

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA
Leptospira spp. EM JACARÉS-TINGA *Caiman*
crocodilus (LINNAEUS, 1758) DE VIDA LIVRE DA
REGIÃO DO MÉDIO RIO ARAGUAIA**

Sérgio Rodrigo Pereira de Oliveira
Médico Veterinário

UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS - BRASIL
2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA
Leptospira spp. EM JACARÉS-TINGA *Caiman*
crocodilus (LINNAEUS, 1758) DE VIDA LIVRE DA
REGIÃO DO MÉDIO RIO ARAGUAIA**

Sérgio Rodrigo Pereira de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

UBERLÂNDIA – MG

Março de 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- O48d Oliveira, Sérgio Rodrigo Pereira de, 1987-
2014 Detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. em jacarés-tinga *caiman crocodilus* (Linnaeus, 1758) de vida livre da região do médio rio Araguaia/ Sérgio Rodrigo Pereira de Oliveira. -- 2014.
52 f. : il.
Orientador: André Luiz Quagliatto dos Santos.
- Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.
1. Veterinária - Teses. 2. Epidemiologia veterinária - Teses. 3. Reptil - Doenças - Teses. 4. Leptospirose em animais - Teses. I. Santos, André Luiz Quagliatto dos. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

“O amor nada dá senão de si próprio e nada recebe senão de si próprio. O amor não possui, nem se deixa possuir, porque o amor basta-se a si mesmo. Quando um de vós ama, que não diga: “Deus está no meu coração”, mas que diga antes: “Eu estou no coração de Deus”. E não imagineis que possais dirigir o curso do amor, pois o amor, se vos achar dignos, determinará ele próprio o vosso curso.”

Khalil Gibran

Dedico

À minha esposa, Ana Cláudia, e ao
nosso filho Ravi, que antes de nascer já
ilumina as nossas vidas.

Aos meus pais, Raul e Neide, pela
confiança, amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar a oportunidade de viver em uma época tão especial, e por estar presente em cada segundo de minha vida, especialmente nos momentos de dúvidas, o Seu Sopro Divino estava presente para me consolar e me lembrar do meu dever para com todos;

Aos meus pais Raul e Neide por terem me gerado e criado com tanto amor que ainda levarei muitos anos para compreender a imensidão deste amor desapegado, o qual não existem palavras para descrevê-lo, apenas sinto;

Aos meus irmãos Raul Jr., Michelle e Paulo, pelo apoio, amor, cumplicidade, compreensão e dedicação ao irmão caçula;

A minha esposa Ana, pela torcida, amor, entrega, cumplicidade, suporte emocional, paciência e compreensão pelos dias de ausência devido ao Mestrado;

Ao Prof. Dr. André Luiz Quagliatto dos Santos, pela orientação e por ter aberto as portas desta linda área de animais selvagens, me levando nas viagens ao rio Araguaia, onde em horas aprendi mais do que em meses dentro de uma sala de aula;

A minha querida amiga e professora, Dra. Anna Monteiro Lima, por me ajudar desde a graduação e principalmente nessa etapa de minha vida, por ter sido não só uma orientadora e amiga, mas sim como uma mãe que independentemente da hora e do lugar onde estava, acolheu o filho com muito amor, dedicação, comprometimento, conselhos que me guiaram até aqui;

Ao Prof. Dr. José Roberto Ferreira Alves Júnior, pelo apoio, ideias compartilhadas, amizade e conversas engraçadas;

Às amigas do Laboratório de Doenças Infecto – contagiosas – UFU, Dayane Gomes e Gabriela Ramos, pela ajuda na realização dos testes sorológicos e pelos momentos de risada;

À mestranda Thaís Carneiro, pelo apoio na realização dos exames;

À Liliane Rangel, pelo auxílio nos trabalhos de campo;

A todos os jacarés-tinga (*Caiman crocodilus*) que doaram amostras de soro sanguíneo em prol desta pesquisa;

À CAPES e CNPq, pela concessão do apoio financeiro;

A todos os amigos, familiares, professores e técnicos da Universidade Federal de Uberlândia que contribuíram para a realização deste trabalho;

Meus sinceros agradecimentos!!!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Jacarés-tinga (<i>Caiman crocodilus</i>).....	3
2.2. Leptospirose.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Área de estudo e amostras.....	16
3.2. Colheita do material.....	17
3.3. Técnica de soroprecipitação microscópica (SAM).....	18
3.4. Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS.....	21
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÕES.....	30
REFERÊNCIAS.....	31
ANEXO 1.....	40
ANEXO 2.....	41

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Localização das áreas de captura de <i>C. crocodilus</i> . (A) Lagoa do Japonês; (B) Lago Celeste.....	16
Figura 2: Captura de <i>C. crocodilus</i> . (A) Utilização do varejão com cabo de aço e corda. (B) Imobilização de um <i>C. crocodilus</i> com auxílio de cambão	17
Figura 3: Colheita das amostras de sangue por punção do seio vertebral cervical de um <i>C. crocodilus</i>	18
Figura 4: Jacarés-tinga e bovinos compartilhando da mesma fonte de água do Lago Celeste, Araguaiana - MT.....	27

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Sorogrupos e sorovariedades de <i>Leptospira</i> spp. empregadas como antígenos na técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).....	20
Tabela 2: Resultados da triagem realizada pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) em amostras de soro sanguíneo dos <i>C. crocodilus</i> de vida livre, capturados na região do médio rio Araguaia-GO e MT, no período entre 2011 e 2012.....	21
Tabela 3: Resultados da titulação realizada pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) em amostras de soro dos <i>C. crocodilus</i> de vida livre, capturados na região do vale do Araguaia – GO e MT, Lagoa Japonês e Lago Celeste, no período entre 2011 e 2012, demonstrando a quantidade de sororreagentes e o título (n/T).....	22

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM JACARÉS-TINGA
Caiman crocodilus (LINNAEUS, 1758) DE VIDA LIVRE DA REGIÃO DO MÉDIO
RIO ARAGUAIA**

RESUMO - No Brasil, a bovinocultura de corte extensiva é um dos pilares da economia de regiões alagadiças e pouco exploradas. Como consequência, bovinos e animais selvagens compartilham o mesmo ambiente, facilitando uma possível transmissão cruzada de doenças infectocontagiosas entre eles e até mesmo para humanos, uma vez que esses podem ser infectados por contato direto com a urina, sangue e tecidos de animais portadores ou por contato indireto, através de água e/ou sólidos contaminados por urina de animais infectados. Essa pesquisa foi realizada com o objetivo de detectar aglutininas anti-*Leptospira* spp. em amostras de soro sanguíneo de jacarés-tinga (*Caiman crocodilus*) de vida livre de duas áreas distintas da região do médio rio Araguaia, Mato Grosso e Goiás, e identificar as sorovariedades mais frequentes nesses animais. Utilizando a técnica de soroglutinação microscópica (SAM), foram testadas 75 amostras de soro sanguíneo frente a 22 sorovariedades de *Leptospira interrogans*. Dessas amostras, 59 (78,67%) foram sororreagentes. As sorovariedades de maior ocorrência encontrada nos *C. crocodilus* da região do médio rio Araguaia foram: Patoc, Pyrogenes e Pyrogenes/Tarassovi, com títulos máximos de 1600, 1600 e 800, respectivamente. Esse trabalho foi o primeiro a relatar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em *C. crocodilus*, sugerindo que estes animais podem ser hospedeiros naturais ou de manutenção das sorovariedades Patoc e Pyrogenes.

Palavras-chave: Epidemiologia, Leptospirose, Répteis, Sorologia, Zoonose.

**DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *Leptospira* spp. IN FREE-RANGING
SPECTACLED CAIMAN *Caiman crocodilus* (Linnaeus, 1758) OF MIDDLE
REGION OF ARAGUAIA RIVER**

ABSTRACT – In Brazil, the extensive beef cattle is one of the pillars of the marshy and poorly explored regions economy. As a consequence, cattle and wild animals share the same environment, facilitating a possible cross transmission of infectious diseases between them and even to humans, once they may be infected by direct contact with urine, blood and tissues from carriers animals or by indirect contact, by water and/or contaminated solids by urine of infected animals. This research was conducted with the goal of detecting agglutinins anti-*Leptospira* spp. in blood serum samples of free-ranging spectacled caiman (*Caiman crocodilus*) from two distinct areas of middle region of Araguaia river, Mato Grosso and Goiás, and identify the most frequent serovars in these animals. Using the technique of the microscopic agglutination test (MAT), were tested 75 blood serum samples against 22 serovars of *Leptospira interrogans*. Of these samples, 59 (78.67%) were seropositive. The most frequent serovars found in *C. crocodilus* from the middle Araguaia river region were Patoc, Pyrogenes and Pyrogenes/Tarassovi with maximum titles of 1600, 1600 and 800, respectively. This work was the first to report the presence of anti-*Leptospira* spp. in *C. crocodilus*, suggesting that these animals may be natural or maintenance hosts of serovars Patoc and Pyrogenes.

Keywords: Epidemiology, Leptospirosis, Reptile, Serology, Zoonosis.

1. INTRODUÇÃO

Desde 1200 a.C., os crocodilianos são explorados de diversas maneiras pelos humanos, que utilizam a carne e os ovos desses répteis na alimentação, além de outros usos como na medicina. Com o advento da era moderna os humanos passaram a explorar mais ainda os produtos desses animais, principalmente na produção de manufaturas para a indústria da moda (LATHRAP, 1973).

Alguns estados do Brasil que possuem regiões alagadiças e pouco exploradas, como Mato Grosso e Goiás, têm a bovinocultura de corte extensiva como um dos pilares da economia. Isso faz com que bovinos e animais selvagens compartilhem o mesmo ambiente, facilitando a possível transmissão cruzada de doenças infectocontagiosas entre eles e até mesmo para humanos (ALVES JÚNIOR, 2013). As principais vias de infecção por contato direto são: urina, sangue, tecidos, monta natural e inseminação artificial com sêmen de touros infectados; enquanto que por contato indireto podem-se destacar água, alimentos e fômites contaminados com leptospiras (FIGUEIREDO *et al.*, 2008).

Ao longo de toda a História a fauna selvagem tem sido importante fonte de doenças infecciosas, transmissíveis inclusive aos seres humanos. É fato que os animais selvagens desempenham importante papel na epidemiologia da maioria das zoonoses servindo como reservatórios principais para transmissão de zoonoses aos animais domésticos e humanos. Isso constitui importante problema de saúde pública, o qual afeta todos os continentes (KRUSE *et al.*, 2004).

