

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Achados patológicos e moleculares de infecção por nematódeos filarídeos em primatas
do Novo Mundo na região Sul do Brasil**

Luiza Presser Ehlers

Porto Alegre, 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Achados patológicos e moleculares de infecção por nematódeos filarídeos em primatas do
Novo Mundo na região Sul do Brasil

Autora: Luiza Presser Ehlers

**Tese apresentada como requisito para a
obtenção de grau de Doutora em Ciências
Veterinárias na área de concentração em
Patologia Animal e Patologia Clínica, na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.**

Orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Sonne

Porto Alegre, 2023

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

CIP - Catalogação na Publicação

Ehlers, Luiza Presser

Achados patológicos e moleculares de infecção por
nematódeos filarídeos em primatas do Novo Mundo na
região Sul do Brasil / Luiza Presser Ehlers. -- 2023.
47 f.

Orientadora: Luciana Sonne.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,
BR-RS, 2023.

1. Primatas neotropicais. 2. Doenças parasitárias.
3. Filariose. 4. Dipetalonema spp. I. Sonne, Luciana,
orient. II. Título.

Luiza Presser Ehlers

ACHADOS PATOLÓGICOS E MOLECULARES DE INFECÇÃO POR NEMATÓDEOS
FILARÍDEOS EM PRIMATAS DO NOVO MUNDO NA REGIÃO SUL DO BRASIL

APROVADO POR:

Prof. Dra. Luciana Sonne
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini
Membro da Comissão

Prof. Dra. Renata Assis Casagrande
Membro da Comissão

Prof. Dr. Djeison Lutier Raymundo
Membro da Comissão

RESUMO

Estudos parasitológicos são importantes para avaliar a saúde das espécies e populações, e sua vulnerabilidade a infecções, para desenvolver estratégias precisas de manejo e conservação. A pesquisa em nematódeos filarídeos parece ser bastante negligenciada, além disso, a relação entre a ocorrência desses parasitos e doença, assim como a caracterização das lesões causadas por esses agentes em primatas residentes na América do Sul é pouco documentada. Este trabalho teve como objetivo descrever a ocorrência, achados patológicos e moleculares em primatas do Novo Mundo residentes na região Sul do Brasil infectados por nematódeos filarídeos. Realizou-se um estudo em 132 primatas neotropicais submetidos à exame *post mortem* no período de abril de 2017 a outubro de 2021. Foram selecionados casos que apresentavam infecção por nematódeos filarídeos. No total, 31.3% apresentavam infecção por nematódeos filarídeos, dos quais 35 eram bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) e dois eram macacos-pregos (*Sapajus nigritus*). A causa da morte decorrente da infecção pelos nematódeos filarídeos foi diagnosticada em somente um caso, no qual a fibrose devido a migração parasitária ocasionou um encarceramento intestinal. A polisserosite, o principal achado de necropsia, e as formas adultas de nematódeos filarídeos, foram visualizados com maior frequência na cavidade abdominal, seguida pela na cavidade torácica e no saco pericárdico. Principais achados microscópicos compreenderam pericardites e pleurites fibrosas, por vezes fibrinosas, associadas principalmente à infiltrado linfo-histiocítico e eosinofílico, bem como, à secções de formas adultas e às microfilárias. Todas amostras foram positivas para o gene panfilarial ITS-2 através da reação em cadeia da polimerase. Onze amostras foram selecionadas para o sequenciamento; através da árvore filogenética, foi demonstrado que uma sequência ficou estreitamente relacionada à espécie *Dipetalonema gracile*, enquanto que as outras dez amostras formaram uma estreita relação ao gênero *Dipetalonema*. A identificação dos parasitos em primatas neotropicais e sua relação com as lesões causadas por esses é uma ferramenta importante para estudar e avaliar o estado de saúde de uma população, como também, o risco de doenças das populações silvestres.

Palavras chaves: Primatas neotropicais. Doenças parasitárias. Filariose. *Dipetalonema* spp.

ABSTRACT

*Parasitological studies are important to assess the health of species and populations and their susceptibility to infection so that accurate management and conservation strategies can be developed. Research on filarid nematodes seems to be quite neglected. Moreover, the relationship between the occurrence of these parasites and diseases, as well as the characterization of lesions caused by these pathogens in primates living in South America, is poorly documented. The aim of this work was to describe the occurrence, pathological and molecular findings in New World primates living in southern Brazil infected with filarial nematodes. A study was conducted on 132 Neotropical primates examined post mortem from April 2017 to October 2021. Cases were selected that had filarial nematode infection. A total of 31.3% were infected with filarial nematodes, including 35 howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) and two capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*). The cause of death due to filarial nematode infection was diagnosed in only one case, in which fibrosis due to parasite migration led to intestinal obstruction. Polyserositis, the most important necropsy finding, and adult forms of filarial nematodes were more commonly seen in the abdominal cavity, followed by the thoracic cavity and pericardium. Major microscopic findings included fibrous pericarditis and pleuritis, sometimes fibrinous, mainly in association with lymphohistiocytic and eosinophilic infiltrate, and sections with adult forms and microfilariae. All samples were positive for the ITS-2 panfilarial gene by polymerase chain reaction. Eleven samples were selected for sequencing. Based on the phylogenetic tree, one sequence was shown to be closely related to the species *Dipetalonema gracile*, while the other ten samples were closely related to the genus *Dipetalonema*. The identification of parasites in neotropical primates and their association with the lesions they cause is an important tool for studying and assessing the health status of a population and the risk of disease in wild populations.*

Keywords: Neotropical primates. Parasitic disease. Filariasis. Dipetalonema spp.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 AMEAÇAS E IMPORTÂNCIA DE PRIMATAS NÃO HUMANOS	9
2.2 DOENÇAS INFECCIOSAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS	10
2.3 PARASITISMO EM PRIMATAS NEOTROPICAIS	11
2.3.1 Nematódeos filarídeos	12
2.3.1.1 Nematódeos filarídeos de primatas neotropicais	13
2.3.1.2 <i>Dipetalonema</i> spp.	14
2.3.1.3 Ciclo de Vida	15
3 ARTIGO	16
4 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	412

1 INTRODUÇÃO

Primatas não humanos (PNH) são de grande importância para a biodiversidade tropical e a muitas funções, processos e serviços no ecossistema (ESTRADA *et al.*, 2017). A mudança dramática na ecologia de seus habitats resultou em uma interface cada vez maior entre humanos, animais domésticos e PNH. Estrada *et al.* (2017) estimou que mais de 75% de todas as populações de espécies de PNH estão diminuindo. A velocidade e a extensão dessas mudanças ecológicas antropocêntricas são as principais pressões para doenças infecciosas emergentes originadas da vida selvagem (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). Com isso, estudos sobre a biodiversidade e a ecologia dos parasitas da vida selvagem foram negligenciados (THOMPSON; LYMBERY; SMITH, 2010).

A pesquisa sobre parasitas de primatas silvestres é de grande interesse devido à sua importância ecológica, através do conhecimento da diversidade parasitária, bem como instrumentos para avaliar a saúde do ecossistema e das populações silvestres, envolvendo as interações parasita-hospedeiro (GILLESPIE; NUNN; LEENDERTZ, 2008), sendo este grupo de animais particularmente vulneráveis a infecções parasitárias, devido as condições ambientais favoráveis, a dieta e o comportamento social estreito (SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018). Vários esforços têm sido feitos para determinar a fauna parasitária de primatas neotropicais. Entre os estudos parasitários, a pesquisa em nematódeos filarídeos é negligenciada, tanto em humanos como em animais silvestres (BUENO *et al.*, 2017; SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018; LOPES *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2023).

A filariose é um grupo de doenças causadas por nematódeos filarídeos pertencentes à família Onchocercidae. Diversas espécies podem ser encontradas em humanos e animais com alguns aspectos zoonóticos (ANDERSON, 2000). Dois gêneros dentro da Família Onchocercidae, *Mansonella* e *Dipetalonema*, são relatados infectando primatas não humanos nas Américas (DUNN; LAMBRECHT, 1963; BAIN *et al.*, 2015; LAIDOUDI *et al.*, 2020; LAIDOUDI *et al.*, 2021). Destes, seis espécies pertencem ao gênero *Dipetalonema* (LAIDOUDI *et al.*, 2020). Esses parasitos vivem em vários tecidos e cavidades fora do trato gastrointestinal (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012), frequentemente sem causar qualquer enfermidade e sinal clínico. Todavia, ocasionalmente podem induzir lesões como pleurite, peritonite fibrinopurulenta e adesão fibrinosa (BAKER, 2019).

A vigilância da fauna nativa é urgentemente necessária para documentar a diversidade de patógenos, estabelecer sua importância potencial na etiologia de doenças e identificar as circunstâncias de quando isso é mais provável de ocorrer (LLOYD-SMITH *et al.*, 2009;

SMITH; ACEVEDO-WHITEHOUSE; PEDERSEN, 2009). Entender o impacto desses parasitos em seus hospedeiros primatas é um aspecto que não deve ser negligenciado como parte vital da conservação dessas espécies. Estudos sobre nematódeos são escassos nos primatas dos Neotrópicos. Dessa maneira, esse trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de nematódeos filarídeos em primatas do Novo Mundo residentes na região Sul do Brasil, através de exames de necropsia. Como também, descrever os achados patológicos e moleculares associados à infecção desse agente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AMEAÇAS E IMPORTÂNCIA DE PRIMATAS NÃO HUMANOS

Os primatas não humanos (PNH) ocorrem em 90 países nos continentes africano, asiático e americano. Em escala decrescente de abundância são encontrados no Brasil, Madagascar, Indonésia e República Democrática do Congo 65% (286 de 439 espécies) da riqueza geral de espécies de primatas (ESTRADA *et al.*, 2018). Os PNH são essenciais para a regeneração das florestas tropicais devido ao seu papel insubstituível de dispersores de sementes, contribuindo assim para a retenção de carbono e mitigação indireta do aquecimento global (CHAPMAN *et al.*, 2013).

Recentemente, Estrada *et al.* (2017) demonstraram que 75% das espécies de PNH apresentam tendências de declínio populacional, e que 36% das espécies de PNH neotropicais (também conhecidas como macacos do Novo Mundo, infraordem Platyrrhini) estão listadas como ameaçadas pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN). Seis das 25 espécies de PNH mais ameaçadas são neotropicais (SCHWITZER *et al.*, 2019). Os fatores que contribuem para esse cenário são essencialmente a fragmentação das florestas tropicais americanas e a conversão das florestas em monoculturas e pastagens (ESTRADA *et al.*, 2017; SCHWITZER *et al.*, 2019). Dado o ritmo acelerado de expansão agrícola, estima-se que até o final do século 21 haverá um declínio de habitat de PNH, da ordem de 78% em território brasileiro (ESTRADA *et al.*, 2018).

