

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

URSULA TAVEIRA DOMINGUES DA CRUZ MACHADO

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DIFERENTES RAÇÕES COMERCIAIS
PARA PRIMATAS NÃO HUMANOS EM CATIVEIRO UTILIZADOS NA PESQUISA
BIOMÉDICA**

CAMPOS DOS GOYTACAZES
MARÇO - 2011

URSULA TAVEIRA DOMINGUES DA CRUZ MACHADO

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DIFERENTES RAÇÕES COMERCIAIS
PARA PRIMATAS NÃO HUMANOS EM CATIVEIRO UTILIZADOS NA PESQUISA
BIOMÉDICA**

**Dissertação apresentada ao
Centro de Ciências e Tecnologias
Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como requisito
parcial para obtenção do Grau de
Mestre em Ciência Animal, na área
de concentração em nutrição e
produção de monogástricos.**

Orientadora: Prof^a. Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares

Co-orientador: Prof. Carlos Ramón Ruiz-Miranda

CAMPOS DOS GOYTACAZES

MARÇO - 2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 025/2011

Machado, Ursula Taveira Domingues da Cruz

Avaliação nutricional de diferentes rações comerciais para primatas não humanos em cativeiro utilizados na pesquisa biomédica / Ursula Taveira Domingues da Cruz Machado. – 2011.

51 f. : il.

Orientador: Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2011.

Bibliografia: f. 40 – 47.

1. Valor nutritivo 2. Macaco rhesus 3. Rações comerciais 4. Primatas 5. Biomedicina I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 599.8643

URSULA TAVEIRA DOMINGUES DA CRUZ MACHADO

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE DIFERENTES RAÇÕES COMERCIAIS PARA
PRIMATAS NÃO HUMANOS EM CATIVEIRO UTILIZADOS NA PESQUISA
BIOMÉDICA**

**Dissertação apresentada ao
Centro de Ciências e Tecnologias
Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como requisito
parcial para obtenção do Grau de
Mestre em Ciência Animal, na área
de concentração em nutrição e
produção de monogástricos.**

Comissão Examinadora:

Adolpho Marlon Antoniol de Moura (Dr. em Ciência Animal) – CPQAM/Fiocruz

Prof. Humberto Pena Couto (Dr. em Zootecnia) – UENF

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (Dr. em Zootecnia) – UENF

Prof. Carlos Ramón Ruiz-Miranda (PhD in Animal Behavior) – UENF
(Co-orientador)

Prof^a Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares (Dra. em Zootecnia) – UENF
(Orientadora)

*A todos que acreditaram nos meus sonhos e me
incentivaram a pelo menos tentar concretizá-los,
Em especial, meus pais e melhores amigos, Elmo e
Maria de Fátima,*

Dedico.

Agradecimentos

A Deus e aos meus guias, que tornam minha fé inabalável e essencial na caminhada;

À minha família:

Meu pai Elmo, que mais do que um sonhador e idealizador é um realizador. O homem que esteve ao meu lado o tempo todo e sempre disse que minha vida profissional seria um grande sucesso independente de onde eu estudasse, pois dependia apenas do meu esforço. E ele sempre acreditou nisso e sempre possibilitou que eu tivesse tudo o que precisava. Meu herói!

Minha mãe Maria de Fátima, a maior das lutadoras e a melhor das companheiras. É minha inspiração em pessoa e sou grata por ela sempre tentar compreender tudo que se passava comigo e por isso, se tornou minha melhor amiga;

Meu irmão Eric, um cara especial e grande companheiro. Morria de saudades, mas sempre entendeu a necessidade da minha ausência;

Meus tios, Carlos, Eugênio e Lúcia e primos Eugeninho e Carol pelo incentivo;

Meus tios Manoel e Denise que me receberam como se fossem meus pais;

À minha orientadora Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares, por ter aceitado esse grande desafio, o que possibilitou um grande crescimento pessoal e profissional. Obrigada pela oportunidade inesquecível;

Ao meu co-orientador Carlos Ramón Ruiz-Miranda, pela confiança e aceitação das minhas decisões. Uma pessoa que jamais esquecerei, pois me deu a primeira oportunidade profissional. A ele toda minha gratidão;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pelo excelente ensino e qualidade;

Aos membros do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) que me receberam e aceitaram que as diferenças existem, mas podem caminhar juntas;

Ao programa de pós-graduação em Ciência Animal e ao colegiado, que me receberam como uma profissional e possibilitaram todas as parcerias criadas e crescimento adquirido;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa concedida durante o curso de mestrado, pelo total financiamento do projeto e pela bolsa de capacitação técnica;

Ao Professor Dr. Manuel Vasquez Vidal Junior que me apoiou, motivou e incentivou meus próprios questionamentos, se tornou assim mais que um professor e profissional experiente que me aconselhava, tornou-se um amigo;

Ao Professor Dr. Ricardo Augusto Mendonça Vieira que acrescentou seu brilhante conhecimento bromatológico e estatístico nessa dissertação e na minha formação acadêmica;

Ao Dr. Adolpho Marlon Antonioli de Moura, que mais do que um membro da banca, foi um excelente revisor e se tornou um grande amigo. Obrigada por todas as ótimas sugestões!

À querida Natalia de Oliveira Cabral, que mais do que uma bolsista técnica do projeto, foi uma grande companheira em momentos de alegria e desespero. Com ela aprendi que temos que escutar, ter paciência e compreensão com os fatos imutáveis que muito me incomodavam.

À minha estagiária Stephane Gomes Batista Paula, por toda a ajuda dedicação e interesse.

À equipe do Laboratório de Sanidade Animal (LSA):

Dr. Olney Motta por toda ajuda concedida e parceria realizada, ao amigo Luiz Parafina pela ajuda na coleta e amizade, e não menos importante à estagiária Camilla Azambuja, pelas análises microbiológicas

À equipe do Serviço de Criação de Primatas não humanos (SCPrim) do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) pela oportunidade, receptividade e grande ajuda na execução do experimento:

Dr. Antônio Mota, Clênio Viana, Lynn Cysne, Fabiano Dias, Wilson (Banana), Igo Souza, Márcia Andrade, Laine do Nascimento, Cláudia Lopes, Tatiana Kugelmeier, Beatriz Goldschmidt e Anna Carolina Donato;

À querida Fatinha, que foi literalmente uma mãe durante esse período e ao amigo Miguel Brück pelo livro “Biologia, Manejo e Medicina de Primatas Não Humanos na Pesquisa Biomédica” que foi muito consultado e veio com uma dedicatória incentivadora, além da bela foto que ilustra a espécie de estudo;

A todos os meus mestres, pois me passaram um pouco de seu conhecimento e contribuíram para minha formação, o que tornou possível a execução dessa dissertação;

Aos colegas que conviveram comigo nesse período e me ensinaram que o conhecimento vai muito além da experiência acadêmica;

À prezada Heloisa Mendes Kalil Ganm, pela eficiência na logística e incentivos, os quais foram essenciais para que eu chegasse onde estou;

A todos os amigos que compreenderam minha ausência e me incentivaram na batalha, em especial, aos meus irmãos de coração: Janderson, Cyntia e Samantha;

Aos técnicos Lanamar e Cláudio que me ensinaram e ajudaram muito com a execução das necessárias análises laboratoriais;

Aos anjos multifuncionais do LZNA: Bia e Sandra e da pós-graduação: Gleice, Conceição e Jovana que me ajudaram inúmeras vezes, sempre facilitando minha vida;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a execução desse trabalho, toda minha gratidão;

Às empresas que me doaram as rações comerciais.

"O essencial é invisível aos olhos"

Antoine de Saint-Exupéry

"Não eduque seu filho para ser rico, eduque-o para ser feliz. Assim ele saberá o valor das coisas e não o seu preço"

Max Gehringer

"O professor se liga à eternidade. Ele nunca sabe quando cessa a sua influência."

Henry B. Adams

"O sucesso de qualquer atividade depende da relação harmônica entre as pessoas envolvidas e os fatores condicionantes de sua execução"

Autor Desconhecido

"Não pergunte do que sou capaz. Apenas dê-me a missão"

Autor desconhecido

"Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível."

São Francisco de Assis

"Os princípios mais importantes podem e devem ser inflexíveis."

Abraham Lincoln

"Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia. Pois o triunfo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante."

Charles Chaplin

BIOGRAFIA

Ursula Taveira Domingues da Cruz Machado, filha de Elmo Marques da Cruz Machado e Maria de Fátima Taveira Domingues da Cruz Machado, nasceu no Rio de Janeiro, no dia 04 de novembro de 1985.

Foi admitida na Universidade do Grande Rio, em Silva Jardim - RJ em março de 2004. Em maio de 2007 iniciou o curso de especialização em Educação Ambiental no CEFET/Campos e o qual ainda está em andamento. Em março de 2009 iniciou o curso de mestrado em Ciência Animal, com ênfase em Nutrição Animal de Monogástricos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Atuou por mais de um ano como coordenadora de manejo do Setor de Etologia, Reprodução e Conservação de Animais Silvestres (SERCAS) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e coordenadora de campo do Projeto de Pesquisa "Interações Ecológicas entre sagüis introduzidos e micos-leões-dourados" da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) em parceria com a Associação Mico-Leão-Dourado (AMLD). Tem experiência na área de Zoologia, com ênfase em Comportamento Animal. Teve como experiência profissional no exterior, estágio em quatro zoológicos no Reino Unido, sendo um deles na Escócia e os demais na Inglaterra.

RESUMO

TAVEIRA, Ursula, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2011. Avaliação Nutricional de Diferentes Rações Comerciais Para Primatas Não Humanos Em Cativeiro Utilizados na Pesquisa Biomédica. Orientadora: Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares. Co-orientador: Carlos Ramon Ruiz-Miranda.

O experimento foi conduzido no Centro de Criação de Animais de Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz, com o objetivo de avaliar parâmetros nutricionais de três rações comerciais para primatas não humanos. Foram utilizados 15 macacos rhesus (*Macaca mulatta*), machos, na categoria de manutenção, com idades entre cinco e dez anos distribuídos em três tratamentos com cinco repetições, sendo cada animal, uma unidade experimental. Os tratamentos consistiram de três rações comerciais (A, B e C, tratamento 1, 2 e 3, respectivamente) utilizadas na alimentação de primatas não humanos em cativeiro. Foi realizado um ensaio de digestibilidade utilizando o método da coleta total de excretas. Os animais foram alojados em gaiolas metálicas individuais com bebedouros automáticos e comedouros frontais dotadas de bandejas que permitiam a coleta das fezes, durante o período de cinco dias. Antes do início do ensaio de digestibilidade, houve um período de adaptação alimentar (21 dias) ajustando as proporções entre ração comercial e ração úmida (vegetais), a fim de evitar problemas nutricionais para os animais resultantes de uma mudança súbita na alimentação. Os valores dos coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína bruta e energia digestível aparente foram 94,25, 85,20, 81,60%; 90,89, 86,38 e 83,51%; 3679,06, 3406,27 e 3435,81 kcal/kg; respectivamente para as rações A, B e C. Os valores do consumo de matéria seca e consumo de energia digestível aparente foram 12,18, 19,03 e 31,06 g/kg/dia; 44,70, 64,72, 106,48 kcal/kg/dia, respectivamente, para os animais dos tratamentos 1, 2 e 3. Considerando a biometria, observou-se redução de massa corpórea nos animais do tratamento 1 e ganho no tratamento 3. Quanto às análises sanguíneas, não houve diferença estatística entre os tratamentos para leucometria. A ração A apresentou maior coeficiente de digestibilidade enquanto que a ração C foi mais consumida. Embora as três rações comerciais avaliadas tenham apresentado diferentes valores nutritivos, a escolha da melhor ração deve ser relacionada ao seu custo e ter em vista a categoria e o tipo de confinamento dos animais.

