

Universidad CEU Cardenal Herrera

**Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y
Tecnología de los Alimentos**



**ESTUDIO DE LAS ZOONOSIS
PARASITARIAS EN MONO VERVET
(*Chlorocebus pygerythrus*)
MANTENIDO EN CAUTIVIDAD EN
LIMPOPO (SUDÁFRICA)**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

D. Héctor Sanz Cabañes

Dirigida por:

Dra. Dña. María Magdalena

Garijo Toledo

Dr. D. Jesús Cardells Peris

Valencia

2017

Memoria presentada por D. Héctor Sanz Cabañes
para optar al grado de Doctor en Veterinaria por
la Universidad CEU Cardenal Herrera

“If you want to go fast, go alone.
If you want to go far, go together”

-Proverbio africano-

Agradecimientos

A Ana, en primer lugar por salvarme de aquel elefante (*Loxodonta cyclotis*), en segundo lugar por engañarme para que sacáramos adelante juntos un proyecto como este y en tercer y último lugar por estar siempre ahí, siempre. Nada de esto hubiera sido posible sin tenerte a mi lado. Aunque lo mejor de todo, es que el resto de cosas de las que disfruto tampoco serían posibles sin ti. Gracias por aportar ese punto de cordura del cual más de una vez carezco. Y a partir de ahora ¿Qué haremos? ¿Aburrirnos?. ¡Seguro que no!, alguna tontería se me ocurrirá...

A mis tutores, Jesús y Marilena, por abrir la puerta de vuestro despacho y ofrecernos vuestro apoyo y ayuda desde el principio. Gracias por demostrarme vuestros superpoderes descubriendo espacios fantasmas y cursivas invisibles para mí.

A mi tesis, este trabajo que me ha acompañado durante más días y noches en estos últimos años que mis amigos. Gracias a ti sé lo que es poder estar en la cresta de la ola para en pocos minutos caer a un profundo y lúgubre pozo de desesperación. Pero como un buen amigo, ahí estabas al día siguiente para que siguiéramos adelante y llegáramos juntos hasta donde hemos llegado. He aprendido mucho gracias a ti, principalmente lecciones de la vida que me servirán para el resto de años que me queden por delante.

A John, Margaret y Aliette por demostrarme que ni la edad ni el idioma es un impedimento para el trabajo y la amistad.

A Dave por adoptarnos y cuidar tanto de nosotros en Sudáfrica.

A Núria y a Paloma por habernos permitido tener tiempo para sacar esto adelante.

A Ester por enseñarnos lo mucho que sabe de biología, pero sobre todo por dejarme ocupar su mesa.

A todos los amigos que han sido olvidados e ignorados durante tanto tiempo, pero no por ello he dejado de quererles.

Imposible terminar estos agradecimientos sin acordarme de aquellos que no valoran el trabajo de los demás. Especialmente a todos los que vivís al acecho de que aparezca alguien dispuesto a regalaros su esfuerzo y dedicación. Gracias por hacer que sepa tan bien escribir estas líneas sin haber tenido la necesidad de entrar en vuestro juego.

Y finalmente, y no por ello menos importante, gracias a todos los compañeros y amigos que habéis ayudado a que esto llegara hasta aquí, siempre dispuestos a ayudar sin esperar nada a cambio. Vosotros sabéis quienes sois. ¿Verdad? (*Don't you? / Tu as compris?*)... Sois un gran ejemplo de humildad, compañerismo y amistad. ¡Seguid así!. La merecida recompensa llegará algún día. Y si no llega, la esperanza os mantendrá vivos.

Resumen/Summary

Resumen

Las zoonosis son enfermedades humanas de origen animal que en la actualidad constituyen más de 150 procesos de distintas etiologías (Muriuki *et al.*, 1998) y que tienen un fuerte impacto tanto en la salud humana como en la conservación de la fauna silvestre (Goldberg *et al.*, 2007). Las enfermedades zoonóticas forman parte, en gran proporción, de las llamadas Enfermedades Tropicales Olvidadas (NTDs) y de las enfermedades emergentes y reemergentes (Schwabe, 1984; Meslin, 1995; Holden, 1996; Acha y Szyfres, 2003). Las NTDs tienen un efecto devastador sobre la salud animal, la humana y la producción de alimentos (Crompton, 1999; Bethony *et al.*, 2006; Hotez *et al.*, 2009).

Además de la amenaza que suponen para la salud humana, estas enfermedades tienen secuelas socio-económicas al aunarse a otras causas de morbilidad y mortalidad, como desplazamientos por conflictos armados, aumento de la población y pobreza (Muriuki *et al.*, 1998). Esto es debido a que las malas condiciones higiénicas facilitan la infección mediante larvas, quistes o huevos de parásitos a través del suelo, agua o alimentos contaminados (Barda *et al.*, 2013). Por ello, se hace necesaria la realización de estudios para profundizar en el conocimiento de su presencia en zonas donde son consideradas como emergentes, así como en zonas endémicas (Singh *et al.*, 2004).

Ha de tenerse en cuenta que las principales vías de transmisión de enfermedades entre humanos y primates, son la aerógena y la fecal-oral (Hudson, 1992a; Butynski y Kalina, 1998; Homsy, 1999; Wallis y Lee, 1999), por lo que la transmisión de enfermedades entre ambos grupos aumenta cuanto más estrecho es el contacto. Éste es el caso de los santuarios de primates, donde gran variedad de personas pueden mantener contacto estrecho con los animales, sin adoptar medidas para prevenir los contagios. Además, la mayoría de estos santuarios se localizan en países en vías de desarrollo, con mayor riesgo de contagio. Ya que, tanto la higiene como la sanidad son precarias y la prevalencia de enfermedades zoonóticas es superior (Michaud *et al.*, 2003).

Una de las razones más importantes para el desarrollo de proyectos de investigación en fauna silvestre es determinar si estos animales pueden actuar como reservorio de enfermedades que afecten a los humanos o a las especies domésticas (Appelbee *et al.*, 2005). De hecho, el riesgo zoonótico que conlleva el mantenimiento en cautividad de

primates ha sido ampliamente estudiado en zoológicos y centros de investigación (Levecke, 2007), pero no en santuarios.

Actualmente, la habituación de animales silvestres, los proyectos de ecoturismo/voluntariado y las labores de investigación de campo, son las principales actividades que exponen al humano a enfermedades parasitarias zoonóticas procedentes de primates en sus zonas de origen.

Centrándonos en el ecoturismo debemos destacar que el viaje internacional es uno de los sectores económicos que más ha aumentado últimamente y que conlleva un fuerte impacto en los sistemas de salud de los países desarrollados (Jensenius *et al.*, 2003). Esto es porque los viajes a zonas tropicales o subtropicales exponen a los viajeros a distintos patógenos exóticos (Corachan, 2002; Jelinek *et al.*, 2002; Poulsen e Iversen, 2009). Dentro del ecoturismo se incluye a los viajeros que visitan o realizan voluntariados en santuarios.

Por ello, se decidió realizar un estudio en un santuario de monos vervets (*Chlorocebus pygerythrus*) en Sudáfrica para identificar, mediante muestras de heces, sangre y piel, qué parásitos zoonóticos tanto gastrointestinales, como hemáticos y externos, habían presentes en los animales del centro. Además, se estudiaron qué actividades realizaban los trabajadores que pudieran exponerles a la transmisión de estos.

Las muestras de heces se tomaron de animales aislados e identificados para asegurar su procedencia. Estas muestras fueron sometidas a diferentes técnicas de diagnóstico coproparasitario en busca de parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Las muestras de sangre provinieron de monos vervets anestesiados, fueron conservadas en EDTA y analizadas mediante las técnicas habituales de detección de parásitos hemáticos utilizadas en medicina humana y veterinaria.

Las muestras de piel también provinieron de animales anestesiados y se sometieron a las pruebas habituales para el diagnóstico de ectoparásitos.

Nuestro estudio concluyó que los animales muestreados presentaban infestaciones provocadas por: a) parásitos gastrointestinales zoonóticos: *Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Strongyloides* spp. y estrongilados; y b) un ectoparásito zoonótico: *Sarcoptes scabiei*. Estos parásitos o ciertas especies de estos géneros provocan en el hombre enfermedades clínicas que pueden ser de gravedad.

El estudio de las actividades realizadas por los trabajadores en el centro, reveló que tanto las actividades en si les exponían a la transmisión a formas parasitarias infectivas de los parásitos descritos, como que ellos mismos formaban parte de los mecanismos que permiten la dispersión de estos parásitos en el centro.

Finalmente se diseñó una serie de recomendaciones para el centro centradas en la reducción de la carga parasitaria de los animales, reducción de los contactos y del riesgo que presentaban los trabajadores en sus actividades y medidas para la prevención de la dispersión de los patógenos zoonóticos.

Summary

Zoonoses are human diseases with animal origin. Nowadays there are more than 150 zoonotic diseases caused by different pathogens (Muriuki *et al.*, 1998), which also have a huge impact on human health and wildlife conservation (Glodberg *et al.*, 2007). Zoonotic diseases are part of the Neglected Tropical Diseases (NTDs) and also of the emergent diseases (Schwabe, 1984; Meslin, 1995; Holden, 1996; Acha and Szyfres, 2003). Furthermore, NTDs have also a huge impact on human and animal health and food production (Crompton, 1999; Bethony *et al.*, 2006; Hotez *et al.*, 2009).

Apart from the importance of zoonoses to human health, these diseases have social and economic consequences, because their impact can combine with other morbidity and mortality causes such as armed conflicts, population growth and poverty (Muriuki *et al.*, 1998). Inadequate hygiene habits promote parasite larvae, cyst and egg infection through soil or contaminated food and water (Barda *et al.*, 2013). For this reason, further research is necessary to improve knowledge of zoonotic diseases both where they are considered emergent and where they are endemic (Singh *et al.*, 2004).

Considering that airborne and faecal-oral transmission is the main source of disease transmission between human and primates (Hudson, 1992; Butynski and Kalina, 1998; Homsy, 1999; Wallis and Lee, 1999), the probability of this transmission will increase as the distance between animals and humans is smallest. This is the case of primate sanctuaries, where a variety of workers and visitors could be in contact with primates without taking appropriate measures to prevent disease transmissions. Furthermore, most of these sanctuaries are located in developing countries where these diseases are more frequent due to scarcity of hygiene and health services and the high prevalence of these zoonotic diseases (Michaud *et al.*, 2003).

One of the most important reasons to promote wildlife research projects is to determine whether wildlife could act as human or domestic species disease reservoirs (Appelbee *et al.*, 2005). In fact, the zoonotic risk of captive lodged primates has been deeply studied in zoos and biomedical research centres (Levecke, 2007), but not in sanctuaries.

Nowadays, wild animal habituation, ecotourism, volunteering projects and field research are the main risks of human exposure to parasitic zoonotic diseases from primates.

Focusing on ecotourism, international travelling is one of the most growing economical sectors at present and has an impact on the health services of developed countries (Jensenius *et al.*, 2003), as travelling to tropical and subtropical areas expose the travellers to different exotic pathogens (Corachan, 2002; Jelinek *et al.*, 2002; Poulsen and Iversen, 2009). Volunteering in animal sanctuaries is included in ecotourism and international travelling.

As a consequence, we decided to perform a research study in a vervet monkey (*Chlorocebus pygerythrus*) sanctuary in South Africa to identify gastrointestinal, hematic and dermal zoonotic parasites presents in its facilities through faecal, blood and skin samples. We analyzed the activities carried out by the sanctuary workers and which could expose them to these zoonotic parasites, too.

Faecal samples came from isolated and identified monkeys; different diagnostic procedures were performed to find gastrointestinal zoonotic parasites.

Blood samples were taken from anesthetized monkeys and put in EDTA tubes. Habitual hematic parasite diagnostic techniques were performed to find hematic parasites.

Skin samples came from anesthetized monkeys who presented skin lesions; traditional ectoparasite diagnostic techniques were performed for parasite identification.

Our research concludes that sampled monkeys were infected by: a) zoonotic gastrointestinal parasites as *Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Strongyloides* spp. and Strongylid nematodes, and b) a zoonotic ectoparasite: *Sarcoptes scabiei*. These parasites can cause clinical illness in humans.

The study of the workers activity revealed that they are exposed to zoonotic parasites and their work promotes pathogen dispersion in the sanctuary.

Finally, as a result of the research work, a list of recommendations was devised to help sanctuaries to reduce the parasite load in monkeys, to prevent direct animal contact reducing the risk of disease transmission, and to reduce pathogen dispersion.

ÍNDICE

Página

1. Introducción	1
1.1. Conflicto humano primate	3
1.2. Santuarios de primates.....	7
1.2.1. Tipos de instalaciones.....	10
1.2.2. Manejo de los animales.....	14
1.3. Enfermedades zoonóticas descritas en primates	18
1.3.1. Zoonosis gastrointestinales	19
1.3.1.1. Balantidiasis	19
1.3.1.2. Isosporiasis.....	21
1.3.1.3. Giardiasis.....	21
1.3.1.4. Amebiasis	23
1.3.1.5. Estrongiloidosis	26
1.3.1.6 Otras.....	29
1.3.2. Zoonosis hemáticas	31
1.3.2.1. Malaria	31
1.3.3. Zoonosis causadas por ectoparásitos	41
1.3.3.1. Escabiosis	41
1.2.3.2. Rickettsiosis.....	43
2. Objetivos	45
3. Material y Métodos	49
3.1. Animales y localización geográfica	51
3.1.1. Selección de la muestra	51
3.1.2. Área de estudio.....	52
3.1.2.1. Instalaciones para primates	53
3.1.2.2. Otras instalaciones.....	56
3.1.3. Datos meteorológicos.....	57
3.2. Recogida y etiquetado de las muestras	58
3.2.1. Muestras biológicas	58
3.2.1.1. Heces.....	60
3.2.1.2. Sangre	62
3.2.1.3. Ectoparásitos.....	63
3.2.2. Registro de actividades del personal y zonas de trabajo.....	66
3.3. Procesado de las muestras	66
3.3.1. Heces	67
3.3.1.1. Examen directo	67
3.3.1.2. Técnicas de concentración de formas parasitarias	67
3.3.2. Sangre.....	70
3.3.2.1. Gota gruesa	71
3.3.2.2. Frotis sanguíneo	72
3.3.3. Ectoparásitos	74

3.3.4. Registro de actividades del personal y zonas de trabajo	75
3.4. Estudio estadístico	75
4. Resultados	77
4.1. Parásitos zoonóticos.....	79
4.1.1. Parásitos gastrointestinales	79
4.1.1.1. <i>B. coli</i>	79
4.1.1.2. <i>G. duodenalis</i>	81
4.1.1.3. <i>E. histolytica/dispar</i>	83
4.1.1.4. <i>Strongyloides</i> spp	85
4.1.1.5. Estrongilados.....	87
4.1.1.6. Resultados globales.....	89
4.1.2. Parásitos hemáticos.....	91
4.1.3. Ectoparásitos	91
4.2. Personal y zonas de trabajo	92
5. Discusión.....	95
5.1. Parásitos zoonóticos.....	97
5.1.1. Parásitos gastrointestinales	97
5.1.1.1. <i>B. coli</i>	98
5.1.1.2. <i>G. duodenalis</i>	99
5.1.1.3. <i>E. histolytica/dispar</i>	100
5.1.1.4. <i>Strongyloides</i> spp	101
5.1.1.5. Estrongilados.....	102
5.1.2. Parásitos hemáticos.....	103
5.1.3. Ectoparásitos	105
5.1.3.1. <i>S. scabiei</i>	106
5.2. Factores de riesgo y prevención de las zoonosis	107
5.2.1. Factores de riesgo para la transmisión	107
5.2.1.1. Transmisión directa.....	108
5.2.1.2. Transmisión indirecta.....	111
5.2.2. Estrategias para la prevención de zoonosis.....	114
5.2.2.1. Control de los parásitos	114
5.2.2.2. Evitar actividades con riesgo de zoonosis	115
5.2.2.3. Evitar la propagación de los parásitos	116
5.3. Limitaciones del estudio	117
6. Conclusiones.....	141
7. Bibliografía.....	145
8. Comunicaciones a congresos.....	145

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ejemplos de instalaciones en santuarios de primates.....	11
Figura 2. Instalación accesoria.....	11
Figura 3. Sistema de comunicación.....	11
Figura 4. Instalación con suelo de cemento (izqda.) e instalación con suelo de tierra (dcha.).....	12
Figura 5. Ejemplos de cerramiento metálico.....	13
Figura 6. Vallado eléctrico.....	13
Figura 7. Elementos de enriquecimiento ambiental.....	14
Figura 8. Ciclo biológico de <i>B. coli</i> (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	20
Figura 9. Ciclo biológico de <i>G. duodenalis</i> (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	22
Figura 10. Ciclo biológico de <i>E. histolytica</i> (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	25
Figura 11. Ciclo biológico del género <i>Strongiloides</i> (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	28
Figura 12. Ciclo biológico de <i>Ascaris</i> sp. (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	30
Figura 13. Ciclo biológico del género <i>Plasmodium</i> (Bogitsh <i>et al.</i> , 2013).....	33
Figura 14. Procedencia genética de las especies de <i>Plasmodium</i> del humano (Duval, 2012).....	36
Figura 15. Ciclo biológico de <i>S. scabiei</i> (Mumcuoglu <i>et al.</i> , 2009).....	41
Figura 16. Distribución del género <i>Amblyomma</i> en África (Okabayashi <i>et al.</i> , 1999).....	43
Figura 17. Mapa de <i>Vervet Monkey Foundation</i> (VMF, 2015).....	52
Figura 18. Detalle del vallado eléctrico de una instalación principal.....	53
Figura 19. Doble puerta de acceso a una instalación principal.....	54
Figura 20. Ejemplo de instalación principal (Goliath) con sus satélites (A-J) (VMF, 2015).....	54
Figura 21. Jaulas de hospitalización de la enfermería.....	56

Figura 22. Representación de algunas de las instalaciones para trabajadores del centro (VMF, 2015).....	56
Figura 23. Jaulas de transporte en el interior de las jaulas de la enfermería.....	59
Figura 24. Mono vervet anestesiado en el quirófano.....	60
Figura 25. Muestra fresca de heces de mono vervet.....	61
Figura 26. Porcentajes de machos y hembras en las muestras de sangre.....	63
Figura 27. Cepillado de un mono vervet con peine de pulgas.....	64
Figura 28. Porcentajes de machos y hembras en la muestra de ectoparásitos.....	65
Figura 29. Lesiones dérmicas en cola de mono vervet.....	66
Figura 30. Ovatector [®] en paso ocho.....	68
Figura 31. Mini-Flotac [®] en paso tres.....	69
Figura 32. Emplazamiento de las muestras en el portaobjetos.....	71
Figura 33. Método de examen microscópico de la gota gruesa.....	72
Figura 34. Método de examen microscópico del frotis.....	73
Figura 35. Formas parasitarias de <i>Plasmodium</i> spp. (Kantele <i>et al.</i> , 2008).....	74
Figura 36. Porcentaje de muestras positivas y negativas de la muestra.....	79
Figura 37. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>B. coli</i> , con respecto al total de muestras del estudio.....	80
Figura 38. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>B. coli</i> , con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.....	80
Figura 39. Porcentaje que representa cada parásito asociado a <i>B. coli</i>	81
Figura 40. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>G. duodenalis</i> , con respecto al total de muestras del estudio.....	82
Figura 41. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>G. duodenalis</i> , con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.....	82
Figura 42. Porcentaje que representa cada parásito asociado a <i>G. duodenalis</i>	83

Figura 43. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>E. histolytica/dispar</i> , con respecto al total de muestras del estudio.....	84
Figura 44. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>E. histolytica/dispar</i> , con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.....	84
Figura 45. Porcentaje que representa cada parásito asociado a <i>E. histolytica/dispar</i>	85
Figura 46. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>Strongyloides spp.</i> , con respecto al total de muestras del estudio.....	86
Figura 47. Porcentaje de muestras positivas y negativas a <i>Strongyloides spp.</i> , con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.....	86
Figura 48. Porcentaje que representa cada parásito asociado a <i>Strongyloides spp</i>	87
Figura 49. Porcentaje de muestras positivas y negativas a estromgilados, con respecto al total de muestras del estudio.....	88
Figura 50. Porcentaje de muestras positivas y negativas a estromgilados, con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.....	88
Figura 51. Porcentaje que representa cada parásito asociado a estromgilados.....	89
Figura 52. Porcentaje de los distintos parásitos zoonóticos encontrados.....	90
Figura 53. Porcentajes de asociación de cada parásito a otros parásitos zoonóticos.....	90
Figura 54. Porcentaje de muestras con signos dérmicos positivas a <i>S. scabiei</i>	91
Figura 55. Porcentaje del total de muestras positivas a <i>S. scabiei</i>	91

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Instalaciones satélites de cada instalación principal.....	55
Tabla 2. Datos meteorológicos durante el periodo 1 (Wunderground, 2016).....	57
Tabla 3. Datos meteorológicos durante el periodo 2 (Wunderground, 2016).....	58
Tabla 4. Datos meteorológicos durante el periodo 3 (Wunderground, 2016).....	58
Tabla 5. Distribución de las muestras de heces por instalaciones.....	81
Tabla 6. Porcentajes de machos y hembras en la muestra de heces.....	82
Tabla 7. Distribución de la muestra de sangre por instalaciones.....	83
Tabla 8. Distribución de la muestra de ectoparásitos por instalaciones.....	85
Tabla 9. Características morfológicas del género <i>Plasmodium</i> (INS, 2003).....	73
Tabla 10. Parásitos zoonóticos presentes.....	79
Tabla 11. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a <i>B. coli</i>	80
Tabla 12. Asociación de <i>B. coli</i> con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.....	81
Tabla 13. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a <i>G. duodenalis</i>	82
Tabla 14. Asociación de <i>G. duodenalis</i> con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.....	83
Tabla 15. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a <i>E. histolytica/dispar</i>	84
Tabla 16. Asociación de <i>E. histolytica/dispar</i> con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.....	85
Tabla 17. Cantidad y porcentaje de muestras positivas al género <i>Strongyloides</i>	86
Tabla 18. Asociación de <i>Strongyloides</i> spp. con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.....	87
Tabla 19. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a parásitos estromgilados.....	88
Tabla 20. Asociación de estromgilados con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.....	89
Tabla 21. Resultados categoría voluntarios.....	92

Tabla 22. Resultados categoría personal local.....93

Tabla 23. Resultados categoría personal extranjero.....94

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

®	Marca registrada
/	Dividido por
%	Tanto por ciento
°C	Grados Celsius
µg	Microgramos
µm	Micrómetros
ρ	Densidad
ADN	Ácido desoxirribonucleico
a.m.	Ante merídiem
cm	Centímetros
Dcha	Derecha
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
doi	Acrónimo del inglés <i>Digital Object Identifier</i> (Identificador de objeto digital)
EE	Error estándar
Ed	Editorial
EDTA	Acrónimo del inglés <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i> (Ácido etilendiaminotetraacético)
ELISA	Acrónimo del inglés <i>Enzyme-Liked ImmunoSorbent Assay</i> (Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas)
<i>et al</i>	Y otros
etc	Etcétera
g	Gramos
G	Gauge
ha	Hectáreas
hPa	Hectopascales
INS	Instituto Nacional de la Salud
IUCN	Acrónimo del inglés <i>International Union for Conservation of Nature</i> (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza)
Izqda	Izquierda
km	Kilómetros
L	Fase larvaria
m	Metros
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
NTD	Acrónimo del inglés <i>Neglected Tropical Diseases</i> (Enfermedades Tropicales Olvidadas)
p.m.	Post merídiem
PASA	Acrónimo del inglés <i>Pan African Sanctuaries Alliance</i> (Alianza de Santuarios Africanos de Primates)
PCR	Acrónimo del inglés <i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reacción en cadena de la polimerasa)
PVC	Policloruro de vinilo
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundos
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

sp	Acrónimo del inglés <i>specie</i> (especie)
spp	Acrónimo del inglés <i>species</i> (especies)
suppl	Acrónimo del inglés <i>Supplement</i> (Suplemento)
VMF	Vervet Monkey Foundation
WHO	Acrónimo del inglés <i>World Health Organization</i> (Organización Mundial de la Salud)
X	Por
<	Menor

1. Introducción

1.1. Conflicto humano primate

El conflicto humano-fauna silvestre ocurre cuando ambos desean un mismo recurso y se produce una disputa para conseguirlo, lo que suele generar daños para una o ambas partes. El origen del conflicto puede ser de naturaleza muy diversa, desde una fuente de alimentación hasta un territorio. Este conflicto está en auge debido al aumento de los contactos entre humanos y animales así como, a la competencia por los recursos naturales existentes (Lamarque *et al.*, 2009).

La historia del desarrollo humano va unida a su colonización del planeta. De hecho, en casi todos los ecosistemas terrestres se pueden encontrar poblaciones humanas (Bengis *et al.*, 2002; Woodford *et al.*, 2002). A medida que se amplía su distribución geográfica cambia los ecosistemas ocupados y desplaza otras especies animales como puede ser el caso de los primates. El aumento de las necesidades alimentarias hace que se destine más espacio a ganadería, agricultura e industrias. Aumenta la utilización de pesticidas e insecticidas y existe un mayor control para que los animales no se acerquen a esas zonas por miedo a sus destrozos. En paralelo a la exigencia de mayor cantidad de alimentos, el humano también aumenta la caza y la pesca para satisfacer las necesidades. Así mismo, se incrementa el contacto con la fauna local, se altera la competencia por los recursos naturales de la zona y se pierde el equilibrio de estos ecosistemas. El avance de los humanos va, en muchas ocasiones, asociado al detrimento de otras especies animales. La principal causa del incremento del conflicto humano-primate se debe al acercamiento entre ambos. Tal acercamiento se debe al aumento de la población humana, a la mejora de las rutas de transporte, a la expansión tanto de la actividad industrial como de la agricultura y al asentamiento de humanos en zonas silvestres, al ecoturismo, al progresivo acercamiento de algunas poblaciones silvestres a cultivos o zonas residenciales, etc. (Woodford *et al.*, 2002).

El impacto de la actividad humana sobre las poblaciones de primates silvestres, es notable. Actualmente, la *International Union for Conservation of Nature* tiene catalogadas a todas las especies de grandes primates, con el grado de conservación “en peligro” o “en peligro crítico” (IUCN, 2016). En Estados Unidos se ha demostrado que el 55% de los brotes de patógenos en fauna silvestre estaban influenciados por el hombre y sólo en el 19% de los casos se ha excluido con certeza la acción humana (Dobson y Foufopoulos, 2001). Las amenazas principales son: la pérdida de hábitat en pro de asentamientos humanos, la

agricultura, la actividad maderera, la presión humana en forma de comercio ilegal y la caza furtiva para consumo o curandería (Woodford *et al.*, 2002).

Un ejemplo del daño ocasionado por los humanos a poblaciones silvestres de primates es la extinción del colobo rojo de Miss Waldron (*Procolobus badius waldroni*) en el año 2000 debido a la caza furtiva. La carne procedente de animales silvestres es una fuente importante de alimento para las poblaciones locales, por lo que las agencias de conservación reconocen que no es adecuado imponer una prohibición férrea sin antes haber desarrollado una alternativa real para este recurso y aportar información a las comunidades locales para que la explotación pueda realizarse de forma sostenible. La estimación de las poblaciones de animales silvestres normalmente contiene un error del 30%, lo que dificulta la elaboración de programas sostenibles para la explotación del recurso. Se estima que anualmente en África se obtiene un millón de toneladas de carne procedente de animales silvestres (Whitfield, 2003). No se debe olvidar que la manipulación y el consumo de carne de caza (furtiva o no) es una peligrosa fuente de patógenos zoonóticos (Leendertz *et al.*, 2006). Por ejemplo, el virus del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), se originó a partir del virus del *Simian Immunodeficiency Virus* procedente de los primates no humanos (Hirsch, 1995; Keele *et al.*, 2006; Faria *et al.*, 2014).

El crecimiento de la población humana provoca un aumento de sus necesidades que lleva, a través de la deforestación, a la conversión de zonas naturales en zonas aptas para el cultivo, ganadería o simplemente mejor aprovechables económicamente hablando. Esto conduce a la adaptación y alteración de los vectores existentes y a la aparición de otros nuevos. Los vectores tienen la capacidad de modificar su comportamiento en función de la disponibilidad de sus hospedadores. La mayor o menor afluencia de humanos a una zona determinada, hace que los vectores se hagan más o menos antropofílicos respectivamente. Además, la conversión de zonas forestadas en deforestadas en regiones con alta precipitación aumenta la cantidad de agua estancada y altera el pH de la tierra. Con la acidificación de la tierra se puede favorecer el desarrollo de larvas del mosquito *Anopheles* (transmisor de la malaria) y en caso de su alcalinización puede aumentar el desarrollo de caracoles los cuales actúan como hospedadores intermediarios en el ciclo biológico de numerosos parásitos (Patz *et al.*, 2000).

Aunque la industria maderera selectiva sea considerada una actividad con un gran potencial conservacionista, se ha observado que los primates residentes en zonas donde se

realiza, presentan una mayor tasa de parásitos que los residentes en zonas intactas (Gillespie *et al.*, 2005). Así mismo, también se ha demostrado que la presencia de determinados parásitos en primates, se relaciona con la presencia humana (Salzer *et al.*, 2007).

La construcción de carreteras altera el equilibrio biológico de forma indirecta. La mejora del acceso para humanos, ganado y vehículos promueve la creación de cultivos, ganaderías, minas, actividades madereras, pantanos, centrales eléctricas permitiendo nuevos asentamientos y mayor tránsito de humanos. Todo ello, favorece el desarrollo de actividades turísticas en la zona (Patz *et al.*, 2000). Los restos generados por los turistas y los servicios destinados a su atención alteran el equilibrio ecológico. Además, modifican los patrones de forrajeo, alimentación y comportamiento de las poblaciones de primates silvestres existentes en la zona (Hahn *et al.*, 2003).

En otras circunstancias, son los animales los que se aproximan a los asentamientos o zonas ocupadas por el hombre. Los daños provocados al humano pueden ser directos, como ataques y transmisión de enfermedades, o indirectos, como daños a los cultivos, al ganado o a las infraestructuras. En concreto los primates no provocan perjuicios directos sobre el humano, pero sí indirectos a plantaciones y molestias a turistas (Chomba *et al.*, 2012). En Sudáfrica, los daños ocasionados por los primates, se centran principalmente en las plantaciones y en las zonas residenciales. Como regla general, el daño provocado por los animales es inversamente proporcional a su tamaño, siendo las especies más pequeñas las causantes de los mayores perjuicios, si bien es cierto que, existen especies de gran tamaño causantes de daños enormes, como los elefantes africanos (*Loxodonta africana*) (Lamarque *et al.*, 2009).

Los animales habituados a la presencia humana pueden buscar activamente el contacto, invadiendo las calles de un núcleo urbano, basureros o incluso entrando deliberadamente en algunos hogares. Estas conductas les hacen a su vez más vulnerables al furtivismo y provocan alteraciones en su respuesta al estrés (Muehlenbein *et al.*, 2010).

Otras veces se acercan a poblaciones humanas de manera oportunista en búsqueda de alimento. Este comportamiento hace que aumente su éxito reproductivo, incrementando su número. Existen muchos ejemplos, como los babuinos (*Papio cynocephalus* y *Papio anubis*) en Kenia, que se acercan con mayor frecuencia y en mayor número a las instalaciones turísticas. Se enfrentan a los turistas robándoles muchas de sus pertenencias,

principalmente comida (Hahn *et al.*, 2003). En Tanzania hay otro ejemplo de hurto, los primates se han especializado en robar las capturas de los pescadores acercándose a los poblados situados en las orillas del Lago Tanganika (Wallis y Lee, 1999). Este tipo de situaciones aumentan el riesgo de transmisión de enfermedades entre los animales silvestres, los animales domésticos y el humano (Bengis *et al.*, 2002; Woodford *et al.*, 2002).

En el caso del mono vervet (*Chlorocebus pygerythrus*), su gran flexibilidad alimentaria y su alta capacidad de adaptación, le confieren características que le han convertido en un animal molesto para los humanos. Además, el gran número de individuos y su amplia distribución han hecho que haya sido catalogado como plaga en varias ocasiones (Saj *et al.*, 1999). Pueden ser muy oportunistas ocupando zonas de cultivos, hoteles, reservas naturales y lagos artificiales. Su facilidad para acercarse al humano les permite complementar su dieta silvestre con alimentos procedentes de cultivos, aportándoles en ocasiones un mejor estado nutricional y un sistema inmune más competente (Coop y Holmes, 1996; Barrett *et al.*, 2005; Grobler *et al.*, 2006). Pero no todos son beneficios, pues como se ha comentado, aumenta el riesgo de transmisión de enfermedades (Hahn *et al.*, 2003).

El acercamiento entre humanos y primates promueve la transmisión de enfermedades zoonóticas, constituyendo por tanto un riesgo para ambos (Jones-Engel *et al.*, 2004). Tampoco hay que olvidar que tanto los cambios medioambientales como las alteraciones ecológicas, aumentan las enfermedades zoonóticas parasitarias emergentes y posibilitan la modificación en las vías de transmisión, así como en el rango de hospedadores y en la virulencia de los parásitos (Daszak *et al.*, 2000; Patz *et al.*, 2000). De hecho, dada la relación evolutiva, los actuales niveles de conflicto humano primate por los recursos y el bajo nivel de especificidad de los parásitos de los primates hace que el riesgo de zoonosis sea importante, especialmente en las zonas con alta densidad de humanos y de primates así como, donde ambos compiten por los mismos recursos (Lane *et al.*, 2011).

Existen diferencias significativas en la población de parásitos encontrada en primates que comparten su hábitat con humanos y en la de los que no lo comparten (Hahn *et al.*, 2003; Chapman *et al.*, 2006a; Gillespie y Chapman, 2008). La transmisión puede ser de animales a humanos y/o viceversa. Aunque hay estudios que han cuestionado si la transmisión desde el hombre a los primates de parásitos gastrointestinales no es tan frecuente como otros autores determinan (Wenz *et al.*, 2010).

Todos los brotes de virus Ébola que afectaron a humanos en la zona selvática Congo-Gabón entre 2001 y 2003 se relacionaron con individuos que estuvieron en contacto con carcasas de animales silvestres (Rouquet *et al.*, 2005). El Ébola afecta al hombre y a grandes primates como gorilas (*Gorilla gorilla*) y chimpancés (*Pan troglodytes*) (Leroy *et al.*, 2004). La gran mortalidad de este virus junto con la caza furtiva fuerza a la extinción de los grandes primates africanos (Kaiser, 2003).

También existen numerosos parásitos que pueden transmitirse entre humanos y primates. Por ejemplo, en el caso de *G. duodenalis* y *Cryptosporidium* sp., existe riesgo de infección en ambos sentidos (Appelbee *et al.*, 2005), y se siguen encontrando nuevas especies en común de *Plasmodium*. En 2009, en chimpancés de Gabón se detectó *P. gaboni* genéticamente relacionada con *P. falciparum*. Estos hallazgos refuerzan la teoría de la necesidad de aumentar los esfuerzos en el estudio del parásito en primates y su relación con la malaria humana (Ollomo *et al.*, 2009). También en Gabón se diagnosticó *P. falciparum* en un mono syke (*Cercopithecus nictitans*) mantenido como mascota, si bien, no se llegó a demostrar su transmisión a partir del hombre (Prugnolle *et al.*, 2011).

Se ha determinado la presencia de especies de *Plasmodium* típicas de humanos en grandes primates alojados en santuarios, probablemente adquiridas por su cercanía al hombre. El aumento del contacto de los primates con el humano aumenta sus posibilidades de extinción (Duval *et al.*, 2010). De hecho, se ha comprobado que los chimpancés expuestos al humano adquieren y reaccionan inmunitariamente a numerosas enfermedades infecciosas habituales de humanos (Kooriyama *et al.*, 2013).

1.2. Santuarios de primates

El objetivo principal de los santuarios es la rehabilitación y la posterior liberación de los animales en la naturaleza, cuando es posible. Si los animales no son aptos para su liberación en la naturaleza, son alojados de por vida en el santuario (Grobler *et al.*, 2006; Ferrie *et al.*, 2014). Además los santuarios de fauna silvestre juegan un papel vital en la protección de la biodiversidad y en contra de la explotación maderera y del furtivismo (Bruner *et al.*, 2001).

Los santuarios de primates surgieron como respuesta a la necesidad de albergar una gran cantidad de animales que no pueden ser liberados directamente en la naturaleza (Grobler *et al.*, 2006). Las causas por las que llegan a estos centros son muy diversas, aunque se podrían clasificar en dos grandes categorías: las de origen humano y las de origen natural.

Dentro de las causas mediadas por el hombre encontramos la razón por la que la mayoría de animales llegan a los santuarios. Algunos de estos primates son animales procedentes de proyectos de experimentación, utilizados como modelo animal y son cedidos por los propios laboratorios una vez finalizado el estudio (Kerwin, 2006). Otros provienen del comercio y la tenencia ilegal de primates. Para abastecer este comercio los animales son perseguidos y cazados en la naturaleza (Jones-Engel *et al.*, 2004). También proceden de atropellos, ataques por perros, electrocución por cables de alta tensión, etc. (Ferrie *et al.*, 2014).

Entre las causas naturales se encuentran todos esos animales que morirían sin la intervención del humano, como es el caso de los individuos jóvenes. Los primates necesitan los cuidados maternos durante los primeros meses o años de vida, de manera que aquellos que se separan de su madre a edades tempranas, morirán. La desaparición de la madre puede ser consecuencia del ataque de un depredador (Cheney y Seyfarth, 1987) o por alguna enfermedad, aunque raramente la desaparición de la madre puede ser esclarecida, pudiendo deberse de nuevo a la acción humana.

Los santuarios son un recurso esencial para el ecoturismo, al igual que las excursiones para observar a los animales en la naturaleza. El ecoturismo puede ser una herramienta útil para la conservación de especies, aumentando el conocimiento y grado de sensibilización del público y posibilitando que los miembros de las comunidades locales entiendan la herencia natural y actúen contra la degradación del hábitat, así como aumentando los fondos para la conservación del hábitat (Filion *et al.*, 1994a; Brend y Schoene, 2002). El ecoturismo también constituye un porcentaje significativo del impacto económico que genera el turismo internacional y contribuye significativamente a los ingresos de diferentes países (Filion *et al.*, 1994b; Ferrie *et al.*, 2014). El contacto estrecho con los animales y el ir y venir de los visitantes se ha demostrado como una fuente de transmisión de enfermedades entre humanos y primates (Gagneux *et al.*, 2001). Sin embargo, el uso intensivo y sin monitorización del hábitat para el turismo puede producir efectos negativos sobre el bienestar animal, incluyendo la reducción del éxito reproductivo

de las especies que se desea conservar (Ellenberg *et al.*, 2006). Por ejemplo, la restricción del hábitat en macacos tibetanos (*Macaca thibetana*) en China, realizada con propósitos turísticos, resultó en el aumento de agresiones entre adultos y el aumento de la mortalidad infantil (Berman *et al.*, 2007).

Tanto los ecoturistas, como los viajeros que visitan santuarios, probablemente no sean conscientes de los riesgos sanitarios que su visita o estancia puede entrañar tanto para ellos como para los animales que se quiere preservar (Muehlenbein *et al.*, 2008, 2010). Aunque la mayoría de zoonosis descritas en la literatura corresponden a investigadores o población local, los turistas pueden constituir una importante fuente de patógenos para la fauna silvestre, ya que un gran porcentaje no se realizan chequeos de salud previos al viaje, no se vacunan y no utilizan quimioprofilaxis durante el mismo (Herck *et al.*, 2004; Wilder Smith *et al.*, 2004).

Los primates en cautividad pueden adquirir parásitos procedentes del humano (Kuntz, 1982). De hecho, se han descrito infecciones parasitarias en primates cautivos coincidiendo con brotes de los mismos parásitos en sus cuidadores (Hamlen y Lawrence, 1994).

