

PROTOCOLOS DE CAPTURA DE MICOS-LEÕES (*Leontopithecus spp.*) NA NATUREZA



INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE - ICMBio

PROTOCOLOS DE CAPTURA DE MICOS-LEÕES

(*Leontopithecus spp.*) NA NATUREZA

1ª edição



PRESIDENTE DA REPÚBLICA

Luiz Inácio Lula da Silva

VICE-PRESIDENTE DA REPÚBLICA

Geraldo José Rodrigues Alckmin Filho

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE

Marina Silva

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

Presidente

Mauro Oliveira Pires

Diretoria de Pesquisa, Avaliação e Monitoramento da Biodiversidade

Diretor

Marcelo Marcelino de Oliveira

Coordenação Geral de Estratégias para Conservação

Coordenadora-Geral

Marília Marques Guimarães Marini

Coordenação de Identificação e Planejamento de Ações para Conservação

Coordenador

Caren Cristina Dalmolin

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros

Coordenador

Leandro Jerusalinsky

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

Diretoria de Pesquisa, Avaliação e Monitoramento da Biodiversidade

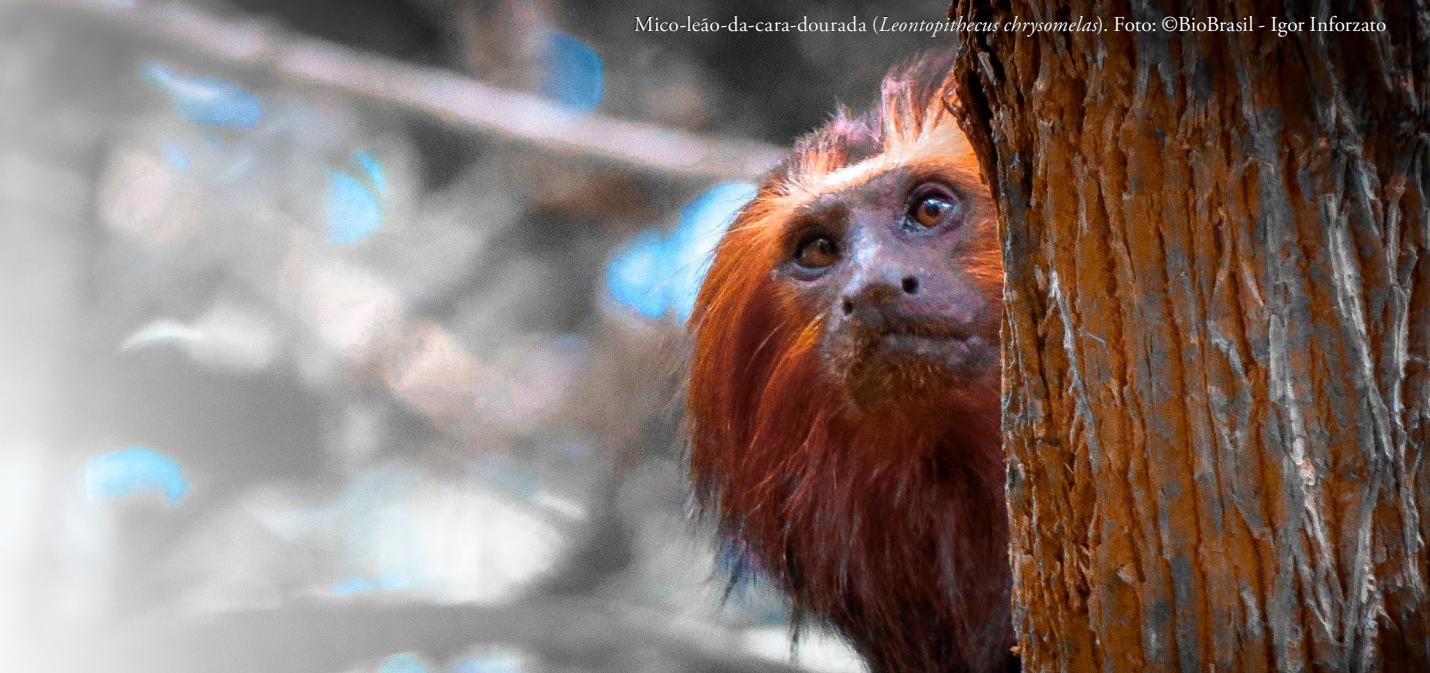
EQSW 103/104, Bloco “D”, Complexo Administrativo - Setor Sudoeste

Bairro Setor Sudoeste - Brasília - CEP: 70670-350

Telefone: (61) 2028-9055/9394

www.gov.br/icmbio





PROTOCOLOS DE CAPTURA DE MICOS-LEÕES (*Leontopithecus spp.*) NA NATUREZA

AUTORES DOS TEXTOS

Gabriela Cabral Rezende

Daniel Ângelo Felippi

Lilian Silva Catenacci

Carlos Ruiz-Miranda

Francy Forero Sánchez

Leonardo de Carvalho Oliveira

Thaís Guimarães-Luiz

Marina Galvão Bueno

Camila Vieira Molina

Rogério Loesch Zacariotti

Paula Beatriz Mangini

Rodrigo Gonçalves Amaral

Felipe Bufalo

Olivier Kaisin

Laurence Culot

BRASÍLIA, 2025

PROTOCOLOS DE CAPTURA DE MICOS-LEÕES (*Leontopithecus spp.*) NA NATUREZA

AUTORES

Gabriela Cabral Rezende, Daniel Ângelo Felippi, Lilian Silva Catenacci, Carlos Ramón Ruiz-Miranda, Francy Forero Sánchez, Leonardo de Carvalho Oliveira, Thaís Guimarães-Luiz, Marina Galvão Bueno, Camila Vieira Molina, Rogério Loesch Zacariotti, Paula Beatriz Mangini, Rodrigo Gonçalves Amaral, Felipe Bufalo, Olivier Kaisin, Laurence Culot

REVISÃO FINAL

Gabriela Cabral Rezende, Keoma Coutinho Rodrigues, Mônica Mafra Valença-Montenegro

PROJETO GRÁFICO E EDITORAÇÃO

Keoma Coutinho Rodrigues

FOTOS CEDIDAS

Celso Margraf, Gabriela Cabral Rezende, Marina G. Bueno, Marilha Mardegan Assunção, Igor Inforzato, Rodrigo Amaral, Olivier Kaisin, Hiago Ermenegildo, Luiz Thiago de Jezus Muniz, Andréia Fonseca Martins

CAPA

Foto: Mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*) por Luis Palácios

CONTRACAPA

Foto: Mico-leão-da-cara-preta (*Leontopithecus caissara*) por Celso Margraf

Como citar o documento: Rezende, G. C.; Felippi, D. A; Catenacci, L. S.; Ruiz-Miranda, C. R.; Sánchez, F. F.; Oliveira, L. C.; Guimarães-Luiz, T.; Bueno, M. G.; Molina, C. V.; Zacariotti, R. L.; Mangini, P. B.; Amaral, R. G.; Bufalo, F. S.; Kaisin, O.; Culot, L. 2025. Protocolos de captura de Micos-leões (*Leontopithecus spp.*) na Natureza. Brasília: ICMBio. 47 p.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Protocolos de captura de micos-leões
(*Leontopithecus spp.*) na natureza [livro eletrônico]. -- 1. ed. -- Brasília, DF : Instituto Chico Mendes - ICMBio, 2025.
PDF

Vários autores.
Bibliografia.
ISBN 978-65-5693-123-4

1. Mico-leão-dourado 2. Mico-leão-dourado - Conservação 3. Protocolos de manejo.

25-258679

CDD-599.84

Índices para catálogo sistemático:

1. Protocolos de manejo : Mico-leão-dourado : Zoologia 599.84

Cibele Maria Dias - Bibliotecária - CRB-8/9427



APRESENTAÇÃO

Quando se pensa em exemplos de sucesso na conservação da biodiversidade, é comum que o caso dos micos-leões logo venha à mente. De fato, é praticamente impossível falar sobre conservação de espécies ameaçadas de extinção, e particularmente de primatas no Brasil, sem referir o modelo adotado para reverter a situação de risco dos micos-leões na Mata Atlântica. Esse modelo sempre teve a pesquisa científica e o manejo populacional como dois de seus principais eixos. E, para isso, o desenvolvimento de procedimentos eficazes e seguros para a captura de espécimes na natureza foi crucial desde seus primórdios.

Nas décadas de 1960 e 1970, os esforços pioneiros de Adelmar Coimbra Filho na primatologia conservacionista brasileira foram, inicialmente, enfocados no “sauí-piranga” – nome indígena pelo qual costumava chamar os micos-leões-dourados (*Leontopithecus rosalia*) – e, em seguida, ampliados para os “micos-leões escuros” – de-cara-dourada (*L. chrysomelas*) e pretos (*L. chrysopygus*). Em sua dissertação de mestrado, de 1976, ele relatou o desenvolvimento do método, cujos fundamentos são utilizados até hoje, que resultou na captura de sete micos-leões-pretos – naquele então, espécie recém redescoberta e ausente de plantéis *ex situ* –, no Parque Estadual do Morro do Diabo (SP), e 17 micos-leões-dourados “*provenientes de matas em processo de destruição*”, em Silva Jardim (RJ). Tais espécimes integraram o Banco Biológico dos Micos-Leões, no Parque Nacional da Tijuca (RJ), com vistas a promover pesquisas e formar colônias reprodutivas para contribuir com a recuperação das populações *in situ*. Essa estrutura derivou na criação do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, em 1979, em Guapimirim (RJ), uma referência mundial no manejo de micos-leões e outros primatas ameaçados de extinção.

A partir da década de 1980, diversas iniciativas de pesquisa e manejo dos micos-leões utilizaram capturas na natureza, destacando-se as translocações para a conservação, visando reforços populacionais, reintroduções e estabelecimento de populações *ex situ*. Em 1984, grupos de mico-leão-preto foram resgatados da área de inundação da Usina Hidrelétrica de Rosana, no Pontal do Paranapanema (SP), e fortaleceram o plantel *ex situ* da espécie. Em 1994, grupos de micos-leões-dourados isolados em pequenos fragmentos foram translocados para a área onde depois foi criada a Reserva Biológica União (RJ). Em 1995, foi realizada a primeira translocação desde uma população *in situ* para a reintrodução do mico-leão-preto em outra área, também no Pontal do Paranapanema.

Boa parte do que hoje sabemos sobre ecologia, comportamento, genética e saúde dos micos-leões passou por capturas na natureza. Projetos de pesquisa com as quatro espécies se valeram dessa abordagem para a colocação de rádio-colares e coleta de amostras de material biológico desde a década de 1990, e alguns perduram até o presente. A captura de micos-leões na natureza também tem sido uma ferramenta importante para enfrentar ameaças emergentes e novos desafios. Na década de 2010, centenas de micos-leões-de-cara-dourada em condição invasora na região de Niterói (RJ) foram capturados, especialmente para evitar potenciais impactos sobre as populações nativas próximas do mico-leão-dourado. Mais recentemente, na década de 2020, micos-leões-dourados selvagens foram capturados para receberem a vacina contra a febre amarela.

A criação dos Comitês Internacionais para manejo e conservação dos micos-leões – na década de 1980 e 1990, e unificados em 1999 – impulsionou estes trabalhos, fortemente embasados nas recomendações de Avaliações de Viabilidade de Populações e Habitats (PHVA; 1990, 1997, 2005). A partir da década de 2010, as prioridades para os micos-leões passaram a ser consolidadas nos Planos de Ação Nacional (PAN), política pública do Brasil para a conservação de espécies ameaçadas de extinção, alinhada à Convenção sobre Diversidade Biológica. Entre 2011 e 2017, esteve vigente o PAN para conservação dos Mamíferos da Mata Atlântica Central, e entre 2018 e 2023 o PAN para a conservação dos Primatas da Mata Atlântica e da Preguiça-de-coleira, ambos coordenados pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros (ICMBio/CPB).



Mico-leão-dourado (Leontopithecus chrysomelas). Foto: Igor Inforzato.

Como parte da implementação desses planos de ação, em 2021 foi promovida uma oficina para definir as necessidades, papéis e requisitos de programas de manejo *ex situ* das quatro espécies de *Leontopithecus*, aplicando duas abordagens da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN): *One Plan Approach* (OPA); e Diretrizes de Manejo *Ex situ* para a Conservação de Espécies. Uma das prioridades identificadas foi a necessidade de desenvolver uma população de segurança do mico-leão-de-cara-preta (*L. caissara*), que obrigatoriamente passa pela captura de espécimes na natureza, já que a espécie não tem representantes *ex situ*. Também utilizando resultados daquela oficina, em 2023, foi elaborado o Programa de Manejo Populacional Integrado do Mico-leão-preto, reconhecido oficialmente pelo ICMBio em 2024.

Uma das indicações recorrentes desses planejamentos foi justamente a necessidade e a relevância de estabelecer protocolos padronizados para a captura de micos-leões na natureza. Os mais de 50 anos de trabalho em pesquisa e manejo para a conservação dos micos-leões – com sucessos e dificuldades – permitiram acumular suficiente experiência para embasar a escolha de métodos e o delineamento de orientações que resultaram na presente publicação. Nesse contexto, este conjunto de protocolos olha para o passado, representando a consolidação dos conhecimentos acumulados ao longo de décadas; mas também para o futuro, descrevendo como devem ser realizadas as capturas de micos-leões na natureza em iniciativas vindouras.

De fato, os protocolos aqui apresentados oferecem cuidadosas recomendações e detalhados procedimentos para captura, transporte, contenção, processamento, coleta de material biológico, registro fotográfico e biossegurança, que visam, por um lado, a maior precaução e cautela possíveis para manter a segurança dos animais capturados e, por outro, o máximo aproveitamento da oportunidade de manipular indivíduos de espécies em alto risco de extinção. Imprescindível reconhecer que isto é fruto da notável dedicação e esmero de um amplo, diverso e altamente qualificado conjunto de profissionais, com vasta experiência no tema, inclusive todos de alguma forma envolvidos em ao menos parte dos projetos e ações acima citados.

As inovações e o contínuo aperfeiçoamento já são uma praxe no histórico de trabalho pela conservação dos micos-leões. E, como de costume em materiais como a presente publicação, os procedimentos aqui preconizados não têm a pretensão de serem definitivos, sendo passíveis de atualizações e aprimoramentos à medida que forem sendo aplicados e revisados. Assim, ficam todos os leitores e usuários desde já convidados a contribuir com sugestões para melhorias em futuras edições deste documento. Por outro lado, não restam dúvidas de que este material reúne o melhor conhecimento disponível sobre o tema e que, portanto, será extremamente valioso para a adequada implementação de ações com foco na conservação dos micos-leões que envolvam capturas na natureza.