Apesar de existirem alguns trabalhos de pesquisa sobre a leptospirose em animais selvagens na América do Sul, no Brasil a enfermidade ainda é pouco estudada na fauna silvestre de vida livre e os trabalhos científicos sobre a leptospirose estão se iniciando em animais selvagens de cativeiro. Essa carência de dados científicos deixa uma possível lacuna na cadeia epidemiológica da doença, o que dificulta a elaboração de planos estratégicos de controle da enfermidade (ESTEVES, 2005).

Embora seja desconhecido o papel de qualquer classe animal diferente dos mamíferos na epidemiologia da leptospirose (ROSSETTI *et al.*, 2003), os répteis têm

sido identificados como possíveis reservatórios de *Leptospira* spp. (SILVA *et al.*, 2010; BISCOLA *et al.*, 2011), permanecendo saudáveis mesmo quando infectados pela bactéria (SANTA ROSA *et al.*, 1980; CALLE *et al.*, 2001).

A primeira investigação epidemiológica de leptospirose em jacarés foi realizada por Rossetti *et al.* (2003), que testaram 83 amostras de soro sanguíneo, sendo 65 *Caiman latirostris* (jacaré-do-papo-amarelo) [46 cativos e 19 de vida livre], e 18 *Caiman yacare* (jacaré-do-pantanal) [14 cativos e quatro de vida livre]. Foi encontrado um total de 67 (81,00%) sororreagentes, não havendo diferença significativa entre as espécies estudadas, porém os autores observaram uma maior frequência de anticorpos leptospirais nos animais de vida livre (95,65%), comparados à frequência encontrada nos animais de cativeiro (75,00%). As sorovariedades encontradas pelos autores foram Sarmin (94,00%), Javanica (3,00%), Pyrogenes (1,50%) e Copenhageni (1,50%), sendo detectado os maiores títulos em dois animais de cativeiro e um de vida-livre, 3.200 e 1.600, respectivamente, para a sorovariedade Sarmin.

A leptospirose é uma doença bacteriana infectocontagiosa, de distribuição mundial capaz de acometer animais domésticos, selvagens e até mesmo os seres humanos, e está associada com períodos de alta pluviosidade, ocorrendo principalmente em países tropicais e subtropicais (HORSCH, 1999; PLANK, DEAN, 2000; COLEMAN, 2000). Essas características aliadas ao fato de que os animais selvagens são hospedeiros de grande número de agentes infecciosos, ressaltam a importância do estudo epidemiológico da leptospirose, objetivando melhor conhecimento dos focos naturais desta zoonose.

Conforme descrito anteriormente, já existem alguns trabalhos sobre a leptospirose em répteis selvagens, porém essa doença ainda não foi investigada em *Caiman crocodilus* (jacaré-tinga). Assim, a falta do conhecimento da cadeia epidemiológica da leptospirose dificulta a elaboração de planos estratégicos e a aplicação de medidas profiláticas.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de pesquisar aglutininas anti-*Leptospira* spp. em soro sanguíneo de *C. crocodilus* de vida livre, capturados em duas áreas distintas da região do médio rio Araguaia, Mato Grosso e Goiás, e identificar as sorovariedades mais frequentes nesses animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Jacarés-tinga (*Caiman crocodilus*)

Segundo a revisão taxonômica baseada na filogenia, dentre os animais conhecidos como répteis, existem aproximadamente 6400 espécies, que se dividem em quatro ordens, Testudines (tartarugas, cágados e jabutis), Lepidosauria (lagartos, serpentes, anfisbenias e tuatara), Crocodylia (crocodilos, jacarés e gaviais) e Aves. Cada grupo com características conspícuas (RIEPPEL, REISZ, 1999; POUGH *et al.*, 2003).

Os crocodilianos atuais representam apenas uma fração das espécies que existiram durante o período Triássico, há 220 milhões de anos, e constituem um grupo faunístico pertencente à subordem Archosauria (CUBAS *et al.*, 2006; ROMER, PARSONS, 1985). Os representantes modernos consistem em 8 gêneros e 23 espécies distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais, por vezes estendendo-se até as regiões temperadas do planeta. Dessas 23 espécies, 15 são usadas comercialmente para alimentação e manufatura de artigos de luxo (SANTOS, 1997).

Membros da classe Reptilia, subclasse Diapsida, subordem Archosauria e ordem Crocodylia, os crocodilianos se dividem em três famílias: Alligatoridae, Crocodylinae e Gavialinae (ZUG *et al.*, 2001), sendo os brasileiros denominados jacarés. Há quatro gêneros viventes representando os Alligatoridae: Alligator, Caiman, Melanosuchus e Paleosuchus. O primeiro de ocorrência na América do Norte e China, o segundo ocorre do sul do México à América do Sul, e os demais apenas na América do Sul (SILL, 1968; MARTIN, 2008).

Os jacarés e aligatores são predominantemente de água doce, enquanto que os Crocodylidae incluem espécies como o crocodilo de água salgada, que habitam estuários, mangues, pântanos e regiões baixas de grandes rios. Esta espécie sempre ocorre amplamente na região Indo-Pacífica e penetra no arquipélago Indo-Australiano até o norte da Austrália (BELLAIRS, 1987; NAISH, 2001; MADER, 2006).

Os crocodilianos são animais ectodérmicos, variando a temperatura corporal de acordo com a ambiental, e nos quais reações físico-químicas mediadas por

enzimas são tanto governadas, como extremamente dependentes da temperatura do ambiente. Por isso, a distribuição da maioria das espécies de crocodilianos se dá em partes do mundo onde a temperatura mais fria do ano não fique abaixo de 10°C, limitando-se às regiões tropicais e sub-tropicais, sendo encontrados nos cinco continentes (ROSS, MAGNUSSON, 1989).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH, 2012) na ordem Crocodylia, família Alligatoridae, encontram-se no Brasil seis espécies: *Caiman crocodilus* (LINNAEUS, 1758); *Caiman latirostris* (DAUDIN, 1802); *Caiman yacare* (DAUDIN, 1802); *Melanosuchus niger* (SPIX, 1825); *Paleosuchus palpebrosus* (CUVIER, 1807); *Paleosuchus trigonatus* (SCHNEIDER, 1801).

As quatro espécies de crocodilianos amazônicos são: o jacaré-açu (*Melanosuchus niger*), o jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*), o jacaré-coroa (*Paleosuchus trigonatus*) e o jacaré-tereterê (*Paleosuchus palpebrosus*). Dentre estas espécies, nenhuma é considerada atualmente ameaçada de extinção no Brasil (IBAMA, 2012). Os crocodilianos mais comuns nas florestas alagáveis amazônicas são o *C. crocodilus* e o *M. niger*, sendo que nas florestas de várzea o jacaré-açu é o mais abundante (DA SILVEIRA, 2001).

O jacaré-tinga pode atingir até dois metros e meio de comprimento e é caracterizado pelo corpo esverdeado com manchas amarelas e cinzas. Devido aos seus hábitos oportunistas que permitem a abundância de alimentos, esses animais apresentam vasta distribuição territorial, sendo encontrado desde o sul do México até o Norte da América do Sul (BRAZAITIS *et al.*, 1998; VILLELA, 2008).

Os crocodilianos são carnívoros, outrora bem generalistas, pois sua dieta inclui uma grande diversidade de itens na natureza. São predadores oportunistas, podendo se alimentar de qualquer animal vivo capturável, incluindo os da mesma espécie (SANTOS *et al.*, 1997). Tal consumo depende da disponibilidade de alimentos no ambiente e da facilidade de captura das presas. A dieta varia com a idade, habitat, estação do ano e região geográfica (WEBB *et al.*, 1982). Os indivíduos adultos possuem a dieta mais variada, enquanto que os filhotes consomem principalmente insetos. Após um determinado tamanho, começam a consumir mais crustáceos e moluscos, e finalmente acabam alimentando-se de vertebrados (DIEFENBACH, 1975;

SANTOS, 1997), sendo ainda relatado por Brito *et al.* (2002) que alguns espécimes de *C. latirostris* se alimentam de frutos, em cativeiro.

A região amazônica possui uma das maiores concentrações de espécies da fauna mundial. Nesse ambiente os animais não são facilmente observáveis, devido à densidade da floresta, condição que favorece a proteção e sobrevivência das espécies que ali vivem (JAQUES, 2011).

A primeira forma de utilização da fauna pelo homem foi como fonte de alimentos, e provavelmente o consumo de animais selvagens teve um grande papel na evolução humana. A importância dos animais selvagens na alimentação dessas populações primitivas era tal, que o abate indiscriminado por essas populações chega a ser apontado como provável causa da extinção de algumas espécies animais (MOREIRA, MACDONALD, 1997).

Na década de 60 o estado do Amazonas foi o maior exportador de peles de jacarés amazônicos do mundo. Nas últimas décadas, o Amazonas tornou-se a região de maior produção ilegal de carne de jacaré do mundo (DA SILVEIRA, 2001). Desde a publicação da Lei de Proteção à Fauna (Lei 5.197/67) que proíbe a captura e comercialização de animais silvestres não provenientes de criadouros legalizados, a criação comercial emergiu como uma alternativa no Brasil. Caracterizada pela utilização sustentável de recursos naturais e valorização da fauna nacional, essa é uma atividade que se encontra em expansão (SÁ *et al.*, 2004).

No Brasil, a maior concentração de jacarés encontra-se no Estado do Mato Grosso do Sul, principalmente na região do Pantanal, o que motivou a criação de criadouros e aumentou a possibilidade de utilização da carne de jacaré como fonte proteica alternativa. Esses criatórios tornam-se formas de repovoar e diminuir a pressão da caça sobre este animal (ROMANELLI, 1995).

No ambiente natural, diversos fatores contribuem para a dinâmica das populações, dentre eles, as doenças, integridade do habitat, disponibilidade de alimentos, abrigo, fatores ambientais, temperatura e predadores. Devido à crescente urbanização, muitas populações selvagens sofrem com a degradação do habitat, e a proximidade com áreas urbanas e com animais domésticos podem afetar o equilíbrio

dessas populações, tornando-as mais predispostas a agentes infecciosos que podem causar doenças com efeitos devastadores (SILVA, 2007).

2. 2. Leptospirose

A leptospirose é uma doença bacteriana infectocontagiosa, aguda ou crônica, cosmopolita, capaz de acometer animais domésticos, selvagens e até mesmo humanos (COLEMAN, 2000; HORSCH, 1999).

Em 1880, no Cairo, Larrey descreveu pela primeira vez sobre a leptospira e, posteriormente, foi descrita por Landonzy, em 1883. Entretanto, o primeiro a descrever o quadro clínico da doença no homem foi Weil em 1886 na Alemanha (CORRÊA, CORRÊA, 1992), o qual caracterizou minuciosamente o quadro clínico por febre, icterícia e hemorragia, podendo ocorrer ainda comprometimento renal e hepático. Posteriormente, por sugestão de Goldschimidt (DIESCH, ELLINGHAUSEN, 1975), tal enfermidade passou a ser denominada doença de Weil (CALDAS *et al.*, 1992).