Nesse contexto, os primatas são pressionados a ocupar fragmentos florestais próximos a áreas antropizadas, o que é inviável para a manutenção a longo prazo da maioria das espécies (ESTRADA; RABOY; OLIVEIRA, 2012). Consequentemente, acidentes por atropelamento ou eletrocussão, predação por cães, conflitos em áreas de cultivo e captura para manutenção como animais de estimação tornaram-se uma realidade para espécies de PNH periurbanas (JERUSALINSKY; AZEVEDO; GORDO, 2017; EHLERS *et al.*, 2021). A interação entre humanos e PNH também ocorre no comércio ilegal (SHANEE; MENDOZA; SHANEE, 2015), e na caça predatória, com esta última afetando aproximadamente 35% das espécies de primatas brasileiros (IUCN, 2020).

Saúde pública, bem-estar animal e transferência de patógenos de e para populações selvagens estão entre as principais questões atuais de preocupação no âmbito do conceito “*One-Health*”. Tais aspectos são ainda mais relevantes em localizações como a América do Sul, onde as taxas de biodiversidade diminuem e as de desmatamento está crescendo. Existem evidências convincentes de que a perda e a fragmentação do habitat podem favorecer o contato entre

humanos e outros animais, representando uma ameaça potencial para ambos. Neste cenário, os PNHs são de particular interesse por sua estreita relação filogenética com humanos, bem como, por seu reconhecido papel de reservatórios de agentes zoonóticos (THOMPSON, 2013; RONDÓN; CAVALLERO; RENZI, 2021).

2.2 DOENÇAS INFECCIOSAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS

As doenças infecciosas desempenham papéis importantes nos sistemas naturais, desde influenciar a diversidade genética do hospedeiro até alterar a composição das espécies em comunidades ecológicas (ALTIZER; NUNN; LINDENFORS, 2007).

Este cenário de habitats, recursos e patógenos pré-existent e/ou adquiridos comuns facilita o surgimento de doenças zoonóticas (KARESH *et al.*, 2012; SMITH *et al.*, 2012). Ademais, do ponto de vista epidemiológico, a transferência de patógenos entre animais selvagens e humanos é geralmente mais preocupante do que entre animais domésticos e humanos (DEVAUX *et al.*, 2019).

Deve-se considerar também que, ao contrário da maioria das espécies de mamíferos, os PNH são altamente sociais e formam grupos complexos e heterogêneos, o que aumenta exponencialmente a disseminação intraespecífica de doenças (CAPITANIO, 2012; YOUNG *et al.*, 2013).

A necessidade de melhor vigilância e pesquisa básica sobre doenças infecciosas é de suma importância. Os primatas silvestres podem servir como sentinelas, sinalizando quais patógenos representam um risco para os humanos na área imediata, bem como em países distantes (CHAPMAN; GILLESPIE; GOLDBERG, 2005).

Ademais, a perturbação antropocêntrica à nível do habitat pode exacerbar a transmissão do patógeno, afetando a distribuição e o comportamento dos primatas (ALTIZER *et al.*, 2006; GILLESPIE & CHAPMAN, 2006; GILLESPIE; NUNN; LEENDERTZ, 2008; YOUNG *et al.*, 2013), bem como vetores de doenças infecciosas como febre amarela, dengue e malária (ALTIZER *et al.*, 2006). Nesse sentido, estudos de PNH com capacidade de sobreviver em habitats moderadamente perturbados são de grande importância para a compreensão da dinâmica de transmissão de doenças infecciosas e para avaliar a capacidade dos primatas de servirem como sentinelas, alertando-nos antes que os patógenos atinjam áreas periurbanas e áreas urbanas (KOWALEWSKY *et al.*, 2011).

2.3 PARASITISMO EM PRIMATAS NEOTROPICAIS

A pesquisa sobre parasitas de primatas silvestres é de grande interesse devido à sua importância ecológica, através do conhecimento da diversidade parasitária, bem como instrumentos para avaliar a saúde do ecossistema e das populações silvestres, envolvendo as interações parasita-hospedeiro (GILLESPIE; NUNN; LEENDERTZ, 2008), sendo este grupo de animais particularmente vulneráveis a infecções parasitárias, devido as condições ambientais favoráveis, a dieta e o comportamento social estreito (SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018). Adicionalmente, a estreita história evolutiva compartilhada entre primatas e humanos fazem primatas modelos adequados para o estudo da transmissão de parasitas humanos dinâmica e evolução (SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018).

Numerosos gêneros de protozoários e metazoários foram descritos como infectando os membros de todos os principais grupos de primatas não humanos (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012). Alguns deles são considerados não patogênicos ou, pelo menos, seus efeitos prejudiciais ao hospedeiro ainda não foram elucidados (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012). Entretanto, uma alta carga parasitária pode ter consequências na saúde das populações de primatas como, por exemplo, aumentar a susceptibilidade à predação ou diminuir a aptidão competitiva do indivíduo e ter um impacto negativo na reprodução (CHAPMAN; GILLESPIE; GOLDBERG, 2005). Adicionalmente, pode causar perda nutricional ou produzir lesões que resultam em debilitação grave e podem criar oportunidades para infecções secundárias que podem ser fatais. Esse processo pode ser exacerbado pela imunossupressão e vários fatores estressantes (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012). Os primatas silvestres possuem um comportamento social caracterizado pelas interações frequentes, o que facilita a transmissão de algumas espécies parasitárias entre indivíduos (NUNN, 2012). Um dos exemplos de helmintos parasitos em primatas que dependem altamente do contato físico estreito entre os hospedeiros é o gênero *Trypanoxyuris*, e estaria intimamente ligado à coevolução com seus hospedeiros, existindo tantas espécies do gênero quanto espécies de hospedeiros primatas (CONGA *et al.*, 2016).

Como dito anteriormente, 75% das espécies de primatas são considerados em perigo de extinção (ESTRADA *et al.*, 2017), os estudos parasitológicos são importantes para avaliar a saúde das espécies e populações, e sua vulnerabilidade a infecções, para desenvolver estratégias precisas de manejo e conservação (ALTIZER; NUNN; LINDENFORS, 2007). Em comparação aos primatas do velho mundo, estudos sobre fatores que envolvem o parasitismo em primatas neotropicais ainda são escassos e focalizados em algumas espécies de hospedeiros. Atualmente, existem 171 espécies de primatas incluídos em 22 gêneros que habitam florestas na região

biogeográfica Neotropical (ESTRADA *et al.*, 2017). Estas espécies de primatas neotropicais representam 34% do total de espécies de primatas no mundo (ESTRADA *et al.*, 2017). Vários esforços têm sido feitos para determinar a fauna parasitária de primatas neotropicais. No entanto, essas informações são publicadas de forma dispersa e às vezes em recursos bibliográficos locais de difícil acesso (SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018).

Recentemente, a pesquisa em nematódeos filarídeos parece ser bastante negligenciada em parte por causa da logística e restrições éticas associadas à coleta de amostras de sangue ou tecido de populações protegidas de PNH (SOLÓRZANO-GARCIA & DE LEÓN, 2018).

2.3.1 Nematódeos filarídeos

Os nematódeos filarídeos são parasitas de tecidos e dos espaços entre os tecidos de todas as classes de vertebrados, exceto peixes. Pertencentes a superfamília Filarioidea que é dividida em duas famílias: Filariidae e Onchocercidae. Esses parasitos compreendem um grupo relativamente pequeno dentro do grande Filo Nematoda (Nemata) (ANDERSON, 2000). No entanto, a importância do grupo é considerável, pois compreende parasitos de relevância médica e veterinária (MORALES-HOJAS, 2001). A maioria dos parasitos da superfamília Filarioidea se desenvolve em espécies hospedeiras selvagens (mamíferos, pássaros, répteis e anfíbios) sem quaisquer sinais clínicos (VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

Os nematódeos filarídeos adultos são finos semelhantes a fios que vivem em tecidos, fluidos corporais ou cavidades corporais de seus hospedeiros definitivos. Variam, dependendo da espécie, de alguns centímetros a até 30 cm. As filarias fêmeas são geralmente muito maiores do que os machos. Os parasitos adultos podem sobreviver por anos, as fêmeas produzem larvas pequenas e primitivas chamadas microfíliárias que circulam por todo o sangue periférico ou vivem na pele e na região subcutânea do hospedeiro definitivo, medindo entre 100 a 400 μm (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012; CONGA *et al.*, 2018; VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

A família Onchocercidae contém cerca de 70 a 80 gêneros, e taxonomia desses parasitos ainda está em curso (ANDERSON, 2000). A morfologia desses parasitos ainda é pouco documentada e mostra altos níveis de homoplasia. Essas características dificultam o uso de caracteres morfológicos em estudos taxonômicos. As histórias evolutivas hipotéticas dos Onchocercidae e seus relacionamentos, portanto, dependem fortemente da sua gama de hospedeiros e de sua distribuição geográfica das espécies. Os números de estudos moleculares filogenéticos publicados que incluem diferentes gêneros da família Onchocercidae ainda são escassos, e as relações intergêneros ainda não estão completamente compreendidas. Assim, um

estudo filogenético multilocus mais abrangente da família Onchocercidae parece ser necessário para testar os diferentes cenários evolutivos propostos para a evolução dessa família (MORALES-HOJAS *et al.*, 2001; LEFOULON *et al.*, 2015).

Esta família inclui algumas das doenças parasitárias de grande importância aos humanos, embora em sua maioria sejam negligenciadas (MORALES-HOJAS *et al.*, 2001). Entre as doenças humanas causadas por nematódeos filarídeos estão a filariose linfática (também conhecida como elefantíase, causada pela infecção por *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* e *B. timori*), a oncocercose (também conhecida como “cegueira dos rios” ou “mal do garimpeiro”, causada pela infecção por *Onchocerca volvulus*), a loíase (causada pela infecção por *Loa loa*) e outras filarioses (como as causadas pelos gêneros *Mansonella* e *Dirofilaria*) (MORALES-HOJAS *et al.*, 2001). O conhecimento atual, bastante fragmentado, sugere que a maioria das infecções em PNH são assintomáticas (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012; VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

2.3.1.1 Nematódeos filarídeos de primatas neotropicais

Dois gêneros dentro da Família Onchocercidae, *Mansonella* e *Dipetalonema*, são relatados infectando primatas não humanos nas Américas (DUNN; LAMBRECHT, 1963; BAIN *et al.*, 2015; LAIDOUDI *et al.*, 2020; LAIDOUDI *et al.*, 2021). Destes, 13 espécies pertencem ao gênero *Mansonella* (Tetrapetalonema) e seis ao gênero *Dipetalonema* (BAIN *et al.*, 2015; LAIDOUDI *et al.*, 2020). Ainda, um estudo molecular recente relata a identificação de uma espécie não identificada de *Brugia* em um bugio-ruivo na Guiana Francesa (LAIDOUDI *et al.*, 2020).

A prevalência geralmente excede a 70%, e infecções múltiplas com duas a quatro espécies são comuns em áreas endêmicas para PNH (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012). As filárias desses dois gêneros vivem nas cavidades abdominal ou torácica e podem causar peritonite fibrinopurulenta resultando no aprisionamento dos parasitos, como também, podem infectar os tecidos subcutâneos causando pouca ou nenhuma inflamação (CHALIFOUX, 1993; STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012).