Leandro Jerusalinsky

Coordenador do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros, ICMBio

Sumário

Lista de Autores	i
Lista de Figuras	ii
Lista de Tabelas	iii
1. Introdução e objetivo	12
2. Protocolo para captura de indivíduos na natureza, transporte e local de processamento	13
2.1 Captura com armadilhas <i>Tomahawk</i> com gatilho automático	13
2.2 Captura com armadilhas <i>Tomahawk</i> conjugadas, com sistema de gatilho manual	15
2.3 Captura em oco de árvore (dormitório)	15
2.4 Local de realização dos procedimentos e transporte dos animais	16
3. Protocolo para contenção física e química	18
3.1 Contenção física	18
3.2 Contenção química através do uso de anestesia dissociativa	19
3.3 Contenção química através do uso de anestesia inalatória	20
3.4 Monitoramento e Recuperação Anestésica	20
4. Protocolo para processamento dos indivíduos	21
4.1 Informações sobre o indivíduo capturado	21
4.2 Biometria	21
4.3 Marcação individual	22
4.4 Soltura	24
5. Protocolo para coleta de material biológico	25
5.1 Pelo	25
5.2 Sangue	25
5.3 Fezes	26
5.4 Urina	26
5.5 Ectoparasitos	26
5.6 Pelos com escarificação da pele	27
5.7 Citologia vaginal	27
5.8 Avaliação reprodutiva e congelação de sêmen	28
5.9 <i>Swab</i> oral e retal	28
5.10 Animais mortos (carcaças inteiras ou parciais)	29
5.11 Instituições receptoras de amostras biológicas	30
6. Protocolo para registro de imagens	31
7. Protocolo de biossegurança para manipulação de indivíduos e destinação de material contaminado	31
7.1 Vestimenta, paramentação e EPIs	31
7.2 Saúde do Trabalhador	32
7.3 Descarte e destinação de material contaminado	32
8. Referências Bibliográficas	33
ANEXOS	
Anexo 1 – 1. Adaptações ao protocolo de captura no oco	36
Anexo 2 – 2. Modelos de fichas de captura	38
2.1 Modelo 1 – Ficha Anestésica	38
2.2 Modelo 2 – Ficha de Campo	40
2.3 Modelo 3 – Ficha de Captura	41
Anexo 3 – 3. Valores de referência para parâmetros biométricos, fisiológicos, reprodutivos, hematológicos e bioquímicos para micos-leões (<i>Leontopithecus</i> spp.)	43
Anexo 4 – 4. Amostras biológicas e respectivas análises, quantidade necessária e formas de acondicionamento temporário e armazenamento	44

Lista de Autores

Gabriela Cabral Rezende

IPÊ - Instituto de Pesquisas Ecológicas, Programa de Conservação do Mico-leão-preto, Nazaré Paulista, São Paulo, Brasil.
E-mail: gabi.c.rezende@gmail.com

Daniel Ângelo Felippi

IPÊ - Instituto de Pesquisas Ecológicas, Programa de Conservação do Mico-leão-preto, Nazaré Paulista, São Paulo, Brasil.
E-mail: daniel.felippi@hotmail.com

Lilian Silva Catenacci

Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Teresina, Piauí, Brasil.
E-mail: catenacci@ufpi.edu.br

Carlos Ramón Ruiz Miranda

Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.
E-mail: cruizmiranda@gmail.com

Francy Forero Sánchez

IPÊ - Instituto de Pesquisas Ecológicas, Programa de Conservação do Mico-leão-preto, Nazaré Paulista, São Paulo, Brasil.
E-mail: fforerosanchez@gmail.com

Leonardo de Carvalho Oliveira

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brasil.
E-mail: leonardoco@gmail.com

Thaís Guimarães-Luiz

Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística do Estado de São Paulo, São Paulo - SP, Brasil.
E-mail: thais@sp.gov.br

Marina Galvão Bueno

Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.
E-mail: buenomg@gmail.com

Camila Vieira Molina

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia, Universidade de São Paulo (Instituto de Ciências Biomédicas), São Paulo - SP, Brasil.

Institut Pasteur de São Paulo, São Paulo - SP, Brasil.
E-mail: camolina.vet@gmail.com

Rogério Loesch Zacariotti

Instituto de Defesa da Fauna, Pesquisa e Conservação, São Paulo, São Paulo, Brasil.
E-mail: rogeriozacariotti@gmail.com

Paula Beatriz Mangini

Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação (TRÍADE), Recife, Pernambuco, Brasil.
E-mail: paulamangini.pm@gmail.com

Rodrigo Gonçalves Amaral

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Laboratório de Primatologia (LaP), Rio Claro, São Paulo, Brasil.
E-mail: rg.vetsilvestre@gmail.com

Felipe Soares Bufalo

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Laboratório de Primatologia (LaP), Instituto de Biociências, Rio Claro, São Paulo, Brasil.
E-mail: febufalo@gmail.com

Olivier Kaisin

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Laboratório de Primatologia (LaP), Rio Claro, São Paulo, Brasil.
University of Liège, Liège, Bélgica.
E-mail: kaisinolivier@gmail.com

Laurence Culot

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Laboratório de Primatologia (LaP), Rio Claro, São Paulo, Brasil.
E-mail: laurence.culot@unesp.br

Lista de Figuras

Figura 1 – Armadilhas <i>Tomahawk</i> utilizadas para capturar micos-leões.	14
Figura 2 – Procedimentos realizados em micos-leões em laboratório e em uma estação temporária montada em campo.	17
Figura 3 – Micos-leões capturados aguardando os procedimentos em armadilhas cobertas por panos escuros, sob a sombra, e saco de pano utilizado para acondicionar os animais.	17
Figura 4 – Individuo de mico-leão submetido à indução anestésica com o auxílio de máscara facial, e animal sob o efeito da anestesia inalatória.	20
Figura 5 – As sequências das imagens montram alguns procedimentos realizados pelos médicos veterinários em um indivíduos de mico-leão, como, por exemplo, aferição de temperatura, procura por ectoparasitos e cicatrizes, avaliação dos olhos, cavidade oral, dentição e coloração de mucosas.	22
Figura 6 – Coleta de dados biométricos em mico-leão-preto (<i>L. chrysopygus</i>).	23
Figura 7 – Exemplos dos procedimentos de marcação individual: A) tatuagem realizada em mico-leão-dourado (<i>Leontopithecus rosalia</i>); B) tintura de pelos da cauda realizada em mico-leão-da-cara-dourada (<i>L. chrysomelas</i>). Exemplos de equipamentos eletrônicos utilizados para o monitoramento de mico-leão por meio rádio-telemetria e receptor GPS: C) rádio-colar, D) mochila.	24
Figura 8 – A) Coleta de pelo em mico-leão-preto (<i>L. chrysopygus</i>); B) Colheita de sangue por meio da venopunção femoral na região inguinal em mico-leão-dourado (<i>Leontopithecus rosalia</i>); C) Localização de ectoparasita em mico-leão-preto (<i>L. chrysopygus</i>); D) Realização de <i>Swab</i> para citologia vaginal em mico-leão-preto (<i>L. chrysopygus</i>).	27

ANEXOS

Figura A1 – Formato de corte ideal para acesso ao dormitório, formato trapezoidal e com bordas chanfradas.	36
Figura A2 – Utilização de sacos de náilon acoplados à saída do dormitório para captura e manejo de micos-leão-preto (<i>L. chrysopygus</i>) para coleta de amostras biológicas.	37

Lista de Tabelas

ANEXOS

Tabela A1 – Parâmetros biométricos e fisiológicos de micos-leões (<i>Leontopithecus</i> spp.).	43
Tabela A2 – Parâmetros reprodutivos de micos-leões (<i>Leontopithecus</i> spp.).	43
Tabela A3 – Valores hematológicos e de bioquímica sérica para micos-leões (<i>Leontopithecus</i> spp.).	43
Tabela A4 – Principais análises laboratoriais realizadas.	44
Tabela A5 – Análises para amostras coletadas <i>post mortem</i> (carcaças inteiras ou parciais).	46



1. Introdução e objetivo

As capturas de primatas não-humanos são processos estressantes para os indivíduos capturados, podendo desencadear diferentes impactos negativos, tanto para o bem-estar individual como para as dinâmicas sociais (Fedigan *et al.*, 2010). Por esse motivo, a decisão de realizar uma captura requer uma análise prévia do custo-benefício entre o bem-estar dos animais e as necessidades de manejo ou pesquisa (Watsa *et al.*, 2015).

Esse documento foi produzido com o objetivo de padronizar os materiais e métodos utilizados para a captura e processamento de primatas do gênero *Leontopithecus* (micos-leões) de vida silvestre, no contexto do desenvolvimento de atividades de pesquisa e conservação. Apesar de inúmeros trabalhos já terem sido publicados com os micos-leões sobre diversas temáticas, como comportamento, ecologia e saúde, ainda são escassos os trabalhos que abordem melhores práticas destas espécies para métodos de trabalho de campo, com exceção do mico-leão-de-cara-dourada (Catenacci *et al.*, 2022). Os procedimentos aqui apresentados visam minimizar o impacto negativo aos animais. Destacamos as seguintes recomendações:

- Adotar o lema “o mico em primeiro lugar”. Ou seja, compreender que o bem-estar do animal tem prioridade sobre demais considerações de conforto dos profissionais envolvidos, por exemplo.
- Otimizar os procedimentos, que devem ser planejados de acordo com as demandas do projeto, de forma a minimizar o tempo total de execução das capturas e manipulação dos indivíduos.
- Sempre que possível, otimizar as capturas, de forma que mais de um projeto de pesquisa possa ser realizado na mesma campanha, minimizando o estresse dos animais ao reduzir o número de capturas deles.
- Utilizar pessoal capacitado no manuseio, para minimizar os riscos de injúrias aos animais e reduzir o tempo de manipulação.
- Realizar treinamentos periódicos com os profissionais responsáveis pelo manejo e realização das capturas, a fim de atualizar sobre novas técnicas que podem ser empregadas.
- Utilizar equipamentos de proteção individual (EPIs) adequados, visando minimizar riscos inerentes à atividade, incluindo zoonoses e antropozoonoses, conforme protocolos vigentes descritos pelos órgãos de meio ambiente e saúde pública^{1,2}.

Outras questões também incidem nessa tomada de decisão, tais como:

1. Capturar o grupo todo ou deixar algum animal de fora?
2. Capturar na época reprodutiva/de presença de filhotes?
3. Capturar na época de dispersão ou se houver indivíduos marginalizados?
4. Os animais serão levados para fora da mata e, caso positivo, por quanto tempo?
5. O que fazer se há risco de predação durante a captura?
6. Quanto tempo de ceva prévia?
7. Qual idade ou condição física mínima para coleta de amostras ou marcação permanente?

Além de atender preocupações com o bem-estar dos animais, as considerações contidas nessas perguntas, e outras levantadas nas próximas seções, também atendem a questões de boa ciência. Separar animais dos seus grupos pode perturbar as dinâmicas sociais, de forma a alterar a composição de grupo ou relacionamentos entre indivíduos (Savage *et al.*, 1993; Watsa *et al.*, 2015), inclusive promovendo, em alguns casos, a emigração precoce. Esse é um exemplo de interferência do pesquisador, que altera o comportamento e, consequentemente, os dados (Watsa *et al.*, 2015). Do ponto de vista científico-metodológico é uma situação que deve ser evitada ou minimizada.

1 https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cpb/ultimas-noticias/recomendacoes-biodiversidade-e-covid-19/recomendacoes_biodiversidade_e_covid19_ucs_e_outros_ambientes_naturais.pdf

2 OIE [Organização Internacional das Epizootias]. 2020. Guidelines for Working with Free-Ranging Wild Mammals in the Era of the COVID-19 Pandemic. World Organization for Animal Health. 6pp. Website: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/a-whsg-and-oie-covid-19-guidelines.pdf>

Uma das decisões mais importantes a ser tomada é a de quanto tempo os micos devem permanecer nesta situação de contenção, fora de sua área de vida. Vários fatores irão incidir nessa resposta, embora não haja uma resposta exata. O tempo deve ser aquele suficiente para a realização dos procedimentos necessários, mas sem comprometer a saúde dos animais ou causar alterações duradouras em seu comportamento. Salientamos estas questões no intuito de encorajar os pesquisadores a considerá-las formalmente e incluírem respostas ou procedimentos relacionados a elas nos seus protocolos de captura.

Outro fator importante a ser considerado é a necessidade de obtenção de licenças e autorizações para realização de tais procedimentos. A captura de animais silvestres da fauna brasileira, principalmente em se tratando de espécies ameaçadas de extinção, somente deve ser realizada após a obtenção de autorização SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade/ICMBio) e do órgão gestor (estadual ou municipal) ou do proprietário da área, se for o caso. E, se houver coleta de amostras biológicas tem-se ainda a necessidade de cadastro destas no SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado). Além disso, para as atividades de pesquisa e ensino, o projeto também deve ter a anuência da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, emitida pela instituição do proponente.

2. Protocolo para captura de indivíduos na natureza, transporte e local de processamento

2.1 Captura com armadilhas *Tomahawk* com gatilho automático

A captura utilizando armadilhas do tipo *Tomahawk* é a metodologia mais comumente utilizada para micos-leões-dourados (*Leontopithecus rosalia*) e micos-leões-da-cara-dourada (*L. chrysomelas*) (Catenacci *et al.*, 2022) e foi recentemente usada com sucesso com micos-leões-pretos (*L. chrysopygus*). Consiste em uma armadilha em formato de caixa, feita de arame galvanizado, com um sistema de gatilho automático (alavanca que o animal aciona ao colocar o peso para fechamento da porta). Essas armadilhas podem ser posicionadas em plataformas de captura, tanto a 1,5 metro de altura como perto do dossel, ou espalhadas em galhos a diferentes alturas, dentro de um raio escolhido. Pode-se combinar o uso de plataformas com o espalhamento pelas árvores quando os grupos não estão habituados à captura ou a descer na plataforma. Recomendamos o uso de 1,5 a 2 armadilhas em relação ao número de animais presentes no grupo; caso não se tenha esse conhecimento, pode-se começar com 10–12 armadilhas.

As armadilhas são amarradas à plataforma ou aos galhos utilizando arame galvanizado flexível ou cipós (**Figura 1**). Para a ceva, podem ser utilizadas bananas, goiabas ou outras frutas comuns, e até grilos colocados num recipiente dentro da armadilha. A utilização de frutas já conhecidas como recurso pelos grupos de mico pode facilitar o processo de aceitação.

Em caso de grupos não-habituados, recomenda-se a realização de uma fase inicial de ceva com iscas de fruta no jirau e habituação dos animais à presença das armadilhas (desativadas) em campo. Dependendo da espécie e do contexto local, a habituação à presença das armadilhas pode demorar vários dias (ex.: aproximadamente 10 dias no caso do mico-leão-preto). A partir disso, os indivíduos começam a explorar e se aproximar das armadilhas, até que então, começam a comer as iscas. Espalhar iscas nos galhos próximos às armadilhas facilita o processo. Outro ponto importante e que otimiza a habituação é que, após instaladas, as armadilhas não devem ser movidas. Ao trocar as armadilhas de lugar ou posição, mesmo que na mesma árvore, reinicia-se o processo de habituação.

A utilização de *playback* para atrair os indivíduos para próximo das armadilhas mostrou-se importante no caso dos micos-leões-pretos. Uma caixa de som portátil deve ser instalada especificamente ao lado das armadilhas, pois os micos conseguem localizar de onde vem o som e geralmente se aproximam para explorar. As gravações de vocalizações devem ser diversas, evitando a repetição contínua da mesma gravação, e reproduzidas com intervalos de, por exemplo, 10 minutos, de modo que os indivíduos não percam o interesse rapidamente. As vocalizações podem ser do tipo *long call*, vocalizações agonísticas de encontros entre grupos, *food call* ou chamados de filhotes.

Para evitar o furto da ceva pelo lado de fora da armadilha, esta deve ser presa ao fundo da armadilha (pode-se utilizar gravetos para espistar os frutos e fixar no fundo da armadilha). Dependendo do tamanho da malha do arame galvanizado da armadilha, será preciso cobrir a metade posterior desta (de um a 4 cm antes do gatilho, até o fundo) com tela de arame de malha menor, para evitar que os micos acessem a ceva pela parte externa. A malha menor também protege os micos-leões capturados de possíveis predadores.