A leptospira tem sido encontrada em praticamente todos os países que realizam investigações epidemiológicas (PANDEY, 1994), e está mundialmente distribuída. Sua incidência tem forte associação com períodos de alta pluviosidade, ocorrendo principalmente em países tropicais e subtropicais (SULZER, 1980; ACHA, SZYFRES, 1986; PLANK, DEAN, 2000). Sob condições favoráveis e na presença de hospedeiros adequados, as leptospiros podem persistir por semanas (SULZER, 1980) ou meses (PLANK, DEAN, 2000) no ambiente. Em regiões secas, infecções acidentais ocorrem próximas a águas represadas com alta concentração de animais, e nas regiões temperadas as infecções são sazonais, ocorrendo com maior frequência nos meses quentes e chuvosos (SZYFRES, 1976).

Primeiramente as leptospiros eram diferenciadas por reações sorológicas, sendo reconhecidas duas espécies: uma apatogênica, saprófita, isolada do ambiente, *L. biflexa*, e outra patogênica, *L. interrogans* (ELLIS, 1995). Esta divisão baseava-se em critérios estritamente relacionados a reações sorológicas relativamente específicas, que forneciam os sorogrupos e sorotipos de leptospiros patogênicos e saprófitas. A identificação dos sorotipos só era possível através do emprego da técnica

de absorção cruzada de aglutininas, executadas por laboratórios de referência (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1985).

Entretanto, de acordo com a nova classificação, mais de 260 sorovariedades agrupadas em 23 sorogrupos estão definidas, sendo a *L. interrogans* classificada em 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffii* (ADLER, MOCTEZUMA, 2010).

O amplo número de sorovariedades existentes dificulta os estudos, uma vez que podem ocorrer variações regionais, bem como variações nas espécies estudadas. Verifica-se, ainda, uma predileção das diferentes sorovariedades por determinadas espécies, podendo haver um mesmo hospedeiro infectado por uma ou mais sorovariedades (ACHA, SZYFRES, 1986; ACHA, SZYFRES, 2001).

Morfologicamente as leptospirosas apresentam-se em forma de espiroquetas, helicoidais, flexíveis, móveis (0,1 x 6 a 12µm), fortemente espiraladas e com extremidades em forma de gancho (FAINE, 1994; FIGUEIREDO *et al.*, 2008). De acordo com Faine (1994), essas bactérias possuem dois filamentos axiais (flagelo periplasmático) na região do espaço periplasmático.

As diferentes sorovariedades de *L. interrogans* não apresentam especificidade de hospedeiro, porém o que se observa é a existência de uma preferência de certas sorovariedades por determinados vertebrados. Exemplos desta condição configuram-se nas associações estabelecidas entre o rato de esgoto e a sorovariedade *Icterohaemorrhagiae*, o cão doméstico e a sorovariedade *Canicola*, o suíno e a sorovariedade *Pomona*, e o bovino e a sorovariedade *Hardjo* e ou *Wolffi* (FAINE, 1994).

Em ambientes com altas temperaturas, as leptospirosas podem sobreviver em um período que pode ser de semanas ou meses em lagoas, rios, superfícies d'água, solos úmidos e lamas, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (PLANK, DEAN, 2000). Já dentro dos hospedeiros, as leptospirosas patogênicas podem persistir nos túbulos renais ou no trato genital de animais portadores (QUINN *et al.*, 2005).

Na água, o tempo de sobrevivência das espécies patogênicas varia segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em

pH próximo à neutralidade, variando entre 7,2 e 7,4 (BROD *et al.*, 2005). São bactérias sensíveis ao pH ácido, à luz solar direta, à dessecação, a temperaturas inferiores a 7°C ou superiores a 37°C (FIGUEIREDO *et al.*, 2008), aos desinfetantes comuns e aos antissépticos (BINDER, MERMEL, 1998). Segundo Horsch (1999), são bactérias pouco resistentes aos desinfetantes que desviam o pH abaixo de 6 e acima de 11.

Segundo Radostits *et al.* (2010), a umidade e a água são os fatores mais importantes para a permanência e persistência do agente no solo, no qual, quando saturado com água, pode sobreviver até 183 dias. Em água parada a sobrevivência das leptospirosas é maior que em água corrente; nesta já foi descrita a sobrevivência destas espiroquetas durante 15 dias. Além disso, conforme os autores, devido a água ser um importante meio de disseminação do agente, maiores serão as chances de surgirem novos casos em áreas planas durante as estações chuvosas, quando a contaminação e a susceptibilidade forem elevadas.

A ocorrência desta zoonose é variável em diferentes áreas geográficas, no entanto são frequentes as situações de endemia, com variações sazonais revelando picos epidêmicos nos meses chuvosos, onde há associação entre as condições ambientais propícias e a alta densidade de animais infectados. Os casos de leptospirose estão comumente associados à exposição a água contaminada com a urina ou tecidos provenientes de animais infectados (FAINE, 1994).

Não há multiplicação da leptospira fora do hospedeiro, sendo que a urina é a principal via de eliminação do agente tanto em animais doentes como nos portadores, e por meio dela alcança o meio ambiente onde sobrevive por períodos variáveis até infectar outro hospedeiro, através das mucosas e da pele lesada ou amolecida pelo contato prolongado com ambiente úmido. Existem diversos sorotipos com diferentes características patogênicas que infectam os animais causando sintomatologia diversa, dependendo do sorotipo incidente (ARGENTINA, 2004).

Em várias partes do mundo existem populações selvagens infectadas por leptospirosas, principalmente roedores, que atuam como reservatórios da bactéria. Além disso, todos os animais de sangue quente, humanos, e até mesmo animais de sangue frio podem ser susceptíveis à infecção, sendo que as espécies de maior sensibilidade

são os caninos, suínos e bovinos, havendo diferenças dependendo do tipo e da virulência do agente causal (HORSCH, 1999).

Cada sorovariedade tem predileção por determinadas espécies animais que podem servir como hospedeiros naturais ou de manutenção, atuando como reservatórios do agente e causando a doença de forma moderada ou subclínica, seguida por excreção prolongada da bactéria na urina, ou ainda como hospedeiros acidentais, que desenvolvem a doença na forma grave, podendo transmiti-la para outros animais (QUINN *et al.*, 2005; FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Os altos riscos de infecção são caracterizados pelo contato direto ou indireto com urina (PANDEY, 1994) e produtos provenientes de animais infectados, como, por exemplo, sêmen, secreções vaginais e produtos de abortamento (BLOOD, RADOSTITS, 1989; FIGUEIREDO *et al.*, 2008).

A *Leptospira* spp. penetra no hospedeiro através das mucosas, lesões de pele, ou pele íntegra, seguindo-se sua multiplicação no sangue e praticamente em todos os órgãos e tecidos (BROD *et al.*, 2005). Nos animais que conseguem sobreviver à fase aguda da leptospirose, os microrganismos alcançam a luz dos túbulos contorcidos renais e passam a ser eliminados pela urina por períodos de tempo variados, caracterizando a modalidade de fonte de infecção denominada de portador convalescente (VASCONCELLOS, 1987).

As fontes de infecção são os animais doentes, os reservatórios, os portadores e portadores convalescentes. Vários grupos de animais, domésticos ou selvagens, podem servir como fontes de infecção da doença (GIRIO, LEMOS, 2002). Alt e Bolin (1996) relataram que os animais persistentemente infectados são as principais fontes de infecção para outros animais e para os humanos. No entanto, os roedores, tanto selvagens quanto sinantrópicos, merecem maior destaque como fontes de infecção, uma vez que albergam as leptospirosas nos rins, eliminando-as pela urina durante longos períodos, contaminando águas e alimentos (MICHNA, CAMPBELL, 1970; FAINE, 1982; FIGUEIREDO *et al.*, 2008).

Na maioria dos casos, os reservatórios são os roedores das espécies *Rattus rattus*, *Mus musculus* e, principalmente, o *Rattus norvegicus* (LANGONI, 1999). São

considerados portadores e doentes, os suínos, bovinos, cães, equinos, ovinos, caprinos e animais selvagens.

A porta de entrada é a pele lesada ou íntegra e mucosa em contato com urina contaminada sendo esta última a via de eliminação do agente. A transmissibilidade depende da leptospirúria (eliminação do agente pela urina), que pode variar de meses até anos, tendo caráter intermitente (EYS *et al.*, 1989). É comum a infecção em roedores que atuam como reservatórios, apresentando o agente sem manifestar sinais clínicos (ACHA, SZYFRES, 1986).

A transmissão da bactéria pode ocorrer por contato direto ou indireto (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). As principais vias de transmissão por contato direto são urina, sangue, tecidos, monta natural e inseminação artificial com sêmen de touros infectados, enquanto que por contato indireto, podem-se destacar água, alimentos e fômites contaminados com leptospiras (FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Quinn *et al.* (2005) descreveram que a patogenicidade das leptospiras está relacionada à virulência da sorovariedade infectante e à suscetibilidade da espécie do hospedeiro.

A infecção, auxiliada pela motilidade do microorganismo, ocorre quando este penetra pela pele através de ferimentos, ulcerações ou por contato com a conjuntiva, mucosas bucal ou nasofaringiana (FAINE, 1982), podendo ocorrer também pela pele íntegra, desde que tenha ficado submersa em água durante longo período de tempo provocando a abertura dos poros do hospedeiro (QUINN *et al.*, 2005; FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Conforme Alt e Bolin (1996), dependendo da sorovariedade e da dose infectante, o período de incubação pode variar entre sete e 14 dias.

Girio e Lemos (2002) descreveram que, nos hospedeiros, a leptospirose ocorre em duas fases, a primeira sendo a fase de leptospiremia e a segunda, a fase de leptospirúria. A leptospiremia acontece quando as bactérias se multiplicam na corrente circulatória, nos órgãos, principalmente baço, rins e fígado, nos interstícios, na linfa e no líquido, provocando lesões em vasos que levam a hemorragias, trombos, lesões hepáticas que provocam icterícia e lesões renais que evoluem para problemas de filtração (GIRIO, LEMOS, 2002; FIGUEIREDO *et al.*, 2008; RADOSTITS *et al.*, 2010). Nos túbulos renais, trato reprodutivo, câmara anterior dos olhos, sistema nervoso e meninges, algumas bactérias podem escapar do sistema imunológico do hospedeiro

e permanecer no organismo, sendo eliminadas pela urina, sêmen e corrimento vaginal de animais infectados durante meses a anos; constituindo a fase de leptospirúria (ALT, BOLIN, 1996; QUINN *et al.*, 2005).

