta nutritiva, equilibrada e rotativa, evitando a monotomia, é importante para calitriquídeos mantidos em cativeiro, logo representa um desafio para os criadores (COIMBRA-FILHO; MAIA, 1977, BARNARD; KNAPKA, 1993).

Em algumas colônias de calitriquídeos localizadas principalmente nos Estados Unidos, a base da dieta são rações comerciais próprias para a espécie. A alimentação natural também é muito importante e assim, os alimentos frequentemente oferecidos nas colônias internacionais incluem iogurte, amendoim, frutas, legumes e como fontes de proteínas ovos cozidos ou mexidos, carnes cozidas, queijo cottage e outros tipos de queijo, atum e camarões cozidos. Os insetos como grilos e larvas de besouros podem ser oferecidos periodicamente (WIISMAN, 1999).

Em estado selvagem, os calitriquídeos gastam aproximadamente 60% do seu dia em forrageamento, sendo que raramente encontram alimento abundante. Logo, evitar a distribuição de alimentos durante todo o dia, pois torna mais difícil simular uma situação mais natural. Outra forma de enriquecimento é o fornecimento de alimentos que permite maior tempo para ser gasto na sua aquisição como maçãs, laranjas, espiga de milho. Alimentos doces durante a noite são importantes para manter a glicemia no período da noite. Nos calitriquídeos hiporéticos ou anoréticos, a

suplementação diária com vitaminas é importante para manter o estado nutricional (WIISMAN, 1999).

Apesar das vantagens da criação e do interesse na preservação da espécie e nos estudos em pesquisas biomédicas, existem dificuldades na manutenção dos calitriquídeos em cativeiro.

A dieta balanceada para criação dos saguis em cativeiro é ainda um grande desafio. Há muitos estudos com relação as deficiências e excessos nutricionais de vitaminas e minerais em calitriquídeos mantidos em cativeiro. Entre as deficiências vitamínicas são apontadas principalmente a vitamina D (TEIXEIRA, 2008), vitamina E (JUAN-SALLÉS et al., 2003) e vitamina C (FLURER et al., 1987). Entre os nutrientes ofertados em excesso destacam-se a vitamina A (MILLS; PENNISTON; TANUMIHARDJO, 2005) e o ferro (GOTTDENKER; MCNAMARA; BRASELTON, 1998).

As principais enfermidades infecciosas descritas em calitriquídeos foram abordadas de maneira ampla por Potkay (1992); Montali e Bush (1999) e Ludlage e Mansfield (2003). As doenças parasitárias intestinais representam um problema nos criadores de calitriquídeos, entre elas se destacam os protozoários *Cryptosporidium sp.* e *Giardia sp.* (KALISHMAN et al., 1996; KRAMER et al., 2009), trematóides (SOUSA et al., 2008) e nematóide de ducto pancreático *Trichospirura leptostoma* (PFISTER et al., 1990; HAWKINS et al., 1997).

As doenças pouco esclarecidas como a Síndrome de Emagrecimento Progressivo (SEP), enfermidade de alta morbidade e mortalidade em sagüis mantidos em cativeiro, representam também desafio (SÁ, 2004). A etiologia dessa síndrome é foco de estudo para alguns pesquisadores em diferentes partes do mundo.

3.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE A SÍNDROME DE EMAGRECIMENTO PROGRESSIVO DOS CALITRIQUÍDEOS

King (1976) foi o primeiro a descrever a SEP no Zoológico de Jersey. Depois desse relato, muitos outros foram descritos em diferentes partes do mundo.

A SEP é uma enfermidade de alta mortalidade nos calitriquídeos mantidos em cativeiro e normalmente atinge sagüis adultos de diferentes espécies com tempo de cativeiro mínimo de 2 anos (SÁ, 2004; KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Assim, a SEP foi caracterizada como um processo de má-absorção, por perda de superfície absorptiva, decorrente de enterite crônica imunomediada de padrão celíaco-*like* que leva a progressiva e grave desnutrição secundária (Sá, 2004).

São muitos os sinais e sintomas considerados na SEP e dentre eles incluem: perda de peso associada à polifagia no início da enfermidade, emaciação, atrofia muscular, diarreia crônica, pêlos arrepiados, pele oleosa, alopecia em região da cauda, letargia, distúrbios de coordenação como diminuição da capacidade de agarrar evoluindo até paralisia dos membros, alterações de comportamento, alterações reprodutivas e anemia (SHIMWELL et al., 1979; BRACK; ROTHE, 1981; CHALMERS et al., 1983; BARNARD et al., 1988; SÁ, 2004; WIISMANN, 2005; KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006; MORAES et al., 2007).

A perda de peso e diarreia estão entre os principais sintomas (IALEGIO; BAKER, 1995; SÁ, 2004). A perda de peso é severa, sendo que o peso corpóreo pode diminuir em até 45% (SÁ, 2004; KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Nos episódios de diarreia, as fezes podem variar de pastosa a líquidas, normalmente claras e podem ou não apresentar alimentos não digeridos (SÁ, 2004; MORAES, 2007). A diarreia se caracteriza por ser intermitente, volumosa, fétida, por vezes, com esteatorréia e que exibe melhora quando tratada com antibióticos (SÁ, 2004).

Em estudo prévio, foi realizada categorização das alterações clínicas em sinais e sintomas maiores e menores segundo a frequência de ocorrência dos mesmos nos saguis com SEP (SÁ, 2004).

Dentre as alterações laboratoriais na SEP incluem anemia, hipoalbuminemia e elevação das enzimas hepáticas (LOGAN; KHAN, 1996; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Outro achado observado por Logan e Khan (1996) foi trombocitose, acreditando ser uma trombocitose reativa como observado nas doenças inflamatórias intestinais crônicas ou secundária a deficiência de ferro.

Na avaliação do esfregaço sangüíneo observa-se leve a moderado pontilhados basofílicos, corpúsculo de Howell-Jolly, policromasia, anisocitose, poiquilocitose e corpúsculos de Heinz (LOGAN; KHAN, 1996).

A anemia na SEP foi caracterizada como macrocítica normocrômica com presença de corpúsculos de Heinz (LOGAN; KHAN, 1996). As anemias macrocíticas podem ainda ser classificadas como megaloblásticas, associada a déficit de vitamina B12 e ácido fólico ou mielodisplasia (eritropoiese ineficaz por comprometimento da biossíntese do DNA); ou como normoblástica, associada a hepatopatias crônicas, hipotireoidismo, leucemia, mielodisplasia, aplasia medular e as anemias hemolíticas, com aumento de reticulócitos (PENELLA et al., 2010).

Alguns estudos demonstraram que a anemia dos calitriquídeos com SEP pode ser hemolítica devido a deficiência nutricional de vitamina E e selênio (CHALMERS et al., 1983; GUTTERIDGE et al., 1986; JUAN-SALLES et al., 2003).

No exame macroscópico, primeiramente se observa o péssimo estado nutricional dos animais que vieram a óbito por SEP, caracterizada por caquexia (BRACK; ROTHE, 1981, MORIN, 1983; JUAN-SALLÉS et al., 2003), pelame despenteado e oleoso e áreas alopécicas na base da cauda e cauda (QUOHS et al., 2002). Mucosas aparentes e órgãos pálidos e distensão abdominal também estão entre os achados macroscópicos (BRACK; ROTHE, 1981; SÁ, 2004). Outro achado necroscópico é a presença de fraturas ósseas (QUOHS et al., 2002) ou avaliação da diminuição da calcificação óssea. Neste sentido, as alterações macroscópicas apontam para processo crônico e debilitante (SÁ, 2004).

No intestino delgado observa-se dilatação das alças intestinais, tanto do intestino delgado como grosso com presença de conteúdo mucoso ou pastoso podendo apresentar alimentos não digeridos e presença de gás (JUAN-SALLÉS et al., 2003; SÁ, 2004). Logan e Khan (1996) descreveram marcante distensão do cólon e ceco por fezes alteradas e/ou gás e áreas focais de erosão e coloração marrom escura da mucosa colônica. Nos linfonodos mesentéricos pode-se observar linfadenomegalia (QUOHS et al., 2002; JUAN-SALLÉS et al., 2003). O fígado pode estar aumentado de tamanho (QUOHS et al., 2002).

A causa de morte dos sagui com sintomatologia de SEP está associada principalmente a infecções sistêmicas secundárias por fungos e bactérias (SÁ, 2004). As alterações pulmonares e ulceração intestinal estão entre as complicações comuns ocorridas na SEP (SÁ, 2004; MORAES et al., 2007).

A enterite é um das principais alterações histopatológicas observadas nos calitriquídeos com SEP (LUDLAGE; MANSFIELD, 2003; SÁ, 2004; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Segundo alguns autores essa lesão do intestino delgado não tem como causa primária processo infeccioso, mas está associada a má-absorção e aumento da secreção de água e íons para o lúmen do intestino delgado e conseqüente diarreia (Sá, 2004; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006, MORAES et al., 2007). Segundo Sá (2004) esta enterite caracteriza-se por atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas intestinais e este achado é determinante para o diagnóstico de SEP. O processo inflamatório intestinal apresentado consiste no predomínio de células mononucleares acompanhada por raros a discreto infiltrado neutrofílico (SÁ, 2004; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Ocasionalmente pode-se observar abscessos em criptas e hiperplasia do GALT (ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006).

Em estudos anteriores, a colite era descrita como a principal alteração intestinal observada em calitriquídeos com SEP (SAINSBURY; KIRKWOOD; APPLEBY, 1987; POTKAY, 1992; LOGAN; KHAN, 1996; MONTALI; BUSH, 1999). Lewis et al. (1987) em seu trabalho descreve as alterações da microbiota fecal de

bactérias anaeróbias em saguis com SEP, demonstrando diminuição do número de lactobacilus e aumento das espécies bacterioides-fusobactérias e clostrídios.

No rim os achados microscópicos caracterizam-se por nefrite intersticial crônica bilateral, algumas vezes acompanhada por fibrose intersticial, e glomerulonefrite membrano-proliferativa, principalmente observada pela dilatação do espaço de Bowman (BRACK; ROTHE, 1981; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). A glomerulopatia, segundo Schroeder et al. (1999), está associada a deposição de imuno-complexos da classe IgA, pelo aumento de anticorpos anti-gliadina e anti-endomísio sérico, apresentando semelhanças a doença celíaca humana. Outra alteração renal observada foram depósitos de hemossiderina nos túbulos proximais por Brack e Rothe (1981).

Dentre as alterações hepáticas, destacam-se as hepatites crônicas e degeneração gordurosa ou vacuolar de hepatócitos (BRACK; ROTHE, 1981; ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Brack e Rothe (1981) descrevem que alguns hepatócitos apresentavam cariólises ou picnoses.

A intensa hemossiderose hepática é a alteração mais relevante, e pode estar associada a hemólise, patologia também observada nesta doença (BRACK; ROTHE, 1981; CHALMERS; MURGATROYD; WADSWORTH, 1983). A observação de hemossiderose na lâmina própria intestinal e a extensa hemossiderose hepática sugerem alguma interferência com o metabolismo de ferro (BRACK; ROTHE, 1981).

Chalmers et al. (1983) e Juan-Sallés et al. (2003), avaliando a histologia do fígado, baço e linfonodo dos calitríquideos que foram a óbito pela SEP, observaram um aumento da eritrofagocitose nestes órgãos, sugerindo se tratar de um processo hemolítico extravascular.

A musculatura esquelética apresenta lesões degenerativas, atrofia de fibras simples e miosite pela necrose de coagulação dos grupos de fibras musculares (BRACK; ROTHE, 1981).

Logan e Khan descrevem que a medula óssea de saguis com SEP mostram leve decréscimo da relação mielóide : eritróide, indicando hiperplasia eritróide, e todas as séries hematopoiéticas estavam presentes e com a maturação preservada. Já Moraes et al. (2007) analisando a medula óssea de um *Saguinus martinsi* que foi a óbito pela SEP, observou moderada hiperplasia mielóide, leve hiperplasia megacariocítica e aumento dos estoques de ferro medular.

3.4 ANATOMIA E HISTOLOGIA DOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS

Os órgãos linfo-hematopoiéticos descritos são: medula óssea, baço, linfonodo e timo. O fígado foi incluído devido sua participação na hemocaterese e metabolismo do ferro.

3.4.1 Medula Óssea

A biópsia de medula óssea é importante principalmente para avaliação da celularidade, e a distribuição relativa dos diferentes tipos celulares (JACOBS; VALLI, 1988 apud JAIN, 1993, p. p. 15-16). Apesar do exame citológico apresentar vantagens com relação a avaliação da morfologia nuclear e citoplasmática das linhagens celulares, a biópsia de medula óssea é preferida em certas situações, como por exemplo em casos de hipoplasia medular, no qual os esfregaços exibem baixa celularidade (JAIN, 1993).

a biópsia de medula óssea possibilita também a avaliação do estoque de ferro pela observação do conteúdo medular de hemossiderina, na coloração de Azul de Perls. Os grânulos de hemossiderina podem ser encontrados no citoplasma das células reticulares, dos macrófagos e, ocasionalmente, das células endoteliais (ALCÂNTARA, 1981).

Nos estoques medulares normais de ferro, a hemossiderina está esparsamente distribuída pelo tecido, sendo encontrada, em um de cada 10 campos, ao exame microscópico sob objetiva de imersão. O tamanho das partículas também é útil para a interpretação do ferro medular. Os grânulos de hemossiderina grandes (acima de 5µm) são indicativos de inibição da síntese de hemoglobina; enquanto as partículas de pequeno tamanho (0,5 a 2 µm) estão associadas a um rápido metabolismo do ferro, como ocorre na perda aguda de sangue, anemia hemolítica, hemocromatose idiopática, policitemia vera (ALCANTARA, 1981).

A coloração de Azul de Perls, além de ser importante para a avaliação do estoque de ferro nas anemias, pode também auxiliar na identificação de macrófagos (histiócitos) na medula óssea (ALVES, 2009).

Segundo Bacal et al. (2005), outra finalidade para a coloração de Azul de Perls na medula óssea é a identificação de sideroblastos, hemácias nucleadas que possuem grânulos sideróticos circundando o núcleo. O aumento de sideroblastos na medula

óssea (acima de 15%) sugere diagnóstico de Síndrome mielodisplásica com sideroblastos em anel (SMD).

O estroma da medula óssea é constituído pelas fibras reticulares que se expandem entre os vasos, em contato íntimo com suas paredes e com o tecido ósseo. Essa trama pode ser observada na coloração histológica de reticulina ou impregnação pela prata (ALCANTARA, 1981). Nos cortes de medula normal, as fibras reticulares evidenciadas formam uma rede muito frouxa, delicada e pouco evidente, sendo que algumas fibras delimitam os seios venosos e algumas células adiposas. As fibras colágenas na medula normal praticamente não existem e situam-se em pequeno número em torno dos vasos maiores.

A fibrose que se segue a metástase medular e em algumas síndromes mieloproliferativas e linfoproliferativas pode ser muito extensa e estar associada a hematopoese extramedular. As fibroses secundárias a processos inflamatórios medulares e a patologias ósseas são usualmente localizadas e não produzem alterações hematológicas. Em estágios avançados a fibrose pode estar associada a neoformação óssea. As fibras colágenas são visualizadas em Tricrômico de Masson como coloração azulada (ALCANTARA, 1981).

Segundo Anderson e colaboradores (1967) a avaliação do sangue periférico e os valores hematológicos dos calitriquídeos são muito similares aos valores normais encontrados nos humanos. Entretanto, a medula óssea dos calitriquídeos apresenta hipercelularidade para uma proporção de gordura de 4:1 a 6:1 (ANDERSON et al., 1967), enquanto no ser humano a proporção varia entre 1,5:1 a 3:1 (ALVES, 2009).

Anderson et al. (1967) descreve que nos pequenos primatas a série mielóide é bastante ativa e mostra assincronia na maturação nuclear e citoplasma com deslocamento para a esquerda. Os megacariócitos são proeminentes. Já a série eritróide varia muito na atividade com maturação normoblástica (ANDERSON et al., 1967).

3.4.2 Baço

O baço possui uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a qual emite trabéculas que dividem o parênquima ou polpa esplênica em compartimentos incompletos. A cápsula e trabéculas são facilmente visualizadas em lâminas histológicas coradas em picrossírius (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Nos seres humanos, a cápsula e trabéculas são constituídas por algumas fibras musculares lisas, já em outras

espécies, como o cão, gato e cavalo, essas fibras são abundantes e sua contração provoca a expulsão do sangue acumulado no baço (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O baço consiste de um tecido linfóide arranjado em folículos, é dividido em polpa branca e polpa vermelha, que consiste em uma rede vascular e sinusóides revestidos por macrófagos (SCOTT, 1992). O baço representa um importante órgão de defesa contra microrganismos e é responsável pela remoção de eritrócitos velhos ou danificados através da fagocitose e digestão pelos macrófagos, sendo que o ferro resultante da lise das hemácias é estocado em diferentes células e reutilizado pela medula óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).. O pigmento de bilirrubina será formado e, então, secretado pelos hepatócitos na bile excretada. Além disso, o baço também tem um importante papel na destruição de leucócitos, sendo que indivíduos que sofreram esplenectomia, comumente foram associados a uma temporária leucocitose por aumento dos polimorfonucleares, assim como monocitose e trombocitose (SCOTT, 1992).

A polpa vermelha esplênica além de conter células como os macrófagos, células apresentadoras de antígeno e linfócitos, também são formadas por fibras reticulares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008), facilmente visualizadas em coloração histológica para reticulina.

Anatomicamente, o baço é alongado, com tendência a assumir uma forma trirradiada. Nos sagüis, este órgão é estreito no pólo dorsal e amplo no ventral. Essa diferença perto da extremidade ventral dá uma aparência bífida ao órgão (OSMAN HILL, 1957).

A histologia do baço difere entre as espécies dos primatas do Novo Mundo e do Velho Mundo, especialmente nos cebídeos como o *Saimiri sciures* no qual bainhas reticulares são proeminentes. Em macacos do Velho Mundo, o baço é fortemente sinusoidal com cordões de Billroth bem definidos. Assim quando as células de revestimento sinusoidal ficam reativas, por exemplo, durante quadros de endotoxemia ou septicemia, as células se assemelham a células epiteliais (SCOTT, 1992)

3.4.3 Linfonodo

Anatomicamente, os linfonodos são órgãos encapsulados constituídos por tecido linfóide. O parênquima do órgão é sustentado por um arcabouço de células reticulares e fibras reticulares. A cápsula de tecido conjuntivo denso que envolve o órgão envia trabéculas para o seu interior, dividindo o parênquima em compartimentos incompletos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A estrutura do nódulo linfático consiste de três áreas de morfologia e funções distintas: cortical, paracortical e medular. A área cortical inclui os folículos linfóides com seus centros germinativos e representa a área de células B do linfonodo e está associada principalmente com a imunidade humoral. Os folículos linfóides são nódulos arredondados, orientados a direita da cápsula do linfonodo. Eles apresentam-se bem próximos um dos outros, formando uma área periférica ou manto composto por linfócitos pequenos de coloração escura e localizado centralmente ao centro germinativo. Incluem uma população de células linfóides em vários estágios de maturação, células reticulares de suporte e histiócitos que exibem atividade fagocítica. Os centros germinativos podem variar de tamanho dependendo das condições de estimulação antigênica. Os folículos primários são formados por população de células homogêneas pequenas basofílicas e corresponde aos linfócitos não estimulados (*naive*). Os folículos secundários são os estimulados pelos antígenos e incluem a composição dos centros germinativos bem desenvolvidos composto por uma população heterogênea de coloração mais clara (IOACHIM, 2009).

Na paracortical encontram-se as células linfóides e vênulas pós-capilares. A paracortical representa a área timo-dependente, e as células linfóides são linfócitos T. Assim, este local está associado principalmente a imunidade celular. Os linfócitos podem ser pequenos ou grandes, mas são principalmente não clivados e freqüentemente estão em mitose, representando vários estágios de transformação celular em resposta a estimulação antigênica (IOACHIM, 2009).

A área medular é o principal local de proliferação de plasmócitos e produção de anticorpos. O cordão de plasmócitos e seus precursores estão separados por um amplo seio medular, que contém numerosos monócitos, plasmócitos e macrófagos (IOACHIM, 2009).

Os seios linfáticos variam em tamanho e composição celular de acordo com a demanda funcional e são a passagem entre a rede de fibras reticulares delimitada pelas células endoteliais que estão interconectadas pelos desmossomos. No lúmen dos seios estão alguns macrófagos ativados ancorados pela parede dos seios e numerosos linfócitos, plasmócitos, imunoblastos e ocasionalmente polimorfonucleares. O aparato fagocítico dos seios auxilia na filtração do linfonodo, retirando os corpos estranhos (IOACHIM, 2009).

Além das células linfóides e fagocíticas, os linfonodos possuem células reticulares dendríticas, que são detectadas ocasionalmente nas colorações histológicas de rotina. Devido a variação celular do linfonodo, o exame imuno-histoquímico é uma importante ferramenta para a identificação dos diferentes tipos celulares encontrados no órgão linfóide (GERDES et al., 1983).

O linfonodo dos primatas não humanos é estruturalmente similar ao dos humanos (SCOTT, 1992). Os primeiros estudos avaliando a formação estrutural e celular dos linfonodos e a estimulação antigênica pós vacinal foram realizados em primatas de experimentação, com a finalidade de diferenciar as linfadenopatias pós vacinal e linfomas em crianças (VALLI, 2007).

3.4.4 Timo

O timo é um órgão linfoepitelial situado no mediastino, atrás do esterno e a altura dos grandes vasos do coração. Possui dois lobos, envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo denso. A cápsula origina septos, que dividem o parênquima em lóbulos contínuos uns dos outros. Cada lóbulo é formado pela zona cortical, na região periférica, e a zona medular, parte central mais clara. A zona cortical e medular possuem os mesmos tipos celulares, sendo as células mais abundantes os linfócitos T e células reticulares epiteliais. Na zona cortical há maior concentração de linfócitos e macrófagos. Já na zona medular encontram-se os corpúsculos de Hassall (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

As células reticulares epiteliais não estão associadas as fibras reticulares, de modo que o retículo existente no timo é formado exclusivamente por prolongamentos celulares unidos por desmossomos. As células reticulares revestem em camada simples as fibras colágenas da cápsula e septos; formam o retículo da cortical e da medular, onde se multiplicam e diferenciam os linfócitos T; formam uma camada em torno dos vasos sanguíneos do parênquima tímico; e constituem os corpúsculos de Hassall (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Nos humanos, o timo está presente até a puberdade, depois ocorre sua involução, iniciando por progressiva perda de timócitos da região cortical e, então, ocorre uma linha de demarcação desfocada entre a cortical e a zona medular, permanecendo apenas os corpúsculos de Hassall na idade adulta. Nos primatas não-humanos há estudos com relação à involução do órgão, porém é difícil precisar em qual idade o mesmo ocorre em outras espécies (SCOTT, 1992).

3.4.5 Fígado

O fígado apresenta uma morfologia adequada para que o parênquima possa rapidamente aumentar ou diminuir e adaptar-se às exigências funcionais. A veia porta fornece aproximadamente 75% do fluxo total de sangue aferente e a artéria hepática é responsável em fornecer oxigênio a este órgão. Os sinusóides hepáticos são microvasos cavernosos revestidos por especializadas células endoteliais e células de Kupffer que faz parte do conjunto da resposta imune inata. As células de Kupffer são macrófagos fixos ligados à parede interna sinusoidal em contato direto com sangue. Este arranjo facilita a remoção de partículas fagocíticas, como bactérias que podem alcançar o fígado através da veia porta. As células de Kupffer também participam na regulação da resposta inflamatória por secreção de várias citocinas na circulação e no espaço perisinusoidal. Além das células de Kupffer, grandes linfócitos granulares com atividade *natural killer* estão aderidos ao endotélio sinusoidal, onde também participam da resposta imune inata. Os sinusóides são separados das placas hepatocelulares adjacentes por um espaço extracelular virtual denominado o espaço de Disse que contém células estreladas hepáticas, fibras de reticulina, e os nervos (STALKER; HAYES, 2007).

A vascularização do parênquima hepático funcional define a sua microanatomia. Os hepatócitos de mamíferos estão organizados em monocamada entre os sinusóides. O ácino hepático de Rappaport é uma subunidade funcional dividida em zonas em relação ao fornecimento de sangue: Zona 1, onde os hepatócitos estão mais próximos do fluxo arterial portal de oxigênio e nutrientes e a Zona 3 (periacinar), onde hepatócitos estão mais próximas da saída (veia hepática terminal). A Zona 2 é a zona de transição, entre as duas zonas anteriores. Assim na Zona 1, os hepatócitos estão expostos ao sangue com a mais alta concentração de oxigênio, insulina, glucagon e aminoácidos, sendo o principal sítio da gliconeogênese, síntese de proteínas, metabolismo aeróbico, ciclo da uréia, lipídios e metabolismo do colesterol. Por outro lado, na Zona 3 concentra-se o sítio de glicólise, lipogênese, e as funções principais de biotransformação, incluindo a expressão do citocromo P450, glucuroniltransferases, glutathione-S-transferases e biotransformação de enzimas de desintoxicação. Assim, os hepatócitos de Zona 3 são mais suscetíveis à lesão hipóxica, em comparação aos hepatócitos da Zona 1 (ROUILLER, 1963).