Os hospedeiros intermediários que transmitem o estágio larval dos filarídeos, são dípteros principalmente da família Ceratopogonidae (*Culicoides* spp.) e Simuliidae (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012; VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

2.3.1.2 *Dipetalonema* spp.

O gênero *Dipetalonema* pertence à família Onchocercidae, e teve outros nomes incluindo *Filaria* e *Acanthocheilonema* (CONGA *et al.*, 2018). Como citado anteriormente, o gênero *Dipetalonema* compreende 6 espécies, *Dipetalonema gracile* (RUDOLPHI, 1809); *Dipetalonema caudispina* (MOLIN, 1858); *Dipetalonema graciliformis* (FREITAS, 1943); *Dipetalonema robini* (PETIT, BAIN E ROUSSILHON, 1985); *Dipetalonema freitasi* (BAIN; DIAGNE; MULLER, 1987); e *Dipetalonema yatesi* (NOTARNICOLA; JIMENEZ; GARDNER, 2007).

Estudos filogenéticos conduzidos por Lefoulon *et al.* (2015) restringiu os hospedeiros do gênero *Dipetalonema* à PNH nos Neotrópicos. No entanto, a distribuição geográfica de *Dipetalonema* ao longo dos Neotrópicos é imprecisa porque a maioria dos registros são de primatas cativos ou apenas um hospedeiro, como pode ser visualizado na Tabela 1. No caso de *D. caudispina* e *D. gracile*, a maioria dos registros no século passado concentra-se no Brasil e na Guiana (FREITAS, 1943; NOTARNICOLA; PINTO; NAVONE, 2008) e abrange um número maior de hospedeiros primatas não humanos (WEBBER & HAWKING, 1955; NOTARNICOLA; PINTO; NAVONE, 2008).

D. gracile foi relatado nos Neotrópicos do Equador, Peru e Brasil como parasita de *S. sciureus*, *Ateles paniscus* e *Saguinus nigricollis*, *Lagothrix poeppigii* mas como as outras espécies do gênero, a maioria dos relatos não são geograficamente explícito (CONGA *et al* 2018). Devido à grande diversidade de hospedeiros e à dificuldade de alcançar grandes áreas geográficas para pesquisa, ainda permanece uma falta no conhecimento sobre as infecções naturais por filárias em primatas neotropicais (CONGA *et al.*, 2018).

Tabela 1. Registros da distribuição geográfica de *Dipetalonema* e de espécies de PNH hospedeiras nos Neotrópicos.

Nematódeo filarídeo	Espécie afetada	País/local	Referência
<i>Dipetalonema freitasi</i>	<i>Cebus capucinus</i>	Zoológico de Londres	BAIN; DIAGNE; MULLER, 1987
<i>D. robini</i>	<i>Saimiri sciureus</i>	Guiana	PETIT, BAIN; ROUSSILHON, 1985
	<i>Sapajus nigritus</i>	Argentina	VANDERHOEVEN; NOTARNICOLA; AGOSTINI, 2017
<i>D. graciliformis</i>	<i>Saguinus midas</i>	Guiana Francesa	FREITAS, 1943
<i>D. yatesi</i>	<i>Ateles chamek</i>	região de Beni na Bolívia	NOTARNICOLA; JIMENEZ; GARDNER, 2007

2.3.1.3 Ciclo de Vida

O ciclo de vida de filárias de primatas neotropicais ainda é indeterminado (CONGA *et al.*, 2018). No entanto acredita-se que seja similar ao ciclo da filária *Mansonella ozzardi*. O ciclo de vida é considerado indireto, e apresenta hospedeiros intermediários obrigatórios, os quais incluem uma extensa variedade de insetos hematófagos. As formas adultas dos nematódeos filarídeos situam-se na cavidade abdominal e torácica do hospedeiro; após a cópula, as microfilárias L1 migram para os capilares sanguíneos periféricos do hospedeiro, à espera para serem ingeridos por artrópodes hematófagos das Famílias Ceratopogonidae e Simuliidae (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012; VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

No hospedeiro intermediário, as larvas continuam a se desenvolver nos tecidos do vetor. Dentro do tubo digestivo do artrópode as microfilárias L1 migram para a cavidade hemocélica e posteriormente à musculatura torácica, maturam para L2. Após maturação da L3, esta migra para a região bucal do artrópode. Após o hospedeiro definitivo ser picado/mordido pelo artrópode, na circulação sanguínea a microfilária L3 inicia a fase parasitária, que migra pelos vasos sanguíneos até maturar ao estágio L4, onde procuram a sua localização final. No caso das filárias do gênero *Dipetalonema*, a localização final ocorre em membranas serosas que revestem a cavidade torácica e abdominal (STRAIT; ELSE; EBERHARD, 2012; VOTYPKA; BRZONOVA; PETRZELKOVA, 2020).

3 ARTIGO

Nesse item é apresentado o artigo intitulado “Achados patológicos e moleculares de infecção por nematódeos filarídeos do gênero *Dipetalonema* em primatas do Novo Mundo no Brasil”, o qual foi publicado no periódico *Parasitology Research*, <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07895-3> .

ORIGINAL MANUSCRIPT

Pathological findings associated with *Dipetalonema* spp. (Spirurida, Onchocercidae) infection in Neotropical monkeys from Brazil

Luiza Presser Ehlers^a, Mônica Slaviero^a, Cíntia De Lorenzo^a, Renata Fagundes-Moreira^b, Viviane Kelin de Souza^b, Lívia Perles^c, Vinicius Baggio-Souza^b, Marcos Antonio Bezerra-Santos^c, David Modrý^{d,e,f}, Michal Benovics^d, Welden Panziera^a, David Driemeier^a, Saulo Petinatti Pavarini^a, João Fabio Soares^b, Domenico Otranto^{c,g*}, Luciana Sonne^a

^a *Setor de Patologia Veterinária, Faculty of Veterinary, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

^b *Laboratório de Protozoologia e Rickettsioses Vetoriais, Faculty of Veterinary, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

^c *Department of Veterinary Medicine, University of Bari, Valenzano, Italy.*

^d *Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, 61137 Brno, Czech Republic*

^e *Department of Veterinary Sciences, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources/CINeZ, Czech University of Life Sciences Prague, 16500 Praha-Suchbát, Czech Republic*

^f *Biology Center, Institute of Parasitology, Czech Academy of Sciences, 37005 České Budějovice, Czech Republic*

^g *Faculty of Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.*

Abstract

Among vector-borne helminths, filarioids of the genus *Dipetalonema* (Spirurida: Onchocercidae) localize in several tissues and body cavities of different animal species without causing major lesions. The pathological findings associated with *Dipetalonema* spp. infection in Neotropical monkeys from southern Brazil are herein described, along with a fatal case due to filarial polyserositis and entrapment of an intestinal segment. At necropsy, nematodes were observed in abdominal and thoracic cavities, or in the pericardium of 37 (31.3%) out of the 118 individuals examined (i.e., 35 *Alouatta guariba clamitans* and two *Sapajus nigritus*). In addition, at histology 27.0% of positive animals presented microfilarie (inside blood vessels of lung, spleen, liver, and brain) and 8.1%, presented adults nematodes in the heart, lung and liver. In two cases, cross-sections of filarioids were associated with areas of epicardial thickening with intense fibrosis and pyogranulomatous inflammation in the brain, heart, liver, lungs, or spleen. The *cox1* gene was sequenced and analyzed to identify the nematode species collected; presence of *Wolbachia* was assessed in the filarioids using the 16S rRNA gene. At BLAST analysis of the *cox1* gene 10 sequences showed 91.7% nucleotide identity with *Dipetalonema gracile*, and two with *D. gracile* (98.5%) and *Dipetalonema graciliformis* (98.3%). Phylogenetic analyses clustered sequences the *cox1* obtained in this study in two clades corresponding with the host species. *Wolbachia* sp. endosymbiont was detected in four samples. A better understanding of diversity and biology of *Dipetalonema* spp. in South America is needed to assess the impact they may cause in native non-human primates from Brazil.

Keywords: Onchocercidae, vector-borne nematodes, filariasis, *Alouatta guariba clamitans*, *Sapajus nigritus*, pathology

1. Introduction

Filarioids of the genus *Dipetalonema* (Spirurida: Onchocercidae) are parasites localized in the subcutaneous, body cavities and other tissues of many animal species (Travi et al., 1985; Notarnicola et al., 2007), being vectored by arthropods, mainly of the genus *Culicoides* (Eberhard et al., 1979). These filarioids have been primarily described in wildlife animals, being most of them regarded as of minor or none pathogenicity (Travi et al., 1985; Karesh et al., 1998). In the Neotropical region, some *Dipetalonema* species (i.e., *D. gracile*, *D. graciliformis*, *D. freitasi*, *D. caudispina*, *D. yatesi* and *D. robini*) have been collected in body cavities and several tissues (e.g., subcutaneous, lung, spleen) from monkeys of the genera *Ateles*, *Cebus*, *Sapajus*, *Saimiri*, *Lagothrix* and *Saguinus* (Strait et al., 2012; Lefoulon et al., 2015; Vanderhoeven et al., 2017; Conga et al., 2018; Laidoudi et al., 2021, Zárata-Rendón et al., 2022). Though primates infected with these filarioids do not display clinical signs, pathological lesions such as pleuritis, fibrinopurulent peritonitis and fibrinous adhesion have been occasionally described (Travi et al., 1985; Strait, 2012; Baker, 2019).

Neotropical monkeys are a diverse group of arboreal primates that inhabit tropical forests (Rosenberg and Hartwig, 2001). In Brazil, monkeys of the genera *Alouatta* and *Sapajus* are distributed in different biomes, being often threatened due to anthropic pressures (e.g., dog attacks, hunting, road kills, and electric shock), as well as vector borne diseases, such as yellow fever (Moreno et al., 2015; Ehlers et al., 2021). Studies about the impact of filarioids on these animal species are scant and mainly limited to accidental macroscopic lesions (Bueno et al., 2017; Lopes et al., 2022). In this study, we describe pathological findings associated with *Dipetalonema* spp. infection in a large number of individuals sampled under the frame of a surveillance project on infectious diseases of Neotropical monkeys.

2. Methods

2.1 Sample collection

From April 2017 to October 2021, *Alouatta guariba clamitans* ($n = 107$) and *Sapajus nigritus* ($n = 11$) monkeys dead for different causes (e.g., dog attacks, road kills, electric shock, yellow fever, pneumonia, pleuropneumonia, hemorrhagic colitis, chronic renal failure, bacterial meningoencephalitis, and neoplasms) were collected and delivered to the Veterinary Pathology section of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul for *post-mortem* examination. Animals came from zoological gardens, wildlife rescue centers, institutes of protection of wildlife, wildlife keepers and veterinary clinics from Southern Brazil (see acknowledgments). The procedures described here were conducted in accordance with the Research Committee of the Faculty of Veterinary of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil (n. 33660) and SISBIO License 76286. Furthermore, this research was conducted in accordance with the Principles of the American Society of Primatologists for the Ethical Treatment of Non-Human Primates.