As armadilhas devem ser monitoradas em intervalos de cerca de duas horas, a depender do estado de habituação do grupo, presença de outros grupos na mesma área, tipo de vegetação, época do ano, entre outros. Assim que for identificada a presença de um indivíduo no interior da(s) armadilha(s), esta(s) é(são) retirada(s) da plataforma ou galho e coberta(s) com um pano escuro para diminuir a visibilidade do animal e, com isso, evitar movimentos bruscos deste na tentativa de fuga. A(s) armadilha(s) deve(m) ser disposta(s) em uma superfície plana e estável, com distância de, ao menos, 20 cm uma das outras (no caso de mais de uma), para evitar possíveis agressões entre indivíduos de gaiolas diferentes. Em seguida, ela(s) deve(m) ser transportada(s) para o local destinado à realização dos procedimentos seguintes.

É importante observar que: 1) A reação dos indivíduos dentro da armadilha pode variar muito (estado muito tranquilo até muito agitado) e que os procedimentos devem então ser adaptados em função disso; 2) Se o animal capturado estiver tranquilo, pode-se optar por não retirar a armadilha imediatamente, pois facilita a captura dos demais indivíduos, visto que estes permanecem bem próximos. Por isso também é importante instalar as armadilhas próximas umas às outras; 3) Sempre que for possível, realizar os procedimentos o mais próximo possível do local da captura para reduzir o tempo dos procedimentos e o estresse proveniente do transporte.



Figura 1 – Armadilhas *Tomahawk* utilizadas para capturar micos-leões. Nas imagens abaixo, é possível observar as malhas de arame aplicadas nas armadilhas a fim de evitar que os micos acessem a ceva pela parte externa. Fotos: Andréia Martins (imagem superior), e Luiz Thiago de Jezus (inferiores) - Associação Mico-leão-dourado.

Para captura em condições climáticas adversas, recomenda-se estabelecer um protocolo de tomada de decisão a respeito da realização ou não do procedimento e das alterações de protocolo exigidas em caso de realização. Em dias de chuva, recomenda-se monitoramento mais constante das armadilhas e, se necessário, cobrir a plataforma com folhas ou outro material para evitar que o animal fique molhado, minimizando riscos de hipotermia. Os animais não devem ficar expostos à chuva leve por mais do que duas horas. Após esse tempo, a decisão deve ser tomada no sentido de soltar ou levar os animais capturados ao local de realização do processamento (contenção química, biometria, marcação, coleta de material biológico, dentre outros), a depender de quantos e quais indivíduos do grupo foram capturados (idade, sexo, posição social no grupo), e quantos e quais ficaram fora das armadilhas. Se a chuva for intensa e vários indivíduos do grupo ainda não estiverem capturados, a opção preferida é soltar todos os animais e retornar outro dia para a captura. Dependendo da necessidade e oportunidade, assim como do objetivo da captura (ex. instalação de transmissor de telemetria em um indivíduo do grupo), pode-se fazer um procedimento rápido *in loco* somente com contenção física.

2.2 Captura com armadilhas *Tomahawk* conjugadas, com sistema de gatilho manual

Outra metodologia sugerida para captura de micos, muito similar à que utiliza armadilhas *Tomahawk* com acionamento automático, mas que permite captura de diversos indivíduos simultaneamente, é o uso de armadilhas conjugadas, com sistema de gatilho manual (*sensu* Encarnación *et al.*, 1990; Watsa *et al.*, 2015). Essa técnica consiste em diversas armadilhas *Tomahawk* emparelhadas, lado a lado, posicionadas em um jirau no dossel, cujo fechamento das portas é acionado manualmente por cordas.

Para esse procedimento, é necessária a realização de uma fase inicial de ceva com iscas de fruta no jirau, e habituação dos animais à presença das armadilhas (desativadas) em campo. Após esse período, as armadilhas são ativadas e uma pessoa aguarda no interior de uma tocaia, onde está localizado o sistema de gatilho manual. Para a captura, as iscas de fruta devem ser colocadas no fundo de cada armadilha. Assim que um mico entrar nela para comer a fruta, o pesquisador deve acionar o gatilho e fechar a porta, mantendo, então, o indivíduo preso. Isso se repete para os demais indivíduos e uma vez que o grupo esteja completo no interior das armadilhas, um dos pesquisadores deve lacrar as portas de modo a garantir que não se abrirão durante a movimentação.

O sistema de armadilhas é retirado do jirau, o estado dos indivíduos é verificado, as armadilhas são cobertas com um tecido escuro, para reduzir estresse dos animais capturados, e estes são levados para a área de processamento.

2.3 Captura em oco de árvore (dormitório)

A metodologia de captura dos animais dentro de ocos é utilizada para micos-leões-pretos (*Leontopithecus chrysopygus*) na natureza, mas também já foi aplicada em capturas de micos-leões-da-cara-preta (*L. caissara*) e para translocação de micos-leões-dourados. Ela consiste, inicialmente, na localização de grupos em campo através de busca ativa e acompanhamento do grupo que será alvo da captura, até que seja avistado o oco da árvore escolhido por este como dormitório, ao final do período de atividades no dia.

No dia seguinte ao monitoramento, a equipe de campo retorna ao local do dormitório antes do amanhecer. A árvore onde o oco está localizado é escalada utilizando-se técnicas de arborismo e equipamentos de segurança para tal (cadeira, cordas e mosquetões). Essa metodologia não é recomendada no caso de captura sob condições climáticas adversas, considerando os riscos envolvidos à equipe. Também não é recomendado escalar árvores com galhos podres ou ocos de difícil acesso (por exemplo, muito altos). Devem ser evitadas também árvores com múltiplas saídas, já que aumentam as chances de fuga dos animais.

As possíveis saídas do oco são identificadas e bloqueadas com sacos de pano preenchidos por folhas secas. No caso de um oco com múltiplas saídas, a saída mais próxima ao local onde os animais estão posicionados no interior é utilizada para a retirada destes da árvore. Utilizando-se luvas de raspa de couro, os animais são

capturados, um a um, e mantidos individualmente em sacos de pano para a realização dos procedimentos seguintes. Caso seja necessário transportar os animais a distâncias mais longas entre o local de captura e o de processamento, estes são transferidos para armadilhas *Tomahawk* ou caixas de transporte adequadas.

Como às vezes é necessário fazer outra abertura no tronco (com machado ou serra) da árvore para acessar os animais, essa metodologia é considerada mais invasiva e, portanto, deve ser adotada apenas quando outras opções menos invasivas não podem ser implementadas. Também é importante ter o cuidado de tentar tampar a nova abertura que foi feita, após a finalização da retirada dos animais do oco. Apesar de ter sido observado que os micos reutilizam ocos que foram abertos por motivo de captura, alguns ocos podem se tornar inadequados para uso futuro, ou menos adequados.

Uma alternativa à abertura do oco e que já foi testada com o mico-leão-preto, é a instalação de telas de náilon na saída do oco, levando os animais a saírem espontaneamente dentro de um túnel sem saída (descrição detalhada no Anexo 1).

2.4 Local de realização dos procedimentos e transporte dos animais

A realização dos procedimentos pode acontecer em um laboratório específico ou em uma estação temporária montada em campo, próxima ao local de captura (Figura 2). Sendo um laboratório, o local deve ser limpo com varredura, seguida de limpeza com água e sabão ou água sanitária. No caso de pernoite dos animais no local, atentar-se à ausência de possíveis espécies predadoras, incluindo gatos e cães domésticos, ou outras que sabidamente possam transmitir doenças. Vale ressaltar a importância de garantir o bem-estar dos animais nestas ocasiões, como, por exemplo, com o fornecimento de alimentos (frutas), a cobertura das armadilhas com panos escuros e o cuidado com a temperatura (evitar piso frio e a exposição a locais abertos). As medidas de biossegurança devem ser mantidas durante todo manejo com os animais (OIE, 2020; Catenacci *et al.*, 2022; Brasil, 2020).

Considerando que o transporte cria uma situação inusitada para animais, incluindo uma série de novos estímulos e a contenção em pequenos espaços, este deve ser planejado considerando a distância entre o local de captura e o de processamento. No caso de estações temporárias, deve-se priorizar sua instalação à menor distância possível do local de captura, para minimizar o estresse do deslocamento ao local. Para laboratórios específicos, recomenda-se que o tempo de deslocamento seja inferior a duas horas.

Para o transporte dos animais é preferível que estes estejam em um compartimento do veículo separado das pessoas, e as armadilhas ou caixas de transporte posicionadas próximas entre si e cobertas. As condições climáticas (temperatura e chuva) são um fator importante e interagem com a distância e o tempo de deslocamento. Os micos são pequenos mamíferos que podem superaquecer se expostos ao sol diretamente ou ficarem em um veículo fechado por muito tempo. Por isso, o transporte deve ser direto e sem interrupções até o laboratório de campo ou estação temporária.

Uma vez que os animais capturados estejam no local de realização dos procedimentos, as armadilhas, caixas ou sacos de pano em que estiverem acondicionados devem estar à sombra, evitando radiação direta e desidratação (Figura 3). Também devem ser mantidos, preferencialmente, posicionados afastados do chão, em um estrato de madeira, por exemplo, para evitar a infestação de parasitas e/ou picadas de insetos. Quando isso não for possível, recomenda-se colocar jornais ou papéis que possam ser descartados após a soltura dos animais. Indivíduos de grupos diferentes não devem ser acondicionados próximos no local de realização dos procedimentos, principalmente pelo risco de transmissão de patógenos e estresse entre os grupos (brigas e territorialidade).

Após a chegada ao local de processamento, os animais devem passar por um breve período de aclimatação e recuperação, em local com luz atenuada, com as armadilhas ainda cobertas e podendo se comunicar entre si (se de um mesmo grupo), antes do início dos procedimentos. De preferência, manter os animais em local tranquilo, evitando barulho. Essa medida é recomendada, uma vez que o transporte de longas distâncias

pode causar alterações fisiológicas nos animais, influenciando na resposta aos anestésicos, e que podem ser refletidas nos resultados de algumas análises das amostras biológicas coletadas.

Para realização dos procedimentos, especialmente nos casos que envolvam contenção química, é necessário que haja uma mesa ou superfície plana e limpa com hipoclorito de sódio 2% ou outro desinfetante. Essa mesa deve possuir tamanho suficiente para o posicionamento de todos os materiais e equipamentos que serão utilizados, além de espaço para o animal ser manipulado. A cada animal manipulado, a mesa deve ser limpa novamente. No caso de troca de grupo, todo o laboratório (incluindo a bancada) e equipamentos de campo (como luvas e armadilhas) devem ser limpos com água e sabão, seguido de hipoclorito de sódio 2%, ou substituídos, no caso de material descartável. Sugere-se ainda que, quando possível, seja realizada a desinfecção com Amônia Quaternária ou utilizada ‘vassoura de fogo’ nos locais onde os animais pernoitaram, na mesa de procedimentos e gaiolas.



Figura 2 – Procedimentos realizados em micos-leões em laboratório, à esquerda, e em uma estação temporária montada em campo, à direita. Foto: Luiz Thiago de Jesus/Associação Mico-leão-dourado e Gabriela Rezende.



Figura 3 – À esquerda, micos-leões capturados aguardando os procedimentos em armadilhas cobertas por panos escuros, sob a sombra; à direita, saco de pano utilizado para acondicionar os animais. Foto: Rodrigo Amaral e Daniel Felippi.

3. Protocolo para contenção física e química

3.1 Contenção física

A contenção física visa a restrição dos movimentos do animal e deve ser realizada de forma a garantir tanto a segurança deste, quanto da equipe técnica envolvida. Esse método de contenção permite a realização de procedimentos rápidos e pouco invasivos, como a troca de colares, pesagem, sexagem, coleta de pelos e aplicação de fármacos. Contudo, é importante mencionar que sob estas condições, os animais ficam sujeitos a elevados níveis de estresse por excesso de manipulação, o que pode desencadear a conhecida Síndrome Geral da Adaptação (SGA) e a síndrome da miopatia de captura (Paterson, 2014).

Preconiza-se que a contenção física seja, sempre que possível, realizada no interior de uma sala fechada ou estrutura análoga que possa ser montada em campo, a fim de possibilitar a recaptura imediata em caso de fuga. Para a contenção física de micos-leões, recomenda-se o uso de luvas de raspa de couro.

Nos casos em que os micos são acondicionados em sacos de pano, recomenda-se colocá-los sobre uma mesa e restringir os movimentos do animal aos poucos, até que seja possível fazer a contenção pela região dorsal pelo lado externo do saco. Posteriormente, o animal é retirado do saco e a imobilização deve ser feita por trás da cabeça, posicionando o polegar e o dedo indicador nos ramos da mandíbula do animal. A outra mão deve manter os membros pélvicos alinhados e levemente tracionados (Werther, 2004). Com esse posicionamento, torna-se possível a aplicação de agente químico, seja injetável ou inalatório. Também pode-se utilizar sacos fabricados com tela de náilon, com o qual é excluída a necessidade da contenção física utilizando as luvas de raspa e a anestesia, inalatória ou injetável, pode ser realizada com o indivíduo ainda dentro do saco.

A contenção física inicial para administração de anestesia também pode ser feita dentro de uma armadilha modificada. Esse método tem sido adotado amplamente em zoológicos dos EUA e Europa para os micos-leões-dourados e micos-leões-da-cara-dourada, de acordo com os seguintes passos:

1. Uma armadilha *Tomahawk* de tamanho maior do que a utilizada na captura é modificada, retirando o sistema de porta, o gatilho automático, e qualquer tela adicionada que esteja envolvendo a armadilha.
2. Para transferir o animal da armadilha de captura à armadilha de contenção, deve-se aproximar a primeira de forma que, ao abrir a porta, esta esteja dentro da armadilha de contenção. Cobrir a armadilha de contenção com um pano escuro ou jornal facilita o processo de transferência do animal de uma armadilha à outra.
3. Uma vez que o animal esteja dentro da armadilha de contenção, utiliza-se uma peça tipo “pente”, que é inserida na grade dessa armadilha, servindo como barreira para o animal não escapar após a retirada da armadilha de captura.
4. Uma peça quadrada de madeira com um cabo em forma de bastão acoplado (cujas dimensões permitam sua movimentação dentro da armadilha) é posicionado para servir como um “êmbolo”, que guiará o animal até o fundo da armadilha de contenção e restringirá seus movimentos. O animal deve ser guiado até o fundo rapidamente, até ficar contido de forma que uma das coxas esteja prensada contra a grade. A força utilizada deve ser suficiente para manter o animal imobilizado, sempre tomando cuidado para que não prenda algum membro na grade da armadilha durante o procedimento (a pessoa que aplicará o anestésico deve ir guiando a pessoa que prensa o animal).
5. Uma vez o animal devidamente contido e sua coxa prensada na grade de fundo da armadilha, as condições estão aptas para aplicação da injeção da droga anestésica.

Atentar para a necessidade de higienização de todos os materiais utilizados na manipulação e contenção dos animais, especialmente entre o manejo de diferentes grupos de micos-leões.

3.2 Contenção química através do uso de anestesia dissociativa

O uso da anestesia dissociativa é o mais empregado para contenção química de animais silvestres. A utilização da cetamina ou tiletamina associada a outros adjuvantes anestésicos, tais como benzodiazepínicos ou α-2 agonistas adrenérgicos, são muito eficientes para imobilização de calitriquídeos em vida livre (Savage *et al.*, 1993; Branson *et al.*, 2003; Catenacci *et al.*, 2016; Molina *et al.*, 2019). A associação destes fármacos pode ser administrada por via intramuscular, apresenta custo relativamente baixo, promove inconsciência com rápido início de ação e, muitas vezes, apresenta maior praticidade para atividades desenvolvidas a campo. Entretanto, sabe-se que o uso de anestésicos dissociativos promove aumento da frequência cardíaca, pressão arterial, secreção respiratória e salivação. Além disso, tende a prolongar o tempo de recuperação anestésica, podendo apresentar respostas reflexas exacerbadas e ataxia (Vilani, 2014).