O número e forma dos lobos do fígado dos mamíferos domésticos variam entre as espécies. Segundo Osman Hill (1957), o fígado de sagüis (*Callithrix jacchus*) é composto por quatro lobos, divididos em central, esquerdo, direito e caudado. O lobo acessório está ausente nesses animais. O fígado deste primata é envolvido por uma

delgada cápsula que se condensa no hilo. Microscopicamente, o fígado de sagüis normais é similar aos animais de laboratório e seres humanos (ROSSI; MOREIRA, 1967; FOSTER, 2005).

Os hepatócitos de sagüis contêm grande quantidade de glicogênio (MIRAGLIA, 1975; FOSTER, 2005). Segundo Miraglia e colaboradores (1975), as enzimas glicogênicas e glicogenolíticas são encontradas em proporções desiguais e com taxas diferentes de reatividade no fígado de sagüis. Esses autores demonstraram que a enzima lactato desidrogenase (LDH) mostrou maior reatividade nas células de Kupffer de sagüis, as enzimas da via das pentoses (glicose 6-fosfato-desidrogenase) e do metabolismo protéico (glutamato desidrogenase) mostraram uma forte reatividade nos hepatócitos de sagüis. Além disso, no fígado de sagüis as enzimas do metabolismo mucopolissacarídeo não são encontrados em todos os animais estudados por tais autores e apresentaram baixa reatividade (MIRAGLIA et al., 1975).

3.5 AS PRINCIPAIS PATOLOGIAS ENCONTRADAS NOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS DE CALITRIQUÍDEOS

As principais lesões anatomopatológicas dos órgãos linfo-hematopoiéticos descritas nos calitriquídeos por Potkay (1992) foram hematopoese extramedular encontrada principalmente no baço, fígado e adrenal, e hemossiderose esplênica e hepática.

A hemossiderose hepática nos primatas não-humanos parece marcadamente maior do que nos humanos, segundo Scott (1992) isto poderia estar relacionado ao um aumento da fragilidade eritrocitária e diminuição da meia-vida das hemácias nas espécies. Nas anemias hemolíticas dos primatas não-humanos observou-se intensa hemossiderose tanto nos hepatócitos como nas células de Kupffer do fígado e no tecido conectivo perivascular do baço (SCOTT, 1992). Além da hemossiderose esplênica, observa-se uma marcada hiperplasia da polpa vermelha com redução da polpa branca (SCOTT, 1992).

A hemossiderose hepática também foi correlacionada a dieta rica em ferro nestes animais (GOTTDENKER; MCNAMARA; BRASELTON, 1998). Miller (1997) descreveu que a dieta dos calitriquídeos contendo menos de 100 mg/ kg de ferro, não ocasionou deficiência evidente de ferro nestes animais. Os autores indicaram que a quantidade de ferro na alimentação não pode exceder 180 mg/ kg, de forma a prevenir ou até mesmo para reverter a sobrecarga de ferro hepática.

Considera-se que a hemossiderose hepática pode ser uma importante causa da morte desses animais (MILLER et al., 1997). Experimentalmente, as dietas ricas em ferro causaram mortalidade devido a infecção em sagüis. Estoques de ferro hepatocelular podem ser severos o suficiente para alterar a função celular, como ocorre nos quadros de hemocromatose, comprometendo também estudos farmacológicos (LOWENSTINE, 2003). Além disso, o acúmulo de ferro no interior de células parenquimatosas do fígado e de outros órgãos podem levar a lesão pela liberação de radicais livres derivados do ferro, ocasionando peroxidação lipídica das membranas celulares e morte celular (BACON; BRITTON, 1990).

No fígado de saguis saudáveis, segundo Okasaki et al. (1996), pode se observar necrose, microgranulomas e vacuolização sinusoidal.

Focos de hematopoese extramedular (HEM) e mielolipomas no fígado e adrenal são ocasionalmente achados em calitriquídeos (KAKINUMA et al., 1994; OKASAKI et al., 1996). Porém, a patogenia e ainda não estão esclarecidas (LOWENSTINE, 2003).

A HEM foi observada no fígado, baço e glândula adrenal de sagüis anêmicos, que sofreram perda crônica de sangue. Nos neonatos está presente no fígado, baço, glândula adrenal, rim e pulmão, e é mais pronunciada como resposta a intensa perda sangüínea pós-natal (TISCHENDORF; WOLFE, 1970).

Em estudo realizado por Tischendorf e Wolfe (1970), foi observado que a HEM desenvolve-se rapidamente em fígados de saguis submetidos à colheita semanal de 40% do volume sangüíneo, mas desaparecem após 1 a 2 semanas quando os valores hematológicos retornam ao normal. Neste estudo mudanças hematológicas e HEM não foram observadas em sagüis saudáveis submetidos à colheita semanal de 8,5 a 9,5% de seu volume sangüíneo por 8 semanas.

Na glândula adrenal, a HEM foi localizada na maioria das vezes nos sinusóides da zona reticular ou na junção cortico-medular, apesar de algumas vezes distribuído nos sinusóides da cortical (TISCHENDORF; WOLFE, 1970). Já no baço, a HEM está difusamente distribuído na polpa vermelha (TISCHENDORF; WOLFE, 1970).

Dentre as alterações da medula óssea, há um relato de mielofibrose idiopático em saguis relacionada a HEM em vários órgãos (KHAN; LOGAN; BLOMQUIST, 1997).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo será retrospectivo e prospectivo, pelo qual foram selecionados saguis de dois criadouros diferentes.

4.1 CASUÍSTICA

Foram estudados 47 saguis doentes com sinais clínicos de SEP das espécies *Callithrix jacchus* (sagüi-de-tufos-brancos), *Callithrix penicillata* (sagüi-de-tufos-pretos), *Callithrix geoffroyi* (sagüi-de-cara-branca) e *Callithrix* spp (saguis híbridos) que foram subdivididos em dois grupos:

Grupo I - formado por 24 animais procedentes da Associação Mucky de Proteção aos Pequenos Primatas no período de maio 2000 a junho 2001;

Grupo II - composto por 23 animais oriundos do Criadouro AJB Soares no período de fevereiro 2007 a abril de 2009.

A distribuição dos saguis, segundo espécie, sexo, idade, local de nascimento e tempo de cativeiro, para cada grupo está apresentada na tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos saguis por grupo, segundo espécie, sexo, idade, local de nascimento e tempo de cativeiro.

Grupo	Animal	Espécie ¹	SEXO	IDADE (meses)	Local de Nascimento	Tempo de cativeiro (meses)
1	1	SH	fêmea	19	Mucky	19
1	2	STB	fêmea	60	indeterminado	43
1	3	STP	fêmea	50	Mucky	50
1	4	SH	macho	60	indeterminado	50
1	5	STB	fêmea	60	indeterminado	25
1	6	STP	macho	60	indeterminado	36
1	7	SH	macho	55	Mucky	55
1	8	SH	macho	61	Mucky	61
1	9	SCB	macho	60	cativeiro	18
1	10	STP	macho	60	indeterminado	28
1	11	SH	fêmea	54	Mucky	54
1	12	STP	fêmea	60	indeterminado	59
1	13	SH	fêmea	65	Mucky	65
1	14	STP	fêmea	60	indeterminado	23
1	15	STP	fêmea	73	Mucky	73
1	16	SH	macho	60	indeterminado	36
1	17	SCB	macho	60	cativeiro	31
1	18	SH	fêmea	44	Mucky	44
1	19	STB	macho	96	Mucky	96
1	20	STP	macho	60	indeterminado	43
1	21	STB	macho	60	indeterminado	7
1	22	STB	macho	60	Mucky	60
1	23	SH	fêmea	60	Mucky	60
1	24	STP	fêmea	60	indeterminado	38
2	1	STP	fêmea	84	Instituições	60
2	2	STP	fêmea	72	Instituições	60
2	3	STP	fêmea	96	Instituições	72
2	4	STP	macho	48	Instituições	48
2	5	STB	macho	48	AJB Soares	48
2	7	STP	fêmea	60	Instituições	24
2	8	STB	fêmea	72	AJB Soares	72
2	9	STB	fêmea	48	Instituições	36
2	10	STB	fêmea	60	AJB Soares	60
2	11	STP	fêmea	72	Instituições	48
2	12	STP	macho	72	Instituições	60
2	13	STB	fêmea	72	indeterminado	36
2	14	STP	fêmea	36	Instituições	24
2	15	STP	macho	84	Instituições	48
2	16	STB	fêmea	36	Instituições	24
2	17	STP	macho	72	Instituições	48
2	18	STP	fêmea	84	indeterminado	60
2	19	STP	fêmea	60	indeterminado	48
2	20	STB	macho	72	indeterminado	60
2	21	STP	fêmea	36	cativeiro	12
2	22	STP	macho	60	Instituições	36
2	23	STB	fêmea	84	AJB Soares	72

¹SH = sagui híbrido; STB = sagui-de-tufos-brancos; STP = sagui-de-tufos-pretos; SCB = sagui-cara-branca

4.2 ALTERAÇÕES DEFINIDORAS DE SEP

A SEP foi definida baseada nas alterações clínicas de perda de peso progressiva, diarreia intermitente e alterações morfológicas intestinais de enterite atrófica subtotal a total, com hiperplasia de criptas e aumento do número de linfócitos intra-epiteliais (Sá, 2004).

4.2.1 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão são os seguintes:

- 1- saguis machos e fêmeas, nascidos em cativeiro ou que estiveram nas mesmas condições de manejo e dieta por mais de seis meses.
- 2- saguis que vieram a óbito por consequência da SEP diagnosticada pelas alterações clínicas e histomorfológicas intestinais.

Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- 1- animais em condições de cativeiro a menos de seis meses.
- 2- animais com parasitoses identificadas no exame coproparasitológico, exame necroscópico ou microscópico.
- 3- animais em autólise.

4.3 CONDIÇÕES DE MANUTENÇÃO DOS SAGUIS

As condições de manutenção dos saguis foram descritas baseadas em informações fornecidas pelos proprietários de cada criadouro a seguir.

4.3.1 A Associação Mucky de Proteção aos Pequenos Primatas

A Associação Mucky existe como instituição de proteção aos pequenos primatas há aproximadamente 25 anos sob a coordenação da Sra. Livia Botar. Foi legalizado como criatório conservacionista e órgão de utilidade pública junto ao IBAMA número 1.351.998.000.193-9 em 1998 e, em 2004, tornou-se uma Organização não

Governamental (ONG). No período de estudo, a colônia era composta por 185 sagüis, dos quais 100 eram machos e 85 fêmeas e a maioria com idade superior a 18 meses.

O criatório apresentava aproximadamente 50 viveiros externos, dos quais alguns eram isolados e outros dispostos em blocos de alvenaria. Os viveiros eram telados, apresentavam a base de alvenaria revestida por cimento e eram cobertos por telhas de amianto ou de cerâmica. Nos recintos, existia área de cambeamento medindo 45 x 60 x 60 cm que era delimitada por gaiola de ferro, onde se colocavam os pratos de alimento, de água e a caixa de madeira para ninho. Os animais eram mantidos em grupos familiares e em casais ou o animal ficava sozinho.

A limpeza dos viveiros era realizada diariamente. As fezes eram raspadas manualmente e depois varridas e recolhidas. A cada dois dias os viveiros eram lavados com água sob pressão, sabão em pó e solução de cloro. Os galhos, que ornamentavam cada viveiro e o ninho de madeira eram trocados e lavados periodicamente, sem intervalo pré-definido. Os panos que revestem o interior dos ninhos eram trocados e lavados pelo menos uma vez por semana.

Os saguis recebiam medicação antiparasitária duas vezes ao ano. A maioria dos animais era nascida no próprio criadouro ou provenientes de Centros de triagem e apreensões policiais.

A alimentação era oferecida três vezes ao dia e era composta por frutas frescas, legumes cozidos, frango cozido, leite longa-vida ou leite em pó, cereais (Farinha láctea®, Neston®), massas (macarrão e pão) e ovos cozidos. A água oferecida para beber era proveniente de poços artesianos e a mesma era fervida e mantida tampada até ser servida aos animais, pela manhã do dia seguinte. Os alimentos e a água eram oferecidos *ad libitum*. Os recipientes de louça para alimentos eram retirados e lavados com água e sabão neutro no intervalo entre cada refeição e final da tarde para utilização no próximo dia.

As frutas e legumes utilizados variavam na dependência da época do ano e disponibilidade de obtenção junto ao entreposto de frutas e legumes de Jundiaí ou Campinas. A dieta utilizada pelo criadouro, no ano de 2000, apresentava os seguintes níveis nutricionais, sobre a matéria seca: 16,3% proteína bruta, 3,96 Kcal/g de energia metabolizável, 2,41% extrato etéreo, 1,48% fibra bruta, 77,35% extrativos não nitrogenados, e 2,40% matéria mineral (Sá, 2004).

4.3.2 O Criadouro comercial A.J.B. Soares

Durante o período de Fevereiro de 2007 a Dezembro de 2009, foram necropsiados 87 calitriquídeos adultos procedentes do criadouro AJB Soares localizado no município de Atibaia. Desses saguis, foram selecionados 11 que possuíam avaliação clínica e foram necropsiados e 14 encaminhados para necropsia.

O criadouro A.J.B. Soares se tornou comercial em 1999 com registro no IBAMA número 1.359.308.498, cadastro técnico número 2029, e de propriedade do Sr. Antonio José Belo Soares. O criadouro mantinha plantel de aproximadamente 180 calitriquídeos.

Neste criatório, os animais eram mantidos em viveiros suspensos, medindo 90 x 90 x 100 cm e distantes aproximadamente 100 cm do chão, ornadas por pelo menos dois galhos em diferentes direções, uma escada de madeira e um ninho de madeira medindo 25 x 30 x 20 cm, que era revestido internamente com pano ou cobertor. Os viveiros apresentavam dois recipientes de alumínio um para água e outro para o alimento. Os saguis eram mantidos em casais ou ficavam sozinhos.

A limpeza das baterias e dos viveiros era realizada duas a três vezes por semana e consistia em varrer as fezes e os restos de alimento e lavagem semanal do chão com água sob pressão. Os galhos e escadas, bem como ninhos dos viveiros eram trocados a cada três a seis meses. Os panos colocados nos ninhos eram trocados semanalmente ou conforme a necessidade. As vasilhas para alimento eram lavadas diariamente com água e sabão em pedra, o recipiente para água era lavado a cada dois dias. A água, trocada diariamente, era proveniente da água encanada de rua e mantida em caixas de água.

Os animais recebiam antiparasitários de amplo espectro duas vezes ao ano. A origem dos saguis era variada, sendo que poucos eram nascidos no próprio criadouro e a maioria chegou procedente de Centros de triagem de São Paulo ou de outro estado.

A água e os alimentos eram oferecidos *ad libitum*. Os animais eram alimentados quatro vezes ao dia, sendo a primeira e última refeição composta por leite B bovino misturado a Calciotrat[®], Cremogema[®], Glicopan[®] e iogurte (Danone Paulista[®]) de morango.

As demais refeições eram compostas por legumes cozidos, frutas frescas picadas, carne bovina cozida ou ovo cozido, dependendo do dia da semana. As frutas utilizadas eram banana nanica, mamão Papaia, goiaba vermelha, caqui, uva, manga, maçã e outras oferecidas conforme a época. Os legumes que compunham a dieta

eram inhame, vagem, quiabo, batata doce, cenoura e beterraba. A carne bovina era servida duas vezes por semana, e o ovo cozido, uma vez por semana.

Semanalmente, sem frequência ou quantidade definida, os sagüis recebiam larvas vivas de besouro (*Tenebrio molitor*), as quais eram criadas no próprio criadouro.

Segundo avaliações de Sá e Carciofi (2010) a dieta utilizada pelo criadouro no ano de 2007 apresentava os seguintes níveis nutricionais médios, sobre a matéria seca: 12,89% proteína bruta; 3,99 Kcal/ g de energia metabolizável; 4,62% extrato etéreo; 76,34% extrativos não nitrogenados e 2,85% fibra bruta; cálcio 2,28 g/kg; fósforo 2,93 g/kg; magnésio 0,68 g/kg; zinco 16,14 g/kg; ferro 14,3 g/kg; cobre 3,22 g/kg (informação verbal¹).

4.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os dados clínicos foram tabulados e comparados a partir de fichas clínicas fornecidas pelos criadores. Os parâmetros clínicos, maiores e menores, avaliados foram: peso corporal (gramas), hidratação baseada no turgor cutâneo, escore condição corpóreo, observação da mucosa oral, aspecto das fezes, ingestão de alimentos, capacidade de agarrar com as mãos e pés, avaliação da marcha e alterações cutâneas.

O escore de condição corpóreo (EC) foi baseado na descrição da massa corporal presente nas fichas individuais segundo a distribuição da massa muscular e dos depósitos de tecido adiposo, e assim foram definidos como abaixo:

Escore 0 – Normal (ideal): a distribuição da massa muscular e dos depósitos adiposos impossibilita a palpação dos ossos pélvicos, das costelas e não se observa a cavidade ao redor da cauda, mas os processos dorsais podem ou não serem palpáveis,

Escore 1 – Gordo: animal gordo com depósitos de gordura em pescoço e na região da glândula mamária.

Escore 2 – Magro: os ossos pélvicos estão recobertos por discreta musculatura, mas se observa cavidade ao redor da inserção da cauda; a musculatura toracolombar está reduzida de forma a permitir a palpação dos processos vertebrais transversos e dorsais e a individualização das costelas, as quais podem se apresentar proeminentes.

¹ Informação fornecida por Sá e Carciofi em São Paulo, março de 2010.

Escore 3 - Caquético: os ossos pélvicos estão muito proeminentes com profunda cavidade na inserção da cauda; os processos vertebrais dorsais e transversos estão proeminentes, a musculatura lombar está marcadamente reduzida e as costelas individualizadas e proeminentes.

Para cada parâmetro clínico foi atribuído um escore segundo as alterações descritas nas fichas. Os parâmetros utilizados estão no quadro 1.

Parâmetros	Alterações	Escore
Peso	Estável (variações menores do que 10g)	0
	Instável (variações maiores do que 11g)	1
Grau de desidratação	Não detectável	0
	Leve (5%)	1
	Moderado (6-8%)	2
	Grave (>10%)	3
Condição Corpórea	Normal aceitável	0
	Gordo	1
	Magro	2
	Caquético	3
Mucosa oral	Normocorada	0
	Normo a hipocorada	1
	Hipocorada	2
	Perlácea	3
Aspecto das fezes	Firme, formadas, acastanhadas, pequenas	0
	Pastosa, formada, coloração variável, aumentada de tamanho	1
	Diarréia pastosa	2
	Diarréia líquida	3
Ingestão de alimento	Normorexia	0
	Polifagia	1
	Hiporexia	2
	Anorexia	3
Propriocepção	Ausente	1
	Presente	0
Alteração da marcha	Ausente	0
	Presente	1
Alterações cutâneas	Ausente	0
	Presente	1

Quadro 1 - Parâmetros clínicos considerados segundo as alterações e os escores estabelecidos para caracterização da evolução clínica da SEP.

A duração clínica da doença foi estabelecida a partir da data da manifestação do primeiro sinal clínico até a data do óbito. A evolução da SEP foi caracterizada segundo duração e as alterações clínicas e, para tanto, quatro períodos de observação foram determinados e estes comparados entre os criadouros.

Os períodos observacionais se basearam na sequência de aparecimento dos sinais e sintomas descritos para cada animal, e foram definidos como: P1 – fase inicial da doença clínica - corresponde ao período do primeiro sinal clínico em maior evidência, P2, ao segundo, P3, ao terceiro e P4 – fase terminal da doença - foi considerado não um sinal clínico único, mas o conjunto de sinais que foram relatados próximo ao óbito. Para comparação da evolução da SEP entre os criadouros os escores de cada parâmetro clínico (quadro 1) foram somados por período. Essa soma foi denominada escore clínico por período (ECP) e os valores variaram de 0 a 19.

A somatória dos ECPs individuais em cada período (P1 a P4) consistiu no escore clínico total (ECT), o qual foi utilizado para correlacionar sinais e sintomas clínicos e duração clínica da doença para cada sagüi. Deste modo, o ECT variou de 0 a 76

No Criadouro Mucky os animais doentes foram medicados diariamente com complexos vitamínicos e minerais por via oral. Já, no Criadouro AJB Soares o tratamento foi baseado em aplicações semanais de vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis injetáveis subcutâneas, sulfato ferroso injetável via subcutânea ou intramuscular, e pelo menos três vezes na semana com vitaminas e complexos minerais por via oral misturados no leite.

Em ambos os criadouros os sagüis que apresentaram diarreia eram separados em gaiolas menores e medicados com antibióticos de amplo espectro, tais como: eritromicina, suspensão oral na dose 50mg/Kg a cada 12 horas durante 7 a 10 dias; metronidazol suspensão oral (Flagyl® 4% pediátrico, laboratório Roche) na dose 20 a 25 mg/Kg a cada 12 horas durante 7 a 10 dias ou enrofloxacin 2,5 %, na dose 5mg/Kg diluído em 1,0 ml de solução fisiológica a cada 24 horas, via subcutânea durante 5 a 7 dias.

Em caso de desidratação, os saguis eram medicados com fluidoterapia via subcutânea com solução de Ringer lactato/ 3 a 5 ml/ a cada 8, 12 ou 24 horas, durante o período necessário.

4.5 EXAMES LABORATORIAIS

Os resultados laboratoriais do criadouro Mucky foram obtidos nos arquivos do Laboratório de Gastroenteropatias da Faculdade Medicina Veterinária Zootecnia da Universidade de São Paulo. As lâminas de esfregaços sanguíneos arquivadas, previamente coradas pela coloração de Rosenfeld, foram reavaliadas quanto a distribuição das hemácias, leucócitos, plaquetas e morfologia celular.

No criadouro AJB Soares os exames foram colhidos e processados no Laboratório de Gastroenteropatias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, seguindo o protocolo proposto (Anexo 2).

As colheitas de urina foram realizadas utilizando-se bandejas devidamente limpas colocadas embaixo das gaiolas de colheita de material. As amostras foram recolhidas com auxílio de seringa de 5 ml acopladas a agulhas 25x7cm e acondicionadas em recipientes plásticos, armazenadas em geladeira até o processamento.

Os exames de urina I foram avaliados quanto à densidade urinária, proteína urinária e presença de sangue oculto/ hemoglobina. A hemoglobinúria foi considerada positiva quando observada presença de sangue oculto em fita reagente para urinálise (Combur test® Roche ou Uriquest® Labtest), com ausência ou presença de até uma hemácia por campo 40x no sedimento.

As amostras de sangue foram colhidas por meio da punção venosa da veia femoral, após contenção manual do animal. Algumas amostras de sangue relacionadas ao dia de óbito do animal foram colhidas logo em seguida da morte do animal por punção cardíaca.

Logo após a colheita foi realizado o hematócrito, utilizando tubo capilar heparinizado e confeccionadas lâminas de esfregaço do sangue fresco, coradas após secagem com coloração rápida Diff Quick (NewProv®) segundo as recomendações do fabricante. Quando possível foram colhidas amostras de sangue de maiores volumes e foi realizado hemograma completo. Os esfregaços sanguíneos foram avaliados segundo os mesmos parâmetros mencionados anteriormente.

Os procedimentos laboratoriais para o processamento das amostras de sangue e soro estão apresentados no Anexo A.

Os resultados hematológicos foram analisados com base em valores de referências descritos na literatura. Na espécie *C. jacchus* baseou-se nos autores Eccleston (1977), Yarbrough et al. (1984) e do International Species Information System, 2002. Nas espécies de *C. penicillata* e *C. geoffroy* foi utilizadas as referências

do International Species Information System, 2002. A classificação das anemias se baseou em Thrall (2007).

4.6 EXAME ANATOMOPATOLÓGICO DOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS

O estudo anatomopatológico dos órgãos linfo-hematopoiéticos e fígado foi dividido em duas etapas, ou seja, uma etapa de avaliação necroscópica e outra etapa de avaliação histopatológica.

4.6.1 Necroscopia

No estudo prospectivo, os primatas encaminhados do criadouro A.J.B. Soares, foram conservados em refrigeração por período máximo de 24 horas. Foram necropsiados no Laboratório de Gastroenterologia Veterinária conforme técnica padrão de exame macroscópico completo de pequenos mamíferos não ruminantes.

Para o estudo retrospectivo, utilizaram-se os dados de necroscopia descritos em estudo anterior (Sá, 2004).

4.6.2 Histopatologia

No estudo prospectivo, fragmentos de todos os órgãos foram colhidos durante a necropsia, foram fixados em formol a 10% e processados no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas (HC), com inclusão em parafina e, posteriormente, seccionados em cortes aproximados 5 µm de espessura e, finalmente, corados por hematoxilina e eosina (HE).

A medula óssea também foi fixada em formol 10%, posteriormente, realizando corte transversal do fêmur que foi descalcificado em ácido nítrico 7% por no mínimo 24 horas e depois incluídos em parafina para corte e confecção das lâminas.

No estudo retrospectivo, foram utilizados os materiais já incluídos em blocos de parafina, os quais foram processados e as lâminas confeccionadas para avaliação microscópica.

O exame das lâminas foi realizado com microscopia de luz, nos aumentos de 40x, 100x, 400x e 1000x. As alterações circulatórias, degenerativas e inflamatórias foram graduadas em discretas, moderadas e severas quando presentes em cada órgão.

Os fragmentos de intestino delgado foram analisados semiquantitativamente quanto a morfologia da mucosa (vilosidade, relação vilo : cripta, cripta), a intensidade do infiltrado inflamatório na lâmina própria, ao número de linfócitos intraepiteliais e a presença de ulceração. A intensidade das alterações observadas no jejuno foi avaliada semiquantitativamente na escala de 0 a 3, onde: 0 = parâmetro tido como dentro da normalidade, 1 = alterações mínimas, 2 = alterações em grau moderado e 3 = grau severo de alteração.