2.2 Pathological and molecular analysis

Adult nematodes were collected from abdominal cavity, thoracic cavity and/or pericardium, and subsequently frozen for further analysis. Nematodes collected at the necropsy were stored for further examination and fragments of organs (i.e., brain, diaphragm, heart, liver, lung, and spleen) were collected and fixed in 10% formalin solution. Afterwards, samples were embedded in paraffin, cut in 3 μm thick slices and stained using the hematoxylin and eosin (HE). Genomic DNA from 12 filarioids were extracted using the commercial kit Pure Link® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen™, Carlsbad, CA, EUA) according to the manufacturer's instructions. Samples were processed by conventional PCR (cPCR) assay using primers amplifying a portion (~689 bp) of the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit 1 (*cox1*) (Casiraghi et al., 2001). *Thelazia callipaeda* DNA was used as a positive control in PCR assays. In addition, samples were tested for *Wolbachia* spp. DNA through a cPCR targeting the 16S rRNA gene (Parola et

al., 2003) and all PCR products were visualized by UV transilluminator following electrophoresis in 2% red-stained agarose gel.

Amplicons of the expected size were purified and sequenced in both directions using the Big Dye Terminator v.3.1 chemistry in a 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, California, USA) in an automated sequencer (ABI-PRISM 377). Consensus sequences were edited and compared with reference sequences available on GenBank database using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). For each gene, sequences were selected for phylogenetic inferences based on BLAST results. The final dataset included 33 sequences, with *Thelazia callipaeda* selected as outgroup, and was aligned using the Fast Fourier transform algorithm in MAFFT (Kato et al. 2002) using G-INS-I refinement method, and the ends were manually trimmed to unify their length. All parameters for phylogenetic analyses were treated as variables, therefore GTR (the general time-reversible evolutionary model) was selected as the preferred evolutionary model to not *a priori* reduce the heuristic search. The shape parameter of the gamma distribution (G) and the proportion of invariable sites (I) were selected using jModelTest v 2.1.10 (Guindon and Gascuel 2003, Darriba et al. 2012) and the data were treated as partitioned, computing and applying the optimal substitution model for each position within codon individually. Phylogenetic analyses using maximum likelihood (ML) were computed employing RAxML v 8.1.12 (Stamatakis 2006, 2014). The best ML tree was selected from 100 iterations, and support for the branching pattern was validated through 10^3 pseudoreplicates. Phylogenetic analyses of Bayesian inference (BI) were carried out in MrBayes v 3.2 (Ronquist et al. 2012), and the resulting tree was constructed using the Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo algorithm. Four concurrent chains (one cold and three heated) ran for 10^6 generations, sampling trees every 100 generations. The first 30% of trees were discarded as a relative burn-in period after checking that the standard deviation split frequency fell below 0.01. Results were checked in Tracer v 1.7.1 (Rambaut et al. 2018) to assess convergence. Posterior

probabilities were calculated as the frequency of samples recovering particular clades. The best evolutionary model was chosen under the Akaike Information Criterion (AIC) using the iqTREE software (available at: <http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>). The phylogenetic analysis was performed by Bayesian analysis using CIPRES gateway (Ronquist and Huelsenbeck, 2003). Protein translation for *cox1* gene was performed with MEGA 11 software (Kumar et al., 2018) to check for whether the sequences contain incorrectly recognized nucleotides. Interspecific and intraspecific nucleotide divergence and the presence of haplotypes were evaluated according to criteria previously established by Ferri et al. (2009).

3. Results

Filarioid nematodes were detected in 37 (31.3%) individuals out of 118 primates necropsied, of which 35 were Southern Brown Howler Monkey (*A. clamitans*) and two Black-horned Capuchin (*S. nigritus*). Pathological gross lesions included polyserositis which it was characterized by proliferation of fibrosis ($n = 31/37$; 83.8%) (Figure 1A), and deposition of fibrinous material ($n = 18/37$; 48.6%) (Figure 1B, 1C). In addition, serosa adhesion ($n = 19/37$; 51.4%) and hydrothorax ($n = 9/37$; 24.3%) were observed. Filiform nematodes (3.0-10.0 cm in length) were associated with polyserositis and were free and/or adhered to the surface of organs, in the abdominal cavity (Figure 1D), thoracic cavity and pericardium (Figure 1E). In the intestine ($n = 1/37$; 2.7%), a focal area of fibrosis causing entrapment of the distal portion of the jejunum and the initial portion of the ileum (Figure 1F). Characteristics and frequency of the lesions observed in the animals are reported in Table 1 and Supplementary file 1.

At the histology, microfilariae ($n = 10/37$; 27.0%) were detected inside blood vessels and capillaries of multiple organs, including lung (Figure 2A), spleen, liver and brain, filled with multiple basophilic structures. Furthermore, cross sections of adult nematodes ($n = 3/37$; 8.1%) covered by eosinophilic cuticle, with apparent coelomyarian muscles and presenting lateral

cords were observed (Figure 2B), digestive and reproductive tracts. Nematodes were associated with areas of polyserositis in the heart (Figure 2C), lung and liver. In the lungs, pleural lesions were observed (Figure 2D), being thickened due to fibrosis, fibrin deposition, and inflammatory pattern of different nature (i.e., lymphohistiocytic and eosinophilic, pyogranulomatous or neutrophilic). Epicardial thickening was characterized by intense fibrosis (Figure 2E), fibrin deposition, associated with reactive mesothelial cells and predominantly lymphohistiocytic and eosinophilic inflammatory infiltrate. In two cases, cross-sections of adult forms of filarioids were observed in the epicardium.

Liver presented thickened Glisson's capsule, characterized by fibrosis covered by hyperplastic mesothelial cells, with fibrin deposition associated with a lymphohistiocytic and eosinophilic or pyogranulomatous inflammatory infiltrate. Similarly, longitudinal sections of microfilariae in the periportal region were associated with a mild inflammatory infiltrate, being predominantly lymphohistiocytic and eosinophilic.

Thickening of the spleen capsule was characterized by fibrosis, hyperplastic mesothelial cells, fibrin deposition associated with a slight lymphohistiocytic and eosinophilic or pyogranulomatous inflammatory infiltrate (Figure 2F).

At the BLAST analysis of the *cox1* gene, nucleotide identity ranged from 91.7% with *D. gracile* (Accession number: KP760179) in 10 entries (i.e., detected in *A. clamitans*), to 98.5% and 98.3% with *D. gracile* (Accession number: KP760180) and *D. graciliformis* (Accession number: KP760182), in two sequences (i.e., detected in *S. nigritus*), respectively (Table 2). The *cox1* sequences from the filarioids collected in the two primate species differed by the presence of seven silent mutations present in the two sequences from the specimens collected in *S. nigritus*. *Wolbachia* sp. endosymbiont was detected in four samples presenting 99.4% nucleotide identity (100% query coverage) with *Wolbachia* sp. endosymbiont from *D. gracile* (Accession number: KU255234).

The final alignment for phylogenetic analyses spanned 610 unambiguously aligned nucleotide positions and the results of both statistical analyses (BI and ML) showed that nucleotide sequences obtained from this study clustered in two clades, ten in a single separate clade, and two in a clade with *D. graciliformis* (Figure 3). All sequences obtained in this study were submitted in the GenBank database under the accession numbers: OQ508908 to OQ508919 (*cox1*), and OQ536153 to OQ536156 (16S rRNA).

4. Discussion

Data presented indicate that *Dipetalonema* spp. infections in Neotropical monkeys from Southern Brazil are associated with pathological lesions, such as those in the pericardium. In addition, a case of entrapment of an intestinal segment due to massive infection by these filarioids was also described, resulting in the death of a monkey (i.e., *A. clamitans*). Filarioids were mostly found in the abdominal cavity, as also reported in previous studies of *Dipetalonema* spp. in Neotropical primates (Notarnicola et al., 2008; Côrrea et al., 2016; Vanderhoeven et al., 2017; Lopes et al., 2022). The presence of filarioids inside the pericardium seems to be the cause of major lesions in the epicardium, due to the intense fibrin deposition and fibrosis in eight primates. In addition, focal area of fibrosis in the mesentery of one individual may have been caused by the migration of the parasites, resulting in ischemic necrosis of the intestinal portion with consequent death of the monkey.

Pathological lesions associated with the presence of similar filarioid species have been occasionally described in humans. For example, chronic fibrous and fibrinous pericarditis were reported in people infected with *Mansonella perstans* adult worms (Simonsen et al., 2011; Mediannikov and Ranque, 2018). In addition, polyserositis observed in animals from this study are similar to those described for *M. perstans* in humans, and by *Litomosoides sigmodontis* in rodents (Fercoq et al., 2019; Fercoq et al., 2020). Indeed, lesions caused by both nematode

species have been associated with the development of the adult filarioids in the cavities (Jaquet, 1980; Fercoq et al., 2020).

Infections by *Dipetalonema* spp. have been previously described in Neotropical primates causing mild peritonitis or chronic pleuritis, which are associated with areas of fibrous and occasionally, fibrinous adhesions (Chalifoux, 1993; Strait et al., 2012). Similarly, other pathological findings (e.g., polyserositis, peritonitis, eosinophilic or lymphocytic infiltration) have been associated with filarial nematodes (i.e., *Setaria tundra*, *Onchocerca flexuosa*) in other hosts such as cervids from Finland, Japan and Poland (Laaksonen et al., 2009; Kowal et al., 2013; Abd-Ellatieff et al., 2022). However, further description of the lesions was not performed to confirm whether the injuries were caused by the presence of the nematodes in the abdominal cavity (Laaksonen et al., 2007; Nikander et al., 2007).

The pathological lesions in the animals herein described could be an important health issue associated with *Dipetalonema* spp., since the filarioids infecting the primates from this study may cause clinical disease or even death depending on the infection intensity. These primates native to South America are considered threatened species (MMA, 2014; Jerusalinsky et al., 2020), with populations affected by anthropic activities (e.g., dog attacks, hunting, road kills, and electric shock), and endemic diseases such as yellow fever (Chiarello and Galetti, 1994; Bicca-Marques and Freitas, 2010). Therefore, confirming whether ubiquitous filarioids may represent a health problem for monkeys is of importance as a primary or concomitant cause of diseases in infected animals.

Obtained sequences of the *cox1* clearly separated the filarioids from *A. clamitans* and *S. nigritus* into separate clades. This fact, together with the low nucleotide identity with *D. gracile* (i.e., 91.7%), suggests that the specimens from *A. clamitans* may belong to a separate, presumably new, taxon within the genus *Dipetalonema*. Further studies should address in detail the

morphology of the adult nematodes combined with further molecular analyses to confirm their taxonomic status and described this filarioid as a new species within the genus *Dipetalonema*.