Los santuarios reciben visitas y albergan voluntarios internacionales, turistas y población local en sus instalaciones (Ferrie *et al.*, 2014). Las condiciones de vida en los santuarios aumentan el riesgo de transmisión de enfermedades (Kilbourn *et al.*, 2003). Un 43% de los parásitos zoonóticos ni siquiera precisan de un contacto directo para su transmisión. De hecho, los helmintos de ciclo biológico directo son más especie-específicos que el resto; en cambio, los helmintos que necesitan hospedadores intermediarios para su transmisión son menos específicos de hospedador (Pedersen *et al.*, 2005). Así, la cercanía de los trabajadores y voluntarios de los santuarios de primates, tanto a los animales como a sus fómites, supone un factor de riesgo para la transmisión de enfermedades zoonóticas. Las crías de primates recién llegadas requieren de mucha proximidad de sus cuidadores. El contacto del humano con las heces comporta un riesgo importante de zoonosis (Lane *et al.*, 2011). Así, en macacos japoneses se ha observado una mayor prevalencia de *Strongyloides* spp. en juveniles y geriátricos (Gotoh, 2000), coincidiendo con los animales que más cuidados reciben en los santuarios.

Los orangutanes (*Pongo pygmaeus*) huérfanos mantenidos en cautividad con cercanía al humano contraen malaria de especies de *Plasmodium* habituales en éste,

mientras que los orangutanes silvestres se ven afectados únicamente por géneros habituales en primates (Kilbourn y Karesh, 1998). Así mismo, se ha detectado mayor prevalencia de *Strongyloides* spp. en orangutanes alojados en centros de rehabilitación que en los silvestres (Mul *et al.*, 2007).

En chimpancés y bonobos (*Pan paniscus*) alojados en santuarios se han diagnosticado variantes genéticas de *P. falciparum*, algo no descrito previamente en fauna silvestre, por lo que se contempla una posible relación con la cercanía al humano (Krief *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2010). En 2010 y 2011, Prugnolle y sus colaboradores ya advirtieron que no se puede descartar que *P. falciparum* infecte a cualquier especie de primate en África.

1.2.1. Tipos de instalaciones

Las instalaciones en los santuarios de primates deben asemejarse lo máximo posible a las condiciones que los animales encontrarían en la naturaleza, por lo que deberían ser capaces de albergar grupos de individuos similares a los que forman en la vida silvestre. Los primates necesitan ambientes complejos que les permitan desarrollar una gran variedad de comportamientos propios de su especie. Asimismo, deben permitirles poner en marcha estrategias para poder afrontar distintas fuentes de estrés (Clarke *et al.*, 1982; Mallapur, 2005).

El lugar para la construcción debe ser elegido en función del espacio disponible, de la cantidad de instalaciones que se necesiten y de la climatología del lugar. Lo habitual es crear el diseño de la instalación conociendo la ubicación exacta. Hay que considerar que los animales de las instalaciones vecinas pueden verse afectados por el comportamiento de los grupos más próximos (Morgan y Tromborg, 2007).

Se deben conocer las especies a las que va destinada la instalación, saber el número de individuos que se pretende albergar y las relaciones que mantienen entre ellos. Los antecedentes de los individuos ayudan a predecir posibles reacciones de los animales en diversas situaciones. También es importante la familiarización con el manejo de la colección, utilizar métodos anticonceptivos, y/o prever el aumento de la población (Kleiman *et al.*, 2010).

Existen dos tipos de instalaciones, las interiores y las exteriores. Se habla de instalación interior cuando está completamente "aislada" de las condiciones climáticas externas. Se trata de una sala cerrada, donde la temperatura, humedad y fotoperiodo deben ser controlados. No es habitual, encontrar instalaciones interiores por su enorme coste en los santuarios, en cambio, son habituales en centros de investigación biomédica. En centros de rehabilitación de fauna silvestre, las instalaciones exteriores son las más utilizadas (figura 1). Se trata de un recinto donde las condiciones ambientales (temperatura, humedad, etc.) dependen de la climatología del lugar. Es importante tener en cuenta que antes de la construcción se debe conocer perfectamente la climatología de la zona, saber qué factores afectan más a la(s) especie(s) cautiva(s) y construir la instalación aprovechando esos conocimientos.



Figura 1. Ejemplos de instalaciones en santuarios de primates.

En algunos santuarios se combinan instalaciones exteriores accesorias más pequeñas y con menor enriquecimiento ambiental que se utilizan como dormitorio o para facilitar el manejo (figura 2) con instalaciones más amplias y naturales que los animales disfrutan durante el día. En el caso de tener varias instalaciones utilizadas habitualmente por los mismos animales deberán comunicarse por algún tipo de estructura (figura 3) que impida que escapen y no les provoque estrés.



Figura 2. Instalación accesoria.



Figura 3. Sistema de comunicación.

El material utilizado para el cerramiento debe ser lo más sólido y duradero posible para facilitar su mantenimiento. Para las instalaciones de gran tamaño suele mantenerse el suelo natural. En el caso de instalaciones más pequeñas se suele cubrir de cemento (figura 4). Hay que valorar los pros y los contras de cada suelo, por ejemplo, el cemento facilita la limpieza, pero impide el crecimiento de vegetación natural, mientras que la tierra evita en mayor medida el encharcamiento de agua de lluvia, pero se erosiona con mayor facilidad (Gaudefroy-Rousseau, 2003; Rosenthal y Xanthan, 2010).



Figura 4. Instalación con suelo de cemento (izqda.) e instalación con suelo de tierra (dcha.).

La presencia o ausencia de techo hace que se dividan las instalaciones en abiertas o cerradas, respectivamente. No tener que construir el techo puede disminuir el presupuesto y facilitar la construcción de la instalación si se quieren mantener árboles de gran altura (Padilla *et al.*, 2012).

Las paredes pueden ser de distintos materiales. El cemento, la madera o el cristal protegen del viento y del sol, pero su colocación es más lenta y costosa que un vallado metálico. Éste último puede aumentar el espacio disponible para la locomoción permitiendo que los animales trepen por las paredes (solo posible en instalaciones cerradas). Se trata de un material bastante duradero. La resistencia del vallado debe soportar la fuerza de la especie de primate que pretende contener. El vallado metálico suele estar formado por varillas ensambladas para formar una cuadrícula de hilos de alambre. Las características del cerramiento metálico pueden variar en función de la disponibilidad de los materiales (figura 5). Esta tela metálica normalmente permite el paso de animales a través de sus orificios como pequeños roedores e insectos, pero en ningún caso debe permitir el escape de las crías o el estrangulamiento. La rigidez de la malla puede ir desde paneles rígidos

prefabricados con medida predeterminada a malla flexible. En ambos se deberá moldear a la forma de la nueva instalación (Padilla *et al.*, 2012).



Figura 5. Ejemplos de cerramiento metálico.

Una de las soluciones más utilizadas en primates es el vallado metálico complementado por un cercado eléctrico (figura 6). En este caso los animales no podrán trepar por las paredes, por lo que la rigidez del metal puede ser menor y por lo tanto más económico.



Figura 6. Vallado eléctrico.

El aspecto de la instalación puede ser natural o artificial. En el caso de las instalaciones naturales, sólo se utilizan elementos naturales, mientras que en las artificiales sólo se utilizan materiales sintéticos que no imitan a la naturaleza. En el caso de instalaciones naturales, se mantiene el suelo de tierra intentando conservar toda la vegetación existente. Antes de introducir a los animales es aconsejable identificar las distintas variedades de plantas para asegurarse de que no existe ninguna tóxica. Mantener el suelo de tierra, suele reducir los costes y aumenta el comportamiento exploratorio de estos animales. Como inconveniente, cabe destacar que su limpieza es complicada y se

deberá prestar especial atención si se sospecha de la presencia de alguna enfermedad infecto-contagiosa (Kleiman *et al*, 2010).

Si la vegetación de la instalación no es suficiente o equilibrada para satisfacer las necesidades alimentarias de los primates alojados, se puede suplementar con comida extra. En el caso particular de los primates de desplazamiento arbóreo se hace necesario mucho entramado aéreo, por lo que se puede utilizar una instalación mixta. La mayoría de las instalaciones de nueva creación en los santuarios suelen ser mixtas. Se utilizan materiales naturales combinados con materiales sintéticos. De este modo se intenta utilizar toda la vegetación existente y se suplementa, en caso de ser insuficiente, con elementos artificiales. La complejidad de la instalación se ve compuesta por distintos elementos. En el caso de instalaciones sin vegetación natural ésta se puede suplir con plataformas o cuerdas que permitan una mayor complejidad de la locomoción (figura 7) (Stroud, 2007).



Figura 7. Elementos para enriquecimiento ambiental.

El acceso a recursos vitales como el agua o la comida debe ser garantizado a todos los individuos de la instalación, dispersando la comida y facilitando varios puntos de acceso al agua. Se debe tener en cuenta que el acceso a estos recursos puede estar limitado a individuos de bajo rango jerárquico (Padilla *et al.*, 2012).

1.2.2. Manejo de los animales

En la mayoría de los santuarios se encuentran dos tipos de trabajadores: los trabajadores, que acuden habitualmente al santuario durante años, y los voluntarios que colaboran durante un periodo de tiempo determinado, variando desde días aislados hasta

varios años seguidos. Los santuarios son generadores de trabajo para las poblaciones locales y atraen personas de distintas nacionalidades que quieren trabajar o disfrutar de la experiencia de poder colaborar con este tipo de centros (Ferrie *et al.*, 2014).

A los santuarios de primates llegan muchas crías que necesitan los cuidados de sus madres para poder sobrevivir. Lamentablemente en muchas ocasiones llegan sin su compañía. Es el caso de las crías que se cazan para tenerlas como mascotas o los lactantes que sobreviven al atropello de su madre (Ferrie *et al.*, 2014). Cuando las crías son recién nacidas o aún no son capaces de alimentarse solas, el personal del santuario debe suplir los cuidados que recibirían de su progenitora. Durante los primeros meses de vida, la cría pasa la mayor parte de su tiempo colgada de su madre, alimentándose exclusivamente de leche a lo largo de todo el día (Andelman, 1985). Para lograr la supervivencia de estos huérfanos, los trabajadores se ven obligados a mantener un estrecho contacto con los primates. Por ello, en las primeras etapas del desarrollo de un primate es cuando el trabajo exige cercanía física hasta llegar al periodo juvenil donde empiezan a explorar el ambiente que les rodea y a establecer relaciones con el resto del grupo (Cheney y Seyfarth, 1990).

En un santuario, durante toda la vida del primate se mantiene un contacto directo o indirecto con los humanos. Aunque el animal ya sea independiente y se alimente por sí solo, son los trabajadores y/o voluntarios los encargados de proporcionarles todos los cuidados necesarios y velar por su seguridad.

La alimentación es una necesidad primordial para la supervivencia de los animales en cautividad. En la mayoría de las instalaciones, la alimentación disponible es escasa, por lo que se debe suplementar con ayuda de los trabajadores. Los santuarios desarrollan un protocolo de alimentación en función de las necesidades de los animales albergados. En el caso de los santuarios de primates, se abastecen de grandes cantidades de verduras y frutas en los poblados cercanos, que se almacenan durante algunos días en el propio santuario. Al menos una vez al día se prepara la comida de los animales (Ferrie *et al.*, 2014). Para ello, se elabora una mezcla de verduras y frutas, pudiéndose suplementar con semillas, legumbres, u otro tipo de alimento. Dependiendo del centro, la alimentación se reparte de diversas maneras: en recipientes, dándosela directamente al animal, o distribuyéndola sobre el sustrato de la instalación. En el caso de utilizar recipientes o de distribuir la comida a través del cercado, el trabajo de limpieza es imprescindible. Se debe retirar el exceso de comida del suelo y limpiar los comederos y bebederos regularmente. En instalaciones de menor tamaño

o con gran densidad de animales, se acumulan los restos de comida junto con excrementos por lo que el personal entra habitualmente a limpiar el suelo y las estructuras de las instalaciones que lo permiten. La manipulación de los alimentos y la proximidad con los animales al dársela, aumenta las posibilidades de contagio de numerosos agentes patógenos por vía aerógena y fómites (Wallis y Lee, 1999; Michaud *et al.*, 2003).

El chequeo sanitario de los animales es otra de las labores que favorece el contacto humano con ellos. En el caso de los santuarios de primates pertenecientes a PASA (*Pan African Sanctuaries Alliance*) se recomienda la aplicación de tratamientos antiparasitarios internos preventivos (Farmer *et al.*, 2009). En este caso es importante asegurarse de que todos los animales ingieren la cantidad de fármaco necesaria para su correcta desparasitación, por lo que suele ser un acto que se realiza ajustando la dosis y el modo de administración de manera individual. Los animales recién llegados deben aislarse en la zona de cuarentena antes de entrar en contacto con el resto de primates. Por otro lado, los animales enfermos necesitan cuidados más individualizados, por lo que se les puede trasladar a una zona de hospitalización. También es importante retirar los cadáveres de los animales fallecidos en las instalaciones o alrededores del centro y realizar su necropsia para intentar esclarecer la causa de la muerte, aunque, en pocas ocasiones se llega a un diagnóstico completo sobre la muerte, lo que puede contribuir a la dificultad de controlar las zoonosis (Leendertz *et al.*, 2006).

El trabajo de mantenimiento en las instalaciones es fundamental para mantener su seguridad. Es muy importante supervisar el estado del vallado, ya que, con el paso del tiempo, se deteriora y puede ocasionar lesiones en los animales. También, hay que vigilar el crecimiento de la vegetación para evitar que ésta dañe el vallado o que el crecimiento de algún árbol cercano al perímetro, facilite la huida de los individuos.

El manejo diario de los animales consta de muchas labores donde puede existir un contacto estrecho entre animales y humanos. También se debe tener en cuenta que los medios sanitarios en ciertos países pueden ser limitados. Además, las personas pueden verse obligadas a compartir fuentes de agua con los primates, lo que se considera una fuente potencial de parásitos zoonóticos (Legesse y Erko, 2004). La prevención es la herramienta definitiva contra la transmisión de enfermedades y, en el caso de los primates, el control y la profilaxis sanitaria con respecto a los humanos una clave fundamental (Leendertz *et al.*, 2006).

La principal vía de transmisión de enfermedades entre humanos y primates es la fecal-oral (Hudson *et al.*, 1992b; Butynski y Kalina, 1998; Homsy, 1999; Wallis y Lee, 1999). Por ello, una de las razones más importantes para el desarrollo de proyectos de investigación en fauna silvestre es determinar si los animales silvestres pueden actuar como reservorio de enfermedades de humanos o de animales domésticos (Appelbee *et al.*, 2005).

Del mismo modo en que se destaca la importancia de que el humano pueda verse afectado por enfermedades zoonóticas procedentes de los primates, hay que constatar que la transmisión también puede producirse en sentido inverso (Wolfe *et al.*, 1998; Adams *et al.*, 1999; Homsy, 1999; Wallis y Lee, 1999). Se han documentado transmisiones de diversos virus (Kortlandt, 1996; Köndgen *et al.*, 2008), bacterias (Goldberg *et al.*, 2007; Nizeyi *et al.*, 2015) y parásitos (Macfie, 1996; Wallis y Lee, 1999; Graczyk *et al.*, 2009). La infección de enfermedades procedentes del hombre hacia los primates, es posible por las mismas razones que a la inversa; y en el caso de primates en peligro de extinción y/o que vayan a ser reintroducidos en la naturaleza, cobra una importancia ecológica vital.

Ya que uno de los objetivos de los santuarios de primates es la reintroducción de sus ocupantes en la naturaleza, en ciertas ocasiones también disponen del permiso de las autoridades competentes para llevar a cabo el seguimiento de los animales liberados, así como a desarrollar programas de ecoturismo. Los individuos que forman parte de las reintroducciones o refuerzos que realizan los santuarios en la naturaleza, son animales huérfanos y/o procedentes del comercio ilegal de manera que para su reintroducción resulta vital asegurar que están sanos y no son portadores de ninguna enfermedad transmisible a las poblaciones silvestres (Bush *et al.*, 1993). La introducción de un patógeno en una población que no ha tenido contacto previo con él, puede implicar desde ningún efecto hasta llevar a la extinción a todos sus individuos (Kirkwood y Sainsbury, 1997). Por otro lado, la reintroducción en la naturaleza a partir de santuarios o centros de rehabilitación de primates que han tenido contacto estrecho con el humano puede vehicular a la naturaleza virus como el del SIDA, que no es patógeno en chimpancés, pero que resulta devastador en humanos (Gao *et al.*, 1999). También se ha demostrado que la introducción o erradicación de un parásito en una población puede alterar la interacción entre las distintas especies que conforman el ecosistema (Dobson y Hudson, 1986, Mladenoff *et al.*, 1997). Queda claro por tanto, que una enfermedad puede ser especialmente grave cuando es introducida por primera vez en una población (Wilson, 1995; Kirkwood y Sainsbury, 1997).

En el caso del riesgo hacia los animales silvestres, debemos tener en cuenta que ciertos virus respiratorios (influenza, parainfluenza y respiratorio sincitial) que en humanos cursan normalmente con patología leve, en primates son muy graves (Jones *et al.*, 1984). Por ejemplo, en 1966 diecisiete chimpancés murieron en Gombe (Tanzania), seis de ellos como consecuencia de afecciones respiratorias, coincidiendo con un brote de influenza en investigadores del parque y habitantes de poblados cercanos (Wallis y Lee, 1999). Otros doce se vieron afectados por un brote de poliomielitis, de los cuales seis fallecieron y otros seis sufrieron secuelas permanentes (Goodall, 1983).

Actualmente las labores de investigación en santuarios, el desarrollo de programas de ecoturismo y la habituación de primates silvestres crece exponencialmente y debe tomarse en cuenta el riesgo de transmisión de enfermedades, tomando como factor principal la cercanía del humano al primate (Wallis y Lee, 1999). En estas situaciones se deben desarrollar y aplicar protocolos para la prevención de transmisión de enfermedades y su diseño dependerá de factores como: emplazamiento, condiciones ambientales locales, especies de primates presentes y enfermedades endémicas de la zona (Wallis y Lee, 1999).

1.3. Enfermedades zoonóticas descritas en primates

Debido a la cercanía filogenética del humano y los primates se hace necesario el estudio de la transmisión de enfermedades entre ambos grupos biológicos (zoonosis). Se han descrito zoonosis entre el hombre y los primates de parásitos gastrointestinales patógenos como *Strongyloides* spp. y *Trichuris trichiura* (Gotoh, 2000) y de parásitos hemáticos transmitidos por vectores como *P. falciparum* (Prugnolle *et al.*, 2011). El contacto estrecho entre los primates y el humano ha resultado ser un factor determinante para incrementar la presencia de enfermedades zoonóticas comunes (Müller-Graf *et al.*, 1997). Además se debe tener en cuenta el papel que pueden jugar ciertas especies como reservorios (Wallis y Lee, 1999). De ahí, la importancia de plantear estudios que investiguen la presencia de patógenos zoonóticos en primates cautivos, ya que estos individuos mantienen un contacto más cercano con el hombre (Chapman *et al.*, 2006a; Levecke, 2010).

1.3.1. Zoonosis gastrointestinales

1.3.1.1. Balantidiasis

La balantidiasis, es una enfermedad zoonótica que el humano adquiere por transmisión fecal-oral a partir de los hospedadores principales del protozoo, que son los suidos, en los que la infección cursa de forma asintomática. Los primates podrían actuar como reservorios de esta zoonosis (Schuster y Ramírez-Ávila, 2008). La enfermedad en el hombre es una causa excepcional de disentería en países industrializados (Ferry *et al.*, 2004). Actualmente se está considerando a este parásito como un protozoo patógeno emergente en países industrializados (Khan, 2008).

Balantidium coli es el mayor protozoo, y el único ciliado, que afecta al humano (Esteban *et al.*, 1998). La prevalencia habitual de este parásito en el hombre en países industrializados es de 0,02 – 0,1% (Walzer y Healy, 1982), pero en zonas donde las familias conviven con cerdos o el agua y/o la comida están contaminadas con quistes, la prevalencia se eleva hasta un 29% (Barnish y Ashford, 1989; Cooper y Guderian, 1994). Aunque es parásito habitual de muchas especies animales, en los suidos se han registrado valores de prevalencia de entre el 20 y el 100% (Walzer y Healy, 1982). Levecke y sus colaboradores encontraron en 2007 una prevalencia en distintas especies de primates alojados en zoológicos europeos de un 18 a un 37% (Levecke *et al.*, 2007).

Su ciclo biológico directo (figura 8) ocurre en dos fases, una móvil (trofozoíto) y una quística. El trofozoíto habita en el ciego y colon de los humanos, alimentándose de bacterias, glóbulos rojos y epitelio intestinal que almacena en vacuolas. Se reproduce entre la mucosa y la submucosa del intestino de forma asexual mediante fisión binaria transversa, aunque también se ha descrito la reproducción sexual mediante conjugación. La enquistación tiene lugar en el lumen intestinal o en el exterior del hospedador. La transmisión de la enfermedad se realiza mediante la ingestión de los quistes (vía fecal-oral o vía agua y/o comida contaminada) los cuales se desenquistan en el intestino delgado del nuevo hospedador (Arean y Koppisch, 1956; Schuster y Ramírez-Ávila, 2008; Bogitsh *et al.*, 2013).

Los trofozoítos en el ciego y el colon del humano invaden la mucosa intestinal mediante la secreción de enzimas proteolíticas para llegar a multiplicarse entre la mucosa y la submucosa. Como consecuencia se altera el epitelio intestinal llegando a provocar úlceras (superficiales y profundas) en la mucosa (Arean y Koppisch, 1956; Becerril, 2008).

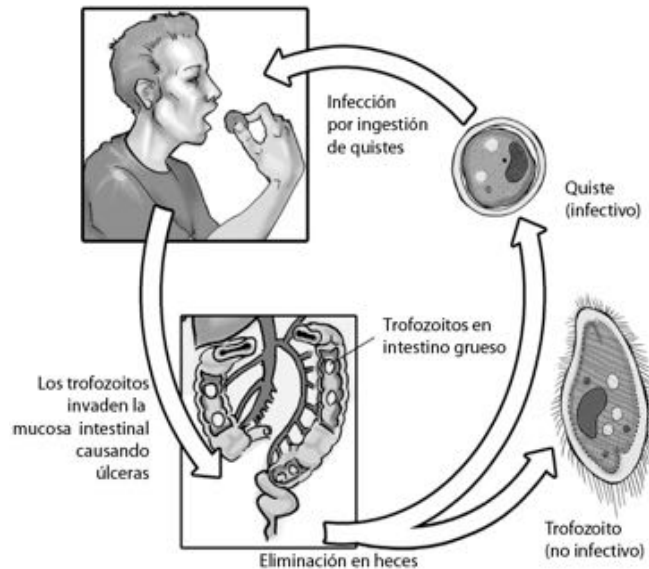


Figura 8. Ciclo biológico de *B. coli* (Bogitsh *et al.*, 2013).

En humanos este parásito puede originar infecciones agudas y crónicas que se manifiestan de forma esporádica o como epidemias (Walzer y Healy, 1982; WHO, 1990; Cooper y Guderian, 1994; Yuezhong *et al.*, 1995). La enfermedad puede cursar de forma asintomática o provocar una disentería similar a la provocada por la amebiasis (Esteban *et al.*, 1998; Owen, 2005; Schuster y Ramírez-Ávila, 2008). La acción patógena del parásito depende de la dosis infectiva y de factores propios del hospedador, afectando en mayor medida a pacientes inmunodeprimidos, con mala condición corporal, malnutrición o que presenten infecciones concomitantes con otros patógenos. La sintomatología consiste en diarrea que en casos graves puede llegar a ser hemorrágica, con perforación intestinal y peritonitis (Arean y Koppisch, 1956; Schuster y Ramírez-Ávila, 2008).

El diagnóstico en pacientes humanos se realiza identificando los trofozoítos en las heces del paciente, ya que es el único protozoo ciliado que se puede encontrar. De forma más frecuente se realiza identificando los quistes fecales, según determinados criterios morfológicos (Bogitsh *et al.*, 2013).

1.3.1.2. Isosporiasis

Isoospora belli, el agente causal de la isosporiasis en humanos, es endémico en Latinoamérica, el Caribe, África y el Sudeste de Asia. La fase infectiva es el ooquiste esporulado que contiene dos esporoquistes, cada uno de ellos con cuatro esporozoítos. Al colonizar, ataca el epitelio del intestino delgado, provocando diarrea, que suele ser moderada en pacientes sanos. Sin embargo, en individuos inmunocomprometidos la infección puede amenazar la supervivencia del paciente, provocando fiebre alta y diarrea severa. Otra especie, *I. hominis*, se ha implicado en casos de isosporiasis humana (Bogitsh *et al.*, 2013).

1.3.1.3. Giardiasis

La giardiasis es una protozoosis zoonótica y es la enfermedad parasitaria más frecuente en personas (Furness *et al.*, 2000). Afecta principalmente a niños de entre seis y diez años (Owen, 2005), pero también se ha descrito en jóvenes y en adultos. Su prevalencia en países desarrollados es de entre el 2 y el 7%, mientras que en países en vías de desarrollo es de un 20 al 30%, debido a la contaminación del agua y los alimentos (Savioli *et al.*, 2006). Es común hasta un 23% en turistas, recibiendo el nombre de “Enfermedad del mochilero”, dada la frecuencia con la que afecta a turistas, ecoturistas y campistas (Janovy y Roberts, 2004).

La presencia de *Giardia* spp. en fauna silvestre se considera de importancia si puede afectar a la salud humana o contaminar los cultivos (Appelbee *et al.*, 2005), de hecho, se ha observado que la prevalencia de este parásito en gorilas de montaña (*Gorilla beringei beringei*) y macaco rhesus (*Macaca mulatta*), habituados o en contacto con el humano de forma habitual, es sensiblemente mayor que en individuos no habituados o silvestres (Nizeyi *et al.*, 1999; Ye *et al.*, 2012). En el caso de primates en cautividad se han observado altas prevalencias de este parásito (40%) (Levecke *et al.*, 2007). También es un parásito muy común en animales domésticos y silvestres por lo que su potencial zoonótico es importante (Feng y Xiao, 2011). Por tanto, el aspecto más destacado de la epidemiología de *Giardia* spp. es el rango de hospedadores al que parasita, así como la posibilidad de transmisión entre especies (Feng y Xiao, 2011).

La giardiasis es provocada por el protozoo flagelado *G. duodenalis* (Patz *et al.*, 2000; Bogitsh *et al.*, 2013).

Su ciclo biológico es directo (figura 9) (Huang y White, 2006). El trofozoíto se divide por fisión longitudinal, durante la cual, sus organelas comienzan su división en un orden determinado, primero el núcleo, posteriormente el disco adhesivo y finalmente el citoplasma. La infección se provoca por la ingestión de quistes del parásito, que se desenquistan en la zona proximal del intestino delgado, pudiendo invadir la mucosa del duodeno y el epitelio del conducto colédoco y vesícula biliar. El parásito podrá fijarse a las células epiteliales mediante el disco adhesivo o nadar en el lumen mediante los flagelos. Cuando los trofozoítos llegan al colon se enquistan para dar lugar a quistes de 11 µm de diámetro que presentan dos núcleos y gránulos refringentes, que serán eliminados al ambiente, siendo inmediatamente infectivos, y que por tanto, constituyen la forma infectiva del parásito (Huang y White, 2006; Bogitsh *et al.*, 2013). Los quistes presentan una importante resistencia al ambiente permaneciendo infectivos durante meses en zonas húmedas y frías. También se ha comprobado que en el agua de bebida pueden permanecer infectivos entre 15 días y dos meses, dependiendo de la temperatura del agua (Erickson y Ortega, 2006).

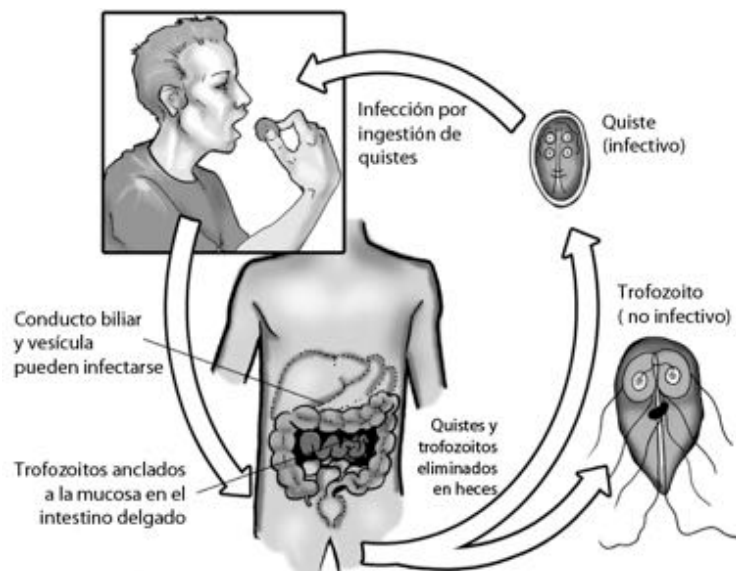


Figura 9. Ciclo biológico de *G. duodenalis* (Bogitsh *et al.*, 2013).

En cuanto a la patogenia que provoca el trofozoíto, el efecto mecánico del disco adhesivo sobre el epitelio provoca acortamiento del borde en cepillo, inflamación de la lámina propia y lesiones en las células de la mucosa intestinal. Del mismo modo, afecta a las células epiteliales del conducto colédoco. Además, el parásito produce un síndrome de

malabsorción al reducirse la absorción de grasas, carotenos, vitamina B12 y folatos. También se produce la disminución de la secreción de enzimas digestivas intestinales (Bogitsh *et al.*, 2013).

La sintomatología consiste en: dolor abdominal, esteatorrea, diarrea, náuseas, flatulencias y pérdida de peso. La afección de la vesícula biliar y/o el conducto colédoco puede provocar dolor cólico (Bogitsh *et al.*, 2013; Feng y Xiao, 2011). Además, ocurren a menudo infecciones asintomáticas principalmente en países desarrollados (Hellard *et al.*, 2000; Thompson, 2000).

El diagnóstico se realiza mediante la identificación de los quistes del parásito en las heces del paciente. Las técnicas directas se pueden utilizar como método de diagnóstico inicial, pero se recomiendan técnicas de concentración para su confirmación. Además, la observación de los trofozoítos puede ser complicada debido a la dificultad para fijar la muestras diarreicas (Bogitsh *et al.*, 2013).

1.3.1.4. Amebiasis

Entamoeba histolytica es, sin duda, la ameba más conocida que parasita a humanos, es el agente causal de la disentería o amebiasis. Se descubrió en Rusia en 1875, su distribución es global, aunque su prevalencia varía según la zona. Es importante destacar que la amebiasis no se limita a las zonas tropicales o sub-tropicales, también se encuentra en zonas de climas templados o incluso en las zonas ártica y antártica (Janovy y Roberts, 2004).

E. histolytica infecta cientos de millones de personas anualmente. La mayoría sufren una infección asintomática que perpetua el ciclo del parásito, mientras que otros (cincuenta millones aproximadamente) desarrollan una enfermedad invasiva que lleva a la muerte a cien mil personas al año (Stauffer y Ravdin, 2003; Ximénez *et al.*, 2009). Existen grupos de humanos más susceptibles a la infección, como los niños o los enfermos mentales ingresados en instituciones hospitalarias (Bogitsh *et al.*, 2013).

Esta ameba se aísla de forma habitual en heces de primates. Un estudio de 2007 en el que se analizaron 222 muestras de heces primates mantenidos en cautividad en Bélgica, halló una prevalencia de esta ameba del 41% (Levecke *et al.*, 2007). Estudios moleculares

muestran diferencias genéticas entre las variantes humanas y las de los primates (Suzuki *et al.*, 2007; Tachibana *et al.*, 2007; Takano *et al.*, 2007) y aunque estos datos pueden ayudar a dilucidar su potencial zoonótico, aún se dispone de poca información al respecto (Levecke, 2010).

Su ciclo biológico es directo (figura 10). Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria en el colon del hospedador. Ante condiciones fisiológicas o ambientales adversas los trofozoítos sufren un proceso de preenquistamiento durante el cual contraen sus vacuolas, reducen su tamaño y adquieren una morfología esférica. Esta fase se considera enquistada cuando excreta una membrana hialina que le confiere resistencia al ambiente y que será la forma infectiva de la ameba. El núcleo en el quiste sufre hasta dos mitosis para dar como máximo cuatro núcleos, característica fundamental para diferenciar distintas especies del mismo género. La resistencia al ambiente del quiste depende del ambiente. En heces o ambientes secos resiste viable hasta 12 días, mientras que en agua resiste hasta un mes. Cuando los quistes son ingeridos por el hospedador, estos resisten el ambiente adverso del estómago gracias a su cubierta hialina y se desenquistan en el íleon del hospedador, rápidamente los cuatro núcleos sufren una nueva mitosis para liberarse ocho trofozoítos que se asentarán en la mucosa del colon mediante un mecanismo de reconocimiento de las células epiteliales por parte del protozoo (Bogitsh *et al.*, 2013). La vía habitual de infección es la ingestión de quistes a partir de manos, comida o agua contaminada, por lo que su presencia aumenta considerablemente en zonas densamente pobladas donde el contacto con personas infectadas es más probable. Las guarderías y centros sociales son, por tanto, lugares que facilitan la transmisión de este parásito (Markell, 1998).

Una vez ocurre la fisión binaria del trofozoíto tetranucleado, los trofozoítos inmaduros sufren un proceso de maduración, optando por atravesar la pared del intestino grueso si secreta amebopora tipo A (forma invasiva) o por mantenerse en el lumen intestinal (forma no invasiva). La patogenia derivada será distinta, ya que la forma invasiva provocará abscesos en hígado, pulmones, cerebro y otros órganos, mientras que la forma no invasiva se limitará a provocar ulceraciones en la pared intestinal (Janovy y Roberts, 2004).

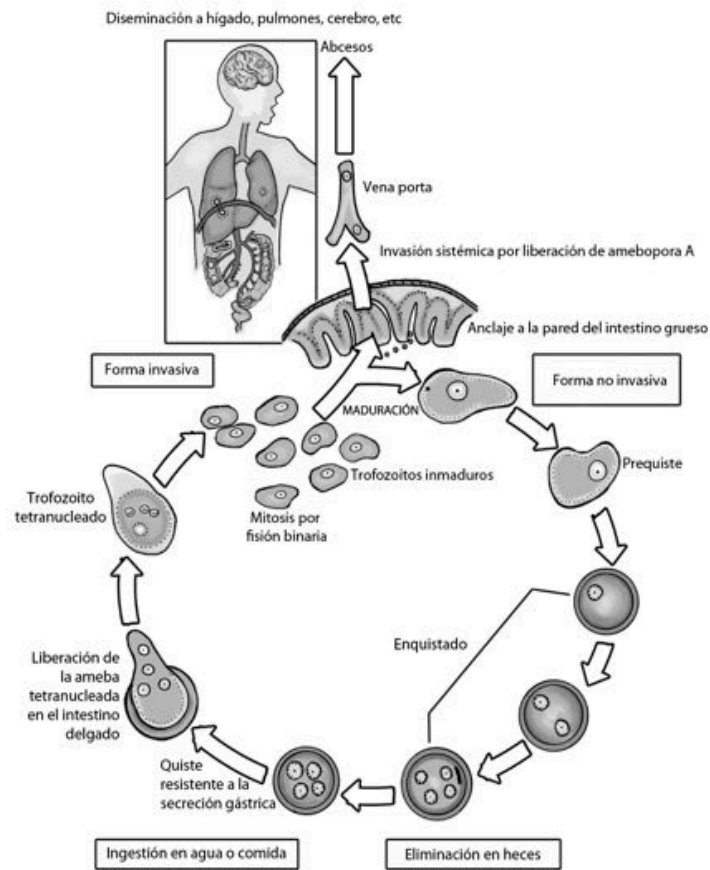


Figura 10. Ciclo biológico de *E. histolytica* (Bogitsh *et al.*, 2013).

La patogenia de esta ameba está provocada por los enzimas (ameboporas) que secretan los trofozoítos una vez anclados al epitelio intestinal. Las ameboporas B y C lisan bacterias y glóbulos rojos cuyos restos son ingeridos por la ameba y almacenados en las vacuolas, mientras que la amebopora A, como ya se ha comentado, está relacionada con la diseminación al hígado del parásito donde provoca hepatitis y abscesos. Ambos procesos líticos afectan a la mucosa intestinal causando colitis y ulceraciones que posteriormente cicatrizan dejando secuelas fibróticas. Además del hígado otros órganos como la piel, pulmón, corazón, cerebro y gónadas pueden verse afectadas por la amebiasis secundaria, que es como se define cuando hay diseminación de la ameba desde el intestino a otros órganos (Bogitsh *et al.*, 2013).

La sintomatología de la amebiasis es muy variable, depende de la localización y la intensidad de la infección. No se conocen aún las razones por las que la infección desarrolla o no sintomatología en el hombre. Los humanos que viven en zonas templadas tienden a desarrollar la infección asintomática, mientras que los que viven en zonas tropicales o subtropicales tienden a desarrollar la infección sintomática. La sintomática se define como

amebiasis aguda intestinal y se caracteriza por cursar con colitis, diarrea mucosa y hemorrágica, fiebre y se desarrolla entre una y cuatro semanas post-infección. La mortalidad de este cuadro está asociada a la diseminación del parásito desde el intestino hacia otros órganos, principalmente el hígado. La infección asintomática no presenta sintomatología, pero estos pacientes eliminan quistes que promueven la propagación del parásito (Janovy y Roberts, 2004).

El diagnóstico mediante la identificación de las formas parasitarias en heces debe llevarse a cabo empleando técnicas directas y de concentración, como flotación con sulfato de zinc y/o sedimentación con formalina y acetato de etilo. Se recomienda la combinación de varias técnicas en muestras seriadas para un diagnóstico más preciso. La imposibilidad de diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar* (que no es patógena) por métodos microscópicos, exige el uso de técnicas de diagnóstico avanzado mediante ELISA o PCR (Becerril, 2008).

1.3.1.5. Strongiloidosis

La strongiloidosis es una enfermedad parasitaria zoonótica provocada por especies del género *Strongyloides*. Se estima que afecta mundialmente a entre 100 y 200 millones de personas. Los climas cálidos, húmedos y hábitos higiénicos pobres fomentan su prevalencia (Elliott *et al.*, 2007; Bogitsh *et al.*, 2013). *S. stercoralis* y *S. fülleborni* son las especies que se han encontrado afectando al hombre (Bethony *et al.*, 2006). El aumento de casos provenientes principalmente de inmigrantes, refugiados y viajeros en países desarrollados amenaza con constituir una nueva enfermedad emergente (Marcos *et al.*, 2008). Los primates son considerados como el principal reservorio de este parásito (Kouassi *et al.*, 2015).

S. stercoralis y *S. fülleborni* han sido descritos en numerosas especies de primates: en Sudamérica en monos patas (*Erithrocebus patas*) (Harper *et al.*, 1982) y en África en chimpancés (Krief *et al.*, 2005), mono vervet (Kooriyama *et al.*, 2012), etc. En centros de investigación se ha encontrado una prevalencia de hasta un 23% en primates (Flynn, 2007).