4.6.3 Colorações histoquímicas

As colorações especiais foram utilizadas para visualização de células específicas, principalmente na medula óssea, e para caracterização de lesões estruturais e pigmentos observados nos diferentes órgãos linfo-hematopoiéticos e o fígado.

4.6.3.1 Giemsa

Método usado para a demonstração de elementos linfo-reticulares, de microorganismos e para a identificação de detalhes citoplasmáticos, em especial na diferenciação de grânulos (ROSAI, 1996; ALVES, 2009).

4.6.3.2 Azul de Perls

Técnica utilizada para evidenciação da hemossiderina, em que o ácido hidrolórico separa-se do corpo protéico alcançando o ferro, permitindo a combinação específica do ferrocianeto de potássio com o ferro férrico para a formação do ferrocianeto férrico, assumindo coloração azul intensa (ROSAI, 1996).

A avaliação da hemossiderina nos órgãos estudados foi semiquantitativa (ausência a +++), realizado por dois observadores cegos e baseado da intensidade de pigmento corado pelo Azul de Perls. Assim, os escores definidos foram 0 = ausência, 1 = discreto depósito (+), 2 = moderado depósito (++) e 3 = severo depósito (+++). O baço foi avaliado pela distribuição em todo órgão, sendo denominado escore de hemossiderose esplênica total (HET). No fígado, além da avaliação semiquantitativa, foi considerada também a distribuição no lóbulo hepático (zona 1 ou periportal, zona 2 ou mediozonal e zona 3 centrolobular) e tipo celular envolvido (hepatócitos, células de Kupffer e macrófagos portais). Os escores de hemossiderose para os hepatócitos foram somados para cada zona hepática resultando em um escore de hemossiderose total para o hepatócito (HTH).

Na medula óssea a avaliação dos estoques de ferro foi feita sob objetiva de imersão, considerando normal a presença de hemossiderina um em cada 10 campos, assim como considerado por Alcântara (1981). A quantificação foi realizada por escores: 0 (ausente), 1 (diminuído), 2 (normal), 3 (pouco aumentada) e 4 (muito aumentado). O tamanho das partículas foi avaliado considerando que os grânulos de hemossiderina grandes eram medidas superiores a 5 μm e as partículas pequenas tamanho de 0,5 a 2 μm (ALCÂNTARA, 1981).

4.6.3.3 Colorações para avaliação estrutural

A coloração Tricrômico de Masson foi empregada para a identificação de tecidos conjuntivos. O termo coloração tricrômica é utilizado para uma variedade de técnicas que demonstram seletivamente, músculos, fibras de colágeno, fibrina e eritrócitos. Deste modo são utilizados três corantes, um dos quais adequado para a coloração nuclear (BRADBURY & GORDON, 1982).

A reação do P.A.S. (Ácido Periódico de Schiff) destinou-se à detecção dos grupamentos 1-2 glicol de polissacarídeos neutros, presentes principalmente em membranas basais (ROSAI, 1996). No fígado, a coloração de PAS cora em rosa material eosinofílico sugestivo de acúmulo de alfa-1-antitripsina (A1AT) e glicogênio intracelular nos hepatócitos. Para diferenciar é utilizada a diastase para digerir o glicogênio e manter o A1AT (TOMMASO; JORGE, 2010). Na medula óssea, a coloração de P.A.S. é rosa positiva nos megacariócitos e citoplasma dos mastócitos (ALVES, 2009).

A coloração de reticulina auxilia na avaliação da estrutura dos órgãos linfopoiéticos e do fígado. As fibras reticulares são finas, delicadas e abundantes

nas trabéculas dos órgãos hematopoiéticos como o baço, linfonodo e medula óssea. As finas fibras reticulares constituem uma delicada rede ao redor de células de órgãos parenquimatosos como a adrenal. O pequeno diâmetro e a disposição frouxa das fibras reticulares criam uma rede flexível em órgãos que são sujeitos a mudanças fisiológicas de forma ou volume como as artérias, baço e fígado (CARNEIRO; JUNQUEIRA, 2008). As fibras reticulares são formadas predominantemente por colágeno do tipo III e são coradas em cor preta por sais de prata e são PAS positivas, pois as fibras reticulares estão associadas também a elevado teor de glicoproteínas e proteoglicanos.

Na coloração de Picrossírius, as fibras reticulares se coram em verde quando observados sob luz polarizada (CARNEIRO; JUNQUEIRA, 2008).

Na medula óssea, a quantidade de reticulina e fibras colágenas (avaliada na coloração de Tricrômico de Masson e/ou Picrossírius) serão graduadas conforme quadro 2, cuja avaliação foi adaptada por Alves de Bauermeister (ALVES, 2009).

Avaliação fibras	Escore
Ausência de reticulina ou fibras finas e esparsas ou rede focal	0
Rede de fibras finas na maior parte do fragmento, ausência de fibras grossas	1
Rede difusa de fibras finas com fibras grossas esparsas e ausência de colagenização	2
Rede difusa de fibras grossas com colagenização	3

Quadro 2 – Avaliação e graduação para fibras reticulares e colágenas segundo Bauermeister adaptada por Alves (2009)

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os eventos quantitativos foram analisados usando o Teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis para comparação entre dois grupos ou mais não paramétricos, dada a heterogeneidade de variâncias das amostras. O teste Wilcoxon foi aplicado para as amostras pareadas. As análises descritivas, estatísticas e de correlação de Spearman foram conduzidas usando o programa de estatística Minitab 15[®] e os gráficos foram construídos com o programa Prisma 5.0[®] para Windows (GraphPad Prism 5[®]). Todos os testes foram feitos utilizando análise bicaudal e os resultados foram considerados significantes para $p < 0,05$ e apresentados como médias e desvio padrão (DP).

5 RESULTADOS.

Os resultados foram apresentados como dados descritivos, estatísticos e na forma de tabelas e gráficos.

5.1 CASUÍSTICA

No Grupo I, foram estudados cinco saguis-de-tufo-branco (5/24, 20,8%), duas fêmeas e três machos; oito saguis-de-tufo-preto (8/24, 33,33%), cinco fêmeas e três machos; dois saguis-de-cara-branca (2/24, 8,33%), machos; nove saguis híbridos (9/24, 37,5%), cinco fêmeas e quatro machos. A distribuição dos animais do grupo I está apresentada no gráfico 1 segundo porcentagens de saguis por sexo e espécie.

Gráfico 1 – Distribuição dos saguis do Criadouro Mucky (grupo I) segundo espécies e sexo. STB = sagüi-de-tufo-branco, STP = sagüi-de-tufo-preto, SCB = sagüi-de-cara-branca, SH = sagüi híbrido.

No Grupo II, foram estudados nove animais STB (9/23, 39,13%), seis fêmeas e três machos; 13 STP (13/23, 56,52%), oito fêmeas e cinco machos; e um SH (1/23, 4,34%), fêmea. A distribuição dos animais do grupo II está apresentada no gráfico 2 segundo porcentagens de saguis por sexo e espécie.

Gráfico 2 – Distribuição dos saguis do Criadouro AJB Soares (grupo II) segundo espécie e sexo. STB = sagüi-de-tufo-branco, STP = sagüi-de-tufo-preto, SH = sagüi híbrido.

A análise estatística indicou diferença significativa ($p = 0,0036$) quanto à distribuição das espécies entre os dois grupos. O grupo I apresenta maior número de espécies e de espécimes para a espécie SCB e híbrido. A espécie STP foi uma das mais freqüentes nos dois grupos. A distribuição das espécies em cada grupo foi apresentada no gráfico 3.

Gráfico 3 – Histograma de distribuição das espécies e número de animais nos grupos 1 e 2. Para 1 = Criadouro Mucky e 2 = Criadouro AJB Soares.

Com relação ao sexo, foram analisadas 27 fêmeas (57%) e 20 machos (43%) no conjunto. A análise estatística indicou não haver diferenças significativas quanto a distribuição dos animais segundo ao sexo nos grupos analisados ($p = 0,159$). O gráfico 4 exibe a distribuição dos animais segundo sexo e os grupos.

Gráfico 4 – Histograma de distribuição dos animais segundo sexo nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky, 2 = Criadouro AJB Soares. A linha corresponde a curva de normalidade.

Não houve diferença significativa ($p = 0,765$) nos dois grupos com relação a idade, sendo que o grupo I apresentou idade média igual a $59,84 \pm 12,26$ meses e o grupo II, $61,44 \pm 18,76$ meses. O gráfico 5 apresenta a distribuição dos animais segundo a idade nos grupos I e II.

Gráfico 5 – Histograma de distribuição dos animais segundo a idade (meses) nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky (grupo I), 2 = criadouro AJB Soares (grupo II).

O grupo I apresentou 16 saguis nascidos em cativeiro (66,66%), 8 de procedência indeterminada (33,33%). Já no grupo II, cinco foram nascidos em cativeiro (21,73%), e 18 (78,26%) procedentes de instituições governamentais ou organizações não governamentais (ONGs). A análise estatística revelou que não houve diferença significativa ($p = 0,2346$) entre os grupos analisados quanto ao local de procedência. O gráfico 6 apresenta a distribuição dos animais segundo a procedência nos grupos analisados.

Gráfico 6 - Distribuição dos animais segundo a procedência em cada grupo. Grupo I = criadouro Mucky (azul), grupo II = criadouro AJB Soares (roxo).

Quanto ao tempo de cativeiro, não houve diferenças significativas ($p = 0,501$) entre os grupos estudados. O tempo médio de cativeiro no grupo I foi $40,1 \pm 20,66$ meses e no grupo II, $44,63 \pm 18,16$ meses. O gráfico 7 mostra a distribuição dos animais segundo o tempo de cativeiro em cada criadouro.

A análise do perfil epidemiológico dos saguis doentes nos dois grupos mostrou que diferentes espécies de saguis podem ser acometidas pela SEP e que não houve diferença estatística entre os grupos quanto ao sexo, idade, tempo de cativeiro e procedência dos animais.

Gráfico 7 – Histograma de distribuição dos animais segundo o tempo de cativeiro (meses) nos dois grupos estudados. Para 1 = criadouro Mucky, 2 = criadouro AJB Soares.

5.2 CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA

Do total dos animais estudados, 71% (17/24) saguis do grupo I e 49% (11/23) saguis do grupo II apresentaram ficha clínica completa, as quais foram usadas para caracterização da duração e evolução clínica.

A duração clínica da doença foi $8,21 \pm 5,0$ meses no grupo I e $10,93 \pm 6,2$ meses no grupo II. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos quanto à duração clínica da doença ($p = 0,2395$). A tabela 2 apresenta a duração clínica média e a variação mínima e máxima nos grupos I e II.

Tabela 2 – Duração clínica da doença quanto à média, aos valores máximo e mínimo no grupo I e II estudados.

	Duração clínica		
	Média $\pm$ DP (meses)	Máximo (meses)	Mínimo (dias)
Grupo I	$8,21 \pm 5,0$	16,86	41
Grupo II	$10,93 \pm 6,20$	20,30	66

A análise estatística entre as espécies e à duração clínica da SEP, não indicou haver diferenças significativas ($p = 0,624$). A tabela 3 e o gráfico 8 exibe a distribuição dos animais segundo espécies e duração clínica da doença.

Tabela 3 – Distribuição dos animais segundo a duração clínica da doença (meses) e as espécies estudadas.

	Duração clínica		
	Média $\pm$ DP (meses)	Máximo (meses)	Mínimo (meses)
STB	11,06 $\pm$ 5,7	3,63	16,87
STP	10,13 $\pm$ 6,27	2,20	20,30
SH	7,32 $\pm$ 3,94	1,37	13,67
SCB	9,12 $\pm$ 9,55	1,37	14,87

Gráfico 8 – Distribuição dos animais segundo a duração clínica da doença (meses) e as espécies dos saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.

A análise estatística entre sexo e a duração clínica da doença não apresentou significância, $p = 0,836$. O gráfico 9 apresenta a distribuição do sexo em relação a duração clínica da doença.

Gráfico 9 – Distribuição dos animais segundo o sexo e a duração clínica da doença (meses). A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo, o asterisco valores extremo. As marcas nas caixas representam as médias.

A análise de correlação entre duração clínica e idade (valor do coeficiente de Spearman = -0,0173) mostrou que não houve correlação estatística entre essas variáveis analisadas. No grupo I e II, também não houve correlação entre a duração clínica e a idade, coeficiente de Spearman = 0,1663 e -0,3941, respectivamente.

A análise de correlação entre duração clínica e tempo de cativeiro (valor do coeficiente de Spearman = 0,0156) mostrou que não houve correlação estatística entre essas variáveis analisadas. No grupo I e II, também não houve correlação entre a duração clínica e o tempo de cativeiro, coeficiente de Spearman = 0,0576, $p = 0,8261$ e coeficiente de Spearman = - 0,3529 e $p = 0,2871$, respectivamente.

5.3 ANÁLISE DA DOENÇA CLÍNICA: SINAIS E SINTOMAS, EVOLUÇÃO E ESCORE CLÍNICO

O quadro 3 apresenta os principais sinais e sintomas relatados nas fichas dos animais analisados.

O sinal clínico utilizado como definidor para os períodos P1 a P3 foi apresentado segundo cada grupo e frequência.

Alterações Clínicas
Alteração das fezes
Perda de peso
Alteração de comportamento
Mucosas hipocoradas
Distensão abdominal
Coprofagia
Alteração reprodutiva
Polifagia
Anorexia
Êmese
Alteração da marcha
Alteração nos cuidados dos filhotes
Alterações cutâneas e do pelame
Petéquias e sufusões
Tremores
Desidratação
Alteração da propriocepção dos membros
Baço palpável

Quadro 3 - Listagem das alterações clínicas relatadas nas fichas dos saguis estudados.

No grupo I, o P1 se caracterizou por fezes pastosas ou diarréicas correspondendo a 41,18% (7/17), emagrecimento, 17,65% (3/17), alteração de comportamento, 11,76% (2/17), mucosa hipocorada, 11,76% (2/17) e em menor frequência coprofagia, anorexia e alterações cutâneas e do pelame os quais foram 5,88% (1/17) cada. O P2 exibiu em maior número fezes pastosas ou diarréicas, 35,29% (6/17), mucosa hipocorada, 35,29% (6/17) e emagrecimento 29,41% (5/17). No P3, as fezes pastosas ou diarréicas ocorreram em 29,41% (5/17), mucosa hipocorada, 17,65% (3/17), petéquias e sufusões, 17,65% (3/17), alterações locomotoras, 11,76% (2/17), e anorexia, alterações nos cuidados aos recém-nascidos, tremores e diminuição da capacidade de agarrar com os pés estavam em evidência em 5,88% (1/17) cada. O P4, fase terminal da evolução da doença, foi caracterizada por mucosa hipocorada 100% (17/17); fezes pastosas ou diarréia correspondendo a 64,7% (11/17), alterações locomotoras 23,53% (4/17); e anorexia, alterações nos

cuidados aos recém-nascidos, tremores e diminuição da capacidade de agarrar com os pés, correspondendo a 5,88% (1/17) cada.

O gráfico 10 apresenta a sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional para o grupo I.

Gráfico 10 – Sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional no grupo I.

No grupo II, os sinais clínicos que definiram os períodos de evolução da doença foram: no P1 o emagrecimento correspondeu a 63,64% (7/11), fezes pastosas ou diarreicas, 18,18% (2/11), polifagia e hipotermia 9,09% (1/11) cada. No P2 as fezes pastosas ou diarreicas e emagrecimento correspondendo a 36,36% (4/11) cada, mucosa hipocorada 27,27% (3/11). Para o P3 a mucosa hipocorada ocorreu em 72,73% (8/11), e fezes pastosas ou diarreia 27,27% (3/11). O P4 foi caracterizado por mucosas hipocoradas, 72,73% (8/11), caquexia, 72,73% (8/11), fezes pastosas ou diarreicas, 45,45% (5/11), petéquias e sufusões, 27,27% (3/11), desidratação, 27,27% (3/11), êmese, 27,27% (3/11), anorexia 18,18% (2/11).

O gráfico 11 demonstra a sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional para o grupo II.

Gráfico 11 – Sequência de aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes por período observacional no grupo II.

Quanto a distribuição dos ECP foi verificado que o ECP1 variou de 1 a 8 no grupo I e, 1 a 7 no grupo II. O ECP2 no grupo I apresentou valores entre 1 a 9 e no grupo II entre 1 e 11. No grupo I, o ECP3 ficou entre 1 a 15 e no grupo II, 2 a 14. Por fim, o ECP4 foi entre 6 a 14 no grupo I e, 4 a 11 no grupo II.

As análises estatísticas não demonstraram diferença significativa entre os grupos no P1 ($p = 0,1504$), P2 ($p = 0,6165$) e P3 ($p = 0,2463$), mas mostrou diferença significativa quanto ao P4 ($p = 0,0055$). O gráfico 12 demonstra a distribuição dos escores clínicos por períodos (ECP) e grupo.

Os ECPs nos períodos estabelecidos (P1, P2, P3 e P4) foram comparados em cada grupo utilizando o teste estatístico Wilcoxon para amostras pareadas. No grupo I, a análise não evidenciou diferença estatística significativa entre os ECP 1 e 2 ($p=0,9676$). Porém, entre o ECP 2 e 3 ECP 3 e 4 houve diferença estatística significativa, cujos valores de p foram 0,0420 e 0,0006, respectivamente. No grupo II, foi observada diferença estatística significativa entre os ECP 2 e 3 ($p=0,0449$); porém não houve diferença entre ECP 1 e 2, ECP 3 e 4, para $p = 0,3717$ e $p = 0,9185$, respectivamente.

Gráfico 12 – Resultado da análise da distribuição dos escores clínicos por períodos (ECP) entre os grupos. Os círculos sólidos (grupo I) e os vazios (grupo II) correspondem aos valores individuais. A linha é a mediana.

O ECT variou no grupo I de 13 a 43 e no grupo II de 13 a 31. As análises estatísticas não demonstraram diferença significativa entre os grupos ($p=0,5714$). O gráfico 13 representa esses resultados.

Gráfico 13 – Resultado da análise estatística da distribuição dos escores clínicos totais (ECT) entre os grupos. Os círculos sólidos (grupo I) e os vazios (grupo II) correspondem aos valores individuais. A linha é a mediana.

A duração dos os períodos (tempo 1 - T1, tempo 2 - T2, e tempo 3 - T3) foi analisada e o resultado não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos, $p = 0,1582$, $p = 0,2791$ e $p = 0,8878$, respectivamente para T1, T2, e T3. A tabela 4 mostra a duração dos períodos em dias.

Tabela 4 – Duração (dias) dos períodos de aparecimento dos sinais e sintomas observados nos saguis do grupo I e II.

	Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
Média	60,5	102,4	42,1	68,1	143,8	92,7
Mínimo	1	15	1	5	5	15
Máximo	233	365	203	304	441	320
CV ¹	111,26	105,81	135,3	131,8	100,6	94,33

¹CV = coeficiente de variação

As durações dos períodos T1, T2 e T3 foram comparadas entre si para cada grupo usando o teste Wilcoxon. No grupo I, não houve diferença estatística significativa entre o T1 e T2 ($p = 0,2977$), mas houve diferença entre T2 e T3 ($p = 0,0033$). No grupo II, não foi observada diferença estatística significativa entre T1 e T2, T2 e T3, respectivamente $p = 0,6377$ e $p = 0,2061$. O gráfico 14 apresenta a distribuição dos períodos de tempo para cada grupo.

Gráfico 14 - Distribuição dos períodos de tempo para cada grupo segundo duração em dias.

A correlação entre o ECT e a duração clínica foi inversa, na qual o coeficiente de correlação de Spearman foi igual a -0,06655. Esta correlação não mostrou significância estatística, $p = 0,7365$. O gráfico 15 representa o resultado da análise de correlação entre ECT e duração clínica.

Gráfico 15 – Resultado da análise de correlação entre escore clínico total (ECT) e a duração clínica da doença em dias. Os círculos representam os valores individuais. Teste de correlação de Spearman, coeficiente de correlação = - 0,289 e $p = 0,1307$.

Das alterações clínicas avaliadas a perda de peso durante a doença clínica e o escore de condição corpórea foram analisados em separado.

A tabela 5 demonstra a média do peso usual e o peso final dos saguis em cada grupo, bem como a porcentagem de perda de peso entre o início do acompanhamento clínico e o óbito.

Tabela 5 – Distribuição da média, valores mínimo e máximo do peso usual (gramas), peso final (gramas) e perda de peso (%) dos saguis segundo os grupos I e II.

	Peso usual (g)		Peso final (g)		Perda de peso (%)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
Média $\pm$ DP ¹	339,2 $\pm$ 53,1	331,8 $\pm$ 91,2	258,1 $\pm$ 48,0	231,6 $\pm$ 66,8	23,6 $\pm$ 9,5	29,3 $\pm$ 12,1
Máximo	439	540	387	390	43,42	49,86
Mínimo	240	235	191	165	6,97	8,94

¹DP = desvio padrão

A análise estatística entre a perda de peso e as espécies não demonstrou diferença significativa ($p = 0,403$). O gráfico 16 apresenta a análise desses resultados.

Gráfico 16 – Resultado da avaliação da perda de peso (%) e as espécies de saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.

A análise entre o sexo e a perda de peso (%) não apresentou diferença estatística, $p = 1,0$. O gráfico 17 representa a distribuição entre essas variáveis.

Gráfico 17 – Resultado da avaliação da perda de peso (%) entre os sexos dos saguis. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.

A análise estatística da perda de peso (%) nos P1, P2, P3 e P4 não mostrou diferença estatística significativa entre os grupos, cujos valores de p foram $p = 0,4638$, $p = 0,5003$, $p = 0,0816$ e $p = 0,6048$, respectivamente para P1, P2, P3 e P4. O gráfico

18 apresenta a distribuição dos pesos médios em gramas para cada grupo nos diferentes períodos observacionais.

A análise dos pesos entre os períodos em cada grupo usando o teste estatístico de Wilcoxon para amostras pareadas foi baseada no peso usual de cada animal. O resultado dessa análise para o grupo I mostrou diferença significativa entre o peso usual e peso 1, peso 1 e 2, peso 3 e 4, sendo $p = 0,0200$; $p = 0,0262$ e $p = 0,0045$ respectivamente. Porém, não houve diferença entre os peso 2 e 3 ($p=0,2803$). Já no grupo II, houve diferença estatística entre peso 2 e 3 e peso 3 e 4, para os quais os valores de p foram respectivamente $p = 0,0283$ e $p = 0,0020$. Mas, não foi observada diferença estatística significativa entre o peso usual e peso 1 ($p = 0,4407$) e peso 1 e 2 ($p = 0,4436$).

Gráfico 18 – Distribuição dos pesos corpóreos (gramas) segundo o peso usual, peso no período P1 (peso 1), P2 (peso 2), P3 (peso 3) e P4 (peso 4) para cada grupo, sendo grupo I (azul) e grupo II (roxo).

A avaliação da correlação entre perda de peso (%) e duração clínica resultou em valor baixo e positivo, sendo o coeficiente de Spearman igual a 0,3350, porém esta correlação não mostrou significância, apresentando $p=0,0814$. Portanto, não houve correlação entre porcentagem de perda de peso e a duração clínica da SEP.

Os escores de condição corpórea (EC) foram comparados no P1, P2, P3 e P4 não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos, cujos valores de p foram respectivamente 1,0, 0,9, 0,221 e 0,9282. Mas, a análise estatística entre os períodos em para cada grupo utilizando o teste Wilcoxon mostrou diferença significativa entre o escore inicial e EC1, EC1 e 2, EC2 e 3; EC3 e 4 ($p=0,0045$; $p=0,0280$; $p=0,0263$ e $p=0,0013$, respectivamente). Ao contrário do grupo I, no grupo

II, não ficou evidente a diferença estatística entre o escore inicial e EC1, EC1 e 2, EC2 e 3; EC3 e 4 ($p=0,0873$; $p=0,1156$; $p=0,0875$ e $p=0,0723$).

5.3.1 Análise dos tratamentos empregados

O tratamento nos dois grupos difere principalmente na via de administração do medicamento, sendo que no grupo I, as medicações foram administradas por via oral, enquanto no grupo II, a maioria das medicações foi administrada por via parenteral.

A análise estatística dos tratamentos empregados nos dois grupos demonstrou que não houve diferença estatísticas no número de aplicações de vitamina C, vitamina E, ácido fólico e sulfato ferroso oral, cujos valores de p foram respectivamente $p = 0,3804$, $p = 0,5239$, $p = 0,4418$ e $p = 0,1290$. O tratamento com antibiótico, vitamina B12 e ferro injetável (hidróxido férrico, aplicação intramuscular) mostrou diferenças estatísticas entre os grupos com $p < 0,001$. O tratamento com antibiótico e vitamina B12 apresentou maior número de aplicações no grupo I e o tratamento com ferro injetável, foi maior no grupo II. O gráfico 19 apresenta a distribuição do número de aplicações de ferro entre os grupos.

Gráfico 19 – Distribuição do número de aplicações de ferro injetável nos grupos estudados. Os círculos correspondem aos valores individuais. Círculos sólidos representam o grupo I e os vazios o grupo II.