5. Conclusion

Data herein reported provide detailed description of pathological lesions associated with the infection by filarioids of the genus *Dipetalonema*, proving that these nematodes are able to cause disease in free ranging Neotropical monkeys. Understanding the life cycle, vectors, and transmission ecology of these nematodes in local ecological context, together with more material from free-ranging primates can answer arising questions about possible impact of filarioid parasites on populations of free-ranging primates, especially in a case of fragmented populations of threatened species.

Acknowledgments

We are grateful to the Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA-RS), Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS- RS), Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres (PRESERVAS – UFRGS), veterinarians and technicians from municipal and private zoo, local authorities, health surveillance centers, wildlife keepers, and veterinary clinics in the metropolitan region of Porto Alegre- RS.

Ethical standards

All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

Financial support

This study was funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Financial code 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Pro-Reitoria de Pesquisa of the Federal Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Propesq/UFRGS). The coauthors LP, MABS and DO were supported by the EU funding within the MUR PNRR Extended Partnership initiative on Emerging Infectious Diseases (Project no. PE00000007, INF-ACT). The authors JFS and LS are funded by Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq Grant #312576/2021-8 #307277/2021-6, respectively).

Conflict of Interest

The authors declare no competing interest.

References

Baker, D.G., 2019. Parasitic Diseases. In: Marini R, Wachtman L, Tardif S, Mansfield K, eds. The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research. Ed. Academic Press, USA.

Bicca-Marques J.C., de Freitas D.S., 2010. The Role of Monkeys, Mosquitoes, and Humans in the Occurrence of a Yellow Fever Outbreak in a Fragmented Landscape in South Brazil: Protecting Howler Monkeys is a Matter of Public Health. *Trop. Conserv. Sci.* 3 (1), 78-89. <https://doi.org/10.1177/194008291000300107>.

Bueno, M. G., Catão-Dias, J. L., de Oliveira Laroque, P., Arruda Vasconcellos, S., Ferreira Neto, J. S., Gennari, S. M., Ferreira, S.M., Laurenti, F., Umezawa, M.D., Kesper, E.S., Kirchgatter, N., Guimarães, K.O., Pavanato, L., Valença-Montenegro, M. M., 2017. Infectious

diseases in free-ranging blonde capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. *Int J Primatol.* 38 (6), 1017-1031. <https://doi.org/10.1007/s10764-017-9994-5>.

Casiraghi, M., Anderson, T.J.C., Bandi, C., Bazzocchi, C., Genchi, C., 2001. A phylogenetic analysis of filarial nematodes: comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitol.* 122, 93–103. <https://doi.org/10.1017/s0031182000007149>.

Chiarello, A., Galetti, M., 1994. Conservation of the brown howler monkey in southeast Brazil. *Oryx.* 28 (1), 37-42. <https://doi.org/10.1017/S0030605300028271>

Conga, D. F., Mayor, P., Furtado, A. P., Giese, E. G., Santos, J. N. dos , 2018. Occurrence of *Dipetalonema gracile* in a wild population of woolly monkey *Lagothrix poeppigii* in the northeastern Peruvian Amazon. *Rev Bras Parasitol Vet.* 27 (2), 154–160. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180014>.

Corrêa, P., Bueno, C., Soares, R., Vieira, F. M., Muniz-Pereira, L. C., 2016. Checklist of helminth parasites of wild primates from Brazil. *Rev. Mex. Biodivers.* 87 (3), 908–918. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.03.008>

Eberhard, M. L., Lowrie, R.C., Orihel, T.C., 1979. Development of *Dipetalonema Gracile* and *D. Caudispina* to the Infective Stage in *Culicoides Hollensis*. *J. Parasitol.* 65, (1), 89–95. <https://doi.org/doi:10.2307/3280209>

Ehlers, L. P., Slaviero, M., Bianchi, M. V., de Mello, L. S., De Lorenzo, C., Surita, L. E., Alievi, M. M., Driemeier, D., Pavarini, S. P., Sonne, L., 2022. Causes of death in neotropical primates

in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. *J. Med. Primatol.* 51 (2), 85–92.

<https://doi.org/10.1111/jmp.12557>.

Fercoq, F., Remion, E., Frohberger, S.J., Vallarino-Lhermitte, N., Hoerauf, A., Le Quesne, J., Landmann, F., Hübner, M.P., Carlin, L.M., Martin, C., 2019. IL-4 receptor dependent expansion of lung CD169+ macrophages in microfilaria-driven inflammation. *PLoS Negl Trop Dis.* 30, 13. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pntd.0007691>

Fercoq, F., Remion, E., Vallarino-Lhermitte, N., Alonso, J., Raveendran, L., Nixon, C., Quesne, J.L., Carlin, L.M., Martin, C., 2020. Microfilaria-dependent thoracic pathology associated with eosinophilic and fibrotic polyps in filaria-infected rodents. *Parasit Vectors.* 13 (1), 1-15.

Ferri, E., Barbuto, M., Bain, O., Galimberti, A., Uni, S., Guerrero, R., Ferté, H., Bandi, C., Martin, C., Casiraghi, M., 2009. Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda). *Front zool.* 6 (1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-6-1>.

Jaquet, C., 1980. *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919) Chandler, 1913 (Filarioidea) in Cotton Rats (*Sigmodon hispidus*, Say et Ord, 1825) and Jirds (*Meriones unguiculatus*, Milne-Edwards, 1867): comparison of the infection in relation to the immune response. Neuchâtel: Doctoral dissertation, University of Neuchâtel.

Jerusalinsky, L., Cortes-Ortíz, L., de Melo, F.R., Miranda, J., Alonso, A.C., Buss, G., Alves, S.L., Bicca-Marques, J., Neves, L., Ingberman, B., Fries, B., da Cunha, R., Mittermeier, R.A.,

Talebi, M., 2020. *Alouatta guariba*. The IUCN Red List of Threatened Species. e.T39916A17926390. (7).

Karesh, W. B., Wallace, R. B., Painter, R. L. E., Rumiz, D., Braselton, W. E., Dierenfeld, E. S., Puche, H., 1998. Immobilization and health assessment of free-ranging black spider monkeys (*Ateles paniscus chamek*). *Am. J. Primatol.* 44 (2), 107-123. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345)

Katoh, K. Rozewicki, J., Yamada, K.D., 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization, *Brief. Bioinform.* 20 (4), 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35 (6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

Lefoulon, E., Bain, O., Bourret, J., Junker, K., Guerrero, R., Cañizales, I., Kuzmin, Y., Satoto, T.B.T., Cardenas-Callirgos, J.M., Lima, S.S., Raccurt, C., Mutafchiev, Y., Gavotte, L., Martin, C., 2015. Shaking the tree: multi-locus sequence typing usurps current onchocercid (filarial nematode) phylogeny. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 9 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004233>.

Lopes, S., Calegario-Marques, C., Klain, V., Chaves, Ó. M., Bicca-Marques, J. C., 2022. Necropsies disclose a low helminth parasite diversity in periurban howler monkeys. *Am. J. Primatol.* 84 (1). <https://doi.org/10.1002/ajp.23346>.

Mediannikov, O., Ranque, S., 2018. Mansonellosis, the most neglected human filariasis. *New Microbes New Infect.* 26, S19–S22. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.08.016>.

MMA - Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 2014. Portaria no 443 de 17 de dezembro de 2014. Access in <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameacadas-de-extincao/atualizacao-das-listas-especies-ameacadas>. Accessed in march, 14 2023.

Moreno, E. S., Agostini, I., Holzmann, I., Di Bitetti, M. S., Oklander, L. I., Kowalewski, M. M., Miller, P., 2015. Yellow fever impact on brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) in Argentina. Metamodelling approach based on population viability analysis and epidemiological dynamics. *Mem I Oswaldo Cruz.* 110, 865–876. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150075>

Notarnicola, J., Pinto, C.M., Navone, G.T., 2008. Host occurrence and geographical distribution of *Dipetalonema* spp. (Nematoda: Onchocercidae) in Neotropical monkeys and the first record of *Dipetalonema gracile* in Ecuador. *Comp Parasitol.* 75 (1), 61-68. <https://doi.org/10.1654/4284.1>.

Parola, P., Cornet, J.P., Sanogo, Y.O., Miller, R.S., Thien, H.V., Gonzalez, J.P., Raoult, D., Telford III, S.R., Wongsrichanalai, C., 2003. Detection of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., and other eubacteria in ticks from the Thai-Myanmar border and Vietnam. *J Clin Microbiol.* 41 (4), 1600-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.4.1600-1608.2003>.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 12, 19 (12), 1572-4. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>. PMID: 12912839.

Rosenberger, A.L., Hartwig, W.C., 2013. *New World Monkeys in eLS*. John Wiley & Sons, Ltd. Ed. Chichester, UK.

Simonsen, P. E., Onapa, A. W., Asio, S. M., 2011. *Mansonella perstans* filariasis in Africa. *Acta trop.* S109–S120. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.01.014>

Stöver, B.C., Müller, K.F., 2010. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinform.* 11, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>.

Strait, K.S., Else, J.G., Eberhard, M.L., 2012. Parasitic Diseases of Nonhuman Primates. In: Abee CR, Mansfield K, Tardif S, Morris T. Ed. *Nonhuman Primates in Biomedical Research Diseases*. San Diego: Academic Press, USA.

Travi, B. L., Eberhard, M. L., Lowrie, R. C., 1985. Development of *Dipetalonema gracile* in the Squirrel Monkey (*Saimiri sciureus*), with Notes on Its Biology. *J. Parasitol.* 71 (1), 17–19. <https://doi.org/10.2307/3281971>

Vanderhoeven, E., Notarnicola, J., Agostini, I., 2017. Primer registro de *Dipetalonema robini* Petit, Bain & Roussillon 1985 (Nematoda: Onchocercidae) parásito de *Sapajus nigritus* en el noreste de Argentina. *Mastozool.* 24 (2): 483-488.

Zárate-Rendón, D. A., Salazar-Espinoza, M. N., Catalano, S., Sobotyk, C., Mendoza, A. P., Rosenbaum, M., Verocai, G., 2022. Molecular characterization of *Dipetalonema yatesi* from the black-faced spider monkey (*Ateles chamek*) with phylogenetic inference of relationships among *Dipetalonema* of Neotropical primates. IJP-PAW.17,152–157. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.01.005>

Abd-Ellatieff, H. A., Bazh, E. K., Hussin, S. M., Yamamoto, I., Yanai, T., & AbouRawash, A. A., 2022. *Onchocerca flexuosa*. sp. (Nematoda: Filarioidea) in Japanese Wild Sika Deer (*Cervus nippon*): Pathological and molecular identification. J parasit dis: 46 (2), 354–365. <https://doi.org/10.1007/s12639-021-01453-3>.

Laaksonen, S., Solismaa, M., Orro, T., Kuusela, J., Saari, S., Kortet, R., Nokander, S., Oksanen, A., Sukura, A., 2009. *Setaria tundra* microfilariae in reindeer and other cervids in Finland. Parasitol Res. 104, 257-265.