A transmissão ao homem pode ocorrer por contato direto com sangue, tecidos, órgãos ou urina de animais infectados, ou por via indireta, pelo contato com água ou solo contaminados com a urina de animais portadores (VASCONCELLOS, 1987). Baseados em evidências não científicas alguns autores reportaram casos de leptospirose humana decorrida após o contato com jacarés e/ou seus ovos (HORD, 1998; SNELLING *et al.*, 2004; FEUER, DOMASH-MARTINEZ, 2011). Essas evidências sugerem que os manipuladores de crocodilos constituem um grupo de risco na infecção por leptospirose por contato direto e/ou indireto com materiais biológicos de crocodilianos.

A leptospirose é considerada tradicionalmente uma doença ocupacional com maior ocorrência em criadores de animais. Devido ao frequente contato com animais portadores e seus produtos e, ainda, ao próprio ambiente de trabalho, alguns grupos profissionais correm grande risco de contrair a infecção (ALMEIDA *et al.*, 1999; CARNEIRO *et al.*, 2004). Assim, algumas profissões são consideradas de alto risco: trabalhadores de esgoto, trabalhadores rurais, fazendeiros, veterinários, magarefes, garis, trabalhadores de aviários, vaqueiros, estudantes de escolas agrotécnicas e trabalhadores de limpeza pública formam um importante grupo de risco ocupacional (SANTA ROSA *et al.*, 1980; CARNEIRO *et al.*, 2004).

A leptospirose acomete todos os animais domésticos, selvagens e o homem, manifestando ou não os sinais clínicos e/ou sintomas decorrentes da infecção. Tanto a gravidade quanto as manifestações clínicas da leptospirose são variáveis, podendo os infectados apresentarem moderadas alterações do sistema genito-urinário ou doença sistêmica (QUINN *et al.*, 2005). Em alguns animais a infecção é inaparente, tornando-os animais convalescentes ou portadores sãos, os quais eliminam a bactéria pela urina durante meses a anos (THIERMANN, 1984).

Os levantamentos sorológicos de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em bovinos de vários estados brasileiros, têm registrado Hardjo e Wolffi como as variantes sorológicas mais frequentes, porém outras sorovariedades já foram descritas como

responsáveis por reações sorológicas nessa espécie, como Pomona, Patoc, Pyrogenes, Tarassovi, Bratislava, Autumnalis, Bataviae, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Canicola, Australis, Butembo, Whitcombi, Copenhageni e Castellonis (PELLEGRIN *et al.*, 1999; AGUIAR *et al.*, 2006; FIGUEIREDO *et al.*, 2009).

Quando infectados pelas sorovariedades Icterohaemorrhagiae, Pomona ou Grippytyphosa, os bezerros e os cordeiros, podem desenvolver a forma grave da leptospirose apresentando febre, anorexia, agalaxia, mastite, icterícia e hemoglobinúria. Além disso, caso haja lesão renal com consequente uremia, a enfermidade pode levar ao óbito dos animais (QUINN *et al.*, 2005). Nesses animais os sinais mais evidentes são o abortamento e a hemoglobinúria (HORSCH, 1999). Segundo Girio e Lemos (2002), a infecção ocasionada pelas sorovariedades Hardjo ou Pomona pode permanecer por mais de 142 dias no útero de vacas prenhes e mais de 97 dias no útero de fêmeas não gestantes.

A prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) com antígenos vivos é tida como a técnica de referência pela Organização Mundial de Saúde, tanto para o diagnóstico sorológico da leptospirose em animais como em humanos (FAINE, 1982). E comumente os resultados da SAM demonstram mais de uma sorovariedade envolvida, sugerindo a existência de uma infecção mista ou reações cruzadas (GIRIO, LEMOS, 2002). Esses resultados dificultam a interpretação dos quadros, no entanto, a repetição dos exames com nova amostra do mesmo animal normalmente indica título maior para a sorovariedade responsável pela infecção (DIESCH, 1980).

No Brasil a enfermidade em espécies selvagens de vida livre ainda é pouco estudada (GIRIO *et al.*, 1999), porém, trabalhos científicos sobre esta doença estão se iniciando em animais silvestres de cativeiro (GUERRA-NETO, 2006). Conforme Bender e Hall (1996), a função dos animais selvagens como fontes de infecção de leptospiras para os domésticos ainda não está bem definida. O melhor conhecimento da leptospirose na fauna selvagem tem grande importância para o controle e profilaxia da enfermidade nas espécies domésticas e também no homem (SOSA *et al.*, 1988).

Os estudos da leptospirose em répteis são escassos, porém os trabalhos indicam que o agente mais frequente é a sorovariedade Pomona e este atinge mais

ofídios e testudines, normalmente pela ingestão do agente presente em presas infectadas. O animal pode permanecer portador por até seis meses e meio, e parece não haver sinais clínicos ou lesões patológicas, embora algumas vezes se observe nefrite intersticial (OLIVEIRA, 2003). Segundo Santa Rosa *et al.* (1980), os répteis podem ser reservatórios de leptospiras, permanecendo saudáveis mesmo quando infectados pela bactéria.

Pestana *et al.* (1961) realizaram o primeiro estudo da leptospirose em animais selvagens. Quando investigaram o soro de 51 preás (*Cavia aperae azarea*) de vida livre, os autores detectaram 26 (51,90%) indivíduos sororreagentes a sorovariedade Icterohaemorrhagiae.

Em um experimento realizado com tartarugas da Geórgia, Glosser *et al.* (1974), ao investigarem amostras de soro pela prova de soroglutinação microscópica (SAM), identificaram a sorovariedade Tarassovi em tartarugas-de-orelha-vermelha (*Pseudemys scripta-elegans*) e em tartarugas mordedoras (*Chelydra serpentina*), e em tartarugas almiscaradas (*Sternotherus odoratus*) detectaram as sorovariedades Patoc, Andamana, Wolffi, Ballum e Copenhageni.

Santa Rosa *et al.* (1980), ao realizarem um estudo epidemiológico da leptospirose em serpentes do Brasil, empregaram a SAM em soros de 73 cascavéis (*Crotalus durissus terrificus*) e o índice de positividade encontrado foi de 45,20%, sendo detectadas as sorovariedades Icterohaemorrhagiae, Andamana, Panama, Cynopteri, Bataviae e Javanica.

Em estudo semelhante, Calle *et al.* (2001) testaram soros de dez anacondas (*Eunectes murinus*) de vida livre da Venezuela e detectaram 50,00% de reagentes à SAM para as sorovariedades Autumnalis, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni e Kennewicki.

Rossetti *et al.* (2003) realizaram a primeira e única investigação sorológica, na Argentina, em que foram detectados títulos de anticorpos leptospirais em *C. latirostris* (jacaré-do-papo-amarelo) e *C. yacare* (jacaré-do-pantanal), de vida livre e de cativeiro, da região do Chaco Argentino. Ao submeterem 83 amostras de soro sanguíneo dos caimans frente à SAM, os autores identificaram 67 (81,00%) animais positivos, havendo diferença entre as frequências de jacarés soropositivos de cativeiro (75,00%)

e de vida livre (95,65%). As sorovariedades encontradas foram Sarmin (94,00%), Javanica (3,00%), Pyrogenes (1,50%) e Copenhageni (1,50%), sendo detectados os maiores títulos em dois animais de cativeiro (3.200) e um de vida-livre (1.600), para a sorovariedade Sarmin.

Na investigação sorológica dos animais cativos do zoológico de Uberaba – MG, Esteves (2005) avaliaram 166 animais, entre eles mamíferos, aves, répteis e peixes, e detectaram reações sorológicas contra *Leptospira* spp. em 17 (10,20%) deles, sendo as sorovariedades encontradas Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Andamana e Patoc. Conforme os autores, uma amostra (6,25%) dos *Chelonoidis* spp. (jabuti) foi reagente à sorovariedade Andamana e outra (5,00%) das *Trachemys* spp. (tigre-d'água) reagiu à sorovariedade Patoc.

Silva *et al.* (2009), ao avaliarem sorologicamente 40 cágados capturados em dois lagos públicos de Pelotas - RS, identificaram 12 (27,50%) sororreagentes, sendo as sorovariedades mais frequentes Bataviae (n=7) (63,70%) e Tarassovi (n=3) (27,20%), além de outras como Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippotyphosa.

Ao pesquisarem anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 388 animais selvagens de cativeiro (339) e de vida livre (49) do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Silva *et al.* (2010) observaram que os répteis foram responsáveis por 47 (45,60%) das amostras reagentes à SAM, seguidos das aves com 34 (33,00%), mamíferos com 20 (19,40%) e peixes com 2 (2,00%). Sendo que as sorovariedades encontradas nos répteis foram: Tarassovi, Patoc, Andamana, Sentot, Hebdomadis e Canicola.

Na investigação sorológica realizada por Biscola *et al.* (2011), foram avaliadas 147 serpentes peçonhentas, das quais 52 (35,40%) foram reagentes à SAM. E a sorovariedade mais frequente foi a Hardjo prajitino, além da Sentot, Andamana, Patoc, Grippotyphosa, Pyrogenes e Panama.

Alves Júnior (2013) realizou um estudo epidemiológico da leptospirose em 600 tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) de vida livre (n=480) e criadas em cativeiro (n=120), e observaram que no total 483 (80,50%) cágados foram reagentes à SAM, sendo 372 (77,50%) animais de vida livre e 111 (92,50%) criados em cativeiro. Nesse estudo os cágados de vida livre foram capturados na região do vale do Araguaia-GO e foram reagentes às sorovariedades Hardjo, Icterohaemorrhagiae,

Pomona, Autumnalis, Panama, Bataviae, Australis, Cynopteri, Sentot, Andamana, Whitcombi, Pyrogenes, Javanica, Bratislava, Patoc, Hebdomadis, Butembo e Castellonis. Além desses, foram identificadas em cágados recém eclodidos as sorovarietades Tarassovi, Wolffi, Canicola, Copenhageni, Grippotyphosa e Shermani.

Esses achados reforçam a necessidade de serem feitas mais pesquisas de leptospirose em répteis, visto que não se sabe como as leptospiros desenvolvem seu ciclo nesses animais (SILVA *et al.*, 2010). O papel dos crocodilianos na epidemiologia da leptospirose ainda é desconhecido devido à falta de investigações sorológicas nesses animais (ROSSETTI *et al.*, 2003).