El ciclo biológico consiste en una fase externa de vida libre y otra parasitaria (figura 11). Las hembras adultas 25 a 30 días después de anclarse a la mucosa intestinal del hospedador, ponen huevos embrionados de los que eclosiona una larva rhabditoidea no infectiva. Esta larva sufrirá dos mudas hasta llegar a la forma filariforme que es la larva

infectiva realizando el ciclo homogónico cuando encuentre condiciones desfavorables en el ambiente. En el caso de encontrar condiciones favorables estas larvas no infectivas seguirán el ciclo heterogónico, mediante el cual mudarán cuatro veces desarrollándose a adultos macho o hembra que se reproducirán en el ambiente. Las hembras adultas de vida libre pondrán huevos larvados de los que eclosionarán larvas rhabditoideas, las cuales, dependiendo de si las condiciones ambientales son favorables o no, seguirán el ciclo heterogónico u homogónico, respectivamente. La larva infectiva filariforme resultante de ambos ciclos, penetra la piel del humano directamente (normalmente en pies y manos) o bien es ingerida en agua y/o comida contaminada. Cuando la larva penetra vía percutánea la piel del hospedador, es transportada vía hemática o linfática a los pulmones donde migra desde los capilares al espacio alveolar. Posteriormente, con los esputos, las larvas son transportadas hasta la faringe para ser deglutidas hacia el sistema digestivo. Una vez allí, alcanzan el sistema digestivo y se desarrollan a hembras adultas en el intestino delgado anclándose en su localización final a la mucosa y submucosa del hospedador, donde ponen los huevos. Parte de los huevos se retienen en la submucosa del intestino, llegando a eclosionar y por tanto liberando la larva rhabditoidea que se eliminará en las heces. Si las larvas rhabditoideas permanecen suficiente tiempo en el intestino sufrirán las dos mudas necesarias para llegar a la forma filariforme infectiva y volverán a penetrar en la mucosa intestinal o por la piel perianal del hospedador en el momento de la defecación, provocando autoinfección del hospedador. Este ciclo se ve modificado cuando las larvas filariformes infectantes son ingeridas directamente, por lo que no se realizará la fase de entrada percutánea y la migración vascular-pulmonar (Greiner *et al.*, 2008).

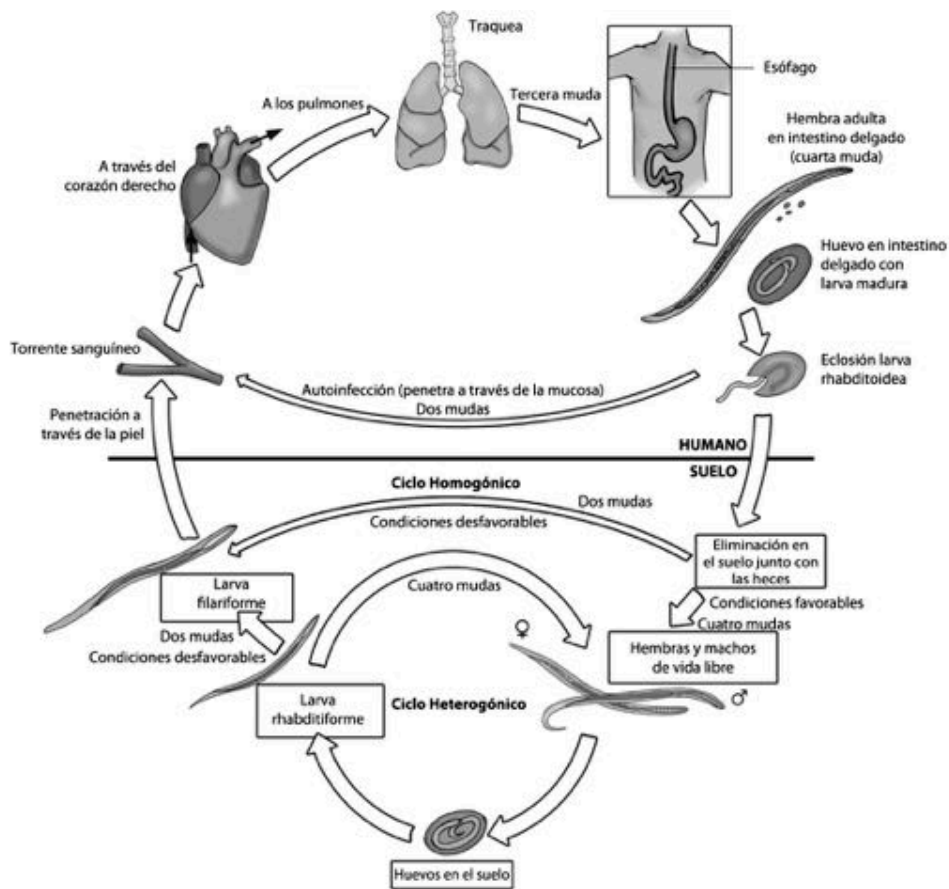


Figura 11. Ciclo biológico del género *Strongyloides* (Bogitsh *et al.*, 2013).

En humanos, la estrogiloidosis puede consistir desde una infección leve asintomática hasta una infección letal. Debido a esto, se diferencian cinco presentaciones clínicas: infección pulmonar aguda, infección intestinal crónica, autoinfección asintomática, autoinfección sintomática y síndrome de hiperinfección con diseminación (Gotuzzo *et al.*, 1999; Terashima *et al.*, 1999; Marcos *et al.*, 2008). La infección aguda pulmonar es muy poco frecuente, centrándose en síntomas respiratorios provocados por la migración larvaria. La infección crónica intestinal es frecuente en zonas endémicas, afectando a inmigrantes, refugiados y viajeros, los cuales perpetúan el ciclo biológico del parásito al ser asintomáticos. La autoinfección asintomática ocurre en zonas endémicas afectando a personas inmunocomprometidas. Estos pacientes debido a su estatus inmunitario permiten la autoinfección continua por parte del parásito. El síndrome de hiperinfección con diseminación ocurre en pacientes inmunodeprimidos de forma iatrogénica (tratamientos con corticoides, quimioterápicos, enfermos de diabetes, SIDA, pacientes con linfoma y trasplantados) o en niños malnutridos. Esta última forma es la que más mortalidad provoca (15 - 87%), ya que se produce una rápida autoinfección con sintomatología grave (Vadlamudi

et al., 2006; Marcos *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2012). Otros estudios otorgan la causa de la mortalidad a la sepsis bacteriana facilitada por la agresión que provoca el parásito en el intestino (Cabral *et al.*, 2015), y otros autores relacionan la gravedad de la infección con los ciclos de autoinfección y la asociación de estos ciclos a colitis, úlceras digestivas o perforación intestinal (Greiner *et al.*, 2008).

La sintomatología de las estrogiloidosis es variable. En zonas endémicas la mayoría de los casos son crónicos y cursan asintomáticos cuando el sistema inmune es competente o únicamente demuestran eosinofilia. Los casos complicados se deben al alto número de parásitos presentes en la piel, pulmones o sistema digestivo. En la piel se pueden encontrar los puntos de entrada causados por la larva que migra a través de ella provocando urticaria y eritemas; este fenómeno se denomina *larva migrans*. La *larva migrans* se observa mayoritariamente en la piel de las nalgas, ingles y tronco, en vez de en las extremidades. Las erupciones se encuentran principalmente en la zona perianal donde comienza el ciclo externo de la autoinfección. La migración larvaria a través de los pulmones origina toses, disnea y dificultad al respirar, síntomas que pueden llevar al diagnóstico erróneo de asma y tratamiento innecesario con corticoides, lo que agrava el cuadro clínico. En cuanto a las afecciones digestivas se ha descrito dolor abdominal junto con náuseas, diarrea, anorexia y sensación de hinchazón abdominal (Zeibig, 2014).

El diagnóstico coprológico se puede realizar mediante técnicas coprológicas directas en los casos de infección masiva o con sedimentación mediante formalina y acetato de etilo en casos donde la excreción de huevos y larvas es menor (Greiner *et al.*, 2008).

1.3.1.6 Otras

Otras dos parasitosis zoonóticas de los primates y el hombre son la ascariasis y la oesofagostomiasis.

La ascariasis es una nematodosis producida por el verme más grande descrito en el humano: *Ascaris lumbricoides/suum*. Distribuido de forma mundial, estimándose un millón de infecciones, es por tanto el nematodo que más humanos infecta. Su prevalencia es mayor en climas templados y es más frecuente en niños de cinco a nueve años ya que es la población más expuesta a suelos contaminados y aún no aplican por sí mismos medidas de higiene. Este parásito ha sido ampliamente descrito en diferentes especies de primates,

como por ejemplo, colobos (Gillespie y Chapman, 2008), tamarinos (Wenz *et al.*, 2010), orangutanes (Mul *et al.*, 2007), chimpancés y babuinos (Howells *et al.*, 2011). Su ciclo biológico es directo, los adultos copulan en el intestino delgado y las hembras eliminan huevos fertilizados y no fertilizados, los huevos fertilizados una vez en el ambiente con condiciones de temperatura favorables (25 – 16 °C) desarrollan una larva en su interior (L1). Este huevo con la larva L1 en su interior desarrolla la segunda fase larvaria (L2), el cual es ingerido y eclosiona en el duodeno, donde la larva penetrará la mucosa para realizar una migración al hígado y a través del sistema porta y circulatorio a los pulmones. Durante este proceso mudará dos veces para llegar a L4 en los alveolos pulmonares, desde donde será tosida y deglutida de nuevo para llegar al intestino delgado donde se desarrollarán los adultos (figura 12). El diagnóstico de este parásito se realiza mediante la observación en heces de sus huevos característicos gracias a métodos coprológicos (Bogitsh *et al.*, 2013).

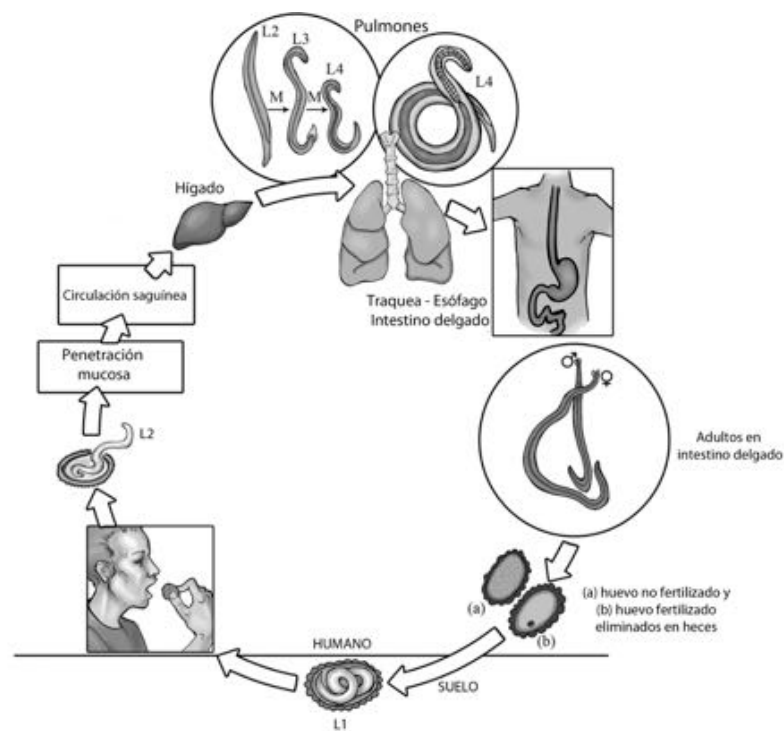


Figura 12. Ciclo biológico de *Ascaris sp.* (Bogitsh *et al.*, 2013).

La oesofagostomiasis humana es una enfermedad rara, ya que sus hospedadores habituales son suidos, primates y rumiantes. Está provocada por *Oesophagostomum bifurcum* (Polderman y Blotkamp, 1995; Pit *et al.*, 1999; Yelifari *et al.*, 2005). Se ha descrito en numerosas especies de primates como babuinos y samangos (Munene *et al.*, 1998), macaco japonés (*Macaca fuscata*) (Gotoh, 2000), mono vervet (Legesse y Erko, 2004) y chimpancé (Krief *et al.*, 2005). El ciclo biológico es indirecto, el huevo morulado una vez en

el ambiente desarrolla una larva que eclosiona y muda dos veces para formar la larva L3 infectiva, que será ingerida junto con vegetales y comida contaminada. Una vez la fase larvaria de tercer estadio llega al ciego invade la mucosa donde muda a L4, la cual se desarrolla como adulto al volver a emerger a la luz del ciego y colon (Polderman y Blotkamp, 1995; Flynn, 2007). La patogenia en el humano se relaciona con la invasión de la mucosa del ciego y el colon por parte de la L3 para mudar a L4, la reacción inmunitaria del hospedador forma nódulos parasitarios e incluso abscesos que pueden provocar dolor abdominal, oclusión intestinal o incluso peritonitis. El diagnóstico se realiza mediante la observación de los huevos en las heces de los pacientes observados. Para la diferenciación de la especie se requiere de un cultivo de heces que permita la caracterización morfológica de las larvas, ya que los huevos son indistinguibles de otras especies de estrongilados (Polderman y Blotkamp, 1995).

1.3.2. Zoonosis hemáticas

1.3.2.1. Malaria

La malaria es una enfermedad parasitaria provocada por cinco especies del género protozooario *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*).

Los parásitos causantes de la malaria se integran dentro del phylum Apicomplexa ya que presentan una estructura peculiar denominada complejo apical. Éste es un complejo de organelas localizadas en el polo anterior de los merozoítos y esporozoítos (Bogitsh *et al.*, 2013).

Se ha establecido un ciclo biológico común a las cuatro especies de *Plasmodium* más habituales de humanos (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* y *P. ovale*) (figura 13). Los hospedadores de estos cuatro protozoos son el humano y el mosquito hembra del género *Anopheles* que actúa como vector al hombre. La fase asexual del ciclo biológico ocurre en el humano, mientras que la fase sexual tiene lugar en el mosquito. La fase infectiva para el humano son los esporozoítos, finos y ovalados, de 10 a 55 µm de largo por 1 µm de diámetro. Éstos se acumulan en la saliva del mosquito siendo inoculados al torrente sanguíneo del humano en el momento de la alimentación. Desaparecen de la circulación periférica una hora después de la infección para reaparecer 24 a 48 horas más tarde en el

parénquima hepático donde empieza la fase esquizogónica exoeritrocitaria. La relación específica entre los hepatocitos y los esporozoítos se puede explicar por el reconocimiento que realizan receptores de la membrana de los hepatocitos de la cubierta de los esporozoítos, aunque también se ha demostrado que los propios esporozoítos actúan activamente en este proceso mediante la liberación de moléculas activas de superficie (White y Krishna, 1989). Como resultado de esta interacción, la membrana de la célula hospedadora se agranda para formar una vacuola parasitaria que envolverá al esporozoíto. Una vez en el interior del hepatocito el esporozoíto se desarrolla a trofozoíto alimentándose del citoplasma del hepatocito. Después de una o dos semanas el trofozoíto sufre varias multiplicaciones dando lugar a numerosos merozoítos, los cuales miden aproximadamente 2,5 μm de longitud por 1,5 μm de diámetro. Los merozoítos provocan la ruptura de la membrana del hepatocito siendo liberados a la circulación sistémica. De ese modo, los merozoítos invaden los eritrocitos del hospedador, iniciándose la fase esquizogónica intraeritrocitaria. La invasión del eritrocito se desencadena mediante un proceso que involucra el reconocimiento recíproco entre ambas partes. Por ello, se han descrito determinadas poblaciones humanas resistentes a ciertas especies de *Plasmodium*, ya que sus eritrocitos carecen de determinados receptores de membrana, lo que imposibilita este mecanismo (White y Krishna, 1989; Gravenor *et al.*, 1998). En el interior del eritrocito el merozoíto se desarrolla a trofozoíto temprano, mostrando una forma de anillo citoplasmático con un núcleo en forma de punto. Debido a esta morfología característica esta fase del ciclo biológico se denomina fase anular o de anillo, aunque realmente la forma del trofozoíto es de copa y en su interior se encuentra hemoglobina en distintas fases de digestión. Esta fase resulta en la formación de un trofozoíto maduro que sufre diversas multiplicaciones para dar lugar a esquizontes que se transformarán en merozoítos, que de nuevo desencadenan la fase esquizogónica eritrocitaria, o en la formación de gametocitos, siendo microgameto el masculino y macrogameto el femenino. Los factores que determinan el desarrollo de una de las dos vías son aún desconocidos (Miller *et al.*, 2002). Son las hembras de mosquito *Anopheles* spp. las que continuarán el ciclo de vida del parásito por ingerir estos gametocitos al alimentarse de un humano infectado. Estos gametocitos quedarán libres en el lumen del estómago del mosquito, donde los microgametocitos sufrirán un proceso de maduración conocido como exflagelación, durante el cual sufrirán tres mitosis, dando lugar a seis u ocho núcleos que migrarán a la periferia del microgametocito. Estos núcleos junto con una porción de citoplasma formarán los microgametos masculinos maduros. En el caso de los macrogametocitos, formarán una

membrana de fertilización en su superficie, pasando entonces a considerarse macrogametos femeninos, ya que esta membrana permite la entrada del microgameto masculino a su interior fertilizándolo. La fusión de los núcleos de los microgametos da lugar a un cigoto diploide que pasadas de 12 a 24 horas adquiere un morfología alargada pasando a denominarse ooquineto, el cual invade la mucosa del sistema digestivo del mosquito para formar un ooquiste redondeado. Este ooquiste multiplicará por cuatro o cinco su tamaño debido al desarrollo de numerosos esporoblastos en su interior. El núcleo de los esporoblastos sufrirá numerosas divisiones dando lugar a miles de esporozoítos rodeados de una cubierta de membrana procedente del esporoblasto. En un principio las membranas del esporoblasto se romperán liberando los esporozoítos en el lumen del ooquiste, y cuando la membrana del ooquiste se rompe, los esporozoítos son liberados en el hemocele del mosquito para ser transportados a las glándulas salivares donde podrán ser inoculados a otro humano en el momento de su alimentación, cerrando así el ciclo biológico (Bogitsh *et al.*, 2013).

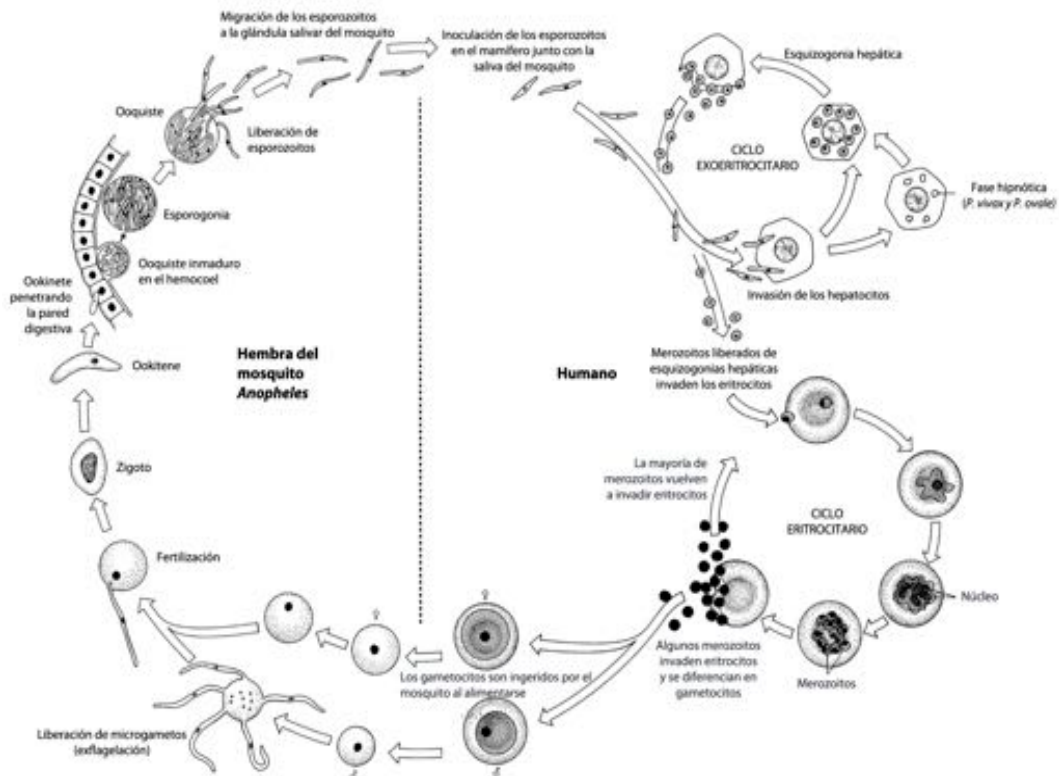


Figura 13. Ciclo biológico del género *Plasmodium* (Bogitsh *et al.*, 2013).

Esta enfermedad tiene importancia mundial, e incluso se considera que ha moldeado el desarrollo de las civilizaciones y del genotipo humano (Bogitsh *et al.*, 2013; Krief *et al.*, 2010).

Fue durante la primera mitad del siglo XX cuando se comenzaron distintas campañas de erradicación a nivel mundial de la enfermedad. En Estados Unidos y la mayoría de Europa se consiguió su erradicación como resultado del cambio del uso del suelo, de las prácticas de agricultura, de la construcción de viviendas y de las medidas de control del vector (Greenwood y Mutabingwa, 2002). En India, Sri Lanka y la Unión Soviética las actuaciones de erradicación se ciñeron al uso de un insecticida altamente efectivo (DDT, dicloro difenil tricloroetano) contra el vector del parásito. Este insecticida, en principio, demostró una alta eficacia, pero ésta no se prolongó en el tiempo ante la negativa de la población a fumigar repetidamente sus viviendas, al coste de la campaña y a la emergente resistencia del vector al DDT. En cambio, en África subsahariana no se diseñó ningún tipo de campaña de erradicación (Greenwood y Mutabingwa, 2002). A partir de los años 70 el interés por la malaria descendió notablemente durante 25 años, un claro ejemplo es que de 1223 fármacos desarrollados entre 1975 y 1996, sólo tres fueron antimaláricos (Trouiller y Olliaro, 1998).

En 1983 se estimó que 2,2 de los 4,7 mil millones de personas de la población mundial vivían en zonas en las que se habían aplicado medidas para la reducción o erradicación de la malaria, pero 400 millones seguían viviendo en zonas totalmente expuestas a la enfermedad. Particularmente, en África subsahariana, se estimaba que 373 millones de personas vivían en zona endémica de malaria y se estimaban 150 millones de casos de malaria. Aunque en 1985 se investigaron las distintas formas de continuar con la reducción de casos de malaria a través de control de vectores, tratamientos y vacunas (Bruce-Chwatt, 1985), desde que se erradicó la malaria en Europa y Estados Unidos, el nivel de inversión económica en la enfermedad descendió claramente.

En 2012, se calculaba que habían 207 millones de casos de malaria anuales (Owens, 2015). Al menos se producen un millón de muertes al año, una cada 30 segundos. De hecho, un solo niño puede verse infectado varias veces al año, aunque solo un 1 – 2% de las infecciones son fatales. Sin embargo, la resistencia a los antimaláricos y el rechazo a las transfusiones de sangre por miedo a infectarse de SIDA por parte de las poblaciones locales, provocan un incremento de las muertes en África subsahariana (Greenwood y Mutabingwa, 2002). Esta enfermedad se considera endémica en África y emergente en Latinoamérica y otras zonas tropicales (Patz *et al.*, 2000).

En el caso de África, el 90% de las muertes por malaria se producen en el África subsahariana. Existen diferencias notables de prevalencia entre países, provincias o incluso poblados distanciados por pocos kilómetros. Considerar toda África subsahariana como una zona endémica de malaria es una simplificación exagerada. Actualmente, el diseño de mapas por satélite está permitiendo dibujar mejor la extensión y prevalencia de la enfermedad. Además, conocer su impacto en la población es complicado. Muchas muertes se producen en los domicilios en ausencia de diagnóstico, sus síntomas inespecíficos pueden provocar confusión con distintas enfermedades infecciosas y solo determinados centros hospitalarios disponen de microscopios de calidad para realizar el diagnóstico (Greenwood y Mutabingwa, 2001; Owens, 2015).

En la actualidad, la situación de la enfermedad en África subsahariana ha empeorado y la mortalidad probablemente esté aumentando. Las razón fundamental es la resistencia de *P. falciparum* a antimaláricos económicos, además de la resistencia a insecticidas del vector, la influencia de la guerra en los sistemas sanitarios, los cambios medioambientales, el cambio climático y el aumento de la población. Quinientos millones de africanos están en riesgo de contraer malaria y su número aumenta, lo que hace cada vez más lejano que se pueda dedicar presupuesto suficiente para establecer un programa de erradicación. Serían necesarios dos mil millones de dólares al año, por un tiempo indefinido (Greenwood y Mutabingwa, 2002). El oportunismo que presenta el vector de la malaria (*Anopheles* spp.) le permite que cuando una especie del género se extingue por una modificación del ambiente, ésta sea sustituida por otra mejor adaptada (Patz *et al.*, 2000), lo que lleva por ejemplo a observar aumentos de los casos de malaria en zonas alteradas por la acción del hombre (García-Martín, 1972; Sawyer, 1988). Además del vector, los parásitos causantes de la enfermedad también responden rápidamente a alteraciones como la deforestación, densidad de población humana, cambios en la vegetación y en la distribución del agua (Patz *et al.*, 2000). Por ejemplo, se han observado aumentos significativos de malaria coincidiendo con variaciones en el motivo del uso de la tierra o con la creación de nuevos asentamientos humanos (Smith, 1953; Coluzzi *et al.*, 1979).

Actualmente debemos tener en cuenta que el cambio climático amenaza con promover el resurgimiento de esta enfermedad en zonas donde ha sido erradicada, a no ser que se mantengan acciones para el control del vector (Patz *et al.*, 2000), y también, se ha registrado reaparición de malaria en países donde estaba controlada debido a la reducción del gasto sanitario (Pitt *et al.*, 1998).

En un futuro próximo, se piensa que el proyecto para obtener el genoma de *Plasmodium* spp. permitirá un desarrollo más eficiente de antimaláricos y el desarrollo de vacunas (Greenwood y Mutabingwa, 2002).

Plasmodium spp. infecta a muchas especies de reptiles, aves y mamíferos. De forma clásica cuatro especies se consideran específicas del humano: *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. falciparum*, de entre las cuales *P. falciparum* se destaca como la más patógena (Volkman *et al.*, 2001). A partir de 2008 se consideró también a *P. knowlesi* como una especie de *Plasmodium* habitual del humano (Cox-Singh *et al.*, 2008). Además de estas cinco se estima que 25 especies más afectan a primates (Rich y Ayala, 2003), y algunas de éstas han demostrado su patogenicidad en el humano por infección experimental o accidental (Brown, 1967).

P. falciparum pertenece a un grupo genético denominado Laverania que afecta a grandes primates y al humano (Krief *et al.*, 2010). Mientras que las otras cuatro especies se encuentran fuera del grupo Laverania afectando a primates en general y humanos (figura 14) (Duval, 2012).

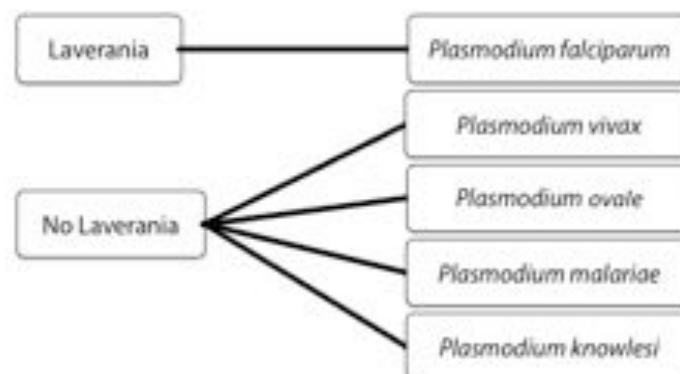


Figura 14. Procedencia genética de las especies de *Plasmodium* del humano (Duval, 2012).

Existen referencias acerca de infección en humanos con malaria procedente de primates (Fong *et al.*, 1971; Rich y Ayala, 2003; Jongwutiwes *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2004; Cox-Singh *et al.*, 2008; Luchavez *et al.*, 2008; Ng *et al.*, 2008). En el caso de *P. knowlesi*, en principio, los casos en humanos se consideraron fortuitos, pero la mejora en la diferenciación de las distintas especies de *Plasmodium* en el diagnóstico de la malaria hizo saltar las alarmas a partir de 2008 (Cox-Singh *et al.*, 2008). A partir de este estudio, se confirmó el potencial zoonótico de esta especie, e inicialmente se consideró como

enfermedad emergente para, a día de hoy, considerarse como una especie habitual que infecta al humano (Ahmed y Cox-Singh, 2015).

P. knowlesi es una especie de *Plasmodium* habitual de macacos (*Macaca* spp.) (Chin *et al.*, 1965), y su vector *A. leucosphyrus*, tiene tropismo similar hacia el humano y los primates (Collins *et al.*, 1967; Vythilingam *et al.*, 2006). La primera vez que se describió malaria humana provocada por este agente fue en 1965 en un viajero estadounidense que había viajado a Malasia (Chin *et al.*, 1965). A partir de esta fecha, excepto por un posible caso en 1970, no se volvió a describir infección por esta especie en el hombre hasta el año 2004. Fue entonces cuando, gracias a la técnica molecular de la PCR, se demostró que un 58% de los casos de malaria diagnosticados de infección de *P. malariae* habían sido provocados por *P. knowlesi* (Singh *et al.*, 2004). De hecho, en 2008 se reportaron cuatro casos mortales de malaria por esta especie que habían sido diagnosticados de *P. malariae*, error diagnóstico que provocó el fallo del tratamiento y la muerte de los pacientes. Ese mismo año se investigó mediante técnicas moleculares la presencia de *P. knowlesi* en 1.014 muestras de sangre procedente de enfermos de malaria en Indonesia y se encontró desde un 27,7% hasta un 100% de prevalencia de esta especie (Cox-Singh *et al.*, 2008).

Existen numerosas publicaciones que relacionan especies de *Plasmodium* que afectan a humanos y primates, ya sea porque se describen infecciones cruzadas o porque se determina su relación genética mediante métodos moleculares. En primates alojados en cautividad o residentes en zonas alteradas o cercanas al humano se han descrito prevalencias superiores del género *Plasmodium* (Kilbourn *et al.*, 2003; Kilbourn y Karesh, 1998; Prugnolle *et al.*, 2011). Genéticamente se ha encontrado relación entre *P. gaboni* que afecta a chimpancés y *P. falciparum* (Ollomo *et al.*, 2009). Por otro lado, morfológicamente hablando, se han encontrado relaciones entre *P. reichenowi*, *P. falciparum*, *P. schwetzi*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. rodhaini* y *P. malariae* (Coatney *et al.*, 1971; Duval *et al.*, 2009; Hayakawa *et al.*, 2009). Esto ha llevado a destacar la importancia que podrían tener los primates como reservorios del género *Plasmodium*, particularmente el mono vervet, por su distribución y nivel de conflicto con el humano (Johnson-Delaney, 2009).

Se debe destacar que las especies de *Plasmodium* pueden mostrar distintos comportamientos dependiendo de a qué especie de primate afecten, provocando desde infecciones de baja parasitemia y leve patogenicidad, hasta infecciones letales asociadas con

alta parasitemia (Singh *et al.*, 2004). Este hecho dificulta el diagnóstico de la enfermedad en los primates.

Según se realizan más estudios genéticos de las especies de *Plasmodium* que afectan a los primates, se descubren nuevas especies, así como nuevas relaciones de especies típicamente humanas con otras típicamente de primates, o se descubren primates infectados por especies típicamente humanas. Indudablemente, el diagnóstico mediante métodos moleculares y genotipado de los hallazgos, ofrecerá en un futuro una valiosa fuente de información (Prugnolle *et al.*, 2010).

La malaria en humanos generalmente se manifiesta de dos formas, una mediada por la reacción inflamatoria que provoca el hospedador y la anemia. De las cinco especies que afectan al humano es *P. falciparum* quien muestra mayor gravedad y mortalidad (Bogitsh *et al.*, 2013).

Los síntomas iniciales de la malaria como las náuseas, dolor de cabeza, fiebre y diarrea moderada, fatiga y dolor muscular, provocan que se confunda el diagnóstico con patologías leves como gastroenteritis o gripe. La respuesta inflamatoria mediada por el hospedador se desencadena a partir de la ruptura de los glóbulos rojos, lo que libera pigmentos maláricos como la hemozoína, restos celulares y metabolitos del parásito que se incorporan al torrente sanguíneo del hospedador, provocando fiebre paroxística. Según existen más glóbulos rojos infectados liberando merozoítos, se solapan los picos de fiebre dando lugar a una hipertermia continua. Los macrófagos principalmente del hígado y bazo fagocitan estos pigmentos maláricos, llegando a teñirse estos órganos de oscuro en casos graves de malaria por *P. falciparum*. Debido a la lisis de los eritrocitos y a que el organismo no puede recuperar la hemoglobina, ya que ésta es consumida por el protozoo o a que se libera conjugada a la hemozoína, se produce la anemia (Bogitsh *et al.*, 2013).

Una alteración exclusiva de *P. falciparum*, es la obstrucción vascular. La membrana celular de los eritrocitos infectados por los esquizontes se altera adhiriéndose al endotelio vascular. Esta adhesión puede llegar a obstruir capilares de órganos incluido el cerebro, provocando hipoxia y lesiones irreversibles (Gravenor *et al.*, 1998). Otra característica casi exclusiva de esta especie es el desarrollo de la “Fiebre de la orina negra” (“Blackwater fever”), que toma su nombre por la tinción de negro de la orina de los pacientes debido a la alta cantidad de hemoglobina presente en ella a causa de la lisis eritrocitaria. Además de la hemoglobinuria, esta fiebre se caracteriza por asociarse a vómitos hemorrágicos y fallo

renal. No se conoce exactamente por qué se desencadena este cuadro grave, pero se ha relacionado con un proceso autoinmune que produce anticuerpos antieritrocitarios (Bogitsh *et al.*, 2013).

Ya en la década de los años 40 se estableció que el diagnóstico más fiable para la malaria es la identificación microscópica y cuantificación de las formas parasitarias en extensiones sanguíneas. Este método diagnóstico añade una ventaja que es la valoración de la gravedad de la infección, ya que en el humano, un número mayor de parásitos se asocia a mayor gravedad de la enfermedad, pero se debe tener en cuenta que la presencia de formas parasitarias en el torrente sanguíneo es variable y es posible la existencia de infecciones de baja parasitemia. Ello puede dar lugar a una valoración errónea de la gravedad de la infección (Field y Niven, 1937; Field, 1949; Trape, 1985).

Como consecuencia de este problema, en la década de los 80 se comenzaron a realizar estudios para valorar la fiabilidad de las técnicas de identificación del parásito en sangre, determinándose que la técnica de la gota gruesa tenía entre 1,4 y 5 veces mayor sensibilidad que el frotis sanguíneo, según la especie de *Plasmodium* estudiada (Trape, 1985).

En 2008, y gracias al uso de técnicas moleculares como la PCR, se comenzaron a diagnosticar casos de malaria de la especie *P. knowlesi* en pacientes que no respondían adecuadamente al tratamiento convencional, pero en los que se había realizado una identificación microscópica de formas parasitarias compatibles con *Plasmodium* spp. en sangre (Kantele *et al.*, 2008). De hecho, ya en 1967 Brown destacaba la dificultad de diferenciar morfológicamente ciertas especies de *Plasmodium* mediante microscopía convencional (Brown, 1967).

En 2009, Lee y sus colaboradores demostraron que hasta un 95% de pacientes que se habían diagnosticado de infección por *P. falciparum* o *malariae*, realmente habían sido infectados por *P. knowlesi* (Lee *et al.*, 2009). Por ello, es a partir de esta fecha cuando se consideran que son cinco las especies de *Plasmodium* que afectan al humano, destacándose la importancia que tendría ampliar los estudios a los primates y determinar qué especies les infectan para posteriormente analizar su importancia en el hombre, ya que anteriormente *P. knowlesi* era considerada una especie específica del macaco japonés (Daneshvar *et al.*, 2009).

Desde que se ha empezado a utilizar la secuenciación de ADN mitocondrial de *Plasmodium* spp. y la PCR en sangre y heces para su diagnóstico en primates, se hace necesario desarrollar una nomenclatura estandarizada para investigaciones futuras, ya que se han encontrado nuevas especies e incluso especies relacionadas genéticamente con especies conocidas, pero afectando a hospedadores donde no era habitual encontrarlas (Rayner *et al.*, 2011). Secuencias genéticas de *P. falciparum* están íntimamente relacionadas con secuencias encontradas en gorilas (Prugnolle *et al.*, 2010), chimpancés (Duval *et al.*, 2010) y bonobos (Krief *et al.*, 2010). Así mismo ocurre con *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae* (Duval *et al.*, 2009; Hayakawa *et al.*, 2009; Kaiser *et al.*, 2010).

En cambio, otros autores restan importancia al hecho de encontrar dichas especies en hospedadores diferentes del hombre, ya que detectando el ADN mediante PCR solo se certifica la presencia del parásito, pero no que el parásito esté infectando a ese hospedador. Estas técnicas moleculares no son capaces de detectar la presencia de gametocitos ni por tanto la infección del hospedador y confirmar o descartar su papel como reservorio. Por todo ello, recomiendan la profundización de estos estudios en primates y la diferenciación de si actúan como hospedadores definitivos del parásito o como simples hospedadores paraténicos (Valkiūnas *et al.*, 2011). Otros autores, postulan que los primates actúan como reservorio para los parásitos humanos de malaria (Yamasaki *et al.*, 2011) y otros mediante análisis genéticos aseguran que los grandes primates que presentan parásitos relacionados genéticamente con *P. falciparum* no suponen una fuente de transmisión para los humanos, pues no han detectado una similitud genética suficiente como para relacionarlos (Sundararaman *et al.*, 2013).

Recientemente se ha destacado la importancia del desarrollo de tests de diagnóstico rápido para esta enfermedad. Se trataría de un método más económico que sí permitiría la diferenciación de las especies, evitando la dificultad y los errores del diagnóstico microscópico (Mukonka *et al.*, 2015).

1.3.3. Zoonosis causadas por ectoparásitos

1.3.3.1. Escabiosis

La escabiosis es una sarna provocada por *Sarcoptes scabiei*, que afecta a la piel de distintas especies, incluyendo la mayoría de los primates (Burkhart, 1983).

S. scabiei, es un ácaro de la familia Sarcoptidae. Esta familia se caracteriza por agrupar ácaros de movimiento lento, que son obligados a vivir parasitando animales endotérmicos y que excavan madrigueras en la epidermis del hospedador (McCarthy *et al.*, 2004). Tanto las hembras como los machos tienen un cuerpo de color crema con ocho patas marrones. Los machos suelen ser más oscuros que las hembras y las hembras con un tamaño de 0,3 – 0,5 mm de longitud por 0,3 mm de ancho son mayores que los machos, que miden 0,25 mm de largo por 0,2 mm de ancho (Walton y Currie, 2007). Las patas tanto de los machos como de las hembras son cortas y disponen de ventosas para adherirse a la epidermis del hospedador (Fleck y Moody, 1988).

Su ciclo biológico se inicia con la cópula de machos y hembras en la superficie de la piel (figura 15). Posteriormente, la hembra excava un túnel en la epidermis y deposita tres o cuatro huevos diarios. A los cuatro días eclosiona una larva que se dirige a la superficie de la piel para desarrollarse a adulto, pasando por tres fases larvarias. Los túneles de las hembras se encuentran principalmente en zonas hiperqueratóticas de los laterales de las manos y los dedos (Mumcuoglu *et al.*, 2009).

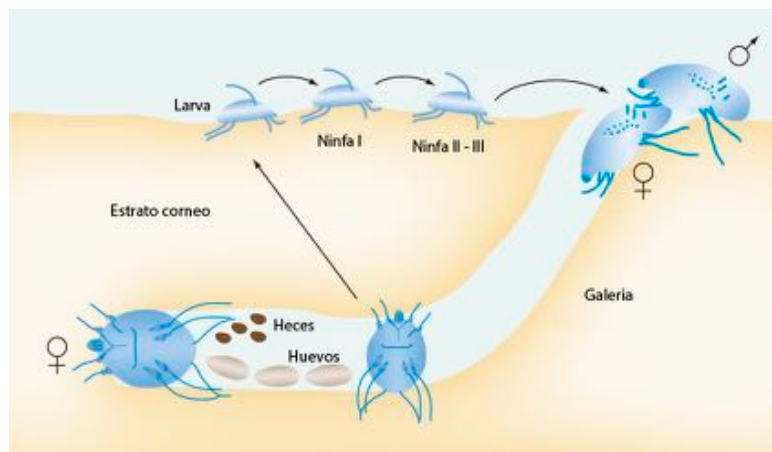


Figura 15. Ciclo biológico de *S. scabiei* (Mumcuoglu *et al.*, 2009).