Não houve correlação estatisticamente significativa entre os tratamentos utilizados e a duração clínica da doença, embora os coeficientes de Spearman tenham sido positivos mostrando relação direta entre as variáveis, esses foram muito baixos

para a aplicação de antibióticos, vitamina B12, vitamina C, vitamina E, ácido fólico e ferro injetável. Os valores dos coeficientes de Spearman foram 0,016; 0,297; 0,213; 0,171; 0,205; 0,119 e 0,125 e os respectivos valores de p foram 0,9350; 0,1239; 0,2764; 0,3830; 0,2939; 0,5437 e 0,5252.

5.4. AVALIAÇÕES LABORATORIAIS

Os exames laboratoriais realizados consistiram em 17 eritrogramas, destes 12 referentes ao grupo I (70,6%) e cinco ao grupo II (29,4%), 24 exames de urina I, dos quais 14 amostras do grupo I (58,3%) e 10, do grupo II (41,7%), e 14 esfregaços sangüíneos analisados no grupo I e seis no grupo II.

A análise dos resultados dos eritrogramas mostrou que a série vermelha apresentou número de hemácias, hematócrito e hemoglobina abaixo da referência em 88,2% (15/17). A anemia macrocítica normocrômica e a anemia macrocítica hipocrômica representaram especificamente 46,7% (7/15), e a anemia normocítica normocrômica foi caracterizada em uma fêmea da espécie *C. penicillata* do grupo II (6,6%). A hemoglobinúria foi observada em 54,2% dos casos (13/24). As tabelas 6, 7 a 8 apresentam os resultados dos exames de urina I, eritrogramas e esfregaços avaliados.

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos da análise dos primeiros exames de urina I, eritrograma e esfregaços sangüíneos dos saguis doentes. Na primeira avaliação do hematócrito e do esfregaço sangüíneo analisados em associação três saguis apresentaram valores limítrofe e abaixo da referência. Na avaliação da série vermelha no esfregaço sangüíneo, 33,33% exibiam distribuição normal de hemácias (2/6) (figura 3), 83,33% apresentaram esferocitose (5/6); 100% policromasia (6/6); 33,33% presença de corpúsculos de Heinz (2/6), 33,33% eritroblastos com contagem acima da referência para a espécie (2/6). Quanto aos demais valores estimados, 50% apresentavam estimativa de leucócitos normais (3/6), 33,33% discreta leucopenia (2/6) e 16,66% intensa leucopenia (1/6). Desta forma, foi verificado que dos três animais com valores de hematócritos dentro da normalidade, dois apresentaram aumento do VCM (casos 7 e 15, grupo I), um exibiu hipocromia (caso 7, grupo I), um, intensa presença de corpúsculos de Heinz e discreta esferocitose (caso 4, grupo II).

Tabela 6 – Resultados do primeiro exame de urina I, eritrograma e avaliação do esfregaço sanguíneo dos animais doentes estudados.

GRUPO	ANIMAIS		URINA I			ERITROGRAMA						ESFREGAÇO SANGÜÍNEO						
	N.º	Espécie ¹	Dens. ²	PtU ³	Hmg ⁴	He ⁵	Hb ⁶	Ht ⁷	Pt ⁸	VCM ⁹	CHCM ¹⁰	Estim. Ht ¹¹	Heinz ¹²	Esf. ¹³	Pol. ¹⁴	Ret. ¹⁵	Eritr. ¹⁶	Estim. Leucócitos ¹⁷
I	5	STB	1008	ausente	++	5,35	12,02	41	5	76,6	29,32	Baixo	ausente	+	+	3,6	ausente	discreta leucopenia
I	7	SH	1006	ausente	ausente	4,78	12,7	46	5,6	96,23	27,6	Normal	ausente	ausente	++	5	ausente	Normal
I	15	STP	1006	ausente	ausente	4,33	16,57	47	6,8	108,54	35,25	Normal	ausente	+	++	10	100	discreta leucopenia
I	16	SH	1004	+	++	2,97	6,68	26	5,6	87,54	25,7	Baixo	+	++	++	NR	85	Normal
II	3	STP	1014	+	ausente	NR	NR	38	6,6	NR	NR	Baixo	ausente	++	++	NR	1	intensa leucopenia
II	4	STP	1006	ausente	ausente	NR	NR	46	5,2	NR	NR	Baixo	+++	+	++	NR	ausente	Normal

¹ STB: sagui-tufo-branco; STP: sagui-tufo-preto; SCB: sagui-cara-branca; ² densidade urinária; ³ proteína urinária; ⁴ hemoglobinúria; ⁵ hemácias (milhões/mm³); ⁶ hemoglobina (g/dl); ⁷ Hematócrito (%); ⁸ proteína plasmática; ⁹ volume corpuscular médio (μ³); ¹⁰ concentração de hemoglobina corpuscular média (%); ¹¹ estimativa de hematócrito em esfregaço sanguíneo; ¹² presença de corpúsculos de Heinz em esfregaço sanguíneo; ¹³ presença de esferócitos em esfregaço sanguíneo; ¹⁴ policromasia; ¹⁵ reticulócitos (%); ¹⁶ eritroblastos (/100 leucócitos); ¹⁷ estimativa de leucócitos em esfregaço sanguíneo. NR: não realizado

Durante a manifestação clínica da SEP, foram realizados quatro eritrogramas e quatro exames de urina I, cujas amostras representaram um sagui do grupo I (caso 17) e três do grupo II (casos 1, 3 e 11) e que foram analisadas em associação. As alterações observadas em tais exames foram: no grupo I, severa anemia hemolítica, caracterizada pela macrocitose, hipocromia e intensa presença de hemoglobiúria (caso 17). No grupo II, dois saguis apresentaram anemia normocítica normocrômica (casos 1 e 3) e um, severa anemia hemolítica macrocítica normocrômica com intensa regeneração e presença em grande quantidade e corpúsculos de Heinz (figura 1) e discreta esferocitose (caso 11); no grupo II, nenhum apresentou hemoglobiúria. Os resultados referentes a essas quatro avaliações de eritrograma e exame de urina I estão na tabela 7.

Tabela 7 - Resultados dos eritrogramas, avaliação da série vermelha em esfregaço sangüíneo e hemoglobiúria dos saguis doentes realizados durante manifestação clínica da SEP.

Grupo	Nº. Animal	Esp. ¹	He ²	Hb ³	Ht ⁴	VCM ⁵	CHCM ⁶	Ret. ⁷	Erit ⁸	Heinz ⁹	Esf ¹⁰	Poli ¹¹	Hmg ¹²
I	17	SCB	1,24	2,9	11	88,7	26,36	NR	NR	NR	NR	NR	+++
→II	1	STP	3,35	7	22	65,67	31,82	NR	NR	NR	NR	NR	0
II	3	STP	4,42	10,9	37	83,71	29,46	14	1	0	0	+	0
II	11	SH	1,6	8,95	19	118,75	47,1	20	130	+++	+	+++	0

¹ Esp. = espécie (sagui híbrido – SH; sagui-tufo-preto – STP; sagui-cara-branca – SCB; sagui-tufo-branco – STB); ² He = hemácias (milhões/mm³); ³ Hb = hemoglobina (g/dl); ⁴ Ht = hematócrito (%); ⁵ VCM = volume corpuscular médio (μ³); ⁶ CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média (%); ⁷ Ret. = reticulócitos (%); ⁸ Eritr = eritroblastos (/100 leucócitos); ⁹ Heinz = presença de corpúsculos de Heinz; ¹⁰ Esf. = esferócitos; ¹¹ Poli = policromasia; ¹² Hgm = hemoglobiúria; → Anemia normocítica normocrômica, arregenerativa; NR (não realizado).

No último esfregaço sangüíneo realizado próximo ao óbito, 92,3% dos animais apresentaram estimativa de hematócrito baixa (12/13) (figura 4); 15,4%, estimativa de leucócitos normais (2/13); 23,1% discreta leucopenia (3/13); 15,4% moderada leucopenia (2/13); e 46,1% intensa leucopenia (6/13). As alterações morfológicas da série vermelha em diferentes intensidades foram: 76,9% apresentaram esferocitose (10/13), 76,9% policromasia (10/13); 69,2% presença de corpúsculos de Heinz (9/13); e 61,5%, eritroblastos cujos valores estavam acima da referência para a espécie (8/13). A tabela 8 mostra os resultados desses exames.

A avaliação da morfologia celular nos esfregaços evidenciou presença de eritroblastos binucleados (figura 5) em três saguis fêmeas, sendo essas um sagui híbrido

(caso 11) e um sagüi-de-tufos-pretos (caso 12) pertencentes ao grupo I, e um sagüi-de-tufos-pretos do grupo II (caso 3). No grupo II, foi observado monócitos com grânulos acastanhados intracitoplasmáticos compatíveis com hemossiderina (figura 2) em um sagüi-de-tufos-pretos macho (caso 11).

A associação da análise do eritrograma e da morfologia da série vermelha no último exame mostrou que em dois casos não ocorreu anemia (casos 14, grupo I e caso 2, grupo II) em sete saguis a anemia foi hemolítica regenerativa com presença de corpúsculos de Heinz e esferócitos (casos 1, 5, 8, 10, 11, grupo I e casos 11 e 12 no grupo II), em dois, anemia hemolítica sem corpúsculos de Heinz (casos 14 e 18 grupo I), um caso era hemolítica e não regenerativa (caso 3, grupo II), um caso anemia associada a hemoglobínúria (caso 7, grupo I).

Tabela 8 – Resultados do último exame de urina I, hemograma e avaliação do esfregaço sangüíneo dos animais doentes segundo o grupo.

GRUPO	ANIMAIS		URINA I			HEMOGRAMA						ESFREGAÇO SANGÜÍNEO						
	Nº.	Espécie ¹	Dens. ²	PtU ³	Hmg ⁴	He ⁵	Hb ⁶	Ht ⁷	Pt ⁸	VCM ⁹	CHCM ¹⁰	Estim. Ht ¹¹	Heinz ¹²	Esf. ¹³	Pol. ¹⁴	Ret. ¹⁵	Eritr. ¹⁶	Estim. Leucócitos ¹⁷
I	1	SH	NR	NR	NR	2,73	7,35	28	5,6	102,56	26,25	Baixo	+	+	+++	20	4	discreta leucopenia
I	5	STB	1008	++	+++	NR	NR	14	4,4	NR	NR	muito baixo	+	+++	ausente	NR	0	intensa leucopenia
I	7	SH	1022	+	+++	NR	NR	32	4,2	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
I	8	SH	1004	ausente	+++	1,3	5	13	4,5	100	38,45	muito baixo	+	+	+	4	100	intensa leucopenia
I	9	SCB	1016	ausente	++	NR	NR	NR	4,5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
I	10	STP	1007	+++	++	1,4	5,1	19	7,5	136	26,84	muito baixo	+++	+	+	0,2	84	moderada leucopenia
I	11	SH	NR	NR	NR	2,11	5,81	21	4	99,52	27,66	muito baixo	+	+	+++	18	100*	intensa leucopenia
I	12	STP	1021	+	++	0,52	5,2	8	5,8	154	65	muito baixo	ausente	+	+++	NR	96*	Normal
I	13	SH	1005	+	+++	NR	NR	NR	4,6	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
I	14	STP	NR	NR	NR	5	14	54	8,2	108	26	Normal	ausente	+	ausente	1	100	intensa leucopenia
I	15	STP	1004	ausente	ausente	NR	NR	8	6	NR	NR	muito baixo	ausente	ausente	ausente	10	0	moderada leucopenia
I	18	SH	1010	+	+	2	7,2	19	7,2	95	37,89	muito baixo	ausente	+	++	NR	13	discreta leucopenia
II	2	STP	1008	ausente	ausente	NR	NR	45	6	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
II	3	STP	1016	ausente	ausente	NR	NR	30	6	NR	NR	Baixo	+++	ausente	+	NR	ausente	intensa leucopenia
II	4	STP	1008	++	+++	0,22	1,3	4	NR	181,82	32,5	muito baixo	+	ausente	+++	NR	100*	intensa leucopenia
II	8	STB	1006	ausente	+	NR	NR	25	5	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
II	10	SH	1020	+	ausente	1,6	8,95	19	6,1	118,75	47,1	muito baixo	+++	+	+++	20	130	Normal
II	12	STP	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	muito baixo	+++	+	+	NR	31	discreta leucopenia [§]

¹ STB: sagui-tufo-branco; STP: sagui-tufo-preto; SCB: sagui-cara-branca; ² densidade urinária; ³ proteína urinária; ⁴ hemoglobinúria; ⁵ hemácias (milhões/mm³); ⁶ hemoglobina (g/dl); ⁷ Hematócrito (%); ⁸ proteína plasmática; ⁹ volume corpuscular médio (μ³); ¹⁰ concentração de hemoglobina corpuscular média (%); ¹¹ estimativa de hematócrito em esfregaço sangüíneo; ¹² presença de corpúsculos de Heinz em esfregaço sangüíneo; ¹³ presença de esferócitos em esfregaço sangüíneo; ¹⁴ policromasia; ¹⁵ reticulócitos (%); ¹⁶ eritroblastos (/100 leucócitos); ¹⁷ estimativa de leucócitos em esfregaço sangüíneo. NR: não realizado; * = presença de eritroblastos bizarros; § = presença de monócitos com grânulos intracitoplasmáticos em esfregaço sangüíneo.

Durante a sintomatologia de SEP foram avaliados em associação 14 hematócritos, avaliação da presença de sangue oculto na urina e da ausência de hemácias no sedimento urinário. Esta associação estava presente em 28,6% dos exames (4/14) com valores de hematócritos dentro dos valores de referência (casos 1, 2, 3 e 4 grupo II) A tabela 9 apresenta os resultados alcançados na avaliação do hematócrito, sangue oculto na urina e presença ou não de hemácias no sedimento urinário.

Tabela 9 – Resultados dos hematócritos, presença de sangue oculto no exame de urina e avaliação da presença de hemácias no sedimento urinário avaliados nos animais durante a sintomatologia de SEP segundo o grupo.

Grupo	Animal	Hematócrito	Sangue oculto na urina	Hemácia no sedimento urinário¹
I	8	47	Ausente	Ausente
I	10	38	Ausente	Ausente
II	1	36	Ausente	Ausente
II	1	45	+	Ausente
II	1	33	Ausente	Ausente
II	1	22	Ausente	Ausente
II	2	34	Ausente	Ausente
II	2	36	++	Ausente
II	3	38	Ausente	Ausente
II	3	60	+	Ausente
II	4	44	+	Ausente
II	4	59	Ausente	Ausente
II	4	46	Ausente	Ausente
II	6	50	Ausente	Ausente

¹ hemácias/ cpo 40x

Nos exames laboratoriais realizados no dia do óbito do animal, 93,75% (15/16) dos hematócritos apresentaram valores inferiores aos valores de referência para a espécie, e a hemoglobinúria estava presente em 81,25% dos casos (13/16). Apenas um sagui apresentava valor de hematócrito normal e ausência de hemoglobinúria (6,3%, caso 2 grupo II). A tabela 10 exhibe os resultados destes exames laboratoriais realizados no dia do óbito do animal.

Tabela 10 – Resultados dos exames de hematócrito e presença de sangue oculto, presença de hemácias no sedimento urinário realizados com amostras colhidas no dia do óbito dos animais doentes.

Grupo	Animal	Hematócrito	Sangue oculto na urina	Hemácia no sedimento urinário ¹
I	1	5	+	NR
I	2	28	Ausente	NR
I	3	14	+++	NR
I	4	32	+++	NR
I	5	13	+++	NR
I	6	19	++	NR
I	7	8	++	NR
I	8	8	+	NR
I	9	26	++	NR
I	10	11	+++	NR
I	11	19	+	NR
II	2	45	Ausente	Ausente
II	3	30	Ausente	Raras
II	4	4	+++	Ausente
II	5	25	+	Ausente
II	6	19	+	1

¹hemácias/ cpo 40x

A análise estatística dos resultados laboratoriais mostrou que não houve significância estatística entre os grupos para os seguintes parâmetros: densidade urinária ($p=0,6023$); proteína urinária ($p=0,3439$); número de hemácias ($p=0,4273$); valor de hemoglobina ($p=0,6134$); valor de hematócrito ($p=0,6514$); proteína total ($p=0,3571$); VCM ($p=0,6134$); CHCM ($p=0,2199$); presença de esferócitos em esfregaço sangüíneo ($p=0,5592$); policromasia ($p=0,5781$) e eritroblastos ($p=0,8654$).

Já a análise de hemoglobínúria e presença de corpúsculos de Heinz em esfregaço sangüíneo, houve diferença significativa entre os grupos, cujos valores de p foram 0,0174 0,0214, respectivamente. A hemoglobínúria foi mais freqüente no grupo I 78,57% (11/14) do que no grupo II 20% (2/10), enquanto a presença de corpúsculos de Heinz ocorreu em maior freqüência no grupo II 75% (6/8) do que no grupo I 46,15% (6/13).

Figura 1. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-de-tufo-preto, macho com intensa presença de corpúsculos de Heinz (caso 11, grupo II). Coloração Panótico, 40x.

Figura 2. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo do mesmo sagui da foto anterior. Monócito com grânulos acastanhados intracitoplasmáticos (compatíveis com hemossiderina) em sangue periférico. Coloração Panótico, 40x.

Figura 3. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-tufo-preto, fêmea, com distribuição das hemácias dentro do padrão de normalidade e considerado não anêmico (caso 2, grupo II). Coloração Rosenfeld, 20x.

Figura 4. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui-tufo-preto, fêmea, doente com intensa anemia (hematócrito = 8%). Observar distribuição celular dispersa, hemácias com intensa policromasia, presença de eritroblastos (caso 12, grupo I). Coloração Rosenfeld, 20x.

Figura 5. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de um sagui híbrido, fêmea, anêmica (caso 11, grupo I). Presença de eritroblastos binucleados (seta). Coloração de Rosenfeld, 20x e 40x (foto menor).

5.5 AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA

Na avaliação anatomopatológica dos órgãos linfo-hematopoiéticos e outros foram descritos os principais achados macroscópicos e microscópicos dos animais com SEP.

5.5.1 Macroscopia

Quanto à condição corpórea, no grupo I, 83,33% dos animais estavam caquéticos (20/24) e 16,67% magros (4/24) e, para o grupo II, 56,5%, caquéticos (13/23) e 43,5% magros (10/23). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,1693$).

O peso médio (g) avaliado após óbito foi $262,61 \pm 53,17$ g no grupo I e $263,9 \pm 71,73$ g no grupo II, e não apresentou diferença estatística entre os grupos ($p=0,9895$). O gráfico 20 demonstra a distribuição dos pesos nos grupos.

Gráfico 20 – Distribuição dos pesos (gramas) dos saguis na necropsopia segundo os grupos estudados. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo. Para 1 = grupo I e 2 = grupo II.

Com relação a coloração das mucosas aparentes, musculatura e órgãos não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,8239$). No grupo I, 91,66% dos animais (22/24) apresentaram a mucosa perlácea e musculatura esquelética de coloração vermelho claro; e, 91,31% no grupo II (21/23).

Em seis animais de cada grupo foram observadas petéquias e sufusões distribuídas em diferentes partes do corpo durante a avaliação externa da carcaça, correspondendo a 25% das alterações necroscópicas descritas.

O intestino delgado estava distendido com diâmetro médio de $0,9 \pm 0,2$ cm nos animais do grupo I e $0,7 \pm 0,2$ cm nos animais do grupo II. Foi relatado aumento dos linfonodos mesentéricos em 37,5% dos animais do grupo I (9/24) e 47,8%, do grupo II (11/23).

As principais alterações macroscópicas dos órgãos e cavidades foram apresentadas na tabela 11.

Tabela 11. Principais descrições macroscópicas relatadas segundo a frequência e o grupo.

DESCRIÇÕES MACROSCÓPICAS	GRUPO I		GRUPO II	
	%	n°.	%	n°.
Linfonodos				
Normais	12%	3	17%	4
Linfonodos mesentéricos aumentados	46%	11	43%	10
Linfonodos periféricos e intracavitários aumentados	42%	10	39%	9
Baço				
Sem alteração de tamanho	25%	6	13%	3
Aumento de volume	75%	18	87%	20
Hiperplasia de polpa branca	37%	9	13%	3
Presença do timo	25%	6	13%	3
Medula óssea				
Vermelho escuro homogênea	75%	18	61%	14
Avermelhada	12%	3	26%	6
Rósea	12%	3	13%	3
Derrame cavitário	25%	6	17%	4
Fígado				
Sem alterações de tamanho	58%	14	64%	15
Pequeno	12%	3	18%	4
Aumentado	29%	7	18%	4
Discreto padrão lobular	33%	8	27%	6
Lobulação evidente	21%	5	9%	2
Conteúdo em intestino delgado				
Sem conteúdo	0%	0	4%	1
Pastoso	29%	7	52%	12
Pastoso com alimento não digerido	8%	2	13%	3
Líquido	25%	6	17%	4
Mucoso	33%	8	9%	2
Presença de sangue	4%	1	4%	1
TOTAL		24		23

5.5.2 Microscopia

Todos os órgãos dos animais foram microscopicamente avaliados no estudo. As principais alterações foram descritas e tabulados neste item no conjunto dos casos.

5.5.2.1 Avaliação dos fragmentos de intestino

A análise microscópica dos fragmentos de intestino revelou em todos os casos enterite atrófica subtotal a total com hiperplasia de criptas e aumento do número de linfócitos intraepiteliais em todos os casos (figura 6). O resultado da análise semiquantitativa do intestino delgado dos animais foram apresentados no APÊNDICE A e B.

Figura 6 - Fotomicrografia do intestino delgado de sagui (caso 11, grupo I). Severa enterite atrófica subtotal com hiperplasia de criptas. Coloração HE, 4x.

5.5.2.

As medulas osseas foram histologicamente avaliadas em 46 casos, dos quais 24 pertenciam ao grupo I (52,2%) e 22, ao grupo II (47,8%).

A celularidade medular no grupo I apresentou valores médios correspondentes a $80,4 \pm 14,06\%$, e o grupo II, $59,8 \pm 27,14\%$. A análise estatística quanto a celularidade medular entre os grupos mostrou diferença estatística significativa com $p = 0,0093$. O gráfico 21 mostra o resultado desta análise.

A contagem de megacariócitos (por campo de 400x), no grupo I foi em média $4,3 \pm 3,6$ células, e no grupo II, $4,0 \pm 2,6$ megacariócitos. A análise estatística quanto ao número de megacariócitos não mostrou diferença estatística entre os grupos ($p = 0,8004$).

Gráfico 21 – Resultado da análise da celularidade medular (%) segundo os grupos. Para 1= grupo I e 2 = grupo II. A caixa representa a maior porcentagem, a linha é a mediana, as barras de erros os valores mínimo e máximo.

A relação granulocítica : eritrocítica (G:E), avaliada nos dois grupos em conjunto e resultou em relação mantida em 76,1% dos casos (35/46), e a relação estava semelhante ou invertida em 23,9% dos casos (11/46).

A série eritrocítica foi caracterizada por celularidade normal em 43,5% dos casos (20/46), 41,3%, discreta hipocelularidade (19/46), 2,2%, moderada hipocelularidade (1/46), 2,2%, intensa hipocelularidade (1/46) e em 10,8%, hipercelularidade (5/46). A maturação celular foi observada preservada em 67,4% dos casos (31/46), mas foram evidenciadas alterações da eritropoese as quais mostraram eritroblastos binucleados (13/46), aumento de elementos imaturos (1/46) e aumento no número de células em mitose (1/46).

Na série mielóide, 47,8% dos casos (22/46) apresentaram celularidade normal, 34,8%, hipocelularidade (16/46) e 17,4%, hipercelularidade (8/46). Com relação à maturação celular, estava preservada em 78,3% dos casos e em 21,3%, foi observado aumento dos elementos imaturos.

A série megacariocítica foi caracterizada por celularidade normal em 45,6% dos casos (21/46), mas em 26,1%, hipocelular (12/46) e em 28,3%, hipercelular (13/46) cuja média foi sete megacariócitos/ campo de 400x. Quanto à morfologia, predominaram megacariócitos hiperlobados os quais representaram 54,3% das análises (25/46), células senescentes em 47,8% (22/46) e micromegaloblastos em 36,9% dos casos (17/46).

A avaliação da distribuição de fibras reticulares utilizando a coloração de reticulina e baseado na graduação de Bauermeister modificada por Alves (2009), em 50% foram observadas grau 0 (23/46), 32,6%, grau 1 (15/7) e em 17,4% dos casos grau 2 (8/46).

A avaliação dos depósitos de ferro medular usando a coloração de azul de Perls demonstrou que em 21,7% não foram observados grânulos de hemossiderina (10/46), em 41,3%, grânulos finos e em quantidade normais (19/46), em 21,8%, grânulos médios com discreto a moderado aumento da hemossiderina em interstício e macrófagos (10/46); e em 15,2%, grânulos de hemossiderina grandes e distribuídos difusamente e principalmente nos macrófagos (7/46).

Na análise microscópica também foram constatados emperilopoeise (12/46), eritrofagocitose (2/46) e atrofia serosa de gordura (10/46).

A análise estatística entre os grupos mostrou que não houve diferenças significativas quanto ao depósito de ferro, à distribuição das fibras reticulares, à relação G:E, à maturação e celularidade das séries eritrocítica, mielocítica e megacariocítica ($p > 0,05$).

5.5.2.4 Baço

A análise dos fragmentos de baço foi realizada em 46 casos, dos quais 24 de animais do grupo I (52,17%) e 22 de saguis do grupo II (47,83%).