Na região do Vale do Araguaia, as condições ecológicas são altamente favoráveis à ocorrência da leptospirose, uma vez que o agente sobrevive mais tempo em áreas alagadas e de temperaturas elevadas (FAINE, 1982). Tais fatos tornam essa zoonose importante em saúde pública, uma vez que o contato com animais infectados é uma via de transmissão para o ser humano (VASCONCELLOS, 1987).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo e amostras

A pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi realizada por meio do teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 75 amostras de soro sanguíneo de jacarés-tinga (*C. crocodilus*) jovens e adultos, que foram capturados de junho a outubro de 2012. Todos eram animais de vida livre capturados em duas localidades diferentes: Lagoa do Japonês ($13^{\circ}25'51.0''S$ $50^{\circ}38'59.7''W$), às margens do rio Araguaia na Área de Proteção Ambiental (APA) – Meandros do Araguaia, localizado no município de São Miguel do Araguaia – GO; e no Lago Celeste, localizado no município de Araguaiana – MT ($14^{\circ}46'47,0''S$ $51^{\circ}32'50,0''W$) (Figura 1).

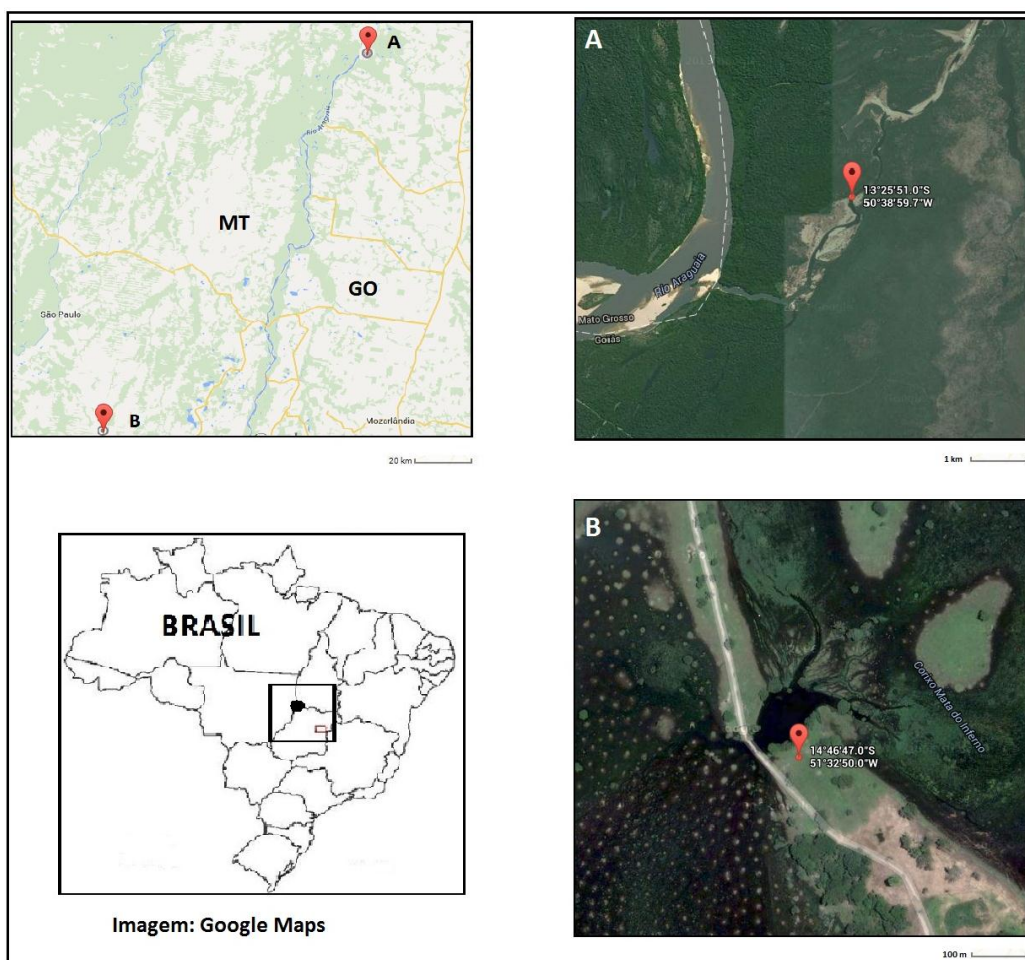


Figura 1: Localização das áreas de captura de *C. crocodilus*. (A) Lagoa do Japonês; (B) Lago Celeste.

A Lagoa do Japonês mantém-se conectada ao rio Araguaia ao longo do ano, enquanto que o Lago Celeste tem conexão com o rio Araguaia apenas na época chuvosa do ano (novembro a março). À medida que diminui o nível de água do rio Araguaia, na época seca do ano (abril a setembro), formam-se vários lagos isolados em sua redondeza, os quais abrigam várias populações animais que permanecem nesse ambiente, o qual fica isolado e sem reposição de água por toda época seca do ano.

Os animais foram laçados durante o dia, com a utilização de varejões, cabos de aço e cordas (Figura 2A). Em seguida foram arrastados para a margem do lago e imobilizados com o auxílio de cambão (Figura 2B), fitas adesivas e cordas de contenção, permanecendo com os olhos vendados durante o período de colheita.

Todos os procedimentos foram realizados mediante a aprovação do Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) Nº 182/13, da Universidade Federal de Uberlândia – UFU (Anexo 1), e licença SISBIO nº 24684-1, emitida dia 15/07/2010 (Anexo 2).

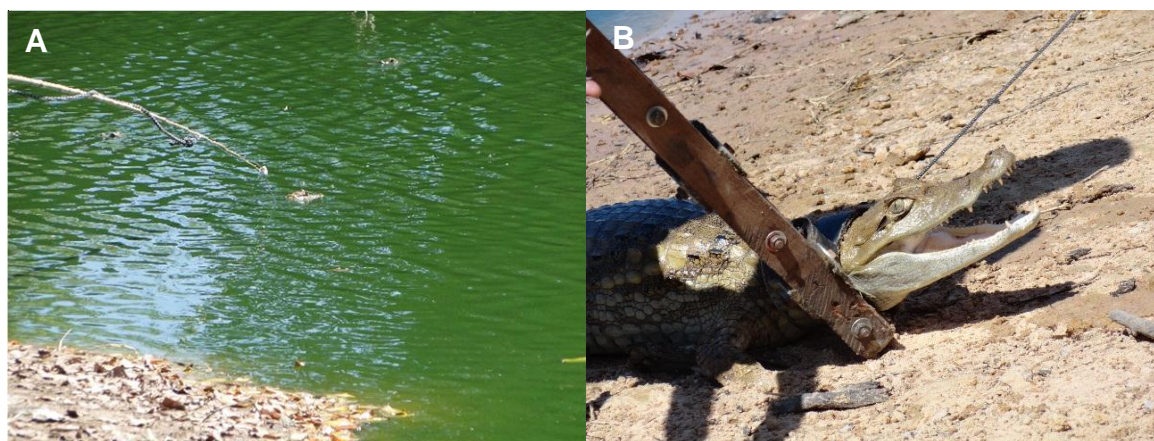


Figura 2: Captura de *C. crocodilus*. (A) Utilização do varejão com cabo de aço e corda; (B) Imobilização de um *C. crocodilus* com auxílio de cambão.

3.2. Colheita do material

A colheita do sangue dos jacarés foi realizada por punção do seio vertebral, porção cervical (ROSSETTI *et al.*, 2003), com agulhas hipodérmicas descartáveis

30x8mm e seringas descartáveis de 5mL, com acesso pela superfície dorsal do pescoço, promovendo-se a penetração da agulha até o canal vertebral, em posição imediatamente dorsal à medula espinhal (Figura 3). Imediatamente após a colheita, o sangue foi transferido para tubos sem anticoagulante onde ficaram reservados até formar o coágulo. Em seguida foi submetido à centrifugação a 2.500 rotações por minuto, durante 10 minutos, para a obtenção dos soros que foram colocados em microtubos devidamente identificados. Em seguida os mesmos foram armazenados a -20°C até o momento de serem realizados os exames para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp..



Figura 3: Colheita das amostras de sangue por punção do seio vertebral cervical de um *C. crocodilus*.

Posteriormente à colheita das amostras, os animais foram liberados no mesmo local de captura.

3.3. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

Os exames para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foram realizados no Laboratório de Doenças Infecto-contagiosas da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

O método diagnóstico utilizado foi a soroaglutinação microscópica (SAM) onde as amostras de soro foram testadas para anticorpos de *Leptospira* spp. em uma diluição inicial de 1:25, de acordo com o recomendado por Faine (1982) e Rossetti *et al.* (2003).

Para chegar a essa diluição primeiramente colocou-se na placa de poliestireno com fundo chato, em cada pocinho, 23µL de solução salina 0,9%, adicionando 2µL do soro sanguíneo de cada animal, em seguida adicionou-se 25µL de antígeno, de cada uma das 22 sorovarietades de *Leptospira interrogans*, disponíveis no Laboratório de Doenças Infecto-contagiosas – UFU (Tabela 1), resultando em 50 µL de solução, na diluição de 1:25. A mistura soro-antígeno foi levemente agitada e acondicionada à temperatura ambiente por uma hora, procedendo-se a seguir à leitura em microscopia de campo escuro, com objetiva e ocular de 10x, diretamente dos poços da placa. O critério adotado para considerar a amostra de soro sanguíneo como reagente foi o de 50,00% de aglutinação. Os soros reagentes na triagem inicial foram reexaminados com diluições seriadas de razão dois, sendo a primeira diluição 1/50. O título do soro foi considerado a recíproca da sua maior diluição que apresentou pelo menos 50,00% de aglutinação.

Como não existe padronização do teste para crocodilianos, consideraram-se positivas as amostras cujos títulos foram iguais ou superiores a 25.

Tabela 1: Sorogrupos e sorovariedades de *Leptospira* spp. empregadas como antígenos na técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).

SOROGRUPO	SOROVARIÉDADES
Andamana	andamana
Australis	australis
Australis	bratislava
Autumnalis	autumnalis
Batavia	bataviae
Canicola	canicola
Celledone	whitcombi
Cynopteri	cynopteri
Djasiman	djasiman
Djasiman	sentot
Grippotyphosa	grippotyphosa
Hebdomadis	hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	copenhageni
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae
Javanica	javanica
Panama	panama
Pomona	pomona
Pyrogenes	pyrogenes
Sejroe	hardjo
Sejroe	wolffi
Tarassovi	tarassovi
Semaranga	patoc

3.4. Análise estatística

As diferenças entre as prevalências da infecção por *Leptospira* spp. nos *C. crocodilus*, capturados em habitats distintos, foram analisadas pelo teste Qui-quadrado (BEIGUELMAN, 1996).

4. RESULTADOS

Ao realizar a triagem das amostras de soro dos 75 *C. crocodilus* de vida livre pela técnica de soroglutinação microscópica (SAM), obteve-se 59 (78,67%) sororreagentes. Observou-se que na Lagoa do Japonês 22 (68,75%) das 32 amostras foram reagentes, e no Lago Celeste, 37 (86,04%) das 43 amostras apresentaram-se positivas (Tabela 2). Não houve diferença estatística entre os resultados encontrados nos dois lagos.