Los casos de esta enfermedad en humanos han ido aumentando desde los años 60 (Gratz, 1998) y se estima que puede haber unos 300 millones de afectados a día de hoy (Orion *et al.*, 2004; Hengge *et al.*, 2006). Este ácaro es muy contagioso, sin ser necesario el contacto directo para su transmisión (Burkhart, 1983).

Esta enfermedad es endémica en África, Egipto, Sudamérica, norte y centro de Australia, Caribe, India y sudeste de Asia (Mumcuoglu *et al.*, 2009). La escabiosis es el mayor problema dermatológico de Tanzania, afectando por lo menos a un 31% de la población (Masawe y Nsanzumuhire, 1975). La alta prevalencia del parásito se achaca a la higiene deficiente y a la sobrepoblación con contacto cercano (Masawe y Nsanzumuhire, 1975; Henderson, 1996).

Es una enfermedad con importancia en la salud pública que tiende a presentarse en forma de brotes epidémicos y endémicos, afectando a todas las clases socioeconómicas y razas (Heukelbach y Feldmeier, 2006). Los brotes epidémicos en países industrializados suelen presentarse en escuelas, guarderías, hospitales y prisiones (Hengge *et al.*, 2006), siendo más común en niños y adolescentes (Walton y Currie, 2007).

Todas las especies de primates son sensibles a su infección y se han observado casos graves como la muerte de un gorila de montaña (Macfie, 1996).

Se considera que es necesario un contacto estrecho para la transmisión de este ácaro (Mumcuoglu *et al.*, 2009), ya que la vida media del parásito fuera de la superficie de la piel no supera los tres días (Burkhart, 1983). Aún así, se ha demostrado su transmisión por fómites a través de toallas, camas o ropa; lo que cobra importancia en el trabajo de campo o directo con primates (Wallis y Lee, 1999).

La patogenia de esta enfermedad es causada por una reacción de hipersensibilidad tipo IV al ácaro, su saliva, heces y/o excrementos. Esto provoca un desorden intensamente prurítico que comienza tres o cuatro semanas después del contagio (Hengge *et al.*, 2006; Mumcuoglu *et al.*, 2009). El prurito es principalmente nocturno y visualmente se observan túneles y pápulas localizadas en los espacios interdigitales de las manos, codos, axilas, ombligo, genitales, muñecas, ingles, pezones y nalgas (Hengge *et al.*, 2006).

La escabiosis nodular se presenta en un 7% de los enfermos y se caracteriza por desarrollar nódulos intensamente pruríticos de 2 a 20 mm de diámetro, normalmente

localizados en axilas, pene, nalgas e ingles (Mumcuoglu *et al.*, 2009; Orrico y Krause-Parello, 2010).

El diagnóstico se realiza habitualmente por raspados de piel e identificación de los ácaros mediante métodos de microscopía óptica. A veces son necesarios varios raspados procedentes del mismo paciente, ya que hay madrigueras en zonas lesionadas que pueden estar vacías y dar lugar a falsos negativos. Se ha intentado desarrollar un test ELISA para su diagnóstico, pero aún no ha sido posible por impedimentos como no tener un modelo animal de la enfermedad, ni un medio de cultivo in vitro del ácaro (Hengge *et al.*, 2006).

1.2.3.2. Rickettsiosis

En el África subsahariana es habitual la presencia de garrapatas del género *Amblyomma*, el cual está relacionado con la transmisión de la bacteria *Rickettsia africae*. En Sudáfrica en particular la especie presente es *Amblyomma hebraeum* (figura 16) (Jensenius *et al.*, 2003).



Figura 16. Distribución del género *Amblyomma* en África (Okabayashi *et al.*, 1999).

Esta especie del género *Amblyomma* se caracteriza por presentar unas características peculiares en su comportamiento. Es un parásito de comportamiento

agresivo, que busca activamente el contacto con el hospedador y provoca a menudo varias picaduras sobre el mismo individuo e incluso ataques de varias garrapatas a un único animal o persona. El hospedador habitual de esta garrapata es el ganado, aunque también se ha descrito en pequeños mamíferos y ungulados silvestres. Su comportamiento agresivo hace que se observen picaduras en personas que simplemente han paseado por zonas de pasto de ganado, realizado algún safari caminando o estado en contacto con algún animal silvestre (Jensenius *et al.*, 2003).

Las enfermedades zoonóticas o propias del hombre transmitidas por garrapatas constituyen un enorme impacto negativo sobre la economía y la salud. En estudios sobre la presencia de esta bacteria en garrapatas muestreadas cerca de zonas pobladas por humanos, se ha descrito una prevalencia de un 39,8%, la mayoría infectadas por *R. africae*, patógeno responsable de la "African tick bite fever" o rickettsiosis (Nakayima *et al.*, 2014). Los factores de riesgo para humanos en cuanto a ser infectado por *R. africae* por picadura de estas garrapatas son: viajar a Sudáfrica (donde es endémica), especialmente entre noviembre y abril (que son las fechas de mayor actividad del vector), y estar expuesto a vegetación densa o grandes ungulados. En ciertas zonas se considera que es cinco veces más probable adquirir rickettsiosis que malaria y otros estudios han demostrado hasta un 11% de prevalencia de anticuerpos de rickettsiosis en viajeros europeos (Jensenius *et al.*, 2003, 2004).

Esta enfermedad ha sido diagnosticada en distintos tipos de desplazados: trabajadores, turistas, cazadores, estudiantes, equipos de filmografía, deportistas y soldados (Jensenius *et al.*, 2004). Es una de las rickettsiosis que más ha aumentado en viajeros internacionales por el turismo de safari en Sudáfrica en los últimos años, convirtiéndose en una de las causas más frecuentes de fiebre importada a Europa (Kelly *et al.*, 1996; Brouqui *et al.*, 1997; Fournier *et al.*, 1998; Raoult *et al.*, 2001).

El diagnóstico de la rickettsiosis de forma serológica es controvertido, ya que la seroconversión tarda en ocurrir, por lo que pueden existir falsos negativos. El diagnóstico de la parasitosis por parte de la garrapata también es complicado, pues no quedan adheridas a la piel aunque, la observación de escaras post-picadura, junto con la anamnesis pueden ayudar a suponer la exposición a garrapatas (Jensenius *et al.*, 2003).

2. Objetivos

El objetivo principal de este estudio es la identificación y el análisis de las zoonosis parasitarias presentes en el santuario de primates *Vervet Monkey Foundation* en Sudáfrica. Este objetivo principal se compone de cuatro objetivos secundarios:

1. Conocer la presencia de parásitos gastrointestinales en los monos vervets del santuario.
2. Evaluar la presencia de parásitos hemáticos en los monos vervets del santuario.
3. Estudiar la presencia de ectoparásitos en los monos vervets en el santuario.
4. Identificar y analizar los factores de riesgo asociados a la transmisión de los parásitos al personal del centro.

3. Material y Métodos

3.1. Animales y localización geográfica

3.1.1. Selección de la muestra

El estudio se realizó en el centro de rehabilitación de primates de Sudáfrica *Vervet Monkey Foundation* durante tres periodos:

- Periodo 1: diciembre 2013 - enero 2014.
- Periodo 2: agosto 2014.
- Periodo 3: julio - septiembre 2015.

La muestra para la realización del estudio consistió en:

1. Muestras biológicas procedentes de monos vervets del centro.
2. Registro de actividades del personal y zonas de trabajo del centro.

Las muestras biológicas consistieron en heces, sangre, ectoparásitos y raspados cutáneos. Las heces se obtuvieron durante el tercer periodo de forma no invasiva, procedentes de animales aislados e identificados en instalaciones satélites o en la enfermería. Para el resto de muestras, su disponibilidad se limitó a los animales que fueron anestesiados por algún motivo dentro de los tres periodos del estudio. En total, se tuvo acceso a 117 muestras de heces, 49 de sangre, 99 de ectoparásitos y 10 de raspados cutáneos. Toda persona que participó en la toma de muestras biológicas lo hizo debidamente protegida con guantes de exploración y mascarilla de alta filtración.

En cuanto al registro de actividades del personal y zonas de trabajo, se obtuvo el consentimiento de la fundación y de los trabajadores, para realizar seguimientos de estos últimos durante su jornada de trabajo en la fundación. Se realizó el seguimiento de seis jornadas laborales en cada periodo del estudio, lo que supuso un total de 18 jornadas de trabajo y la recopilación de 126 horas de grabación.

3.1.2 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el centro de rehabilitación de primates *Vervet Monkey Foundation* (VMF), sito en el distrito de Tzaneen, en la provincia del Limpopo de Sudáfrica.

Limpopo es una provincia situada al noreste de Pretoria (capital de Sudáfrica), que linda con Mozambique al este y con Zimbabue y Botsuana al norte. Tzaneen se encuentra a 354 km de Pretoria y es la ciudad más importante de la provincia aparte de la capital Polokwane.

El centro de rehabilitación de primates VMF se encuentra 27 km al este de la ciudad de Tzaneen. El santuario consiste en una finca de 25 Ha donde se distribuyen instalaciones para primates y personal. La vegetación presente en la finca es la propia de una sabana densa, encontrándose principalmente tres especies vegetales predominantes: marula (*Sclerocarya birrea*), sicklebush (*Dychrostachys cinerea*) y camel's foot (*Phanera purpurea*) (figura 17).

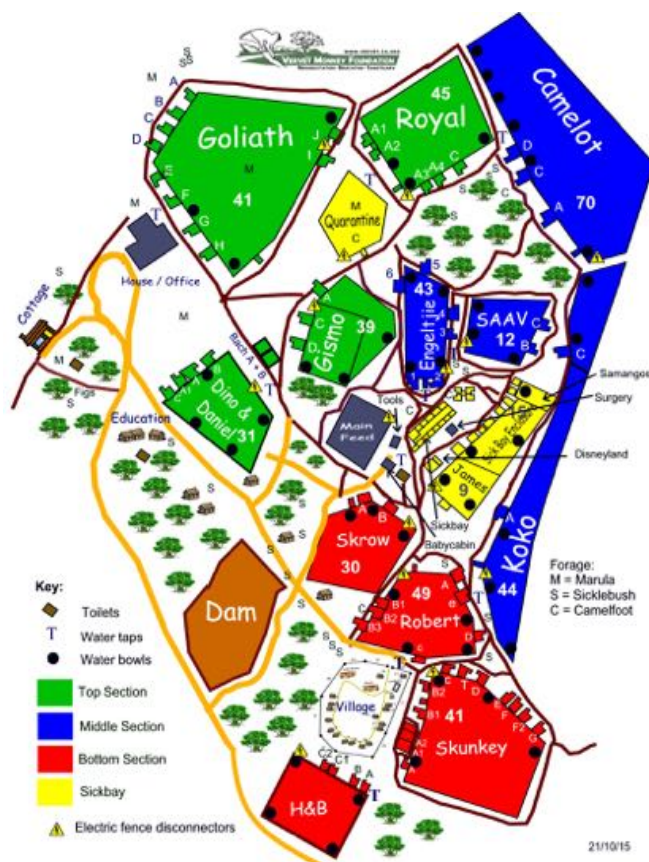


Figura 17. Mapa de *Vervet Monkey Foundation* (VMF, 2015).

3.1.2.1. Instalaciones para primates

La actividad del centro comenzó en 1995, desde entonces, las instalaciones para alojar a los primates se han ido construyendo en función de la llegada de animales. Existen 18 instalaciones que se dividen por razones organizativas en cuatro secciones:

- Sección superior (Top Section):
 - «Goliath», «Royal», «Gismo» y «Dino & Daniel».
- Sección media (Middel Section):
 - «Camelot», «Koko», «SAAV» y «Engeltjie».
- Sección inferior (Bottom Section):
 - «Skrow», «Robert», «Skunkey» y «H & B».
- Sección enfermería (Sickbay Section):
 - «Sickbay», «James», «Samango», «Disneyland», cuarentena y enfermería.

Todas las instalaciones constan de una instalación principal y un número variable de instalaciones satélites a excepción de “Disneyland”, la zona de cuarentena y la enfermería.

Las **instalaciones principales** son naturales y abiertas. Se encuentran delimitadas mediante un vallado construido con postes verticales de madera entre los que discurren en horizontal hilos de pastor eléctrico separados entre 10 y 15 cm. La parte de la instalación que contacta con el suelo está rematada con valla metálica no electrificada, que está enterrada en el suelo unos 20 cm para evitar escapes (figura 18). Disponen de un pasillo de acceso con doble puerta para permitir la entrada de personal sin riesgo de fuga de animales (figura 19). El tamaño de las instalaciones principales se determina en función de la orografía y necesidades de alojamiento, por lo que es muy diverso. El suelo en estas instalaciones es de tierra.



Figura 18. Detalle del vallado eléctrico de una instalación principal.



Figura 19. Doble puerta de acceso a una instalación principal.

Las **instalaciones satélites** se distribuyen alrededor de las instalaciones principales (figura 20) y su número es variable (tabla 1). Son instalaciones accesorias, cerradas y mixtas. Están construidas mediante postes de madera y valla metálica no electrificada enterrada en su parte inferior en el suelo para evitar escapes. Se comunican con las instalaciones principales a través de puertas metálicas accionadas por un sistema de cuerdas. Para el acceso del personal disponen de un pasillo con doble puerta. El entramado aéreo artificial está construido a partir de cuerdas y tubos de PVC. El suelo es de cemento o de tierra.

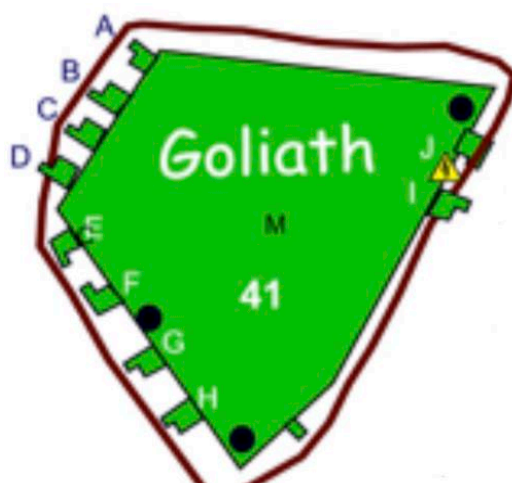


Figura 20. Ejemplo de instalación principal (Goliath) con sus satélites (A-J) (VMF, 2015).

Tabla 1. Instalaciones satélites de cada instalación principal.

Instalación principal	n
Goliath	10
Royal	6
Dino & Daniel	4
Gismo	3
Skrow	3
Samango	2
Sickbay	6
James	1
Engeltjie	7
SAAV	3
Robert	8
Skunkey	15
Koko	3
Camelot	4
H & B	4
Total	79

n: número de instalaciones satélites

La instalación “**Disneyland**” consiste en una instalación cerrada mixta con dos zonas, una exterior y otra cubierta. Está delimitada por valla metálica no electrificada y postes de madera, dispone de un pasillo con doble puerta y el suelo es de cemento.

La zona de **cuarentena** consiste en un recinto de vallado de pastor eléctrico similar al de las instalaciones principales. Dispone de un pasillo de acceso con doble puerta y pediluvio. En el interior del vallado se encuentran cinco instalaciones cerradas mixtas similares a las instalaciones satélites y su peculiaridad es que se encuentran separadas seis metros las unas de las otras.

La **enfermería** consiste en una construcción de postes de madera, valla metálica, techo de chapa y suelo de cemento. Dispone de un pasillo de entrada con doble puerta, diez jaulas de hospitalización que no comparten paredes ni drenaje del agua y una zona de trabajo con fregaderos, refrigeradores y bancadas (figura 21).



Figura 21. Jaulas de hospitalización de la enfermería.

3.1.2.2. Otras instalaciones

El centro cuenta también con otras instalaciones destinadas al adecuado funcionamiento del centro y al alojamiento de trabajadores y voluntarios (figura 22).

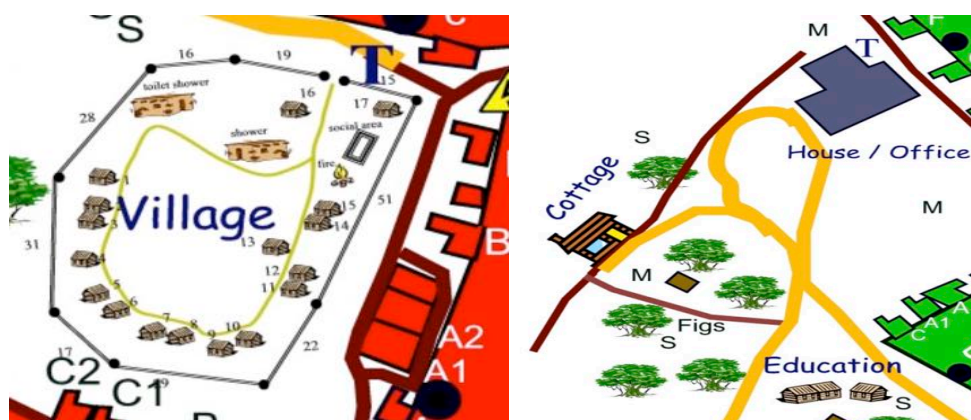


Figura 22. Representación de algunas de las instalaciones para trabajadores (VMF, 2015).

“Main Feed”: es la zona de almacenamiento y preparación de los alimentos destinados a los primates. Consiste en dos techados construidos mediante postes de madera. Los techos son de chapa metálica y albergan tres bancadas de trabajo. Esta instalación se encuentra aproximadamente en el centro de la finca y no cuenta con ningún tipo de vallado.

“Education”: es un bungaló de madera con un aforo de 20 personas. Dispone de electricidad, acceso a internet, material didáctico y sistemas multimedia.

“House/office”: es una edificación de ladrillo con techo de chapa metálica sin vallado, que contiene una vivienda y una oficina.

“**Cottage**”: consiste en una edificación de ladrillo con techo de chapa metálica. Se trata de una cocina y un comedor colectivo. La cocina tiene una puerta de acceso, tres ventanas, tres refrigeradores, fogones, mesa con seis sillas, dos bancadas de trabajo y un fregadero doble. El comedor colectivo que se encuentra contiguo a la cocina es un porche que dispone de un techado de chapa metálica, mesas y bancos.

“**Village**”: es un recinto delimitado por vallado eléctrico de seguridad y consta de 17 bungalós de madera con capacidad para dos personas cada uno.

Viviendas de los trabajadores locales: son cuatro edificaciones (una cocina y tres dormitorios) para los trabajadores locales.

Cabinas: son bungalós de madera que se diferencian de los del “Village” en que disponen de más espacio y capacidad. Se encuentran cercanos a los caminos de la finca y sólo uno dispone de vallado eléctrico de seguridad.

Baños: las duchas y los inodoros del centro están delimitados por paredes de ladrillo o madera y un techo de chapa metálica, que deja un hueco en su parte superior de 20 cm para ventilación. Las pilas se encuentran en el exterior, contiguas a las duchas e inodoros. Existen un total de cinco baños con un número variable de duchas, inodoros ecológicos y pilas.

3.1.3. Datos meteorológicos

El periodo 1 del estudio (diciembre 2013 - enero 2014), coincide con la estación del verano en Sudáfrica. El verano es la época húmeda, se caracteriza por presentar lluvias y altas temperaturas (tabla 2).

Tabla 2. Datos meteorológicos durante el periodo 1 (Wunderground, 2016).

Factor meteorológico	Valor medio
Temperatura máxima	29 °C
Temperatura mínima	19 °C
Precipitación	1,7 mm
Presión atmosférica	1011 hPa

El periodo 2 (agosto 2014), se desarrolla durante el invierno sudafricano (época seca), que se caracteriza por presentar un fuerte gradiente de temperatura entre el día y la noche, con escasas lluvias (tabla 3).

Tabla 3. Datos meteorológicos durante el periodo 2 (Wunderground, 2016).

Factor meteorológico	Valor medio
Temperatura máxima	24 °C
Temperatura mínima	11 °C
Precipitación	0,3 mm
Presión atmosférica	1019 hPa

El periodo 3 (julio – septiembre 2015), coincide de nuevo con la estación del invierno (tabla 4).

Tabla 4. Datos meteorológicos durante el periodo 3 (Wunderground, 2016).

Factor meteorológico	Valor medio
Temperatura máxima	24 °C
Temperatura mínima	11 °C
Precipitación	0,1 mm
Presión atmosférica	1019 hPa

3.2 Recogida y etiquetado de las muestras

3.2.1. Muestras biológicas

Todas las muestras provinieron de monos vervets alojados en el centro durante al menos uno de los tres periodos, que fueron identificados en el momento de la toma de muestras por lectura de su microchip de identificación o criterios morfológicos. De forma rutinaria, el equipo de veterinarios realiza una analítica sanguínea, exploración física completa con cepillado del pelo y raspado cutáneo (el último solo si se considera necesario) de todos los animales anestesiados, hecho que fue aprovechado para la realización de este estudio.

Para la toma de muestras de piel y sangre se precisaba por tanto de la captura de los individuos, su transporte a la enfermería y su anestesia.

Para el aislamiento de los animales y su transporte a la enfermería, el centro utilizó comida apetecible, los sistemas de cuerdas de las puertas de las instalaciones satélites y jaulas de transporte para conseguir aislar los individuos del grupo e instalación en la que estuvieran alojados.

Las jaulas de transporte consisten en unas estructuras de acero galvanizado de 80 cm de alto, 50 de ancho y 120 de largo. La jaula puede dividirse en dos mitades de 60 cm de longitud mediante un tablón de madera. Además, puede actuar como jaula de contención, ya que los suelos de estas dos mitades pueden ser elevados y comprimir al primate contra el techo de la jaula, lo que permite la inyección de sustancias vía subcutánea e intramuscular.

Cuando los primates son aislados en estas jaulas, se transportan a la enfermería a mano o con la ayuda de una carretilla. Una vez allí, se coloca la jaula de transporte en el interior de una jaula de la enfermería (figura 23). Los individuos permanecen de este modo si su estancia en la enfermería va a ser inferior a tres días. Si se alargara su estancia, se les libera en la jaula de la enfermería que previamente ha sido preparada con enriquecimiento ambiental.



Figura 23. Jaulas de transporte en el interior de las jaulas de la enfermería.

Como preparación al procedimiento de anestesia, se mantuvo a los animales en ayunas de líquidos y sólidos desde la noche anterior al día de la anestesia.

Para la anestesia de los animales se utilizó una mezcla de medetomidina (1 mg/mL) a dosis media de $44,1 \pm 7,8$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ junto con ketamina (100 mg/mL) a dosis media de $7 \pm 1,7$ mg/kg en la misma jeringa vía intramuscular. La inyección se realizó en la jaula de transporte mediante contención elevando el suelo de la jaula. Una vez se obtuvo el derribo con

decúbito lateral se procedió a extraer al individuo de la jaula y se le trasladó al quirófano con la ayuda de mantas, para realizar la toma de muestras y el cepillado del pelo (figura 24).



Figura 24. Mono vervet anestesiado en el quirófano.

El protocolo de trabajo y la manipulación de los animales estaban incluidos en el grupo de actividades veterinarias habituales del santuario. En todo momento se siguieron las normas referentes a bienestar animal (Real Decreto 1201/2005 sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos Boletín Oficial del Estado del 21 de octubre que adecua la directiva comunitaria 86/609/CEE).

3.2.1.1. Heces

El estudio se realizó sobre 117 muestras de heces obtenidas durante el tercer periodo dentro del horario de trabajo del centro, entre las 6:00 a.m. y las 5:00 p.m.. Las muestras se tomaron del suelo de una instalación satélite o de una jaula de la enfermería limpiada previamente. Se desecharon las contaminadas con orina y también se desechó la parte de la muestra en contacto con el suelo para evitar su contaminación ambiental. Todas las muestras se recolectaron inmediatamente después de haber sido evacuadas.

La recolección y conservación de las muestras se realizó según lo descrito por Gillespie en 2006:

1. Heces frescas: se introdujo la muestra en un recipiente o en un guante de látex, al que se le dio la vuelta y se ató con un nudo (figura 25).
2. Heces conservadas en formalina: la muestra se introdujo en un recipiente de cristal limpio (tubo de ensayo o frasco) con formol al 10% y se homogeneizó.
3. Heces conservadas en Uranotest Copro[®]: la muestra se introdujo en el recipiente del kit comercial que contiene Ecofix[®] (Meridian Diagnostics[®] Corporation) para su conservación.

En los tres casos, tanto el guante como los recipientes, fueron identificados de manera que permitiera la identificación del individuo y de qué instalación procedía la muestra.



Figura 25. Muestra fresca de heces de mono vervet.

Las 117 muestras de heces procedieron de animales alojados en cuatro instalaciones del centro. Hubieron 21 muestras que procedieron de la instalación “Royal” (17,9%), 27 de “Sickbay” (23%), 36 de “Gismo” (30,8%) y 33 de “Skrow” (28,3%) (tabla 5).

Tabla 5. Distribución de las muestras de heces por instalaciones.

Instalación	n	%
Royal	21	17,9
Sickbay	27	23
Gismo	36	30,8
Skrow	33	28,3
Total	117	100

n: número de muestras (animales); %: porcentaje que representa la cantidad de animales muestreados de esa instalación con respecto al total de muestras.

Del total de muestras, 60 de ellas fueron procedentes de machos (51,3%) y 57 de hembras (48,7%). En el caso de la instalación “Royal” 15 muestras fueron de machos (71,4%) y seis de hembras (28,6%), en “Sickbay” 15 de machos (55,5%) y 12 de hembras (44,5%), en “Gismo” 15 de machos (41,7%) y 21 de hembras (58,3%) y finalmente en el caso de “Skrow” donde también 15 procedieron de machos (45,5%) y 18 de hembras (54,5%) (tabla 6).

Tabla 6. Porcentajes de machos y hembras en las muestras de heces.

Instalación	Machos	Hembras	% Machos	% Hembras
Royal	15	6	71,4	28,6
Sickbay	15	12	55,5	44,5
Gismo	15	21	41,7	58,3
Skrow	15	18	45,5	54,5
Total	60	57	51,3	48,7

Machos: número de machos; Hembras: número de hembras; % Machos: porcentaje que representan los machos de los animales muestreados en esa instalación; % Hembras: porcentaje que representan las hembras de los animales muestreados en esa instalación.

3.2.1.2. Sangre

Se tuvo acceso a 49 muestras de sangre conservada con EDTA procedentes de individuos que fueron anestesiados durante el segundo y tercer periodo del estudio. Las anestесias se realizaron durante los dos periodos matinales, entre las 7:00 y las 12:00 a.m.

El protocolo de toma de muestra sanguínea del centro se basa en la metodología descrita por West y sus colaboradores en 2014:

1. Cateterizar la vena safena lateral mediante un catéter marca Nipro[®] o similar de 22 o 24 G según el tamaño del animal. Para la implantación del catéter se procede a depilar, limpiar y desinfectar con alcohol isopropílico la zona latero-palmar distal a la articulación de la rodilla.
2. Recolectar la sangre en un tubo de muestra con EDTA y en un tubo seco por goteo directo desde el catéter al tubo, dejando que las gotas de sangre resbalen por la pared del mismo.
3. Identificar los tubos con el nombre del individuo y el número de muestra.
4. Conservar las muestras en refrigeración hasta su procesado o envío al laboratorio.
5. Cuando el procedimiento anestésico finaliza, retirar el catéter manteniendo presión en la zona al menos un minuto.

Del total de muestras, nueve (18,4%) fueron tomadas de la instalación “Engeltjie”, ocho (16,3%) de “Gismo”, seis (12,2%) de “Goliath”, nueve (18,4%) de “Robert”, ocho (16,3%) de “Royal”, seis (12,2%) de “SAAV” y tres (6,2%) de “Skunkey” (tabla 7).

Tabla 7. Distribución de las muestras de sangre por instalaciones.

Instalación	n	%
Engeltjie	9	18.4
Gismo	8	16.3
Goliath	6	12.2
Robert	9	18.4
Royal	8	16.3
SAAV	6	12.2
Skunkey	3	6.2
Total	49	100

n: número de muestras (animales); %: porcentaje que representa la cantidad de animales muestreados de esa instalación con respecto al total.

De las 49 muestras obtenidas, cuatro provinieron de hembras (8,2%) y 45 de machos (91,8%) (figura 26).

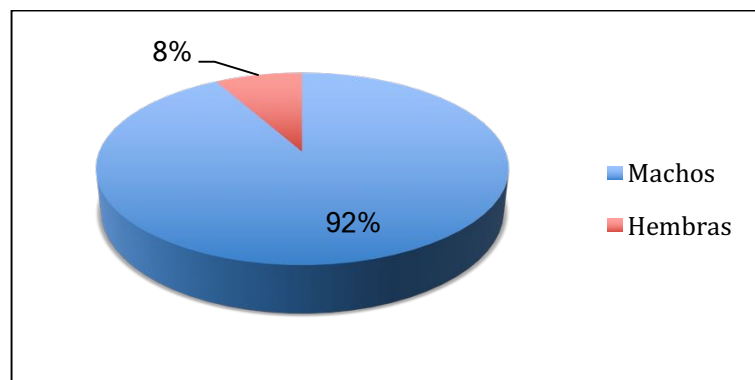


Figura 26. Porcentajes de machos y hembras en las muestras de sangre

3.2.1.3. Ectoparásitos

La búsqueda de ectoparásitos del estudio se realizó de dos formas. La primera se centró en una exploración física con cepillado del pelo para visualizar piojos, pulgas y garrapatas. La segunda consistió en la identificación de lesiones de piel y, en su caso, en la realización de raspados cutáneos con objeto de buscar ácaros causantes de sarna.

Exploración física y cepillado del pelo

Se realizó la exploración física y cepillado del pelo con peine de pulgas de 99 animales que fueron sometidos a anestesia general durante los tres periodos del estudio. En todos los casos, las anestесias también se realizaron por la mañana entre las 7:00 y las 12:00 a.m.

El protocolo para la realización de este procedimiento es:

1. Realizar una inspección visual completa de la superficie del animal, observando el pelo y la piel, comenzando desde la zona rostral del cráneo (cara) y siguiendo la totalidad del cuerpo en dirección caudal.
2. Para las zonas con mayor densidad de pelo, proceder a un cepillado con el peine de pulgas (figura 27).
3. Introducir los parásitos obtenidos en contenedores limpios con alcohol al 70 - 90%, correctamente sellados e identificados.
4. Identificar adecuadamente los contenedores.



Figura 27. Cepillado de un mono vervet con peine de pulgas.

La distribución por instalaciones de los 99 individuos muestreados correspondió a: 19 individuos procedentes de “Camelot” (19,2%), seis de “Dino & Daniel” (6,1%), nueve de “Engeltjie” (9,1%), ocho de “Gismo” (8,1%), seis de “Goliath” (6,1%), dos de “James” (2%), 15 de “Koko” (15,1%), tres de “Robert” (3%), nueve de “Royal” (9,1%), uno de “SAAV” (1%), dos de “Sickbay” (2%), cuatro de “Skrow” (4%) y 15 de “Skunkey” (15,2%) (tabla 8).

Tabla 8. Distribución de la muestra de ectoparásitos por instalaciones.

Instalación	n	%
Camelot	19	19,2
Dino & Daniel	6	6,1
Engeltjie	9	9,1
Gismo	8	8,1
Goliath	6	6,1
James	2	2
Koko	15	15,1
Robert	3	3
Royal	9	9,1
SAAV	1	1
Sickbay	2	2
Skrow	4	4
Skunkey	15	15,2
Total	99	100

n: número de muestras (animales); %: porcentaje que representa la cantidad de animales muestreados de esa instalación con respecto al total de muestras.

A excepción de tres muestras tomadas en hembras, el resto procedían de machos, que fueron anestesiados para la realización de una vasectomía (figura 28).

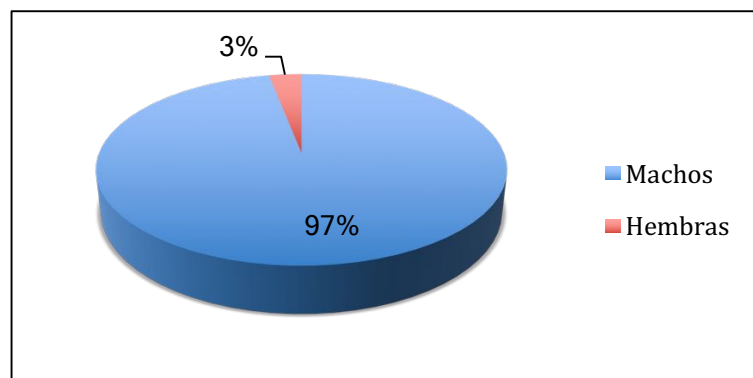


Figura 28. Porcentaje de machos y hembras en la muestra de ectoparásitos.

Raspados de piel

Se obtuvieron muestras procedentes de diez individuos que fueron sometidos a raspados superficiales y profundos, ya que mostraban lesiones dérmicas en la exploración física (figura 29).



Figura 29. Lesiones dérmicas en cola de mono vervet.

3.2.2. Registro de actividades del personal y zonas de trabajo

Las grabaciones de video para este registro se realizaron mediante una videocámara Canon Legria®. Fueron excluidas del estudio todas las personas con menos de un mes de antigüedad en el centro, al considerarse que sus actividades podían diferir de las de los trabajadores con más experiencia.

Los individuos que formaron parte de la muestra de este estudio se clasificaron en función de si eran voluntarios o trabajadores del centro. A su vez, en el caso de los trabajadores se diferenció entre locales y extranjeros. Los trabajadores son los encargados de enseñar y supervisar el trabajo de los voluntarios.

3.3. Procesado de las muestras

Como medida de protección hacia los operadores, durante el procesado y análisis de las muestras biológicas, el equipo de protección consistió en: bata de laboratorio, guantes, gafas de protección y mascarilla de alta filtración.

3.3.1. Heces

Las 117 muestras de heces obtenidas para el estudio se sometieron a diferentes pruebas de diagnóstico coproparasitario, que consistieron en el examen directo de las heces (con y/o sin lugol) y/o en técnicas de concentración de formas parasitarias (flotación y/o sedimentación).

Los resultados de los exámenes coprológicos fueron anotados en hojas de registro donde se detalló: nombre y sexo del individuo al que pertenecía la muestra, instalación de la que procedía, método de conservación y técnicas empleadas.

3.3.1.1. Examen directo

El protocolo para la realización de esta técnica consistió en (Gillespie, 2006):

1. Tomar una pequeña porción de muestra que contenga la menor cantidad posible de partículas fecales groseras con la ayuda de una varilla.
2. Depositar en el portaobjetos.
3. Añadir una gota de agua para homogeneizar.
4. Separar las partículas groseras.
5. Colocar un cubreobjetos (22 x 22 mm) sobre la muestra.
6. Observar al microscopio óptico de forma sistemática a 100 aumentos. Utilizar 400 aumentos para la identificación de protozoos.

Se observó la preparación al microscopio de forma inmediata para evitar la lisis de los trofozoítos.

3.3.1.2. Técnicas de concentración de formas parasitarias

En las técnicas de concentración, para separar los detritus y utilizar medios de flotación, es necesario homogeneizar y filtrar la muestra. Este procedimiento se realizó con agua para la sedimentación y con medio de flotación para las flotaciones, además de un dispositivo comercial (Fill-Flotac[®]). Dicho dispositivo consiste en un recipiente con cierre hermético, una varilla y un filtro. Su protocolo de utilización consistió en (Barda *et al.*, 2013):

1. Depositar 2 g de heces en el cono de muestra.
2. Añadir 18 mL de agua o medio de flotación en el recipiente.
3. Cerrar el recipiente.
4. Homogeneizar la muestra con el agua o medio de flotación realizando movimientos circulares y arriba-abajo con la varilla.
5. Retirar el tapón hermético superior.

6. Hacer salir la muestra a través del filtro por el orificio superior.

En el caso de la sedimentación con el Uranotest Copro[®] no fue necesario este procedimiento con el Fill-Flotac[®], ya que la técnica incluye su propio método de homogenización y filtrado.

Flotación

Es una técnica que consigue la concentración de las formas parasitarias por flotación en soluciones de densidad elevada.

Para este estudio se utilizaron dos soluciones de flotación, una de cloruro sódico y otra de sulfato de zinc, ambas con la misma densidad específica ($\rho=1,2$).

La técnica de flotación se realizó mediante dos métodos comerciales distintos: Ovatector[®] modificada y Mini-Flotac[®].

El protocolo para la flotación mediante Ovatector[®] (figura 30) fue el descrito en el manual de instrucciones del fabricante:

1. Rellenar el contenedor con 2 g de muestra.
2. Colocar el cilindro sobre el contenedor.
3. Llenar el cilindro hasta la mitad con la solución de flotación elegida.
4. Homogeneizar la muestra y el medio de flotación con la ayuda de una varilla.
5. Introducir el filtro y empujarlo hasta el fondo.
6. Añadir solución de flotación hasta crear un menisco en la parte superior del cilindro.
7. Colocar sobre el cilindro un cubreobjetos de 22 x 22 mm.
8. Esperar 15 min.
9. Trasladar el cubreobjetos a un portaobjetos.
10. Observar al microscopio óptico de forma sistemática a 100 aumentos.
Utilizar 400 aumentos para la identificación de protozoos.



Figura 30. Ovatector[®] en paso ocho.

La utilización a partir del Fill-Flotac[®] de una solución homogeneizada y filtrada de muestra y líquido de flotación, permitió no realizar los cinco primeros pasos descritos en el manual y rellenar el cilindro directamente con el Fill-Flotac[®], como se describe en el paso seis.

El protocolo para la flotación en Mini-Flotac[®] fue el descrito por Barda y sus colaboradores en 2013 (figura 31):

1. Posicionar el Mini-Flotac[®] a 45° de una superficie horizontal.
2. Llenar las cámaras de flotación con la muestra procedente del Fill-Flotac[®].
3. Posicionar el Mini-Flotac[®] en posición horizontal durante 15 min.
4. Girar la parte superior del dispositivo para separar las gradillas de visualización de las cámaras de flotación.
5. Observar las gradillas al microscopio óptico a 100 aumentos. Utilizar 400 aumentos para la identificación de protozoos.



Figura 31. Mini-Flotac[®] en paso tres.

Sedimentación

Se realizaron dos técnicas distintas de sedimentación, una empleando formalina y acetato de etilo (Ash y Orihel, 1991) y la otra con el kit de sedimentación comercial Urano Copro[®].

El protocolo para la sedimentación con formalina y acetato de etilo se basó en el descrito por Ash y Orihel en 1991:

1. Depositar la muestra procedente del Fill-Flotac[®] en un tubo de ensayo cónico de vidrio.

2. Centrifugar a 1000 rpm durante 1 – 2 min.
3. Desechar el sobrenadante.
4. Resuspender el pellet con agua para volver a llenar el tubo de ensayo y repetir desde el tercer paso tantas veces como sea necesario hasta que el sobrenadante sea transparente.
5. Añadir 10mL de formalina y 3 mL de acetato de etilo.
6. Resuspender el pellet.
7. Poner el tapón y agitar vigorosamente durante 30 s.
8. Centrifugar a 1000 rpm durante 2 – 3 min.
9. Liberar de las paredes del tubo el tapón grasoso con la ayuda de una varilla.
10. Descartar el sobrenadante.
11. Resuspender el pellet con 2 – 3 gotas de agua.
12. Tomar con una pipeta Pasteur un poco de muestra.
13. Depositar 1 – 2 gotas sobre un portaobjetos.
14. Añadir una gota de lugol.
15. Poner un cubreobjetos sobre la muestra.
16. Observar al microscopio óptico de forma sistemática a 100 aumentos. Utilizar 400 aumentos para la identificación de protozoos.