Em protocolos em que há associação entre fármacos dissociativos e benzodiazepínicos ou α-2 agonistas adrenérgicos, também deve-se considerar a administração de reversores, como o atipamezole, ioimbina ou flumazenil, ao término do procedimento, a fim de reduzir o tempo de recuperação anestésica. Contudo, esta prática deve ser realizada com cautela, pois varia de acordo com o protocolo empregado e a experiência da equipe.

A temperatura dos animais deve ser sempre monitorada durante todo o procedimento anestésico, em especial em locais onde a temperatura externa esteja mais fria, pois a hipotermia é um efeito comum de ser observado. Nestas ocasiões, pode haver a necessidade de materiais para aquecer os animais, como aquecedor externo, bolsa de água quente ou colchão térmico. Atentar para o uso correto destes materiais evitando assim possíveis queimaduras. Por outro lado, em situações em que o manejo tenha sido estressante e a temperatura ambiente muito elevada, hipertermia também pode ocorrer (temperaturas ≥ 40 °C).

Em vida livre, micos-leões-pretos são contidos de forma satisfatória com a associação de cetamina (10 a 12 mg/kg) e midazolam (0,6 mg/kg), possibilitando a realização de procedimentos pouco invasivos e permitindo a manipulação dos indivíduos por aproximadamente 45 minutos. Para os micos-leões-da-cara-dourada, utiliza-se também a associação de cetamina (10 mg/kg) e midazolam (0,3 mg/kg) (Catenacci *et al.*, 2016) e uma boa sedação é observada em até 35 minutos. No geral, quando utilizados estes protocolos para estas espécies, os animais apresentam-se aptos à soltura em 2 a 3 horas após a administração dos fármacos.

Caso o procedimento necessite de um período maior que 30 minutos, outros protocolos anestésicos podem ser utilizados. Uma sugestão é o uso de cetamina (15 mg/Kg) e dexmedetomidina (10 µg/Kg), alcançando em média 45 minutos de anestesia. O custo é mais elevado em comparação ao uso de midazolam, porém o animal apresenta melhor relaxamento muscular e sedação. Com esse último protocolo também é possível realizar colheita farmacológica de sêmen (através da sondagem uretral), que facilita a avaliação reprodutiva e possibilita a criopreservação de material genético de machos, dispensando a eletroejaculação.

Após averiguada a efetiva contenção, o animal é, então, retirado da gaiola iniciando-se o monitoramento anestésico, no qual são aferidos frequência cardíaca e respiratória, temperatura retal, salivação, tônus muscular, oximetria de pulso, pressão arterial e reflexos caudal, anal, auricular, intra-auricular, dérmico e interdigital em três momentos: i) assim que o animal entra em decúbito, ii) após 15 minutos e iii) após 30 minutos (ver Anexo 2 para modelos de ficha). Um último monitoramento anestésico deve ser realizado ao final dos procedimentos, imediatamente antes da devolução do animal na caixa ou gaiola de transporte. Todo o monitoramento anestésico, que envolve avaliar e aferir a qualidade e o período de latência, duração e recuperação anestésica do mico-leão, é de total competência do médico veterinário responsável pela captura, que deverá estar presente até a total recuperação dos animais.

Vale ressaltar que para a realização de procedimentos mais invasivos que se façam necessários, devem ser empregados fármacos analgésicos no protocolo de anestesia, garantindo assim o bem-estar dos animais. Também é importante levar em conta o estado reprodutivo dos indivíduos (ex.: fêmeas gestantes ou lactantes) e a idade, antes de realizar qualquer procedimento.

3.3 Contenção química através do uso de anestesia inalatória

A contenção química por meio da anestesia inalatória apresenta boa aplicabilidade para atividades a campo, onde geralmente são realizados procedimentos de curta duração, pouco invasivos e que não requerem analgesia. Dentre as vantagens do uso da anestesia inalatória estão a rápida indução, o curto período de recuperação, maior segurança e controle da profundidade anestésica (Vilani, 2014). Este método pode ser empregado isoladamente sem associação a outros fármacos e, por suas vantagens em relação à anestesia injetável, deve sempre ser priorizado nestas situações, quando possível.

Após a contenção física, os micos-leões podem ser submetidos à indução anestésica com o auxílio de máscara facial ou em caixas apropriadas (**Figura 4**). Devido à maior estabilidade cardiovascular e preço mais acessível, o anestésico isoflurano tem sido amplamente utilizado para esta finalidade. A indução anestésica pode ser estendida, ou o plano anestésico aprofundado, de acordo com a necessidade (Calle & Joslin, 2015). Neste protocolo, os animais geralmente apresentam-se aptos à soltura poucos minutos após a interrupção do fluxo gasoso. Contudo, sabe-se que este método ainda apresenta algumas limitações para uso nas atividades de campo, devido ao custo considerável dos equipamentos empregados.

3.4 Monitoramento e Recuperação Anestésica

É importante ressaltar que todos os indivíduos capturados devem ter uma ficha anestésica contendo informações básicas, como data, espécie, idade, sexo, peso, identificação (cf. **item 5**), fármacos administrados e suas respectivas doses, horário da aplicação, tempo de indução e recuperação anestésica, e horário de soltura do animal (ver **Anexo 2** para modelos de ficha). O monitoramento anestésico durante todo o procedimento é imprescindível, e os parâmetros vitais (temperatura, frequência cardíaca e respiratória) devem ser registrados regularmente (ver **Anexo 3** para valores de referência).



Figura 4 – A) indivíduo de mico-leão submetido à indução anestésica com o auxílio de máscara facial; B e C) animal sob o efeito da anestesia inalatória. Fotos: Rodrigo Amaral e Olivier Kaisin.

Sugere-se que estas informações sejam armazenadas em um banco de dados para que possam ser disponibilizadas à comunidade técnico-científica em momento oportuno (Calle & Joslin, 2015). Visando maior eficiência no monitoramento anestésico a campo, aconselha-se que o médico veterinário faça uso de aparelhos portáteis, como oxímetro de pulso ou monitor multiparamétrico.

Ressalta-se que o protocolo anestésico dos micos-leões pode variar, a depender da experiência e sugestão do médico veterinário, devendo prevalecer sempre o bem-estar animal e a biossegurança da equipe.

Especialmente em dias frios ou chuvosos, a principal complicação observada em contenções químicas de micos-leões *in situ* foi a hipotermia. Para evitar perdas de calor ou para elevar a temperatura corporal, especialmente durante o período de recuperação anestésica, sugere-se o uso de cobertores, bolsas de água quente ou outras fontes de calor.

É importante também não os deixar mais que 4 horas sem alimentação, pois podem sofrer de hipoglicemia e/ou desidratação. Durante a contenção, principalmente se houver coleta de sangue, poderá ser aplicado soro subcutâneo com solução fisiológica ou solução Ringer Lactato.

O tempo de recuperação anestésica varia de acordo com o método de contenção química escolhido e o protocolo utilizado, além de fatores individuais. Vale lembrar que animais em vida livre, em geral, são menos habituados à presença humana. Portanto, este período deve ser planejado para que seja o mais curto e menos estressante possível. Preconiza-se que os indivíduos sejam mantidos em caixas de transporte ou gaiolas recobertas por pano, reduzindo ao máximo os estímulos visuais e auditivos durante a recuperação.

No caso de captura de grupos em que haja a necessidade de os animais pernoitarem no local do processamento, após os procedimentos os animais devem retornar às armadilhas limpas, com frutas com alto teor de água (por ex. uvas) disponíveis, pois deve-se observar e evitar que água seja alocada de maneira que o animal a derrube na gaiola, se molhando. As armadilhas devem ser posicionadas lado-a-lado, de modo que os animais do mesmo grupo possam se comunicar visual e auditivamente. O conjunto de armadilhas deve ser coberto com papel ou pano escuro leve, sempre em local com pouco estímulo luminoso e sonoro.

4. Protocolo para processamento dos indivíduos

4.1 Informações sobre o indivíduo capturado

Após a contenção química, inicia-se o exame físico completo do indivíduo, no qual deve-se avaliar olhos, ouvidos, narinas, cavidade oral, dentição, coloração de mucosas, escore corporal, pelo, pele e presença de ectoparasitos e cicatrizes. Em seguida, procede-se a palpação dos membros, dígitos e cauda, palpação abdominal, avaliação do estado reprodutivo, genitália, assim como do tamanho dos mamilos das fêmeas e se estas estão lactantes (**Figura 5 e 6**).

Todos os dados devem ser registrados em fichas clínicas (ver **Anexo 2** para modelos de ficha), incluindo informações de identificação do indivíduo, como espécie, sexo, faixa etária, marcações permanentes e temporárias, motivo, local e horário da captura, da imobilização química, do final dos procedimentos e da soltura. Além dessas informações, é importante o registro de quaisquer observações adicionais e dos materiais biológicos coletados para análise, de acordo com os protocolos apresentados no **item 5**.

4.2 Biometria

A pesagem dos indivíduos capturados é de extrema importância em um processo de captura, uma vez que alguns procedimentos dependem dessa informação como, por exemplo, para determinação da dosagem anestésica, da quantidade de amostra sanguínea que pode ser coletada e para escolha de indivíduos do grupo que receberão equipamentos (radiocolares). Por isso, é um dos primeiros procedimentos a serem feitos. Para animais contidos em sacos de pano, pode-se realizar a pesagem utilizando balança tipo Pesola® de 1 kg. Para animais contidos em armadilhas, pode-se utilizar balanças eletrônicas, desde que o peso máximo suportado conte com o peso da armadilha. É importante tarar a balança ou descontar o peso da armadilha ou do saco

de pano, para anotação precisa do peso do animal.

Além da pesagem, sugere-se a coleta de dados morfométricos de animais que sejam contidos quimicamente. As medidas são coletadas através do uso de paquímetros e fitas métricas e devem ser registradas em fichas individuais de processamento (ver Anexo 2 para modelos de ficha). Todos os dados devem ser compilados posteriormente em um banco de dados unificado do projeto.

No caso de dados morfométricos corporais, sugere-se priorizar a coleta da medida da altura do joelho (*i.e.* distância entre o joelho e o calcâneo), preferencialmente com o uso de paquímetro, para estimativa de índice de massa corpórea do animal, junto com o peso. Outras medidas que podem ser tomadas incluem: comprimento da cabeça e corpo, comprimento da cauda, comprimento da mão direita e do pé direito (maior extensão, medida com e sem a unha), e orelha direita (altura do pavilhão auditivo, medida da base do lóbulo à hélice). Além dessas, as medidas de circunferência do peito e do pescoço podem ser úteis ao desenvolvimento de equipamentos para serem acoplados aos animais para monitoramento.

O estabelecimento de um protocolo de medidas de dados morfométricos deve ser feito considerando os objetivos do projeto, sabendo-se que a inclusão de medições adiciona tempo ao processamento dos indivíduos e, portanto, pode influenciar a tomada de decisão com relação à duração da anestesia. Porém, sugere-se que, sempre que possível, o máximo de informações seja coletado.

4.3 Marcação individual

O uso de estratégias de marcação individual varia de acordo com os objetivos do manejo. Para pesquisas e monitoramento de longo prazo, ou no caso de coleta de amostras biológicas de indivíduos, recomenda-se o uso de marcações permanentes, como tatuagens ou implantes subcutâneos de *transponders* (*microchips*), para identificação dos animais em capturas subsequentes. No caso de pesquisas e monitoramentos de curto prazo, a tintura de pelos ou o uso de colares de contas coloridas pode ser apropriado para identificação individual dos animais em campo. No entanto, às vezes os pelos compridos podem acabar escondendo as contas e dificultar a identificação à distância, quando no acompanhamento em campo.

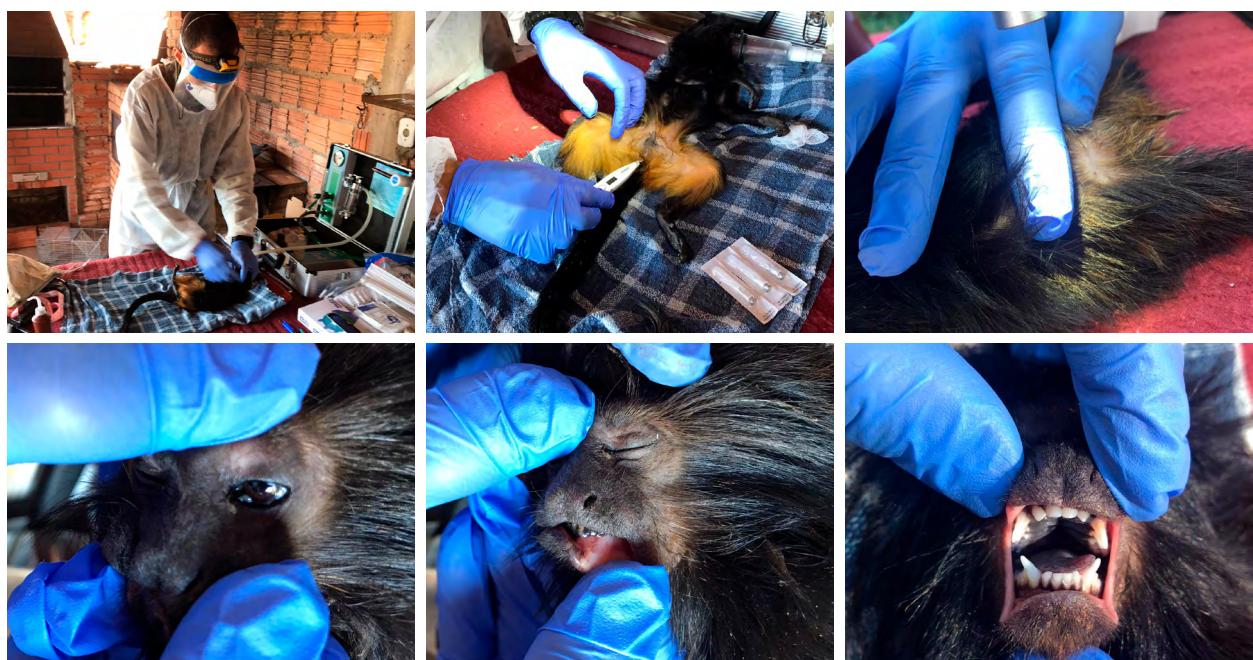


Figura 5 – As sequências das imagens monstrem alguns procedimentos realizados pelos médicos veterinários em um indivíduo de mico-leão, como, por exemplo, aferição de temperatura, procura por ectoparasitos e cicatrizes, avaliação dos olhos, cavidade oral, dentição e coloração de mucosas. Fotos: Rodrigo Amaral.



Figura 6 – Coleta de dados biométricos em mico-leão-preto (*L. chrysopygus*). Fotos: Rodrigo Amaral e Olivier Kaisin.