Tabela 2: Resultados da triagem realizada pela técnica de soroglutinação microscópica (SAM) em amostras de soro sanguíneo dos *C. crocodilus* de vida livre, capturados na região do médio rio Araguaia-GO e MT, no período entre 2011 e 2012.

HABITAT	SAM				TOTAL
	REAGENTES		NÃO REAGENTES		
	Nº	%	Nº	%	
Lagoa do Japonês	22	68,75	10	31,25	32
Lago Celeste	37	86,04	6	13,95	43
Total	59	78,67	16	21,33	75

Das amostras de soro sanguíneo dos *C. crocodilus* capturados na Lagoa do Japonês, houve reação às sorovariedades Pyrogenes, Patoc, Pomona, Whitcombi, Tarassovi, Sentot, Grippytyphosa, Canicola e Panama, enquanto que os jacarés que habitavam o Lago Celeste foram reagentes a todas as sorovariedades testadas.

As sorovariedades detectadas com maior frequência nos *C. crocodilus* de vida livre foram Patoc e Pyrogenes. Também verificou-se que em 21 amostras de soro sanguíneo houve reações de coaglutinação para duas ou mais sorovariedades (Tabela 3).

Em relação aos títulos sorológicos, as sorovariedades que apresentaram maiores títulos foram: Patoc (1600), Pyrogenes (1600) e Pyrogenes/ Tarassovi (800).

Tabela 3: Resultados da titulação realizada pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) em amostras de soro dos *C. crocodilus* de vida livre, capturados na região do vale do Araguaia – GO e MT, Lagoa Japonês e Lago Celeste, no período entre 2011 e 2012, demonstrando a quantidade de sororreagentes e o título (n/T).

SOROVARIÉDADES	<i>Caiman crocodilus</i> da lagoa Japonês n=22	<i>Caiman crocodilus</i> do lago Celeste n=37	Total de Sororreagentes
Autumnalis		1/200	1
Grippytyphosa	1/25		1
Pomona	1/25		1
Pyrogenes	2/25, 1/50, 2/100, 2/1600	1/25, 1/50, 1/1600	10
Patoc	2/25, 2/50, 2/100	7/25, 1/50, 2/100, 1/800, 1/1600	18
Sentot	1/25	2/25	3
Tarassovi		1/50, 1/100	2
Whitcombi	1/25	1/100	2
Patoc e Pyrogenes	2/25		2
Patoc e Andamana		2/25	2
Patoc e Sentot		5/25	5
Pomona e Sentot		1/25	1
Pyrogenes e Tarassovi	1/50	1/50, 1/400, 1/800	4
Andamana e Javanica		2/25	2
Cynopteri e Whitcombi		1/25	1
Pyrogenes e Canicola	1/25		1
Patoc, Pyrogenes, Tarassovi e Pomona	1/25		1
Canicola, Copenhageni, Tarassovi e Panama		1/200	1
Icterohaemorrhagiae, Pomona, Andamana e Javanica		1/25	1

5. DISCUSSÃO

Embora haja alguns trabalhos de pesquisa sobre a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais selvagens das Américas, pouco se sabe sobre essa enfermidade nas espécies nativas da fauna brasileira, o que dificulta o conhecimento da cadeia epidemiológica da doença e a elaboração de planos de controle nas regiões com grandes populações selvagens e ambientes ecologicamente favoráveis à bactéria (GIRIO *et al.*, 2003). Contudo, afim de se obter mais dados sobre a leptospirose em populações cativas, atualmente têm sido realizadas investigações sorológicas em zoológicos e criadouros (SILVA *et al.*, 2010).

Várias espécies sinantrópicas e selvagens podem estar envolvidas na epidemiologia da leptospirose (CORRÊA *et al.*, 2004), e assim como as espécies domésticas, são suscetíveis a essa zoonose podendo apresentar infecções subclínicas e tornarem-se portadores, eliminando as leptospiras na urina (ACHA, SZYFRES, 2001). Apesar de ser desconhecido o papel de qualquer classe animal diferente dos mamíferos na epidemiologia da leptospirose (ROSSETTI *et al.*, 2003), os répteis têm sido identificados como possíveis reservatórios de *Leptospira* spp. (GLOSSER *et al.*, 1974; SILVA *et al.*, 2010; BISCOLA *et al.*, 2011), apresentando-se usualmente assintomáticos (CALLE, *et al.*, 2001).

O presente trabalho identificou 59 (78,67%) *C. crocodilus* sororreagentes à *Leptospira interrogans*, valor semelhante ao encontrado por Rossetti *et al.* (2003), que ao realizarem estudos sorológicos de 83 caimans (*C. latirostris* e *C. yacare*) de cativeiro e de vida livre da Argentina, identificaram 67 (81,00%) animais positivos. Ao compararem as frequências de jacarés soropositivos de cativeiro (75,00%) e de vida livre (95,65%), os autores inferiram que a menor frequência nos animais cativos poderia ser devido à mudança de água das piscinas em dias alternados, enquanto que a alta frequência obtida nos animais de vida livre deve-se ao ambiente onde foram capturados, lagoas rasas, com água quente e calma, a qual age como um ambiente excelente para manter as leptospiras (BABUDIARI, 1958).

Devido ao fato de não haver reposição de água no Lago Celeste durante a época seca do ano, em conjunto com as altas densidades populacionais de jacarés,

esperava-se encontrar maior frequência de sororreagentes neste lago isolado, comparado à frequência de soropositivos da Lagoa do Japonês, a qual tem conexão direta com o rio Araguaia por todo ano, havendo assim, constante reposição de água e menores densidades populacionais. Contudo, não houve diferença estatística entre as frequências dos diferentes habitats, divergindo do que foi inferido por Rossetti *et al.* (2003).

Alves Júnior (2013) ao realizar estudo sorológico de 600 tartarugas-da-amazônia, de vida livre (480) e criadas em cativeiro (120), observaram 381 (79,37%) cágados de vida livre sororreagentes à SAM. Concordando com os resultados do presente trabalho, no qual foi encontrada uma frequência total de soropositivos de 78,67%.

Na sorologia contra leptospirose dos *C. crocodilus* de vida-livre do presente trabalho, foram detectados títulos máximos nas sorovariedades Pyrogenes (3/1600), Patoc (1/1600 e 1/800) e na coaglutinação Pyrogenes/ Tarassovi (1/800). No estudo epidemiológico conduzido por Rossetti *et al.* (2003), o mesmo título máximo de 1600 foi encontrado em um *C. latirostris* de vida-livre da Argentina, porém a sorovariedade foi a Sarmin.

Diversas espécies silvestres podem se tornar portadoras e colaborar com a disseminação da leptospira no ambiente selvagem (RICHARDSON, GAUTHIER, 2003). Conforme Silva *et al.* (2010) e Biscola *et al.* (2011), os répteis podem ser reservatórios da *Leptospira* spp., permanecendo saudáveis mesmo quando infectados pela bactéria. Nesses animais, a infecção ativa é sugerida quando é detectado altos títulos sorológicos, podendo ou não apresentarem manifestações clínicas da doença, com consequente eliminação de bactérias na urina (SILVA *et al.*, 2010). Contudo, o ciclo das leptospiros nos répteis ainda é desconhecido (ALVES JÚNIOR, 2013).

Figueiredo *et al.* (2008) descrevem os hospedeiros acidentais como animais que desenvolvem a forma severa da doença, além de proporcionarem a transmissão inter e intra-espécies. No entanto, todos os *C. crocodilus* utilizados nesta pesquisa apresentavam-se aparentemente saudáveis. Este fato aliado aos altos títulos sorológicos detectados nos *C. crocodilus*, indicando infecção ativa, sugerem que os

C. crocodilus podem ser hospedeiros naturais ou de manutenção e atuarem como reservatórios das sorovariedades Pyrogenes e Patoc.

No estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil, Santa Rosa *et al.* (1980) já haviam verificado reações de coaglutinação entre sorovariedades diversas. Segundo Girio e Lemos (2002), é comum que mais de uma sorovariedade seja detectada na SAM, o que sugere a existência de uma infecção mista ou reações cruzadas, tais fatos justificam reações de coaglutinação encontradas no presente trabalho.

Sendo a epidemiologia da leptospirose diretamente relacionada com a presença e distribuição de umidade como meio de transporte de leptospiras entre animais portadores e espécies suscetíveis, os répteis e anfíbios podem desempenhar o papel de hospedeiros naturais ou de manutenção, e atuarem como reservatórios (GLOSSER *et al.*, 1974; ALVES JÚNIOR, 2013). Entretanto, estudos de leptospirose em répteis são escassos, sendo que a maioria dos trabalhos realizados indicam que o agente mais frequente é a sorovariedade Pomona, que infecta mais ofídios e testudines (OLIVEIRA, 2003; ESTEVES, 2005).

No presente trabalho as sorovariedades de *Leptospira interrogans* prevalentes no teste de triagem, em amostras de soro sanguíneo de 75 jacarés-tinga (*C. crocodilus*) de vida livre, foram: Pyrogenes, Patoc, Pomona, Tarassovi, Whitcombi, Sentot, Grippytyphosa, Canicola e Panama, para os animais capturados na Lagoa do Japonês; e todas as 22 sorovariedades foram detectadas nas amostras de soro sanguíneo dos jacarés capturados no Lago Celeste (Tabela 2). A sorovariedade prevalente encontrada por Rossetti *et al.* (2003) nos jacarés da Argentina foi a Sarmin (94,00%) seguido de Javanica (3,00%), Pyrogenes (1,50%) e Copenhageni (1,50%). As últimas três sorovariedades também foram detectadas no presente trabalho.

Dentre a gama de sorovariedades encontradas por Alves Júnior (2013) no estudo sorológico dos cágados de vida livre capturados na região do vale do Araguaia-GO, região próxima à Lagoa do Japonês, as encontradas em comum com as detectadas em jacarés-tinga do presente trabalho, foram: Pyrogenes, Patoc, Pomona, Tarassovi, Whitcombi, Sentot, Grippytyphosa, Canicola e Panama, sugerindo que essas sorovariedades possam transitar entre espécies distintas.

Ao pesquisarem anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 388 animais selvagens de cativeiro (339) e de vida livre (49) do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Silva *et al.* (2010) observaram que os répteis foram responsáveis por 47 (45,60%) das amostras reagentes à SAM, seguidos das aves com 34 (33,00%), mamíferos com 20 (19,40%) e peixes com 2 (2,00%). Sendo que as sorovariedades encontradas nos répteis foram: Tarassovi, Patoc, Andamana, Sentot, Hebdomadis e Canicola. Esses achados reforçam a necessidade de serem feitas mais pesquisas de leptospirose em répteis, visto que não se sabe como as leptospirosas desenvolvem seu ciclo nesses animais.