El protocolo para la realización de la sedimentación mediante el kit comercial Urano Copro[®] fue el suministrado por el fabricante:

1. Tomar dos medidas de muestra (2 g) mediante la varilla suministrada. Usar el lado de la cucharilla en caso de muestras líquidas y el del cono en los otros casos.
2. Abrir el contenedor y depositar la muestra en su interior.
3. Homogeneizar la muestra con el conservante Ecofix[®] con la ayuda de la varilla.
4. Cerrar el contenedor y homogeneizar de nuevo evitando fuertes sacudidas.
5. Retirar el tapón superior.
6. Voltear el contenedor y posicionarlo en horizontal.
7. Dejar sedimentar por gravedad durante 15 min.
8. Desechar las dos primeras gotas de muestra.
9. Colocar una gota de muestra en un portaobjetos.
10. Añadir una gota de lugol a la muestra.
11. Colocar un cubreobjetos sobre la muestra.
12. Observar al microscopio óptico de forma sistemática a 100 aumentos. Utilizar 400 aumentos para la identificación de protozoos.

3.3.2. Sangre

Para la búsqueda de parásitos hemáticos se prepararon, a partir de cada muestra de sangre, tres portaobjetos con una gota gruesa y un frotis cada uno (figura 32).

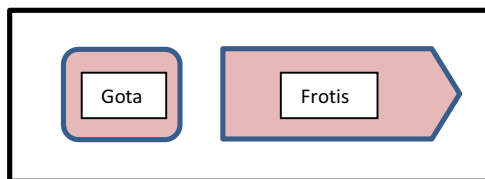


Figura 32. Emplazamiento de las muestras en el portaobjetos.

3.3.2.1. Gota gruesa

Es el método de elección para la detección de parásitos del género *Plasmodium* y que permite su recuperación incluso en condiciones de baja parasitemia. Consiste en la deshemoglobinización con azul de metileno y posterior tinción con Giemsa de una cantidad de sangre sensiblemente mayor que la de un frotis. El protocolo para la preparación de la gota gruesa fue el descrito por Hendrix en 1999:

1. Tomar una cantidad pequeña de sangre del tubo de EDTA mediante una pipeta Pasteur.
2. Colocar 2 o 3 gotas de sangre (dejándolas caer una encima de otra) sobre el portaobjetos previamente identificado.
3. Con el extremo de otro portaobjetos, extender la sangre en una capa gruesa y uniforme (la muestra debe tener forma cuadrada con aproximadamente 1 cm de lado), desplazando el portaobjetos realizando una forma de N.
4. Dejar secar a temperatura ambiente en una superficie horizontal.
5. Deshemoglobinización con azul de metileno:
 - Verter en un recipiente secundario (más pequeño, de boca ancha, cierre hermético) una cantidad suficiente de azul de metileno.
 - Sumergir durante 3 s la gota gruesa en la solución. Asegurarse de que el código de identificación quede fuera de la solución.
 - Escurrir en vertical, sobre un papel absorbente. Asegurarse de que el código de identificación quede en la parte superior.
 - Enjuagar con agua durante 2 s.
 - Escurrir en vertical, sobre un papel absorbente. Asegurarse de que el código de identificación quede en la parte superior.
 - Volver a enjuagar metiendo y sacando la lámina cinco veces y volver a escurrir de la misma manera.
 - Dejar secar la muestra completamente.
6. Tinción con Giemsa:
 - Diariamente se preparará una solución de trabajo a partir de la solución madre del siguiente modo:
 - Tomar 3 mL de la solución madre al 30% y colocarlo en un recipiente secundario más pequeño de boca ancha y cierre hermético (preparar más solución de tinción diariamente o según necesidad repitiendo este paso).
 - Añadir 30 mL de agua al recipiente para obtener una dilución adecuada de trabajo.

- Situar el portaobjetos en dos varillas metálicas sobre una cubeta plástica.
 - Cubrir completamente la muestra con el colorante diluido (el del recipiente secundario) y dejar actuar durante 10 min.
 - Eliminar el exceso de colorante con agua con cuidado de no dañar la muestra.
 - Colocar el portaobjetos con la muestra hacia abajo sin que entre en contacto con ninguna superficie hasta su completo secado.
7. Lavar con agua.
 8. Dejar secar completamente.
 9. Observar al microscopio óptico con el objetivo 10X para localizar las zonas con leucocitos numerosos (10 – 20 por campo) y bien coloreados.
 10. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre la zona seleccionada.
 11. Siguiendo el método de la figura 33, examinar 100 campos de microscopio con el objetivo 100X, es importante el uso del micrométrico para examinar toda la profundidad de la muestra.

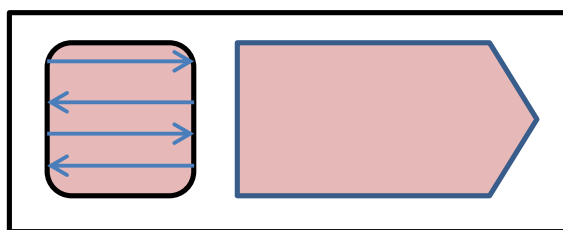


Figura 33. Método de examen microscópico de la gota gruesa.

12. Anotar en la hoja de registro las formas parasitarias encontradas.

3.3.2.2. Frotis sanguíneo

Es la técnica de elección para diferenciar las especies de *Plasmodium* detectadas en la gota gruesa. El protocolo que se siguió para su realización también fue basado en la publicación de Hendrix que data de 1999:

1. Colocar una gota de sangre fresca, de 2 a 4 mm de diámetro, a 1 cm del extremo de la gota gruesa.
2. Aplicar otro portaobjetos en ángulo de unos 45° y deslizarlo con rapidez desde la gota de sangre hasta el final del portaobjetos.
3. Agitar el frotis para su secado.
4. Fijar con metanol durante 1 min.
5. Tinción con Giemsa (similar punto 6 del apartado 3.3.2.1.)
6. Lavar con agua.
7. Dejar secar completamente.
8. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre la preparación.
9. Observar al microscopio óptico con el objetivo 100X todo el frotis, siguiendo el método de la figura 34.
10. Anotar en la hoja de registro las formas parasitarias encontradas.

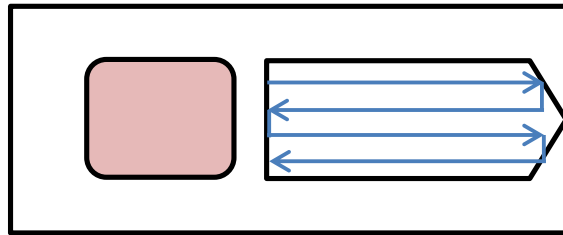


Figura 34. Método de examen microscópico del frotis.

Para la identificación de las formas parasitarias de *Plasmodium* spp. se siguió el siguiente protocolo (INS, 2003):

1. Diferenciar las formas compatibles con parásitos de plaquetas adheridas a los eritrocitos, fragmentos de leucocitos, precipitados de colorante o de polvo, bacterias, levaduras y esporas.
2. La tinción de Giemsa colorea la cromatina de los parásitos de rojo intenso, mientras que el citoplasma se colorea de azul.
3. Los trofozoítos es la etapa que más frecuentemente se observa. Su morfología es variable (figura 33) y es diagnóstica la observación de hemozoína (amarilla o negra) en su citoplasma.
4. Los esquizontes presentan núcleos con cromatinas (figura 35). Utilizar el número de cromatinas y los criterios morfológicos de la tabla 9 para distinguir la especie.

Tabla 9. Características morfológicas del género *Plasmodium* (INS, 2003).

	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>
Glóbulo rojo infectado	Tamaño aumentado.	Tamaño aumentado.	Tamaño normal o disminuido.	Tamaño normal.
Fase de anillo	Un anillo de pequeño a bastante grande. Pueden haber dos	Un anillo compacto. Raramente dos	Un anillo compacto. Raramente dos	Dos anillos o más pequeños
Trofozoíto maduro	Grande, forma ameboidea	Pequeño, no ameboide	Pequeño, forma de banda.	Forma de coma o anillo.
Esquizonte maduro	Grande, pigmento concentrado en una o dos masas	Más pequeño y pigmento más oscuro que en <i>P. vivax</i>	Pequeño, característico pigmento granuloso	Raro en la sangre periférica, masa única de pigmento

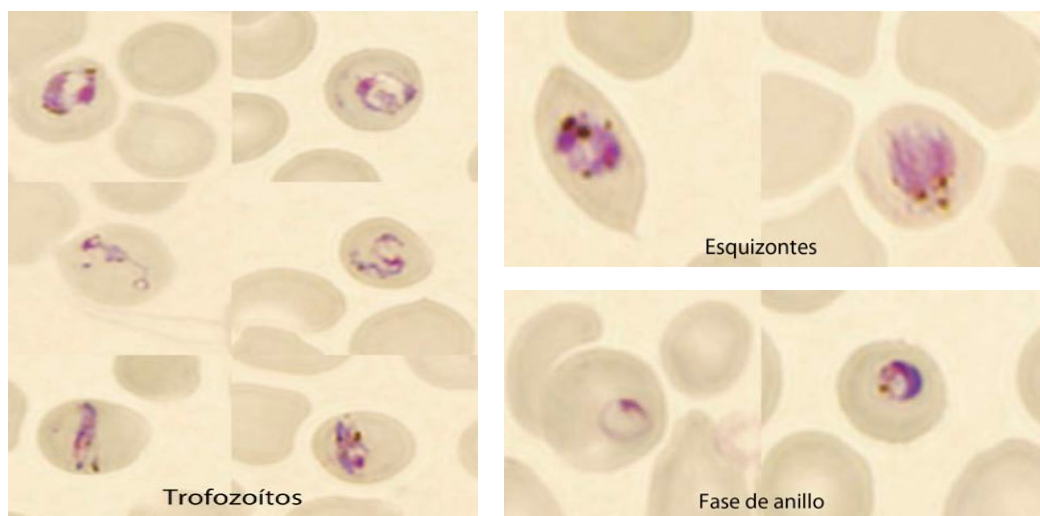


Figura 35. Formas parasitarias de *Plasmodium* spp. (Kantele *et al.*, 2008).

3.3.3. Ectoparásitos

Exploración física y cepillado

Los parásitos obtenidos se sometieron a un examen macroscópico para su identificación. En caso de ser necesaria la observación en detalle, se examinaron a 100 aumentos mediante un microscopio óptico.

Raspados de piel

El protocolo para la realización y observación de los raspados de piel consistió en (Hendrix, 1999):

1. Humedecer una hoja de bisturí en aceite mineral.
2. Raspar la superficie de la piel en las zonas periféricas de las lesiones.
3. Cuando se haya agregado bastante descamación al aceite extenderla en un portaobjetos (raspado superficial).
4. Seguir raspando hasta que se observe sangrado leve.
5. Extender el material obtenido en un portaobjetos (raspado profundo).
6. Observar inmediatamente toda la superficie del portaobjetos al microscopio óptico a 100 aumentos. Utilizar los 400 aumentos si es necesario para mejorar la observación de los parásitos.

3.3.4. Registro de actividades del personal y zonas de trabajo

Las 126 horas de video fueron visionadas en busca de las actividades realizadas por el personal y las zonas de trabajo donde se llevaron a cabo. Para transcribir y codificar la información resultante se elaboró una tabla con el programa Excel[®]. De todas las actividades codificadas se seleccionaron y clasificaron las que suponían algún tipo de contacto con monos vervets o con sus agentes biológicos presentes en las heces, orina y/o saliva. Las actividades se ordenaron en tres grupos: las realizadas por los voluntarios que se incluyeron en la categoría “voluntarios”, la de los trabajadores locales que se clasificaron como “personal local” y las de los trabajadores internacionales que se incluyeron en “personal extranjero”.

Estas actividades se resumieron en una tabla con el fin de agrupar los datos obtenidos en función de quien las realizó, del lugar donde se llevaron a cabo, de si suponían contacto directo con los animales y de si había riesgo de contacto con algún agente biológico. Las actividades que sólo se realizaron en una estación del año se clasificaron como actividades temporales y las que se registraron en ambas estaciones del año (verano e invierno) se clasificaron como globales.

3.4. Estudio estadístico

Se trata de un estudio descriptivo por lo que el análisis estadístico de los datos obtenidos de las muestras se realizó mediante la utilización del paquete de software Microsoft Office 2011[®], en concreto con el programa Excel[®] (Microsoft[®] Corporation) que permitió la elaboración de tablas y la codificación inicial de los datos. En segundo lugar, se utilizó el programa de análisis estadístico IBM SPSS Statistics[®] (IBM[®] Corporation) que permitió la utilización de estadísticos descriptivos como la media y su error estándar.

4. Resultados

4.1. Parásitos zoonóticos

4.1.1. Parásitos gastrointestinales

Del total de las muestras analizadas, 59 de ellas (50,4%) resultaron positivas a algún parásito zoonótico (figura 36).

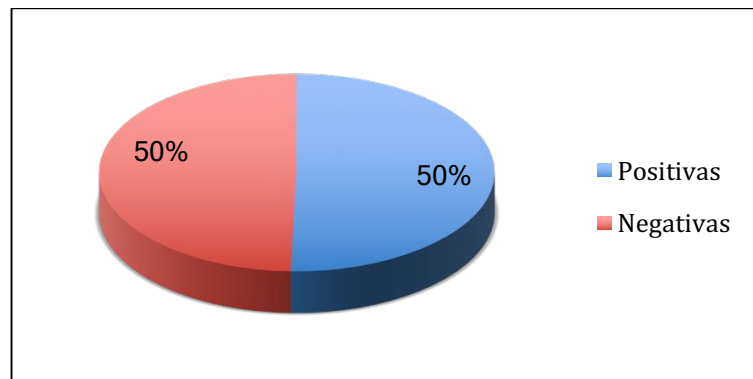


Figura 36. Porcentaje de muestras positivas y negativas de la muestra.

De todas las muestras parasitadas, 30 presentaron un sólo parásito zoonótico (50,8%), 26 dos (44,1%) y tres de ellas tres parásitos zoonóticos asociados (5,1%). Ninguna estaba contaminada con más de tres parásitos asociados (tabla 10).

Tabla 10. Parásitos zoonóticos presentes.

N	n	%
1	30	50,8
2	26	44,1
3	3	5,1
4 o más	0	0
Total	59	100

N: número de parásitos presentes en la muestra; n: número de muestras con N parásitos zoonóticos; %: porcentaje que representa n.

4.1.1.1. *B. coli*

Un total de 44 muestras contenían quistes y/o trofozoítos de *B. coli*, lo que representa un 37,6% del total de las muestras fecales analizadas (figura 37).

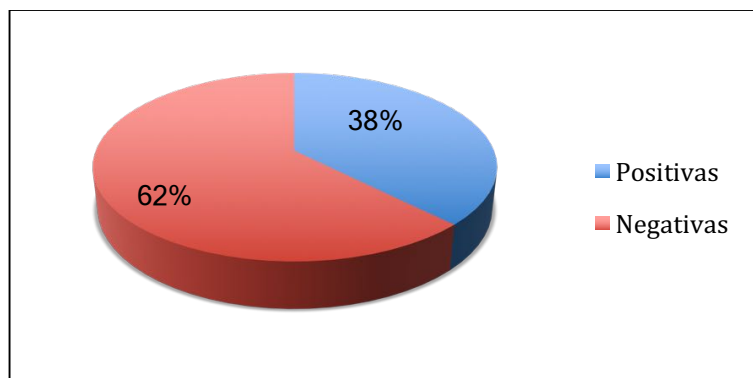


Figura 37. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *B. coli*, con respecto al total de muestras del estudio.

Estas 44 muestras supusieron un 66,7% del total de muestras positivas a algún parásito zoonótico (figura 38).

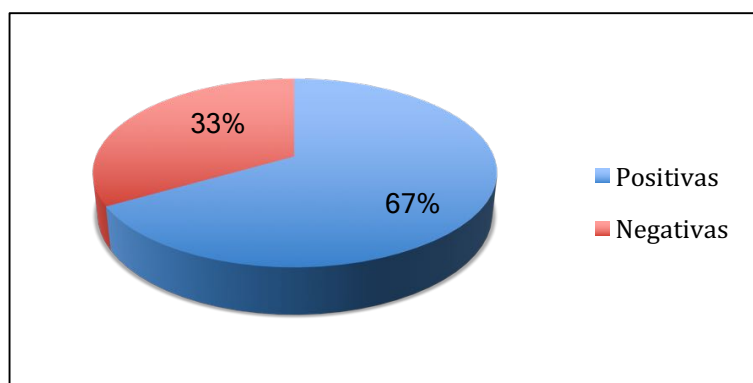


Figura 38. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *B. coli*, con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.

Teniendo en cuenta los resultados por instalaciones, se observó que en la instalación “Royal” este parásito se encontró en seis de las 21 (28,6%) muestras, en “Sickbay” en 10 de las 27 (37%), en la instalación “Gismo” en 18 de las 36 (50%) y en “Skrow” en 10 de las 33 (30,4%) (tabla 11).

Tabla 11. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a *B. coli*.

Instalación	n	+	% positivos	EE
Royal	21	6	28,6	0,1
Sickbay	27	10	37	0,09
Gismo	36	18	50	0,08
Skrow	33	10	30,4	0,08
Total	117	44	37,6	0,04

n: número de muestras; +: número de muestras positivas; % positivos: porcentaje de muestras positivas con respecto a n; EE: error estándar.

En cuanto a las asociaciones que presentó *B. coli* a otros parásitos zoonóticos, del total de muestras positivas, en 28 (63,7%) *B. coli* se asoció con algún parásito zoonótico. Se asoció también con *G. duodenalis* en una ocasión (2,3%), con *E. histolytica/dispar* siete veces (15,9%), con *Strongyloides* spp. en 16 ocasiones (36,4%) y cuatro veces con estrongilados (9,1%) (tabla 12).

Tabla 12. Asociación de *B. coli* con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Parásito asociado	n	% asociación
<i>G. duodenalis</i>	1	2,2
<i>E. histolytica/dispar</i>	7	15,9
<i>Strongyloides</i> spp.	16	36,4
Estrongilados	4	9,1
Total	28	63,6

n: número de muestras positivas a *B. coli* y al parásito asociado; % asociación: porcentaje de las muestras en las que se encuentran presentes ambos parásitos.

Teniendo en cuenta únicamente las muestras donde existía asociación de parásitos zoonóticos con *B. coli*, *G. duodenalis* representó un 3,6% de las asociaciones, *E. histolytica/dispar* un 25%, *Strongyloides* spp. un 57,1% y un 14,3% los estrongilados (figura 39).

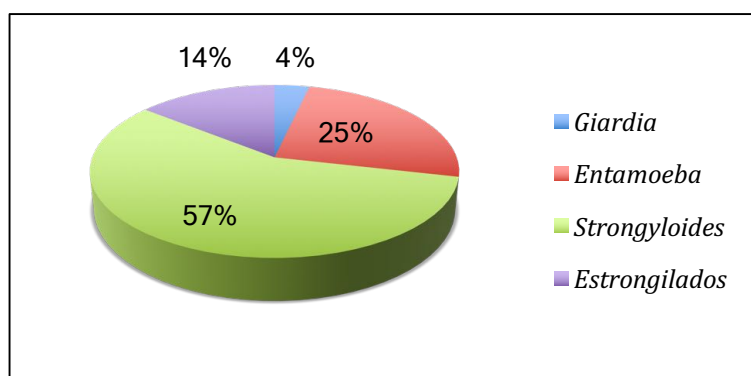


Figura 39. Porcentaje que representa cada parásito asociado a *B. coli*.

4.1.1.2. *G. duodenalis*

G. duodenalis solo fue identificada en una muestra de las 117 examinadas (figura 40).

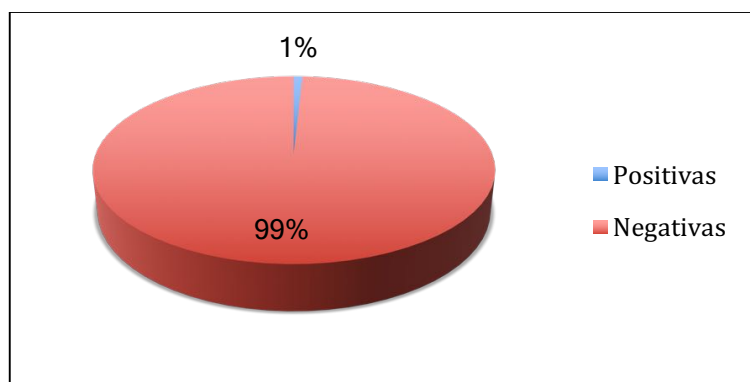


Figura 40. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *G. duodenalis*, con respecto al total de muestras del estudio.

Esa muestra positiva supuso un 1,5% del total de muestras positivas a algún parásito zoonótico (figura 41).

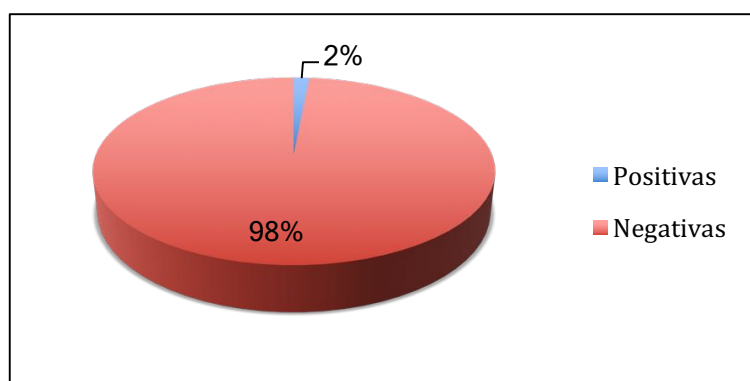


Figura 41. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *G. duodenalis*, con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.

La muestra positiva a *G. duodenalis* procedía de “Royal”, representando el 4,8% de las muestras de esta instalación (tabla 13).

Tabla 13. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a *G. duodenalis*.

Instalación	n	+	% positivos	EE
Royal	21	1	4,8	0,05
Sickbay	27	0	0	0
Gismo	36	0	0	0
Skrow	33	0	0	0
Total	117	1	0,8	0,01

n: número de muestras; +: número de muestras positivas; % positivos: porcentaje de muestras positivas con respecto a n; EE: error estándar.

En cuanto a las asociaciones que presentó *G. duodenalis*, la única muestra positiva se asoció con *B. coli* y *E. histolytica/dispar*, lo que supone un 50% de porcentaje de asociación con cada uno de los parásitos (tabla 14).

Tabla 14. Asociación de *G. duodenalis* con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Parásito asociado	n	% asociación
<i>B. coli</i>	1	50
<i>E. histolytica/dispar</i>	1	50
<i>Strongyloides</i> spp.	0	0
Estrongilados	0	0
Total	2	100

n: número de muestras positivas a *G. duodenalis* y al parásito asociado; % asociación: porcentaje de asociación entre ambos parásitos.

Los porcentajes de asociación de *G. duodenalis* respecto al total de las muestras asociadas son iguales a los porcentajes respecto al total de muestras positivas ya que sólo una muestra fue positiva a *G. duodenalis* (figura 42).

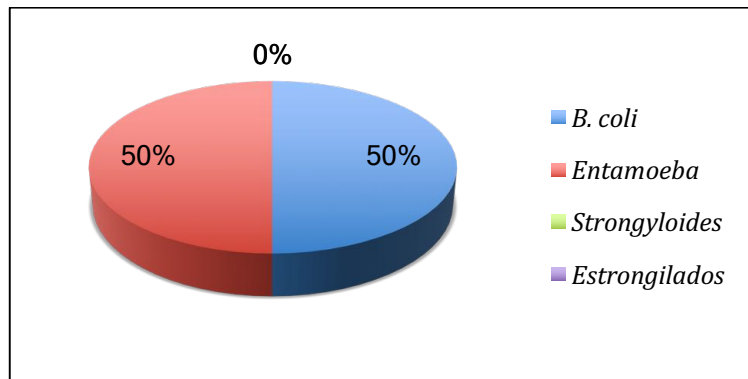


Figura 42. Porcentaje que representa cada parásito asociado a *G. duodenalis*.

4.1.1.3. *E. histolytica/dispar*

Un total de 11 muestras contuvieron quistes del protozoo *Entamoeba* spp.

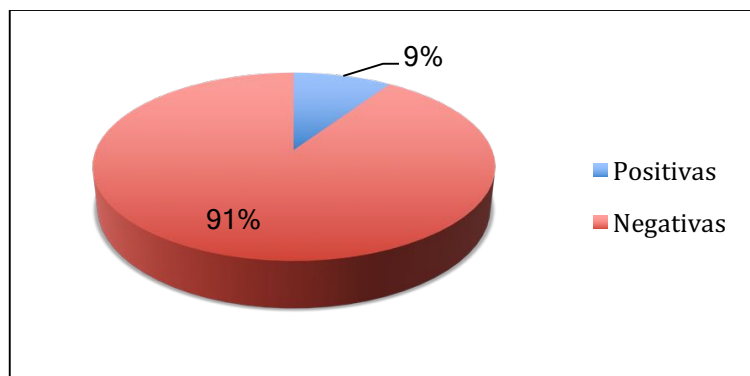


Figura 43. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *E. histolytica/dispar*, con respecto al total de muestras del estudio.

Éstas 11 supusieron un 16,7% del total de las muestras infectadas con algún parásito zoonótico (figura 44).

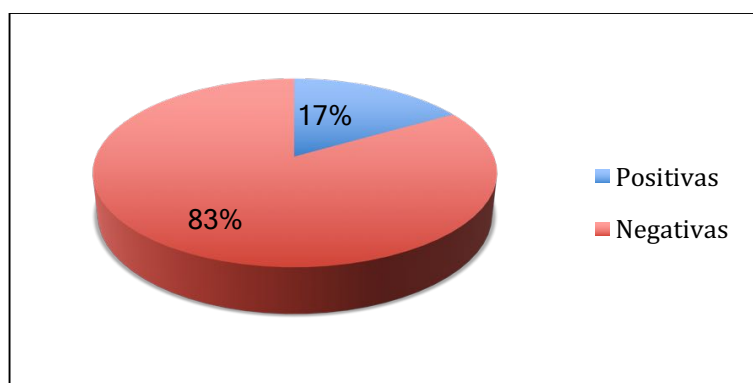


Figura 44. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *E. histolytica/dispar*, con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.

En cuanto a la distribución de *Entamoeba* spp. en el santuario, se observa que en “Gismo” ninguna muestra fue positiva, mientras que en las otras tres representan en “Royal” un 9,5%, en “Sickbay” un 11,1% y “Skrow” un 18,2% (tabla 15).

Tabla 15. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a *E. histolytica/dispar*.

Instalación	n	+	% positivos	EE
Royal	21	2	9,5	0,06
Sickbay	27	3	11,1	0,06
Gismo	36	0	0	0
Skrow	33	6	18,2	0,07
Total	117	11	9,4	0,03

n: número de muestras; +: número de muestras positivas; % positivos: porcentaje de muestras positivas con respecto a n; EE: error estándar.

E. histolytica/dispar se encontró en asociación en cinco ocasiones (45,45%) con *B. coli* y *Strongyloides* spp. En cambio, con *G. duodenalis* sólo se asoció en una ocasión (9,1%) (tabla 16).

Tabla 16. Asociación de *E. histolytica/dispar* con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Parásito asociado	n	% asociación
<i>B. coli</i>	5	45,4
<i>G. duodenalis</i>	1	9,1
<i>Strongyloides</i> spp.	5	45,5
Estrongilados	0	0
Total	11	100

n: número de muestras positivas a *E. histolytica/dispar* y al parásito asociado; % asociación: porcentaje de asociación entre ambos parásitos.

Al igual que sucede con *G. duodenalis*, todas las muestras positivas estuvieron asociadas a otros parásitos zoonóticos por lo que los porcentajes de representación son idénticos aunque sólo se tenga en cuenta las muestras en las que se encuentra asociado (figura 45).

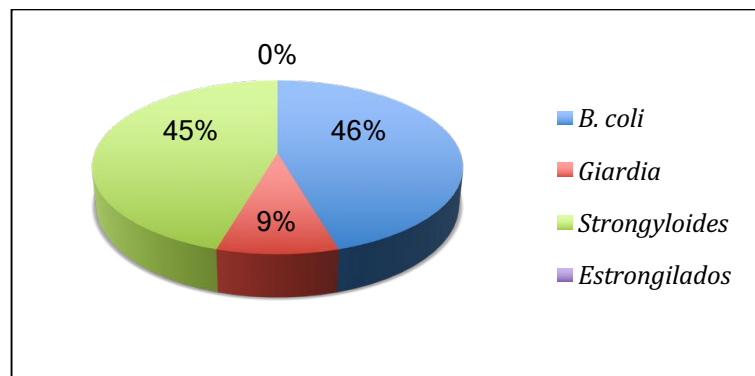


Figura 45. Porcentaje que representa cada parásito asociado a *E. histolytica/dispar*.

4.1.1.4. *Strongyloides* spp.

Strongyloides spp. fue uno de los parásitos más identificados, estando presente en 28 (23,9%) de las muestras analizadas (figura 46).

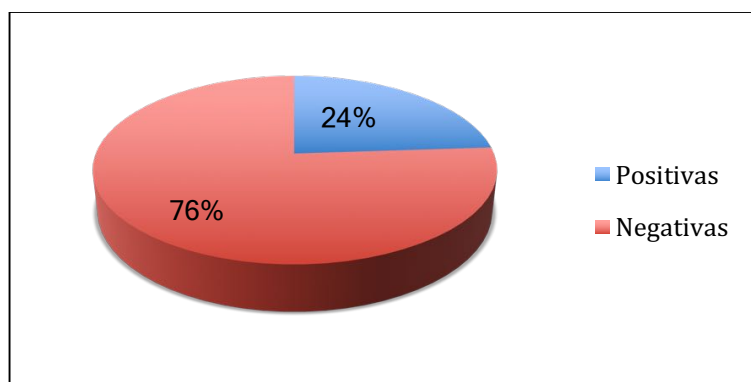


Figura 46. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *Strongyloides* spp., con respecto al total de muestras del estudio.

Con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico, *Strongyloides* spp. estuvo presente en un 42,4% (figura 47).

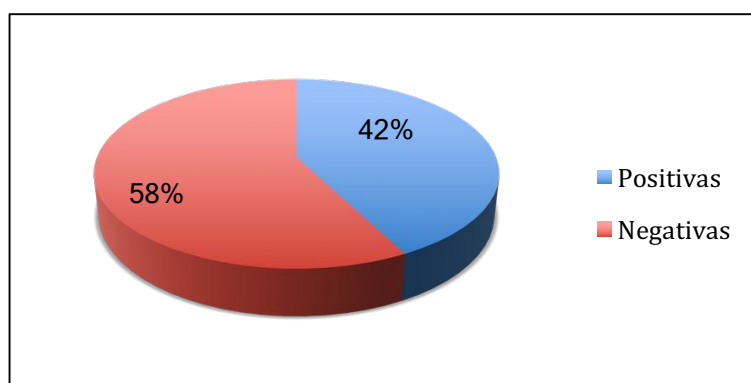


Figura 47. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *Strongyloides* spp., con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.

Las muestras positivas se hallaron en las cuatro instalaciones analizadas y su distribuyeron del siguiente modo: cuatro de ellas en “Royal” (19%), 10 en “Sickbay” (37%), ocho en “Gismo” (22,2%) y seis en “Skrow” (18,2%) (tabla 17).

Tabla 17. Cantidad y porcentaje de muestras positivas al género *Strongyloides*.

Instalación	n	+	% positivos	EE
Royal	21	4	19	0,08
Sickbay	27	10	37	0,09
Gismo	36	8	22,2	0,07
Skrow	33	6	18,2	0,07
Total	117	28	23,9	0,04

n: número de muestras; +: número de muestras positivas; % positivos: porcentaje de muestras positivas con respecto a n; EE: error estándar.

En más de la mitad de los casos que se encontró asociado *Strongyloides* spp. con otro parásito zoonótico, fue con *B. coli* (57,1%). También se identificó en cinco ocasiones asociado a *E. histolytica/dispar* y en dos a estrongilados (tabla 18).

Tabla 18. Asociación de *Strongyloides* spp. con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Parásito asociado	n	% asociación
<i>B. coli</i>	16	57,1
<i>G. duodenalis</i>	0	0
<i>E. histolytica/dispar</i>	5	17,9
Estrongilados	2	7,1
Total	23	82,1

n: número de muestras positivas a *Strongyloides* spp. y al parásito asociado; % asociación: porcentaje de asociación entre ambos parásitos

Si se tiene en cuenta los porcentajes que representaron los parásitos asociados con *Strongyloides* spp., *B. coli* representó un 69,6%, *E. histolytica/dispar* un 21,7% y los estrongilados un 8,7% (figura 48).

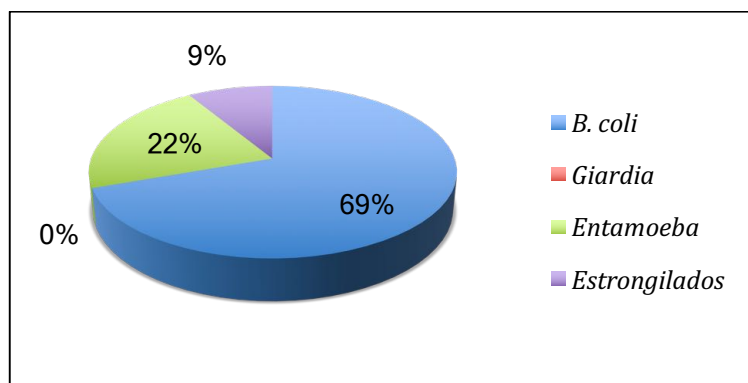


Figura 48. Porcentaje que representa cada parásito asociado a *Strongyloides* spp.

4.1.1.5. Estrongilados

De las 117 muestras analizadas, en el 6% se identificaron huevos de tipo estrongilado (figura 49).

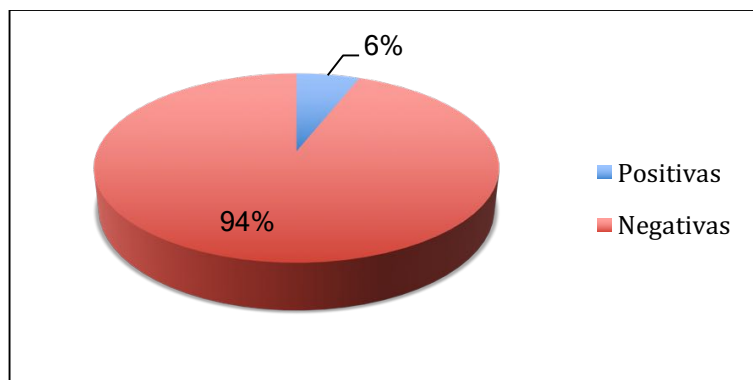


Figura 49. Porcentaje de muestras positivas y negativas a estrongilados, con respecto al total de muestras del estudio.

De las muestras positivas a parásitos zoonóticos, los estrongilados se identificaron en un 10,6% (figura 50).

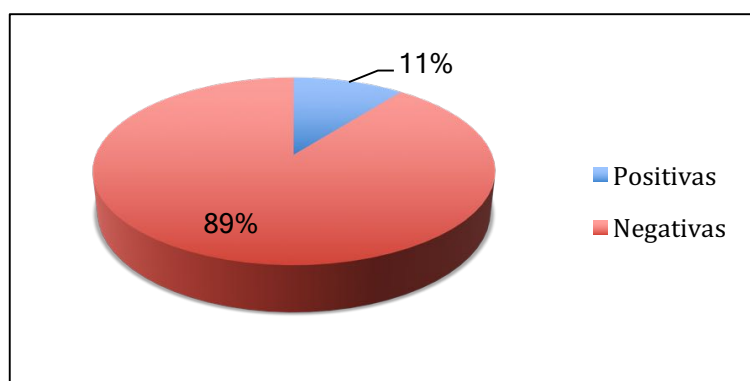


Figura 50. Porcentaje de muestras positivas y negativas a estrongilados, con respecto al total de muestras positivas a algún parásito zoonótico.

Los huevos de estrongilados sólo se hallaron en siete muestras distribuidas en dos instalaciones. En “Sickbay” se obtuvieron cuatro de ellas y las tres restantes fueron de “Skrow” (tabla 19).

Tabla 19. Cantidad y porcentaje de muestras positivas a parásitos estrongilados.

Instalación	Muestras	Positivos	% Positivos	EE
Royal	21	0	0	0
Sickbay	27	4	14,8	0,07
Gismo	36	0	0	0
Skrow	33	3	30,3	0,05
Total	117	7	6	0,02

n: número de muestras; +: número de muestras positivas; % positivos: porcentaje de muestras positivas con respecto a n; EE: error estándar.

La tabla 20 muestra las veces en las que los estrogilados se encontraron asociados. Se puede observar que de las seis asociaciones, en tres de ellas fue con *B. coli*, en dos ocasiones con *Strongyloides* spp. y en una con *E. histolytica/dispar* (tabla 20).

Tabla 20. Asociación de estrogilados con otros parásitos gastrointestinales zoonóticos.

Parásito asociado	n	% asociación
<i>B. coli</i>	3	42,9
<i>G. duodenalis</i>	0	0
<i>E. histolytica/dispar</i>	1	14,3
<i>Strongyloides</i> spp.	2	28,6
Total	6	85,8

n: número de muestras positivas a estrogilados y al parásito asociado; % asociación: porcentaje de asociación entre ambos parásitos.

De los parásitos que se encontraron en asociación con los estrogilados, *B. coli* representó un 50%, *E. histolytica/dispar* un 17% y *Strongyloides* spp. un 33% (figura 51).

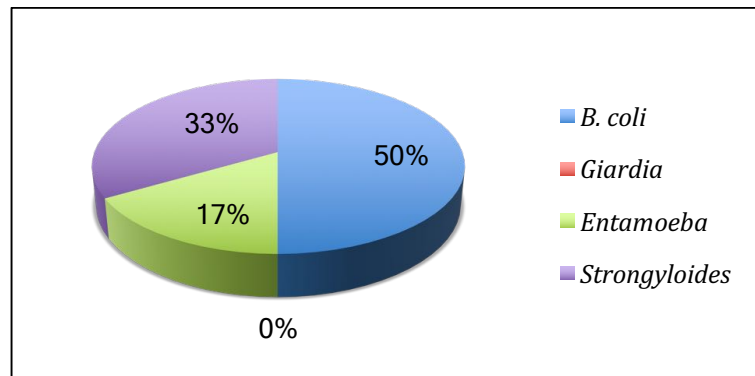


Figura 51. Porcentaje que representa cada parásito asociado a estrogilados.

4.1.1.6. Resultados globales

Teniendo en cuenta de forma global los resultados obtenidos de cada parásito, el parásito más presente en las muestras fue *B. coli* (48%), seguido de *Strongyloides* spp. (31%), *E. histolytica/dispar* (12%), estrogilados (8%) y el menos representado fue *G. duodenalis* (<1%) (figura 52).

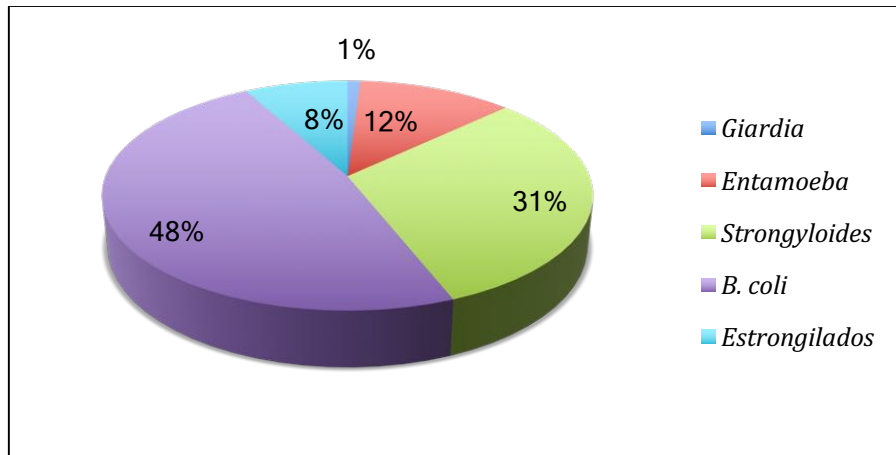


Figura 52. Porcentaje de presencia de los distintos parásitos zoonóticos encontrados.