As alterações encontradas no baço separada por grupo foram: eritrofagocitose, 75% no grupo I (18/24) e 86,36% no grupo II (19/22); congestão 66,67% no grupo I (16/24) e 77,27% no grupo II (17/22), depleção linfóide, 37,5% no grupo I (9/24) e 68,18% no grupo II (15/22), alteração de cápsula, 33,3% no grupo I (8/24) e 36,4% no grupo II (8/22), hiperplasia linfóide, 45,83% no grupo I (11/24) e 18,18% no grupo II (4/22), esplenite neutrofílica, 20,83%, no grupo I (5/24) e 18,18% no grupo II (4/24), linfocitólise 4,17% no grupo I (1/24) e 18,18% (4/22) e hematopoeise extramedular, 12,5% no grupo I (3/24) e 13,64% no grupo II (3/22). O depósito de hemossiderina foi analisado e semiquantificado em raros, 29,17% no grupo I (7/24) e 13,64%, no grupo II (3/22), discreta (+), 37,5%, no grupo I (9/24) e 9,09%, no grupo II (2/22), moderada (++), 8,33%, no grupo I (2/24) e 45,45%, no grupo II (10/22) e intensa (+++), 4,17% no grupo I (1/24) e 31,82% no grupo II (7/22).

A análise estatística entre os grupos quanto estas avaliações microscópicas não mostrou diferença estatística significativa ($p > 0,05$), exceto pelas presenças de hiperplasia linfóide ($p = 0,0496$), depleção linfóide ($p = 0,0408$) e hemossiderose esplênica ($p = 0,032$). O gráfico 22 exhibe o resultado da análise do depósito de hemossiderina esplênica.

Gráfico 22 – Resultado da análise semiquantitativa do depósito de hemossiderina no baço segundo os escores de 0 a 3 e o grupo. Os círculos correspondem aos valores individuais. Círculos sólidos representam o grupo I e os vazios o grupo II. A linha representa mediana.

5.5.2.5 Linfonodo

A avaliação microscópica dos linfonodos totalizou 42 linfonodos, sendo 24 do grupo I (57,1%) e 18, do grupo II (42,85%). Os linfonodos analisados foram mesentéricos, periféricos e intracavitários (peripancreáticos).

As principais alterações observadas foram descritas em ordem decrescente: hiperplasia linfóide (28/42), eritrofagocitose (22/42), presença de pigmentos acastanhados (22/42), fibrose (13/42), linfadenite neutrofílica (12/42), congestão (11/42), depleção linfóide (11/42), linfocitólise (9/42), hemorragia (6/42), alterações de cápsula (5/42), hematopoese extramedular (5/42).

A análise estatística das alterações observadas nos linfonodos entre os grupos não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) para todos os parâmetros analisados.

5.5.2.6 Timo

A análise microscópica dos timos compreendeu a avaliação de oito timos, dos quais cinco pertenciam ao grupo I e três, ao grupo II.

Na avaliação do timo, 75% (5/8) apresentaram atrofia fisiológica e 25% (2/8) apresentaram fibrose associada a linfocitólise.

Tabela 12 – Resultado da análise semiquantitativa dos depósitos de hemossiderina no fígado segundo localização, escore e porcentagem.

CÉLULAS	HEMOSSIDEROSE HEPÁTICA			
	Grupo 1		Grupo 2	
	Nº	%	Nº	%
Hepatócitos Zona 1				
1+	9	37,50%	6	26,09%
2+	5	20,83%	7	30,43%
3+	1	4,17%	0	0,00%
Hepatócitos Zona 2				
1+	10	41,67%	5	21,74%
2+	5	20,83%	7	30,43%
3+	1	4,17%	1	4,35%
Hepatócitos Zona 3				
1+	7	29,17%	4	17,39%
2+	9	37,50%	9	39,13%
3+	1	4,17%	1	4,35%
Células de kupffer				
1+	15	62,50%	6	26,09%
2+	7	29,17%	7	30,43%
3+	0	0,00%	5	21,74%
Macrófagos portais				
1+	10	41,67%	5	21,74%
2+	7	29,17%	1	4,35%
3+	1	4,17%	0	0,00%

Em cinco animais (casos 16 e 17. grupo I e 13, 17 e 19 grupo II) foram diagnosticados mielolipomas hepáticos (10,64%) caracterizados por crescimento de tecido mielóide associado tecido adiposo maduro e bem diferenciados e, por vezes, com traves ósseas parcialmente mineralizadas (figura 17). Os tumores eram não encapsulados e estavam distribuídos em foco único ou duplo no parênquima hepático. O parênquima adjacente exibia degeneração vacuolar micro e macrogoticular hepatocelular e depósito de hemossiderina nos hepatócitos e células de Kupffer adjacentes.

5.5.3 Avaliação da correlação entre hemossiderose hepática e esplênica e o tratamento empregado

A avaliação estatística da correlação entre o tratamento com ferro injetável e ferro oral e hemossiderose hepática e esplênica, mostraram que o ferro injetável apresentou correlação positiva com relação a hemossiderose hepática (células de kuppfer) e esplênica. Os gráficos 24 e 25 apresentam o resultado dessas análises.

Gráfico 24 – Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose nas células de Kupffer (escore total) e número de aplicações de ferro injetável no grupo II.

A correlação entre hemossiderose hepática nas células de kupffer e número de aplicações de ferro injetável foi positiva, sendo que o coeficiente de Spearman foi de 0,7778. A correlação entre hemossiderose esplênica e número de aplicações de ferro injetável foi positiva, sendo que o coeficiente de Spearman foi de 0,7093. Ambas as análises mostraram que a correlação direta entre as variáveis é significativa com $p=0,0081$ e $p=0,0216$.

Gráfico 25 – Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose esplênica (escore) e número de aplicações de ferro injetável no grupo II.

5.5.4 Caracterização dos animais utilizando parâmetros laboratoriais e histopatológicos dos órgãos linfo-hematopoiéticos

Dentre os 20 saguis, que tiveram parâmetros laboratoriais anteriores e próximos ao óbito foram caracterizados 12 casos de anemia hemolítica, quatro de anemia sem classificação, dois apenas com hemoglobinúria e dois animais não anêmicos. A tabela 13 apresenta os principais resultados laboratoriais e dos órgãos linfo-hematopoiéticos descritos em tais casos. A associação entre resultados laboratoriais e as alterações anatomopatológicas linfo-hematopoéticas foi realizada no conjunto dos dados não levando em consideração os grupos.

Os 12 animais com anemia hemolítica com presença de corpúsculos de Heinz (8/10), esferócitos (10/10) e hemoglobinúria (7/9) apresentavam linfonodos mesentéricos aumentados de volume associada a hiper celularidade (92%) e eritrofagocitose (50%), baço aumentado de volume com depleção de polpa branca (58%), eritrofagocitose (84%), hemossiderose moderada (58%) e hematopoese extramedular (34%); medula óssea vermelha (50%) com celularidade > 80% (58%), hipocelularidade < 60% (34%), relação G:E mantida entre 3:1 a 6:1 (50%), série eritrocítica normocelular a hipocelular (58%), série mielocítica normocelular (58%), número de megacariócitos ≥ 6 (50%), eritrofagocitose (8%) e depósito de ferro moderado a severo (58%); fígado sem alteração do tamanho (67%),

discreto padrão lobular evidente (42%), degeneração microgoticular e/ou atrofia hepatocelular em zona 3 (67%), hemossiderose moderada a severa (67%), eritrofagocitose (25%), hematopoese extramedular (25%) e mielolipoma (8%); adrenal exibiu hematopoese extramedular (50%) e eritrofagocitose (17%) e, por fim, depósito de ferro em células tubulares renais (34%).

Os quatro saguis que apresentavam anemia e sem classificação exibiam hemoglobinúria (1/4), linfonodos mesentéricos aumentados de volume (2/4), depleção linfóide (4/4) e eritrofagocitose (3/4), baço sem alteração de tamanho e depleção de polpa branca (3/4), eritrofagocitose (2/4), hemossiderose esplênica discreta (3/4); medula óssea vinácea (2/4), celularidade > 60% (2/4); relação G : E mantida em 3:1 (2/4) e diminuída (2/4), série eritrocítica normocelular (2/4), série mielocítica normocelular (2/4), número de megacariócitos variando de 1 a 5 e depósito de ferro moderado (2/4); fígado diminuído de tamanho (2/4) e exibindo lobulação (2/4) associada a degeneração microgoticular e/ou atrofia hepatocelular em zona 3 (2/4), eritrofagocitose (1/4) e hemossiderose moderada a severa (3/4).

Os dois animais que apresentaram hemoglobinúria mostraram aumento generalizado de linfonodos e hiperplasia linfóide (2/2); baço aumentado de volume e hiperplasia (1/2), eritrofagocitose (1/2), hemossiderose esplênica discreta a moderada (2/2); medula óssea vermelha a vinácea (2/2), celularidade $\geq$ 60% (2/2), relação G : E mantida (2/2), série eritrocítica hipocelular (2/2), série mielocítica hiperclular (2/2), número de megacariócitos abaixo de 4 (2/2) e depósito de ferro discreto (2/2); fígado lobulação evidente associada a degeneração microgoticular e/ ou atrofia hepatocelular em zona 3 (2/2), hemossiderose hepática moderada (2/2).

Os dois saguis não anêmicos apresentaram esferócitos em pequeno número (1/2) e mostraram aumento dos linfonodos mesentéricos (2/2), hiperplasia linfóide (1/2); baço hiperplasia de polpa branca (1/2), eritrofagocitose (2/2) e hemossiderose esplênica discreta (1/2); medula óssea vinácea (2/2) com celularidade 90%, relação G : E mantida, séries eritrocítica e mielocítica normocelulares, megacariócitos variando de 4 a 6 e depósito de ferro discreto a moderado (2/2); fígado exibiu lobulação(2/2) associada a degeneração microgoticular e/ou atrofia hepatocelular em zona 3 (1/2), hemossiderose hepática discreta a moderada (2/2);, presença de depósito de ferro em células de túbulos renais corticais (1/2).

Tabela 13- Resultados de hematócrito, número de esferócitos, corpúsculos de Heinz, presença de hematopoese extramedular, hemossiderose e hemoglobínúria segundo os casos e os resultados do último exame laboratorial antes do óbito.

Gp ¹	Nº	Ht ²	Esf. ³	Heinz ⁴	Celul ⁵	MEDULA ÓSSEA					Linf ¹⁰	Baço ¹¹	HEM ¹²	MO ¹³	HEMOSSIDEROSE					Eritrof. ¹⁸ (baço)	Alteraç. Zona 3 ¹⁹
						G:E ⁶	SE ⁷	SM ⁸	Meg ⁹	Hep. ¹⁴					Espl ¹⁵	Renal ¹⁶	Hgm ¹⁷				
I	1	28	+	+	70	02:01	↑	N	6	↑	↑	-----	+	++	++	0	NR	+	Sim		
I	5	14	+++	+	80	03:01	N	N	6	↑	deple	A	++	+	+	0	+++	+	Não		
I	7	32	NR	NR	50	01:02	↑	hip	4	deple	deple	-----	++	+	+	0	+++	0	Não		
I	8	13	+	+	90	05:01	↓	N	9	↑	deple	L e A	0	+	+	0	+++	+	Sim		
I	10	19	+	+++	100	06:01	↓	↑	17	↑	↑	-----	++	+	++	0	++	+	Sim		
I	11	NR	+	0	90	04:01	↓	↑	1	↑	deple	F B	0	++	+	+	NR	+	Sim		
I	12	8	+	0	50	03:01	N	N	0	↑	deple	-----	+++	++	+	0	++	0	Sim		
I	13	NR	NR	NR	60	06:01	↓	↑	0	↑	↑	-----	+	++	++	+	+++	+	Sim		
I	14	54	+	0	90	03:01	N	N	4	↑	↑	-----	++	+	+	+	NR	+	Não		
I	15	8	0	0	70	03:01	N	N	5	deple	deple	-----	+	++	+	0	0	0	Sim		
I	16	NR	+	NR	85	03:01	N	N	6	↑	deple	A e B	0	+	0	0	+++	0	Sim		
I	17	11	NR	NR	80	04:01	↓	↑	1	↑	deple	-----	+	++	+	0	+++	0	Sim		
I	18	19	0	0	90	04:01	N	N	3	deple	↑	-----	0	++	+	0	+	+	Sim		
II	1	22	0	NR	15	01:01	↓	↓	1	deple	deple	-----	++	+++	+++	0	0	+	Sim		
II	2	45	NR	NR	90	03:01	N	N	6	deple	deple	A	+	++	++	0	0	+	Sim		
II	3	30	+	+++	20	01:01	↓	↓	2	↑	deple	A	+++	+++	+++	0	0	+	Não		
II	4	4	+	+	0	0	0	0	0	↑	deple	ABFL	+++	+++	+++	+	+++	+	Não		
II	8	25	NR	NR	40	01:01	N	↓	8	N	N	-----	+	+++	+++	+	+	+	Sim		
II	11	19	+++	+++	85	01:02	↑	N	5	↑	deple	A F B	++	++	+++	0	0	+	Sim		
II	12	NR	NR	+++	80	01:02	↑	N	4	↑	↑	-----	++	+++	+++	+	NR	+	Sim		

¹Grupo ²Hematócrito(%) ³Esferócitos ⁴Presença de corpúsculos de Heinz ⁵Celularidade me medula óssea ⁶Relação graulocítica:eritrocítica ⁷Avaliação da série eritróide: ↑hipercelular, ↓hipocelular e N normocelular ⁸Avaliação da série mielocítica: ↑hipercelular, ↓hipocelular e N normocelular ⁹Avaliação da série megacariocítica: ↑hipercelular, ↓hipocelular e N normocelular ¹⁰Avaliação celularidade do linfonodo: ↑hipercelular, depleção (deple) e N normocelular ¹¹Avaliação celularidade do baço: ↑hipercelular, depleção (deple) e N normocelular ¹²Hematopoese extramedular (A=adrenal; B=baço; F=figado; L=linfonodo) ¹³Hemossiderose em medula óssea ¹⁴Hemossiderose hepática ¹⁵Hemossiderose esplênica ¹⁶Hemossiderose em túbulos renais ¹⁷Hemoglobínúria ¹⁸Eritrofagocitose em baço ¹⁹Alteração hepatica em zona 3: degeneração/atrofia/necrose. 0 = ausente; + = discreta; ++ = moderada; +++: intensa.

5.5.5 Análise da correlação entre hemossiderose esplênica e a presença de corpúsculos de Heinz em esfregaço sangüíneos

A correlação entre hemossiderose esplênica (escore em +) e presença de corpúsculos de Heinz (escore em +) foi positiva, sendo que o coeficiente de Spearman foi de 0,7243. A análise da correlação mostrou que a correlação é significativa entre as duas variáveis ($p=0,051$). O gráfico 26 demonstra o resultado dessa análise.

Gráfico 26 – Resultado da análise estatística de correlação entre hemossiderose esplênica (escore) e corpúsculos de Heinz em esfregaço sangüíneo (escore) de saguis doentes.

Figura 7. Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo II (caso 1). Medula óssea hipocelular (20%) e atrofia serosa de gordura. Coloração de HE, 10x.

Figura 8. Fotomicrografia de medula óssea de STP, macho, grupo I (caso 10). Medula óssea com 100% de tecido hematopoiético e hiper celularidade de megacariócitos. Coloração HE, 10x.

Figura 9. Fotomicrografia de medula óssea, STP, macho, mesmo animal figura anterior. Observar o intenso depósito de hemossiderina distribuída difusamente pelo órgão. Coloração de Azul de Perls, 10x.

Figura 10. Fotomicrografia de medula óssea de STP, macho, mesmo animal figura anterior. Observar fibras reticulares circundando megacariócitos, aumento da presença de fibras em grau 2. Coloração de reticulina de Gomori, 20x.

Figura 11. Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo I (caso 5). Medula óssea com predomínio de células mielóides, e ausência de depósitos de hemossiderina. Coloração de HE, 40x.

Figura 12. Fotomicrografia de medula óssea de STP, fêmea, grupo I (caso 12). Observar alterações na maturação da série eritróide com eritroblastos binucleadas (setas). Coloração HE, 40x.

Figura 13. Fotomicrografia do fígado STB, fêmea, grupo II (caso 11). Moderada necrose hepatocelular em Zona 3 e degeneração vacuolar microgoticular difusa. Coloração HE, 10x.

Figura 14. A. Fotomicrografia do fígado STP, macho, grupo II (caso 12). Hemossiderose hepática severa. Coloração de Azul de Perls, 10x. B. Fotomicrografia do fígado mesmo animal. Hemossiderose hepática na qual foi verificado depósito de grânulos grandes de hemossiderina em macrófagos portais e células de Kupffer. Coloração de Azul de Perls, 20x. B.

Figura 15. Fotomicrografia do baço STP, macho, grupo II (caso 11). Depleção linfóide em baço. Coloração HE, 4x.

Figura 16. Fotomicrografia do baço STP, macho grupo II (caso 12). Severa hemossiderose esplênica. Coloração de Azul de Perls, 10x

Figura 17. Fotomicrografia do fígado STB, fêmea, grupo II (caso 13). Mielolipoma hepático. Coloração HE, 10x.

Figura 18. Fotomicrografia do rim STP, macho, grupo II (caso 12). Observar pigmento de hemossiderina em túbulos renais corticais. Coloração de Azul de Perls, 20x.

6 DISCUSSÃO

A SEP é uma enfermidade de alta morbidade e mortalidade em calitriquídeos mantidos em cativeiro. O interesse neste estudo foi principalmente caracterizar a participação dos órgãos linfo-hematopoiéticos na SEP e estabelecer possíveis ferramentas que auxiliem o médico veterinário na percepção precoce dos sinais de anemia e, assim, possa instituir condutas terapêuticas apropriadas.

6.1 A SEP ACOMETE CALITRIQUÍDEOS DE DIFERENTES INSTITUIÇÕES COM AS MESMAS CARACTERÍSTICAS, EVOLUÇÃO E DURAÇÃO?

O estudo foi conduzido com dados referentes a duas colônias de calitriquídeos com objetivos fundamentais e manejo geral diferentes. Ambas as instituições apresentam características de manejo e dieta dentro dos preconizados na literatura (IPS INTERNATIONAL GUIDELINES FOR THE ACQUISITION, CARE AND BREEDING OF NONHUMAN PRIMATES, 1993, LUDLAGE; MANSFIELD, 2003; NRC, 2003; SÁ, 2004). Os índices reprodutivos (dados não mostrados) de ambas as colônias também estão adequados em comparação a instituições de renome internacionais (PETERS; GUERRA, 1998, TARDIF et al, 2003, LAYNE; POWER, 2003). A SEP é relatada em instituições internacionais e nacionais que são reconhecidas e com as condições de manejo higiênico sanitário e nutricional de exemplo para outras (MORIN, 1985; IALEGGIO; BAKER, 1995; MORAES et al, 2007).

A SEP foi diagnosticada nos saguis das espécies *C. jacchus*, *C. penicillata*, *C. geoffroy* e híbridos de forma a indicar o acometimento de diferentes espécies. A literatura mostra que em diferentes instituições localizadas em países diferentes relataram casos de ocorrência de SEP desde a década de 1980 (CHALIFOUX et al, 1982, MORIN, 1983, IALEGGIO; BAKER, 1995, MORAES et al, 2007). Na nossa casuística houve diferenças na distribuição de espécies, destacando que há um número maior de saguis híbridos no criadouro Mucky. Este fato pode estar relacionado com questionável identificação das espécies de calitriquídeos que são encaminhados por órgãos públicos ao criadouro AJB Soares, ou apenas uma particularidade de cada colônia.

Neste estudo, vale ponderar que a espécie *C. penicillata* foi uma das mais acometidas em ambos os criadouros. Porém, a espécie *C. jacchus* e *Saguinus oedipus* são as espécies mais descritas na literatura, uma vez que as mesmas são as mais utilizadas em

pesquisas biomédicas (BRACK; ROTHE, 1981, LOGAN; KHAN, 1996, MANSFIELD, 2003). Recentemente, uma espécie, a *Saguinus martinsi* pouco utilizada em pesquisas foi descrita como acometida pela SEP (MORAES et al., 2007), reforçando que a SEP pode acometer diferentes espécies em diferentes instituições e possivelmente com fatores desencadeantes e etiologia similares presentes em tais locais.

Neste estudo, não houve predisposição quanto ao sexo, estando de acordo com a maioria dos relatos na literatura (SHIMWELL; WARRINGTON; FOWLER, 1979, CHALIAFOUX et al., 1982; LUDLAGE; MANSFIELD, 2003, SÁ, 2004).

A idade de acometimento média, 60 meses, foi similar nos dois grupos e não há relatos de outros estudos apontando a idade de acometimento pela SEP, exceto em Sá (2004). Em ambos os criadouros, o tempo de permanência no mesmo criadouro variou de 19 meses a 6 anos. Na literatura, os animais com SEP apresentam tempo variável de 18 meses a 8 anos (LEWIS et al., 1987, SCULLION et al., 1987, BEGLINGER et al., 1988, LOGAN; KHAN, 1996, ABBOTT et al., 2003;).

Assim, com base nos nossos estudos e dados de literatura, a SEP acomete calitriquídeos adultos, de diferentes espécies, sem predisposição sexual, mantidos em cativeiro por pelo menos 19 meses.

Potkay (1992) sugere que a SEP não é uma doença ou síndrome específica pela variedade de causa e influências apresentadas no seu desenvolvimento. Outros estudos mostraram que a SEP é uma doença gastrintestinal crônica caracterizada por má-absorção intestinal levando a desnutrição secundária (SÁ, 2004, KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Entretanto, em nosso estudo e de forma inédita, foi possível caracterizar e analisar a duração e a evolução da SEP baseada na sequência de aparecimentos de sinais clínicos.

A doença clínica foi considerada a partir das manifestações clínicas constatadas pelos médicos veterinários, tratadores e proprietários das instituições e que foram relatadas nas fichas individualizadas de cada animal. Obviamente, há e houve variação na capacidade de detectar tais sinais clínicos baseando apenas na inspeção dos animais em seus recintos e esta ficou evidente nas fichas avaliadas no nosso estudo. Uma vez que tais fichas, por vezes, continham informações imprecisas.

A duração clínica da SEP foi pela primeira vez descrita nesse estudo e variou de 41 dias a 1 ano e 7 meses, cuja média foi nove meses e meio. Chama a atenção que em um sagui (caso 18, grupo I) com duração clínica menor (41 dias), peso abaixo para a espécie, mostrava que a doença estava presente anterior ao início do acompanhamento clínico, porém o animal não apresentava comportamento de doente detectável pelos meios semiológicos usados. Em outro sagui (caso 20, grupo I) também com duração clínica reduzida (70 dias), na primeira avaliação clínica foi descrita mucosa hipocorada que apareceu em outros animais apenas na fase final da doença, ou seja, a doença já estava em

fase final neste animal quando foi descrita pelos responsáveis. Ambos os casos exemplificam a dificuldade da utilização de dados retrospectivos.

A duração clínica da SEP não variou quanto à espécie, ao sexo, à idade e ao tempo de cativeiro nos saguis nas diferentes instituições, o que mostra pela primeira vez que tais fatores não estão associados à duração clínica. Poucas são as doenças crônicas gastrointestinais caracterizadas em medicina veterinária, como a síndrome de má absorção, que exibem a duração clínica média e associação ou não com a espécie, raça, idade, sexo e tempo de cativeiro do animal envolvido, mas podemos citar Dijkstra et al. (2010).

Na medicina humana, as síndromes de má absorção como a doença celíaca (DC) é considerada enfermidade crônica que dura o resto da vida do indivíduo a partir do diagnóstico (GREEN; JABRI, 2003). Soma-se a isto o fato dos pacientes celíacos devem ficar sob dieta livre de glúten por tempo indeterminado, do contrário as consequências da má absorção entre outras podem encurtar a vida deles (MAKI; COLLIN, 1997). No caso da SEP, a doença gastrointestinal destes saguis exibe caráter similar a DC uma vez que os sinais e sintomas sejam diagnosticados estes perduram e evoluem até o óbito, independente da espécie, sexo, idade, tempo de cativeiro e da instituição, já que a etiologia e o fator desencadeante ainda não foram esclarecidos e o processo doença não pode ser cessado. Assim perguntamos o que poderia estar em comum para determinar evolução similar? Nós e outros autores ainda não temos tal resposta, mas consideramos que a dieta e a resposta imunológica destes animais frente a antígeno comum estão entre as respostas possíveis. Não fez parte do nosso estudo a determinação da etiologia ou dos fatores desencadeantes da SEP.

A importância da caracterização da doença crônica em animais, que são utilizados em experimentação e/ou mantidas em cativeiro, como em zoológicos e centros de primatologia, está diretamente relacionada ao custo de manutenção e tratamento de tais espécies. A limitação da utilização de saguis em experimentação é ditada em parte pelos custos decorrentes de perdas inevitáveis ocasionadas pela SEP (LUDLAGE; MANSFIELD, 2003).

A SEP é um diagnóstico diferencial das enfermidades gastrointestinais que acometem calitriquídeos, assim é necessária a exclusão dos agentes infecto- parasitários que já foram apontados na literatura como etiologias dos distúrbios entéricos (POTKAY, 1992, MONTALI, 1999, BUSH, 1999, LUDLAGE; MANSFIELD, 2003, KALISHMAN et al, 1996, SOUSA et al, 2008, BEGLINGER et al, 1988). Na nossa casuística fez parte dos critérios de exclusão a presença dos agentes parasitários e a semelhança de outros autores a participação de agentes infecciosos não foi comprovada.