Palavras-chave: Valor nutritivo, macaco rhesus, rações comerciais, primatas utilizados na biomedicina.

ABSTRACT

TAVEIRA, Ursula, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2011. Nutritional Evaluation of Different Commercial Diets for Non-human Primates In Captivity Used in Biomedical Research. Advisor: Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares. Co-advisor: Carlos Ramon Ruiz-Miranda.

The experiment was carried out at Oswaldo Cruz Foundation's Laboratory Animals' Breeding Center with the goal of evaluating the nutritive value of three commercial diets for non human primates. Fifteen male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), with ages varying between 5 and 10 years old and fed at maintenance, distributed in a completely randomized design with three treatments, five repetitions and each animal considered as the experimental unit. The treatments were three commercial diets (A, B and C) used as food to non-human primates. A digestibility trial using the method of total excreta collection was conducted. During the period of five days, the animals were housed in metal individual cages with automatic drinking water and frontal feeders, equipped with trays to allow fecal collection. Before starting the digestibility trial, an adaptation feeding period was performed to adjust the proportion between commercial diets and vegetables to avoid nutritional problems to the animals as a result of sudden feeding changes. The coefficients of digestibility of dry matter, crude protein and apparent digestible energy were, respectively for A, B and C diets, 94,25, 85,20, 81,60%; 90,89, 86,38 e 83,51%; 3679,06, 3406,27 e 3435,81 kcal/kg. The values of dry matter intake and apparent digestible energy intake were 12,18, 19,03 and 31,06 g/d/kg, 44,70, 64,72, 106,48 kcal/d/kg, respectively for the animals of 1, 2 and 3 treatments. Considering the animals' biometrics, we observed statistical significant reduction in body weight in treatment 1 and gain in treatment 3. As for blood tests, no statistical difference were noted among treatments when analyzed quantities of leukocytes. The diet A had higher digestibility while diet C was more consumed. Although the three commercial diets evaluated presented different nutritional values, choosing the best diet must be related to its cost and aim at the category and type of confinement of animals.

Key-words: Nutritive Value, Rhesus monkeys, commercial diets, primates used in Biomedicine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIG. 1 – <i>Macaca mulatta</i>	17
FIG. 2 – Trato gastrintestinal de indivíduos do gênero <i>macaca</i> (STEVENS & HUME, 1995).....	19
FIG.3 – Imagem de satélite (google earth) da fundação oswaldo cruz, com marcação da área de estudo (SCPRIM/ CECAL) e mais três referências.....	27
FIG. 4 – Modelo de gaiola individual	FIG. 5 – Marcação torácica.....28
FIG. 6 – Gaiolas individuais com identificação na parte externa (comedouro) de cada macho adulto utilizado no experimento	28
FIG. 7 – Coleta de sangue por punção venosa	29
FIG. 8 – Coleta de amostra na região retal	30

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Níveis de garantia das rações comerciais utilizadas no experimento. 32**
- TABELA 2 – Valores médios das análises bromatológicas relativos às rações experimentais A, B E C. 34**
- TABELA 3 – Valores médios e desvios padrão do consumo voluntário (CONS), consumo escalonado para o peso vivo (CPV), consumo escalonado para o peso metabólico (CPM), consumo de energia digestível aparente (CEDa), consumo de energia digestível aparente escalonado para o peso vivo (CEPV), consumo de energia digestível aparente escalonado para o peso metabólico (CEPM) e contagem de leucócitos (LEU) em função dos diferentes tratamentos. 35**
- TABELA 4 – Valores médios e desvios padrão do coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), coeficiente de digestibilidade da matéria mineral (CDMM), coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE) e energia digestível aparente (EDa) em função dos diferentes tratamentos. 35**
- TABELA 5 – Valores médios do peso vivo para as interações “tratamento x período” e respectivos valores de probabilidade de acordo com o teste F obtidos através do PROC MIXED DO SAS®. 36**
- TABELA 6 – Pesos e idades dos animais experimentais em função dos tratamentos e períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2). 48**
- TABELA 7 – Microbiologia da região retal dos animais experimentais em função dos tratamentos e períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2). 50**
- TABELA 8 – Valores médios, desvios padrões e tamanho amostral (n) das análises bioquímicas realizadas nos períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2), em função dos diferentes tratamentos. ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE	16
2.2. ÓRGÃO DOS SENTIDOS E A SELEÇÃO ALIMENTAR	17
2.3. TRATO GASTRINTESTINAL.....	18
2.4. MANEJO ALIMENTAR	19
2.5. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS.....	20
2.5.1 <i>A importância da energia</i>	20
2.5.2 <i>A importância da proteína</i>	21
2.5.3 <i>A importância dos Lipídeos</i>	22
2.5.4 <i>A importância da fibra</i>	22
2.5.5 <i>A importância dos minerais</i>	23
2.6. UTILIZAÇÃO DE RAÇÕES COMERCIAIS	23
2.7. VARIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS E MICROBIOLÓGICAS	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1. LOCALIZAÇÃO	26
3.2. ANIMAIS E INSTALAÇÕES	26
3.3. PROCEDIMENTOS COM OS ANIMAIS	29
3.4. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE	31
3.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÃO.....	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÊNDICE A – PESOS E IDADES DOS ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO	48
APÊNDICE B – COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES COMERCIAIS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO	49
APÊNDICE C - MICROBIOLOGIA DA REGIÃO RETAL DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS	50
APÊNDICE D - ANÁLISES BIOQUÍMICAS DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a International Union for Conservation of Nature (IUCN, 2008) os primatas abrangem um grupo de 412 espécies pertencentes a 17 famílias, porém poucos são de interesse em pesquisas biomédicas, sendo as famílias Cebidae e Cercopithecidae (TARDIF *et al.*, 2006) as mais utilizadas.

O gênero *Macaca*, pertencente à família Cercopithecidae, é amplamente utilizado na pesquisa biomédica, sendo o macaco rhesus (*Macaca mulatta*) a espécie mais utilizada em laboratórios de todo o mundo (TERAO, 2005).

Relatos sobre a utilização de primatas como modelos experimentais biomédicos ocorrem desde o século XVI, com a utilização de *M. sylvanus* por Vesalius (RUCH, 1941; MORRIS & MORRIS, 1966), porém somente no século XX com a criação dos primeiros centros de primatas que houve um aumento na utilização desses animais para estes fins (PISSINATTI & ANDRADE, 2010).

Em 1972 o National Research Council's Committee on Animal Nutrition publicou o primeiro guia sobre exigências nutricionais de animais de laboratório, estando as necessidades dos primatas inclusas nesse guia. Esses dados foram complementados, expandidos e atualizados, dando origem, em 1978, à primeira versão do guia nutricional sobre Primatas Não humanos. Em 2003 foi publicada uma versão revisada e atualizada do NRC de 1978.

Muitas informações sobre nutrição são necessárias, pois existem diversidades anatômicas, fisiológicas e comportamentais entre as espécies e muitas vezes, essas distinções são causadas por fatores ambientais como fotoperíodo, temperatura, umidade e altitude, relacionadas à adaptação do animal ao isolamento geográfico.

Variadas rações com fórmulas fechadas para primatas não humanos estão disponíveis no mercado, contudo as quantidades específicas de cada ingrediente da fórmula não são informadas ao consumidor. Os fabricantes alteram a formulação com base nas qualidades e disponibilidade dos ingredientes alimentares e normalmente os clientes não são notificados dessas mudanças (KNAPKA, 1997).

É permitido que ocorram apenas alterações nas quantidades dos ingredientes listados para controlar as variações dos nutrientes de interesse da dieta e permitir o uso de ingredientes alternativos. Contudo, essas alterações podem resultar em mudanças na concentração dos ingredientes que não são mensurados, como por exemplo, nas concentrações de fitoestrógeno, os quais não são comumente analisados, mas podem ter efeito na eficiência reprodutiva e na incidência de tumores em animais de laboratório (NRC, 2003).

Mudanças na composição alimentar podem ter impactos potenciais sobre a saúde dos animais e na qualidade da pesquisa conduzida em colônias experimentais. Em função das diferentes composições nutricionais e outros fatores não nutritivos que podem ter efeitos fisiológicos, dietas com fórmulas fechadas não são recomendadas para muitas situações de pesquisa. A utilização de dietas comerciais deve ocorrer com prudência, devendo-se realizar previamente análises bromatológicas das dietas fornecidas aos animais (NRC, 2003). Assim, há necessidade de conhecimento detalhado sobre a composição das dietas e da digestibilidade das mesmas para que haja um aumento no aproveitamento deste alimento.

A utilização de uma ração balanceada e altamente digestível propicia redução dos custos de produção devido aos menores gastos com suplementos alimentares. Alimentos mais digestíveis têm melhor aproveitamento promovendo menor produção fecal, fato que facilitará a higienização e reduzirá a proliferação de vetores, favorecendo um controle sanitário mais eficaz e menor impacto ambiental. Deste modo, os resultados do presente estudo serão úteis a instituições que mantenham primatas não humanos em cativeiro, além de fornecer animais de melhor qualidade para o pleno atendimento da pesquisa na área de saúde pública.

Neste contexto o objetivo desta pesquisa foi avaliar o valor nutritivo de diferentes rações comerciais para primatas não humanos por meio da determinação da digestibilidade dos nutrientes e da energia digestível aparente, assim como avaliar o peso vivo e parâmetros sanguíneos (leucometria) dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Descrição da espécie

A espécie em estudo foi descrita por Zimmermann em 1780 e é conhecida popularmente como macaco Rhesus e cientificamente como *Macaca mulatta* (Fig. 1). Pertence à ordem Primates, subordem Haplorrhini, parvordem Catarrhini, superfamília Cercopithecoidea e família Cercopithecidae (WILSON & REEDER, 2005).

O porte dessa espécie é considerado entre médio e grande, tendo os machos adultos uma média de seis a 11 quilogramas, enquanto que as fêmeas têm entre quatro e nove (WHITNEY, 1995). Há variação na coloração da pelagem (NUNES & CATÃO-DIAS, 2006) entre os tons de cinza, marrom e preto. Além disto, apresentam calosidade na região isquiática por assumirem uma posição típica durante momentos de inatividade (PISSINATTI *et al.*, 2010). É oriunda do Afeganistão, da Índia ao norte da Tailândia, China e Ilha de Hainan (WILSON & REEDER, 2005). De acordo com Lindburg (1971), a espécie é adaptada a uma ampla variedade de habitat (situação de quase deserto a florestas densas), altitudes (desde o nível do mar até 2.500 metros) e temperaturas (de neve a intenso calor). Porém, os fatores limitantes na escolha do ambiente estão relacionados com a sazonalidade de vegetação e fotoperíodos curtos (NAPIER & NAPIER, 1985).