As tatuagens devem ser feitas na parte interna da coxa e apenas em animais anestesiados. O mico deve ser colocado em uma superfície firme, que sirva como apoio, assegurando que sua cabeça esteja apoiada nessa superfície plana e em uma posição que não obstrua sua respiração. Para iniciar, é recomendável umedecer o local a ser tatuado com água e sabão, para facilitar o corte dos pelos. É importante que o procedimento seja realizado por alguém com certa experiência, além de verificar a operação do instrumento de tatuagem com antecedência e ter baterias extras para o caso de máquinas que não sejam ligadas a uma fonte de eletricidade (Figura 7A). Após limpeza e higienização da pele com álcool, a tatuagem deve ser feita mantendo a máquina totalmente perpendicular à coxa do animal. Ao finalizar, efetuar uma nova limpeza com água e sabão, seguida por aplicação de álcool e gaze ou algodão, até que a área esteja completamente limpa. Recomenda-se, em seguida, a utilização de alguma substância tópica com propriedades antibiótica e anti-inflamatória.

Os implantes subcutâneos de *transponders*, conhecidos como *microchips*, devem ser instalados na região interescapular através de aplicador específico, após higienização do local com álcool. Para os casos em que os animais não estejam anestesiados, deve-se fazer uso de algum anestésico tópico. Recomenda-se fechar o furo com cola (do tipo instantânea) para evitar que o *microchip* saia e seja perdido. Sempre verificar se o *microchip* foi aplicado corretamente e passar o leitor após o procedimento. No caso de recaptura de indivíduos, utiliza-se um leitor para identificação da numeração do *microchip*, tendo o cuidado de verificar sua compatibilidade para a leitura dos *microchips* utilizados.

Para a tintura de pelos, os estudos que já empregaram essa técnica utilizaram-se da tintura em pó da marca Nyanzol®. O pó de tinta deve ser misturado com água e água oxigenada 30 volumes, na proporção aproximada de 1:2:1, respectivamente, até se formar uma pasta que tende ao líquido. Com o auxílio de uma escova de dentes, esta mistura deve ser passada no mico-leão, na região preestabelecida pelo pesquisador. A tintura dos pelos deve ser feita preferencialmente na cauda, utilizando um padrão de listras predeterminado para identificação individual (Figura 7B). Os membros também podem ser marcados, em especial para identificação de grupos diferentes. A coloração da região céfálica deve ser evitada. A coloração dos pelos dourado-avermelhados é indicada para *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, enquanto a descoloração dos pelos pretos é indicada para *L. chrysopygus* e *L. caissara*.

No caso de uso de equipamentos eletrônicos para o monitoramento (p. ex. transmissores de VHF e aparelhos GPS), recomenda-se que o peso máximo do equipamento não ultrapasse 5% da massa corpórea do indivíduo (Sikes & Gannon, 2011; Wilson *et al.*, 1996) e que sejam observadas restrições de dimensão e peso do aparelho para que se opte pela fixação no indivíduo por colar ou mochila (**Figura 7C e 7D**).

Porém, para *Leontopithecus*, estudos têm demonstrado que o uso de colares deve ser restrito a equipamentos com no máximo 2,5% da massa corpórea do indivíduo, cuja soma das dimensões (L + C + A) seja inferior a 70 mm, sendo o maior lado (*i.e.* largura) com, no máximo, 35 mm. Caso o equipamento tenha peso e dimensões maiores que isso, recomenda-se a instalação de mochila, ainda assim restringindo o peso a 5% da massa corpórea do indivíduo e a soma das dimensões a, no máximo, 85 mm (dimensões sugeridas: L - 30 mm + C - 40 mm, A - 15 mm).

No caso do uso de mochilas, dar preferência para instalação em machos, para não causar problemas em caso de gravidez ou lactação das fêmeas. Ressalta-se a importância de *designs* anatômicos, tanto para mochilas quanto para colares, visando maior conforto dos indivíduos. Durante a manipulação dos indivíduos, no caso de recapturas, é necessário fazer a leitura da marcação permanente feita previamente, seja tatuagem ou *microchip*, e conferência de demais formas de marcação não permanentes para avaliação da necessidade de troca de equipamentos e colares, ou renovação da tintura.



Figura 7 – Exemplos dos procedimentos de marcação individual: A) tatuagem realizada em mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*); B) tintura de pelos da cauda realizada em mico-leão-da-cara-dourada (*L. chrysomelas*). Exemplos de equipamentos eletrônicos utilizados para o monitoramento de mico-leão por meio rádio-telemetria e receptor GPS: C) rádio-colar, D) mochila. Fotos: A) Luiz Thiago de Jezus/Associação Mico-leão-dourado, C) Andréia Martins/Associação Mico-leão-dourado, B) Marina G. Bueno, D) Gabriela Rezende.

4.4 Soltura

Os micos são considerados aptos à soltura somente após completa recuperação da ambulação normal. Este critério deve ser muito bem avaliado para evitar prejuízos à integridade física do indivíduo, o qual pode ficar temporariamente mais vulnerável a traumatismos e predação. Quando realizada a captura de todos os indivíduos do grupo, é desejável que os animais sejam soltos simultaneamente no mesmo local onde foram capturados. O transporte das gaiolas até o local de soltura deve seguir as mesmas recomendações descritas no item 2.4.

Em campanhas de captura em que apenas um indivíduo é contido quimicamente e o restante do grupo permanece livre e em atividade, a soltura deve ser realizada dentro da mata, no local mais próximo possível dos demais integrantes do grupo. Devem ser feitos esforços extensos de localizar o grupo ou mantê-lo próximo da área de procedimentos ou de captura. Nestes casos, recomenda-se a instalação de um colar de VHF no indivíduo capturado, tornando possível a sua localização caso haja posterior fissão do grupo. Ressaltamos que procedimentos que levam à fissão não são desejáveis, pois alteram as dinâmicas sociais, podendo inclusive enviesar a coleta de alguns dados. Na ocorrência desse evento, isso deve ser documentado e considerado em análises de demografia e estudos subsequentes.

5. Protocolo para coleta de material biológico

É altamente recomendável que, durante a realização dos procedimentos de captura, seja feita a coleta de material biológico dos indivíduos, especialmente quando se trata de espécies ameaçadas. As amostras colhidas podem ser utilizadas em estudos das mais diversas áreas, como genética, ecologia trófica, reprodução, patologia, parasitologia, microbiologia, toxicologia, entre outras.

Primeiramente, deve-se determinar quais as análises a serem realizadas, considerando o custo, logística, viabilidade das coletas e levantamento de principais doenças que acometem animais domésticos, animais silvestres e humanos na região onde vivem os grupos de micos estudados. Com os objetivos estabelecidos, é necessário saber quais amostras devem ser coletadas, quantidade/volume, condições de armazenamento, transporte e instituições receptoras. Recomenda-se que os profissionais responsáveis pelas coletas e encaminhamento das amostras entrem em contato previamente com os laboratórios parceiros para sanar eventuais dúvidas, obtendo assim amostras de melhor qualidade e, consequentemente, resultados mais confiáveis.

Ressalta-se ainda a importância da correta identificação das amostras, contendo todas as informações necessárias para o adequado processamento e interpretação dos resultados. O uso de canetas de marcação permanente ou lápis e etiquetas plastificadas ou envoltas com fita adesiva transparente são consideradas boas opções para esta finalidade. Outra maneira de reforçar a identificação, é utilizar etiquetas em papel vegetal, escritas a lápis, as quais são acondicionadas dentro do frasco, junto com as amostras colhidas (exceto para sangue, fezes e urina). Etiquetadoras automáticas também podem ser utilizadas.

É fundamental que seja formado um banco de amostras de todo material biológico coletado; que pode ser proveniente das alíquotas restantes coletadas para um propósito definido. Este material “de sobra” pode servir para estudos futuros, e evitar capturas desnecessárias.

O Anexo 4 traz uma tabela com uma relação resumida das principais análises que podem ser realizadas com amostras de material biológico de micos-leões colhidas à campo, assim como algumas diretrizes para auxiliar a adequada coleta, armazenamento e transporte do material.

5.1 Pelo

Amostras de pelo são comumente utilizadas para pesquisa genética, análises hormonais e de isótopos. Porém, é válido salientar que os métodos de coleta e acondicionamento são variáveis (**Figura 8A**). Estudos genéticos dependem da presença dos bulbos para viabilizar o estudo, enquanto pesquisas hormonais e de isótopos normalmente exigem uma quantidade maior de pelos (feixe coletado do dorso - 0,5 cm x 3 cm), sem necessariamente conter os folículos pilosos.

5.2 Sangue

Como este procedimento é mais doloroso que a coleta das demais amostras biológicas, preconiza-se realizá-lo o quanto antes, assim que o animal for anestesiado.

A colheita de sangue pode ser realizada por meio da venopunção femoral na região inguinal, utilizando-se

seringa descartável estéril (3 ml) acoplada à agulha hipodérmica (0,55 x 20 mm) (**Figura 8B**). O volume médio de sangue dos animais corresponde a 7 ou 8% do peso corporal; no máximo 10% deste volume pode ser coletado (0,7 ml/100 g) (Rensing & Oerke, 2005). Antes da coleta, é necessário fazer a correta antisepsia da região com algodão embebido em álcool 70%, ou com tintura de iodo ou PVPI (iodopovidona), já que o álcool gera vasoconstrição, dificultando a coleta.

O sangue coletado deve ser imediatamente armazenado em tubos com EDTA e imediatamente refrigerados, e em tubos sem anticoagulante, centrifugados a 2.500 rpm por 15 minutos, para obtenção dos soros, e em seguida congelados. Alguns estudos de patógenos apresentam outros protocolos específicos que devem ser checados previamente à captura para melhor conservação da amostra. As amostras sanguíneas devem ser aliquotadas e acondicionadas em diferentes tubos, de acordo com os exames de interesse (cf. Tabela 1 do **Anexo 4**).

O sangue coletado pode ser utilizado para realização de hemograma, análises bioquímicas, pesquisa de hematozoários, perfis sorológicos, detecção de diversos agentes infecciosos através de biologia molecular, além de pesquisas endócrinas e genéticas. Conforme o patógeno a ser estudado, como os arbovírus, deve-se considerar a possibilidade de congelar, imediatamente após a coleta, uma alíquota de sangue em gelo seco ou nitrogênio líquido, para melhor conservação. Caso não seja possível gelo seco ou nitrogênio líquido, amostras de sangue devem ser acondicionadas em microtubos que contenham *RNAlater* para preservar os vírus em temperatura ambiente e encaminhadas ao laboratório, onde deverão ser armazenados a -80 °C. Vale ressaltar que, uma vez em *RNAlater*, será possível realizar provas moleculares, mas não o isolamento viral. O processamento e armazenamento dessas amostras poderá variar conforme a finalidade e protocolo laboratorial.

5.3 Fezes

Para o exame parasitológico, assim como para utilização em estudos genéticos, preconiza-se que as fezes sejam colhidas ainda frescas, sendo acondicionadas em coletores universais estéreis com tampa de rosca. A amostra para parasitologia deve ser mantida sob refrigeração e enviada para análise em até 72 horas. Caso esse prazo seja excedido, a amostra deve ser acondicionada em conservante líquido, como o Merthiolate-Iodo-Formol (MIF). No caso de análise genética, utiliza-se DNA de células da mucosa intestinal contido nas fezes. A amostra deve ser armazenada em álcool absoluto para preservação do material e posteriormente conservada em *freezer*.

Para análises de viroma, as fezes podem ser armazenadas em *RNAlater* para preservar os vírus em temperatura ambiente e encaminhadas ao laboratório, onde deverão ser armazenadas a -80 °C para futuras extrações de DNA e RNA viral. Amostras de fezes também podem ser colhidas em coletor universal estéril ou em meio de transporte viral e acondicionada a -20 °C ou -80 °C, para detecção de vírus gastrointestinais.

5.4 Urina

A coleta de urina pode ser realizada por meio de cistocentese, sondagem uretral ou durante micção espontânea. Entretanto, é importante mencionar que, por vezes, quando realizada a contenção física dos animais, estes urinam quase que imediatamente, dificultando a obtenção de um volume expressivo do material posteriormente. A amostra deve ser acondicionada em coletor universal estéril ou seringa e precisa ser mantida sob refrigeração (temperatura de 2 a 8°C), até ser enviada ao laboratório.

5.5 Ectoparasitos

Aparentemente a presença de ectoparasitos em micos-leões de vida livre não é muito frequente, visto que os primatas apresentam o comportamento de catação e isso tende a reduzir a infestação destes agentes. Contudo, é importante que seja feita uma análise minuciosa durante o exame físico, pois estes agentes atuam como vetores na transmissão de doenças, sendo importante a sua coleta para posterior identificação.

Se encontrados, carapatos e outros ectoparasitas (como pulgas, piolhos e ácaros) devem ser retirados manualmente, armazenados em solução de álcool a 70% ou absoluto (de preferência) e mantidos a temperatura

ambiente. Em laboratório, coloca-se o material em lâminas e examina-se no microscópio ou lupa para identificação. Para fêmeas ingurgitadas, recomenda-se o congelamento imediato do vetor *in natura* (Figura 8C).

5.6 Pelos com escarificação da pele

Deve-se avaliar ainda os possíveis parasitas (ácaros) presentes no pelo e pele destes animais. Para tanto, podem ser realizados raspados de pele, com utilização de lâmina de bisturi, mantendo-se a inclinação de 45°, de forma que haja a escarificação da pele, sem que ocorra o corte desta.

Além da identificação parasitológica da pele, os pelos devem ser coletados para isolamento e identificação de dermatófitos (fungos pertencentes principalmente aos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*), mediante cultura dos fungos em meio Saboraud. Assim que os pelos forem coletados, embrulha-se os mesmos entre duas lâminas de microscopia para envio do material a laboratório especializado.

5.7 Citologia vaginal

Para identificar e comparar as estruturas celulares vaginais da espécie no momento da coleta e inferir sobre o estado reprodutivo do indivíduo, deve-se realizar um esfregaço vaginal (Figura 8D). No esfregaço, os lábios vulvares devem ser gentilmente separados com uma mão. A outra mão deve conduzir um *swab* plástico de algodão estéril, o qual será passado através da comissura dorsal da vulva. O *swab* deve ser inserido até a distância necessária para atingir o canal pélvico. Nesse momento, deve-se rotacionar o *swab* em todas as direções. Todo esse procedimento dura apenas alguns segundos e é indolor. Em seguida, o *swab* deve ser rolado gentilmente sobre uma lâmina, fazendo-se em geral três impressões lineares. Esse esfregaço será corado imediatamente após a coleta pelo método panótico e então encaminhado a laboratório especializado.



Figura 8 – A) Coleta de pelo sem o bulbo em mico-leão-preto (*L. chrysopygus*); B) Colheita de sangue por meio da venopunção femoral na região inguinal em mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*); C) Localização de ectoparasita em mico-leão-preto (*L. chrysopygus*); D) Realização de *Swab* para citologia vaginal em mico-leão-preto (*L. chrysopygus*). Fotos: A) Olivier Kaisin, B) Luiz Thiago de Jezus/Associação Mico-leão-dourado, C) Gabriela Rezende, D) Rodrigo Amaral.

5.8 Avaliação reprodutiva e congelação de sêmen

Caso seja possível, e dependendo dos objetivos da pesquisa ou manejo, os animais capturados poderão ser avaliados quanto à capacidade reprodutiva (espermograma, fase do ciclo estral, detecção de gestação), sendo realizada a congelação de sêmen com estabelecimento de banco de germoplasma da espécie para fins de conservação (Le Gac *et al.*, 2021).

Para avaliação das fêmeas, após a coleta de material para citologia vaginal (ver item 5.7), o animal deve ser posicionado em decúbito dorsal para realização de exame ultrassonográfico. Pequena quantidade de gel específico é aplicado sobre o abdômen do animal e, com auxílio de equipamento de ultrassom e transdutor linear com frequência de 7,5 MHz, são avaliadas as dimensões do útero, presença de saco gestacional, batimento cardíaco fetal, diâmetro biparietal e torácico do feto, comprimento total embrião/feto, comprimento femoral e número de fetos (Luz *et al.*, 2018). O tempo máximo de exame deve ser definido entre 5 e 10 minutos.