Os saguis estudados exibiam plena manifestação clínica da SEP no momento do óbito e foi caracterizada por caquexia, alteração das fezes, paralisia dos membros

posteriores, mucosas hipocoradas, sufusões e petéquias e alterações cutâneas. Alterações essas similares as já descritas na literatura (SÁ, 2004). No entanto, o início da sintomatologia clínica a SEP se caracterizou por menor número de alterações e, por vezes, inespecíficas como pêlos arrepiados e alterações de comportamento. Tal fato mostra que a doença clínica não se manifesta em plenitude no início, mas sim conforme a doença progride. Não há relatos na literatura dessas características da SEP. Por outro lado, síndromes de má absorção como a DC, e mesmo outras doenças crônicas de animais, podem exibir diferentes apresentações clínicas e, por vezes, oligossintomáticas e mesmo indivíduos assintomáticos que são de difícil diagnóstico (MAKI; COLLIN, 1997; SCHUPPAN et al, 2009). Destaca-se ainda que alterações comportamentais podem sinalizar a doença ao criador (RICHTER et al, 1984; MARQUES, 2009).

Entre os sinais clínicos, os dois criadouros apresentaram maior ocorrência de alterações gastrointestinais crônicas, tais como diarreia e perda de peso, e extra gastrointestinais como anemia, alterações cutâneas e reprodutivas e tais resultados estão de acordo com a sintomatologia descrita na literatura (SHIMWELL et al., 1979; BRACK; ROTHE, 1981; CHALMERS et al., 1983; BARNARD et al., 1988; SÁ, 2004; WIISMANN, 2005; KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006; MORAES et al., 2007).

A perda de peso, assim como relatado por Köller et al. (2006) e outros, foi severa e atingiu 41,4%. Porém, esta redução foi mais evidente na fase terminal da doença, quando foi possível comparar o peso usual ao peso final desses animais no óbito. Durante a doença clínica, percebemos que o peso foi bastante instável. O acompanhamento do peso de calitriquídeos, assim como o conhecimento do peso usual de cada sagüi, são formas reconhecidas de avaliação desses primatas neotropicais no cativeiro (ABBOT et al., 2003). Na SEP, as variações de redução de peso de no mínimo 10 gramas podem significar em alguns casos como início da manifestação clínica da síndrome.

Consideramos que além da avaliação periódica do peso a avaliação da condição corpórea representa uma complementação da primeira e possibilita a diferenciação entre doentes e saudáveis (TOLL et al., 2008). Em um dos criadouros, grupo I, o escore corpóreo apresentou diferença significativa entre o primeiro e o último e neste caso o animal inicialmente apresentava escore normal e ao final da doença, caquético. No outro criadouro, grupo II, essa variável não apresentou diferença estatística, pois os saguis já estavam magros e com o escore corpóreo reduzido na primeira avaliação.

No início da doença, foram observados em maior frequência sinais de emagrecimento e diarreia, sinais clínicos típicos e frequentes desta doença. Alterações reprodutivas foram relatadas tanto em fêmeas como em machos e podem ser exemplificados por aumento do intervalo entre partos, falha nos cuidados aos filhotes, abortamento e ausência de leite nas fêmeas lactantes. Essas alterações podem representar

informações importantes na investigação da SEP na fase oligossintomática inicial em alguns casos. Não há relatos da literatura associando tais alterações comportamentais e reprodutivas com SEP. Na DC há descrições sobre alterações comportamentais de irritabilidade e abortamentos entre outras (RITO NOBRE et al., 2007).

A mucosa hipocorada surge na metade da doença, se agrava a perlácea que persiste até óbito do animal. A mucosa perlácea foi um dos sinais de agravamento da doença e em nosso estudo foi presente em 96% dos indivíduos na fase terminal, paralelamente ao emagrecimento e caquexia. A mucosa hipocorada já foi relatado por outros autores (SHIMWELL et al., 1979, BASKIN et al., 1983, CHALMERS et al., 1983, MORIN, 1983, GUTTERIDGE et al., 1986, HAWKEY; HART, 1986, BEGLINGER et al., 1988, POTKAY, 1992, LOGAN; KHAN, 1996, JUAN-SALLÉS, 2003, SÁ, 2004).

O caráter crônico e progressivo da SEP ficou evidente pela análise da somatória de sintomas ao longo do tempo realizada por nós. A avaliação dos períodos de manifestação clínica (ECPs) foi importante para o estudo, porque evidenciou que o grupo I exibe o período terminal (T3) mais longo e mostrou que a fase crítica da SEP para ambos os grupos está entre o ECP2 e ECP3, quando ocorre piora da sintomatologia caracterizada por aparecimento da mucosa hipocorada após episódios de diarreia intermitentes e esta fase apresentou duração menor em relação aos demais períodos. Assim, a SEP evolui da metade para o fim muito rapidamente com o agravamento dos sintomas presentes e aparecimento de novos. Neste contexto, acreditamos que a evolução clínica da SEP possivelmente está relacionada ao agravamento da desnutrição secundária provocada pela enterite atrófica.

As diferenças na apresentação da doença clínica nas instituições e nos diferentes períodos podem estar relacionadas às condições gerais do ambiente, da dieta e do manejo higiênico-sanitário, como MARQUES (2009) caracterizou de forma generalista a fase clínica de doenças.

6.2 COMO É POSSÍVEL DIAGNOSTICAR PRECOCEMENTE E CARACTERIZAR A ANEMIA NA SEP?

No exame físico de saguis, a observação da mucosa hipocorada, alteração comum nos animais com SEP plenamente manifesta, representa um alerta para o clínico da necessidade de investigação e caracterização da possível anemia.

A avaliação das mucosas aparentes pode indicar o estado de saúde atual do animal, porém não é preciso o limite entre a coloração normal e patológica (FEITOSA, 2008). Em

algumas das fichas clínicas avaliadas verificamos dificuldade na definição da coloração da mucosa oral dos saguis e foram consideradas como “normo-hipocorada”, o que foi em duas vezes associado a hematócrito em limite inferior para a espécie.

A caracterização laboratorial do animal clinicamente anêmico requer a análise de amostras sanguíneas adequadamente colhidas e processadas. No entanto, a colheita de sangue dos calitriquídeos é geralmente dificultada pelo volume de sangue máximo que se pode colher, o qual não pode exceder um por cento do peso corpóreo (LUDLAGE; MANSFIELD, 2003). A contenção química nem sempre é indicada uma vez que a utilização de alguns anestésicos, como a cetamina, pode promover o decréscimo do hematócrito e dos neutrófilos circulantes em amostra de primatas não-humanos (MOORE, 2000). Como alternativa pode-se realizar somente o hematócrito e o esfregaço sangüíneo, como foi realizado neste estudo. Uma vez que os animais encontravam-se muito debilitados, foram colhidas pequenas amostras suficientes apenas para a realização do esfregaço e hematócrito em capilar heparinizado. Nestas amostras foi possível estimar o hematócrito, o número de leucócitos e caracterizar a morfologia celular, como descrito por Walker (2009).

Assim, a anemia na SEP foi caracterizada por macrocítica normo ou hipocrômica e hemolítica a semelhança de outros autores (CHALMERS et al., 1983, LOGAN; KHAN, 1996). O esfregaço sangüíneo foi importante para definir a gravidade e caracterizar o quadro anêmico pela observação de alterações celulares indicativas de atividade regenerativa ou outras mais específicas, como a presença de corpúsculos de Heinz já descritos na literatura (OMORPHOS; RICE-EVANS; HAWKEY, 1989, HAWKEY; DENNETT, 1989). A presença de esferocitose, eritroblastos binucleados e monócito com grânulos citoplasmáticos compatíveis com hemossiderina foram por nós diagnosticados pela primeira vez em amostra de saguis com SEP, o que enfatiza a importância da análise de esfregaços sanguíneos de animais doentes.

A esferocitose e monócito com grânulos citoplasmáticos compatíveis com hemossiderina são indicadores de hemólise extravascular, como já foi considerado por Walker (2009).

A observação de corpúsculos de Heinz nas hemácias de calitriquídeos pode ter interpretação controversa, uma vez que autores relataram a presença destes em saguis sadios (OMORPHOS; RICE-EVANS; HAWKEY, 1989, HAWKEY; DENNETT, 1989). De forma elucidativa, nós avaliamos preliminarmente 20 esfregaços sangüíneos de saguis não anêmicos e clinicamente saudáveis e não foi observado corpúsculos de Heinz em nenhuma das amostras (dados não mostrados). Neste sentido, nós acreditamos que o aparecimento desta alteração hematológica em animais com hemátocritos normais pode ser um marcador inicial de distúrbio eritrocitário nesses animais, tais como anemia hemolítica.

As alterações em esfregaço sangüíneo, como a presença de esferócitos e hemácias policromatófilas, associadas ao aumento exacerbado de eritroblastos podem indicar também hemólise imunomediada (WALKER, 2009). Um achado constante nos animais estudados foi a presença de eritrofagocitose em baço e linfonodo, e em menor número no fígado e medula óssea. Esses achados são compatíveis com hemólise extravascular e estão de acordo com a literatura que descreve a ocorrência de anemia hemolítica extravascular na SEP (CHALMERS et al., 1983, JUAN-SALLÉS, 2003).

Iuchi et al. (2007) relacionaram à formação de auto-anticorpos, em hemácias que sofreram estresse oxidativo. Nas doenças inflamatórias intestinais crônicas dos seres humanos, como a Doença de Crohn e a colite ulcerativa, vários casos de anemia hemolítica já foram relatados com teste Coombs positivo (MORENA; GISBERT, 2008). Na literatura, também são encontrados relatos de anemia hemolítica na DC humana (MILLER, 2009). Com isso, pesquisas futuras relacionadas à formação de auto-anticorpos poderiam auxiliar tanto na avaliação da anemia nos calitriquídeos como na participação da patogenia da SEP.

Durante a avaliação dos exames de urina realizados nos animais ainda vivos, chamou atenção a presença de sangue oculto na urina em animais com hematócritos normais. Uma questão levantada por nós foi se este achado poderia ser um marcador inicial da anemia hemolítica nesses animais, uma vez que tais saguis após algumas semanas exibiram quadro clínico e laboratorial de anemia hemolítica. Entretanto, a presença de sangue oculto em fita reagente sem presença de hemácias em sedimento urinário, pode indicar também mioglobínúria ou falso-positivos para agentes oxidantes na urina (LATIMER et al., 1994).

Os procedimentos laboratoriais para diferenciar mioglobínúria e hemoglobínúria, não realizados por nós devido a amostra ser muito reduzida, incluem a saturação da urina com sulfato de amônia, agitação forte e centrifugação a 2000 rpm por 10 minutos. Depois, a urina é novamente analisada passando a tira reagente no sobrenadante, se o campo para sangue oculto for positivo significa que é mioglobínúria (LOPES et al., 2007).

Na miopatia nutricional, doença muscular que afeta principalmente ovinos, suínos, bovinos e aves, observa-se a presença de mioglobínúria. Esta enfermidade apresenta como fator predisponente a deficiência de vitamina E e/ou selênio. A deficiência desses nutrientes, que são responsáveis pela neutralização de radicais livres, leva a alterações da membrana celular resultando em acúmulo de cálcio na mitocôndria das células musculares e consequente morte celular ou necrose segmentar (RAPOSO, 2008).

Juan-Sallés et al. (2003) descreveram miopatia degenerativa dos calitriquídeos com SEP, verificaram aumento sérico da desidrogenase láctica (LDH), creatinoquinase (CPK) e aspartato amino-transferase (AST) nesses animais. Porém, não há trabalhos mostrando mioglobínúria ou hemoglobínúria na SEP.

Desta forma, para nós o exame de urina I, ou apenas a avaliação da fita reagente de urina, é uma importante ferramenta diagnóstica, pela facilidade de colheita da amostra e execução, com resultados rápidos. Além disso, pode auxiliar o clínico veterinário no diagnóstico precoce das anemias hemolíticas e principalmente ajudar na triagem dos saguis para avaliação laboratorial periódica.

Na maioria dos saguis deste estudo, foi colhida urina durante a necropsia para exame laboratorial. Consideramos que este procedimento é válido em carcaças frescas e possa auxiliar o patologista no diagnóstico das enfermidades e causas de mortes principalmente nos animais selvagens, pois normalmente não são realizados exames laboratoriais em vida. Nos calitriquídeos foi observada intensa hemoglobinúria em 81% dos animais anêmicos, que foram a óbito e possuíam hematócrito e esse resultado foi interpretado por nós como hemoglobinúria decorrente de anemia hemolítica.

A avaliação periódica dos calitriquídeos em cativeiro pode envolver também a realização de exames urina I, hematócritos e esfregaços sanguíneos, por nós considerados de fácil execução e que podem auxiliar o diagnóstico precoce da anemia hemolítica na SEP.

6.3 QUAIS SÃO AS ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS LINFO-HEMATOPOIÉTICOS NA SEP?

Os órgãos linfo-hematopoiéticos e o fígado estavam comprometidos em graus variados em todos os casos analisados, porém tais alterações descritas foram consideradas como respostas teciduais inespecíficas uma vez que foram diagnosticadas respostas celulares à hipóxia sistêmica presente nos quadros de anemia, e hiperplasia ou depleção linfóide associadas às doenças crônicas debilitantes como a desnutrição progressiva decorrente da enterite crônica atrófica.

As alterações mielóides e linfóides nem sempre podem ser traçadas de forma linear nas diferentes enfermidades e no caso da SEP este fato não ser ignorado. Assim, as alterações anatomopatológicas associadas à anemia hemolítica descritas na medula óssea, baço e fígado foram similares as descritos em casos de anemia hemolítica por outros autores (FIGHERA et al, 2002, SHERLOCK; DOOLEY, 2004). Enquanto, os distúrbios relatados no linfonodo e em parte no baço foram associados às alterações locais intestinais e à desnutrição. Considera-se que a desnutrição é uma causa comum de leucopenia e anemia e, conseqüentemente, pode estar associada a imunodeficiências. (CHANDRA, 1976; XAVIER, 1999; BORELLI et al., 1995).

A avaliação da celularidade da medula óssea foi muito variada e diferente entre os grupos. No grupo I, a celularidade foi muito maior comparada a média de celularidade do grupo II. Apesar desta diferença na porcentagem de tecido hematopoiético medular, ambos apresentaram na maioria dos casos hipercelularidade da série mielóide e hipocelularidade da eritróide, achado histopatológico também relatado recentemente em um *Saguinus martinsi* por Moraes et al. (2007).

As citopenias agudas podem apresentar como causas infecções sistêmicas agudas, infecções virais, endotoxemia e anafilaxia (WALKER, 2009). Nos cães e gatos, a leucopenia intensa está associada principalmente a infecção gastrointestinal por parvovirus (LATIMER et al., 1994). Segundo alguns autores a enterite observada na SEP não apresenta como causa primária processo infeccioso viral ou bacteriano, devido a preservação da mucosa intestinal (ZÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006, MORAES et al., 2007).

Entre as causas de morte neste estudo, foi observado que 19,35% dos saguis foi a óbito por septicemia e 16,1% devido pneumonia grave (dados não apresentados). Segundo Borelli et al. (1995), a desnutrição protéica afeta a produção de células mielóides e a mobilização celular nos processos inflamatórios, com isso, o animal apresenta maior susceptibilidade a infecções oportunistas. Turcker (1984) descreveu em seu estudo que os saguis com SEP não apresentavam parasitas internos, doenças bacterianas ou virais, porém observaram muitos casos de candidíase esofágica. Achados similares foram relatados por Chalmers et al. (1983), Sá (1999) e observados por nós (resultados não apresentados).

Uma alteração esplênica considerada relevante por nós foi com relação ao tamanho do baço na necropsopia. Na literatura, a esplenomegalia é um dos sinais clínicos observados nas anemias hemolíticas (PAGE, 1998). Nos saguis diagnosticados com anemia hemolítica 58% exibiam esplenomegalia e depleção linfóide.

Segundo Xavier (1999) a desnutrição protéica pode determinar uma redução significativa na celularidade dos tecidos linfo-hematopoiéticos. Dentre as principais alterações observadas em nosso estudo está a depleção linfóide no baço e linfonodos, as quais foram por nós associadas a desnutrição crônica decorrente da enterite atrófica e que são semelhantes às alterações descritas por Xavier (1999).

No linfonodo, com o estímulo constante e a depleção do sistema imunológico, as células do manto podem se modificar, ocorrendo colapso dessas células e ocupação por células dendríticas. Seu reconhecimento é importante porque se numerosos, eles indicam uma história de hiperplasia folicular prévia que foi substituída por atrofia ou infiltração linfomatoso (VALLI, 2007). Com isso, o estudo imuno-histoquímico e morfométrico posterior poderão contribuir para a avaliação celular detalhada dos órgãos linfóides na SEP.

A hemossiderose está entre as alterações histopatológicas mais descritas na SEP neste estudo e por outros autores (BRACK; ROTHE, 1981, CHALMERS et al., 1983, TURCKER, 1984). Porém, ainda há muitas discordâncias com relação às possíveis causas da acentuada hemossiderose hepática e esplênica nos calitriquídeos.

A hemossiderose pode ocorrer em três circunstâncias gerais: aumento na absorção intestinal de ferro presente na dieta, diminuição na utilização do ferro absorvido ou nas anemias hemolíticas (KUMAR et al., 2005). Com relação à diminuição na utilização do ferro, pode-se destacar o processo inflamatório, sendo que o aumento na síntese de proteínas de fase aguda ocasiona a diminuição da produção hepática de transferrina e consequente sequestro tecidual do ferro (MONTEIRO et al., 2000).

A hemossiderose também foi relacionada a quadros de caquexia. Um possível mecanismo implicado nesse distúrbio estaria relacionado à queda na síntese protéica hepática, determinando diminuição nos níveis de tranferrina, inviabilizando a distribuição normal do ferro armazenado primariamente nos macrófagos esplênicos e hepáticos (XAVIER, 1999).

Segundo Scott (1992), a hemossiderose hepática nos primatas não-humanos está relacionada ao um aumento da fragilidade eritrocitária e diminuição da meia-vida das hemácias nas espécies. Nas anemias hemolíticas descritas em primatas não-humanos foi observado intensa hemossiderose, tanto nos hepatócitos como nas células de Kupffer e no tecido conectivo perivascular do baço (SCOTT, 1992).

Em nosso estudo, os saguis que apresentavam grande quantidade corpúsculos de Heinz em esfregaço sanguíneo, também apresentaram aumento da hemossiderose esplênica e hepática mostrando, que na SEP os quadros de hemossiderose podem estar em parte relacionados à anemia hemolítica.

O mecanismo envolvido no depósito de ferro nas anemias hemolíticas decorre da sobrecarga de ferro primeiramente no baço e subsequente no fígado e rim (SOLECKI et al., 1983). Neste trabalho, foi constatado que os animais com anemia hemolítica apresentavam grânulos maiores de hemossiderina e grande quantidade de depósito em fígado e baço, e algumas vezes observado em túbulos renais se assemelhando aos nossos achados.

A presença de ferro nos túbulos renais pode ser demonstrada histoquimicamente pela coloração de Azul de Perls (TURTON; HOOSON, 1998). Assim como em nosso estudo, Brack e Rothe (1981) também observaram depósitos de hemossiderina em células de túbulos renais.

A observação de hemossiderose na lâmina própria intestinal e a extensa hemossiderose hepática sugerem interferência no metabolismo de ferro (BRACK; ROTHE, 1981). Em nosso estudo, a coloração de Azul de Perls não foi avaliada no intestino e não

foram observados depósitos de pigmento compatível com hemossiderina na lâmina própria de nenhum caso.

A caquexia, caracterizada macroscopicamente pelo péssimo estado nutricional e atrofia muscular generalizada, foi por nós relacionada à desnutrição e a cronicidade da SEP. A enterite atrófica crônica com hiperplasia das criptas e aumento do número de linfócitos intraepiteliais no intestino delgado é considerado por nós o fator mais importante e está diretamente relacionado a redução da absorção de vitaminas, proteínas e minerais e, conseqüente, caquexia (SÁ, 2004). Além disso, foi observado em nosso estudo, animais com intensa leucopenia em esfregaço sanguíneo e depleção linfóide de células T e B no baço e linfonodos, alterações encontradas na desnutrição protéica (XAVIER, 1999).

A hematopoese extramedular (HEM) pode ser reconhecida pela presença de megacariócitos e outros precursores em diferentes tecidos. A HEM pode ser encontrada no fígado, baço e glândula adrenal de sagüis anêmicos, ocasionalmente rim e pulmão de neonatos e em sagüis submetidos a colheitas de sangue semanal de 40% do volume sanguíneo circulante (TISCHENDORF; WOLFE, 1970). Na SEP, Juan-Sallés et al. (2003) descreveram HEM nos linfonodos de saguis sintomáticos. Em nosso estudo foi encontrada HEM no fígado, baço, adrenal, linfonodo e rim, destes animais 58% apresentavam anemia hemolítica.

Em estudo paralelo, avaliamos o material de dois saguis-de-tufo-branco com valores hematológicos dentro da normalidade e sem sinais ou alterações intestinais sugestivas de SEP e nestes animais foi observado HEM no fígado e baço.

Neste contexto, podemos questionar: a redução da ocorrência de HEM nos animais anêmicos poderia estar relacionada a gravidade da desnutrição e resposta medular inadequada à anemia?

Por outro lado e interessante foram os diagnósticos incidentais de mielolipoma hepático em cinco casos. Nos seres humanos a ocorrência de mielolipoma é considerada rara e frequentemente estão localizados na glândula adrenal e são associados a distúrbios hormonais (YILDIZ et al., 2000). Já para os mielolipomas extra-adrenais consideraram as hipóteses de metaplasia ou êmbolos da medula óssea nos órgãos acometidos. Contudo, destacou-se em estudos imuno-histoquímicos e citogenéticos conduzidos em amostras humanas que os mielolipomas eram morfológicamente diferentes da medula óssea normal e, ainda, ficou evidenciada translocação cromossômica nas células. Desta maneira, ficou claro afirmar que os mielolipomas são uma neoplasia benigna dos órgãos linfohematopoiéticos (CHANG et al., 2002, BISHOP et al., 2006).

Entretanto, os relatos de mielolipomas são raros em calitriquídeos e existindo até o momento apenas dois relatos: um caso descrito em *Saguinus oedipus* e um, *C. jacchus* (STEIN et al., 1984, KAKINUMA et al., 1994). No segundo, o mielolipoma foi descrito no

fígado e adrenal e não foram realizados exames laboratoriais, porém o autor considera que provavelmente não havia alterações hematológicas, pois a medula óssea apresentava preservação da distribuição e morfologia das células hematopoiéticas. (KAKINUMA et al., 1994).

Em nosso estudo, em dois saguis foram realizados exames hematológicos apresentando severa anemia hemolítica. Esses dois animais também apresentaram HEM no baço, além da adrenal e fígado, e a medula óssea apresentava celularidade de 80%. Nos outros três animais com mielolipoma, a medula óssea apresentou 50, 70 e 80% de celularidade. As relações G : E estavam diminuídas em três dos casos. A associação entre a anemia e a presença de tumores benignos hematopoiéticos, como mielolipoma, já foi relatada no homem (SAWHNEY; MACRAE; LAZARCHICK, 2006). Mas, considera-se que a patogenia e o significado dos mielolipomas e, mesmo da HEM, nos primatas não humanos ainda não estão esclarecidas (LOWENSTINE, 2003).

6.4 É POSSÍVEL TRATAR A ANEMIA NA SEP?

A SEP é uma doença crônica de evolução fatal claramente caracterizada por nós. Segundo Sá (2004) corroborado por Zöller et al. (2006), o trato gastrointestinal é o sistema crítico e o ponto de partida na SEP. A patogenia da SEP foi caracterizada por processo de má absorção decorrente da perda da superfície absorptiva intestinal devido à severa enterite atrófica com padrão de resposta imune local similar à doença celíaca (SÁ, 2004; KÖLLER; MÄTZ-RENSING; KAUP, 2006). Neste contexto, o tratamento clínico das síndromes de má-absorção por disfunção intestinal depende da causa, da extensão do comprometimento intestinal e do fato que lesões da mucosa intestinal resultam em falha na digestão e absorção de nutrientes (WILLIAMS, 1996).

A síndrome de má-absorção tem como definição um defeito na absorção de gorduras, vitaminas lipossolúveis e outras vitaminas, proteínas, carboidratos, eletrólitos, minerais e água (KUMAR et al., 2005). O acompanhamento clínico e tratamento de animais com síndrome de má absorção intestinal envolvem o manejo médico para a correção da desnutrição protéico calórica, vitamínica e mineral e controle do supercrescimento bacteriano (WILLIAMS, 1996). Em ambas as instituições, os saguis foram tratados sintomaticamente com fluidoterapia, antibióticos de amplo espectro e suplementação vitamínica-mineral, porém por vias de aplicação diferentes.

Em nosso estudo, a anemia foi observada em uma fase mais avançada da doença e foi caracterizada como hemolítica, com presença de corpúsculos de Heinz na maioria das

vezes. Alguns autores acreditam que a presença do corpúsculo de Heinz esteja associada a uma deficiência de vitamina E e selênio (CHALMERS et al., 1983, GUTTERIDGE et al., 1986, LOGAN; KHAN, 1996). Nós consideramos que a deficiência de vitamina E e selênio possivelmente são a causa dos corpúsculos de Heinz observados na SEP, porém a deficiência desses nutrientes apareça mais tardiamente na evolução da SEP.