As espécies do gênero *Macaca* são principalmente diurnas e possuem comportamento arbóreo, porém a espécie *M. mulatta* deixa facilmente as árvores se atraídos por suprimentos alimentares e se movem livremente entre habitações humanas, quando tolerados (NOWAK & PARADISO, 1983). Possuem cauda, não preênsil, que ajuda no equilíbrio durante a movimentação, além de cinco dígitos nas mãos e pés, com polegares oponentes adaptados para agarrar (NUNES & CATÃO-DIAS, 2006).

A dieta do macaco Rhesus é onívora e extremamente variada (NAPIER & NAPIER, 1985), alimentam-se de frutas selvagens ou cultivadas, grãos, folhas, flores, sementes e casca. Porém comem insetos e outros pequenos invertebrados quando disponíveis e ocasionalmente, se alimentam de ovos e de pequenos vertebrados (LINDBURG, 1971).

Os grupos são mistos com variação de oito a 180 indivíduos e geralmente há de duas a quatro vezes mais fêmeas adultas do que machos adultos (ROONWAL & MOHNOT, 1977). Há dominância hierárquica em ambos os sexos, sendo as relações entre machos adultos variantes de pacífico a hostil e as fêmeas vivem juntas em harmonia, porém há uma tendência para adultos de alto *ranking* se relacionar (NOWAK & PARADISO, 1983). Os machos

atingem a maturidade sexual entre dois e três anos de idade e as fêmeas entre dois anos e meio e quatro anos (ROONWAL & MOHNOT, 1977; SIMONDS, 1965).

A espécie *M. mulatta* é envolvida proximamente com pessoas por ser considerada uma espécie sagrada para a religião Hindu e é comumente encontrada nas proximidades de templos e áreas urbanas no norte da Índia.

O macaco rhesus é amplamente utilizado na pesquisa biomédica e tem se tornado um dos primatas não humanos mais usados em laboratórios de todo o mundo (TERAO, 2005). Isso ocorre em função desses animais serem um dos modelos experimentais mais semelhantes a humanos quando se compara a fisiologia, neurologia e susceptibilidade a doenças (PISSINATTI & ANDRADE, 2010).

Esta espécie foi utilizada como modelo experimental para diversas pesquisas científicas, tais como na identificação do fator Rh e no estudo das doenças de Chagas (BONECINI-ALMEIDA *et al.*, 1990), leishmaniose (PORROZZI *et al.*, 2004), tuberculose (LIMA, 2008), ebola, hepatite B (FULLER *et al.*, 2007), dengue (BLANEY *et al.*, 2007), febre amarela (GALLER *et al.*, 2005). Além disso, os americanos a utilizaram antes dos chimpanzés em vôos espaciais (NOWAK & PARADISO, 1983).



Fig. 1 – *Macaca mulatta*

2.2. Órgão dos sentidos e a seleção alimentar

O consumo dos alimentos é influenciado por diversos fatores, tais como, características físicas do alimento e do animal (MOURA *et al.*, 2010). A diminuição do apetite e a rejeição aos alimentos podem ser influenciadas pela monotonia alimentar ou fatores

psicológicos, freqüentemente impostos pelo cativeiro (COIMBRA-FILHO, 1970), assim como características sensoriais dos alimentos, tais como a palatabilidade e a presença de fatores antinutricionais (MILTON, 2000).

A evolução dos primatas pertencentes à subordem haplorrhini promoveu mudanças anatômicas como o desenvolvimento do cérebro e o tamanho corpóreo, refinamento das mãos e encurtamento da face (PISSINATTI *et al.*, 2010). Essas evoluções possibilitaram o aperfeiçoamento de habilidades visuais, tais como, visão de cores tricromática (ANKEL-SIMONS, 2007) e percepção de profundidade, que são fatores facilitadores da diferenciação do alimento pela cor e mobilidade em um espaço tridimensional, respectivamente (MILTON, 2000).

O desenvolvimento cognitivo e visual tende a facilitar a nutrição de uma forma geral, visto que as capacidades de captura e manipulação dos alimentos são favorecidas, proporcionando um menor desgaste do animal durante o processo de forrageamento (MOURA *et al.*, 2010).

Como a maioria das espécies do gênero, a *Macaca mulatta* apresenta uma ampla variedade de vocalizações (NOWAK & PARADISO, 1983), que são utilizadas para diversas finalidades, entre elas alerta de alimentação, visto que em cativeiro são normalmente alimentados nos mesmos horários (ULYAN *et al.*, 2006) e predadores terrestres, que no caso de confinamento direciona-se para humanos (BOINSKY *et al.*, 1999). Em função do intenso euforismo durante o período de alimentação, Moura *et al.* (2010) reforçam a importância de todos os animais receberem os alimentos simultaneamente.

2.3. Trato gastrintestinal

A espécie *Macaca mulatta* tem uma extensão da pele facial, o que permite o armazenamento de alimentos por períodos curtos, o que potencializa o comportamento de forrageio, por agilizar o processo de recolhimento da dieta (MOURA *et al.*, 2010), além de melhorar o processo de mastigação (RICHARD, 1985; NRC, 2003).

A fórmula dentária é formada por oito incisivos, quatro caninos, oito pré-molares e 12 molares, tendo estes últimos quatro cúspides (ANKEL-SIMONS, 2007). O tamanho dos caninos é uma das características relacionada ao dimorfismo sexual da espécie, sendo os dos machos maiores (WHITNEY, 1995).

O estômago dessa espécie é relativamente simples com paredes lisas e seguido por um intestino delgado curto. A ampliação típica do ceco ou cólon tem a função de

desenvolvimento microbiano para fermentação bacteriana do material vegetal da dieta (SAKAGUCHI *et al.*, 1991; BRUORTON *et al.*, 1991) (Figura 2).

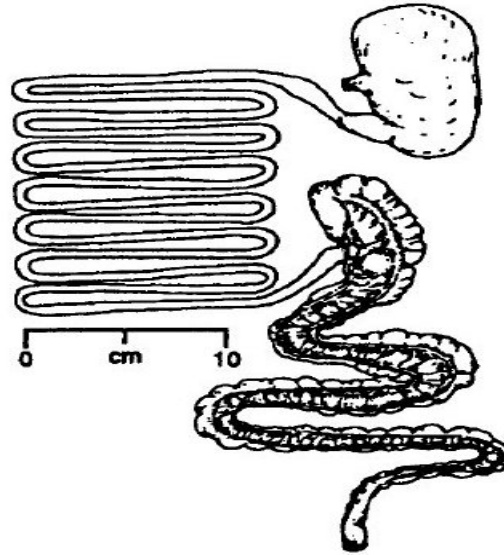


Fig. 2 – Trato gastrointestinal de indivíduos do gênero *Macaca* (Stevens & Hume, 1995)

Fonte: National Research Council (2003)

2.4. Manejo alimentar

Para o desenvolvimento de um programa de manejo alimentar adequado, informações sobre o animal, tais como, estruturas do trato gastrointestinal, comportamento alimentar natural (CARCIOFI & SAAD, 2001) e composição nutricional dos alimentos consumidos em vida livre são de extrema importância.

É comum que programas de alimentação para animais em cativeiro sejam desenvolvidos com base apenas nos hábitos alimentares naturais. Porém, publicações sobre ecologia alimentar informam apenas o alimento que é ingerido, muitas vezes faltando informações, tais como, a parte do alimento que é ingerida (casca, polpa ou semente), quantidade e importância do alimento dentre todos os consumidos, composição nutricional e o papel fisiológico dos diferentes alimentos consumidos (ROBBINS, 1983). Além disso, alimentos silvestres e suas composições são muito diferentes dos disponíveis no mercado, visto que esses últimos são cultivados com o objetivo de atender as necessidades humanas. CALVERT (1985) observou a diferença na composição de frutas selvagens, relatando que estas são mais ricas em fibras e com menos açúcar do que as comerciais.

Quando se deseja formular uma dieta apropriada em cativeiro é necessário conhecer não apenas as principais fontes alimentares do animal (NRC, 2003), mas também suas exigências energéticas (CRISSEY *et al.*, 2003) e nutricionais.

Os nutrientes estão dispostos de forma heterogênea entre os alimentos e em função, é necessário combinar alimentos para que as necessidades nutricionais sejam atendidas. Com base nisso, a formulação de uma ração balanceada é a opção mais adequada para fornecer carboidratos, proteínas (aminoácidos essenciais), lipídeos (ácidos graxos essenciais), vitaminas e minerais, além de eventualmente, pré-bióticos e pró-bióticos.

A quantidade da dieta a ser ingerida para o atendimento das necessidades vitais é relativa à digestibilidade da mesma (CRISSEY *et al.*, 2003). O conhecimento da digestibilidade das diversas dietas é um fator importante na escolha da melhor a ser fornecida aos animais, de forma a mantê-los saudáveis e aptos à reprodução.

2.5. Exigências nutricionais

2.5.1 A importância da energia

A energia não é um nutriente e sim o resultado da oxidação dos nutrientes durante o metabolismo. Dessa forma, a energia é liberada ou armazenada para ser utilizada posteriormente pelos processos metabólicos nos animais. Um animal exige energia para as funções metabólicas basais, para atividade muscular, e para crescimento dos tecidos, reprodução ou lactação (LOYD *et al.*, 1978; MCNAB, 1986).

A unidade tradicional para mensuração da energia em nutrição animal no Brasil é a quilocaloria (kcal), que é a quantidade de calor para elevar em um grau Celsius (°C) a temperatura de um quilograma de água, na faixa de 14,5°C para 15,5°C (KLEIBER, 1975).

Entende-se como Energia Bruta (EB) a quantidade de energia liberada pela completa oxidação das substâncias orgânicas em dióxido de carbono e água. A EB ingerida no alimento deve ser igual à energia bruta usada para manter as funções metabólicas mais a energia bruta perdida.

Os animais obedecem à lei da termodinâmica, estando submetidos às leis da física e nesse sentido o equilíbrio termodinâmico é aplicado ao metabolismo, já que a energia não pode ser criada ou destruída, apenas trocada entre o organismo e o meio ambiente (MARCHINI *et al.*, 2005).

A energia liberada durante a oxidação de nutrientes não pode ser utilizada diretamente, necessitando ser convertida em uma forma química apropriada, principalmente adenosina-5-

trifosfato (ATP), que ao ser hidrolisada a adenosina-5-difosfato (ADP), fornece a energia necessária para atividades, como contração muscular e síntese de novas moléculas (PUTET, 1993).

A EB do alimento ingerido menos a EB das fezes é igual à energia digestível aparente (EDa) do alimento (LECLERCQ *et al.*, 1999). É denominada EDa porque parte da energia fecal é de origem não alimentar e deve estar presente mesmo que nenhum alimento seja consumido.

Uma estimativa da ED verdadeira é alcançada se a EDa é corrigida para perdas de energia metabólica nas fezes. Entretanto, a energia não alimentar perdida nas fezes deve eventualmente ser repostada com a energia do alimento. Desse modo a EDa é mais comumente utilizada. Ao contrário da EB de um alimento, a EDa não é uma constante, pois representa a energia do alimento que é absorvido após o processo de digestão nos animais (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007) e essa função está relacionada à habilidade de digerir o alimento e ao tempo de passagem da digesta.

As exigências energéticas do animal variam de acordo com a taxa metabólica basal e com a dieta fornecida. Adultos de *Macaca mulatta* apresentam exigência energética de 40-65 kcal/kgPV/dia e a exigência infantil de 270 kcal/kgPV/dia (KERR, 1972)

2.5.2 A importância da proteína

As proteínas e muitos dos aminoácidos são exigidos para manutenção dos tecidos corporais, crescimento e outras atividades. O organismo necessita receber diariamente determinadas quantidades de proteína para repor as perdas corporais metabólicas que são medidas através das perdas nas fezes e urina.