Para avaliação dos machos, ainda sob efeito de anestesia, o animal é posicionado em decúbito dorsal para realização de mensuração da distância anogenital (ADG), com auxílio de paquímetro digital e avaliação do pênis e prepúcio. Nos casos em que for utilizado algum fármaco agonista alfa-2 adrenérgico (medetomidina ou dexmedetomidina), o pênis e a uretra são inspecionados quanto à presença de sêmen e, com auxílio de micropipeta, é colhida amostra para avaliação e eventualmente congelação, já que a ejaculação pode ocorrer com o uso dos fármacos já mencionados. Em seguida, pequena quantidade de gel específico para exame ultrassonográfico deve ser aplicado sobre a região escrotal do animal e, com auxílio de equipamento de ultrassom e transdutor linear com frequência de 7,5 MHz, é realizada a biometria e avaliação testicular.

Após essa avaliação inicial, o animal deve ser posicionado em decúbito lateral, ter seu pênis higienizado com solução salina estéril e secagem delicada com gaze estéril. Para a colheita de sêmen, um transdutor retal (com diâmetro de 6 mm), lubrificado previamente com gel à base de água (K-Y Gel®, Johnson & Johnson), é cuidadosamente introduzido entre 2,0 e 2,5 cm na ampola retal do animal por movimentos rotatórios, com os polos metálicos direcionados sobre a próstata e glândulas vesiculares. O protocolo utilizado para a eletroejaculação é realizado com 10 estímulos de cada voltagem (2, 3, 4 e 6 Volts), de forma crescente, até que se obtenha o ejaculado. Cada estímulo é mantido por aproximadamente 2 a 3 segundos, seguido de retorno à voltagem zero.

Com auxílio de micropipeta a amostra de sêmen é colhida e acondicionada em microtubo para avaliação e eventual congelação. É importante lembrar que a técnica de eletroejaculação em primatas já está estabelecida há muito tempo, tendo se mostrado eficiente e segura (Swanson *et al.*, 2016; Vidal *et al.*, 2007; Guimarães, 2007; Durrant, 1990). O tempo máximo para exame e colheita de sêmen deve ser definido entre 10 e 20 minutos.

O sêmen colhido é avaliado quanto ao volume, concentração, motilidade, vigor, morfologia espermática e colorações para determinar integridade de membrana plasmática e de acrossoma. Todo material utilizado na manipulação e avaliação do sêmen (ponteiras, microtubos, lâminas, lamínulas, meios de diluição) deve ser mantido a 37 °C em mesa aquecedora.

O sêmen deve ser resfriado e congelado de acordo com as melhores técnicas disponíveis na literatura científica para primatas neotropicais e/ou gênero *Leontopithecus* (Arakaki *et al.*, 2019).

5.9 Swab oral e retal

Para pesquisa de microbiota oral e retal, *swabs* estéreis podem ser introduzidos enquanto o animal está anestesiado. Assim que introduzido, o *swab* deve ser rotacionado delicadamente na cavidade e, assim que retirado, imerso no meio de transporte (para preservação da amostra), a depender do agente infeccioso a ser pesquisado.

De maneira geral, para análises virais, os *swabs* devem ser coletados na orofaringe - evitando encostar o *swab* no restante da boca – ou no reto, introduzindo o *swab* estéril e rotacionando gentilmente por aproxi-

madamente 10 segundos. No caso de herpesvírus, preconiza-se o *swab* de traqueia e o acondicionamento em *eppendorf* com 200 µl de meio PBS 7.4, e posterior congelamento até o processamento em laboratório. No caso de pesquisa bacteriana, diversos meios podem ser utilizados, como o AMIES, no qual as amostras devem ser mantidas na temperatura ambiente.

Em caso de pesquisa para SARS-CoV-2 (COVID-19), deve-se utilizar *swab* estéril e o material pode ser acondicionado em 2 mL de solução salina (ou em outro meio como PBS 7.4). Para o transporte, os *swabs* devem ser mantidos sob refrigeração (por até 72 horas). No impedimento de processamento breve para SARS-CoV-2, a amostra pode ser congelada a -80 °C ou ser transportada em gelo seco ou nitrogênio líquido.

Para análises de viroma, *swabs* retais podem ser armazenados em RNAlater para preservar os vírus em temperatura ambiente e encaminhados ao laboratório, onde deverão ser armazenados a -80 °C para futuras extrações de DNA e RNA viral.

5.10 Animais mortos (carcaças inteiras ou parciais)

Ocasionalmente, os pesquisadores podem se deparar com cadáveres de primatas durante as atividades de campo. Muitas vezes, as carcaças se encontram em avançado estágio de decomposição, o que limita a coleta de amostras biológicas. Nestas situações, pode-se coletar pelos e dentes para estudos genéticos, assim como o esqueleto e o crânio, podendo estes serem destinados a coleções científicas e servirem como material-testemunho da fauna do local de estudo. Maior detalhamento sobre coleta e identificação de carcaça pode ser encontrado no *Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não-humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela - 2^a ed.* (2017)³ do Ministério da Saúde.

Apesar de ser uma situação menos comum, é possível encontrar carcaças mais frescas em condições de serem necropsiadas. Entretanto, é essencial que o exame necroscópico seja realizado o mais rápido possível. Na impossibilidade, recomenda-se que o cadáver seja mantido sob refrigeração (4 – 8 °C) até a realização da necrópsia. O congelamento do cadáver é desaconselhável, pois este método implica na ruptura física da maioria das células do corpo, o que inviabiliza a interpretação histopatológica e a consequente investigação microscópica das lesões. Em caso de impossibilidade de realização de necrópsia ou envio do cadáver, recomenda-se que seja feita a coleta de material biológico no local onde o animal foi encontrado, desde que respeitadas as condições de biossegurança descritas anteriormente. Os órgãos devem ser cortados em fragmentos com até 1 cm de espessura e armazenados em frasco contendo formol 10%. Se possível, fragmentos dos órgãos devem ser armazenados em criotubos (sem formol) e congelados - preferencialmente em nitrogênio líquido, ou gelo seco, até transporte para freezer -80 °C, ou em RNAlater.

Importante ressaltar que, em quaisquer das situações acima (encontro de ossadas ou carcaças frescas ou não), o evento deve ser tratado como “caso suspeito para febre amarela”, sendo passível de notificação. As autoridades locais de saúde (Secretaria Municipal de Saúde – SMS – ou Unidade Regional da Secretaria Estadual de Saúde – SES) devem então ser imediatamente informadas e alíquotas das amostras coletadas durante a necrópsia devem ser enviadas para os laboratórios oficiais de referência. Informações mais detalhadas estão disponíveis no *Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não-humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela - 2^a ed.* (2017)³ do Ministério da Saúde.

Além disso, também é importante fazer registros fotográficos da carcaça e da coordenada geográfica do local exato onde foi encontrada. Recomenda-se fortemente, para isso, o uso do aplicativo SISS-Geo - Sistema de Informação em Saúde Silvestre, que além de possibilitar estes registros, também já remete comunicações de alerta para as instituições de competência no âmbito da saúde pública (cf. <https://sisgeo.lncc.br/>). Como a morte de primatas também é um evento de notificação obrigatória do MAPA, recomenda-se que o pesquisador faça a notificação online pelo sistema e-sisbravet (<https://sistemasweb4.agricultura.gov.br/sisbravet/manterNotificacao!abrirFormInternet.action>).

3 https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epizootias_primates_entomologia.pdf

5.11 Instituições receptoras de amostras biológicas

Material	Finalidade	Instituição/Endereço	Contato
Pelos, sangue, fezes, tecidos	Depósito em Biobanco	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros (ICMBio/CPB), Floresta Nacional da Restinga de Cabedelo - Rodovia BR 230 – Km 10, CEP: 58108-012 - Renascer, Cabedelo - PB	Amely Branquinho Martins
Carcaça	Depósito em coleção	Museu de Zoologia da USP, Serviço de Vertebrados – Mastozoologia, Av. Nazaré, 481 - Ipiranga, São Paulo, SP, 04263-000	Joyce Prado
Carcaça, tecidos	Depósito em coleção, Genética	Laboratório de Mamíferos da USP - ESALQ, Av. Pádua Dias, 11 - Agronomia, Piracicaba, SP, 13418-900	Alexandre Percequillo
Carcaça, tecidos	Depósito em coleção, Genética	Museu de Zoologia João Moojen, Departamento de Biologia Animal, Anexo do Centro de Ciências Biológicas II (CCB2), 3º andar, Av. P.H. Rolfs s/nº, Campus UFV, 36570-900. Viçosa, MG	Guilherme Garbino
Carcaça	Depósito em coleção	Museu Nacional – UFRJ, Departamento de Vertebrados, Setor de Mastozoologia, R. Gen. Herculano Gomes, 1610-1666 - São Cristóvão, Rio de Janeiro, RJ, 20941-360	João Alves de Oliveira
Carcaça	Depósito em coleção	CPRJ/INEA – Centro de Primatologia do Estado do Rio de Janeiro, Estr. do Paraíso, s/n - Paraíso, Guapimirim, RJ, 25940-000	Alcides Pissinatti ou Silvia Bahadian
Pelos, sangue, fezes	Genética Molecular	Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Departamento de Genética e Evolução, Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação, Rod. Washington Luiz, s/n, São Carlos, SP, 13565-905	Patricia Domingues de Freitas ou Pedro Manoel Galetti Junior
Pelos, sangue, fezes	Genética Molecular	Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Departamento de Genética, Laboratório de Diversidade e Doenças Virais, Rua Professor Rodolpho Paulo Rocco, s/n, Ilha do Fundão, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, 21941-617- RJ	André Santos
Sangue, fezes	Biologia molecular, detecção de agentes infecciosos	Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Laboratório de biologia molecular e patologia clínica do Hospital Veterinário da UESC.	George Rego Albuquerque ou Prof. Alexandre Munhoz
Swabs, Sangue, fezes, esfregações sanguíneas, carapatos,	Detecção de agentes infecciosos	Universidade Federal do Piauí- Centro de Ciências Agrárias e Centro Integrado de Agravos Tropicais Emergentes Negligenciados, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, Teresina - PI -CEP: 64049-550	Lilian Silva Catenacci
Swabs, tecidos, sangue, fezes	Detecção viral por biologia molecular	Universidade de São Paulo/Scientific Platform Pasteur (USP/SPPU)/INOVA-USP, Av. Prof. Lucio Martins Rodrigues, 370, Bloco A, 3º e 4º andares - Butantã, São Paulo - Brasil - CEP: 05508-020	Camila Vieira Molina
Sangues, tecidos	Investigação de arbovíroses	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Universidade de São Paulo - Laboratório de Virologia Molecular do Centro de Pesquisa em Virologia Av. Bandeirantes, 3900, Vila Monte Alegre, CEP 14049 900, Ribeirão Preto/SP.	Benedito Antonio Lopes da Fonseca
Swabs, tecidos, sangue, fezes	Detecção viral por biologia molecular	Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental (LVCA), Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz, Prédio Hélio e Peggy Pereira (HPP), Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental, 2º andar. Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro - CEP: 21040-900 -	Marina Galvão Bueno

6. Protocolo para registro de imagens

Durante eventos de captura, recomenda-se a tomada de fotos do(s) animal(is) capturado(s), para fins de investigações taxonômicas ou monitoramento de alterações individuais de coloração, pelagem e/ou dentição. São tomadas fotografias da cabeça (frontal, perfil e parietal), do corpo (dorsal, ventral e lateral) e dos dentes (frontal). Essas posições são características para diagnose.

Para facilitar a identificação do indivíduo, recomenda-se a inclusão de uma legenda contendo numeração referente ao animal (ex. tatuagem, *microchip* ou número da ficha de processamento) na própria fotografia. As fotos devem ser tomadas no caso de animais mortos ou contidos quimicamente, posicionando-os em superfície plana, preferencialmente com fundo branco. Recomenda-se que, para o caso de animais anestesiados, isso seja feito ao término de todos os procedimentos, otimizando o tempo anestésico e avaliando o bem-estar e conforto do indivíduo. Em todos os casos é importante que haja uma referência de tamanho, como uma régua, na foto.

A tomada de fotografias com a finalidade de registrar os procedimentos (*i.e.* para relatórios ou simples documentação) pode ser feita ao longo de todo o processo, desde que não interfira ou atrapalhe os procedimentos e o processamento do animal.

7. Protocolo de biossegurança para manipulação de indivíduos e destinação de material contaminado

O termo biossegurança envolve um conjunto de procedimentos, ações e equipamentos destinados a prevenir, minimizar ou eliminar os riscos inerentes às atividades de produção, ensino e pesquisa. Os riscos presentes podem afetar a saúde de seres humanos e animais, e causar danos ambientais, além de comprometer a qualidade do trabalho desenvolvido (Hirata, 2002). Primatas não-humanos são transmissores em potencial de diversos patógenos e são altamente suscetíveis a infecções comuns aos humanos. Por serem considerados de alto risco biológico, as medidas de biossegurança devem ser rigorosas, a fim de propiciar um ambiente de trabalho mais seguro (Andrade *et al.*, 2010).

7.1 Vestimenta, paramentação e EPIs

O uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) é essencial para profissionais que desenvolvem atividades a campo. No caso de capturas, todos os profissionais envolvidos no processo devem utilizar EPIs, como máscaras tipo N95 ou PFF2 e dupla camada de luvas de procedimento. Outras medidas básicas como manter o cabelo preso e tirar colares, anéis, brincos, e pulseiras devem ser respeitadas.

No laboratório ou estação temporária de processamento, durante a manipulação, adiciona-se a necessidade de uso de touca, avental ou jaleco e óculos de proteção ou protetor facial (*face shield*). Essas medidas de proteção, além de evitar que os humanos atuem como fonte de infecção para primatas em vida livre, visam reduzir a exposição dos integrantes da equipe a agentes infecciosos diversos.

Antes de realizar o procedimento, as mãos devem ser higienizadas com água e sabão e/ou álcool 70%, em seguida colocar a máscara, dupla camada de luvas, avental (preferencialmente descartável), touca e óculos ou *face shield*. O par de luvas externo deve ser trocado após manejo de cada animal. Após o procedimento, com luvas limpas, o avental deve ser retirado (descartado ou armazenado em saco plástico para posterior lavagem), os óculos ou *face shield* devem ser lavados com água e sabão e secos com papel toalha. A touca e a máscara devem ser removidas, de forma que não haja contato com a pele, e então descartadas. As luvas devem ser as últimas a serem removidas e as mãos higienizadas com água e sabão e/ou álcool 70%. Todo o lixo perfurocortante e infectante deve ser descartado adequadamente (ver item 7.3).

A Norma Regulamentadora nº 6/2018 (NR-6), elaborada pelo Ministério do Trabalho, estabelece uma série de regras que devem ser cumpridas durante uma atividade laboral, a fim de evitar acidentes e preservar a saúde do trabalhador.

A seguir é apresentada a relação de EPIs obrigatórios em atividades de captura e processamento de micos-leões:

- Sapatos fechados
- Luvas de procedimento descartáveis
- Luvas de raspa de couro
- Máscara descartável tipo PFF2
- Óculos de proteção ou protetor facial (*face shield*)
- Macacão, jaleco ou avental cirúrgico (de preferência descartável)
- Touca descartável
- Equipamentos de proteção individual para arborismo (cintos, capacete...)