Los parásitos que mayor porcentaje de asociación presentaron fueron *G. duodenalis* y *E. histolytica/dispar* que se encontraron siempre asociados con otros parásitos zoonóticos, seguidos de los estrongilados (85,7%) y *Strongyloides* spp. (82,1%). Quedando en último lugar esta *B. coli* con un 63,6% (figura 53).

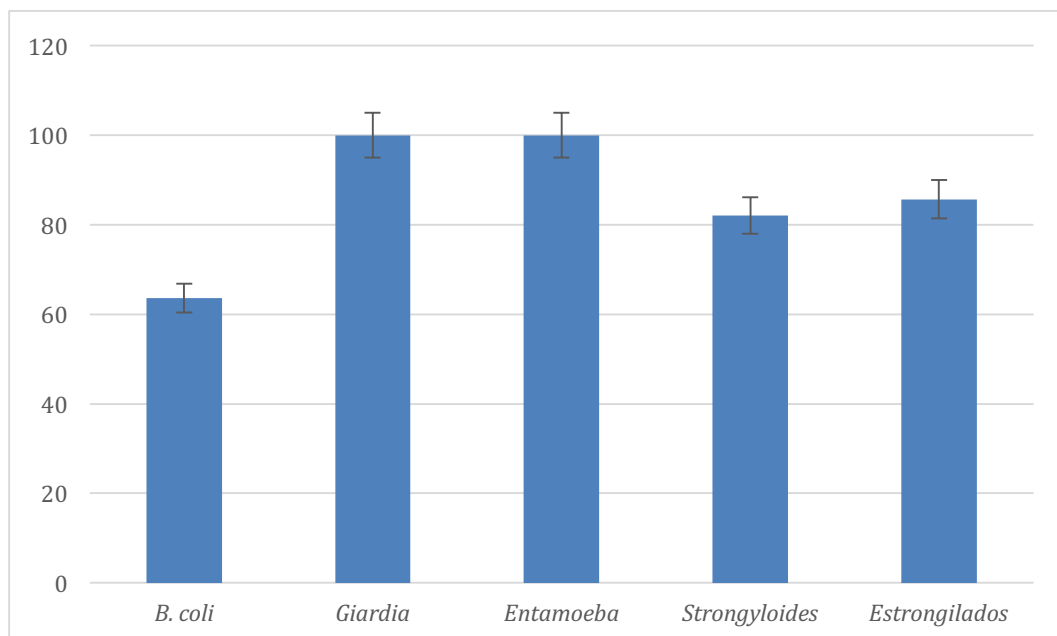


Figura 53. Porcentajes de asociación de cada parásito a otros parásitos zoonóticos.

Todos los parásitos gastrointestinales identificados presentaron porcentajes de infección similares en machos y en hembras.

4.1.2. Parásitos hemáticos

Ninguna de las 49 muestras de sangre analizadas ofreció un resultado positivo a parásitos hemáticos en el examen de gota gruesa ni en el frotis.

4.1.3. Ectoparásitos

De los 99 individuos muestreados, diez de ellos presentaron signos dérmicos (10,1%) y por tanto, se realizaron raspados cutáneos (superficiales y profundos) de la periferia de sus lesiones (figura 54).

Ninguno de los diez raspados profundos dio positivo y únicamente un raspado superficial, de la instalación SAAV, fue positivo a *S. scabiei*. Por tanto, el 10% (figura 54) de los individuos con síntomas dérmicos dieron positivo a *S. scabiei*. Que significó un 1% (EE=0,008) (figura 55) de la muestra de ectoparásitos.

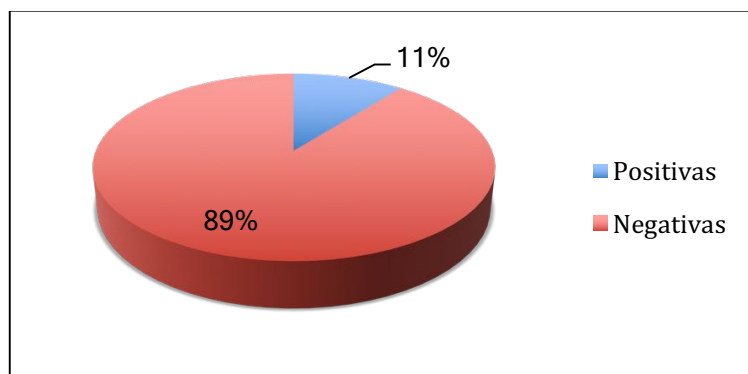


Figura 54. Porcentaje de muestras con signos dérmicos positivas a *S. scabiei*.

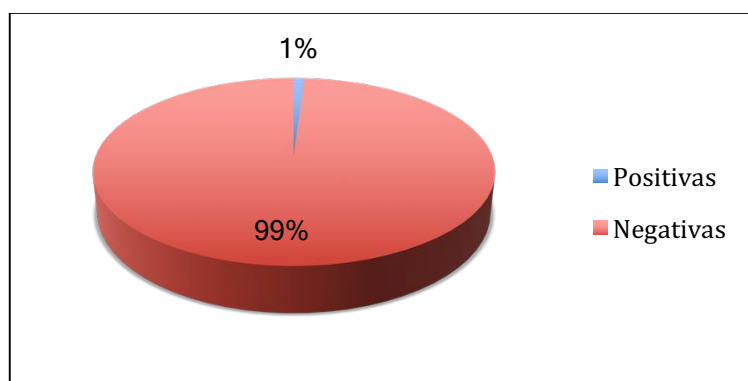


Figura 55. Porcentaje de muestras positivas a *S. scabiei* con respecto al total de muestras.

4.2. Personal y zonas de trabajo

La Tabla 21 muestra los resultados obtenidos para la categoría voluntarios. Ésta llevó a cabo seis actividades en cinco zonas del centro, entraron en contacto directo con los animales en una actividad, que fue la única catalogada como temporal y los agentes biológicos a los que se pudieron exponer fueron los presentes en heces, orina y saliva.

Tabla 21. Resultados categoría voluntarios.

Actividad	Zona	Contacto	Agente biológico	Temporalidad
Limpieza y desinfección de alimentos de los animales	Mainfeed	No	Heces, orina, saliva	Global
Corte de alimentos y preparación de platos	Mainfeed	No	Heces	Global
Distribución de comida animales	Instalación principal	No	Heces	Global
Rellenado de bebederos	Instalación principal y satélite	No	Heces, saliva	Global
Atención de crías	Disneyland	Sí	Heces, saliva, orina	Temporal
Preparación de comida para humanos	Cottage	No	Heces, saliva	Global

Contacto: No: no existe contacto directo, Sí: sí existe contacto directo.

La tabla 22 refleja los resultados obtenidos para la categoría del personal local. En ella se observa que esta categoría realizó seis actividades en cinco zonas del centro pero en ningún caso entró en contacto directo con los animales ni realizó ninguna actividad temporal aunque se expuso a material fecal, así como a orina y saliva.

Tabla 22. Resultados categoría personal local.

Actividad	Zona	Contacto	Agente biológico	Temporalidad
Descarga y organización de alimentos	Mainfeed	No	Heces, orina, saliva	Global
Selección de alimentos a procesar para los platos	Mainfeed	No	Heces, orina, saliva	Global
Limpieza y desinfección de platos de comida	Mainfeed	No	Heces, orina, saliva	Global
Limpieza y desinfección de instalaciones	Instalación satélite	No	Heces, saliva, orina	Global
Traslado de jaulas de transporte	Instalación satélite y enfermería	No	Heces, saliva, orina	Global
Retirada de basuras	Cottage y Village	No	Heces, saliva, orina	Global

Contacto: No: no existe contacto directo, Sí: sí existe contacto directo.

La categoría de personal extranjero llevó a cabo cinco actividades en cuatro zonas del santuario. Entró en contacto directo con los animales en una ocasión, realizó una actividad temporal y se pudo exponer a agente biológicos presentes en el material fecal así como a orina y saliva (tabla 23).

Tabla 23. Resultados categoría personal extranjero.

Actividad	Zona	Contacto	Agente biológico	Temporalidad
Administración tratamientos	Instalación principal, satélite y enfermería	Sí	Heces, orina, saliva	Global
Preparación de platos de la enfermería	Enfermería	No	Heces	Global
Limpieza y desinfección de instalaciones	Enfermería	No	Heces, orina, saliva	Global
Distribución de los biberones de leche	Instalación principal, satélite y Disneyland	No	Heces, saliva, orina	Temporal
Aislamiento y captura de animales	Instalación satélite	No	Heces, saliva, orina	Global

Animal: No: no existe contacto directo, Sí: sí existe contacto directo.

5. Discusión

5.1. Parásitos zoonóticos

Tanto las enfermedades emergentes como las tropicales olvidadas constituyen un grupo de enfermedades a tener en cuenta en los desplazamientos de viajeros, especialmente cuando los viajeros residen en países con un alto estatus sanitario y viajan a zonas de estatus menor, con escasez de medios sanitarios y/o peores condiciones de higiene. En este caso, los viajeros pueden verse afectados gravemente al entrar en contacto con enfermedades que su sistema inmune desconoce (Marcos *et al.*, 2008) o actuar como portadores de patógenos exóticos al volver a su país de origen (Gotuzzo *et al.*, 1999).

Los programas de voluntariado de centros de rehabilitación de animales silvestres de África, intentan captar voluntarios de países desarrollados, principalmente de Europa y Estados Unidos. Esto se debe principalmente a dos motivos: a) los voluntarios tienen un poder adquisitivo alto en comparación al país donde se desarrolla el voluntariado y b) aumentan las posibilidades de encontrar personas lo suficientemente sensibilizadas con la conservación y el bienestar animal como para que estén dispuestas a ayudar al centro ofreciendo trabajo y ayuda económica (Ferrie *et al.*, 2014).

5.1.1. Parásitos gastrointestinales

Los parásitos gastrointestinales zoonóticos constituyen un grupo a tener en cuenta para la elaboración de programas de prevención de zoonosis en el centro, ya que, estuvieron presentes en la mitad (50,4%) de las muestras de heces analizadas. Además, en casi la mitad (49,1%) de las muestras positivas se encontró más de un parásito zoonótico asociado, lo que multiplica el riesgo biológico de las heces.

Se recogieron muestras de cuatro instalaciones del centro, lo que permitió valorar si la distribución de los parásitos zoonóticos gastrointestinales encontrados está localizada en una única instalación o parece estar distribuida por el santuario. Además, las muestras incluidas en esta investigación procedieron aproximadamente la mitad de machos y la otra mitad de hembras a excepción de la instalación "Royal" donde los machos representaron más de un 70% de la muestra de esa instalación. Este hecho hace que se pueda estimar si existe una diferencia entre machos y hembras en las otras tres instalaciones estudiadas.

En 2002, Karere y Munene encontraron que las hembras tenían mayor carga parasitaria de *Strongyloides* spp. que los machos. Para todos los parásitos identificados en esta investigación, incluidos *Strongyloides* spp., los porcentajes de infección fueron similares en machos y en hembras. Esta diferencia con Karere y Munene podría deberse al género de primate estudiado, ya que ellos estudiaron *Cercopithecus* spp. en libertad y no *Chlorocebus* spp. También puede deberse al modo de alojamiento, ya que unos están en libertad y otros en un santuario donde la densidad de animales es superior.

5.1.1.1. *B. coli*

Pese a que el hospedador principal de este protozoo son los suidos, los primates y en particular los alojados en cautividad pueden actuar como reservorios ya que presentan importantes prevalencias (Kilbourn *et al.*, 2003; Schuster y Ramírez-Ávila, 2008).

Los resultados de este estudio mostraron que se trata del parásito más representado en este santuario apareciendo en más de un tercio (37,6%) de las muestras de heces analizadas. El porcentaje obtenido de parasitosis de este protozoo es similar al obtenido por Levecke y colaboradores en 2007. Este hecho era esperable, ya que su ciclo de vida directo y la alta densidad de animales fomentan su transmisión (Schuster y Ramírez-Ávila, 2008). Además, en muchas ocasiones la infección cursa de forma asintomática o leve (Kuntz, 1982), lo que perpetúa la presencia del parásito en las instalaciones.

En las cuatro instalaciones se identificaron muestras positivas a *B. coli*, lo que confirma su relevancia en el centro ya que su distribución parece estar generalizada en el centro.

En 2015, Barbosa y colaboradores observaron que *B. coli* se encontraba asociado únicamente con *Entamoeba* spp. en el 30,83% de las veces que fue identificado. En cambio, en el presente estudio, en el 36,4% de las veces que se identificó *B. coli*, éste se encontró asociado a *Strongyloides* spp., mientras que en el 15,9% se asoció con *E. histolytica*. En cambio, en menos del 10% se asoció con estrongilados y *G. duodenalis*. Si se comparan los porcentajes totales de asociación, el obtenido en este estudio (63,7%) es superior al obtenido por Barbosa y colaboradores (30,8%). Esta diferencia podría ser debida a que en esta investigación se utilizan heces de animales en semilibertad mientras que en el otro estudio son animales de un centro de investigación donde las instalaciones suelen ser

desinfectadas con regularidad, algo imposible de llevar a cabo en las instalaciones principales de VMF. Hecho que también podría explicar que Barbosa no encontrara *Strongyloides* spp.

Al comparar el porcentaje de asociaciones que presenta *B. coli* y *Entamoeba* spp., en este estudio, se ha hallado un menor porcentaje (15,9%) que el que observó Barbosa y colaboradores (30,8%). Esta diferencia puede ser por una menor presencia del parásito en VMF, pero hay que considerar que Barbosa y colaboradores agruparon todo el género *Entamoeba* mientras que en esta investigación se excluyó *E. coli* por no tratarse de un agente zoonótico patógeno.

Hay que tener especial cuidado con las muestras contaminadas con *B. coli* y *Strongyloides* spp. Estas muestras mostrarán un potencial zoonótico elevado por ser infectivas al hombre tanto por mecanismos directos como indirectos.

Este parásito no generó importantes limitaciones con respecto a la identificación de las formas parasitarias debido a su sencillez de identificación microscópica. El quiste es la forma infectiva pero el proceso de enquistación del trofozoíto puede producirse fuera del hospedador. Por este motivo, las muestras se consideraron positivas cuando se identificó cualquiera de estas dos formas parasitarias.

5.1.1.2. *G. duodenalis*

Giardia spp. es un protozoo muy prevalente en numerosas especies de mamíferos (Flynn, 2007). Se ha descrito en primates en numerosas publicaciones científicas (Nizeyi *et al.*, 1999; Ye *et al.*, 2012), si bien es cierto, que en la mayoría de estos trabajos no se determina la especie por tratarse de estudios de campo.

Los resultados revelaron la presencia de trofozoítos de este parásito en una sola muestra (0,8%), lo que ofrece una representación muy inferior a las prevalencias encontradas en animales en cautividad en la bibliografía consultada (41%; Levecke *et al.*, 2007). Este bajo porcentaje de presencia, junto que es un parásito de ciclo directo que se transmite a través de quistes resistentes al ambiente, hacen pensar que podría ser un parásito con poca importancia epidemiológica en la colección, centrada su distribución en "Royal". Este hallazgo se podría explicar al tratarse de la única instalación estudiada situada

en el perímetro de la fundación. Este hecho hace que los animales de esta instalación estén más expuesto a los animales silvestres que en las otras tres instalaciones. Para comprobar esta hipótesis, sería interesante estudiar si existen diferencias en la presencia de parásitos zoonóticos entre las instalaciones de la periferia de la fundación y las que se sitúan en el centro.

Hay que tener también en cuenta que la excreción de este parásito puede ser intermitente por lo que se podría haber infravalorado su presencia (Johnston *et al.*, 2003). No se pudieron obtener muestras seriadas de los individuos ya que los animales no volvían a entrar en las jaulas satélites al día siguiente de haber sido muestreados; y, haberlos mantenido tres días aislados de su grupo, para asegurar la toma seriada podría haber desestabilizado la jerarquía social del grupo.

G. duodenalis se encontró asociado a otros dos parásitos (*B. coli* y *E. histolytica/dispar*) lo que podría indicar, dada la presencia tan baja que tiene en la colección, que de algún modo este individuo en particular tuviera cierta predisposición a ser parasitado, ya que sólo un 5,08% de las muestras mostraron tres o más parásitos zoonóticos (Barbosa *et al.*, 2015). Sería interesante comprobar mediante otros métodos si los animales infectados por varios parásitos son individuos con un sistema inmune deprimido.

5.1.1.3. *E. histolytica/dispar*

La presencia de este parásito en la colección de estudio (9,4%) es inferior a la encontrada en la bibliografía en condiciones de cautividad (40%; Levecke *et al.*, 2007). Considerando este dato, se debe tener en cuenta que los primates estudiados están alojados en un centro de rehabilitación en condiciones de semilibertad e instalaciones naturales, mientras que el estudio referenciado se realizó en varios parques zoológicos europeos. Estos últimos centros, suelen disponer de menor espacio disponible lo que resulta en una mayor densidad de animales. Esto, junto al ciclo de vida directo y que la supervivencia de los quistes es de un mes, en el mejor de los casos, podría explicar la diferencia de prevalencia. Otro motivo es el anteriormente expuesto, para este estudio *E. coli* fue excluida por no ser considerado un agente zoonótico. No se tuvo acceso a técnicas moleculares para la diferenciación entre *E. histolytica* y *E. dispar*. Este hecho es habitual en la mayoría de estudios de campo (Verweij *et al.*, 2003; Phillips *et al.*, 2004; Levecke, 2010; Friant *et al.*,

2016). Por consiguiente, no se pudo determinar si la especie encontrada era la patógena o no. Además, estudios recientes postulan que existen diferencias entre las cepas de *E. histolytica* de primates y las de humanos (Suzuki *et al.*, 2007). Probablemente en el futuro y con el avance de las técnicas de ADN se pueda dilucidar mejor el potencial zoonótico de este parásito y mejorar la especificidad de los diagnósticos.

Este protozoo se encontró en tres de las cuatro instalaciones estudiadas lo que hace pensar que es un parásito común en la colección, aunque su identificación haya sido mucho menor a la esperada. Su presencia generalizada no debe sorprender ya que los antiparasitarios utilizados de forma preventiva en el santuario no actúan contra este parásito por lo que se deberá tener en cuenta a la hora de actualizar el programa sanitario.

Los resultados obtenidos en este estudio apoyan los encontrados por Barbosa y colaboradores en 2015. En todas las muestras en las que se encontró este parásito, estuvo asociado a otros parásitos zoonóticos, principalmente *B. coli* o *Strongyloides* spp. por lo que se podría pensar que la presencia de estos dos podría facilitar la colonización del colon por parte de *E. histolytica/dispar* como sugirió Barbosa y colaboradores, aunque no hay que olvidar que *B. coli* y *Strongyloides* spp. son los parásitos que más se han identificado por lo que es normal que se encuentren más veces asociados a ellos que a otros.

5.1.1.4. *Strongyloides* spp.

Como ya se ha mencionado, en ciertas condiciones de cautividad, este género puede no estar presentes como ocurre en el caso del estudio realizado por Barbosa y colaboradores en 2015, aunque en la mayoría de los estudios realizados con primates en cautividad, la prevalencia suele ser del 24%. Los resultados que se han obtenido por el presente estudio están en concordancia ya que se ha estimado la presencia de *Strongyloides* spp. en un 23,9%.

De hecho, es un género ampliamente distribuido en los primates, afectando a especies de Centroáfrica y el sur de África (Karere y Munene, 2002; Flynn, 2007). Este parásito se distribuyó de forma homogénea en las cuatro instalaciones muestreadas durante el estudio. Destacando “Sickbay”, que presentó casi el doble de presencia (37%) que las otras tres que demostraron una presencia media de 19,8%. Se trata de un parásito generalizado en el santuario ya que las instalaciones con suelo de tierra facilitan la viabilidad

de las formas parasitarias de vida libre (Flynn, 2007). Este tipo de suelo fue encontrado en todas las instalaciones principales muestreadas en el estudio, y podría explicar la homogénea distribución de este género en los resultados. El caso de la instalación “Sickbay”, debería estudiarse en profundidad para intentar dilucidar qué factores pueden estar favoreciendo esta parasitosis. La densidad de animales y la vegetación de las instalaciones suelen ser similares en todas las instalaciones por lo que no deberían ser factores influyentes. Por el contrario, la zona donde se localiza “Sickbay” es la zona más declive de la fundación y en época de lluvias acumula más agua que el resto, lo que justificaría que la tierra mantuviera más humedad favoreciendo la viabilidad de las fases de vida libre.

Este parásito demostró una alta tasa de asociación (82,1%) con el resto de parásitos zoonóticos presentes (Barbosa *et al.*, 2015). Casi en un 70% de las ocasiones se asoció con *B. coli*, mientras que el otro 30% restante de ocasiones se asoció mayoritariamente con *E. histolytica/dispar* y en menor importancia (8,7%) con estrongilados. Hay que destacar que *B. coli* sólo se asoció con *Strongyloides* spp. en un 36,4% de las ocasiones. Lo que podría hacer pensar que un animal parasitado por *B. coli* tiene una mayor facilidad de ser parasitado posteriormente por *Strongyloides* spp. La colitis crónica ocasionada por el protozoo favorecería la colonización del colon por *Strongyloides* spp.

Este estudio no pudo acceder a técnicas laboratoriales para diferenciar entre las especies zoonóticas (*S. fülleborni/stercoralis*) de otras especies no zoonóticas (*S. cebus*). Pero, dado que *S. cebus* sólo se ha descrito en primates del nuevo mundo originarios de Latinoamérica (Phillips *et al.*, 2004) y que las especies más frecuentes en África y principalmente en zonas cercanas a poblaciones humanas son las zoonóticas (Gillespie y Chapman, 2008) trataremos el hallazgo de este género en este estudio como de importancia zoonótica.

5.1.1.5 Estrongilados

Los estrongilados fueron los helmintos gastrointestinales menos representados en el estudio (6%). Su prevalencia en primates silvestres se ha descrito de entre un 0 y un 17% (Chapman *et al.*, 2006b) y en cautividad de 0,1 a 1,6% (Zanzani *et al.*, 2015). Por lo que la presencia ocurrida en el estudio se sitúa entre las poblaciones silvestres y las cautivas. Probablemente aun presentando un ciclo de vida indirecto, las condiciones de semilibertad

del centro en instalaciones naturales con superficies que facilitan el desarrollo de las larvas infectivas a partir de los huevos eliminados, junto con unas condiciones de mayor densidad de animales, favorezca su presencia en comparación a las prevalencias encontradas en cautividad en zoos. Tanto los zoos como este santuario administran desparasitaciones internas a los primates alojados lo que reduce la incidencia de este tipo de parásitos. VMF aloja 600 monos vervets lo que hace difícil administrar de forma correcta y periódica los antiparasitarios, por tanto, podría ser también la razón por la que encontramos mayor presencia de estrombilidos en VMF que en los zoos.

Este grupo de parásitos solo estuvo presente en dos de las cuatro instalaciones estudiadas, lo que podría indicar una distribución no homogénea del parásito en el centro. Estas dos instalaciones se encuentran en la zona media y baja del centro, por lo que podría ser interesante analizar si la orografía podría influir en la distribución de este grupo parasitario.

Su porcentaje de asociación a otros parásitos zoonóticos fue alto (85,7%) (Foerster *et al.*, 2015) lo que puede indicar que los animales afectados podrían tener cierta predisposición a la parasitosis. También se puede explicar este hecho teniendo en cuenta, que al ser el menos representado, tenía más posibilidades de encontrarse junto a otros parásitos en el mismo individuo.

No se tuvo acceso a medios para el cultivo larvario para poder determinar el género y la especie de los estrombilidos encontrados, ya que, en el aspecto zoonótico la especie más importante es *Oesophagostomum bifurcum* (Polderman y Blotkamp, 1995; Pit *et al.*, 1999; Yelifari *et al.*, 2005). No se puede asegurar que los huevos encontrados pertenecieran al género *Oesophagostomum* pero es cierto que la prevalencia de este género es muy superior a otros géneros de estrombilidos en primates (Kooriyama *et al.*, 2010; Levecke, 2010; Kouassi *et al.*, 2015). Por ello se ha considerado el hallazgo de este género como de importancia zoonótica.

5.1.2. Parásitos hemáticos

Bajo el punto de vista zoonótico los parásitos hemáticos determinados de importancia para este estudio se centraban en el género *Plasmodium*. La zona donde se realizó el estudio es una localidad histórica en la lucha contra la malaria, de hecho, en la

ciudad de Tzaneen se encuentra el “Limpopo Malaria Institute” (Instituto para la investigación de la malaria en Limpopo) del departamento de sanidad del gobierno sudafricano que desarrolla el programa de control de la malaria para toda la provincia del Limpopo (Statistics South Africa, 2013). Este proyecto se desarrolló en Tzaneen dado a la alta prevalencia de casos de malaria humana, probablemente por el microclima húmedo que presenta y a su cercanía a zonas deshabitadas como el Parque Nacional Kruger. Este instituto ha desarrollado y financiado grandes campañas de control de la enfermedad desde 1946 que aún se mantienen a día de hoy como el rociado con DDT de los interiores de las viviendas (Gaspar *et al.*, 2016).

La lucha contra la malaria en Sudáfrica se ha centrado en la erradicación del vector *Anopheles phenestus*, el cual prácticamente solo se alimenta del humano. El olvido de otras especies del género *Anopheles* podría ser la razón del por qué no se ha conseguido la erradicación de la enfermedad. El no generalizar a otras especies los tratamientos contra los vectores podría dejar como reservorios de la enfermedad especies distintas al humano, ya que se ha demostrado que el género *Plasmodium* afecta a muchas especies de mamíferos e incluso aves (Dobson y Foufopoulus, 2001; Kaiser *et al.*, 2010). Este hecho es de vital importancia ya que se ha probado que los primates pueden actuar de reservorios y hospedadores paraténicos de las cinco especies de *Plasmodium* que afectan al humano (Liu *et al.*, 2010).

Nuestro estudio no encontró ninguna forma parasitaria compatible con el género *Plasmodium*, tras aplicar las técnicas de diagnóstico laboratorial habituales para el diagnóstico de malaria.

Este hecho puede tener tres lecturas diferentes: (1) los monos vervets no sufren la infección ni actúan como hospedadores paraténicos para las especies de *Plasmodium* presentes en la zona, (2) los monos vervets del centro no han tenido nunca contacto con el parásito o (3) las técnicas laboratoriales aplicadas no ofrecen la suficiente sensibilidad a la detección del parásito.

En el primero de los supuestos no existe bibliografía al respecto como para descartarlo ni para afirmarlo. Fue en 2006 cuando saltaron las alarmas a nivel mundial acerca de la infección masiva de malaria en personas de Indonesia por una especie de *Plasmodium* típica de primates (Vythilingam *et al.*, 2006). Por lo que la mayoría de especies de primates aún no han sido estudiadas para determinar si pueden ser relevantes en la

epidemiología de la malaria humana. Además, los monos vervets podrían carecer de los antígenos eritrocitarios necesarios para la infección de los eritrocitos por parte de estos protozoos (White y Krishna, 1989; Gravenor *et al.*, 1998).

El segundo supuesto también es complicado de descartar, ya que las campañas de control de vectores así como los datos oficiales de infección y mortalidad por malaria en Sudáfrica se presentan con mucho retardo. A día de hoy se disponen de los datos de la década de entre 1997 y 2007 (South African Statistics, 2013), por lo cual, hasta dentro de casi una década, no se podrá comparar con datos oficiales cuantos casos de malaria humana hubieron en la zona durante el tiempo que estuvieron alojados los individuos muestreados en este centro (Christian *et al.*, 2015).

En el tercer supuesto se sabe que existen técnicas muy sensibles para la detección de parásitos hemáticos como las PCR para *Plasmodium* spp. (Kaiser *et al.*, 2010). Desgraciadamente por razones económicas y técnicas, este estudio no pudo acceder a ellas. Aun así en caso de detectarse el parásito por PCR, esta técnica no puede diferenciar en qué fase parasitaria se encuentra el parásito (gametocito, esquizonte o trofozoíto) ni si el animal está actuando como hospedador, reservorio u hospedador paraténico (Valkiūnas *et al.*, 2011). Para solucionar esta controversia sigue siendo necesaria la identificación del parásito, las formas parasitarias y la valoración de la parasitemia mediante microscopía óptica (INS, 2003). Que es al fin y al cabo el método que se utiliza en nuestro estudio.

Es muy probable que en un futuro próximo se aumente el interés por el estudio de las especies que pueden actuar como reservorios para la malaria. Especialmente en las zonas donde se ha invertido grandes cantidades de dinero público en campañas de erradicación sin éxito. Sería interesante ampliar el estudio en este centro a intentar demostrar presencia de ADN por PCR en la sangre de los vervets y realizar similares estudios en santuarios que alojen otras especies de primates.

5.1.3. Ectoparásitos

La muestra para el estudio de ectoparásitos procedió de animales alojados en 13 de las 18 instalaciones del centro. Aunque en la muestra estuvieron sobre representadas las instalaciones de “Camelot” y “Koko” se considera que la muestra es representativa de la

totalidad del centro ya que estas dos instalaciones son las más antiguas y por tanto, las que más animales albergan.

En cuanto al ratio de machos y hembras, los machos estuvieron claramente sobre representados (97%), la explicación de este hecho es que la mayoría de anestias que se realizaron fueron para llevar a cabo el control de reproducción del centro, que consiste en vasectomías. Hecho que deberá ser tenido en cuenta a la hora de extrapolarlo a hembras.

Este estudio no encontró ningún parásito externo en las exploraciones físicas que se realizaron. Este hecho puede explicarse fácilmente ya que los primates sociales disponen del mecanismo comportamental del espulgamiento (“grooming”). Este comportamiento social tiene dos funciones: a) la propia del espulgamiento, es decir, la retirada de parásitos externos y b) la social, este comportamiento refuerza los lazos sociales y se utiliza como moneda de cambio en el ámbito social (Schino, 2007; Dunbar y Lehmann, 2013).

En cambio, durante las exploraciones físicas sí que se detectó en un 10% de individuos la presencia de sintomatología dérmica procediéndose a realizar raspados cutáneos. La sintomatología dérmica es un signo habitual en primates en cautividad, principalmente causada por parásitos externos (Springer y Fichtel, 2015) o por alopecias por exceso de acalamiento, comportamiento que se observa habitualmente en primates sometidos a estrés (Coleman *et al.*, 2015). Para profundizar más en el diagnóstico de estos problemas dermatológicos se debería plantear aumentar la cantidad de pruebas diagnósticas disponibles en el centro, como por ejemplo, a la realización de cultivos bacterianos y fúngicos.

5.1.3.1. *S. scabiei*

Del 10% de muestras positivas a signos dérmicos solo una mostró un resultado positivo a este ácaro. No se puede descartar que el resto de raspados pudieran haber dado falsos negativos a este parásito ya que por razones de manejo no se pudieron realizar raspados seriados y porque el centro ocasionalmente recurre a la ivermectina como fármaco antiparasitario interno (Wang *et al.*, 2008). La ivermectina podría ocasionar que los animales con sintomatología dérmica tuvieran una baja carga parasitaria de ácaros y que por tanto aumentaran las posibilidades de obtener falsos negativos (Pekkira y Kohek, 1998). Además se debe tener en cuenta que la escabiosis en zonas endémicas se puede presentar en brotes

epidémicos y que fuera de esos brotes los portadores del ácaro son pocos individuos y con poca sintomatología (Heukelbach y Feldmeier, 2006). Sería interesante realizar un seguimiento continuo en el tiempo de la aparición de sintomatología dérmica en los animales del centro para intentar detectar si existen brotes epidémicos de escabiosis.

La capacidad zoonótica de este parásito y su facilidad para propagarse por la colección de primates y a los trabajadores nos hace considerar este hallazgo como de importancia zoonótica. Se debe tener en cuenta que además de por contacto directo este parásito puede transmitirse por fómites a partir de toallas, mantas etc., lo que aumentaría el riesgo de transmisión zoonótica (Wallis y Lee, 1999).

5.2. Factores de riesgo y prevención de las zoonosis

5.2.1. Factores de riesgo para la transmisión

La zoonosis de los parásitos encontrados en el estudio se puede producir tanto de forma directa como indirecta. En el caso de la forma directa es el contacto con los animales o agentes biológicos la clave para la transmisión de los parásitos. En la indirecta en cambio, entran en juego formas parasitarias intermedias e incluso hospedadores intermediarios (Becerril, 2008).

La determinación de los factores de riesgo para la zoonosis constituye la base para el desarrollo de medidas para prevenir la transmisión de enfermedades entre el hombre y los animales en cautividad (Shakespeare, 2002).

Los resultados obtenidos del registro de actividades del personal y zonas de trabajo, nos permiten conocer las categorías de personal que se exponen a la zoonosis y a que agentes biológicos.

A continuación, los factores de riesgo se analizarán dependiendo de si la transmisión del patógeno es de forma directa o indirecta.

5.2.1.1. Transmisión directa

La transmisión directa del patógeno se puede producir por contacto directo con los parásitos presentes en los monos o con formas parasitarias infectantes presentes en agentes biológicos derivados de los vervets (heces, orina y/o saliva) (Krauss *et al.*, 2003, Lane *et al.*, 2011).

El contacto directo con los animales del centro se ha encontrado en las categorías de personal extranjero y voluntarios. De los resultados del registro de actividades se observa que el personal extranjero es el grupo de trabajadores que se encarga de la preparación en la enfermería de los tratamientos médicos individualizados de los monos enfermos y de su administración. Para su administración, los suplementos o medicamentos son mezclados con comida apetecible y son ofrecidos a los monos de forma individualizada, para evitar que otros individuos los tomen y para asegurar que es correctamente ingerido. Para administrar estos tratamientos los trabajadores entran en contacto directo con los monos ya que se ofrece directamente el tratamiento con la mano para que el mono lo coja con la boca o las manos.

En cambio, el contacto directo con los animales para los voluntarios se observó en la actividad del cuidado de las crías. Ésta, es una actividad necesaria para asegurar la supervivencia de las crías huérfanas. Las crías huérfanas son acompañadas las 24 horas del día de voluntarios para alimentarlas y monitorizar su correcto desarrollo físico y social. El centro fomenta que esta actividad se realice minimizando la interacción entre las personas y los animales, pero, a la vez debe asegurar que las crías se entrenen para beber leche de los biberones por ellas mismas y de que desarrollen comportamientos propios de la especie. Además del contacto directo piel-piel entre voluntario y primate, se observó que esta actividad exponía a los voluntarios a un contacto directo con las heces y orina de los animales así como a la saliva, ya que la conducta exploratoria típica de los primates les lleva en ocasiones a morder los objetos con los que interaccionan. Muchas veces esos objetos con los que interaccionan son las manos o la ropa de los voluntarios. Fue habitual observar que los voluntarios durante su turno de trabajo con las crías, hubieran tenido contacto con orina y heces en sus manos, cara y ropa.

Si se analizan estas actividades, junto con los resultados de los parásitos zoonóticos encontrados en el estudio, se observa que estas dos actividades pueden fomentar la transmisión de *S. scabiei*.

Este ácaro se transmite principalmente por contacto directo, por tanto, el contacto piel-piel entre los primates y los trabajadores al administrar tratamientos o en el cuidado de las crías supone un factor de riesgo para la transmisión de la escabiosis (Mumcuoglu *et al.*, 2009).

Las tres categorías de trabajadores realizaron actividades en las que la transmisión directa por contacto con las heces de los animales era posible. En el caso de los voluntarios se observó en el cuidado de las crías y rellenado de bebederos. En el personal local se observó durante la limpieza y desinfección de platos de comida e instalaciones y en el traslado de jaulas de transporte; para el personal extranjero se encontró contacto directo con heces en la limpieza y desinfección de la enfermería.

Como se ha comentado anteriormente, el cuidado de las crías se asoció con el contacto directo con las heces de las crías ya que éstas juegan, trepan, duermen y se alimentan junto con los voluntarios, lo que se traduce en que defecuen también sobre ellos. Otra actividad de los voluntarios es el rellenado de bebederos, es una actividad que se realiza dos veces al día durante la cual los voluntarios cargan regaderas llenas de agua y recorren las instalaciones vaciando los bebederos y rellenándolos de agua limpia. El agua de los bebederos se ensucia porque los animales beben en ellos, se bañan, limpian los alimentos, defecan y orinan en ella. La acción de vaciado de bebederos se intenta hacer con el menor contacto posible con el agua residual, para ello, los voluntarios se ayudan de un palo con un alambre en su punta. Pero, realizar esta acción a través de un vallado electrificado es complicado, en muchas ocasiones el agua moja al voluntario cuando se realiza el vaciado e incluso en ocasiones se debe entrar a la instalación ya que los animales han desplazado el recipiente y el trabajador no llega a alcanzarlo con el palo. Es en este momento, cuando el voluntario podría entrar en contacto con las heces de los primates alojados.

Centrándonos ahora en el personal local, ellos, dos veces al día, se encargan de ofrecer dos raciones de alimentos en todas las instalaciones del centro. Para calcular la cantidad de alimento y distribuir la ración, los alimentos son dispuestos en platos de plástico. Estos platos se distribuyen a todas las instalaciones con la ayuda de carretillas. En el caso de las jaulas de enfermería y las instalaciones satélites los platos son depositados en su interior por una media de cuatro horas, para ser posteriormente recogidos y llevados a Mainfeed para su limpieza antes de reutilizarse. Se observó que cuando se recogían los

platos de las instalaciones estos presentaban heces de los animales, por lo que la recogida, limpieza y desinfección de los platos puede poner a los trabajadores del personal local en contacto directo con las heces de los animales.

Además, el personal local limpia diariamente las jaulas satélites. El suelo se rastrilla para recoger los restos de comida y heces mientras que los tubos que conforman el entramado aéreo son lavados con una solución de jabón neutro. Posteriormente el suelo y las superficies de la instalación son desinfectados con un desinfectante comercial Vetguard Safe[®], derivado del amonio cuaternario. Tanto el rastrillado como la limpieza a mano del entramado aéreo de la instalación podría exponer al contacto con las heces a los trabajadores de la categoría personal local.

Las jaulas de transporte, como se detalló en material y métodos, son habitualmente utilizadas en el centro cada vez que se precisa el traslado de un animal. El traslado de estas jaulas entre instalaciones se realiza a mano o mediante una carretilla. Para evitar alteraciones de la jerarquía en los grupos, la mayoría de los traslados son de menos de 72 horas. En estos casos, el animal permanece todo este tiempo en la jaula de transporte, y por tanto, defeca en ella. Tanto el traslado a mano como el depositar la jaula sobre la carretilla o bajarla de ella, expuso las manos y la ropa del personal local al contacto con heces o restos de heces presentes en las varillas y perfiles metálicos de la jaula.

En el caso de la enfermería, es el personal extranjero el que se encarga de la limpieza y desinfección de esta instalación. Los animales en la enfermería son alojados en las jaulas de la propia instalación o en las jaulas de transporte. Lo que exige que diariamente deban retirarse los restos de comida y heces y desinfectarse las superficies. Como el suelo es de cemento la retirada de los restos de comida y heces se realiza mediante una raqueta limpiacristales y un recogedor, para posteriormente lavar el suelo con una solución de jabón neutro. La recogida de las heces con las raquetas y los recogedores podría exponer las manos del personal extranjero al contacto directo con las heces.