Alguns autores realizaram pesquisas para determinar a exigência de proteína bruta (PB) para adultos de *Macaca mulatta*. Riopelle *et al.* (1974) utilizaram caseína como fonte de proteína e mudança de peso como variável dependente e Robbins & Gavan (1966) usaram fontes de proteína misturadas e balanço de nitrogênio como variável dependente. Os resultados encontrados no primeiro trabalho foram que a exigência diária de PB para animais adultos está entre 2 a 4 g/kgPV e o segundo encontrou um valor para exigência de menos de 2,6 g/kgPV. Diferente do que é recomendado pelo NRC (1978), que descreve um consumo entre 3 a 5 g/kgPV/dia.

As exigências de aminoácidos essenciais de primatas não humanos parece ser similar às dos humanos, entretanto os dados são insuficientes, o que impede a fixação dos mesmos. A lisina e a metionina são necessárias em quantidades apropriadas para um crescimento normal

e desenvolvimento dos primatas. Stegink *et al.* (1980) mostraram que D-metionina é utilizada ineficientemente por primatas, enquanto que em outros animais ela pode ser convertida a L-metionina por meio de uma oxidase para que possa ser utilizada.

2.5.3 A importância dos Lipídeos

Os lipídeos são fontes energéticas com alta concentração de energia prontamente disponível e são utilizados nas dietas com intuito de aumentar a densidade energética, visto que a gordura tem 2,25 vezes mais energia que os carboidratos, e reduzir a mobilização corpórea. É ainda uma alternativa eficiente para suprir as exigências de animais com alta demanda energética.

Os lipídeos na dieta atuam com intuito de melhorar a palatabilidade, reduzir a perda de nutrientes, além de facilitar a peletização e melhorar a conversão alimentar (MOURA *et al.*, 2010). Kerr (1972) ressalta que para manter animais saudáveis na fase de manutenção são necessários que os níveis de gordura na dieta estejam entre 2 e 5%.

2.5.4 A importância da fibra

A fibra é um polímero, composto essencialmente por hidrogênio, carbono e oxigênio, tais como, celulose, hemicelulose, lignina e pectina. Esses componentes são responsáveis pela estruturação das plantas (WEISS, 1999), o que justifica sua presença em alimentos de origem vegetal. Estas substâncias têm em comum apenas o escape da digestão por enzimas endógenas e a possibilidade de serem fermentadas pela microbiota presente no trato gastrintestinal de mamíferos e aves, mas podem exibir propriedades muito diferenciadas de acordo com suas fontes, processamento, solubilidade e transformações durante a sua passagem pelo trato digestivo (MONRO, 2000).

Na dieta, a fibra exerce efeitos metabólicos e fisiológicos para o organismo animal sendo diferenciados de acordo com as frações solúveis e insolúveis que a constituem. Tais efeitos podem ser decorrentes das alterações em funções fisiológicas, como taxa de excreção endógena e a passagem do alimento pelo trato gastrintestinal (REFSTIE *et al.*, 1999).

Segundo Warner (1981), o aumento nos teores de fibra insolúvel na dieta pode provocar diminuição no tempo de passagem da digesta, o que decorre da estimulação física da fibra insolúvel sobre as paredes do trato gastrintestinal, que tendem a aumentar sua motilidade e conseqüentemente, a taxa de passagem. O teor de fibra solúvel na dieta está associado à maior viscosidade da digesta, fato que pode contribuir para um trânsito mais lento no trato gastrintestinal (FERREIRA, 1994). Desse modo as características das fibras devem ser

consideradas na utilização para primatas mantidos em cativeiros que recebem frutas como principal fonte de fibras. A digestão da fibra vegetal para haplorrhinis é reduzida e sua contribuição energética é pouco significativa, sendo recomendado em sua dieta um mínimo de 5% de fibra efetiva por dia (MOURA *et al.*, 2010).

2.5.5 A importância dos minerais

Os minerais são classificados em macro-minerais e micro-minerais. A classificação ocorre de acordo com as concentrações dos elementos encontrados nos tecidos, que de certa forma, são indicadores de suas necessidades orgânicas (UNDERWOOD, 1999).

Os minerais desempenham diferentes funções no organismo. Os macro-elementos cálcio e fósforo participam como componentes estruturais dos tecidos corporais, enquanto que sódio, cloro e potássio, estão distribuídos em maiores concentrações nos tecidos moles, na manutenção do equilíbrio acidobásico (UNDERWOOD, 1999). Além disso, são componentes de vários compostos orgânicos envolvidos em grande parte no metabolismo energético de carboidratos, aminoácidos e gorduras, bem como no metabolismo do tecido neuromuscular (SCOTT *et al.*, 1982).

Os microelementos estão presentes em quantidades pequenas no organismo e são expressos em mg/kg ou ppm (partes por milhão) de peso vivo. Os microminerais zinco, magnésio e cobre estão diretamente associados ao crescimento e ao desenvolvimento do tecido ósseo (UNDERWOOD, 1999).

As diferentes espécies animais podem apresentar deficiências ou excessos de vários elementos no organismo. Contudo, para que isso não ocorra, uma série de mecanismos de homeostase do metabolismo compensa o desbalanço (UNDERWOOD, 1999).

Ao revisar a literatura, Moura *et al.* (2010) notaram que os minerais de maior importância para a nutrição de primatas não humanos são o cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro e enxofre entre os macrominerais e o ferro, cobre, manganês, zinco, iodo, selênio e cobalto entre os microminerais.

2.6. Utilização de rações comerciais

Os animais apresentam preferências alimentares definidas e individuais dentro de uma mesma espécie e selecionam os alimentos dentro de padrões próprios e distintos (SÁ, 2004). O consumo dos alimentos mais palatáveis em relação aos de pior aceitação acaba por desbalancear a dieta resultando em modificação na composição nutricional idealizada e

propiciando o surgimento de doenças carenciais (OLIVEIRA, 2002). Além disso, em geral, as dietas *in natura* têm uma alta umidade, o que torna baixa a biodisponibilidade dos nutrientes (AMMERMAN *et al*, 1995) e por isso é necessário aumentar a concentração dos mesmo acima da exigência mínima.

Vários fatores podem influenciar a estimativa das exigências nutricionais, tais como, genética, categoria, *status* fisiológico, circunstâncias ambientais, comportamento, presença de estresse, qualidade dos alimentos, biodisponibilidade nutricional, perda de nutrientes entre a formulação e o consumo da dieta e critério de adequação nutricional (KNAPKA, 2000). Cabe ao nutricionista, então, oferecer o alimento de forma a garantir um consumo adequado. Para assegurar isto, é fundamental monitorar a ingestão dos animais e estimar a composição nutricional da dieta efetivamente ingerida (CARCIOFI & SAAD, 2001).

Alternativas devem ser criadas para se minimizar o impacto da seletividade; e o emprego de ração industrializada apresenta-se atualmente como a alternativa mais eficaz e econômica. A elaboração de uma ração deve integrar os hábitos dietéticos naturais, a morfologia digestiva, a fisiologia e as necessidades nutricionais do animal com as características físicas e nutritivas dos alimentos. O objetivo é preparar uma dieta que seja ingerida em quantidades suficientes para satisfazer as necessidades nutricionais (NRC, 2003).

Moagem, seguida pela peletização e extrusão são processamentos que impedem a seletividade do alimento e conseqüente desbalanceamento e melhoram o valor nutritivo por aumentar a digestibilidade e inativar compostos antinutricionais presentes nas matérias-primas (COUTO, 2008).

Normalmente incluem-se aditivos zootécnicos nas fórmulas de rações com o objetivo de garantir a integridade, absorção e transporte dos nutrientes no organismo (MOTTA, 2005). Dois exemplos são os pró-bióticos, definidos como suplementos alimentares à base de microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro e melhoram o balanço microbiano intestinal (FULLER, 1989), e os pré-bióticos, designados como substâncias que agem alimentando e estimulando o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas, não sendo digeríveis nem absorvíveis pelo trato gastrintestinal (GIBSON & ROBERFROID, 1995).

O uso de rações comerciais dispensa a utilização de suplementos hortifrutigranjeiros, uma vez que estas, sendo nutricionalmente completas, atendem às necessidades dos animais. Além disso, alimentos *in natura* diluem a densidade energética, podendo adversamente limitar o consumo de matéria seca para abaixo das necessidades. Esses suplementos podem

ser utilizados como uma ferramenta para a técnica de enriquecimento alimentar, o que sugere a promoção do bem-estar dos animais.

2.7. Variações das concentrações sanguíneas e microbiológicas

Uma microbiota normal e em equilíbrio no trato gastrintestinal do animal atua como um sistema imunológico de defesa natural e uma barreira defensiva, o que permite a aderência de organismos não-patogênicos às paredes intestinais (BIOTECNAL, 1996). Além disso, os microrganismos benéficos competem por nutrientes e produzem metabólitos como o ácido láctico e o ácido acético capazes de reduzir seletivamente o número de patógenos (LACAZ RUIZ, 1992).

A utilização dessas rações com aditivos pode causar modificações na microbiota retal e nas concentrações das células de defesa, enquanto que as composições bromatológicas das dietas influenciam as concentrações bioquímicas sanguíneas. Por isso, os exames de leucometria, bioquímica e microbiologia são importantes para analisar as condições de saúde do animal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Localização

O experimento foi realizado no Serviço de Criação de Primatas não humanos (SCPrim) do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) (22°52'39.06" S e 43°14'46.20" W) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), localizado em Manguinhos, Rio de Janeiro (Fig. 3). Ocorreu nos meses de março e abril de 2010 com duração de 35 dias, sendo dois de pesagem e coleta de materiais biológicos, 28 de adaptação alimentar e cinco de coleta de amostras (sobras de ração e excretas).

3.2. Animais e instalações

Foi realizado um ensaio de digestibilidade de três rações comerciais com 15 machos adultos de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) na categoria de manutenção, que foram selecionados por conveniências dentro de um grupo com idades (5-10 anos) e pesos (parâmetros normais, não obesos) predeterminados para ampliar ao máximo o grau de inferência, sem que houvesse grandes distinções entre os indivíduos, permitindo assim comparações. As predeterminações e os parâmetros comparativos foram baseados no trabalho de ANDRADE *et al.* (2004). Informações relativas ao peso e idade dos animais utilizados no experimento são fornecidas no apêndice A.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável tipo *squeeze*, com dimensões de 65 cm de largura x 65 cm de profundidade x 75 cm de altura, fixadas na parede. Os comedouros foram alocados na parte frontal das gaiolas e os bebedouros automáticos tipo chupeta fixados na parede.

As gaiolas foram providas de bandejas inteiriças de aço inox que foram utilizadas durante o período experimental para coleta de fezes e resíduos alimentares. Foram utilizadas tábuas de madeirite como divisórias entre as gaiolas, para evitar mistura de amostras de rações e excretas entre as unidades experimentais (Fig. 4).

A temperatura e umidade não foram controladas, ou seja, os animais ficaram expostos à temperatura ambiente, que por sua vez foi medida diariamente em três horários (09:25h, 12:25h e 16:25h) durante todo o período experimental, utilizando-se um termo-higrômetro.