Kowal, J., Kornaś, S., Nosal, P., Basiaga, M., Lesiak, M., 2013. *Setaria tundra* in roe deer (*Capreolus capreolus*) new findings in Poland. Ann parasitol. 59 (4), 179–182.

Nikander, S., Laaksonen, S., Saari, S., Oksanen, A., 2007. The morphology of the filaroid nematode *Setaria tundra*, the cause of peritonitis in reindeer *Rangifer tarandus*. J Helminthol. 81 (01). <https://doi.org/10.1017/s0022149x07214099>.

Laaksonen, S., Kuusela, J., Nikander, S., Nylund, M., Oksanen, A., 2007. Outbreak of parasitic peritonitis in reindeer in Finland. *Vet Rec.* 160 (24), 835–841.
<https://doi.org/10.1136/vr.160.24.835>

Chalifoux, L.V., 1993. Filariasis, New World Primates. In: Jones, T.C., Mohr, U., Hunt, R.D. (eds) *Nonhuman Primates I. Monographs on Pathology of Laboratory Animals*. Springer, Berlin, Heidelberg. Germany. https://doi.org/10.1007/978-3-642-84906-0_32

Table 1. Main pathological findings (gross and histopathological) described in different anatomical locations of Neotropical primates along with their frequency.

Localization	Lesion	Frequency (n; %) (n=37)
Abdominal	Polyserositis (G)	31; 83.8%
	Adult nematodes (G)	34; 91.9%
Thoracic	Polyserositis (G)	21; 56.8%
	Adult nematodes (G)	14; 37.8%
Pericardium	Polyserositis (G)	8; 21.6%
	Adult nematodes (G)	5; 13.5%
Epicardium	Multifocal pale areas (G)	8; 21.6%
	Fibrosis (HE)	7; 18.9%
	Fibrin deposition (HE)	3; 8.1%
	Cross sections of adult nematodes (HE)	2; 5.4%
Myocardium	Multifocal pale areas (G)	1; 2.7%
	Fibrosis (HE)	1; 2.7%
Lungs	Pleural thickening (G)	19; 51.3%
	Reddish multifocal areas (G)	9; 24.3%
	Deposition of fibrinous material (G)	4; 10.8%
	Fibrosis (HE)	18; 48.6%
	Fibrin deposition (HE)	7; 18.9%
	Alveolar septa thickened (HE)	6; 16.2%
	Microfilariae (HE)	6; 16.2%
	Cross sections of adult nematodes (HE)	1; 2.7%
Liver	Enlargement and pallor (G)	5; 13.5%
	Thickened Glisson's capsule (G)	5; 13.5%
	Fibrosis (HE)	5; 13.5%
	Microfilariae (HE)	4; 10.8%
	Fibrin deposition (HE)	2; 5.4%
	Cross sections of adult nematodes (HE)	1; 2.7%
Mesentery	Focal area of fibrosis, causing ischemic necrosis of intestine segment (G)	1; 2.7%
Spleen	Microfilariae (HE)	4; 10.8%
	Thickening of the capsule (G)	3; 8.1%
	Fibrosis (HE)	3; 8.1%
	Fibrin deposition (HE)	2; 5.4%
Brain	Microfilariae (HE)	1; 2.7%

G: gross findings; HE: histopathological findings.

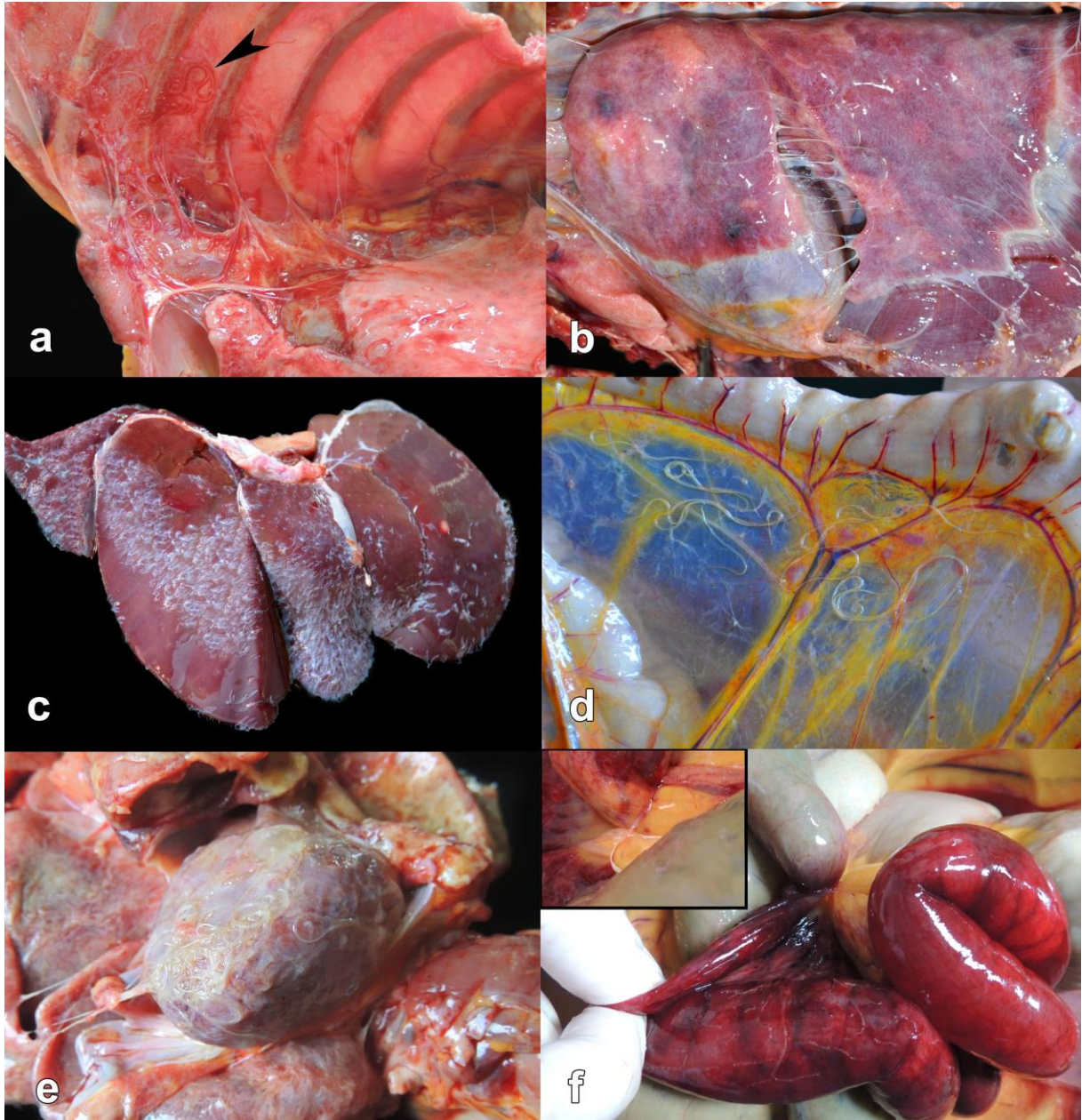


Figure 1. Gross lesions in *Alouatta guariba clamitans* (AG) and *Sapajus nigritus* (SN) monkeys infected by *Dipetalonema* spp. (A; case 2) Thoracic cavity with multifocal areas of fibrous adhesions in the visceral and parietal pleura associated with filarial nematodes (arrowhead) in an individual with polyserositis. (B; case 12) Thoracic cavity with proliferation of fibrous connective tissue in the visceral pleura causing adhesions in the lung. (C; case 7) Liver, marked proliferation of fibrous connective tissue in the form of fringes over the organ capsule. (D; case 13) Abdominal cavity, filarial nematodes in the mesentery. (E; case 13) Heart with epicardium presenting pale multifocal areas, and moderate adherence by

fibrous and fibrinous serositis associated with filarial nematodes. (F; case 20) Small intestine with entrapment of intestinal segment by focal area of fibrosis with fibrous polyserositis caused by filarial nematodes.

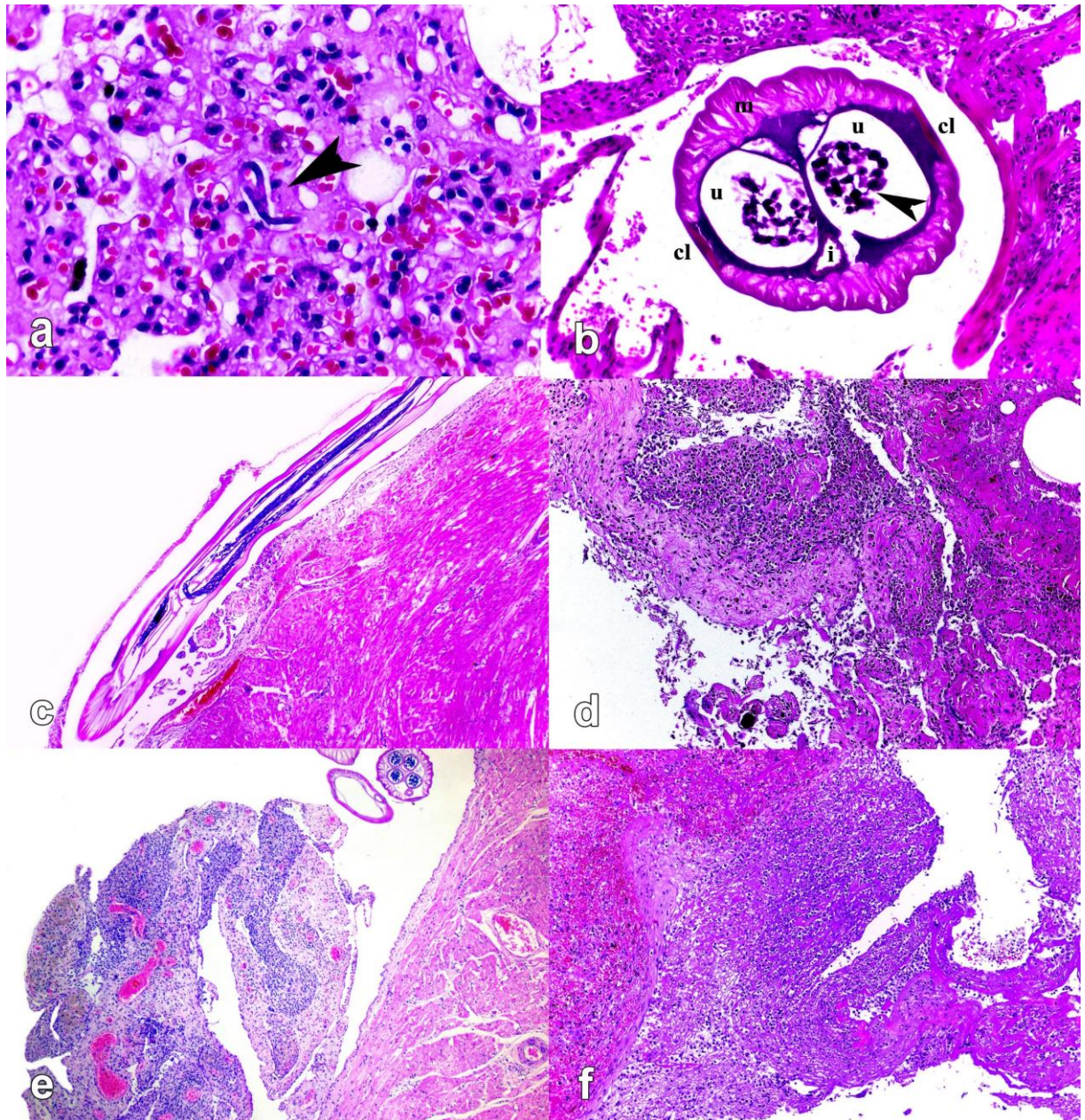


Figure 2. Histological findings of *Dipetalonema* spp. infection in *Alouatta guariba clamitans* (AG) and *Sapajus nigritus* (SN). (A; case 13) Lung, longitudinal section of 15 to 30 μ m microfilariae in the lumen of capillary in alveolar septum. Hematoxylin and Eosin (HE), \times 400. (B; case 24) Cross section of adult female filarial nematode showing coelomyarian muscles (m), lateral cords (cl), intestine (i), and uterus (u) with developing microfilariae (arrowhead), attached to fibrous and fibrinous serositis associated with a moderate pyogranulomatous infiltrate. HE, \times 400. (C; case 32) Heart, longitudinal section of an adult filarial nematode adhered to the epicardium and associated with mild fibrous serositis. HE, \times 40. (D; case 13)