Os estudos conduzidos em primatas não-humanos e relacionados à deficiência de vitamina E descreveram anemia e outras alterações tais como perda de peso progressivo decorrente da redução da musculatura esquelética, esplenomegalia e hiperplasia da medula óssea (PORTER, 1962, FITCH; DINNING, 1963, CHALMERS; MURGATROYD; WADSWORTH, 1983, KING JR., 1993). Tais alterações também foram caracterizadas no nosso estudo e possivelmente também estejam associadas à deficiência de vitamina E.

Gutteridge et al. (1986) administrou injeção intra-muscular de vitamina E em sagüis com sinais de SEP e verificou melhora da sintomatologia dos animais estudados. Juan-Sallés e colaboradores (2003) utilizaram a dose de 8mg/ kg de vitamina E por via intramuscular e também observaram melhora da sintomatologia de SEP em um animal estudado.

A dose administrada nos saguis do grupo II, criadouro A.J.B. Soares, foi similar a dose utilizado por Juan-Sallés et al. (2003). Contudo, os animais foram a óbito sem melhora clínica considerável. A dose de vitamina E recomendada para reverter o estresse oxidativo em primatas não-humanos não é estabelecida e foi questionada por Fitch e Dinning (1963). As hipóteses avaliadas por nós para o fato da resposta clínica não ter ocorrida podem estar associadas à dose inadequada, ao número de aplicações insuficientes ou mesmo, e talvez a hipótese mais provável, ao fato dos animais que receberam suplementação injetável com vitamina E estavam em fase tardia e terminal da SEP e, desta forma, não houve tempo hábil para reverter o quadro clínico. Destacamos que na experiência vivenciada junto ao Laboratório de Gastroenterologia Veterinária - USP vários saguis com SEP plenamente manifesta apresentaram melhora clínica com a administração injetável por período prolongado de vitamina E e outros nutrientes.

Baseado no NRC (2003), o consumo diário desta vitamina seria entre 4 a 48 mg/kg⁻¹ e apenas a inclusão de óleo de peixe na alimentação de calitriquídeos aumentaria o fornecimento de vitamina E para valores superiores a 95mg/kg⁻¹. Desconhece-se quanto seria necessário ser administrado de tais nutrientes a saguis com diagnóstico clínico e laboratorial de má absorção.

Alguns autores relataram a deficiência de vitamina E, mesmo com suplementação oral por até um ano em macacos rhesus (FITCH; DINNING, 1963). King Jr. (1993) observou deficiência dessa vitamina em macacos-da-noite secundariamente a enterite crônica

caracterizada por infiltrado de linfócitos, macrófagos e eosinófilos em lâmina própria do intestino delgado.

Uma vez caracterizado o processo de má-absorção nos quadros de SEP (SÁ, 2004), podemos inferir que a suplementação vitamínica e mineral por via oral provavelmente não será efetiva no tratamento da SEP.

Em nosso estudo foram observados eritroblastos binucleados ou com núcleo fendido na medula óssea e sangue periférico. A princípio esses eritroblastos foram julgados como artefatos ou figuras de mitose na medula óssea, mas a literatura apontou para ao fato da deficiência de vitamina E estar associada a hemólise pela diminuição da meia-vida da hemácia e foi associada a eritropoese ineficaz que foi caracterizada pela presença de precursores eritróides multinucleados na medula óssea e esfregaço de sangue periférico (PORTER; FITCH, 1966; AUSMAN; HAYES, 1974; FITCH et al., 1980). Um exemplo, conhecido de anemia hemolítica com presença de eritropoese ineficaz é a anemia descrita na β -talassemia humana, na qual foi mostrado alto grau de eritropoese ineficaz caracterizado pela discrepância entre o número de precursores e a média de reticulócitos normais presentes no esfregaço (POOTRAKUL et al., 1988).

Dentre as causas de anemia estão também as alterações da formação das hemácias em consequência da deficiência de substâncias essenciais a eritropoese como o ferro, a vitamina B12, ácido fólico, vitamina C e a própria má-nutrição protéico-calórica (PENELLA et al., 2010) e que possivelmente também estão presentes na SEP.

A análise da associação entre depósitos acentuados de hemossiderina hepática e tratamento com ferro injetável nos possibilitou inferir que a suplementação de ferro na forma injetável na SEP deve ser ponderado, apesar da indicação nos quadros de má absorção intestinal. Segundo Morena & Gisbert (2008), na doença inflamatória intestinal, a anemia está entre os si nos mostrou inferir que sintomas mais complicados nos seres humanos, em consequência dos complexos mecanismos envolvidos na patogenia da anemia e no metabolismo do ferro, e desta forma são notórias as dúvidas em relação a melhor forma do seu tratamento. Normalmente nas síndromes de má-absorção, como a DC, a anemia está associada à deficiência de ferro (HARPER et al., 2007). Na falta de ferro, o organismo passa a consumir suas reservas havendo primeiramente diminuição do estoque de ferritina e na medula óssea (BRICKS, 1994).

Na avaliação da medula óssea dos calitriquídeos estudados, 21,7% apresentavam diminuição nos estoques de ferro medular e 15,2% apresentavam estoques de ferro medular aumentado. Assim, evidenciamos que o metabolismo de ferro na SEP está alterado e o tratamento com ferro injetável deve ser ponderado.

Bricks (1994) relata que a utilização inadequada do ferro por via parenteral também pode levar ao aumento dos quadros de septicemia, principalmente em recém-nascidos humanos, nos quais estão também associados a altos índices de letalidade.

Gottdenker, McNamara e Braselton (1998) verificaram que muitos dos calitriquídeos que foram a óbito, apresentavam intensa presença de hemossiderina nas células de Kupffer e hepatócitos e esses autores sugeriram que o depósito de ferro poderia estar relacionado ao excesso de ferro na dieta desses animais. As necessidades nutricionais diárias de ferro não foram estabelecidas para as espécies de calitriquídeos e os trabalhos sobre esse tema ainda não são unânimes em definir os níveis adequados de ferro na dieta. As dietas analisadas dos criadouros mostraram níveis baixos de ferro e, assim, a dieta não foi associada como causa da hemossiderose hepática e esplênica observadas nos quadros de SEP.

A observação de petéquias e sufusões na fase final da doença vale ser destacada uma vez que representam distúrbios de coagulação (RIZZATTI; FRANCO, 2001). A análise da distribuição e morfologia das plaquetas em nosso estudo foi prejudicada devido ao intenso agregado plaquetário na cauda do esfregaço ou pela formação de coágulos nas amostras colhidas. Contudo, consideramos que a presença de plaquetas nos esfregaços, mesmo que agregadas, e o tempo de coagulação das amostras colhidas não indicam alteração na função plaquetária. Logan e Khan (1996) e Juan-Salles et al. (2003) caracterizaram trombocitose nos quadros de SEP. As anemias macrocíticas hipocrômicas e com trombocitose estão frequentemente associadas a casos de hemorragia (LATIMER et al., 2003). Destacamos que esse tipo de anemia foi diagnosticada em 46,7% dos saguis anêmicos.

Dentre as hipóteses para explicar os quadros de hemorragia, considera-se que a deficiência de vitamina K pode ser uma das causas. A deficiência desta vitamina pode ocorrer devido alterações gastrointestinais crônicas como má absorção ou pela administração por longos períodos de antibióticos de amplo espectro. Na diarreia tropical em seres humanos descreve-se deficiência de protrombina levando a formação de hematomas (BEERS; BERKOW, 2008). A administração de antibióticos promove uma produção limitada de vitamina K pelas bactérias intestinais. Metta e Gopalan (1963) demonstraram em macacos rhesus que a deficiência da vitamina K não estava correlacionada a dieta inadequada e sim a administração de antibióticos, uma vez que as necessidades diárias desta vitamina são baixas. No macaco rhesus, a necessidade diária é equivalente a 0,06 mg/kg⁻¹, o qual é bastante inferior as concentrações de 3 a 12 mg/kg⁻¹ encontradas nas rações comerciais específicas para macacos (NRC, 2003).

O tratamento com antibióticos foi maior no grupo I e o aparecimento de petéquias e sufusões foi semelhante nos dois grupos, o que nos faz ponderar que talvez não exista

associação do uso de antibióticos com a possível deficiência de vitamina K nos quadros de SEP. Além disso, destacamos que o tratamento com antibióticos é necessário, a fim de controlar o supercrescimento bacteriano e infecções oportunistas, já relatados nos quadros de SEP (TURCKER, 1984, LEWIS et al., 1987).

Nas doenças gastrintestinais crônicas como a DC, a deficiência de cobre secundária a má-absorção intestinal pode resultar em anemia, leucopenia e até pancitopenia. A deficiência em cobre pode resultar também quando os níveis de zinco estão elevados na dieta (NRC, 2003). A medula óssea apresenta decréscimo na maturação mielóide e as alterações hematológicas podem estar associadas a sintomas neurológicos, na deficiência de cobre (HALFDANARSON et al., 2009). A dieta do grupo II foi analisada e mostrou baixos níveis de cobre e zinco, apontando para possível deficiência primária desses minerais como causa da anemia nos quadros de SEP nesse criador. Contudo, as necessidades mínimas diárias de tais nutrientes não estão definidos para os calitriquídeos, mas apenas para o macaco rhesus para o qual considera-se que as dietas contendo 30mg/kg^{-1} zinco precisam ter 6 mg/kg^{-1} de cobre (NRC, 2003).

A avaliação da medula óssea, em nosso estudo, mostrou que 34,8% dos animais estudados apresentavam a série mielóide hipocelular e 21,2% com alteração da maturação celular, observando-se aumento dos elementos imaturos. Consideramos que nesses casos em particular a deficiência de cobre poderia estar presente.

Assim, futuros estudos avaliando a participação de minerais específicos nos quadros de SEP, somado aos relatos com deficiência de vitaminas, possivelmente irão contribuir no esclarecimento desta síndrome.

7 CONCLUSÃO

Diante de tudo que foi apresentado, podemos concluir que:

1. A SEP acomete calitriquídeos de espécies distintas, adultos, sem predisposição sexual, mantidos sob condições estáveis de manejo por em média 42 meses em diferentes criadores, reafirmando que este perfil epidemiológico é semelhante às descrições anteriormente relatadas.
2. A duração clínica da SEP varia de 41 dias a 1 ano e 7 meses e independe da espécie, sexo, idade e tempo de cativeiro, o que demonstra pela primeira vez que tais fatores não estão associados com a duração clínica da síndrome em diferentes colônias de calitriquídeos acometidos pela SEP.
3. As características clínicas da SEP na fase inicial foram predominantemente sinais gastrintestinais e na fase terminal, sinais gastrintestinais e extra-intestinais independente da instituição. Assim, foi possível descrever a evolução clínica da síndrome em diferentes períodos de tempo enfatizando que a SEP é um processo crônico e progressivo dos calitriquídeos.
4. A fase crítica da doença clínica foi caracterizada pelo aparecimento da mucosa hipocorada e por menor duração do período, o reconhecimento deste período denota que a expectativa de vida destes animais é limitada e, desta forma, pode auxiliar o clínico no estabelecimento de condutas médicas apropriadas que aumente a expectativa de vida desses pacientes.
5. Na SEP, a anemia macrocítica, normo ou hipocrômica com policromasia, esferocitose, presença de corpúsculos de Heinz e hemoglobinúria foi a alteração hematológica mais frequente e possibilitou a caracterização do quadro clínico na síndrome do mesmo modo que foi anteriormente relatado na SEP por outros autores.
6. A associação dos resultados laboratoriais e anatomopatológicos dos órgãos linfopoiéticos de saguis anêmicos caracterizaram as principais alterações hematológicas, macro e microscópicas observadas em quadros de anemia hemolítica de forma similar a outros autores.

7. As alterações anatomopatológicas dos órgãos linfo-hematopoiéticos dos saguis acometidos por SEP foram inespecíficas e reacionais caracterizadas por hiperplasia ou depleção do número de células da medula óssea, baço e linfonodo e degenerativa no fígado, mostrando que o sistema linfo-hematopoiético e o fígado são secundariamente acometidos na SEP.

8. A hemossiderose esplênica e presença de corpúsculos de Heinz apresentam associação direta significativa na SEP, mostrando que a deficiência de antioxidantes não enzimáticos estão presentes na SEP e possivelmente em decorrência da má absorção intestinal já demonstrada nesta enfermidade.

9. O tratamento com ferro injetável mostrou estar diretamente associado com aumento de depósitos de ferro nas células de Kupffer e macrófagos esplênicos de saguis com SEP, o qual não foi demonstrado na suplementação oral. Desta maneira, o tratamento injetável com ferro aliada a presença de anemia hemolítica deve ser revistos e utilizados com cautela, uma vez que se desconhecem os efeitos deletérios da hemossiderose hepática e esplênica nos saguis com SEP.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, D. H.; BARNETT, D. K.; COLMAN, R. J.; YAMAMOTO, M. E.; SCHULTZ-DARKEN, N. J. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. **Laboratory Animal Science**, v. 53, n. 4, p. 339-350, 2003.
- ALCÂNTARA, M. F. P. **Manual de biópsia de medula óssea**. Curso de biópsia de medula óssea. In: Congresso Brasileiro de Patologia Clínica 15, 1981, São Paulo, Anais... São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, 1981.
- ALMEIDA, A. F.; VASCONCELOS, M. K. **Fauna silvestre: quem são e onde vivem os animais na metrópole paulistana**. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, 2007. p. 293.
- ALVES, A. C. Histologia da medula óssea. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 183-188, 2009.
- ANDERSON, E. T.; LEWIS, J. P.; PASSOVOY, M.; TROBAUGH JR, F. E.. Marmosets as laboratory animals. II. The hematology of laboratory kept marmosets. **Laboratory Animal Care**, v. 7, p. 30-40, 1967.
- ANKEL-SIMONS, F. Taxonomic list of extant primates. In: ANKEL-SIMONS, F. **Primate anatomy**. 3 ed., Elsevier, San Diego, p. 1-15, 2007.
- AUSMAN, L. M.; HAYES, K. C. Vitamin E deficiency anemia in Old and New World monkeys. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 27, p. 1141-1151, 1974.
- BACAL, N. S.; GUERRA, J. C. C.; LÁZARO, R. J.; IOSHIDA, M. R.; TAKIHI, Y.; ROSENFELD, L. G. M.; KUABARA, R. A.; GUERRA, C. C. C. Avaliação da importância da coloração de Perls na rotina de mielogramas de pacientes com anemia associada a uma ou mais citopenias em sangue periférico. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia** v. 27, n. 2, p. 91-93, 2005.
- BACON, B.; BRITTON, R. The pathology of hepatic iron overload: a free radical-mediated process. **Hepatology**, v. 11, p. 127-137, 1990.
- BASKIN, G. B.; WOLF, R. H.; WORTH C. L.; SOIKE, K.; GIBSON, S. V.; BIERI, J. G. Anemia steatitis, and muscle necrosis in marmoset (*Saguinus labiatus*). **Laboratory Animal Science**, v. 33, p. 74-80, 1983.
- BEERS, M. H.; BERKOW, R. Síndromes de má absorção. In: BEERS, M. H.; BERKOW, R. **Manual Merck: diagnóstico e tratamento**. 18. Ed. São Paulo: Roca, 2008. Disponível em: http://mmspf.msdonline.com.br/pacientes/manual_merck/secao_09/cap_110.html. Acesso em 08 de Julho de 2010.
- B EGLINGER, R.; ILLGEN, B.; PFISTER, R.; HEIDER, K. The parasite *Trichospirura leptostoma* associated with wasting disease in a colony of common marmosets, *Calithrix jacchus*. **Folia Primatologica**, v. 51, p. 45-51, 1988.
- BISHOP, E.; EBLE, J. N.; CHENG, L.; WANG, M.; CHASE, D.; ORAZI, A.; O'MALLEY, D. P. Adrenal myelolipomas show nonrandom X-chromosome inactivation in hematopoietic elements and fat: support for a clonal origin of myelolipomas. **American Journal Surgery Pathology**, v. 30, n. 7, p.838-843, 2006.

BORELLI, P.; MARIANO, M.; BOROJEVIC, R. Protein malnutrition: effect on myeloid cell production and mobilization into inflammatory reactions in mice. **Nutrition research**, v. 15, n. 10, p. 1477-1485, 1995.

BRACK, M.; ROTHE, H. Chronic tubulointerstitial nephritis and wasting disease in marmosets (*Callithrix jacchus*). **Veterinary Pathology**, v. 18 (supl. 6), p. 45-54, 1981.

BRADBURY, P.; GORDON, K. C. Connective tissues and stains. In: BNCROFT, J. D.; STEVENS, A., eds., **Theory and Practice of Histological Techniques**, 2 ed., New York: Churchill Livingstone, 1982. p. 122-44.

BRASIL. Ministério do meio ambiente. Instrução normativa n.003, de 24 de maio de 2003. Disponível em: www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/179_05122008034002.pdf. Acesso em: 05 de novembro de 2009.

BRICKS, L. F. Ferro e infecções. Atualização. **Revista Pediatria**, v. 16, n. 1, p. 34-43, 1994.

BROWN, W.; CLAPP, N.; PODOLSKY, D.; RIDDELL, R.; ROGERS, A. E.; VENER, K.; WOLMAN, S. Is the marmoset an experimental model for the study of gastrointestinal disease? **Digestive Diseases and Sciences**, v. 30, n. 12, p. 25, 1985.

BURITY, C. H. F.; PISSINATI, A.; SOUZA, A. M. Morphometry and allometry of outer body in three species of the genus *Callithrix* Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates). **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 9, n. 2, p. 177-184, 2007

CARNEIRO, J.; JUNQUEIRA, L. C. **Histologia básica**. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524 p.

CHALIFOUX, L. V.; BRONSON, R. T.; ESCAJADILLO, A.; McKENNA, S. An analysis of the association of gastroenteric lesion with chronic wasting syndrome of marmosets. **Veterinary Pathology**, v. 19, p. 141-162, 1982. Supplement, 7.

CHALMERS, D. T.; MURGATROYD, L. B.; WADSWORTH, P. F. A survey of the pathology of marmosets (*Callithrix jacchus*) derived from a marmoset breeding unit. **Laboratory Animals**, v. 17, p. 270-279, 1983.

CHANDRA, R. K. Immunity disorders. In: PRASAD, L. S.; ROBINSON, P. **Textbook of Pediatrics**. New Delhi: Thompson Press, 1976. 204p.

CHANG, K. C.; CHEN, P. I.; HUANG, Z. H.; LIN, Y. M.; KUO, P. L. Adrenal myelolipoma with translocation (3;21)(q25;p11). **Cancer genetics and cytogenetics**, v.134, p. 77-80, 2002.

DIJKSTRA, M.; KRAUS, J. S.; BOSJE, J. T.; DEN HERTOOG, E. Protein-losing enteropathy in Rottweillers. **Tijdschr Diergeneeskde**, v. 135, n. 10, p.406-412, 2010.

ECCLESTON, M. E. Haematological values in rats, mice and marmoset. In: ARCHER, R. K.; JEFFCOTT, L. B. **Comparative clinical haematology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1977, 617 p.

FARIA, D. S. O estudo de campo do "mico-estrela" *Callithrix penicillata* do Planalto Central Brasileiro. In: ADES, C. **Etologia de animais e de homem**. São Paulo: Edusp, 1989. p. 109-122.

FEITOSA, F. L. F. Exame Físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária**. São Paulo: Roca, p. 25-40, 2008.

FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria: O autor, 2001. 217 p.

FITCH, C. D.; DINNING, J. Vitamin E deficiency in the monkey. V. Estimated requirements and the influence of fat deficiency and antioxidants on the syndrome. **Journal Nutrition**, v. 79, n. 63, p. 69-77, 1963.

FITCH, C. D.; BROWN, G. O.; CHOU, A. C.; GALLAGHER, N. I. Abnormal erythropoiesis in vitamin E-deficient monkeys. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 33, p. 125-258, 1980.

FOSTER, J. R. Spontaneous and drug-induced hepatic pathology of the laboratory beagle dog, the cynomolgus macaque and the marmoset. **Toxicologic Pathology**, v. 33, p. 63-74, 2005.

FRANCO, H. F. Amitose de eritroblastos e eritrócitos no sangue circulante de aves. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 38, n. 1, p. 73-79, 1942.

GERDES, J.; STEIN, H.; MASON, D. Y.; ZIEGLER, A. Human dendritic reticulum cells of lymphoid follicles: their antigenic profile and their identification as multinucleated giant cells. **Virchows Archive B: Cell Pathology Including Molecular Pathology**, v. 42, n. 2, p. 161-172, 1983.

GOTTDENKER, N.; MCNAMARA, T.; BRASELTON, W. E. Evaluation of hemosiderosis in captive callithricidae. In: JOINT CONFERENCE, 1998, Arizona. **Proceedings...** 1998. P.63-70.

GREEN, P. H. R.; JABRI, B. Coeliac disease. **E lancet**, v. 362, p. 383-391, 2003.

GRELLE, C. E. V.; CERQUEIRA, R. Determinantes da distribuição geográfica de *Callithrix flaviceps* (Thomas) (Primates, Callitrichidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 2, p. 414-420, 2006.

GUTTERIDGE, J. M.; TAFFS, L. F.; HAWKEY, C. M.; RICE-EVANS C. Susceptibility of tamarin (*Saguinus labiatus*) red blood cell membrane lipids to oxidative stress: implications for wasting marmoset disease. **Laboratory Animals**, v. 20, n. 2, p. 140-147, 1986.

HALFDANARSON, T. R.; KUMAR, N.; HOGAN, W. J.; MURRAY, J. A. Cooper deficiency in celiac disease. **Journal Clinical Gastroenterology**, v. 43, n. 2, p. 162-164, 2009.

HARPER J. W.; HOLLERAN S. F.; RAMAKRISHNAN R.; BHAGAT G.; GREEN P. H. R. Anemia in celiac disease is a multifactorial in etiology. **American Journal of Hematology**, v. 82, n. 11, p. 996-1000, 2007.

HAWKEY, C. M. Is the presence of Heinz bodies a useful diagnostic sign of wasting marmoset syndrome? In: Joint Conference, 1984, Alderley Edge: Imperial Chemical Industries. **Proceedings Workshop on marmoset pathology** 1984. p. 30-40.

HAWKEY, C. M.; DENNET, T. B. **Color atlas of comparative veterinary hematology. Normal and abnormal blood cells in mammals, birds and reptiles**. Canadá: Iowa State University Press, 1989.

HAWKEY, C. M.; HART, M. G. Is the presence of Heinz bodies diagnostic for "wasting marmoset syndrome"? **Medical Laboratory Sciences**, v. 43, p. S28, 1986. Supplementum 1.

HAWKINS, J. V.; CAPP, N. K.; CARSON, R. L.; HENKE, M. A.; MCCracken, M. D.; FAULKNER, C. T.; PATTON, S. Diagnosis and treatment of *Trichospirura leptostoma* infection in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 36, n. 1, p. 52-55, 1997.

IALEGIO, M.; BAKER, A. J. Results of a preliminary survey into wasting marmoset syndrome in callitrichid collections. **Proceedings ...Conference of the National Advisors Group of the American Zoo & Aquarium Association** 1995. p. 148-158.

IGARASHI, T.; SAKUMA, T.; ISOGAI, M.; NAGATA, R.; KAMATAKI, T. Marmoset liver cytochrome P450s: study for expression and molecular cloning of their cDNAs. **Archives of Biochemistry and biophysics**, v. 339, n. 1, p. 85-91, 1997.

IGRAM, J. C. Husbandry and observation methods of a breeding colony of marmosets (*Callithrix jacchus*) for behavioural research. **Laboratory Animals**, v. 9, p. 249-259, 1975.

IOACHIM, H. L. The normal lymph node. In: IOACHIM, H. L.; MEDEIROS, L. J. **Lymph node pathology**. 4a. edição, Ed. Wolters Kluwer e Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 2 – 15, 2009.

IPS INTERNATIONAL GUIDELINES FOR THE ACQUISITION, CARE AND BREEDING OF NONHUMAN PRIMATES. **Rimate report** v.25, p. 3-27, 1993

JACOBS, R. M.; VALLI, V. E. O. Bone marrow biopsies: principles and perspectives of interpretation. Sem. Vet. Med. Surg., 3: 176, 1988. In: JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**, ed. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 15-16, 1993.

JOHNSEN, D. O. History. In: BENETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. **Nonhuman primates in biomedical research. Biology and Management**. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Academic Press, p. 1-14, 1995.

JUAN-SALLÉS, C.; PRATS, N.; RESENDES, A.; DOMINGO, M.; HILTON, D.; RUIZ, J. M.; GARNER, M. M.; VALLS, X.; MARCO, A. J. Anemia, Myopathy, and pansteatitis in vitamin E-deficient captive marmosets (*Callithrix spp.*). **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 5, p. 540-547, 2003.

KAKINUMA, C.; HARADA, T.; WATANABE, M.; SHIBUTANI, Y. Spontaneous adrenal and hepatic myelolipomas in the common marmoset. **Toxicologic Pathology** v. 22, n. 4, p. 440-445, 1994.

KALISHMAN, J.; PAUL-MURPHY, J.; SCHEFFLER, J.; THOMSON, J. A. Survey of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. In a captive population of common marmosets. **Laboratory Animal Science** v. 46, n. 1, p. 116-119, 1996.

KHAN, K. N. M.; LOGAN, A. C.; BLOMQUIST, E. M. Idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia) in a marmoset (*Callithrix jacchus*): hematologic and histopathologic changes. **Veterinary Pathology**, v. 34, p. 341-345, 1997.