Os macacos utilizados no experimento possuíam uma tatuagem alfa-numérica torácica (Fig. 5). Essa identificação foi utilizada nas gaiolas (Fig. 6), nos tubos sanguíneos, sacos de conservação de amostra e na ficha individual.



Fig.3 – Imagem de satélite (Google Earth) da Fundação Oswaldo Cruz, com marcação da área de estudo (SCPrim/ CECAL) e mais três referências.



Fig. 4 – Modelo de gaiola individual



Fig. 5 – Marcação torácica



Fig. 6 – Gaiolas individuais com identificação na parte externa (comedouro) de cada macho adulto utilizado no experimento

3.3. Procedimentos com os animais

Não houve necessidade de adaptação às gaiolas individuais, porque esses machos já se encontravam individualizados nesses recintos.

Antes e após o período experimental, os 15 animais foram contidos nas gaiolas, anestesiados, identificados, pesados e amostras biológicas foram coletadas. Todos os materiais de procedimentos utilizados na coleta eram estéreis e descartáveis, sendo as amostras devidamente conservadas em tubos e sacos plásticos também estéreis até o momento da realização das análises.

Durante o manejo com os animais foram utilizados equipamentos de proteção individuais (EPI), que inclui uniformes esterilizados, luvas, toucas e máscaras descartáveis e bota de plástico, o que evita contaminação e diferenciação entre os tratadores e diminui o estresse dos animais.

Com o objetivo de imobilização dos animais para a realização de procedimentos de coleta de material biológico e pesagem, foi utilizada uma combinação anestésica composta por 10 mg de cloridrato de ketamina e 0,01 mg de midazolam por quilograma de peso vivo. Posteriormente, foram coletadas amostras de sangue por punção venosa na região femoral com utilização de vacuntainer e agulha 25x7mm que foram conservadas em tubos de ensaio específicos para análises hematológicas e bioquímicas (Fig. 7). O volume sanguíneo colhido foi de 10 mL conforme as normas do JOINT WORKING GROUP ON REFINEMENT (1993).

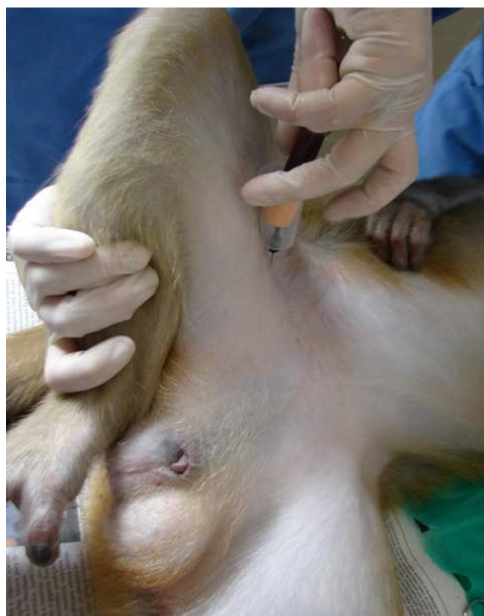


Fig. 7 – Coleta de sangue por punção venosa

As amostras de sangue foram utilizadas para realização de exames de rotina, tais como hemograma completo e análises bioquímicas (creatinina, proteína total, albumina, hepatograma, colesterol, fosfatase alcalina, cálcio, glicose, uréia, sódio, potássio, cloro, fósforo, ácido úrico, ferro, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase). Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Animal do CECAL/FIOCRUZ. Os valores de referência, segundo Andrade *et al.* (2004) das análises bioquímicas são encontrados entre parênteses após o nome de cada análise. Creatinina (0,3-1,3 mg/dL), proteína total (5,8-7,4 g/dL), albumina (2,9-4,5 g/dL), hepatograma (48-130 U/L), colesterol (73-204 mg/dL), fosfatase alcalina (65-400 U/L), cálcio (8,2-10 mg/dL), glicose (50-100 g/dL), uréia (9-26 mg/dL), sódio (137-150 nmol/L), potássio (3,2-4,3 nmol/L), cloro (98-114 nmol/L), fósforo (1,8-6,1 mg/dL), ácido úrico (1,2-4,5 g/dL), ferro (40-95 µg/dL), alaninaamino transferase (8,97-66,27 U/L) e aspartatoamino transferase (13,36-52,36 U/L). Os resultados relativos às análises bioquímicas encontram-se no apêndice D.

Para análise microbiológica, foram coletadas amostras de materiais biológicos da região retal com auxílio de *swab* (Copan, Itália) para transporte e conservação apropriados (Fig. 8). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em uma caixa isotérmica para a remessa ao Laboratório de Sanidade Animal – LSA/UENF, onde as amostras foram cultivadas em meios de cultura e depois de crescidas, submetidas à fase de identificação morfotintorial pelo método de Gram. Após observação em microscopia óptica (aumento 1000X) os cocobacilos foram submetidos a testes bioquímicos para identificação da espécie. Os resultados relativos às análises bioquímicas encontram-se no apêndice C.



Fig. 8 – Coleta de amostra na região retal

3.4. Ensaio de digestibilidade

Neste ensaio três rações comerciais foram avaliadas por meio da determinação do consumo e digestibilidade da Matéria Seca (MS), Matéria Mineral (MM), Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), Fibra Bruta (FB) e Energia Bruta (EB), utilizando a metodologia de coleta total de excretas por cinco dias, conforme descrita para suínos por SAKOMURA & ROSTAGNO (2007). Houve modificações no período de adaptação alimentar, em função da espécie não ser considerada animal de produção e de terem habilidades intelectuais muito desenvolvidas.

Anterior à fase de adaptação às rações experimentais, os animais foram submetidos a um período de transição alimentar com retirada gradativa da ração úmida (itens hortifrutigranjeiros) e uma troca da ração utilizada pela instituição pelas que foram utilizadas no trabalho. Essa etapa durou três semanas, com a retirada de um item e troca de $\frac{1}{4}$ (um quarto) de porção diária de ração industrializada por semana. Na quarta semana foi iniciado o experimento, já no período de adaptação às rações experimentais e teve a duração de sete dias.

O fornecimento das rações foi *ad libitum*, porém a quantidade foi medida diariamente pesando-as antes de ofertar aos animais. As sobras foram coletadas e conservadas em freezer para posterior análise laboratorial de matéria seca para que a umidade absorvida na ração não influenciasse o peso das sobras e posterior determinação do valor do consumo diário.

Após o período de adaptação alimentar, houve cinco dias de determinação de consumo e coleta das excretas. Em cada unidade experimental, as excretas foram coletadas duas vezes ao dia (8h e 16h) e grânulos de ração e excesso de maravalha foram retirados a fim de evitar possíveis contaminações.

As amostras foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em freezer (-20° C) até o final do período experimental. Posteriormente foram descongeladas, homogeneizadas, pré-secas em estufa a 55° C por 72 horas, pesadas em balança digital e moídas em moinho de bola (Tecnal/TE-350) para posteriores análises bromatológicas.

As análises para determinação de MS, MM e PB das amostras das rações e das excretas foram realizadas no Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal (LZNA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do

Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), enquanto que as análises de EB, EE e FB foram realizadas no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus de Jaboticabal. Para as análises bromatológicas das rações e excretas foram utilizados os procedimentos descritos por SILVA & QUEIROZ (2005).

Para determinar a energia digestível aparente da ração, foi utilizada a equação:

$$ED \text{ ração} = EB \text{ ingerida} - EB \text{ excretada nas fezes} / MS \text{ ingerida} \quad (\text{Equação 1})$$

Os primatas foram distribuídos em três tratamentos, com cinco repetições, sendo cada animal uma unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por três rações comerciais para primatas não-humanos (Tabela 1).

Tabela 1 – Níveis de garantia das rações comerciais utilizadas no experimento.

Níveis de garantia (%)	Ração A	Ração B	Ração C
Processamento	extrusada	extrusada	peletizada
Umidade (máximo)	10,00	12,00	12,50
Proteína bruta (mínimo)	20,00	25,00	24,00
Extrato etéreo (mínimo)	5,00	8,00	7,00
Matéria fibrosa (máximo)	5,00	3,00	5,00
Matéria mineral (máximo)	6,00	10,00	16,00
Cálcio (máximo)	1,20	1,50	4,00
Fósforo (mínimo)	0,40	0,75	1,50

* Dados fornecidos nos rótulos dos produtos.

3.5. Análises estatísticas

As variáveis coeficiente de digestibilidade, energia digestível aparente, consumo e hemograma (leucometria) relativas aos tratamentos (rações) foram analisadas estatisticamente por meio de análise de variância. Para tanto, foi inicialmente aplicado o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias. Em seguida, para a comparação múltipla das médias de tratamentos foi aplicado o teste Tukey considerando $\alpha = 0,05$. Estas análises foram realizadas no programa SAS versão 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y = \mu + T_i + e_{ij} \quad (\text{Equação 2})$$

No qual μ é a média geral, T_i representa os efeitos das rações e e_{ij} corresponde ao erro aleatório, suposto normal, identicamente e independentemente distribuído, com média zero e variância σ^2 .

A variável peso vivo foi analisada por meio do emprego do modelo estatístico misto de medidas repetidas e, para tanto, utilizado o procedimento PROC MIXED do programa SAS versão 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). O modelo estatístico empregado foi:

$$Y = \mu + \alpha_i + m_{ij} + \beta_k + \alpha\beta_{ik} + e_{ijk} \quad (\text{Equação 3})$$

Em que μ é a média geral, α_i representa a variável fixa tratamento (rações), m_{ij} corresponde aos animais dentro de cada tratamento, β_k representa a variável fixa período, $\alpha\beta_{ik}$ é a interação entre tratamento e período e e_{ijk} é o erro aleatório, sendo $j = 1, 2, \dots, 5$. A modelagem da matriz de variâncias e co-variâncias foi realizada testando-se as seguintes estruturas: ANTE (1) ou ante-dependência de primeira ordem, CS ou simetria composta, UN ou não estruturada e componentes de variância ou VC (LITTELL *et al.*, 2006). Na escolha da matriz de variâncias e co-variâncias utilizou-se o Critério de Akaike para a seleção da estrutura matricial com maior verossimilhança ($AICc_r$; AKAIKE, 1974; BURNHAM & ANDERSON, 2004). A verossimilhança foi computada com base no critério $AICc_r$ e nas medidas adicionais, ou seja, as diferenças entre os valores de $AICc_r$ (Δ_r), as probabilidades de verossimilhança (w_r) e as verossimilhanças relativas (ER_r), computadas de acordo com as equações a seguir:

$$AICc_r = n_r \ln (SSE_r/n_r) + 2\theta_r + 2\theta_r(\theta_r + 1)/(n_r - \theta_r - 1) \quad (\text{Equação 4})$$

$$\Delta_r = AICc_r - \min AICc_r \quad (\text{Equação 5})$$

$$w_r = \exp(-\Delta_r/2) / \sum_{r=1}^R \exp(-\Delta_r/2) \quad (\text{Equação 6})$$

$$ER_r = (\max w_r) / w_r \quad (\text{Equação 7})$$

SSE_r representa a soma dos quadrados dos erros, Θ_r corresponde ao número de parâmetros estimados incluindo a variância do erro, n_r representa o tamanho da amostra e r os quatro diferentes modelos de estruturas de variâncias e co-variâncias testadas: ANTE (1), CS, UN e VC. Para comparação de médias foi utilizado o teste de comparações múltiplas com base em procedimento de simulação para controle do erro α .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas média, máxima e mínima registradas durante o período da coleta de excretas e sobras de ração foram respectivamente, 29,1°C, 30,5°C e 27,6°C e a umidade relativa do ar média foi de 68%.