Glosser *et al.*, (1974), ao realizarem estudos sorológicos de tartarugas da Geórgia, identificaram a sorovariedade Tarassovi em tartarugas-de-orelha-vermelha (*Pseudemys scripta-elegans*) e em tartarugas mordedoras (*Chelydra serpentina*), enquanto que em tartarugas almiscaradas (*Sternotherus odoratus*) os autores detectaram as sorovariedades Patoc, Andamana, Wolffi, Ballum e Copenhageni. Concordando com Silva *et al.* (2009), que ao pesquisarem aglutininas antileptospirais em soros de cágados do Rio Grande do Sul, detectaram como prevalente a sorovariedade Tarassovi, além de outras como Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippytyphosa.

Ao testarem os soros de dez anacondas (*Eunectes murinus*) de vida livre da Venezuela, Calle *et al.* (2001) detectaram 50,00% de reagentes à SAM para as sorovariedades Autumnalis, Bratislava, Icterohaemorrhagiae e Copenhageni. Desses apenas a sorovariedade Icterohaemorrhagiae foi detectada por Santa Rosa *et al.* (1980), que ao realizarem estudo epidemiológico da leptospirose em 73 cascavéis (*Crotalus durissus terrificus*), encontraram também as sorovariedades Andamana, Panama, Cynopteri, Bataviae e Javanica. Em uma investigação sorológica semelhante, Biscola *et al.* (2011) detectaram 52/147 (35,40%) serpentes peçonhentas reagentes à SAM, sendo que a sorovariedade mais prevalente foi a Hardjo prajitino, além da Sentot, Andamana, Patoc, Grippytyphosa, Pyrogenes e Panama.

Os levantamentos sorológicos de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em bovinos de vários estados brasileiros, têm registrado Hardjo e Wolffi como as variantes sorológicas mais frequentes, porém outras sorovariedades já foram descritas como

responsáveis por reações sorológicas nessa espécie, como Pomona, Patoc, Pyrogenes, Tarassovi, Bratislava, Autumnalis, Bataviae, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola, Australis, Butembo, Whitcombi, Copenhageni e Castellonis (PELLEGRIN *et al.*, 1999; FAVERO *et al.*, 2001; FIGUEIREDO *et al.*, 2009).

Das variantes sorológicas descritas em bovinos, exceto Butembo e Castellonis, todas as outras foram detectadas nas amostras de soro sanguíneo dos *C. crocodilus* do presente estudo. Como a leptospirose em espécies selvagens ainda é pouco estudada (GIRIO *et al.*, 1999), e a função deles como fontes de infecção de leptospiras para os animais domésticos até então não está bem definida (BENDER, HALL, 1996). Não se sabe se os jacarés servem como fontes de infecção para os bovinos, ou se os bovinos atuam como fontes de leptospiras para os jacarés, uma vez que comumente ambos compartilham da mesma fonte de água.

Houve registro de bovinos no Lago Celeste submersos na água e ingerindo-a (Figura 3), este fato aliado ao resultado encontrado de que muitas sorovariedades já descritas em bovinos também foram detectadas nas amostras de soro sanguíneo de jacarés-tinga, é um alerta aos pesquisadores em saúde pública quanto à interação animais domésticos e selvagens, tornando necessário investigar qual desses animais assume o papel de fonte de infecção.

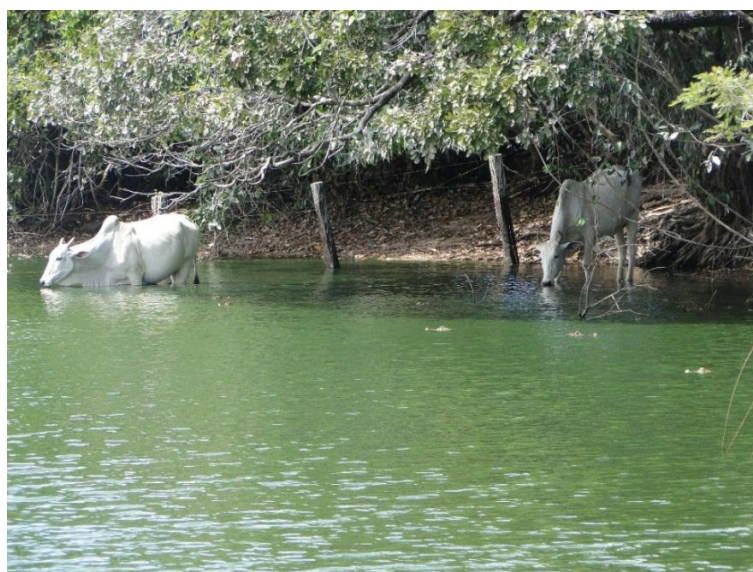


Figura 4: Jacarés-tinga e bovinos compartilhando da mesma fonte de água do Lago Celeste, Araguaiana - MT.

Uma vez que tem sido historicamente negligenciado o papel dos répteis e de outros vertebrados ectotérmicos como sendo fontes de leptospiros patogênicas (FAINE *et al.*, 1999), para maior controle desta importante zoonose, é necessário a conscientização dos produtores rurais de que não basta só controlar e vacinar os bovinos, deve-se também se preocupar com os répteis, pois muitas vezes compartilham da mesma fonte de água. Práticas de manejo como bebedouros bem distribuídos no pasto, contendo água tratada ou de poço artesianos, evitaria esse compartilhamento e a possível transmissão de leptospiros entre essas espécies.

Conforme Feuer e Domash-Martinez (2011), os humanos podem ser infectados por contato direto com animais ou por contato indireto, através de água e/ou sólidos contaminados por urina de animais infectados. No mesmo trabalho, baseados em evidências não científicas, os autores reportaram um caso de leptospirose humana ocorrida após um policial da Flórida ter retirado a carcaça de um jacaré da rodovia. De 1995 a 1998, aproximadamente nove pessoas contraíram leptospirose no sul da Flórida, todas as vítimas trabalhavam com jacarés e/ou seus ovos (HORD, 1998).

Ao investigarem o risco ocupacional de manipuladores de crocodilos em contraírem leptospirose, Snelling *et al.* (2004) identificaram 12 trabalhadores soropositivos (titulação 1:50) às 21 sorovariedades analisadas, e os outros dois foram positivos para a sorovariedade Australis, sendo um com título 1:100 e o outro 1:200. Os autores concluíram que essas evidências sugerem que os manipuladores de crocodilos constituem grupo de risco na aquisição da leptospirose por contato direto e/ou indireto com materiais biológicos de crocodilianos. Fica o alerta aos criadouros legalizados, para desenvolverem práticas de prevenção durante o manejo e principalmente o abate dos jacarés.

Sendo a epidemiologia da leptospirose associada a áreas alagadas e de temperaturas elevadas (FAINE, 1982), a topografia e a hidrografia do médio rio Araguaia favorecem a manutenção da leptospira neste ambiente. E uma vez que os répteis servem como possíveis reservatórios da *Leptospira* spp. (OLIVEIRA, 2003), os *C. crocodilus* podem disseminar a leptospira, infectando espécies domésticas e/ou outras espécies selvagens.

A ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em amostras de soro sanguíneo de jacarés da espécie *C. crocodilus*, da região do médio rio Araguaia, foi descrita pela primeira vez neste estudo. O papel dos crocodilianos na epidemiologia da leptospirose ainda é desconhecido. Porém, resultados como os desta pesquisa contribuem para a elaboração de planos estratégicos e medidas profiláticas tanto para a produção animal, quanto para a conservação de espécies selvagens.

6. CONCLUSÕES

A *Leptospira* spp. está presente na região do médio rio Araguaia, envolvendo a espécie *C. crocodilus*, e estes podem ser hospedeiros naturais ou de manutenção das sorovariedades Patoc e Pyrogenes;

As sorovariedades de maior ocorrência encontradas nos *C. crocodilus* da região do médio rio Araguaia foram: Patoc, Pyrogenes e Pyrogenes/Tarassovi, com títulos máximos de 1600, 1600 e 800, respectivamente;

Os *C. crocodilus* podem disseminar a *Leptospira* spp. em ambientes antrópicos, infectando espécies domésticas, ou ainda, disseminar em ambientes não antropizados, infectando outras espécies selvagens;

Ribeirinhos, visitantes e manipuladores de jacarés correm risco de contraírem infecção por leptospira.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. Organización Panamericana de la Salud Press, 2. ed. Washington, United States: editora Washington DC, 1986. p. 112-120

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales: Bacteriosis y micosis**. Organización Panamericana de la Salud Press, 3. ed, Washington, United States: editora Washington DC., 2001. v. 1, 398 p.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 287-296, 2010.

AGUIAR, D. M.; et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do município de Monte Negro, estado de Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 529-532, 2010.

AGUIAR, D. M.; et al. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 102-104, 2006.

ALMEIDA, L. P.; MARTINS, L. F. S.; BROD, C. S. Fatores de risco associados à presença de anticorpos contra leptospira em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 511-516, 1999.

ALT, D. P.; BOLIN, C. A. Preliminary evaluation of antimicrobial agentes for treatment of *Leptospira interrogans* sorovar Pomona infection in hamsters and swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 1, p. 59-62, 1996.

ALVES-JÚNIOR, J. R. F. ***Leptospira* spp. e *Brucella* spp. em tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) do vale do rio Araguaia – GO**. 2013. 82f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Jaboticabal.

AMATREDJO, A.; CAMPBELL, R. S. F.; PATH, M. R. C. Bovine leptospirosis. **Veterinary Bulletin**, v. 45, n. 12, p. 875–891, 1975.

ARGENTINA. INSTITUTO PANAMERICANO DE PROTECCIÓN DE ALIMENTOS Y ZOONOSIS (INPPAZ) 1997. **Análisis del proyecto de presupuesto por programas del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis**

para 1998-1999 y 2000-2001. Disponível em:
<www.inppaz.org.ar/menupal/infinstr/rimsa10/dogres.htm>. Acesso em: 15 fev. 2013.

BABUDIARI, B. Animal reservoirs of leptospirosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 70, p. 393-413, 1958.

BEIGUELMAN, B. Curso prático de Bioestatística. 4. ed. **Revista Brasileira de Genética**, Campinas, 254p. 1996.

BELLAIRS, A. D'A. The crocodilia. In: WEBB, G. J. W.; MANOLIS, S. C.; WHITEHEAD, P. J. **Wildlife Management: crocodiles and alligators**. Chipping Norton: Surrey Beatty and Sons Pty, 1987. Cap. 1, p. 5-7.