KIERNAN, J. A. **Sirius red staining for collagen**. Disponível em: http://www.ihcworld.com/_protocols/special_stains/sirius_red.htm. Acesso em 9 de Maio de 2010.

KING, G. J. An investigation into: "Wasting Marmoset Syndrome" at Jersey Zoo. **Annual Report Jersey Wildlife Preservation Trust** 13, p. 97-107, 1976.

KING JR., N. W. Vitamin E-responsive hemolytic anemia and necrotizing myopathy, owl monkey. In: JONES, T. C.; MOHR, U.; HUNT, R. D. **Nonhuman Primates II. Monographs n pathology of laboratory animals**. Oslo: Springer-Verlag, 1993. p. 226-232.

KORU, K.; YAMABE, E.; MATSUZAWA, A.; ONDA, D.; SUEMIZU, H.; SASAKI, E.; TANIOKA, Y.; YAGITA, .; SUZUKI, D.; KAMETANI, Y.; TAKAI, T.; TOYODA, A.; HABU, S.; SATAKE, M. Comparison of 30 immunity-related genes from the common marmosets with orthologues human and mouse. **Tohoku Journal Experimental Medicine**, v. 215, p. 167-180, 2008.

KRAMER, J. A.; KACHEY, A. M.; WACHTMAN, L. M.; MANSFIELD, K. G. Treatment of giardiasis in common marmosets (*Callithrix jacchus*) with tinidazole. **Comparative Medicine**, n. 59, v. 2, p. 174-179, 2009.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2005.

LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Veterinary laboratory medicine clinical pathology**. 4. ed., USA: Iowa State Press, p. 345-346, 1994.

LAYNE, D. G.; POWER, R. A. Husbandry, handling, and nutrition for marmosets. **Comparative medicine**, v. 53, n. 4, p. 351-359, 2003.

LEWIS, D. H.; STEIN, F. J.; SIS, R. F.; MCMURRAY, D. N. Fecal microbiota of marmosets with wasting marmoset syndrome. **Laboratory Animal Science**, v 37, n.1, p. 103-105, 1987.

LOGAN, A. C.; KHAN, K. N. M. Case report: clinical pathologic changes in two marmosets with wasting syndrome. **Laboratory Animal Pathology**, v. 24, n. 6, p. 707-709, 1996.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3ed., Universidade federal de Santa Maria, Departamento de clínica de pequenos animais, p. 77, 2007.

LOWENSTINE, L. J. A primer of primate pathology: lesions and nonlesions. **Toxicologic Pathology**, v. 31 (supl.), p. 92-102, 2003.

LUDLAGE, E.; MANSFIELD, K. Clinical care and diseases of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Laboratory Animal Science**, v. 53, n.4, p. 369-382, 2003.

MÄKI, M.; COLLIN, P. Coeliac disease. **The Lancet**, v. 349, p. 1755-1759, 1997.

MANSFIELD, K. Marmosets models commonly used in biomedical research. **Laboratory Animal Science**, v. 53, n. 4, p. 383-392, 2003.

MARQUES, F. S. **Investigação do caráter evolutivo/adaptativo do comportamento-doente na transmissão de agentes infecciosos**. 2009. 83p. Dissertação (mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MARTINS, M. M.; SETZ, E. Z. F. Diet of buffy tufted-eared marmosets (*Callithrix aurita*) in a forest fragment in Southeastern Brazil. **International Journal of Primatology**, v. 21, no. 3, p. 467-476, 2000.

METTA, V. C.; GOPALAN, C. A study of the vitamin K requirements of the monkey (*Macaca radiata*). **Indian Journal of Medical Research**, n 51, p. 512-515, 1963.

MILLER, D. G. Coeliac disease with autoimmune haemolytic anaemia. **Postgraduate Medical Journal**, v. 60, p. 629-630, 2009.

MILLER, G. F.; BARNARD, D. E.; WOODWARD, R. A.; FLYNN, B. M.; BULTE, J. W. Hepatic hemosiderosis in common marmoset, *Callithrix jacchus*: effect of diet on incidence and severity. **Laboratory Animal Science**, v. 47, n. 2, p. 138-142, 1997.

MILLS, J. P.; PENNISTON, K. L. TANUMIHARDJO, S. A. Extra-hepatic vitamin A concentration in captive Rhesus (*Macaca mulatta*) and marmoset (*Callithrix jacchus*) monkeys fed excess vitamin A. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 75, n. 2, p. 126-132, 2005.

MIRAGLIA, T.; LEDOUX, L.; BRANCO, A. L. Histological and histochemical data on the intestinal tract of the marmoset (*Callithrix jacchus*). **Acta Anatomica (Basel)**, v. 68, n. 3, p. 459-472, 1967.

MIRAGLIA, T.; SIQUEIRA, L. A.; GORINI, D.; PINTO, G. Histochemical data on the liver of the marmoset (*Callithrix jacchus*). **Acta Anatomica**, v. 91, p. 57-70, 1975.

MONTALI, R. J.; BUSH, M. Disease of the Callitrichidae. In: FOWLER, M.E.; MILLER, R. E. **Zoo & Wild Animal Medicine: Current Therapy 4**. 4th. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, p. 369-79, 1999.

MONTEIRO, J. P.; CUNHA, D. F.; CUNHA, S. F. C.; SANTOS, V. M.; VERGARA, M. L. S.; BIANCHI, M. L. P. Resposta de fase aguda, subnutrição e estado nutricional do ferro em adultos com AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 2, p. 175-180, 2000.

MOORE, D. M. Hematology of nonhuman primates. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Canadá: Wiley-Blackwell, 2000. p. 1133-1154.

MORAES, I. A.; LILENBAUM, W.; ALENCAR, N. X.; ALMOSNY, N. P.; CERQUEIRA, A. M.; UCHOA, C.; FERREIRA, A. M. R.; PISSINATI, A. Wasting syndrome in *Saguinus martinsi* ("Martin's bare-face tamarin") – Callitrichidae – Primates: Case report. **Acta Veterinária Brasília**, v. 1, n. 3, p. 94-98, 2007.

MORENA, F.; GISBERT, J. P. Anemia and inflammatory bowel disease. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, v. 100, n. 5, p. 285-293, 2008.

MORIN, M. L. A different approach in examining a wasting syndrome. **Laboratory Animals**, v. 12, p. 36-41, 1983.

OKASAKI, Y., KURATA, Y., MAKINODAN, F., KIDACHI, F., YOKOYAMA, M., WAKO, Y., YAMAGISHI, Y., KATSUTA, O., TAKECHI, M., AND TSUCHITANI, M. Spontaneous lesions detected in the common cotton-eared marmosets (*Callithrix jacchus*). **Journal Veterinary Medicine Science** 58, p. 181-190, 1996.

OMORPHOS, S. C.; RICE-EVANS, C.; HAWKEY, C. Heinz bodies do not modify the membrane characteristics of common marmoset (*Callithrix jacchus*) erythrocytes. **Laboratory Animals**, v. 23, p. 66-69, 1989.

OSMAN HILL, W. C.: Primates. Comparative anatomy and taxonomy. III. Pithecoidea. Platyrrhini (families Hapalidae and Callimiconidae), University Press, Edinburgh, 1957.

POTKAY, S. Diseases of the Callitrichidae: a review. **Journal of Medical Primatology**, v. 21, p.189-236, 1992.

PAGE, R. L. Hematologia / Oncologia. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunder: Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 165, 1998.

PENELLA, A. M.; CHÁPULI, B. A.; BOCH, M. P.; ESTEVE, M. S.; GUERRERO, S. H.; ROZALENT, C. C. **Anemias en el anciano**. Alicante, Espanha. Disponível em: www.a14.san.gva.es. Acesso em 28 de Maio de 2010.

PETERS, V. M.; GUERRA, M. O. Reproduction and amitenance of two species of marmoset in captivity. **Revista brasileira de biologia**, v. 58, n. 2, p. 169-173, 1998.

PFISTER, R.; HEIDER, K.; ILLGEN, B.; BEGLINGER, R. Trichospirura leptostoma: a possible cause of wasting disease in the marmoset. **Zeitschrift für Versuchstierkunde**, v. 33, n. 4, p. 157-161, 1990.

POBLETE, P. C. P. **Criatório comercial x criatório conservacionista**. Disponível em : http://www.zoovetconsultoria.com.br/divisao-animais-silvestres/textos-tecnicos/criatorio_come_x_criatorio_cons.pdf. Acesso em: 26 de Maio de 2010.

POOTRAKUL, P.; KITCHAROEN, K.; YANSUKON, P.; WASI, P.; FUCHAROEN, S.; CHAROENLARP, P.; BRITTENHAM, G.; PIPPARD, M. J.; INCH, C. A. The effect of erythroid hyperplasia on iron balance. **Blood**, v. 71, n. 4, p. 1124-1129, 1988.

PORTER, F. S.; FITCH, C. D. Vitamin E deficiency in the monkey. X. Protoporphyrin and haeme synthesis by peripheral blood and bone marrow. **Scandinavia Journal Haematology**, v. 3, p. 175-185, 1966.

POTKAY, S. Diseases of the Callitrichidae: a review. **Journal of Medical Primatology**, v. 21, p.189-236, 1992.

QUOHS, A.; MÄTZ-RENSING, K.; AHRENDTS, F.; KAUP, F. J. Wasting marmoset syndrome (WMS) in a *Callithrix geoffroyi* Monkey. **European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians (EAZWV)**, 4^o scientific meeting join with the annual meeting of the European Wildlife Disease Association (EWDA). Heidelberg, Alemanha, 2002.

RAPOSO, J. B. **Patologia do sistema muscular**. 2008. Disponível em: <http://coletivozonanorte.com.br/Patologia%20Sistema%20Muscular.pdf>. Acesso em 10 de Julho de 2010.

RAZOUK, F. H.; REICHE, E. M. V. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, n.2, p. 126-134, 2004.

RICHTER, C. B. Biology and disease of Callitrichidae. In: FOX, J. G.; COHEN, B. J.; LOEW, F. M. (eds.). **Laboratory Animal Medicine**. San Diego, Academic Press, p. 353-383, 1984.

RITO NOBRE, S.; SILVA, T.; PINA CABRAL, J. E. Doença celíaca revisitada. **Pontifica universidade católica do Paraná**. 14, p. 184-193, 2007.

RIZZATTI, E. G.; FRANCO, R. F. **Investigação diagnóstica dos distúrbios hemorrágicos**. Medicina, Ribeirão Preto, n. 34, capítulo 2, p. 238-247, 2001.

ROSAI, J. Special techniques in surgical pathology. In: ROSAI, J. **Acherman's Surgical Pathology**, 8 ed., St. Louis: Mosby, p.29-62, 1996.

ROSSI, R. E MOREIRA, E. Dados sobre a estrutura e histoquímica do fígado do sagüi (*Callithrix jacchus*). **Folia clinic Biology**, n. 36, p. 50-55, 1967.

ROUILLER, C. H. **The Liver-Morphology, Biochemistry, Physiology**, v. 1, Nova Iorque: Academic Press, 1963.

RYLANDS, A. B. Evolução do sistema de acasalamento em Callitrichidae In: ADES, C. **Etologia de Animais e de Homem**. São Paulo: Edicon, 1989. p. 87-108, 1989.

RYLANDS, A. B.; SCHNEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A.; GROVES, C. P.; RODRIGUES-LUNA, E. An assessment of the diversity of new world primates. **Neotropical Primates**, v. 8, n. 2, p. 61-93, 2000.

SÁ, L. R. M. **Síndrome de emagrecimento progressivo em calitriquídeos mantidos em cativeiro é um processo de má-absorção semelhante à doença celíaca no homem – Caracterização clínica, Laboratorial e anatomopatológica**. 2004.162p. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SAINSBURY, A. W.; KIRKWOOD, J. K.; APPLEBY, E. C Chronic colitis in common marmosets (*Callithrix jacchus*) and cotton-top tamarins (*Saguinus Oedipus*). **Veterinary Record**, v. 121, p. 329-330, 1987.

SAWHNEY, R.; MCRAE, B.; LAZARCHICK, J. Case report: A rare case of a multifocal extra-adrenal myelolipoma with markedly hypocellular bone marrow. **Annals of clinical and laboratory science** v. 36, n. 2, p. 208-211, 2006.

SCHROEDER, C.; OSMAN, A. A.; ROGGENBUCK, D.; MOTHES, T. IgA-gliadin antibodies, IgA-containing circulation immune complexes and IgA glomerular deposits in wasting marmoset syndrome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 14, p. 1875-1880, 1999.

SCHUPPAN, D.; JUNKER, Y.; BARISANI, D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. **Gastroenterology**, v. 137, n. 6, p. 1912-1933, 2009.

SCOTT, G. B.D. **Comparative primate pathology**. Nova Iorque: Oxford University Press, 1992.

SCULLION, F. T.; BROWN, P. J.; POTTS, E. A. A survey in a breeding group of cotton top tamarins (*Saguinus oedipus*). **Verhandlungsbericht des Erkrankungen der Zootiere**, v. 29, p. 239-245, 1987.

SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. **Doenças do fígado e do sistema biliar**. São Paulo: Guanabara, 2004. 599p.

SHIMWELL, M.; WARRINGTON, B. F.; FOWLER, J. S. L. Dietary habits relating to "wasting marmoset syndrome" (WMS). **Laboratory Animals**, v. 13, p. 139-142, 1979.

SIROIS, M. **Medicina de Animais de Laboratório: Princípios e Procedimentos**. Editora Roca, São Paulo, 2008, p. 207-233.

SOARES, B. M. **Manual de diagnóstico e tratamento de doença falciforme**. Brasília: ANVISA, 2001.

SOLECKI, R.; ZGLINICKI, T. V.; MÜLLER, H. M.; CLAUSING, P. Iron overload of spleen, liver and kidney as a consequence of hemolytic anaemia. **Experimental Pathology**, v. 23, p. 227-235, 1983.

SOUSA, M. B.; LEÃO, A. C.; COUTINHO, J. F.; OLIVEIRA RAMOS, A. M. Histopathology findings in common marmosets (*Callithrix jacchus* Linnaeus, 1758) with chronic weight loss associated with bile tract obstruction by infestation with *Platynosomum* (Loos, 1907). **Primates**, v. 49, n. 4, p. 283-287, 2008.

STALKER, M. J.; HAYES, M. A. Liver and biliary system. In: MAXIE, M. **Pathology of Domestic Animals**, v. 3, 5. ed. Ontario: Elsevier, 2007.

STEIN, F. J.; SMALLWOOD, J. E.; TANGNER, C. H. Jr.; HIGHTOWER, D.; JOINER, G. N. A juxtarenal myelolipoma in a cottontop marmoset (*Saguinus oedips*): a case report. **American Journal Primatology** v. 2, p. 215-221, 1982.

TARDIF, S. D.; SMUCNY, D. A.; ABBOTT, D. H.; MANSFIELD, K.; SCHULTZ-DARKIN, N.; YAMAMOTO, M. E. Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Comparative Medicine**, v. 553, n.4, p. 364-368, 2003.

TEIXEIRA, D. S. **Níveis de 25 (OH) vitamina D entre primatas da espécie *Callithrix penicillata*, expostos e não expostos a luz solar**. 2008, 82p. Tese (mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

TEIXEIRA, D. S. 25-hydroxy-vitamin D levels among *Callithrix penicillata* primate species raised in captivity. **Journal Medicine Primatology**, v. 39, n. 2, p. 77-82, 2010.

THRALL, M. A. Anemia regenerativa. p. 89-113. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007.

TISCHENDORF, P.; WOLFE, L. G. Extramedullary hematopoiesis in marmosets following blood loss. **Laboratory Animal Care**, v. 20, n. 4 (I), p. 697-702, 1970.

TOLL, E. M. V.; CARRETERO, M. E.; SÁ, L. R. M. Avaliação clínica de calitriquídeos mantidos em cativeiro: escore de condição corporal como um critério de diferenciação para saguis com síndrome de emagrecimento progressivo. **16º. SIICUSP**, Piracicaba, 2008.

TOMMASO, A. M. A.; JORGE, S. G. **Fígado**. Disponível em: <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/corpo-humano-sistema-digestivo/figado-3.php>. Acesso em 31 de Maio de 2010.

TURCKER, M. J. A survey of the pathology of marmoset (*Callithrix jacchus*) under experiment. **Laboratory Animals**, v. 18, n. 4, p. 351-358, 1984.

TURTON, J.; HOOSON, J. The urinary system. In: TURTON, J.; HOOSON, J. **Target organ pathology**. London: Taylor & Francis, p. 123, 1998.

VALLE, C. M. D. R. **Estudo morfofuncional de rins de primatas *Calithrix jacchus* em cativeiro**. 2008.158p. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

VALLI, V. E. Veterinary comparative hematopathology. Oxford: Blackwell, 558p., 2007.

VERONA, C. E. S. V.; PISSINATI, A. Primates - Primatas do Novo Mundo (Sagüi, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007.

VITALE, A.; MANCIOCCO, A. Environmental enrichment techniques in non-human primates. The case of Callitrichids. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 40, n. 2, p. 181-186, 2004.

WALKER, D. Esfregaços de sangue periférico. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. São Paulo: MedVet, p. 390-422, 2009.

WILLIAMS, D.A. Malabsorption, small intestinal bacterial overgrowth, and protein-losing enteropathy. IN: GUILFORD, W.G; CENTER, S.A.; STROMBECK, D.R.; WILLIAMS, D.A. ; MEYER, D.J. **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**, 3 ed. New Zealand: Saunders Company, p. 367- 380, 1996.

WIISMAN, M. **Marmoset wasting disease: a cause found at last?** 2005. Disponível em: <http://www.monkeyzone.com/wastingdisease.html>. Acesso em 20 de Maio de 2010.

WIISMAN, M. Nutrition and husbandry of callitrichids (marmosets and tamarins). **Veterinary Clinics of North American Exotic Animal Practice** n. 2, v. 1, p. 209-240, 1999.

XAVIER, J. G. Repercussão estruturais da desnutrição protéica e renutrição em tecidos linfo-hematopoiéticos de camundongos. 1999. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 186-195, 1999.

YARBROUGH, L. W.; TOLLETT, J. L.; MONTREY, R. D; BEATTIE, R. J. Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus* jacchus). **Laboratory Animal Science**, v. 34, p. 276-280, 1984.

YILDIZ, L.; AKPOLAT, I.; ERZURUMIU, K.; AYDIN, O.; KANDEMIR, B. Giant adrenal myelolipoma: Case report and review of the literature. **Pathology Internacional**, v. 50, p. 502-504, 2000.

ZÖLLER, M.; MÄTZ-RENSING, K.; KAUP, F. J. Pathogenetic investigations into wasting marmoset syndrome in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians (EAZWV)**, 6^o scientific meeting join with the annual meeting of the European Wildlife Disease Association (EWDA). Budapeste, Hungria, 2006.

APÊNDICE A

Tabela 14 - Avaliação do intestino delgado dos animais grupo I.

Animal	V:C ¹	Vilo ²	Cripta	Inflamação			Ulceração	LIE ³
				Monócitos	Neutrófilos	Eosinófilos		
1	3	3	3	2	0	0	1	3
2	3	3	3	3	0	0	1	1
3	2	2	2	3	0	0	0	2
4	3	2	3	2	1	1	1	2
5	3	3	3	3	2	0	0	2
6	1	2	2	2	0	0	0	0
7	1	2	3	3	0	0	1	2
8	3	3	2	3	2	0	1	0
9	3	2	3	2	0	0	0	0
10	1	3	2	2	2	0	0	2
11	3	2	3	2	1	0	1	1
12	1	3	3	2	1	0	1	0
13	2	3	1	2	1	0	0	0
14	3	3	2	2	0	0	0	0
15	3	3	3	2	0	0	0	2
16	2	3	3	2	1	0	0	1
17	3	3	3	2	0	0	0	0
18	2	2	1	2	2	0	0	3
19	1	2	3	3	1	0	1	3
20	1	2	3	3	0	0	1	0
22	1	2	3	2	1	0	0	2
23	2	1	2	1	0	0	0	1
24	1	2	2	2	0	0	0	3

¹ relação vilosidade intestinal e cripta; ² vilosidade intestinal; ³ linfócitos intraepiteliais.

APÊNDICE B

Tabela 15 - Avaliação do intestino delgado dos animais grupo II.

Animal	V:C ¹	Vilo ²	Cripta	Inflamação			Ulceração	LIE ³
				Monócitos	Neutrófilos	eosinófilos		
1	3	3	3	0	3	0	0	0
2	3	3	3	0	3	0	0	0
3	3	3	1	0	3	0	0	0
4	2	2	2	0	1	0	0	0
5	3	3	3	0	2	0	1	0
6	2	2	1	2	0	0	0	2
7	2	2	2	2	0	0	0	2
8	2	3	2	3	1	0	1	2
9	3	3	3	0	3	0	1	0
10	2	2	2	2	0	0	0	2
11	0	0	0	1	0	0	0	0
12	3	3	3	0	2	0	3	0
13	2	3	2	2	0	1	0	1
14	0	1	1	2	0	0	0	1
15	3	3	2	0	2	0	0	0
16	0	1	1	2	1	0	0	2
17	2	2	2	0	3	0	3	0
18	3	3	3	0	2	0	1	0
19	3	3	3	0	3	0	3	0
20	2	2	1	2	0	0	0	2
21	2	2	2	0	2	0	2	0
22	2	2	2	0	1	0	0	0
23	2	2	2	3	2	0	0	2

¹ relação vilosidade intestinal e cripta; ² vilosidade intestinal; ³ linfócitos intraepiteliais.

ANEXO A - PROCEDIMENTOS EXAMES LABORATORIAIS

Exame de urina

1. Exame físico: realizado antes da centrifugação da amostra. A avaliação física inclui: volume da amostra, coloração, aspecto, odor e densidade urinária (utilizando refratômetro manual).
2. Exame químico: avaliado através de tiras reagentes Uriquest® marca Labtest®. As urinas foram transferidas para tubos de centrifugação e assim as tiras já foram molhadas durante o procedimento, retirando o excesso no papel absorvente. Após um minuto de espera, procedeu-se a leitura, em sequência, comparando a coloração desenvolvida na tira com a escala de cores do tubo.
3. Exame sedimento: As amostras de urina foram centrifugadas por 5 minutos a 1000rpm e o sobrenadante foi retirado. O sedimento urinário foi homogenizado e uma gota foi colocada entre lâmina e lamínula e observado ao microscópio, com aumentos de 100x e 400x.

Hematologia clínica

1. Para colheita de sangue dos animais, valeu-se da punção da veia femural.
2. O sangue colhido foi colocado em tubos capilares com heparina, fechando um dos lados com massa de modelar. Esses tubos capilares foram centrifugados em microcentrífuga a 10.000 rpm por 5 minutos, realizando a leitura em cartão especial para hematócrito. Os capilares de hematócritos foram quebrados e do plasma realizou-se a dosagem de proteína plasmática em refratômetro.
3. Uma gota de sangue fresco colhido foi colocada em lâmina de vidro (devidamente limpa) para esfregaço de sangue (sem EDTA). A secagem do esfregaço foi forçada movendo-se a lâmina no ar.
4. Quando colhido volumes adequados, o sangue foi colocado em tubo Microvette® com EDTA da marca Sarstedt® para 200µl de sangue e o restante em microtubo com gel separador da marca Sarstedt®, para estocagem do soro a -18°C.
5. Quando colhido amostras no tubo Microvette® com EDTA, foi realizado hemograma completo do animal. A contagem de hemácias foi feita manualmente em câmara de Neubauer, utilizando solução de Gower na diluição de 1:201 em micropipeta automática. Para dosagem de hemoglobina utilizou-se o reativo de Drabkin e leitura em

espectrofotômetro (comprimento de onda = 540 nm). O hematócrito foi realizado em tubo capilar centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos. A contagem de plaquetas foi feita manualmente em câmara de Neubauer, utilizando-se líquido de Brecher na diluição 1:101 em micropipeta automática. A contagem de leucócitos totais também foi realizada manualmente, utilizando-se líquido de Thoma na diluição de 1:20 em micropipeta automática. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em esfregaço sangüíneo corado com Rosenfeld (corante de May-Grunwald-Giemsa, modificado por Rosenfeld), pelo qual também se realizou a avaliação morfológica celular sangüínea. A contagem de reticulócitos, com coloração supra-vital, foi realizada em microscopia de imersão, baseando-se na quantidade de hemácias por campo. O valor de proteína plasmática foi determinado por refratometria.

ANEXO B

Tabela 16 - Valores de referências conforme espécie.

VALORES DE REFERÊNCIA							
Esp.	Hemácias	Hemoglobina	Hematócrito	VCM	CHCM	Ret.	Eritr.
STB	6,07 ± 1,06	15,4 ± 2	47,2 ± 7,7	76,7 ± 10,3	33,4 ± 3,7	-----	5 ± 4
STP	6,09 ± 0,71	14,9 ± 1,5	46,5 ± 3,4	70,7 ± 10,5	32,3 ± 1,1	-----	9 ± 7
SCB	7,12 ± 1,12	15,9 ± 18	49,2 ± 5,6	70,6 ± 10,5	32,2 ± 2,5	55 ± 0	5 ± 5

Legenda: Esp. = espécie (sagui-tufo-branco – STB; sagui-tufo-preto – STP; sagui-cara-branca – SCB); Hemácias (milhões/mm³); Hemoglobina (g/dl); Hematócrito (%); VCM = volume corpuscular médio (μ³); CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média (%); Ret. = reticulócitos (%); Eritr. = eritroblastos (/100 leucócitos). Valores de referência: International Species Information System Physiological Data Reference Values, 2002.