Os valores percentuais médios de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta, matéria mineral e energia bruta analisados na Matéria Seca (MS) e Matéria Natural (MN) das rações comerciais utilizadas no experimento são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores médios das análises bromatológicas relativos às rações experimentais A, B e C.

	Unidade	Ração A		Ração B		Ração C	
		MS	MN	MS	MN	MS	MN
Matéria seca	%	-	89	-	88	-	91
Proteína bruta	%	21	19	20	17	26	24
Extrato etéreo	%	3	2	4	4	9	8
Fibra bruta	%	2	2	6	5	2	2
Matéria mineral	%	5	4	7	6	14	12
Energia bruta	kcal/kg	4357	3886	4475	3927	4361	3951

As médias e desvios padrão do consumo voluntário (g/d), consumo escalonado para o peso vivo do animal (g/kg/dia), consumo escalonado para o peso metabólico (g/kg^{3/4}/dia), consumo voluntário de energia digestível aparente (kcal/dia), consumo de energia digestível aparente escalonado para o peso vivo (kcal/kg/dia), consumo de energia digestível aparente escalonado para o peso metabólico (kcal/kg^{3/4}/dia) e contagem de leucócitos (mil/mm³) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores médios e desvios padrão do consumo voluntário (CONS), consumo escalonado para o peso vivo (CPV), consumo escalonado para o peso metabólico (CPM), consumo de energia digestível aparente (CEDa), consumo de energia digestível aparente escalonada para o peso vivo (CEPV), consumo de energia digestível aparente escalonada para o peso metabólico (CEPM) e contagem de leucócitos (LEU) em função dos diferentes tratamentos.

Variáveis	Tratamento 1 ^{1*}	Tratamento 2 ^{2*}	Tratamento 3 ^{3*}	P ⁴	CV ⁵
CONS (g/dia)	101,58 ^b ± 52,3	164,19 ^{a,b} ± 48,2	244,49 ^a ± 46,7	0,003	27,92
CPV (g/kg/dia)	12,18 ^b ± 1,8	19,03 ^{a,b} ± 1,5	31,06 ^a ± 1,4	0,027	14,61
CPM (g/kg ^{3/4} /dia)	20,24 ^b ± 1,7	32,39 ^{a,b} ± 1,4	51,83 ^a ± 1,3	0,013	11,04
CEDa (kcal/dia)	372,35 ^b ± 187,0	559,06 ^{a,b} ± 163,5	839,20 ^a ± 156,3	0,005	27,70
CEPV (kcal/kg/dia)	44,70 ^b ± 1,8	64,72 ^{a,b} ± 1,5	106,48 ^a ± 1,4	0,039	10,38
CEPM (kcal/kg ^{3/4} /dia)	74,44 ^b ± 1,7	109,95 ^{a,b} ± 1,4	178,04 ^a ± 1,3	0,020	8,18
LEU (mil/mm ³)	5,02 ± 1,3	7,26 ± 2,7	8,44 ± 1,0	0,057	26,57

¹Relativo à ração comercial A. ²Relativo à ração comercial B. ³Relativo à ração comercial C. *Médias em uma mesma linha seguidas por diferentes letras minúsculas diferem entre si pelo teste Tukey. ⁴Nível de significância (P) de 0,05. ⁵Coeficiente de variação (CV) relativo às comparações das médias entre os tratamentos.

Os valores médios e desvios padrão dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e extrato etéreo expressos em porcentagem (%) e energia digestível aparente expressa em quilocaloria por quilograma (kcal/kg) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios e desvios padrão do coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), coeficiente de digestibilidade da matéria mineral (CDMM), coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE) e energia digestível aparente (EDa) em função dos diferentes tratamentos.

Variáveis	Tratamentos ¹			P ²	CV ³
	Ração A	Ração B	Ração C		
CDMS (%)	94.25 ^a ± 1.5	85.20 ^b ± 1.1	81.60 ^b ± 3.4	0.0001	2.62
CDMM (%)	57.3 ± 24.1	52.2 ± 5.5	39.8 ± 13.4	0.2484	31.16
CDPB (%)	90.89 ^a ± 2.4	86.38 ^{a,b} ± 2.0	83.51 ^b ± 3.6	0.0079	3.23
CDEE (%)	85.77 ± 4.9	84.5 ± 1.9	88.24 ± 1.3	0.1695	3.42
EDa (kcal/kg)	3679.06 ^a ± 46.2	3406.27 ^b ± 41.1	3435.81 ^b ± 88.1	<0.0001	1.81

¹Médias em uma mesma linha seguidas por diferentes letras minúsculas diferem entre si pelo teste Tukey. ²Nível de significância (P) de 0,05. ³Coeficiente de variação (CV) relativo às comparações das médias entre os tratamentos.

Os valores médios do peso vivo expresso em quilograma (kg) no período pré-experimental (períodos 1) e pós-experimental (período 2), assim como a interação entre os tratamentos e períodos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores médios do peso vivo para as interações “tratamento x período” e respectivos valores de probabilidade de acordo com o teste F obtidos através do PROC MIXED do SAS®.

	Período 1 ¹	Período 2 ²	Valor P ³
Tratamento 1	7.76	7.00	0.004
Tratamento 2	8.43	8.51	0.838
Tratamento 3	7.74	8.53	0.019
Valor P ³	0.842	0.583	

¹Peso vivo do animal no período inicial ao experimento. ²Peso vivo do animal no período final ao experimento. ³Nível de significância (*P*) de 0,05.

Alguns dos valores obtidos nas análises bromatológicas das rações comerciais (tabela 2) foram diferentes dos níveis de garantia apresentados nos rótulos dos produtos (tabela 1), estando apenas a ração C de acordo com os níveis de garantia. Na ração A apenas os valores de matéria seca e extrato etéreo foram inferiores aos níveis de garantia, enquanto que na ração B os valores de proteína bruta e extrato etéreo foram inferiores e o de fibra bruta superior aos apresentados no rótulo.

Esse resultado confirma a informação de Knapka (1997) sobre alterações regulares na formulação das dietas comerciais e a do NRC (2003) sobre as conseqüentes mudanças na concentração dos ingredientes que não são mensurados. Os níveis de extrato etéreo de duas rações não atingiram o mínimo estabelecido pelo rótulo, porém estão de acordo com a exigência da espécie, que é de 2 a 5% (KERR, 1972). Reforçando essa necessidade, Nunes & Catão-Dias (2006) ainda relatam que uma dieta com mais de 5% de extrato etéreo em sua composição pode causar diarreia e obesidade. Contudo, os valores de referência das três rações comerciais são superiores a ambos os valores. As concentrações de energia bruta não são fornecidas no rótulo, o que não permite comparações. Porém, as rações apresentam valores satisfatórios de acordo com as exigências energéticas mínimas da espécie.

Para analisar a ingestão de matéria seca das rações foi calculado o consumo voluntário (g/dia), o consumo escalonado para o peso vivo (g/dia/kg) e para o peso metabólico (g/dia/kg^{3/4}) dos animais, a fim de reduzir a interferência das diferentes

massas corpóreas. Contudo, não houve diferença significativa entre as avaliações de consumo, evidenciando que não houve diferença quando considerado ou anulado o efeito da massa dos animais. Porém, houve uma redução significativa dos desvios padrão e coeficiente de variação, o que indica que as análises que anulam o efeito da massa melhoram a precisão da variável, conforme apresentados na tabela 3.

Com relação ao consumo (tabela 3), os animais do tratamento 1 diferiram dos do tratamento 3 em todas as variáveis analisadas, apresentando este último maiores valores. Fortman *et al.* (2002) sugerem que o animal deve ingerir diariamente de 3 a 5% do seu peso vivo em alimento com base na matéria seca e com isso, as médias de consumo voluntário nos tratamentos 1, 2 e 3 deveriam ter sido de no mínimo 259, 259 e 248 gramas, respectivamente, visto que os pesos médios para os tratamentos 1, 2 e 3 eram de 8,636, 8,648 e 8,272 kg, respectivamente. Porém, os valores obtidos foram inferiores, com exceção do tratamento 3, que obteve uma média dentro da exigência quando considerado o desvio padrão. Quando escalonado esse valor para peso vivo, as médias de consumo deveriam ser de no mínimo 29.99, 29.95 e 29.98 nos tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Sob essa análise, o tratamento 3 foi o único que ultrapassou essa exigência mínima.

Para melhor avaliar a relação entre consumo de matéria seca e consumo energético, foram calculados os consumos de energia digestível aparente voluntário (kcal/d) e escalonado para o peso vivo (kcal/d/kg) e o peso metabólico (kcal/d/kg^{3/4}). Não houve diferença significativa entre as análises de consumo de energia digestível aparente, porém assim como na avaliação do consumo de matéria seca, houve maior precisão das análises quando o consumo foi escalonado para peso vivo e peso metabólico, visto que houve uma redução acentuada do desvio padrão e coeficiente de variação. Todas as análises apresentaram diferenças entre os tratamentos 1 e 3, tendo os animais desse último apresentado maior ingestão de energia (tabela 4).

Segundo Kerr (1972), as exigências energéticas de *Macaca mulatta* adultos variam entre 40 e 65 kcal/kg/d e de acordo com essa exigência, os resultados apresentados nos três tratamentos foram superiores às exigências energéticas mínimas. Além disso, o tratamento 2 quase alcançou a necessidade máxima enquanto que o tratamento 3 ultrapassou essa necessidade. Esse excesso de energia pode prejudicar o animal, visto que se o mesmo estiver confinado pode resultar em obesidade.

Os leucócitos são parâmetros sanguíneos que podem ter seus valores influenciados por diversos fatores, entre eles, o estresse (FOWLER, 1986). Uma vez que os animais experimentais estavam em alojamentos individuais com isolamento social e restrição alimentar e esses fatores são altamente estressantes para primatas (GONÇALVES *et al.*, 2010), o parâmetro leucocitário foi mensurado a fim de analisar possível estresse gerado pelo experimento. Contudo, não houve diferença entre os três tratamentos com relação às quantidades de leucócitos. As médias encontradas (tabela 3) corroboram com os resultados obtidos por Andrade *et al.* (2004) e Stanley & Cramer (1968) para contagem leucocitária de machos adultos de macacos Rhesus, que foram respectivamente 7.89 ± 3.53 e 8.2 ± 3.25 mil/mm³.

Ao que se refere ao coeficiente de digestibilidade dos nutrientes e da energia, o tratamento 1 obteve os melhores resultados com relação à matéria seca e energia digestível aparente. Os coeficientes de digestibilidade de matéria mineral e extrato etéreo não tiveram diferença significativa entre os três tratamentos, porém este último apresentou bons resultados de digestibilidade quando observados as médias e o coeficiente de variação. Quanto ao coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, houve diferença significativa entre os tratamentos 1 e 3, apresentando as rações 1 e 2 uma melhor digestibilidade. Considerando que essas mesmas rações sofreram processo de extrusão, enquanto que a ração 3 passou por processo de peletização, o resultado apresentado confirma os relatos de Dahline & Lorenz (1993) de que rações extrusadas melhoram a digestibilidade de proteína.