Según los resultados obtenidos para parásitos zoonóticos el contacto directo con las heces de los animales en este centro puede suponer en la transmisión de tres protozoos: *B. coli* (Schuster y Ramírez-Ávila, 2008), *E. histolytica/dispar* (Bogitsh *et al.*, 2013), *G. duodenalis* (Huang y White, 2006); y una clase de nematodos: *Strongyloides* spp. (Greiner *et al.*, 2008).

En el caso de los protozoos, los tres se transmiten vía fecal-oral por ingestión de sus quistes. Los quistes infectivos de estos parásitos pueden ser eliminados directamente en las heces. Además, *B. coli* y *G. duodenalis* también pueden ser eliminados en heces como trofozoítos, que no son infectantes, pero que se enquistan al entrar en contacto con el ambiente (Huang y White, 2006; Bogitsh *et al.*, 2013). Si se tiene en cuenta que el vaciado de bebederos, limpieza de instalaciones y platos se realiza mínimo una vez al día esto provoca que los quistes presentes en las heces con las que pueden entrar en contacto los trabajadores sean viables, ya que en el peor de los casos y ambiente seco, la viabilidad de los quistes de *B. coli*, que son los menos resistentes, es de diez días (Flynn, 2007). Del mismo modo ocurre con las jaulas de transporte que desde que se introduce un animal en ella se manipulan mínimo una vez cada tres días, asegurándose por tanto la viabilidad de los quistes.

Los nematodos zoonóticos descritos en el centro, *Strongyloides* spp. y estrongilados presentan ciclos biológicos indirectos, su transmisión al humano se produce por ingestión y/o infección percutánea de las larvas infectivas. Las larvas filariformes infectivas se desarrollan a partir de mudas de las larvas rhabditoideas no infectantes que eclosionan de los huevos (Flynn, 2007). Existe una diferencia importante entre los dos nematodos presentes, el huevo y larvas de *Strongyloides* spp. pueden incubar y mudar en el intestino, excretando larvas filariformes en heces, mientras que en estrongilados este proceso siempre se produce en el exterior del animal y en las mejores condiciones las mudas necesarias se producen en un lapso de seis días (Krauss *et al.*, 2003). Ya que se ha determinado que como máximo los restos de heces van a persistir tres días en las jaulas de transporte (menos en el resto de lugares) la transmisión de estrongilados no puede presentarse de forma directa por contacto con heces frescas. En cambio, las larvas filariformes de *Strongyloides* spp., sí deberán ser tenidas en cuenta por su potencial zoonótico en las categorías de voluntarios, personal local y personal extranjero, ya que todos en sus actividades pueden entrar en contacto directo con heces y con larvas infectivas de *Strongyloides* spp.

5.2.1.2. Transmisión indirecta

Se define la transmisión indirecta de un parásito cuando ésta se produzca por formas parasitarias que no estén presentes en el animal, o en agentes biológicos derivados de él. Dicho de otro modo, se producirá cuando el hospedador se infecte por medio de

hospedadores intermediarios o formas parasitarias infectantes presentes en el ambiente (Taylor *et al.*, 2016).

En este apartado se considera qué formas parasitarias pueden intervenir en la transmisión indirecta, y las zonas y superficies que van a contaminar. Ciertas formas parasitarias intermedias presentan resistencia ambiental o necesitan del ambiente para completar sus ciclos biológicos, por eso se determinarán que útiles de trabajo pueden verse contaminados y en qué zonas se pueden dispersar las formas parasitarias.

Aunque no es habitual, se ha descrito la transmisión por fómites (toallas, mantas, sábanas etc.) de ectoparásitos como *S. scabiei* (Wallis y Lee, 1999). En la enfermería se utilizan mantas para cubrir un extremo de la jaula de transporte. Esto, se realiza con la intención de crear un refugio para el animal y para reducir el contacto visual entre los individuos alojados en la enfermería. También se introducen mantas en la jaula de transporte para evitar que el animal se vea obligado a estar continuamente en contacto con los barrotes metálicos de la jaula. Estas mantas que se introducen en la jaula, se cambian diariamente, mientras que las que se utilizan para cubrir la jaula se retiran cuando se traslada al individuo. Los trabajadores de la categoría personal extranjero dentro de su actividad de limpieza y desinfección de la enfermería fueron los encargados de recoger estas mantas y transportarlas a unas lavadoras contiguas a la enfermería. Al haber detectado la presencia de *S. scabiei* en el centro, se debe catalogar esta actividad como un factor de riesgo para la transmisión indirecta de escabiosis.

En cuanto a los protozoos encontrados en el centro, sus quistes presentan distintos tiempos de supervivencia en el ambiente, que a su vez se ven alterados por las condiciones ambientales. *B. coli* es el que presenta menor resistencia al ambiente de sus quistes, ya que en seco sólo se mantienen viables durante diez días, sólo un poco más resisten los de *E. histolytica* (12 días) y destacan los de *G. duodenalis* como los más resistentes (dos meses). En los tres casos la humedad y el frío mejoran su supervivencia, *B. coli* y *E. histolytica* aumentan a un mes y *G. duodenalis* hasta varios meses (Taylor *et al.*, 2016). Épocas del año como enero y febrero que en el estudio registraron mayores precipitaciones mejorarán la supervivencia de los quistes. La contaminación con quistes, que son infectivos, afectará al suelo de las instalaciones, pero también, a los materiales que se utilizan en la limpieza de éstas (regaderas, carretillas, rastrillos, botas, ropa, platos) (Chowdhury y Aguirre, 2001). Objetos que son trasladados; platos, regaderas y carretillas, favorecerán la dispersión de los

quistes. La contaminación de superficies de “Mainfeed”, de instalaciones de primates y de instrumentos que se utilizan con las manos, favorecerá que pueda ocurrir la transmisión fecal-oral de los protozoos zoonóticos presentes. Todas las categorías de trabajadores registraron actividades que les exponen a estos riesgos, por lo que todos ellos presentan factores de riesgo para la transmisión indirecta de los protozoos intestinales presentes.

En el caso de los nematodos estrogilados, a partir de los huevos eliminados en las heces, eclosiona una larva que precisa de dos mudas para ser infectiva. Aunque se sospecha que se puede dar en algunos casos la infección percutánea, la mayoría de las infecciones se producen por ingestión de las larvas infectivas (Taylor *et al.*, 2016). Por tanto, es necesario que los trabajadores contaminen sus manos con las larvas para que la infección fecal-oral se produzca. El contacto con platos, bebederos, rastrillos y raquetas de limpieza que a su vez tienen contacto con el suelo donde eclosionan los huevos y mudan las larvas constituiría el factor de riesgo para la transmisión de los estrogilados. Los protocolos de limpieza y desinfección de los suelos de las jaulas satélites y los platos minimizan este riesgo, excepto en los bebederos de las instalaciones principales, los cuales son vaciados y rellenados sin desinfectarse. Por tanto el riesgo de transmisión de oesofagostomiasis se centraría en los voluntarios que son quienes realizan esa tarea.

En cambio, *Strongyloides* spp., presenta un ciclo biológico más complejo que los estrogilados. Además del ciclo homogónico en el que realiza dos mudas en condiciones desfavorables similar al de los estrogilados, presenta el ciclo heterogónico que después de un ciclo sexual de vida libre da lugar a las larvas infectantes. Otra diferencia es que las larvas de *Strongyloides* spp. sí infectan mayoritariamente al humano vía percutánea y además la fase de vida libre aumenta la dispersión del parásito (Chowdhury y Aguirre, 2001). Por tanto, los trabajadores tendrán riesgo de verse infectados por este género por contacto con objetos que puedan estar contaminados y por desplazarse por las zonas no desinfectadas cercanas a las instalaciones donde las larvas infectantes pudieran mantenerse viables. Al poseer esta versatilidad, *Strongyloides* spp. muestra riesgo de infección a las tres categorías de trabajadores del centro.

5.2.2. Estrategias para la prevención de la zoonosis

La estrategia para la prevención de zoonosis en el centro se establecerá en tres niveles: (1) control de los parásitos, (2) evitar actividades con riesgo de zoonosis y (3) evitar la propagación de los parásitos (Shakespeare, 2002).

5.2.2.1. Control de los parásitos

La aplicación de medidas que consiguieran la erradicación del parásito en el centro eliminaría el riesgo de la zoonosis al humano (Krauss *et al.*, 2003). Pero, esa solución ideal en la práctica es imposible de alcanzar.

Una de las medidas encaminadas a la eliminación de los parásitos zoonóticos sería la aplicación de tratamientos antiparasitarios. El centro acorde al manual de cuidados veterinarios de PASA (Farmer *et al.*, 2009) realiza desparasitaciones internas de amplio espectro cada tres meses de todos los animales del centro. Desgraciadamente, las peculiaridades de los primates impiden que estos tratamientos sean administrados de forma correcta. Siempre, un porcentaje de animales va a rechazar la toma del antiparasitario, sea por el rechazo al fármaco (aunque vaya debidamente oculto en comida apetecible) o porque simplemente su bajo nivel jerárquico le aconseja rechazar la comida ofrecida a cambio de evitar un conflicto con animales superiores en la jerarquía. Además, se debe tener en cuenta que cuando se ofrecen tratamientos a grupos de animales grandes, como pueden ser las instalaciones principales de este centro, la individualización del tratamiento es difícil y en esta especie la diferencia de peso entre un macho y una hembra puede ser del 100%, lo que se puede traducir en subdosificar los tratamientos destinados a los animales de mayor peso (Turner *et al.*, 1997).

Aun así, al conocer que los animales del centro presentan parásitos zoonóticos y que existen factores de riesgo para su transmisión, se debe recomendar el continuar con las desparasitaciones periódicas e incluso reforzarlas cuando sea posible, tomando las siguientes medidas:

- Intentar conocer qué individuos rehúsan la administración de los antiparasitarios y desarrollar estrategias individualizadas.
- Aislarlos cuando sea posible para asegurar la administración de los antiparasitarios.

- Cada vez que se aíse un individuo por cualquier motivo aprovechar para administrarle el antiparasitario de forma individualizada.

5.2.2.2. Evitar actividades con riesgo de zoonosis

Determinar en qué situaciones se producen contactos con animales o agentes biológicos que puedan provocar una transmisión directa de una enfermedad para evitarlos o diseñar estrategias preventivas para evitar la infección, es el siguiente paso en la escala de prevención (Shakespeare, 2002).

El estudio ha detectado diversas situaciones en las que los trabajadores entraban en contacto directo con animales, agentes biológicos u objetos que pudieran promover el contacto o ingestión de formas parasitarias infectantes.

La primera acción a tomar para evitar estos contactos sería eliminar cuando fuera posible las actividades en las que se produjera ese contacto (Krauss *et al.*, 2003). Desgraciadamente, todas las actividades que provocan este riesgo son fundamentales para la actividad del centro. Sin embargo, ya que este estudio se ha centrado únicamente en los trabajadores del centro, probablemente el conocimiento de estos factores de riesgo permitirá aplicarlo a otros tipos de visitantes del centro (turistas, escolares, investigadores...) que pudieran realizar actividades que los expusieran a los mismos parásitos y que sí que pudieran ser evitables.

La estrategia de la prevención de los contactos con riesgo de zoonosis por tanto, se deberá centrar en la protección y formación de los trabajadores. Las medidas recomendadas son:

- Protección: evita el contacto con las formas parasitarias:
 - Utilización de guantes para proteger las manos.
 - Utilización de calzado cerrado, pantalones largos y manga larga, que evitan la exposición de la piel a la infección percutánea y a su contaminación con formas parasitarias resistentes al ambiente.
 - Desarrollar un protocolo de higiene para los voluntarios que cuidan a las crías (minimizar el contacto con los huérfanos, ducha después del turno).
- Formación de los trabajadores:

- Desarrollar charlas para informar de los riesgos zoonóticos. Tanto de recuerdo para los trabajadores con experiencia como para los recién llegados.
- Desarrollar protocolos adaptados a cada una de las actividades con riesgo. Desde una simple recomendación de lavarse las manos hasta un protocolo completo para después de estar al cuidado de las crías (limpieza de la ropa utilizada, evitar contaminaciones cruzadas...).
- Formar a los trabajadores en el uso de métodos alternativos que eviten o reduzcan el contacto directo con los animales. Por ejemplo: redirigir el comportamiento de búsqueda de protección de las crías hacia peluches en vez de a los humanos.

5.2.2.3. Evitar la propagación de los parásitos

Desarrollar medidas que eviten la dispersión de formas parasitarias evita la transmisión de enfermedades de unas instalaciones a otras, permite acotar y mejorar la eficacia de las medidas terapéuticas y profilácticas así como, reduce el espectro de lugares y personas que pueden ser afectadas por la enfermedad (Flynn, 2007).

El estudio ha encontrado actividades y herramientas que facilitan la dispersión de las enfermedades en el centro. Excepto *S. scabiei* que presenta una capacidad limitada de transmisión por fómites, todos los otros parásitos zoonóticos encontrados disponen de formas parasitarias resistentes al ambiente que les permite continuar siendo viables una vez se hayan dispersado (Bogitsh *et al*, 2013).

Estas formas parasitarias susceptibles de dispersarse son los quistes de los protozoos y los huevos o larvas de los helmintos. De forma general la dispersión de las formas parasitarias se producirá tanto por útiles que se trasladan como las carretillas, jaulas de transporte y rastrillos, como por parte de los trabajadores vehiculándolos en su ropa y calzado. Además, parásitos como *Strongyloides* spp., contribuirán a su dispersión de forma activa con su ciclo heterogónico que desarrolla nematodos adultos de vida libre con capacidad para desplazarse por ellos mismos (Chowdhury y Aguirre, 2001).

Teniendo en cuenta los parásitos y actividades encontrados en el estudio, las recomendaciones para evitar la propagación de parásitos son:

- Desarrollar protocolos diarios para la limpieza y desinfección de las herramientas que se trasladan por el centro.
- Desarrollar acciones que permitan la desinfección aunque sea parcial de las herramientas cuando se trasladen entre instalaciones durante la actividad de trabajo diaria.
- Construcción de pediluvios o uso de una técnica de limpieza y desinfección del calzado para los trabajadores que entran al interior de las instalaciones y de las jaulas de la enfermería.
- Desarrollar medidas para la gestión de las aguas sucias resultantes de las limpiezas de las instalaciones satélites, enfermería y duchas del personal, ya que esta zona de Sudáfrica no dispone de alcantarillado público de aguas residuales.

5.3. Limitaciones del estudio

Además de las limitaciones diagnósticas indicadas en la discusión de cada uno de los parásitos zoonóticos encontrados en el estudio, se debe destacar la imposibilidad del estudio para determinar todas y cada una de las situaciones de riesgo zoonótico en el santuario.

El estudio se centró, exclusivamente en los trabajadores, pero el centro, realiza más actividades además del cuidado de los animales. Es habitual que grupos de turistas realicen visitas guiadas de media jornada y que grupos de escolares de entre 60 y 80 niños visiten el centro. Estas visitas se han visto como fundamentales para la educación en los valores del respeto a los animales de los escolares y de mitigación del conflicto humano-primate en los adultos. Durante las visitas, los trabajadores del centro explican el funcionamiento del centro a pie de las instalaciones por lo que los visitantes podrían verse expuestos a algunos de los riesgos de transmisión de enfermedades discutidos en este estudio.

También sería interesante ampliar el estudio, realizando seguimientos sanitarios de los voluntarios que enferman durante su estancia en el centro o a su vuelta a su lugar de origen. Analizar qué enfermedades se les diagnostican así como, si habían recibido algún tipo de información o profilaxis acerca de estos riesgos antes de realizar el viaje aportaría información importante para valorar su relevancia como importadores de enfermedades tropicales a países desarrollados.

6. Conclusiones

Del presente trabajo se extraen las siguientes conclusiones:

1. Este estudio demostró la presencia de tres protozoos gastrointestinales zoonóticos: *B. coli*, *E. histolytica/dispar* y *G. duodenalis* y de dos grupos de helmintos con potencial zoonótico: *Strongyloides* spp y estrombilados.
2. Los datos obtenidos a partir de las analíticas sanguíneas indican que los monos de *Vervet Monkey Foundation* no constituyen un reservorio de *Plasmodium* spp.
3. *S. scabiei* fue el único ectoparásito zoonótico encontrado en los raspados cutáneos realizados.
4. Todos los grupos de trabajadores del centro realizaron actividades que constituyeron factores de riesgo para la transmisión de los parásitos zoonóticos encontrados.
5. Las actividades de mayor riesgo zoonótico fueron el cuidado de las crías y la administración de medicamentos, realizadas por voluntarios y trabajadores internacionales respectivamente.

De las conclusiones obtenidas en este estudio se derivan las siguientes implicaciones. En primer lugar destaca la importancia de evaluar la presencia de parásitos zoonóticos en los santuarios de primates donde trabajadores o voluntarios puedan tener un contacto directo con los animales o indirecto con agentes biológicos derivados de ellos, ya que los parásitos zoonóticos encontrados en este trabajo han sido ampliamente descritos en numerosas especies de primates. En segundo lugar, se pone de manifiesto la necesidad de implantar protocolos individualizados para la prevención de las zoonosis en estos centros en función de los parásitos encontrados y las actividades que presenten riesgo de transmisión de estos. Y por último, la importancia de controlar la infección sintomática y asintomática del personal y voluntarios de los santuarios, así como el papel que pueden jugar los voluntarios internacionales en la importación de enfermedades tropicales olvidadas a países desarrollados, para ello, sería recomendable realizar estudios y encuestas epidemiológicas bajo un punto de vista del "One Health".

7. Bibliografía

Acha, P. N., & Szyfres, B. (2003). Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. *Pan American Health Organization Ed (USA)*, 1-10. ISBN 9275119910

Adams, H. R., Sleeman, J., & New, J. C. (1999). A medical survey of tourists visiting Kibale National Park, Uganda, to determine the potential risk of disease transmission to chimpanzees (*Pan troglodytes*) from ecotourism. *Proc AAZV*, 1999: 270-1.

Ahmed, M. A., & Cox-Singh, J. (2015). *Plasmodium knowlesi* - an emerging pathogen. *ISBT Science Series*, 10, 134–140. doi:10.1111/voxs.12115

Andelman, S. J. (1985). Ecology and reproductive strategies of vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) in Amboseli National Park, Kenya. *PhD Thesis. University of Washington, Seattle (USA)*, 129-149.

Appelbee, A. J., Thompson, R. C. A., & Olson, M. E. (2005). *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitology*, 21(8), 370–376. doi:10.1016/j.pt.2005.06.004

Arean, V. M., & Koppisch, E. (1956). Balantidiasis; a review and report of cases. *The American Journal of Pathology*, 32(6), 1089–1115. PubMed ID 13372746

Ash, L. R., & Orihel, T. C. (1991). Formalin-ethyl acetate or formalin-ether sedimentation technique for fresh material. *Parasites: a guide to laboratory procedures and identification. American Society of Clinical Pathologists Press Ed (USA)*, 23-25.

Barda, B. D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., Albonico, M. (2013). Mini-FLOTAC, an innovative direct diagnostic technique for intestinal parasitic infections: experience from the field. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8), e2344. doi:10.1371/journal.pntd.0002344

Barnish, G., Ashford, R. W. (1989). Occasional parasitic infections of man in Papua New Guinea and Irian Jaya (New Guinea). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 83(2), 121–135.

Barrett, L., Brown, L. R., Henzi, S. P. (2005). Foraging ecology of the vervet monkey (*Chlorocebus aethiops*) in mixed lowveld bushveld and sour lowveld bushveld of the blydeberg conservancy, Northern Province, South Africa. *Applied Behavioural Ecology & Ecosystem Research Unit College for Agricultural & Environmental Sciences. University of South Africa, Pretoria*, oct-2005.

Becerril Flores, M. A. (2008). Parasitología médica 2ª Ed. *McGraw-Hil Ed (USA)*, 51-63, 111-119. ISBN 9786071511508

Bengis, R. G., Kock, R. A., & Fischer, J. (2002). Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 21(1), 53–65. PubMed ID 11974630

- Berman, C. M., Li, J., Ogawa, H., Ionica, C., & Yin, H.** (2007). Primate Tourism, Range Restriction, and Infant Risk Among *Macaca thibetana* at Mt. Huangshan, China. *International Journal of Primatology*, 28(5), 1123–1141. doi:10.1007/s10764-007-9199-4
- Bethony, J., Brooker, S., Albonico, M., Geiger, S. M., Loukas, A., Diemert, D., & Hotez, P. J.** (2006). Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *The Lancet*, 367(9521), 1521–1532. doi:10.1016/S0140-6736(06)68653-4
- Bogitsh, B. J., Carter, C. E., & Oeltmann, T. N.** (2013). Human Parasitology. *Elsevier Ed (USA)*, 53-73, 115-159, 199-211, 292-320, 375. doi:10.1016/B978-0-12-415915-0.02001-X
- Brend, C. U. R., & Schoene, S. A.** (2002). Primate sanctuaries - a delicate conservation approach. *South African Journal of Wildlife Research*, 32(2), 109-113.
- Brouqui, P., Harle, J. R., Delmont, J., Frances, C., Weiller, P. J., & Raoult, D.** (1997). African tick-bite fever. An imported spotless rickettsiosis. *Archives of Internal Medicine*, 157(1), 119–124. PubMed ID 8996049
- Brown, H. W.** (1967). Malaria Parasites and Other Haemosporidia. *JAMA*, 201(5), 336. doi:10.1001/jama.1967.03130050070044
- Bruce-Chwatt, L. J.** (1985). Recent trends of chemotherapy and vaccination against malaria: new lamps for old. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 291(6502), 1072–1076. PMC1416995
- Bruner, A. G., Gullison, R. E., Rice, R. E., & da Fonseca, G. A.** (2001). Effectiveness of parks in protecting tropical biodiversity. *Science*, 291(5501), 125–128. doi:10.1126/science.291.5501.125
- Burkhardt, C. G.** (1983). Scabies: An Epidemiologic Reassessment. *Annals of Internal Medicine*, 98(4), 498–503. doi:10.7326/0003-4819-98-4-498
- Bush, M., Beck, B. B., & Montali, R. J.** (1993). Medical considerations of reintroduction. *Zoo and wildlife medicine: current therapy*, W. B. Saunders Ed (USA), 24-26. ISBN: 0721636675
- Butynski, T. M., & Kalina, J.** (1998). Gorilla Tourism: A Critical Look. *Conservation of Biological Resources*, 294–313. doi:10.1002/9781444313598.ch12
- Cabral, A. C., Iñiguez, A. M., Moreno, T., Bóia, M. N., & Carvalho-Costa, F. A.** (2015). Clinical conditions associated with intestinal strongyloidiasis in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(3), 321–325. doi:10.1590/0037-8682-0019-2015
- Chapman, C. A., Speirs, M. L., Gillespie, T. R., Holland, T., & Austad, K. M.** (2006a). Life on the edge: gastrointestinal parasites from the forest edge and interior primate groups. *American Journal of Primatology*, 68(4), 397–409. doi:10.1002/ajp.20233

Chapman, C. A., Wasserman, M. D., Gillespie, T. R., Speirs, M. L., Lawes, M. J., Saj, T. L., & Ziegler, T. E. (2006b). Do food availability, parasitism, and stress have synergistic effects on red colobus populations living in forest fragments? *American Journal of Physical Anthropology*, 131(4), 525–534. doi:10.1002/ajpa.20477

Cheney, D. L., & Seyfarth, R. M. (1987). The influence of intergroup competition on the survival and reproduction of female vervet monkeys. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 21(6), 375–386. doi:10.1007/BF00299932

Cheney, D. L., & Seyfarth, R. M. (1990). How monkeys see the world: Inside the mind of another specie. *University of Chicago Press Ed (USA)*, 16-58. ISBN 9780226102467

Chin, W., Contacos, P. G., Coatney, G. R., & Kimball, H. R. (1965). A Naturally Acquired Quotidian-Type Malaria in Man Transferable to Monkeys. *Science*, 149(3686), 865. doi:10.1126/science.149.3686.865

Chomba, C., Senzota, R., & Chabwela, H. (2012). Patterns of Human–Wildlife Conflicts in Zambia: Causes, Consequences and Management Responses. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 4(12), 103-313 doi:10.5897/JENE12.029

Chowdhury, N., & Aguirre, A. A. (2001). Helminths of wildlife. *Science Publishers Ed (USA)*, 23-51. ISBN 1578080924

Christian, R., Koekemoer, L., Agubuzo, E., & Munhenga, G. (2015). Malaria vector surveillance in South Africa during the period January 2014 to July 2015. *Communicable Diseases Surveillance Bulletin*, 14(1), 1-6. doi:10.13140/R.G.2.2.12322.43207

Clarke, A. S., Juno, C. J., & Maple, T. L. (1982). Behavioral effects of a change in the physical environment: A pilot study of captive chimpanzees. *Zoo Biology*, 1(4), 371–380. doi:10.1002/zoo.1430010411

Coatney, G. R., Collins, W. E., Warren, M., & Contacos, P. G. (1971). The primate malarias. *U.S. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Ed*, 65-83.

Coleman, K., Lutz, C. K., Worlein, J. M., Gottlieb, D. H., Peterson, E., Lee, G. H., Novak, M. A. (2015). The correlation between alopecia and temperament in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) at four primate facilities. *American Journal of Primatology*, 18 - noviembre. doi:10.1002/ajp.22504

Collins, W. E., Contacos, P. G., & Guinn, E. G. (1967). Studies on the transmission of simian malarias II. Transmission of the H strain of *Plasmodium knowlesi* by *Anopheles balabacensis balabacensis*. *The Journal of Parasitology*, 53(4), 841-844. doi:10.2307/3276783

Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V., & Di Deco, M. A. (1979). Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(5), 483–497. doi:10.1016/0035-9203(79)90036-1

Cooper, P. J., & Guderian, R. H. (1994). Gastrointestinal illness associated with *Balantidium coli* infection in rural communities in Ecuador. *Parasitol Día*, 18(1-2), 51-54.

Coop, R. L., & Holmes, P. H. (1996). Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*, 26(8), 951–962. PubMed ID 8923142

Corachan, M. (2002). Schistosomiasis and international travel. *Clinical Infectious Diseases*, 35(4), 446–450. doi:10.1086/341895

Cox-Singh, J., Davis, T. M. E., Lee, K.-S., Shamsul, S. S. G., Matusop, A., Ratnam, S., Singh, B. (2008). *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clinical Infectious Diseases*, 46(2), 165–171. doi:10.1086/524888

Crompton, D. W. T. (1999). How Much Human Helminthiasis Is There in the World? *The Journal of Parasitology*, 85(3), 397. doi:10.2307/3285768

Daneshvar, C., Davis, T. M. E., Cox-Singh, J., Rafa'ee, M. Z., Zakaria, S. K., Divis, P. C. S., & Singh, B. (2009). Clinical and laboratory features of human *Plasmodium knowlesi* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 852–860. doi:10.1086/605439

Da Silva Barbosa, A., Pissinatti, A., Dib, L. V., de Siqueira, M. P., Cardozo, M. L., Fonseca, A. B. M., Amendoeira, M. R. R. (2015). *Balantidium coli* and other gastrointestinal parasites in captives non-human primates of the Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Medical Primatology*, 44(1), 18–26. doi:10.1111/jmp.12140

Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science*, 287(5452), 443–449. doi:10.1126/science.287.5452.443

Dobson, A., & Foufopoulos, J. (2001). Emerging infectious pathogens of wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356(1411), 1001–1012. doi:10.1098/rstb.2001.0900

Dobson, A. P., & Hudson, P. J. (1986). Parasites, disease and the structure of ecological communities. *Trends in Ecology & Evolution*, 1(1), 11–15. doi:10.1016/0169-5347(86)90060-1

Dunbar, R. I. M., & Lehmann, J. (2013). Grooming and social cohesion in primates: a comment on Grueter et al. *Evolution and Human Behavior*, 34(6), 453–455. doi:10.1016/j.evolhumbehav.2013.08.003

Duval, L. (2012). Plasmodium chez les grands singes africains. *Revue de Primatologie*, 14(4). doi:10.4000/primatologie.1178

Duval, L., Fourment, M., Nerrienet, E., Rousset, D., Sadeuh, S. A., Goodman, S. M., Arieu, F. (2010). African apes as reservoirs of *Plasmodium falciparum* and the origin and diversification of the Laverania subgenus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(23), 10561–10566. doi:10.1073/pnas.1005435107

Duval, L., Nerrienet, E., Rousset, D., Mba, S. A. S., Houze, S., Fourment, M., Arieu, F. (2009). Chimpanzee Malaria Parasites Related to *Plasmodium ovale* in Africa. *PLoS One*, 4(5), e5520. doi:10.1371/journal.pone.0005520

Ellenberg, U., Mattern, T., Seddon, P. J., & Jorquera, G. L. (2006). Physiological and reproductive consequences of human disturbance in Humboldt penguins: The need for species-specific visitor management. *Biological Conservation*, 133(1), 95–106. doi:10.1016/j.biocon.2006.05.019

Elliott, D. E., Summers, R. W., & Weinstock, J. V. (2007). Helminths as governors of immune-mediated inflammation. *International Journal for Parasitology*, 37(5), 457–464. doi:10.1016/j.ijpara.2006.12.009

Erickson, M. C., & Ortega, Y. R. (2006). Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. *Journal of Food Protection*, 69(11), 2786–2808. PubMed ID 17133829

Esteban, J. G., Aguirre, C., Angles, R., Ash, L. R., & Mas-Coma, S. (1998). Balantidiasis in Aymara children from the northern Bolivian Altiplano. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59(6), 922–927. PubMed ID 9886201

Faria, N. R., Rambaut, A., Suchard, M. A., Baele, G., Bedford, T., Ward, M. J., ... Lemey, P. (2014). The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science*, 346(6205), 56–61. doi:10.1126/science.1256739

Farmer, K. H., Unwin, S., Cress, D., Cox, D., & Lucas, D. (2009). Pan African Sanctuary Alliance (PASA) operations manual. *PASA Ed (USA)*, 9-40.

Feng, Y., & Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 110–140. doi:10.1128/CMR.00033-10

Ferrie, G. M., Farmer, K. H., Kuhar, C. W., Grand, A. P., Sherman, J., & Bettinger, T. L. (2014). The social, economic, and environmental contributions of Pan African Sanctuary Alliance primate sanctuaries in Africa. *Biodiversity and Conservation*, 23(1), 187–201. doi:10.1007/s10531-013-0592-3

Ferry, T., Bouhour, D., De Monbrison, F., Laurent, F., Dumouchel-Champagne, H., Picot, S., ... Granier, P. (2004). Severe peritonitis due to *Balantidium coli* acquired in France. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 23(5), 393–395. doi:10.1007/s10096-004-1126-4

Field, J. W. (1949). Blood examination and prognosis in acute falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 43(1), 33–48.

Field, J. W., & Niven, I. C. (1937). A note on prognosis in relation to parasite counts in acute subtertian malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 30(6), 569–574. doi:10.1016/S0035-9203(37)90070-1

Filion, F. L., Foley, J. P., Jacquemot, A. J., & Munasinghe, M. (1994a). Protected area economics and policy: linking conservation and sustainable development. *World Bank Group Ed (USA)*, 69-81. ISBN 978-0-8213-3132-3

Filion, F. L., Foley, J. P., Jacquemot, A. J., Munasinghe, M., & McNeely, J. (1994b). The economics of global ecotourism. *World Bank Group Ed (USA)*, 232-252. ISBN 0821331329

Fleck, S. L., & Moody, A. H. (1988). Diagnostic techniques in medical parasitology. *John Wright Ed (UK)*, 16. ISBN 978-0723607762

Flynn, R. J. (2007). Parasites of laboratory animals. 2nd Edition. *Blackwell Ed (UK)*, 2-13, 695-714. ISBN 978-0-8138-1202-1

Foerster, S., Kithome, K., Cords, M., & Monfort, S. L. (2015). Social status and helminth infections in female forest guenons (*Cercopithecus mitis*). *American Journal of Physical Anthropology*, 158(1), 55–66. doi:10.1002/ajpa.22764

Fong, Y. L., Cadigan, F. C., & Coatney, G. R. (1971). A presumptive case of naturally occurring *Plasmodium knowlesi* malaria in man in Malaysia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(6), 839–840.

Fournier, P. E., Roux, V., Caumes, E., Donzel, M., & Raoult, D. (1998). Outbreak of *Rickettsia africae* infections in participants of an adventure race in South Africa. *Clinical Infectious Diseases*, 27(2), 316–323. PubMed ID 9709882

Friant, S., Ziegler, T. E., & Goldberg, T. L. (2016). Primate reinfection with gastrointestinal parasites: behavioural and physiological predictors of parasite acquisition. *Animal Behaviour*, 117, 105–113. doi:10.1016/j.anbehav.2016.04.006

Furness, B. W., Beach, M. J., & Roberts, J. M. (2000). Giardiasis surveillance—United States, 1992–1997. *Center for Diseases Control and Prevention*. PubMed ID 10955980

Gagneux, P., Gonder, M. K., Goldberg, T. L., & Morin, P. A. (2001). Gene flow in wild chimpanzee populations: what genetic data tell us about chimpanzee movement over space and time. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356(1410), 889–897. doi:10.1098/rstb.2001.0865

Gao, F., Bailes, E., Robertson, D. L., Chen, Y., Rodenburg, C. M., Michael, S. F., ... Hahn, B. H. (1999). Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature*, 397(6718), 436–441. doi:10.1038/17130

García-Martín, G. (1972). Status of malaria eradication in the Americas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21(5), 617-633. PubMed ID 4561516

Gaspar, F. W., Chevrier, J., Bornman, R., Crause, M., Obida, M., Barr, D. B., ... Eskenazi, B. (2016). Corrigendum to ‘Undisturbed dust as a metric of long-term indoor insecticide exposure: Residential DDT contamination from indoor residual spraying and its association with serum levels in the VHEMBE cohort’ [Environ. Int. 85C (2015) 163–167]. *Environment International*, 94, 778–783. doi:10.1016/j.envint.2016.04.043

Gaudefroy-Rousseau, E. (2003). Prévention des dangers dans les parcs zoologiques. *Université Claude Bernard, Lyon (France)*, 2(346), 131-162.

Gillespie, T. R., & Chapman, C. A. (2008). Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host-parasite interactions relative to an unfragmented forest. *American Journal of Primatology*, 70(3), 222–230. doi:10.1002/ajp.20475

Gillespie, T. R., Chapman, C. A., & Greiner, E. C. (2005). Effects of logging on gastrointestinal parasite infections and infection risk in African primates. *Journal of Applied Ecology*, 42(4), 699–707. doi:10.1111/j.1365-2664.2005.01049.x

Gillespie, T. R. (2006). Noninvasive Assessment of Gastrointestinal Parasite Infections in Free-Ranging Primates. *International Journal of Primatology*, 27(4), 1129–1143. doi:10.1007/s10764-006-9064-x

Goldberg, T. L., Gillespie, T. R., Rwego, I. B., Wheeler, E., Estoff, E. L., & Chapman, C. A. (2007). Patterns of gastrointestinal bacterial exchange between chimpanzees and humans involved in research and tourism in western Uganda. *Biological Conservation*, 135(4), 511–517. doi:10.1016/j.biocon.2006.10.048

Goodall, J. (1983). Population Dynamics during a 15 Year Period in one Community of Free-living Chimpanzees in the Gombe National Park, Tanzania. *Zeitschrift Für Tierpsychologie*, 61(1), 1–60. doi:10.1111/j.1439-0310.1983.tb01324.x

Gotoh, S. (2000). Regional differences in the infection of wild Japanese macaques by gastrointestinal helminth parasites. *Primates; Journal of Primatology*, 41(3), 291–298. doi:10.1007/BF02557598

Gotuzzo, E., Terashima, A., Alvarez, H., Tello, R., Infante, R., Watts, D. M., & Freedman, D. O. (1999). *Strongyloides stercoralis* hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type-1 infection in Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60(1), 146–149. PubMed ID 9988339

Graczyk, T. K., Bosco-Nizeyi, J., Ssebide, B., Thompson, R. C. A., Read, C., & Cranfield, M. R. (2009). Anthropozoonotic *Giardia duodenalis* genotype (assemblage) a infections in habitats of free-ranging human-habituated gorillas, Uganda. *The Journal of Parasitology*, 88(5), 905–909. doi:10.1645/0022-3395

Gratz, N. (1998). Human lice, their prevalence and resistance to insecticides; a review, 1985-1997. *WHO Ed (USA)*, 5-25.

Gravenor, M. B., van Hensbroek, M. B., & Kwiatkowski, D. (1998). Estimating sequestered parasite population dynamics in cerebral malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(13), 7620–7624

Greenwood, B., & Mutabingwa, T. (2002). Malaria in 2002. *Nature*, 415(6872), 670–672. doi:10.1038/415670a

Greiner, K., Bettencourt, J., & Semolic, C. (2008). Strongyloidiasis: a review and update by case example. *Clinical Laboratory Science : Journal of the American Society for Medical Technology*, 21(2), 82–88. PubMed ID 18507302

Grobler, P., Jacquier, M., & deNys, H. (2006). Primate sanctuaries, taxonomy and survival: a case study from South Africa. *Ecological and Environmental Anthropology*, 2(2), 12-16.

Hahn, N. E., Proulx, D., Muruthi, P. M., Alberts, S., & Altmann, J. (2003). Gastrointestinal Parasites in Free-Ranging Kenyan Baboons (*Papio cynocephalus* and *P. anubis*). *International Journal of Primatology*, 24(2), 271–279. doi:10.1023/A:1023092915171

Hamlen, H. J., & Lawrence, J. M. (1994). Giardiasis in laboratory-housed squirrel monkeys: a retrospective study. *Laboratory Animal Science*, 44(3), 235–239.

Harper, J. S., Rice, J. M., London, W. T., Sly, D. L., & Middleton, C. (1982). Disseminated strongyloidiasis in *Erythrocebus patas*. *American Journal of Primatology*, 3(1-4), 89–98. doi:10.1002/ajp.1350030108

Hayakawa, T., Arisue, N., Udono, T., Hirai, H., Sattabongkot, J., Toyama, T., ... Tanabe, K. (2009). Identification of *Plasmodium malariae*, a Human Malaria Parasite, in Imported Chimpanzees. *PLoS One*, 4(10), e7412. doi:10.1371/journal.pone.0007412

Hellard, M. E., Sinclair, M. I., Hogg, G. G., & Fairley, C. K. (2000). Prevalence of enteric pathogens among community based asymptomatic individuals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15(3), 290–293. doi:10.1046/j.1440-1746.2000.02089.x

Henderson, C. A. (1996). Skin disease in rural Tanzania. *International Journal of Dermatology*, 35(9), 640–642. PubMed ID 8876290

Hendrix, C. (1999). Diagnóstico parasitológico veterinario. *Elsevier Ed (USA)*, 245-284. ISBN 9788481743920

Hengge, U. R., Currie, B. J., Jäger, G., Lupi, O., & Schwartz, R. A. (2006). Scabies: a ubiquitous neglected skin disease. *The Lancet. Infectious Diseases*, 6(12), 769–779. doi:10.1016/S1473-3099(06)70654-5

Herck, K., Castelli, F., Zuckerman, J., Nothdurft, H., Damme, P., Dahlgren, A. L., ... Steffen, R. (2004). Knowledge, Attitudes and Practices in Travel-related Infectious Diseases: The European Airport Survey. *Journal of Travel Medicine*, 11(1), 3–8. doi:10.2310/7060.2004.13609

Heukelbach, J., & Feldmeier, H. (2006). Scabies. *The Lancet*. 367(9524), 1767-1774. PubMed ID 16731272

Hirsch, V. (1995). Phylogeny and natural history of the primate lentiviruses, SIV and HIV. *Current Opinion in Genetics & Development*, 5(6), 798–806. doi:10.1016/0959-437X(95)80014-V

Holden, C. (1996). Ominous trends for infectious diseases. *Science*. 272(5266), 1269. doi:10.1126/science.272.5266.1269

Homsy, J. (1999). Ape tourism and human diseases: how close should we get. *International Gorilla Conservation*. Informe de febrero.