Lung, moderate thickening of visceral pleura due to proliferation of fibrous connective tissue and fibrin deposition, lymphohistiocytic and eosinophilic infiltrate and focal mineralization. HE, $\times 200$ (E; case 13) Heart, fibrous and fibrinous serositis associated with inflammation, and filarial nematode cross-sections. HE, $\times 40$. (F; case 32) Spleen, fibrous and fibrinous serositis associated with an intense pyogranulomatous infiltrate. HE, $\times 100$.

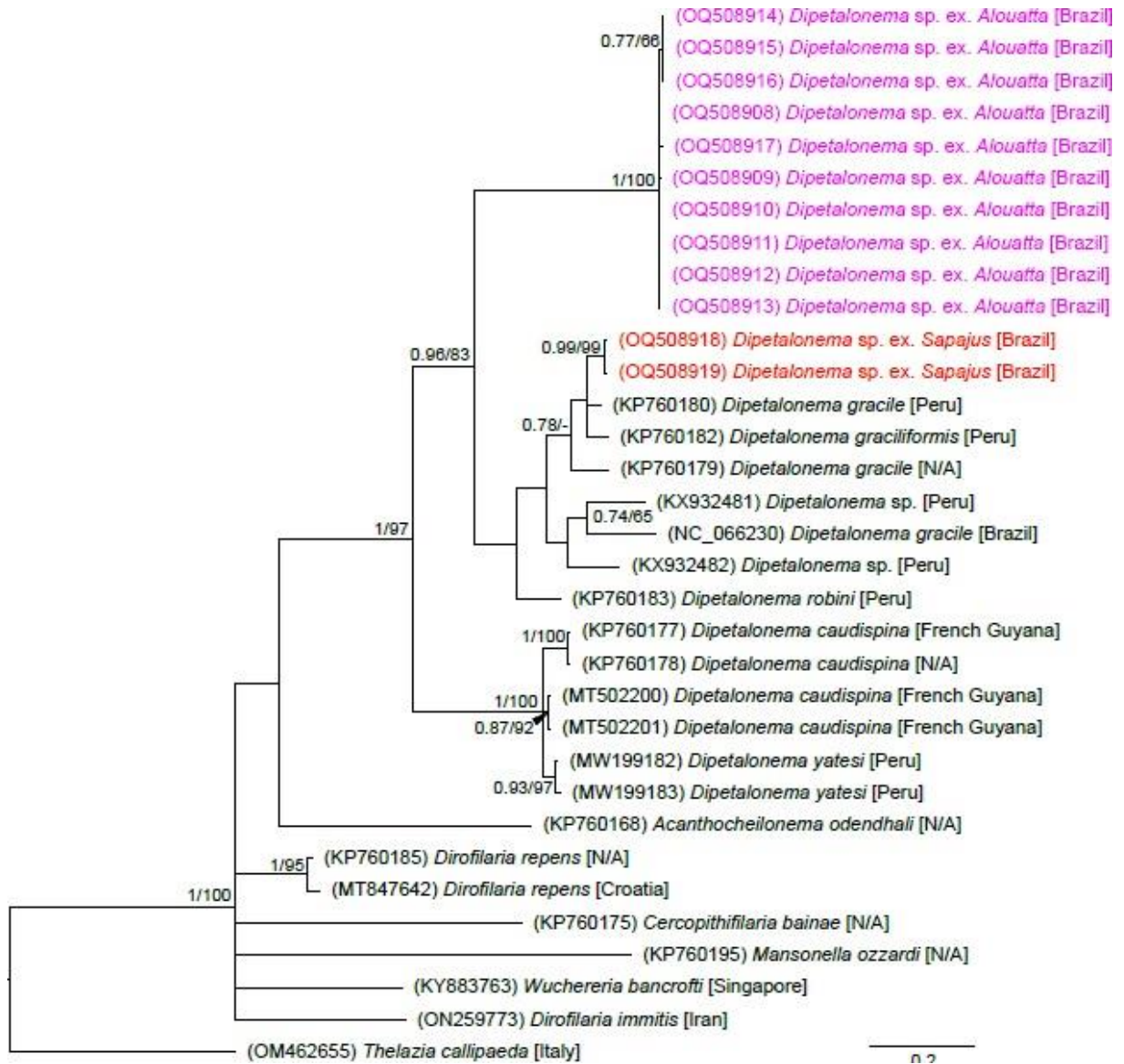


Figure 3. Phylogenetic tree of filarioid species built from partial sequences of *cox1* gene. Values at the nodes indicate posterior probabilities from BI and bootstrap values from ML analyses. Dashes indicate values below 0.70 and 50, respectively. Coloured are sequences obtained from *Dipetalonema* sp. specimens within this study: violet = specimens from *Alouatta guariba clamitans*; red = specimens from *Sapajus nigritus*.

4 CONCLUSÕES

A infecção por nematódeos do gênero *Dipetalonema*, foi detectada em 31,3% dos primatas do Novo Mundo submetidos à exame *post mortem*.

As formas adultas de *Dipetalonema* spp., foram visualizados com maior frequência na cavidade abdominal, seguida pela na cavidade torácica e no saco pericárdico.

Principal achado macroscópico correspondeu a polisserosites fibrosantes a fibrinosas, leves a moderadas na maioria dos casos. Entretanto, alguns casos a infecção apresentou um maior grau de severidade das lesões, principalmente quando acometeram a cavidade torácica e o saco pericárdico.

Além disso, foi descrita a primeira ocorrência do local de infecção e conseqüentemente de lesão por *Dipetalonema* spp. no saco pericárdico em primatas do Novo Mundo.

Principais achados microscópicos compreenderam peritonite, pleurites e pericardites fibrosantes, por vezes fibrinosas, associadas principalmente à infiltrado linfo-histiocítico e eosinofílico, bem como, à formas adultas e às microfilárias de *Dipetalonema* spp.

Este estudo demonstrou a possibilidade de ocorrência de lesões significativas secundárias à infecção por *Dipetalonema* spp. em primatas do Novo Mundo associadas ao óbito, como observado em um bugio com encarceramento de um segmento intestinal em meio à fibrose provocada pela migração parasitária.

As seqüências obtidas do *cox1* dividiu os nematódeos filarídeos de *A. clamitans* e *S. nigrinus* em clados separados. Este fato, juntamente com a baixa identidade de nucleotídeos com *D. gracile*, sugere que os espécimes de *A. clamitans* podem pertencer a um táxon separado, presumivelmente novo, dentro do gênero *Dipetalonema*. Novos estudos devem abordar em detalhes a morfologia dos nematódeos adultos combinados com análises moleculares adicionais para confirmar seu status taxonômico e descrever este filarioide como uma nova espécie dentro do gênero *Dipetalonema*.

REFERÊNCIAS

- ALTIZER, S. *et al.* Seasonality and the dynamics of infectious diseases. **Ecology Letters**, v. 9, p. 467-484, 2006.
<http://dx.doi.org:10.1111/j.1461-0248.2005.00879.x>
- ALTIZER, S.; NUNN, C. L.; LINDENFORS, P. Do threatened hosts have fewer parasites? A comparative study in primates. **Journal of Animal Ecology**, v. 76, p. 304-314, 2007.
<http://dx.doi.org:10.1111/j.1365-2656.2007.01214.x>
- ANDERSON, R. The superfamily Filarioidea *In*: Anderson R. (Ed.) **Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission**. UK: CABI, 2000, p. 467-532.
- BAIN, O.; DIAGNE, M.; MULLER, R. Une cinquième filaire du genre *Dipetalonema*, parasite de singes Sud-Américains [A 5th filaria of the genus *Dipetalonema*, parasite of South American monkeys]. **Annales de parasitologie humaine et comparee**, v. 62, n.3, p. 262–270, 1987.
<https://doi.org/10.1051/parasite/1987623262>
- BAIN, O. *et al.* Review of the genus *Mansonella* Faust, 1929 *sensu lato* (Nematoda: Onchocercidae), with descriptions of a new subgenus and a new subspecies. **Zootaxa**, v. 3918, n. 2, p. 151–193, 2015.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.3918.2.1>
- BAKER, D.G. Chapter 17 – Parasitic Diseases. *In*: MARINI, R.; WACHTMAN, L.; TARDIF, S.; MANSFIELD, K., (Eds.) **The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research**. USA: Academic Press, 2019, p. 289-303.
- BUENO, M.G. *et al.* Infectious diseases in free-ranging blonde capuchins, *Sapajus flavius*, in Brazil. **Int J Primatol**. v. 38, n. 6, p.1017-1031, 2017.
<https://doi.org/10.1002/ajp.23346>
- CAPITANIO, J. P. Social Processes and Disease in Nonhuman Primates: Introduction to the Special Section. **American Journal of Primatology**, v.74, p.491–496, 2012.
<http://dx.doi.org:10.1016/j.gde.2016.03.011>
- CHALIFOUX, L. V. Filariasis, New World Primates. *In*: JONES, T. C.; MOHR, U.; HUNT, R. D. (Eds.) **Nonhuman Primates I. Monographs on Pathology of Laboratory Animals**. Berlin: Springer, 1993, p. 206-214.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-84906-0_32
- CHAPMAN, C. A.; GILLESPIE, T. R.; GOLDBERG, T. L. Primates and the ecology of their infectious diseases: how will anthropogenic change affect host-parasite interactions? **Evolutionary Anthropology**, v. 14, p. 134-144, 2005.
<http://dx.doi.org:10.1002/evan.20068>
- CHAPMAN, C.A. *et al.* Are Primates Ecosystem Engineers? **International Journal of Primatology**, v.34, p.1–14, 2013.
<http://dx.doi.org:10.1007/s10764-012-9645-9>

CONGA, D. F. *et al.* Morphology of the oxyurid nematodes *Trypanoxyuris (T.) cacajao* n. sp. and *T. (T.) ucayalii* n. sp. from the red uakari monkey *Cacajao calvus ucayalii* in the Peruvian Amazon. **Journal of Helminthology**, v. 90, n. 4, p. 483-493, 2016.