De acordo com o modelo misto e o Critério de Akaike (AIC_c; AKAIKE, 1974; BURNHAM and ANDERSON, 2004), o modelo de variâncias e co-variâncias mais verossímil foi o modelo de simetria composta. Através desse modelo foram obtidas as médias das variáveis fixas tratamento e tempo; e da interação (tratamento x período) para avaliação do peso vivo (PV). Não houve diferença entre as médias quando se analisou as variáveis separadamente, porém quando a interação foi testada, apresentou significância estatística de período em tratamento. Os períodos interferiram nos tratamentos 1 e 3, ou seja, o tempo de período experimental resultou em perda de massa corporal para o tratamento 1 e ganho para o tratamento 3, o que pode ser explicado pelo consumo de energia pelos animais (tabela 5). Observa-se que os animais do tratamento 1 apresentaram menor consumo de energia quando comparado com os animais do tratamento 3.

5. CONCLUSÃO

A ração A apresentou maior coeficiente de digestibilidade enquanto que a ração C foi mais consumida. Embora as três rações comerciais avaliadas tenham apresentado diferentes valores nutritivos, a escolha da melhor ração deve ser relacionada ao seu custo e ter em vista a categoria e o tipo de confinamento dos animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on automatic control** 19: 716-723, 1974.

AMMERMAN, C. B.; D. H. BAKER & A. J. LEWIS (Eds.). **Bioavailability of Nutrients for Animals**. San Diego: Academic Press. 441p. 1995.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L; MINARDI, I; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal: As bases e os fundamentos da nutrição animal – Os alimentos**. São Paulo: Nobel. v.1, 395p. 2002.

ANDRADE, M. C. R.; RIBEIRO, C. T.; SILVA, V. F.; MOLINARO, E. M.; GONÇALVES, M. A. B.; MARQUES, M. A. P.; CABELLO, P. H; LEITE, J. P. G. Biologic data of Macaca mulatta, Macaca fascicularis and Saimiri sciureus used for research at the Fiocruz Primate Center. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, Vol. 99 (6): 581-589, 2004.

ANKEL-SIMONS, F. **Primate anatomy: an introduction**. 3rd edition. United States of America: Elsevier Inc. 724 p. 2007.

BIOTECNAL. **O fantástico mundo dos probióticos**. Três Corações, Mg. 97 p. 1996.

BLANEY JR., J. E. *et al.* Vaccine candidates for dengue virus type 1 (DEN1) generated by replacement of the structural genes of rDEN4 and rDEN4Delta30 with those of DEN1. **Virology Journal**, 28(4): 23, 2007.

BOINSKI, S.; GROSS, T. S. & DAVIS, J. K. Terrestrial predator alarm vocalizations are a valid monitor of stress in captive brown capuchins (*Cebus apella*). **Zoo Biology**, 18: 295-312, 1999.

BONECINI-ALMEIDA, M. G. *et al.* Experimental Chagas' disease in rhesus monkeys. I. Clinical, parasitological, hematological and anatomo-pathological studies in the acute and indeterminate phase of the disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 85(2): 163-171, 1990.

BRUORTON, M. R., C. L. DAVIS & M. R. PERRIN. Gut microflora of vervet and samango monkeys in relation to diet. **Appl. Environ. Microbiol.** 57: 573-578, 1991.

BURNHAM, K. P., ANDERSON, D. R. Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. **Sociological Methods & Research** 33, 261-304, 2004.

CALVERT, J. J. Food selection by western gorillas (*G. gorilla gorilla*) in relation to food chemistry. **Oecologia**, 65: 236-246, 1985.

CARCIOFI, A. C & SAAD, C. E. P. Nutrition and nutritional problems in wild animals. In: FOWLER, M. E; CUBAS, Z. S. **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals**. Iowa: Iowa State University Press, p. 152-157, 2001.

CARRIER, C. A; ELLIOTT, T. B. & LEDNEY, G. D. Resident bacteria in a mixed population of rhesus macaque (*Macaca mulatta*) monkeys: a prevalence study. **J Med Primatol**, 38: 397-403, 2009.

COIMBRA-FILHO, A. F. Considerações sobre a alimentação dos animais selvagens em cativeiro. **Guanabara Rural**, 2: 18-28, 1970

COUTO, H. P. **Fabricação de rações e suplementos para animais: gerenciamento e tecnologias**. Viçosa: CPT. 263 p. 2008.

CRISSEY, S. D., GORE, M., LINTZENICH, B. A. & SLIFKA, K. Callitrichids: Nutrition and dietary husbandry (Adapted from de AZA Callitrichid Husbandry manual). **Nutrition Advisory Group Handbook**. 19 p, 2003.

DAHLIN, K. & LORENZ, K. Protein digestibility of extruded cereal grains. **Food Chemistry**, 48(1): 13-18, 1993.

FERREIRA, W.M. Os componentes da parede celular vegetal na nutrição de não-ruminantes. In: **Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 31, 1994. Maringá. Simpósio internacional de produção de não-ruminantes – Anais...Maringá: EDUEM, p 85-113.

FORTMAN, J. D.; HEWETT, T. A. & BENNETT, B. T. **The Laboratory Nonhuman**. Washington: CRC Press. 2002.

FOWLER, M. E. Stress. In: **Zoo & wild animal medicine**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, cap. 5, p. 33-36. 1986.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol**. 66: 356-378, 1989.

FULLER, D. H. *et al.* Immunogenicity of hybrid DNA vaccines expressing hepatitis B core particles carrying human and simian immunodeficiency virus epitopes in mice and rhesus macaques. **Virology**, 364(2): 245-255, 2007.

GALLER, R. *et al.* Attenuation and immunogenicity of recombinant yellow fever 17D-dengue type 2 virus for rhesus monkeys. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 38(12): 1.835-1.846, 2005.

GIBSON, G. R. & ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.** 125: 1401-1412, 1995.

GONÇALVES, M. A. B.; DA SILVA, S. L.; TAVARES, M. C. H.; GROSMANN, N. V.; CIPRESTE, C. F.; DE CASTRO, P. H. G. Comportamento e Bem-Estar Animal: o enriquecimento ambiental. Capítulo 5. *In: **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica.** Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. P. 137-160, 2010.*

IUCN (International Union for Conservation of Nature) Red List of Threatened Species. 2008. *IUCN Red List Status.* Disponível em: http://www.iucnredlist.org/mammals/redlist_status. Acessado em: 02 de julho de 2009.

JOINT WORKING GROUP ON REFINEMENT. Removal of blood from laboratory mammals and birds. **Laboratory Animals**, 27: 1-22, 1993.

KERR, G. R. Nutritional requirements of subhuman primates. **Physiological Reviews**, 52(2): 415-467, 1972.

KLEIBER, M. 1975. *The fire of life: An introduction to animal energetics.* New York: R. E. Kreiger Publishing Co.

KNAPKA, J. J. Natural ingredient diets: managing the variation in dietary nutrient concentration. **Lab. Animal**, 26: 40-43, 1997.

KNAPKA, J. J. Factors influencing required dietary nutrient concentrations. **Lab. Animal**, 29: 47-50, 2000.

LACAZ RUIZ, R. **Microbiologia zootécnica.** 1 ed. São Paulo: Roca. 314 p. 1992.

LECLERCQ, B.; HENRY, Y.; PEREZ, J. M. Valor energético dos alimentos destinados aos animais monogástricos. P: 9-15. *In: Alimentação dos animais monogástricos: suínos, coelhos e aves.* Tradução de Paulo Marcos Agria de Oliveira. São Paulo: Roca, 245 p, 1999.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica.** São Paulo: Sarvier, 1984.

LIMA, M. R. de. Avaliação do Fenótipo e Estágio de Ativação Celular em Primatas Não Humanos (*Macaca fascicularis e Macaca mulatta*) Mantidos em Cativeiro como Base para Estudo Pré-Clínico de Vacinas. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: **Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.** 2008.

LINDBURG, D. G. The rhesus monkey in north India: an ecological and behavioral study. **Primate Behav.**, 2: 1-106, 1971.

LITTELL, R. C., MILIKEN, G. A.; STROUP, W. W.; WOLFINGER, R. D.; SCHABENBERGER, O. SAS for mixed models. 2nd edition. United States of America: **SAS Institute Inc.** 814 p., 2006.

LOYD, L. E., B. E. MCDONALD, & E. W. CRAMPTON. Energy requirements of the body. *In: Fundamentals of Nutrition.* San Francisco: W. H. Freeman and Co. Pp.396-438, 1978.

MARCHINI, J. S.; FETT, C. A.; FETT, W. C.; SUEN, V. M. M.. Calorimetria: aplicações práticas e considerações críticas. **Fitness & Performance Journal**, v. 4, n. 2, p. 90-96, 2005.

MCNAB, B. K. The influence of food habits on the energetics of eutherian mammals. **Ecol. Monogr.**, 56: 1-20, 1986.

MILTON, K. Quo vadis? Tactics of food search and group movement in primates and other animals. *In: BOINSKI, S. & GARBER, P. A. (Eds.) On The Move: how and why animals travel in groups.* Chicago, London: University of Chicago Press, 2000.

MONRO, J.A. Evidence-based food choice: the need for new measures of food effects. **Trend Foodn Sci. Tech.**, Ontario, v. 11, n. 4-5. p. 136-144, 2000.

MORRIS, R. & MORRIS, D. **'Men and Apes'**. London: Hutchinson. 1966.

MOTTA, G. B. Utilização de probióticos e prebióticos na alimentação de suínos. **Monografia de graduação da Universidade Estadual do Norte Fluminense**, Campos dos Goytacazes, RJ. 2005.

MOURA, A. M. A.; VIANA, C. F.; FASANO, D. M.; BRAVIN, J. S.; NASCIMENTO, L. W. F. Manutenção em cativeiro. Capítulo 6. In: **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. P. 161-206, 2010.

NAPIER, J. R. & NAPIER, P. H. **The natural history of the primates**. MIT Press, Cambridge, MA. 1985.

NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**. 1972.

NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Nonhuman Primates. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**. 1978.

NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Nonhuman Primates: Second Revised Edition. Washington, D.C.: **The National Academies Press**. 308p. 2003.

NOWAK, R. M. & PARADISO, J. L. Walker's mammals of the world. 4th ed. Vol. I. **The Johns Hopkins University Press**: Baltimore and London. 568 pp. 1983.

NUNES, A. L. N. & CATÃO-DIAS, J. L. Primates – Primatas do Velho Mundo (Babuínos, Mandril, Chimpanzé, Orangotango). Capítulo 25. In: **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária**. São Paulo: Roca. P. 378-401, 2006.

OLIVEIRA, L. D. Desenvolvimento e Avaliação de uma ração extrusada para primatas dos gêneros *Cebus sp.*, *Callithrix sp.* e *Leontopithecus sp.* Jaboticabal. **Relatório Final do Estágio Curricular em Medicina Veterinária** - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 90 p. 2002.

PISSINATTI, A. & ANDRADE, M. C. R. Histórico. Capítulo 1. In: **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. P. 21-40, 2010.

PISSINATTI, A.; GOLDSCHMIDT, B.; SOUZA, I. V. Taxonomia. Capítulo 2. *In: Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. P. 41-55, 2010.

POND, W. G., CHURCH, D. C. & POND, K. R. **Basic Animal Nutrition and Feeding**. 4. ed. New York: John Wiley, 615 p, 1995.

PORROZZI, R. *et al.* Cross-immunity experiments between different species or strains of Leishmania in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 71(3): 297-305, 2004.