7.2 Saúde do Trabalhador

A elaboração de normas sanitárias para profissionais que atuam em campo é de extrema importância. Estas medidas devem ser ainda mais rígidas durante os eventos de captura, tendo em vista que este é o momento em que ocorre o contato mais próximo com os animais e, consequentemente, quando há maior risco de transmissão de agentes infecciosos dos animais aos humanos e dos humanos aos animais.

Para isso, recomenda-se a implementação de treinamentos contínuos a todos os integrantes da equipe, ressaltando a importância do uso correto dos EPIs, limpeza e desinfecção de materiais utilizados em campo e orientações de higiene pessoal. Além disso, é importante estabelecer um protocolo vacinal, o qual deve incluir ao menos as vacinas atualizadas para febre amarela, hepatite B, tétano e tríplice viral, além do esquema de pré-exposição ao vírus rábico (Silva & Felippe, 2014; Ministério da Saúde, 2017) e da vacina para COVID-19.

Integrantes da equipe que apresentem quaisquer sintomas compatíveis com gripe, coronavirose ou herpesvírose (feridas na comissura da boca) devem ser retirados dos procedimentos de captura dos animais.

7.3 Descarte e destinação de material contaminado

Os materiais utilizados em procedimentos a campo, como seringas, luvas, gazes, aventais cirúrgicos, entre outros, devem ser acondicionados em, pelo menos, dois sacos plásticos brancos e destinados à rede local do Sistema Único de Saúde - SUS, locais específicos de coleta nas universidades, ou empresa responsável pela coleta seletiva hospitalar.

Materiais perfurocortantes como ampolas, agulhas e bisturis, são considerados lixo hospitalar ou resíduo de saúde contaminado, devendo ser acondicionados em recipiente apropriado, de material rígido (papelão ou plástico). O material também deve ser encaminhado à empresa de destinação de resíduos hospitalares do município ou ser depositado nos locais apropriados das universidades parceiras da pesquisa, ou o que se aplicar (Silva & Felippe, 2014; Ministério da Saúde, 2017).

Caso haja a necessidade da realização de necropsia a campo, o cadáver é embalado em sacos plásticos de coloração branca. Os resíduos devem estar adequadamente acondicionados para suportar os riscos normais de carga, descarga e transporte, conforme a regulamentação em vigor. Uma vez embalados, estes devem ser encaminhados ao local de tratamento ou destinação final, utilizando-se técnicas que garantam a preservação da integridade física da equipe, da população humana e do meio ambiente. As carcaças devem ser tratadas pelo método de incineração, processo que modifica as características originais, com redução ou eliminação do risco de causar doenças e/ou impacto ambiental (Silva & Felippe, 2014; Andrade *et al.*, 2010). Porém, caso não seja possível, estas devem ser enterradas (Ministério da Saúde, 2017).

8. Referências bibliográficas

- ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010. 471 p.
- ARAKAKI, P. R. *et al.* Semen cryopreservation in golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas*. **American journal of primatology**, v. 81, n. 12, p. e23071, dez. 2019.
- BRANSON, K. R. Anestésicos injetáveis. In: ADAMS, H. R. (Ed.) **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária.** 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 179-223, 2003.
- BRASIL. MMA, ICMBio. 2020. Recomendações e Biodiversidade & COVID-19. Orientações sobre Uso Público e Pesquisa Científica em Unidades de Conservação e Outros Ambientes Naturais. Ministério do Meio Ambiente (MMA), Instituto Chico Mendes de Proteção a Biodiversidade (ICMBio), Brasília. 15pp.
- CALLE, P. P.; JOSLIN, O. New world and old world monkeys. In: MILLER, R. E.; FOWLER, M. E. (Eds.) **Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine.** v. 8. Filadélfia: Saunders. p. 301-335, 2015.
- CATÁO-DIAS, J. L.; MIRANDA, F. Considerações para realização e documentação de necropsias. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÁO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária.** 2. ed., São Paulo: Roca, 2014. cap. 82, p. 1565-1576.
- CATENACCI, L. S. *et al.* Diet and Feeding Behavior of *Leontopithecus chrysomelas* (Callitrichidae) in Degraded Areas of the Atlantic Forest of South-Bahia, Brazil. **International Journal of Primatology**, v. 37, n. 2, p. 136–157, 1 abr. 2016.
- CATENACCI, L. S.; RABOY, B. E.; OLIVEIRA, L.; DE CARVALHO, C. E. G.; NEVES, L. G.; SUSCKE, P.; DEEM, S. L.; COSTA, T.; DE VLEESCHOUWER, K. M. Golden-headed Lion Tamarins, *Leontopithecus chrysomelas* (Kühl, 1820): 27 Years of Experience in Methods for Their Capture and the Collection of Biological Material. **Primate Conservation**, v. 36, p. 23-35, 2022.
- DURRANT, B. S. Semen Collection, Evaluation, and Cryopreservation in Exotic Animal Species: Maximizing Reproductive Potential. **ILAR Journal**, v. 32, n. 1, p. 2-10, 1990.
- ENCARNACION, F.; SOINI, P.; TAPIA, J.; AQUINO, R. La captura de Callitrichidae (*Saguinus y Cebuella*) en la Amazonía Peruana. In: Castro-Rodríguez N. E. (Ed.) **La Primatología en el Perú: Proyecto Peruano de Primatología: “Manuel Moro Sommo”** (pp. 1–24). Proyecto Peruana de Primatología, Lima, Peru, 1990.
- FEDIGAN, L. M. Ethical issues faced by field primatologists: asking the relevant questions. **American Journal of Primatology**, v. 71, p. 1-18, 2010.
- FERRARO, M. A.; MOLINA, C. V.; CATÁO-DIAS, J. L.; KIERULFF, M. C. M.; PISSINATTI, A.; BUENO, M. G.; CORTOPASSI, S. R. G. Evaluation of three chemical immobilization protocols in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) undergoing vasectomy surgery. **Journal of Medical Primatology**, v. 47, n. 2, p. 101-109, 2017.
- GUIMARÃES, M. A. B. V. Reprodução de primatas não-humanos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 339-343, 2007.
- HIRATA, M. H.; FILHO, J. M.; HIRATA, R. D. C. **Manual de Biossegurança.** 3. ed. São Paulo: Editora Manole. 2017.
- HOLST, B.; MÉDICI, E. P.; MARINO-FILHO, O. J.; KLEIMAN, D.; LEUS, K.; PISSINATTI, A.; VIVEKANANDA, G.; BALLOU, J. D.; TRAYLOR-HOLZER, K.; RABOY, B.; PASSOS, F.; VLEESCHOUWER, K. & MONTENEGRO, M. M. 2006. Lion Tamarin Population and Habitat Viability Assessment Workshop 2005, final report. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group.
- LE GAC, S. *et al.* Understanding and Assisting Reproduction in Wildlife Species Using Microfluidics. **Trends in biotechnology**, v. 39, n. 6, p. 584–597, jun. 2021.

- LUZ, M. S. *et al.* Ultrasonographic aspects of the *Leontopithecus* gestation (Lesson, 1840-Callitrichidae, Primates). *Journal of medical primatology*, v. 47, n. 1, p. 55–59, fev. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela.** 2. ed. Brasília, 2014. 102 p.
- MOLINA, C. V. *et al.* Leptospira spp., rotavirus, norovirus, and hepatitis e virus surveillance in a wild invasive golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*; Kuhl, 1820) population from an urban park in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *American journal of primatology*, v. 81, n. 3, p. e22961, mar. 2019.
- PATERSON, J. M. Capture myopathy. In: West, G.; Heard, D; Caulkett, N. A. (eds.). **Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2014., p 171 -180.
- RENSING, S.; OERKE, A. Husbandry and management of new world species: marmosets and tamarins. In: WOLFE-COOTE, S. **The Laboratory Primate**. Cambridge: Academic Press, 2005., p. 145-162.
- SAMPAIO, W. V. *et al.* Morphologic analysis of sperm from two neotropical primate species: comparisons between the squirrel monkeys *Saimiri collinsi* and *Saimiri vanzolinii*. *Zygote*, v. 25, n. 2, p. 141–148, abr. 2017.
- SAVAGE, A. *et al.* Field Techniques for Monitoring Cotton-Top Tamarins (*Saguinus oedipus oedipus*) in Colombia. *American journal of primatology*, v. 31, n. 3, p. 189-196, 1993.
- SIKES, R. S. *et al.* Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, v. 92, n. 1, p. 235-253, fev. 2011.
- SILVA, J. C. R.; FELIPPE, P. A. N. 2014. Biossegurança. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS; J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária**. 2. ed., v. 2. São Paulo: Roca.
- SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária**. 2. ed., v. 1. São Paulo: Roca, 2014.
- SWANSON, W. F. *et al.* Sperm Morphology Assessment in Captive Neotropical Primates. **Reproduction in domestic animals**, v. 51, n. 4, p. 623-627, ago. 2016.
- VERONA, C. E.; PISSINATTI, A. Primates – Primatas do novo mundo (sagui, macaco-prego, macaco aranha, bugio e muriqui). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 2a ed. São Paulo: Rocca, 2014., p. 723-30.
- VIDAL, F. D. *et al.* Coleta de sêmen em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) (Kuhl, 1820) através da eletroejaculação Callitrichidae primates. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 67-71, 2007.
- VILANI, R. G. O. C. Anestesia injetável e inalatória. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária**. 2. ed., v. 2. São Paulo: Roca, 2014.
- WATSA, M. *et al.* A field protocol for the capture and release of callitrichids. *Neotropical Primates*, v. 22, n. 2, p. 59-68, 2015.
- WERTHER, K. Semiologia de animais silvestres. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004. p. 723-792.
- WILSON, D. E. *et al.* (Eds.). **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for mammals**. Washington, D.C.: Smithsonian Books, 1996.

ANEXOS



Mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) Foto: Marilha Mardegan Assunção.

Anexo 1 – 1. Adaptações ao protocolo de captura no oco

O primeiro passo é bloquear a(s) saída(s) utilizando sacos de tecido cheios de folhas secas ou simplesmente pedaços de tecido. Feito isto, o passo seguinte é identificar em qual ponto do oco os micos se encontram (o que pode ser acima ou abaixo da entrada). Então a passagem dentro da cavidade do tronco também deve ser bloqueada com o intuito de reduzir o espaço de movimentação dos indivíduos dentro do oco. Em seguida, deve ser realizada uma abertura de cerca de 20x20cm no tronco, próximo ao ponto em que os micos se encontram.

Esta abertura pode ser feita utilizando ferramentas como facão, machado ou motosserra, e não apresenta riscos aos indivíduos, uma vez que é realizada paralelamente aos bloqueios inseridos na cavidade do dormitório para obstrução da passagem deles. Outro ponto importante, é a maneira que o corte deve ser realizado. O ideal é que o fragmento de madeira a ser retirado tenha as bordas chanfradas e de formato trapezoidal (**Figura A1**), o que facilita a recolocação no local de origem ao término do procedimento para fixação e fechamento da abertura. É fundamental frisar que os ocos são recursos muito importantes para as espécies, portanto, essa metodologia de captura deve ser executada também pensando na viabilidade do dormitório após a captura.

Feita a abertura, os materiais utilizados para obstruir a passagem mais próximos ao local da cavidade que os micos se encontram podem ser retirados com cuidado, para evitar escapes. A partir daí, duas abordagens podem ser tomadas: 1) a retirada dos indivíduos, um a um, utilizando luvas de raspa de couro ou; 2) a instalação de sacos de náilon conforme demonstrado na **Figura A2**.

Na primeira abordagem, os indivíduos são colocados em sacos de tecido, individuais, onde são mantidos até o momento do processamento. Na segunda abordagem, por estarem com espaço reduzido e após desobstrução da saída, os micos tendem a se mover para a saída e entrarem nos sacos de náilon. Nesta abordagem também é excluída a necessidade do uso de luvas de raspas de couro, que, apesar de fornecer proteção, faz com que a pessoa que está manipulando os indivíduos perca muito a sensibilidade nas mãos. E por se tratar de espécies de primatas de pequeno porte, essa perda de sensibilidade nas mãos dificulta bastante a manipulação e favorece o escape dos indivíduos, além de oferecer mais riscos para estes, pois durante a contenção física, o manipulador pode exercer força demasiada e acabar ferindo os animais. Além disso, o estresse causado e a força muscular exercida pelos micos em resposta à contenção, pode gerar inflamação, lesões e até mesmo a síndrome de Cardiomiotipatia por Esforço. A utilização dos sacos de náilon também é muito prática e oferece segurança para a administração do anestésico com o indivíduo dentro do saco, seja o anestésico injetável ou inalatório.

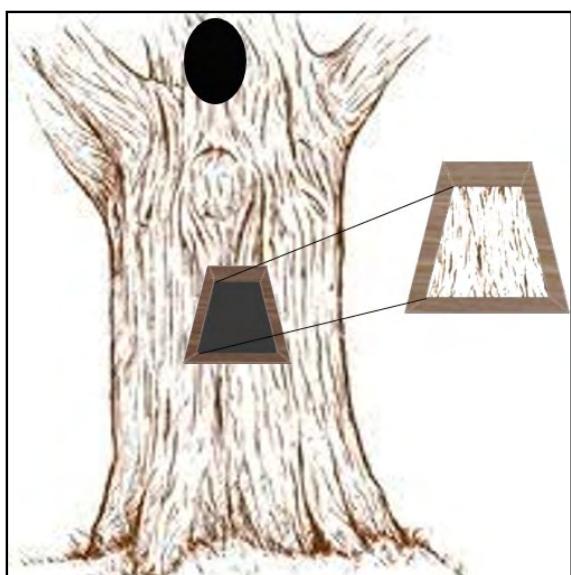


Figura A1 – Formato de corte ideal para acesso ao dormitório, formato trapezoidal e com bordas chanfradas.



Figura A2 – Utilização de sacos de sacos de náilon acoplados à saída do dormitório para captura e manejo de micos-leão-preto (*L. chrysopygus*) para coleta de amostras biológicas. Foto: Olivier Kaisin.