Hotez, P. J., Fenwick, A., Savioli, L., & Molyneux, D. H. (2009). Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases. *The Lancet*, 373(9674), 1570–1575. doi:10.1016/S0140-6736(09)60233-6

Howells, M. E., Pruetz, J., & Gillespie, T. R. (2011). Patterns of gastro-intestinal parasites and commensals as an index of population and ecosystem health: the case of sympatric western chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) and guinea baboons (*Papio hamadryas papio*) at Fongoli, Senegal. *American Journal of Primatology*, 73(2), 173–179. doi:10.1002/ajp.20884

Huang, D. B., & White, A. C. (2006). An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 35(2), 291-314. doi: 10.1016/j.gtc.2006.03.006

Hudson, H. R. (1992a). The relationship between stress and disease in orphan gorillas and its significance for gorilla tourism. *Gorilla Conservation News*. 6, 8-10.

Hudson, P. J., Dobson, A. P., & Newborn, D. (1992b). Do Parasites make Prey Vulnerable to Predation? Red Grouse and Parasites. *The Journal of Animal Ecology*, 61(3), 681. doi:10.2307/5623

Instituto Nacional de Salud. (2003). Manual de procedimientos del laboratorio para el diagnóstico de malaria. *Artes & Diseños Laser S.R.L TDA Ed (Perú)*, 12-21, 24, 27. doi:10.1043/1543- 2165(2003)127<687:ARCMSI>2.0.CO;2

IUCN. (2016). 2016 IUCN Red list of threatened species. *IUCN Ed.* doi:10.1002/ajp.1350050110/abstract

Janovy, J., & Roberts, L. (1994). Foundations of parasitology. *Mc Graw-Hill Ed (USA)*, 90-94, 107-113.

Jelinek, T., Mühlberger, N., Harms, G., Corachán, M., Grobusch, M. P., Knobloch, J. (2002). Epidemiology and clinical features of imported dengue fever in Europe: sentinel surveillance data from TropNetEurop. *Clinical Infectious Diseases*, 35(9), 1047–1052. doi:10.1086/342906

Jensenius, M., Fournier, P.-E., Kelly, P., Myrvang, B., & Raoult, D. (2003). African tick bite fever. *The Lancet. Infectious Diseases*, 3(9), 557–564. doi:10.1016/S1473-3099(03)00739-4

Jensenius, M., Fournier, P.-E., & Raoult, D. (2004). Tick-borne rickettsioses in international travellers. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(3), 139–146. doi:10.1016/j.ijid.2003.06.004

Johnson-Delaney, C. A. (2009). Parasites of captive nonhuman primates. *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice*, 12(3), 563. doi:10.1016/j.cvex.2009.07.002

Johnston, S. P., Ballard, M. M., Beach, M. J., Causer, L., & Wilkins, P. P. (2003). Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(2), 623–626. doi:10.1128/JCM.41.2.623-626.2003

Jones, E. E., Alford, P. L., Reingold, A. L., Russell, H., Keeling, M. E., & Broome, C. V. (1984). Predisposition to invasive pneumococcal illness following parainfluenza type 3 virus infection in chimpanzees. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(11), 1351–1353. PubMed ID 6096328

- Jones-Engel, L., Engel, G. A., Schillact, M. A., Froehlich, J., Paputungan, U., & Kyes, R. C.** (2004). Prevalence of enteric parasites in pet macaques in Sulawesi, Indonesia. *American Journal of Primatology*, 62(2), 71–82. doi:10.1002/ajp.20008
- Jongwutiwes, S., Putaporntip, C., Iwasaki, T., Sata, T., & Kanbara, H.** (2004). Naturally acquired *Plasmodium knowlesi* malaria in human, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*, 10(12), 2211–2213. doi: 10.3201/eid1012.040293
- Kaiser, J.** (2003). Conservation biology. Ebola, hunting push ape populations to the brink. *Science*, 300(5617), 232. doi:10.1126/science.300.5617.232a
- Kaiser, M., Löwa, A., Ulrich, M., Ellerbrok, H., Goffe, A. S., Blasse, A., ... Leendertz, F.** (2010). Wild Chimpanzees Infected with 5 *Plasmodium* Species. *Emerging Infectious Diseases*, 16(12), 1956-1959. doi:10.3201/eid1612.100424
- Kantele, A., Marti, H., Felger, I., Müller, D., & Jokiranta, T. S.** (2008). Monkey malaria in a European traveler returning from Malaysia. *Emerging Infectious Diseases*, 14(9), 1434–1436. doi:10.3201/eid1409.080170
- Karere, G. M., & Munene, E.** (2002). Some gastro-intestinal tract parasites in wild De Brazza's monkeys (*Cercopithecus neglectus*) in Kenya. *Veterinary Parasitology*, 110(1), 153–157. doi:10.1016/S0304-4017(02)00348-5
- Keele, B. F., Van Heuverswyn, F., Li, Y., Bailes, E., Takehisa, J., Santiago, M. L., ... Hahn, B. H.** (2006). Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1. *Science*, 313(5786), 523–526. doi:10.1126/science.1126531
- Kelly, P. J., Beati, L., Mason, P. R., Matthewman, L. A., Roux, V., & Raoult, D.** (1996). *Rickettsia africae* sp. nov., the etiological agent of African tick bite fever. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(2), 611–614. doi:10.1099/00207713-46-2-611
- Kerwin, A. M.** (2006). Overcoming the Barriers to the Retirement of Old and New World Monkeys From Research Facilities. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 9(4), 337–347. doi:10.1207/s15327604jaws0904_9
- Khan, N. A.** (2008). Emerging protozoan pathogens. *Taylor & Francis Ed (USA)*, 361-364. ISBN 978-0415428644
- Kilbourn, A. M., & Karesh, W. B.** (1998). Disease evaluation of free-ranging orangutans (*Pongo pygmaeus pygmaeus*) in Sabah, Malaysia. *Proceeding of the American Association of Zoo Veterinarians and American Association of Wildlife Veterinarians, Joint Conference*. 417-421
- Kilbourn, A. M., Karesh, W. B., Wolfe, N. D., Bosi, E. J., Cook, R. A., & Andau, M.** (2003). Health evaluation of free-ranging and semi- captive orangutans (*Pongo pygmaeus pygmaeus*) in Sabah, Malaysia. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(1), 73–83. doi:10.7589/0090-3558-39.1.73

Kirkwood, J. K., & Sainsbury, A. W. (1997). Diseases and other considerations with wildlife translocations and releases. *Proceedings of a Symposium on Veterinary Involvement with Wildlife Reintroduction and Rehabilitation*, 12-16 doi:10.1111/j.1748-1090.1973.tb02111.x

Kleiman, D. G., Thompson, K. V., & Baer, C. K. (2010). Wild Mammals in Captivity. *University of Chicago Press Ed (USA)*, 37-83, 409-485. ISBN 978-0226440101

Köndgen, S., Kühl, H., N'Goran, P. K., Walsh, P. D., Schenk, S., Ernst, N., ... Leendertz, F. H. (2008). Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Current Biology*, 18(4), 260–264. doi:10.1016/j.cub.2008.01.012

Kooriyama, T., Inaba, A., Nishida, T., & Iwaki, T. (2010). Case report of helminths and lung mite infection in the red-tailed monkey, *Cercopithecus ascanius schmidtii*, in Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Primates; Journal of Primatology*, 51(2), 183–188. doi:10.1007/s10329-009-0185-7

Kooriyama, T., Okamoto, M., Yoshida, T., Nishida, T., Tsubota, T., Saito, A., ... Miyabe-Nishiwaki, T. (2013). Epidemiological study of zoonoses derived from humans in captive chimpanzees. *Primates; Journal of Primatology*, 54(1), 89–98. doi:10.1007/s10329-012-0320-8

Kortlandt, A. (1996). Letters: An epidemic of limb paresis (polio?) among the chimpanzee population at Beni (Zaire) in 1964, possibly transmitted by humans (Additional information to Pan Africa News 2(2), 1995). *Pan Africa News*, 3(2), 9-10.

Kouassi, R. Y. W., McGraw, S. W., Yao, P. K., Abou-Bacar, A., Brunet, J., Pesson, B., ... Candolfi, E. (2015). Diversity and prevalence of gastrointestinal parasites in seven non-human primates of the Taï National Park, Côte d'Ivoire. *Parasite*, 22, 1. doi:10.1051/parasite/2015001

Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., & Isenberg, H. D. (2003). Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. *ASM Press Ed (USA)*, 261-399. ISBN 9781555812362

Krief, S., Escalante, A. A., Pacheco, M. A., Mugisha, L., André, C., Halbwax, M., ... Snounou, G. (2010). On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *Plasmodium falciparum* from Bonobos. *PLoS Pathog*, 6(2), e1000765. doi:10.1371/journal.ppat.1000765

Krief, S., Huffman, M. A., Sévenet, T., Guillot, J., Bories, C., Hladik, C. M., & Wrangham, R. W. (2005). Noninvasive Monitoring of the Health of *Pan troglodytes schweinfurthii* in the Kibale National Park, Uganda. *International Journal of Primatology*, 26(2), 467–490. doi:10.1007/s10764-005-2934-9

Kuntz, R. E. (1982). Significant infections in primate parasitology. *Journal of Human Evolution*, 11(3), 185–194. doi:10.1016/S0047-2484(82)80035-3

Lamarque, F., Anderson, J., Fergusson, R., Lagrange, M., Osei-Owusu, Y., & Bakker, L. (2009). Human-wildlife conflict in Africa: causes, consequences and management strategies. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 5-32. ISBN 978-92-5-106372-9

- Lane, K. E., Holley, C., Hollocher, H., & Fuentes, A.** (2011). The anthropogenic environment lessens the intensity and prevalence of gastrointestinal parasites in Balinese long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*). *Primates; Journal of Primatology*, 52(2), 117–128. doi:10.1007/s10329-010-0230-6
- Lee, K.-S., Cox-Singh, J., Brooke, G., Matusop, A., & Singh, B.** (2009). *Plasmodium knowlesi* from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *International Journal for Parasitology*, 39(10), 1125–1128. doi:10.1016/j.ijpara.2009.03.003
- Leendertz, F. H., Pauli, G., Maetz-Rensing, K., Boardman, W., Nunn, C., Ellerbrok, H., et al.** (2006). Pathogens as drivers of population declines: The importance of systematic monitoring in great apes and other threatened mammals. *Biological Conservation*, 131(2), 325–337. doi:10.1016/j.biocon.2006.05.002
- Legesse, M., & Erko, B.** (2004). Zoonotic intestinal parasites in *Papio anubis* (baboon) and *Cercopithecus aethiops* (vervet) from four localities in Ethiopia. *Acta Tropica*, 90(3), 231–236. doi:10.1016/j.actatropica.2003.12.003
- Leroy, E. M., Rouquet, P., Formenty, P., Souquière, S., Kilbourne, A., Froment, J.-M., ... Rollin, P. E.** (2004). Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science*, 303(5656), 387–390. doi:10.1126/science.1092528
- Levecke, B.** (2010). The importance of gastrointestinal protozoa in captive non-human primates. *Ghent University Ed (Belgium)*, 30, 49.
- Levecke, B., Dorny, P., Geurden, T., Vercammen, F., & Vercruyse, J.** (2007). Gastrointestinal protozoa in non-human primates of four zoological gardens in Belgium. *Veterinary Parasitology*, 148(3), 236–246. doi:10.1016/j.vetpar.2007.06.020
- Liu, W., Li, Y., Learn, G. H., Rudicell, R. S., Robertson, J. D., Keele, B. F., ... Hahn, B. H.** (2010). Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. *Nature*, 467(7314), 420–425. doi:10.1038/nature09442
- Luchavez, J., Espino, F., Curameng, P., Espina, R., Bell, D., Chiodini, P., ... Singh, B.** (2008). Human Infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 811–813. doi:10.3201/eid1405.071407
- Macfie, L.** (1996). Case report on scabies infection in Bwindi gorillas. *Gorilla Journal*, 13, 19–20. doi:10.1111/j.1708-8305.2009.00346.x/full
- Mallapur, A.** (2005). Managing primates in zoos: Lessons from animal behaviour. *Current Science*. 89(07), 1214–1219.
- Marcos, L. A., Lozano, D., Calvo, G., Romani, L., & Terashima, A.** (2007). *Strongyloides stercoralis* asociado con síndrome nefrítico en un niño con displasia intestinal neuronal. *Neotropical Helminthology*, 1(1), 37–42.

Marcos, L. A., Terashima, A., Dupont, H. L., & Gotuzzo, E. (2008). *Strongyloides* hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(4), 314–318. doi:10.1016/j.trstmh.2008.01.020

Markell, E. K., Voge, M., & John, D. T. (1998). *Medical Parasitology*. Eight Edition. *Saunders Ed (USA)*, 322-352.

Masawe, A. E., & Nsanzumuhire, H. (1975). Scabies and other skin diseases in pre-school children in Ujamaa villages in Tanzania. *Tropical and Geographical Medicine*, 27(3), 288–294. PubMed ID 810929

McCarthy, J. S., Kemp, D. J., Walton, S. F., & Currie, B. J. (2004). Scabies: more than just an irritation. *Postgraduate Medical Journal*, 80(945), 382–387. doi:10.1136/pgmj.2003.014563

Meslin, F. X. (1995). Zoonoses in the world: current and future trends. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 125(18), 875–878.

Michaud, C., Tantalean, M., Ique, C., Montoya, E., & Gozalo, A. (2003). A survey for helminth parasites in feral New World non-human primate populations and its comparison with parasitological data from man in the region. *Journal of Medical Primatology*, 32(6), 341–345. PubMed ID: 14641789

Miller, L. H., Baruch, D. I., Marsh, K., & Doumbo, O. K. (2002). The pathogenic basis of malaria. *Nature*, 415(6872), 673–679. doi:10.1038/415673a

Mladenoff, D. J., Haight, R. G., Sickley, T. A., & Wydeven, A. P. (1997). Causes and Implications of Species Restoration in Altered Ecosystems. *BioScience*, 47(1), 21–31. doi:10.2307/1313003

Morgan, K. N., & Tromborg, C. T. (2007). Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, 102(3), 262–302. doi:10.1016/j.applanim.2006.05.032

Muehlenbein, M. P., Martinez, L. A., Lemke, A. A., Ambu, L., Nathan, S., Alsisto, S., ... Sakong, R. (2008). Perceived vaccination status in ecotourists and risks of anthroozoonoses. *EcoHealth*, 5(3), 371–378. doi:10.1007/s10393-008-0192-y

Muehlenbein, M. P., Martinez, L. A., Lemke, A. A., Ambu, L., Nathan, S., Alsisto, S., & Sakong, R. (2010). Unhealthy travelers present challenges to sustainable primate ecotourism. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 8(3), 169–175. doi:10.1016/j.tmaid.2010.03.004

Mukonka, V. M., Chanda, E., Kamuliwo, M., Elbadry, M. A., Wamulume, P. K., Mwanza-Ingwe, M., ... Haque, U. (2015). Diagnostic approaches to malaria in Zambia, 2009-2014. *Geospatial Health*, 10(1), 330. doi:10.4081/gh.2015.330

Mul, I. F., Paembonan, W., Singleton, I., Wich, S. A., & van Bolhuis, H. G. (2007). Intestinal Parasites of Free-ranging, Semicaptive, and Captive *Pongo abelii* in Sumatra, Indonesia. *International Journal of Primatology*, 28(2), 407–420. doi:10.1007/s10764-007-9119-7

- Müller-Graf, C. D. M., Collins, D. A., Packer, C., & Woolhouse, M. E. J.** (1997). *Schistosoma mansoni* infection in a natural population of olive baboons (*Papio cynocephalus anubis*) in Gombe Stream National Park, Tanzania. *Parasitology*, 115(6), 621–627. PubMed ID 9488873
- Mumcuoglu, K. Y., Gilead, L., & Ingber, A.** (2009). New insights in pediculosis and scabies. *Expert Review of Dermatology*, 4(3), 285–302. doi:10.1586/edm.09.18
- Munene, E., Otsyula, M., Mbaabu, D. A. N., Mutahi, W. T., Muriuki, S. M. K., & Muchemi, G. M.** (1998). Helminth and protozoan gastrointestinal tract parasites in captive and wild-trapped African non-human primates. *Veterinary Parasitology*, 78(3), 195–201. doi:10.1016/S0304-4017(98)00143-5
- Muriuki, S. M., Murugu, R. K., Munene, E., Karere, G. M., & Chai, D. C.** (1998). Some gastrointestinal parasites of zoonotic (public health) importance commonly observed in old world non-human primates in Kenya. *Acta Tropica*, 71(1), 73–82.
- Nakayima, J., Hayashida, K., Nakao, R., Ishii, A., Ogawa, H., Nakamura, I., ... Sugimoto, C.** (2014). Detection and characterization of zoonotic pathogens of free-ranging non-human primates from Zambia. *Parasites & Vectors*, 7(1), 490. doi:10.1186/s13071-014-0490-x
- Ng, O. T., Ooi, E. E., Lee, C. C., Lee, P. J., Ng, L. C., Pei, S. W., ... Leo, Y. S.** (2008). Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 814–816. doi:10.3201/eid1405.070863
- Nizeyi, J. B., Innocent, R. B., Erume, J., Kalema, G. R. N. N., Cranfield, M. R., & Graczyk, T. K.** (2015). Campylobacteriosis, salmonellosis, and shigellosis in free-ranging human-habituated mountain gorillas of Uganda. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(2), 239–244. doi:10.7589/0090-3558-37.2.239
- Nizeyi, J. B., Mwebe, R., Nanteza, A., Cranfield, M. R., Kalema, G. R. N. N., & Graczyk, T. K.** (1999). *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. Infections in Mountain Gorillas (*Gorilla beringei beringei*) of the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *The Journal of Parasitology*, 85(6), 1084. doi:10.2307/3285672
- Okabayashi, T., Hasebe, F., Samui, K. L., Mweene, A. S., Pandey, S. G., Yanase, T., ... Morita, C.** (1999). Short report: prevalence of antibodies against spotted fever, murine typhus, and Q fever rickettsiae in humans living in Zambia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61(1), 70–72. PubMed ID 10432059
- Ollomo, B., Durand, P., Prugnolle, F., Douzery, E., Arnathau, C., Nkoghe, D., ... Renaud, F.** (2009). A New Malaria Agent in African Hominids. *PLoS Pathog*, 5(5), e1000446. doi:10.1371/journal.ppat.1000446
- Orion, E., Matz, H., & Wolf, R.** (2004). Ectoparasitic sexually transmitted diseases: Scabies and pediculosis. *Clinics in Dermatology*, 22(6), 513–519. doi:10.1016/j.clindermatol.2004.07.004
- Orrico, J. A., & Krause-Parello, C. A.** (2010). Facts, fiction, and figures of the *Sarcoptes scabiei* infection. *The Journal of School Nursing*, 26(4), 260–266. doi:10.1177/1059840510375413

- Owen, I. L.** (2005). Parasitic zoonoses in Papua New Guinea. *Journal of Helminthology*, 79(1), 1–14. doi:10.1079/JOH2004266
- Owens, S.** (2015). Malaria and the Millennium Development Goals. *Archives of Disease in Childhood*, 100(suppl 1), 53-56. doi: 10.1136/archdischild-2013-305441
- Padilla, A. P., Miralles, N. P., & Peral, A. N.** (2012). Ética y bienestar de los animales en los parques zoológicos. *Universidad Autónoma de Barcelona Ed (España)*, 71, 78-80.
- Patz, J. A., Graczyk, T. K., Geller, N., & Vittor, A. Y.** (2000). Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International Journal for Parasitology*, 30(12), 1395–1405. PubMed ID 11113264
- Pedersen, A. B., Altizer, S., Poss, M., Cunningham, A. A., & Nunn, C. L.** (2005). Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *International Journal for Parasitology*, 35(6), 647–657. doi:10.1016/j.ijpara.2005.01.005
- Pekkira, M., & Kohek, I., Jr.** (1998). The efficacy of injectable ivermectin for the control of sarcoptic mange in pigs. *Rev Bras Parasitol Vet.* 7(1), 53-56.
- Phillips, K. A., Haas, M. E., Grafton, B. W., & Yrivarren, M.** (2004). Survey of the gastrointestinal parasites of the primate community at Tambopata National Reserve, Peru. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 264(2), 149–151. doi:10.1017/S0952836904005680
- Pit, D. S., Rijcken, F. E., Raspoort, E. C., Baeta, S. M., & Polderman, A. M.** (1999). Geographic distribution and epidemiology of *Oesophagostomum bifurcum* and hookworm infections in humans in Togo. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61(6), 951–955. PubMed ID 10674676
- Pitt, S., Percy, B. E., Stevens, R. H., Sharipov, A., Satarov, K., & Banatvala, N.** (1998). War in Tajikistan and re-emergence of *Plasmodium falciparum*. *The Lancet*, 352(9136), 1279.
- Polderman, A. M., & Blotkamp, J.** (1995). *Oesophagostomum* infections in humans. *Parasitology Today (Personal Ed.)*, 11(12), 451–456. PubMed ID 15275382
- Poulsen, L. W., & Iversen, G.** (2009). Relapsing Fever: A Differential Diagnosis to Malaria. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 28(4), 419–420. PubMed ID 8893411
- Prugnolle, F., Durand, P., Neel, C., Ollomo, B., Ayala, F. J., Arnathau, C., ... Renaud, F.** (2010). African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(4), 1458–1463. doi:10.1073/pnas.0914440107
- Prugnolle, F., Ollomo, B., Durand, P., Yalcindag, E., Arnathau, C., Elguero, E., ... Renaud, F.** (2011). African monkeys are infected by *Plasmodium falciparum* nonhuman primate-specific strains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(29), 11948–11953. doi:10.1073/pnas.1109368108

- Raoult, D., Fournier, P. E., Fenollar, F., Jensenius, M., Prieo, T., de Pina, J. J., ... Marrie, T. J.** (2001). *Rickettsia africae*, a tick-borne pathogen in travelers to sub-Saharan Africa. *The New England Journal of Medicine*, 344(20), 1504–1510. doi:10.1056/NEJM200105173442003
- Rayner, J. C., Liu, W., Peeters, M., Sharp, P. M., & Hahn, B. H.** (2011). A plethora of *Plasmodium* species in wild apes: a source of human infection? *Trends in Parasitology*, 27(5), 222–229. doi:10.1016/j.pt.2011.01.006
- Rich, S., & Ayala, F.** (2003). Progress in Malaria Research: the Case for Phylogenetics. *Advances in Parasitology*, 54, 255–280. doi:10.1016/S0065-308X(03)54005-2
- Rodríguez, M., Flores, P., Ahumada, V., Vázquez-Vázquez, L., Alvarado-de la Barrera, C., & Reyes-Terán, G.** (2012). Central Nervous System Strongyloidiasis and Cryptococcosis in an HIV-Infected Patient Starting Antiretroviral Therapy. *Case Reports in Medicine*, (1), 575470. doi:10.1155/2012/575470
- Rosenthal, M., & Xanthan, W. A.** (2010). Structural and keeper considerations in exhibit design. *Wild Mammals in Captivity, Chicago University Press Ed (USA)*, 119–217.
- Rouquet, P., Froment, J.-M., Bermejo, M., Kilbourn, A., Karesh, W., Reed, P., ... Leroy, E. M.** (2005). Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerging Infectious Diseases*, 11(2), 283–290. doi:10.3201/eid1102.040533
- Saj, T., Sicotte, P., & Paterson, J. D.** (1999). Influence of Human Food Consumption on the Time Budget of Vervets. *International Journal of Primatology*, 20(6), 977–994. doi:10.1023/A:1020886820759
- Sak, B., Petrželková, K. J., Květoňová, D., Mynářová, A., Pomajbíková, K., Modrý, D., ... Kváč, M.** (2014). Diversity of *Microsporidia*, *Cryptosporidium* and *Giardia* in Mountain Gorillas (*Gorilla beringei beringei*) in Volcanoes National Park, Rwanda. *PLoS One*, 9(11), e109751. doi:10.1371/journal.pone.0109751
- Salzer, J. S., Rwego, I. B., Goldberg, T. L., Kuhlenschmidt, M. S., & Gillespie, T. R.** (2007). *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. infections in primates in fragmented and undisturbed forest in western Uganda. *The Journal of Parasitology*, 93(2), 439–440. doi:10.1645/GE-970R1.1
- Savioli, L., Smith, H., & Thompson, A.** (2006). *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends in Parasitology*, 22(5), 203–208. doi:10.1016/j.pt.2006.02.015
- Sawyer, D.** (1988). Frontier malaria in the Amazon region of Brazil: types of malaria situations and some implications for control. Brasilia (Brazil). *Technical consultation on Research in Support of Malaria Control the Amazon*, Abril, 28-30
- Schino, G.** (2007). Grooming and agonistic support: a meta-analysis of primate reciprocal altruism. *Behavioral Ecology*, 18(1), 115–120. doi:10.1093/beheco/arl045

- Schuster, F. L., & Ramírez-Ávila, L.** (2008). Current world status of *Balantidium coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(4), 626–638. doi:10.1128/CMR.00021-08
- Schwabe, C. W.** (1984). Veterinary Medicine and Human Health, Third Edition. *Baltimore Williams and Wilkins Ed (USA)*, 16-34. doi:10.1111/j.1751-0813.1998.tb10239.x/abstract
- Shakespeare, M.** (2002). Zoonoses. *Pharmaceutical Press Ed*, 235-256.
- Singh, B., Kim Sung, L., Matusop, A., Radhakrishnan, A., Shamsul, S. S. G., Cox-Singh, J., ... Conway, D. J.** (2004). A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *The Lancet*, 363(9414), 1017–1024. doi:10.1016/S0140-6736(04)15836-4
- Smith, L. B.** (1953). Bromeliad Malaria. *Smithsonian Institution Ed (USA)*, 385-398.
- Springer, A., & Fichtel, C.** (2015). Ectoparasites of a group-living wild lemur species, Verreaux's sifaka: Does sociality influence infection risk?. *University of Veterinary Medicine Ed (Germany)*.
- Statistics South Africa.** (2013). South African Statistics. *South Africa Government Ed (South Africa)*, 20-63.
- Stauffer, W., & Ravdin, J. I.** (2003). *Entamoeba histolytica*: an update. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 16(5), 479. doi: 10.1097/01.qco.0000092821.42392.ca
- Stroud, P.** (2007). Defining issues of space in zoos. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 2(6), 219–222. doi:10.1016/j.jveb.2007.10.003
- Sundararaman, S. A., Liu, W., Keele, B. F., Learn, G. H., Bittinger, K., Mouacha, F., ... Hahn, B. H.** (2013). *Plasmodium falciparum*-like parasites infecting wild apes in southern Cameroon do not represent a recurrent source of human malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(17), 7020–7025. doi:10.1073/pnas.1305201110
- Suzuki, J., Kobayashi, S., Murata, R., Yanagawa, Y., & Takeuchi, T.** (2007). Profiles of a pathogenic *Entamoeba histolytica*-like variant with variations in the nucleotide sequence of the small subunit ribosomal RNA isolated from a primate (De Brazza's guenon). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 38(3), 471–474. doi:10.1638/2006-0068.1
- Tachibana, H., Yanagi, T., Pandey, K., Cheng, X.-J., Kobayashi, S., Sherchand, J. B., & Kanbara, H.** (2007). An *Entamoeba* sp. strain isolated from rhesus monkey is virulent but genetically different from *Entamoeba histolytica*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 153(2), 107–114. doi:10.1016/j.molbiopara.2007.02.006
- Takano, J., Narita, T., Tachibana, H., Terao, K., & Fujimoto, K.** (2007). Comparison of *Entamoeba histolytica* DNA isolated from a cynomolgus monkey with human isolates. *Parasitology Research*, 101(3), 539–546. doi:10.1007/s00436-007-0510-2
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L.** (2016). Veterinary Parasitology. *Blackwell Ed (UK)*, 259-311, 853-876.

- Terashima, A., Gotuzzo, E., Alvarez, H., Infante, R., Tello, R., Watts, D., & Freedman, D.** (1999). *Strongyloides stercoralis*: clinical severe forms associated to HTLV-1 infection. *Revista de Gastroenterología Del Peru*, 19(1), 35–40.
- Thompson, R. C.** (2000). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal for Parasitology*, 30(12), 1259–1267. PubMed ID 1113253
- Trape, J. F.** (1985). Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(2), 181–184.
- Trouiller, P., & Olliaro, P. L.** (1998). Drug development output from 1975 to 1996: what proportion for tropical diseases? *International Journal of Infectious Diseases*, 3(2), 61–63. PubMed ID 10225981
- Turner, T. R., Anapol, F., & Jolly, C. J.** (1997). Growth, development, and sexual dimorphism in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) at four sites in Kenya. *American Journal of Physical Anthropology*, 103(1), 19–35. doi:10.1002/(SICI)1096-8644(199705)103:1<19::AID-AJPA3>3.0.CO;2-8
- Vadlamudi, R. S., Chi, D. S., & Krishnaswamy, G.** (2006). Intestinal strongyloidiasis and hyperinfection syndrome. *Clinical and Molecular Allergy*, 4(1), 1. doi:10.1186/1476-7961-4-8
- Valkiūnas, G., Ashford, R. W., Bensch, S., Killick-Kendrick, R., & Perkins, S.** (2011). A cautionary note concerning *Plasmodium* in apes. *Trends in Parasitology*, 27(6), 231–232. doi:10.1016/j.pt.2011.02.008
- Verweij, J. J., Vermeer, J., Brienen, E. A. T., Blotkamp, C., Laeijendecker, D., van Lieshout, L., & Polderman, A. M.** (2003). *Entamoeba histolytica* infections in captive primates. *Parasitology Research*, 90(2), 100–103. doi:10.1007/s00436-002-0808-z
- Volkman, S. K., Barry, A. E., Lyons, E. J., Nielsen, K. M., Thomas, S. M., Choi, M., ... Hartl, D. L.** (2001). Recent origin of *Plasmodium falciparum* from a single progenitor. *Science*, 293(5529), 482–484. doi:10.1126/science.1059878
- Vythilingam, I., Tan, C. H., Asmad, M., Chan, S. T., Lee, K. S., & Singh, B.** (2006). Natural transmission of *Plasmodium knowlesi* to humans by *Anopheles latens* in Sarawak, Malaysia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(11), 1087–1088. doi:10.1016/j.trstmh.2006.02.006
- Wallis, J., & Lee, D. R.** (1999). Primate Conservation: The Prevention of Disease Transmission. *International Journal of Primatology*, 20(6), 803–826. doi:10.1023/A:1020879700286
- Walton, S. F., & Currie, B. J.** (2007). Problems in diagnosing scabies, a global disease in human and animal populations. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 268–279. doi:10.1128/CMR.00042-06
- Walzer, P. D., & Healy, G. R.** (1982). Balantidiasis [*Balantidium coli*]. *CRC Handbook Series in Zoonoses (USA) Ed*, 15–24.

- Wang, T., Yang, G., Yan, H., Wang, S., Bian, Y., Chen, A., & Bi, F.** (2008). Comparison of efficacy of selamectin, ivermectin and mebendazole for the control of gastrointestinal nematodes in rhesus macaques, China. *Veterinary Parasitology*, 153(1), 121–125. doi:10.1016/j.vetpar.2008.01.012
- West, G., Heard, D., & Caulkett, N.** (2014). Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia 2nd Ed. *Blackwell Ed (UK)*, 368-369.
- Wenz, A., Heymann, E. W., Petney, T. N., & Taraschewski, H. F.** (2010). The influence of human settlements on the parasite community in two species of Peruvian tamarin. *Parasitology*, 137(4), 675–684. doi:10.1017/S0031182009991570
- White, N. J., & Krishna, S.** (1989). Treatment of malaria: some considerations and limitations of the current methods of assessment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(6), 767–777. doi:10.1016/0035-9203(89)90322-2
- Whitfield, J.** (2003). The law of the jungle. *Nature*, 421(6918), 8–9. doi:10.1038/421008a
- Wilder Smith, A., Khairullah, N. S., Song, J. H., Chen, C. Y., & Torresi, J.** (2004). Travel Health Knowledge, Attitudes and Practices among Australasian Travelers. *Journal of Travel Medicine*, 11(1), 9–15. doi:10.2310/7060.2004.13600
- Wilson, M. E.** (1995). Travel and the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 1(2), 39–46. doi:10.3201/eid0102.952001
- Wolfe, N. D., Escalante, A. A., Karesh, W. B., Kilbourn, A., Spielman, A., & Lal, A. A.** (1998). Wild primate populations in emerging infectious disease research: the missing link? *Emerging Infectious Diseases*, 4(2), 149–158. doi:10.3201/eid0402.980202
- Woodford, M. H., Butynski, T. M., & Karesh, W. B.** (2002). Habituating the great apes: the disease risks. *Oryx*, 36(2), 153–160. doi:10.1017/S0030605302000224
- World Health Organization.** (1990). Health conditions in the Americas. *WHO Ed*, 40, 61.
- Wunderground.** Consultada el 10 de Julio de 2016, en www.wunderground.com.
- Ximénez, C., Morán, P., Rojas, L., Valadez, A., & Gómez, A.** (2009). Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 9(6), 1023–1032. doi:10.1016/j.meegid.2009.06.008
- Yamasaki, T., Duarte, A. M. R. C., Curado, I., Summa, M. E. L., Neves, D. V. D. A., Wunderlich, G., & Malafronte, R. S.** (2011). Detection of etiological agents of malaria in howler monkeys from Atlantic Forests, rescued in regions of São Paulo city, Brazil. *Journal of Medical Primatology*, 40(6), 392–400. doi:10.1111/j.1600-0684.2011.00498.x
- Ye, J., Xiao, L., Ma, J., Guo, M., Liu, L., & Feng, Y.** (2012). Anthroponotic enteric parasites in monkeys in public park, China. *Emerging Infectious Diseases*, 18(10), 1640–1643. doi:10.3201/eid1810.120653

Yelifari, L., Bloch, P., Magnussen, P., van Lieshout, L., Dery, G., Anemana, S., ... Polderman, A. M. (2005). Distribution of human *Oesophagostomum bifurcum*, hookworm and *Strongyloides stercoralis* infections in northern Ghana. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(1), 32–38. doi:10.1016/j.trstmh.2004.02.007

Yuezhong, Y., Li, Z., Mingkun, L. I., & Jinlu, Z. (1995). Diarrhoea in piglets and monkeys experimentally infected with *Balantidium coli* isolated from human faeces. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(1), 69–72.

Zanzani, S. A., Gazzonis, A. L., Epis, S., & Manfredi, M. T. (2015). Study of the gastrointestinal parasitic fauna of captive non-human primates (*Macaca fascicularis*). *Parasitology Research*, 115(1), 307-312. doi:10.1007/s00436-015-4748-9

Zeibig, E. A. (2014) *Clinical Parasitology: a practical approach*. 2ed. Elsevier Ed (USA), 188-222. ISBN 1416060448

8. Comunicaciones a congresos

PARASITES DIGESTIFS TRANSMISSIBLES À L'HOMME DANS LES SANCTUAIRES DE PRIMATES, LE CAS DE VERVET MONKEY FOUNDATION

SANZ-CABAÑES, H.^{1,2} ; NAVARRO-SERRA, A.^{1,2} ; GARIJO-TOLEDO, M.² ; CARDELLS-PERIS, J.²



(1) Vervet Monkey Foundation, Plot 35 California, Tarentaalrand, Tzaneen, 0850, South Africa
 (2) Universidad CEU-Cardenal Herrera, Facultad de Veterinaria, Alfara-Valencia, Espagne.
 Contact: nature_vets@yahoo.com



Introduction

Les zoonoses sont aujourd'hui un champ de recherche très étudié, par leur importance pour le concept "d'une seule santé", principalement dans les pays en voie de développement. Dans ces pays se trouve la majorité de primates non humains sauvages. La grande quantité de primates en situation d'urgence est à l'origine de la création de la plupart des sanctuaires africains. La mission des sanctuaires est d'entamer le long processus de réhabilitation des primates. Les travailleurs et les bénévoles, nationaux ou internationaux, sont en contact régulier avec les animaux et leurs déchets anatomiques (comme les cadavres, la salive, l'urine et les selles). Ils sont donc des facteurs de risque pour la transmission de certaines zoonoses.



Figure 1. Singe vervet : portrait et assis sur un robinet.

Objectif

Le but de cette recherche est de déterminer l'existence des parasites gastro-intestinaux zoonotiques chez le singe vervet (*Chlorocebus pygerythrus*) dans un sanctuaire en Afrique du Sud, Vervet Monkey Foundation.

Materiel & Méthodes

L'étude a porté sur 117 singes vervets hébergés dans un sanctuaire africain, Vervet Monkey Foundation (Tzaneen, Afrique du Sud). Afin d'identifier la plupart des formes parasitaires présentes dans les selles, nous avons utilisé cinq des principales techniques copro-parasitaires chez les primates et trois méthodes qui ont été décrites récemment. Nous avons réalisé deux examens directs, quatre techniques d'enrichissement par flottation et deux par sédimentation. La différence des examens directs réalisés est qu'un était réalisé avec colorant (lugol) et l'autre sans colorant. Pour les quatre techniques d'enrichissement par flottation, nous avons utilisé les combinaisons possibles avec deux solutions de flottation (chlorure de sodium et sulfate de zinc) et deux équipement différents (Ovatecor® et Mini-flotac®). Les méthodes de sédimentation réalisées sont la sédimentation formol-acétate d'éthyle et la sédimentation avec Urantest copro®.

Résultats

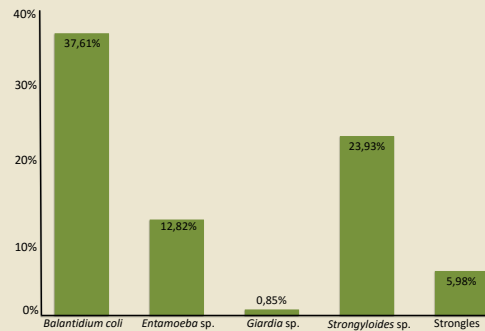
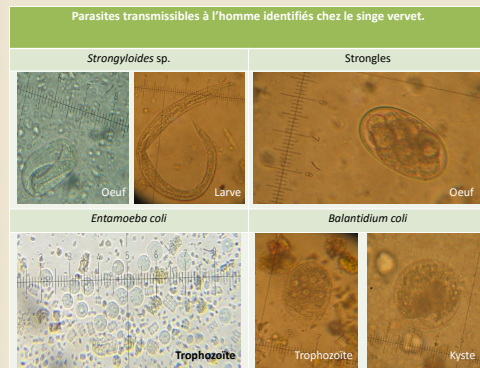


Figure 2. Pourcentage d'individus positifs à chacun de ces parasites zoonotiques identifiés.

Discussion

L'identification des parasites transmissibles à l'homme prouve que travailler au contact des animaux présente des risques pour la santé des personnes et des animaux. La transmission de parasites digestifs tels que *B.coli*, *Giardia*, *Entamoeba sp.* et strongles est généralement acquise après l'ingestion de matières fécales contenant des trophozoïtes et/ou des kystes; tandis que la larve strongyloïde est infectante par voie transcutanée. Il faut vérifier et actualiser les protocoles de prévention sanitaire pour éviter la transmission des parasites car les parasitoses digestives représentent un impact majeur sur la santé dans le monde, surtout dans les régions tropicales et subtropicales.

Références

- (1) MUEHLENBEIN M, MARTINEZ L, LEMKE A, AMBU L, NATHAN S, ALSISTO S, ANDAU P, SAKONG R (2008): Perceived vaccination status in ecotourists and risks of anthroozoonoses. Ecohealth 5 (3), 371-378.
- (2) SCHURER J, NDAO J, SKINNER S, IRVINE J, ELMORE S, EPP T, JENKINS (2013): Parasitic zoonoses: One Health surveillance in northern Saskatchewan. PLOS Neglected Tropical Diseases 7 (3), 2141.

Remerciement

Nous voulons remercier toute l'équipe de Vervet Monkey Foundation (www.vervet.za.org) pour avoir permis la réalisation de cette étude et avoir collaboré dans la prise d'échantillons.