PUTET, G. Energy. *In: Tsang, R. C.; Lucas, A.; Uauy, R.; Zlotkin, S. (Eds.). Nutritional needs of the preterm infant*. Baltimore, Williams & Wilkins, 15-28, 1993.

REFSTIE, S.; SVIHUS, B.; SHEARER, K.D.; et al. Nutrient digestibility in atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polisaccharide content in different soyabean products. **Anim. Feed Sci. and Techn.**, Amsterdam, v. 79, n. 2, p.331-345. 1999.

RIOPELLE, A. J., C. W. HILL, S.-C. LI, R. H. WOLF, H. R. WEIBOLD & J. L. SMITH. Protein deprivation in primates. I. Nonpregnant adult rhesus monkeys. **Am. J. Clin. Nutr.**, 27:13-21, 1974.

RICHARD, A. F. Primate diets: patterns and principles. *In: RICHARD, A. F. Primates in Nature*. New York: Freeman and Company. 1985.

ROBBINS, C. T. Wildlife Feeding and Nutrition. 1.ed. San Diego: **Academic Press**, Inc., 343p., 1983.

ROBBINS, R. C. & J. A. GAVAN. Utilization of energy and protein of a commercial diet by rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Lab. An. Care**, 16: 286-291, 1966.

ROONWAL, M. L. & MOHNOT, S. M. **Primates of south Asia**. Harvard Univ. Press, Cambridge, xviii + 421 pp., 1977.

RUCH, T. C. **Bibliographica Primatologica**: a classified bibliography of primates other than man – part I. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas. 1941.

SÁ, L. R. M. Síndrome do emagrecimento progressivo dos calitriquídeos – processo de má absorção semelhante à doença celíaca humana-caracterização clínica, laboratorial e anatomopatológica. São Paulo. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. 163 p., 2004.

SAKAGUCHI, E., K. SUZUKI, S. KOTERA and A. EHARA. Fibre digestion and digesta retention time in macaque and colobus monkeys. Pp.671-674. *In: Primatology Today: Proceedings of the 13th Congress International Primatology Society*. A. Ehara, T. Kuimura, O. Takenaka and M. Iwamoto (Eds.). Amsterdam: **Elsevier Science Publishing**. 1991.

SAKOMURA, N. K. & ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal : FUNEP. 283 p. 2007.

SCOOT, M.L.; NESHEIN, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chicken**. 3a ed. New York: Ithaca, 562p. 1982.

SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 235p. 2005.

SIMONDS, P. E. **The bonnet macaque in south India**. pp. 175-196. 1965.

STANLEY, R. E. & CRAMER, M. B. Hematologic values of the monkey (*Macaca mulatta*). **Am J Vet Res** 29: 1041-1047, 1968.

STEGNIK, L. D., J. MOSS, K. J. PRINTEN & E. S. CHO. D-methionine utilization in adult monkeys fed diets containing DL-methionine. **J. Nutr.** 110: 1240-1246., 1980.

STEVENS, C. E. and I. D. HUME. **Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System**, 2nd ed. New York: Cambridge University Press. 1995.

TARDIF, S. *et al.* Preparing New World monkeys for laboratory research. **Ilar Journal**, 47(4): 307-315. 2006.

TERAO, K. Management of the Old World Primates. Chapter 11. *In: The laboratory primate: the handbook of experimental animals*. Edited by Sonia Wolfe-Coole. London: Elsevier academic press. 2005.

ULYAN, M. J. *et al.* The effects of predictable and unpredictable feeding schedules on the behavior and physiology of captive brown capuchins (*Cebus apella*). **Applied Animal Behaviour Science**, 101: 154-160, 2006.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. CABI Publishing, New York, 614 p., 1999.

VAN SOEST, P. J. **Nutricional ecology of the ruminant**. 2nd edition. Ithaca: Cornell University Press. 476 p. 1994.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutr. Abstr. Rev. Farnham Royal**, v.51, n.12, p. 789-975, 1981.

WEISS, W. P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, **Proceedings...**, Ithaca: Cornell University, p. 176-185, 1999.

WHITNEY, R. A. Taxonomy. *In: Nonhuman primates in biomedical research: biology and management*. Edited by B. Taylor Bennett, Christian R. Abee, Roy Henrickson. London: Academic press. P: 33-47, 1995.

WILSON, D. E. & REEDER, D. M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Vol. 1. P. 163. 3rd ed. United States of America: The Johns Hopkins University Press. 2005.

APÊNDICE A – Pesos e idades dos animais utilizados no experimento

Tabela 6 – Pesos e idades dos animais experimentais em função dos tratamentos e períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2).

Animal	Tratamento	Peso (P1)	Peso (P2)	Idade
U29	1	12,14	10,72	10
AB39	1	5,70	4,20	5
AA13	1	8,50	8,38	6
Z5	1	7,30	6,62	7
Z53	1	9,54	8,80	7
Z97	2	8,52	8,62	7
AB129	2	5,76	5,20	5
AB111	2	7,00	6,46	5
X19	2	12,54	11,70	8
X35	2	9,42	9,58	8
U35	3	11,14	11,90	10
Z77	3	7,86	8,70	7
AB79	3	4,82	4,92	5
V29	3	12,00	12,20	9
AB41	3	5,60	5,72	5

APÊNDICE B – Composição das rações comerciais utilizadas no experimento

Ração A: É um alimento extrusado, com composição básica de fubá de milho (56,1%), farelo de soja, óleo de soja refinado, ovo integral desidratado, fécula de mandioca, leveduras, premix vitamínico mineral, aditivo pré-biótico, aditivo acidificante, corante, aditivo flavorizante e antioxidante.

Ração B: É um alimento extrusado, com composição básica de milho integral moído, quirera de arroz, farinha de vísceras de aves, farelo de soja, ovo em pó, leite em pó integral, dextrose, levedura seca de cerveja, polpa de beterraba, óleo de soja refinado, calcário calcítico, premix mineral vitamínico, vitamina C encapsulada, DL metionina, cloreto de sódio, aditivo pré-biótico, adsorvente de micotoxinas, tripolifosfato de sódio, cloreto de sódio, aditivo antifúngico fungistático, pró-biótico, extrato de Yucca Schidgera, corante natural, aditivo antioxidante, aroma natural de banana, baunilha e frutas. A ração apresenta no mínimo 3200 kcal de energia metabolizável.

Ração C: É um alimento peletizado, com composição básica de farelo de trigo, farelo de soja, leite integral em pó, soro de leite em pó, açúcar, cloreto de sódio, gordura vegetal estabilizada, milho pré-gelatinizado, premix vitamínico mineral aminoácido, farinha de carne, farinha de arroz gelatinizada e antioxidante.

APÊNDICE C - Microbiologia da região retal dos animais experimentais

Tabela 7 – Microbiologia da região retal dos animais experimentais em função dos tratamentos e períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2).

	Tratamento 1		Tratamento 2		Tratamento 3	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2
<i>Pantoea agglomerans</i>	3	2	4	4	4	3
<i>Escherichia coli</i>	4	4	2	-	-	3
<i>Salmonella choleraesuis</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Serratia odorífera</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Leminorella richardii</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	-	-	2	-
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	-	-	-	-	1	-
<i>Providencia alcalifaciens</i>	-	-	-	-	-	1

¹Microbiota do animal no período inicial ao experimento. ²Microbiota do animal no período final ao experimento.

APÊNDICE D - Análises bioquímicas dos animais experimentais

Tabela 8 – Valores médios, desvios padrões e tamanho amostral (n) das análises bioquímicas realizadas nos períodos pré-experimento (P1) e pós-experimento (P2), em função dos diferentes tratamentos.

Análises	Tratamento 1		Tratamento 2		Tratamento 3		Tratamento 3		Tratamento 3		Tratamento 3	
	P1	n	P2	n	P1	n	P2	n	P1	n	P2	n
Creatinina	1,4 ± 0,3	4	1,4 ± 0,5	5	1,4 ± 0,1	3	1,6 ± 0,4	5	1,3 ± 0,3	5	1,5 ± 0,4	5
Proteína total	1,2 ± 0,1	4	5,8 ± 2,7	5	1,1 ± 0,1	3	4,6 ± 3,3	5	1,1 ± 0,0	5	5,9 ± 2,7	5
Albumina	5,4 ± 0,4	4	5,5 ± 0,6	5	5,1 ± 0,3	3	5,4 ± 0,8	5	5,1 ± 0,2	5	5,0 ± 0,5	5
Hepatograma	94,0 ± 18,3	4	74,8 ± 10,8	5	88,4 ± 10,9	3	75,6 ± 12,3	5	88,0 ± 27,7	5	70,8 ± 17,4	5
Colesterol	145,3 ± 21,3	4	181,4 ± 55,2	5	146,4 ± 33,4	3	182,2 ± 39,7	5	132,0 ± 12,5	5	180,0 ± 26,0	5
Fosfatase alcalina	168,0 ± 163,1	4	106,6 ± 73,2	5	238,8 ± 163,1	3	163,4 ± 75,6	5	215,3 ± 223,9	5	197,4 ± 219,1	5
Cálcio	9,3 ± 0,3	4	9,4 ± 0,4	5	9,5 ± 0,1	3	9,4 ± 0,3	5	9,2 ± 0,4	5	9,2 ± 0,2	5
Glicose	165,8 ± 31,7	4	69,4 ± 27,3	5	156,0 ± 7,6	3	57,8 ± 16,4	5	148,3 ± 22,7	5	69,0 ± 20,3	5
Uréia	13,5 ± 7,5	4	25,2 ± 18,5	5	17,8 ± 13,7	3	30,0 ± 27,3	5	14,1 ± 2,2	5	23,0 ± 8,7	5
Sódio	146,00 ± 3,56	4	141,60 ± 10,48	5	145,40 ± 1,52	3	145,80 ± 1,30	5	146,00 ± 0,0	5	145,60 ± 1,14	5
Potássio	3,98 ± 0,29	4	4,44 ± 1,12	5	4,06 ± 0,21	3	4,28 ± 0,38	5	3,83 ± 0,25	5	3,94 ± 0,27	5
Cloro	117,50 ± 3,32	4	109,80 ± 9,62	5	116,40 ± 1,67	3	115,60 ± 3,58	5	115,67 ± 2,31	5	117,60 ± 3,36	5
Fósforo	12,73 ± 0,51	4	16,16 ± 6,77	5	13,04 ± 0,70	3	14,00 ± 9,55	5	13,40 ± 1,04	5	19,22 ± 9,08	5
Ácido Úrico	0,20 ± 0,00	4	0,20 ± 0,00	5	0,20 ± 0,00	3	0,20 ± 0,00	5	0,20 ± 0,00	5	0,20 ± 0,00	5
Ferro	130,00 ± 4,69	4	168,80 ± 74,24	5	138,00 ± 13,80	3	181,40 ± 10,03	5	114,67 ± 9,29	5	152,00 ± 27,17	5
Alanina aminotransferase	33,15 ± 11,79	4	38,88 ± 14,33	5	28,76 ± 8,28	3	47,28 ± 21,40	5	31,50 ± 3,70	5	26,48 ± 5,55	5
Aspartato aminotransferase	77,05 ± 18,02	4	99,40 ± 32,76	5	79,42 ± 13,09	3	78,98 ± 10,23	5	76,47 ± 11,55	5	76,98 ± 18,50	5