<http://dx.doi.org:10.1017/S0022149X1500067X>

CONGA, D. F. *et al.* Occurrence of *Dipetalonema gracile* in a wild population of woolly monkey *Lagothrix poeppigii* in the northeastern Peruvian Amazon. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 154–160, 2018.

<https://doi.org/10.1590/s1984-296120180014>

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife - Threats to biodiversity and human health. **Science**, v.287, p.443–449, 2000.

<http://dx.doi.org:10.1126/science.287.5452.443>

DEVAUX, C.A. *et al.* Infectious Disease Risk Across the Growing Human-Non Human Primate Interface: A Review of the Evidence. **Frontiers in Public Health**, v.7, p.1–22, 2019.

<http://dx.doi.org:10.3389/fpubh.2019.00305>

DUNN, F.L.; LAMBRECHT, F.L. On some filarial parasites of South American primates, with a description of *Tetrapetalonema tamarinae* n. sp. from the Peruvian tamarin marmoset, *Tamarinus nigricollis* (Spix, 1823). **Journal of Helminthology**, v. 37, n. 4, p. 261-286, 1963.

<http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X00019866>

EHLERS, L.P. *et al.* Causes of death in neotropical primates in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. **J Med Primatol**, v. 51, n. 2, p. 85-95, 2021.

<http://dx.doi.org/10.1111/jmp.12557>

ESTRADA, A.; RABOY, B.E.; OLIVEIRA, L.C. Agroecosystems and Primate Conservation in the Tropics: A Review. **American Journal of Primatology**, v.74, n. 8, p.696–711, 2012.

<https://doi.org/10.1002/ajp.22033>

ESTRADA, A. *et al.* Impending extinction crisis of the world's primates : Why primates matter. **Science Advances**, v.3, p.e1600946, 2017.

<http://dx.doi.org:10.1126/sciadv.1600946>

ESTRADA, A. *et al.* Primates in peril: The significance of Brazil, Madagascar, Indonesia and the Democratic Republic of the Congo for global primate conservation. **PeerJ**, v.6, p.1–57, 2018.

<https://doi.org/10.7717/peerj.4869>

FREITAS, J. F. T. Estudos sobre nematodeos filarídeos *Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 38, p. 361–372, 1943.

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

<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00290.x>

GILLESPIE, T. R.; NUNN, C. L.; LEENDERTZ, F. H. Integrative approaches to the study of primate infectious disease: implications for biodiversity conservation and global health. **American journal of physical anthropology**, v. suppl 47, p. 53-69, 2008.

<https://doi.org/10.1002/ajpa.20949>

IUCN (International Union for the conservation of Nature). The IUCN red list of threatened species. 2020. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/> Acesso em: 10 dez. 2022.

JERUSALINSKY, L.; AZEVEDO, R. B.; GORDO, M. **Plano de ação nacional para a conservação do Sauim-de-coleira**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2017, 207 p. Disponível em:

<https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-pan/pan-sauim-de-coleira/1-ciclo/pan-sauim-de-coleira-livro.pdf> Acesso em: 10 jan. 2023.

KARESH, W.B. *et al.* Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. **Lancet**, v.380, n.9857, p.1936-1945, 2012.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61678-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61678-X)

KOWALEWSKI, M. M. *et al.* Black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) as sentinels of ecosystem health: patterns of zoonotic protozoa infection relative to degree of human-primate contact. **American journal of primatology**, v. 73, n. 1, p. 75-83, 2011.

<https://doi.org/10.1002/ajp.20803>

LAI DOUDI, Y. *et al.* New Molecular Data on Filaria and its Wolbachia from Red Howler Monkeys (*Alouatta macconnelli*) in French Guiana-A Preliminary Study. **Pathogens**, v. 9, n. 8, p.626, 2020.

<https://doi.org/10.3390/pathogens9080626>

LAI DOUDI, Y. *et al.* *Dipetalonema graciliformis* (Freitas, 1964) from the red-handed tamarins (*Saguinus midas*, Linnaeus, 1758) in French Guiana. **Parasitology**, v. 148, n. 11, p. 1353–1359, 2021.

<https://doi.org/10.1017/S0031182021000901>

LEFOULON, E. *et al.* Shaking the tree: multi-locus sequence typing usurps current Onchocercid (filarial nematode) phylogeny. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, p. e0004233, 2015.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004233>

LLOYD-SMITH, J. O. *et al.* Epidemic Dynamics at the Human-Animal Interface. **Science**, v.326, n.5958, p.1362-1367, 2009.

<https://doi.org/10.1126/science.1177345>

LOPES, S. *et al.* Necropsies disclose a low helminth parasite diversity in periurban howler monkeys. **American Journal of Primatology**, v. 84, n. 1, p. e23346, 2022.

<https://doi.org/10.1002/ajp.23346>

MOLIN, R. Versuch einer Monographie der Filarien. **Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften**, v. 28, p. 365–461, 1858.

MORALES-HOJAS, R. *et al.* Characterization of nuclear ribosomal DNA sequences from *Onchocerca volvulus* and *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Filarioidea) and development of a PCR-based method for their detection in skin biopsies. **International journal for parasitology**, v. 31, n. 2, p. 169-177, 2001.

NOTARNICOLA, J.; JIMÉNEZ, F. A.; GARDNER, S. L. A new species of *Dipetalonema* (Filarioidea: Onchocercidae) from *Ateles chamek* from the Beni of Bolivia. **J Parasitol**, v. 93, n. 3, p. 661-667, 2007.
<https://doi.org/10.1645/GE-962R1.1>

NOTARNICOLA, J.; PINTO, C. M.; NAVONE, G. T. Host occurrence and geographical distribution of *Dipetalonema* spp. (Nematoda: Onchocercidae) in neotropical monkeys and the first record of *Dipetalonema gracile* in Ecuador. **Comparative Parasitology**, v. 75, n. 1, p. 61-68, 2008.
<https://doi.org/10.1654/4284.1>

NUNN, C. L. Primate disease ecology in comparative and theoretical perspective. **American journal of primatology**, v. 74, n. 6, p. 497–509, 2012.
<https://doi.org/10.1002/ajp.21986>

PETIT, G.; BAIN, O.; ROUSSILHON, C. Deux nouvelles filaires chez un singe, *Saimiri sciureus*, au Guyana. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 60, p. 65–81, 1985.

RONDÓN, S.; CAVALLERO, S.; RENZI, E. Parasites of Free-Ranging and Captive American Primates: A Systematic Review. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2546, 2021.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9122546>

RUDOLPHI, C. A. **Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis**. Volume 2. Amstelaedami, 1809, 457 pp.

SCHWITZER, C. *et al.* **Primates in Peril: The World's 25 Most Endangered Primates 2018-2020**. Washington, DC: IUCN SSC Primate Specialist Group (PSG), International Primatological Society (IPS), Global Wildlife Conservation (GWC), Bristol Zoological Society (BZS), 2019. p. 129. Disponível em: <https://www.globalwildlife.org/wp-content/uploads/2019/10/Primates-in-Peril-2018-2020.pdf> Acesso em: 10 jan. 2023.

SHANEE, N.; MENDOZA, A. P.; SHANEE, S. Diagnostic overview of the illegal trade in primates and law enforcement in Peru. **American journal of primatology**, v. 79, n.11, p. 1-12, 2015.
<https://doi.org/10.1002/ajp.22516>

SMITH, K.F.; ACEVEDO-WHITEHOUSE, K.; PEDERSEN, A. B. The role of infectious diseases in biological conservation. **Animal conservation**, v.12, n.1, p.1-12, 2009.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x>

SMITH, K. M. *et al.* Zoonotic Viruses Associated with illegally imported wildlife products. **Plos One**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2012.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029505>

SOLÓRZANO-GARCIA, B.; DE LÉON, G. P. P. Primates of neotropical primates: a review. **International Journal of Primatology**, v. 39, n. 2, p. 155-182, 2018.
<https://doi.org/10.1007/s10764-018-0031-0>

SOUZA, V.K. *et al.* Emergence of *Mansonella* sp. in free-ranging primates in southern Brazil. **Primates; journal of primatology**, v. 64, n. 1, p.153–159, 2023.
<https://doi.org/10.1007/s10329-022-01038-5>

STRAIT, K.S; ELSE, J.G.; EBERHARD, M.L. Parasitic Diseases of Nonhuman Primates. *In*: ABEE, C.R.; MANSFIELD, K.; TARDIF, S.; MORRIS, T. (Eds.) **Nonhuman Primates in Biomedical Research Diseases**. San Diego: Academic Press, 2012, p. 197-297.

THOMPSON, R. C.; LYMBERY, A. J.; SMITH, A. Parasites, emerging disease and wildlife conservation. **International journal for parasitology**, v.40, n.10, p.1163-1170, 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.04.009>

THOMPSON, R.C.A. Parasite zoonoses and wildlife: one health, spillover and human activity. **International journal for parasitology**, v. 43, n. 12-13, p. 1079-1088, 2013.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.007>

VANDERHOEVEN, E.; NOTARNICOLA, J.; AGOSTINI, I. First record of *Dipetalonema Robini* Petit, Bain & Roussilhon 1985 (Nematoda: Onchocercidae) parasitizing *Sapajus nigrinus* in Northeastern Argentina. **Mastozoología Neotropical**, v. 24, n. 2, p., 483-488, 2017.

VOTYPKA, J.; BRZONOVA, J.; PETRZELKOVA, K. J. Trypanosomiasis and Filariasis. *In*: KNAUF, S. & JONES-ENGEL, L. (Eds.) **Neglected Diseases in Monkeys: From the Monkey-Human Interface to One Health**. Switzerland: Springer, 2020. cap. 15, p. 343-371.
<https://doi.org/10.1007/978-3-030-52283-4>

WEBER, W. A. F.; HAWKING, F. The filarial worms *Dipetalonema digitatum* and *D. gracile* in monkeys. **Parasitology**, v. 45, n. 3-4, p. 401-408, 1955.
<https://doi.org/10.1017/s0031182000027736>

WOLFE, N.D. *et al.* Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link?. **Emerging infectious diseases**, v.4, n.2, 149-158, 1998.
<https://doi.org/10.3201/eid0402.980202>

YOUNG, H. *et al.* Does habitat disturbance increase infectious disease risk for primates? **Ecology letters**, v. 16, n. 5, p. 656-663, 2013.
<https://doi.org/10.1111/ele.12094>