Anexo 2 – 2. Modelos de fichas de captura

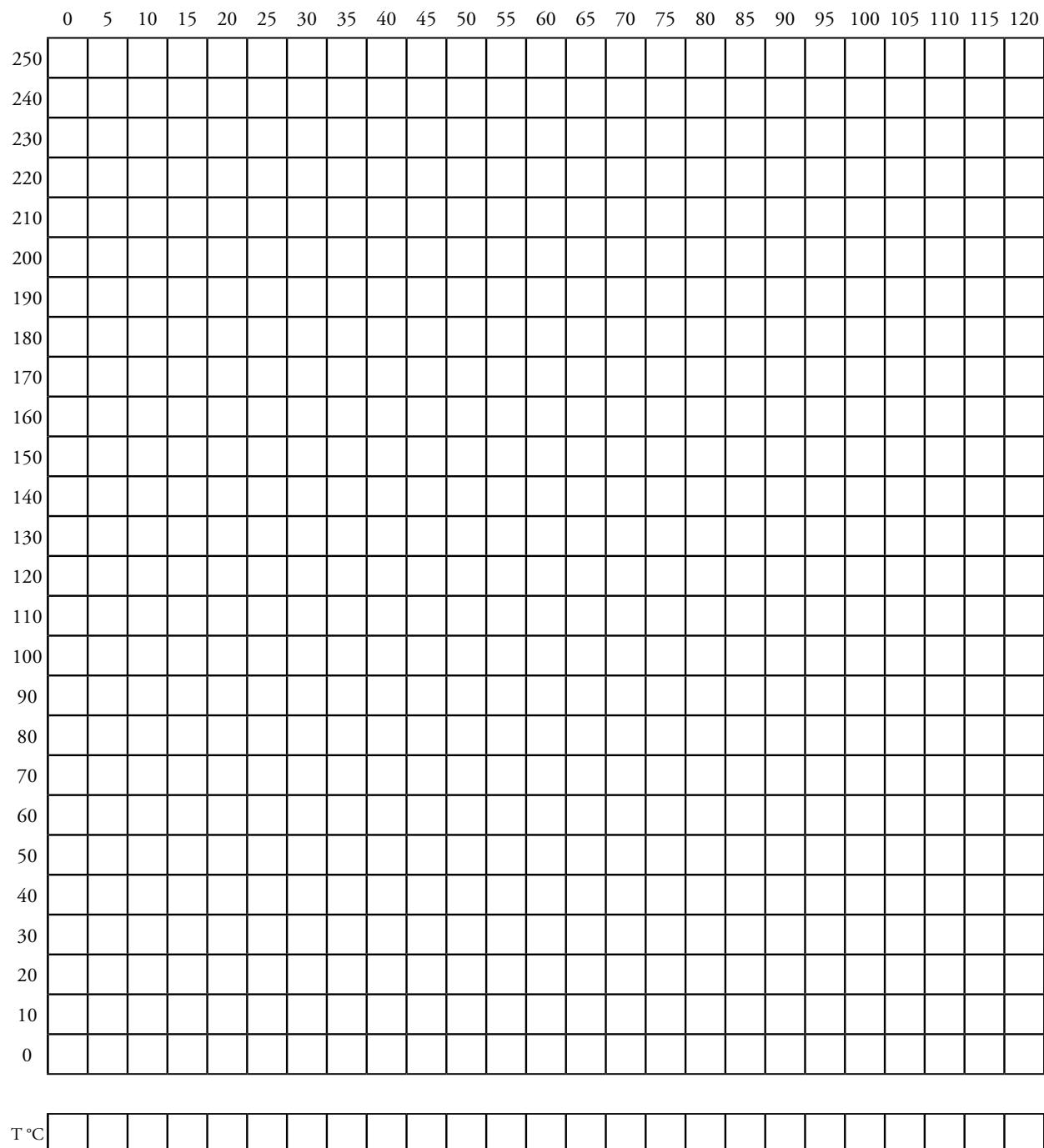
2.1 Modelo 1 – Ficha Anestésica

Espécie:	Grupo:	
ID:	Local:	Data:
Sexo: () M () F	Faixa etária: () Filhote () Jovem () Adulto	Peso:

Efeitos:	Avaliação Anestesia:
1. : h (Início dos efeitos)	() Excelente
2. : h (Início do procedimento)	() Boa
3. : h (Fim do procedimento)	() Regular
4. : h (Alerta/estação)	() Ruim
5. : h (Soltura)	

OBSERVAÇÕES

FC: • FR: X PAS: ^ PAD: v PAM: -- SpO2: □



T °C []

2.2 Modelo 2 – Ficha de Campo

Espécie:		Grupo:
ID:	Local:	Data:
Sexo: () M () F	Faixa etária: () Filhote () Jovem () Adulto	Peso:

EXAME FÍSICO		
Escore corporal: () 1 () 2 () 3 () 4 () 5	Desidratação: () < 5% () 8% () 10% () 12%	
Mucosas: () Hipocoradas () Normocoradas () Congestas () Cianóticas () Ictéricas		
FC: _____/min	FR: _____/min	TPC: _____/seg
Prenhez: () Sim () Não Lactante: () Sim () Não		
Mamilos: () Não estendidos () Estendidos () Muito estendidos		
Observação:		

COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO		
() Sangue total () Soro () Plasma () Coágulo () Pelos sem bulbo () Pelos com bulbo () Fezes () Urina () Ectoparasitos () Swab oral () Swab retal () Outro _____		

ANÁLISES LABORATORIAIS		
() Hemograma () Isótopos () Cultura microbiológica () Bioquímica sérica () Genética () Coproparasitológico () Urinálise () Cultura fúngica () Sorologia () Outra:		

BIOMETRIA		
Comprimento (cabeça e corpo): _____ mm	Comprimento da cauda: _____ mm	
Circunferência do pescoço: _____ mm	Circunferência do tórax: _____ mm	
Comprimento orelha direita: _____ mm	Comprimento mão direita: _____ mm	
Canino superior esquerdo: _____ mm	Comprimento pé direito: _____ mm	
Canino superior direito: _____ mm	Testículo direito (CxL): _____ mm	
Canino inferior esquerdo: _____ mm	Testículo esquerdo (CxL): _____ mm	
Canino inferior direito: _____ mm		

2.3 Modelo 3 – Ficha de Captura

Data: ____ / ____ / _____ Hora da captura: _____ Local: _____

Motivo da captura: _____

Responsável: _____

Pessoal envolvido: _____

Informações sobre o animal

Espécie: _____ Grupo: _____

Anestésico utilizado: _____ Quant.: _____ Hora anestesia: _____

Houve reaplicação? () Sim () Não Quant.: _____ Hora reaplicação: _____

Sexo: () M () F Faixa etária: () Filhote () Juvenil () Adulto

Observações: _____

Dados Clínicos

Condição física: () Boa () Regular () Péssima

Coloração de mucosas: () Rosada () Pálida

Desidratação: () <5% () 8% () 10% () 12%

Perda de pelos? _____ Ectoparasitas? _____

Cicatrizes/Ferimentos: _____

Frequência cardíaca: _____ /min Frequência respiratória: _____ /min

Temperatura retal: _____ Horário de aferição: _____

Realização de tratamento? () Sim () Não Qual? _____

Se Fêmea: Grávida? () Sim () Não Lactando? () Sim () Não

Extensão dos mamilos: () não-estendidos () estendidos () muito estendidos

Intumescimento da genitália: () normal () pouco () grande

Marcação

Tatuagem: () Nova () Já possui Onde? _____ ID: _____

Microchip: () Novo () Já possui Nº _____

Tintura: () Sim () Não Onde? _____ ID: _____

Marcas naturais: _____

Observações: _____

Equipamentos

VHF – () 1^a colocação () Troca Frequência: _____

GPS – () 1^a colocação () Troca

Outro: _____ () 1^a colocação () Troca

Biometria

Peso: _____ g

Comprimento – cabeça e corpo _____ mm Cauda _____ mm

Joelho-calcanhar: _____ mm

Dentição

Condição dos dentes:

Saudáveis: Sim Não

Sujos por tártaro: Sim Não

Quebrados: Sim Não Quais? _____

Desgastados: Sim Não Quais? _____

Ausentes: Sim Não Quais? _____

Observações: _____

Material Biológico

Pelo? Sim Não Tecido? Sim Não

Fezes? Sim Não Raspados de pele? Sim Não

Urina? Sim Não Swabs? Oral Retal Vaginal Não

Sangue? Sim Não Esfregaço sanguíneo? Sim Não

Heparina EDTA Sem conservante Outros: _____

Observações: _____

Dados complementares

Fotos: Cabeça | Frente Perfil Região parietal

Corpo | Ventre Dorso Lateral

Dentição

Hora do término do processamento: _____

Hora da soltura: _____

Observações: _____

Anexo 3 – 3. Valores de referência para parâmetros biométricos, fisiológicos, reprodutivos, hematológicos e bioquímicos para micos-leões (*Leontopithecus* spp.)

Tabela A1 – Parâmetros biométricos e fisiológicos de micos-leões (*Leontopithecus* spp.)

Cabeça e corpo (comprimento)	200 – 336 mm
Cauda (comprimento)	315 – 400 mm
Peso médio	600 – 800 g
Temperatura corporal	37,2 – 39,6 °C
Frequência cardíaca	180 – 260 bpm
Frequência respiratória	20 – 50 mrpm
Longevidade	16 anos

Fonte: Verona & Pissinatti, 2014; Holst *et al.*, 2006.

Tabela A2 – Parâmetros reprodutivos de micos-leões (*Leontopithecus* spp.)

Maturidade Sexual	16 – 20 meses
Gestação	125 – 130 dias
Tamanho da prole	1 a 3 filhotes
Peso ao nascer	40 – 55 g
Desmame	2 – 3 meses
Tempo geracional	7 anos

Fonte: Verona & Pissinatti, 2014; Holst *et al.*, 2006.

Tabela A3 – Valores hematológicos e de bioquímica sérica para micos-leões (*Leontopithecus* spp.)

Parâmetros	Cativeiro	Vida Livre
Eritrócitos (x 10 ⁶ /µL)	5,7±0,6	9,26±2,65
Hematórito (%)	45,5±3,5	36,67±5,78
Hemoglobina (g/dL)	15,4±1,6	-
Leucócitos (x 10 ³ /µL)	7,13±2,84	8,85±3,92
Neutrófilo segmentado (%)	44,2±2,51	61,1±10,24
Neutrófilo bastonete (%)	0,1±0,05	-
Linfócito (%)	21,7±1,15	30,5±9,96
Eosinófilo (%)	3±0,4	0,7±1,25
Monócito (%)	1,6±0,18	6,65±4,18
Basófilo (%)	0,01 a 0,06	0±0
Cálcio (mg/dL)	10,4±1,3	11,96±4,62
Colesterol (mg/dL)	69	85±18,31
Fósforo (mg/dL)	5,5±2	4,33±2,27
Glicose (mg/dL)	125 a 189	186,53±46,26
Proteínas totais (g/dL)	7,2±1,5	6,27±0,98
Ureia (mg/dL)	-	23,27±7,57

Fonte: Verona & Pissinatti, 2014

Anexo 4 – 4. Amostras biológicas e respectivas análises, quantidade necessária e formas de acondicionamento temporário e armazenamento

Tabela A4 – Principais análises laboratoriais realizadas.

Amostra	Análises	Quantidade	Acondicionamento	Armazenamento	Prazo
Sangue	Hemograma	Mín. 0,5 ml	Tubos Vacutainer® (0,5 – 4 ml), contendo EDTA	Refrigerado*	Até 24 horas
	Bioquímica Sérica	Mín. 0,5 ml	Tubos secos ou com gel ativador de coágulo (0,5 – 4 ml)	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20°C.	Até 72 horas / 30 dias
	Sorologia	Mín. 0,5 ml	Tubos secos ou com gel ativador de coágulo (0,5 – 4 ml)	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20°C.	Meses a anos
	Arboviroses	0,5 a 1 ml	Tubos Vacutainer® (0,5 – 4 ml), sem conservantes	Imediatamente colocado a -80°C ou em nitrogênio líquido ou em RNA later	Meses a anos
	Genética molecular	0,3 a 1 ml. Análises genômicas: 2 a 4 ml	Tubos Vacutainer® (0,5 – 4 ml), contendo EDTA (3,6mg)	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20°C.	Meses a anos
	Virologia (Molecular)	0,2 a 1 ml (soro ou sangue total)	Criotubo, tubo coletor universal estéril ou tubo tipo Falcon de 15 ml estéril. Pode ser utilizado meio específico para preservar a amostra.	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20°C ou -80°C.	Meses a anos
	Esfregaço sanguíneo	2 lâminas	Lâminas de microscopia	Fixação em metanol absoluto por 10 segundos até posterior coloração. Manter em temp. ambiente	Meses ou anos a depender da coloração empregada

*Refrigerado: manter em geladeira (4-8 °C) ou em caixa de isopor com gelo sem contato direto com a amostra.
Importante considerar que as quantidades e formas de armazenamento e acondicionamento podem variar de acordo com a técnicas utilizadas por cada laboratório.

CONTINUAÇÃO TABELA A4

Amostra	Análises	Quantidade	Acondicionamento	Armazenamento	Prazo
Fezes	Coproparasitológico	2 gramas	Frasco coletor universal estéril	Refrigerado / Conservante MIT	Até 72 horas / Consultar laboratório
	Genética	-	Tubos falcon 50ml contendo álcool absoluto até cobrir a amostra	Caixas de isopor com gelo para transporte até freezer a -20°C	-
	Virologia (Molecular)	1 ml	Criotubo, tubo coletor universal estéril ou tubo tipo Falcon de 15 ml estéril. Pode ser utilizado meio específico para preservar a amostra.	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20°C ou -80°C	Meses a anos
Urina	Urinálise	Ideal 5 ml	Frasco coletor universal estéril ou seringa	Refrigerado*	Até 12 horas
Pelos	Genética	20 a 100 fios com bulbo das regiões femoral, lateral e dorsal	Saco plástico Zip-lock (preferencialmente) ou envelopes de papel	Caixa com sílica gel em temperatura ambiente	-
	Hormonal	~1000 fios cortados próximo à pele na região interescapular	Tubo tipo Falcon (15 ml) com alumínio ao redor (não expor à luz)	Temperatura ambiente	-
	Isótopos	Feixe de pelos do dorso (0,5 cm x 3 cm) cortados ou puxados (sem necessidade de bulbo)	Saco plástico tipo Zip-lock ou saco de papel	Temperatura ambiente; não colocar em recipiente fechado	-
Swab	Virologia (Molecular)	Swab oral ou retal	Criotubo ou tubo tipo Falcon de 15 ml estéril. Pode ser utilizado meio específico para preservar a amostra.	Caixas de isopor com gelo para transporte. Posteriormente em freezer a -20 °C ou -80 °C	Meses a anos

*Refrigerado: manter em geladeira (4-8 °C) ou em caixa de isopor com gelo sem contato direto com a amostra.

Tabela A5 – Análises para amostras coletadas *post mortem* (carcaças inteiras ou parciais).

Estado da amostra	Análises	Material	Acondicionamento	Armazenamento
Material fresco	Histopatológico/ Imunohistoquímica	Fragmentos de órgãos* de até 1 cm ³	Frasco com solução de formalina a 10%	Temperatura ambiente
	Isolamento Viral e/ou Análise Molecular (RT-PCR)	Fragmentos de órgãos Observação: para pesquisa de vírus da raiva, coletar porção do cérebro congelado a -20°C.	Criotubos ou frascos estéreis com tampa, de forma individualizada. Transportar em nitrogênio líquido.	Congelado (-70°C)
	Arboviroses	Fragmentos de órgãos (fígado, baço, pulmão, cérebro, coração, rins), até 24 horas após a morte, com 0,5 cm de espessura e 2,0 cm de comprimento	Criotubos ou frascos estéreis com tampa, de forma individualizada. Transportar preferencialmente em nitrogênio líquido ou gelo seco.	Congelado (-70°C)
	Genética	Pele, orelha ou língua (3 a 4 pedaços do tamanho de uma ervilha partida)	Tubos com álcool absoluto	Congelado (-20°C)
Material fresco / em decomposição	Genética	Musculatura esquelética (cerca de 1cm ³) / Unhas e ponta de orelha	Tubo eppendorff ou falcon ou pote de coleta universal (ou qualquer recipiente limpo) em álcool 70% a 100% (absoluto) ou cobrir completamente a amostra com sal de cozinha. Uma amostra por recipiente, e não misturar amostras de animais diferentes.	Temperatura ambiente
Material em decomposição avançada	Depósito em coleção	Crânio e esqueleto	Recipiente ou saco plástico. Uma amostra por recipiente, e não misturar amostras de animais diferentes.	Temperatura ambiente

*Órgãos amostrados: fígado, pulmão, rins, coração, baço, trato gastrintestinal, pâncreas, testículos/útero e ovários, adrenais.



REALIZAÇÃO



MINISTÉRIO DO
MEIO AMBIENTE E
MUDANÇA DO CLIMA

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
UNIÃO E RECONSTRUÇÃO