BENDER, L. C.; HALL, P. B. *Leptospira interrogans* exposure in free-ranging elk in Washington. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, n. 1, p.121-124, 1996.

BINDER, W. D.; MERMEL, L. A. Leptospirosis in a urban setting: case report and review of na emerging infectious disease. **Journal of Emergency Medicine**, v. 16, n. 6, p. 851-856, 1998.

BISCOLA, N. P.; et al. Serological investigation and PCR in detection of pathogenic leptospires in sanakes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 806-811, 2011.

BLAHA, T. **Epidemiologia especial veterinária**. São Paulo: Acribia, p.128-136. 1995.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary medicine**. 7. ed. London: Baillière Tindall, 1989. p. 758-769.

BRAZAITIS, P.; WATANABE, M. E.; AMATO, G. The caiman trade. **Scientific American**, v. 278, p. 275-284, 1998.

BRITO, S. P.; ANDRADE, D. V.; ABE, A. S. Do caimans eat fruit? **Herpetological Natural History**, v. 9, n. 1, p. 95-96, 2002.

BROD, C. S.; et al. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 4, p. 294-300, jul./ago. 2005.

CALDAS, E. M.; FEHRINGER, W. T.; SAMPAIO, M. B. Aglutininas contra leptospiras em *Rattus norvegicus* e *Didelphis marsupialis*, em Salvador-Bahia. Separata de: **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária-Universidade da Bahia**, Salvador, v.15, n. 1, p. 43-50, 1992.

CALLE, P. P.; et al. Infectious disease serologic survey in free-ranging venezuelan anacondas (*Eunectes murinus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** v. 32, n. 3, p. 320-323, 2001.

CARNEIRO, M.; GIACOMINI, M. L.; COSTA, J. M. Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional: Estudio clínico y epidemiológico. **Revista Chilena de Infectología**, v. 21, n.4, p. 339-344, 2004.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS (CEPANZO. Nota Técnica, 30). **Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis**. Washington, 1985. 46 p.

COLEMAN, T. J. The Public Health Laboratory Service (PHLS) and its role the control of zoonotic disease. **Acta Tropica**, v. 76, n. 1, p. 71-75, 2000.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992, 234 p.

CORRÊA, S. H. R.; et al. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 3, p. 189-193, 2004.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Rocca press, 2006, 1310 p.

DA SILVEIRA, R. **Monitoramento, crescimento e caça de jacaré-açu e de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus crocodilus*)**. 2001. 145 f. Tese (Doutorado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Universidade Federal do Amazonas - Manaus.

DIEFENBACH, C. O. Gastric function in *Caiman crocodiles* Rates of gastric digestion and gastric mobility as a function of temperature. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v. 51, p. 259-265, 1975.

DIESCH, S. L. Leptospirosis: vaccination and titer evaluation. **Modern Veterinary Practice**, v.61, n.11, p.905-908, 1980.

DIESCH, S. L.; ELLINGHAUSEN, H. C. Leptospirosis. In: HERBERT, W. T.; **Diseases transmitted from animals to man**. 6. ed. New York: C.C. Thomas, p. 27. 1975.

ELLIS, W. A. International Committee on Systematic Bacteriology. Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira*. Minutes of the Meetings, 1 and 2 July 1994, Prague, Czech Republic. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 4, p.872-874, 1995.

ESTEVEZ, F. M. **Levantamento sorológico e plano de ação para controle da leptospirose no zoológico municipal de Uberaba/MG, estado de Minas Gerais**. 2005. 63 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Jaboticabal.

EYS, G. J. J. M.; et al. Detection of leptospire in urine by Polymerase Chain Reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 27, n. 10, p. 2258-2262, 1989.

FAINE, S. **Guidelines for control of Leptospirosis**. Geneva: WHO Offset Publication n. 67, 1982. 98 p.

FAINE, S. **Leptospira and leptospirosis**. Melbourne: CRC Press, 1994. 353p.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirose**, 2. ed. Melbourne: CRC Press, 1999. 353p.

FAVERO, M.; et al. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FEUER, B.; DOMASH-MARTINEZ, T. Report of case: leptospirosis after exposure to alligator carcass. **Osteopathic Family Physician**, v. 3, n. 1, p. 23-26, 2011.

FIGUEIREDO, A. O.; GIRIO, R. J. S.; LEMOS, R. A. A. Leptospirose. In: LEMOS, R. A. A.; LEAL, C. R. B. **Doenças de Impacto Econômico em Bovinos de Corte: Perguntas e Respostas**. Campo Grande: UFMS, 2008, p. 385-398. 450p.

FIGUEIREDO, A. O.; et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n. 5, p. 375-381, 2009.

GIRIO, R. J. S.; et al. Pesquisa de infecção por *Leptospira Interrogans* em animais da região de Nhecolândia, no Pantanal do Mato Grosso do Sul. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 65, p.87,1999.

GIRIO, R. J. S.; LEMOS, R. A. A. Leptospirose. In: LEMOS, R. A. A.; BARROS, N.; BRUM, K.B. **Enfermidades de Interesse Econômico em Bovinos de Corte – Perguntas e Respostas**. Campo Grande: UFMS, 2002, v.1, n.1, p. 253-260. 292p.

GIRIO, R. J. S.; et al. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imuno-histoquímica para detecção do agente. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 165-169, 2003.

GLOSSER, J. W.; SULZER, C. R.; EBEHARDT, M. Cultural and serologic evidence of *Leptospira interrogans* serotype tarassovi infection in turtles. **Journal of Wildlife Disease**, v. 10, p.429-435, 1974.

GUERRA-NETO, G. **Frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil**. 2006. 50 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Jaboticabal.

HIGGINS, R. J.; et al. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of serotype hardjo. **Veterinary Record**, v. 27, n. 9, p. 307–309, 1980.

HORD, L. Florida Game and Fresh Water Fish Commission: Leptospiroses warning. **Crocodile Specialist Group Newsletter**, v.17, n. 11, 1998.

HORSCH, F. Leptospirose. In: BEER, J. **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. cap. 53, v. 2, p. 305-326, 398p.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis. Disponível em: <www.ibama.gov.br> Acesso em: 18 jun. 2012.

JAQUES, A. M. C. C. **Avaliação macroscópica e microscópica de vísceras de jacaré-açú (*Melanosuchus niger* Spix,1985) abatidos na reserva de desenvolvimento sustentável Mamirauá e destinados ao consumo humano**. 2011. 68f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói.

KRUSE, H.; KIRKEMO, A. M.; HANDELAND, K. Wildlife as source of zoonotic infections. **Emerging Infectious Diseases** v. 10, n. 12, p. 2067-2072, 2004.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada**. CRMV-SP, São Paulo, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LATHRAP, D. W. Gifts of the Caiman: some thoughts on the subsistence basis of Chavín. In: LATHRAP, D. W.; DOUGLAS, J. (Eds), **Variation in Anthropology: Essays in Honor of John C. McGregor**. Urbana: Illinois Archaeological Survey, 1973. p. 91-105.

MADER, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. 2 ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2006. 547p.

MARTIN, S. Global diversity of Crocodiles (Crocodilia, Reptilia) in Freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 587-591, 2008.

MICHNA, S. W.; CAMPBELL, R. S. F. Leptospirosis in wild animals. **Journal of Comparative Pathology**, v. 8, p. 101-106, 1970.

MOREIRA, J. R.; MACDONALD, D. W. Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia. In: VALADARES, P. C.; BODMER, R. E.; CULLEN, J. R. L. (Eds). **Manejo e Conservação de vida silvestre no Brasil**. Brasília/Belém: CNPq/SCM, 1997. p. 186-209.

NAISH, D. Fossils explained: Crocodylians. **Geology Today**, v. 17, n. 2, p. 71-77, 2001.

OLIVEIRA, P. M. A. **Animais silvestres e exóticos na clínica particular**. São Paulo: Roca press, 2003, 375p.

PANDEY, R. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. São Paulo: Roca press, 1994. p. 170-193.

PELLEGRIN, A. O.; et al. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. **Embrapa Pantanal** v. 22, p. 1-9, 1999.

PESTANA, C. A. F.; SANTA ROSA, C. A.; TROISE, C. Preás (*Cavia aperae azarea*) (Rodentia: Cavidae) como reservatório de *Leptospira* em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 28, n. 1, p. 219-223, 1961.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology and pathogenesis of *Leptospira* spp in humans. **Microbes and Infection**, v. 2, n. 1, p. 1265-1276, 2000.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos Vertebrados**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2003, 699p.

QUINN, P. J.; et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.179-188, 512p.

RADOSTITS, O. M.; et al. Doenças causadas pelas *Leptospiras* spp. In: RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovínos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2010, p. 874-887, 1737p.

RICHARDSON, D. J.; GAUTHIER, J. L. A serosurvey of leptospirosis in Connecticut peridomestic wildlife. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 3, n.4, p. 187-193, 2003.

RIEPEL, O.; REISZ, R. R. The origin and Early Evolution of Turtles. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 30, p. 1-22, 1999.

ROMANELLI, P. F. **Propriedades Tecnológicas da Carne do Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*)**. 1995. 140 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROMER, A.; PARSONS, T. S. **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 1985. 481 p.

ROSS, C. A.; MAGNUSSON, W. E. Living crocodilians. In: ROSS, C. A.; GARNETT, S. (Eds). **Crocodiles and Alligators**, London: Merehurst Press, 1989, 240p.

ROSSETTI, C. A.; et al. Detection of leptospiral antibodies in caimans from the Argentinian Chaco. **Veterinary Record**, v. 153, p. 632-633, 2003.

SÁ, V. A.; et al. Crescimento ponderal de filhotes de tartaruga gigante da amazônia (*Podocnemis expansa*) submetidos a tratamento com rações isocalóricas com diferentes níveis de proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2351-2358, 2004.

SANTA ROSA, C. A.; et al. Contribuição ao estudo das leptospiroses em serpentes do Brasil II. Levantamento sorológico em *Crotalus durissus terrificus* – Laurenti, 1768 (Viperidae: Crotalinae) – Cascavel. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 40, n. 1, p. 9-13, 1980.

SANTOS, S. A. **Dieta e nutrição de crocodilianos**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, 1997. 59p.

SBH. Sociedade Brasileira de Herpetologia. **Lista de espécies de répteis do Brasil**. 2008. Disponível em: <www.sbherpetologia.org.br> Acesso em jun. 2012.

SILL, W. D. **The zoogeography of the Crocodilia**. Miami: Copeia, 1968. v. 1968, n. 1, p. 76-88.

SILVA, C. S. **Levantamento sorológico para Leptospirose nos animais pertencentes ao Bosque Zoológico Municipal Dr. Fábio de Sá Baneto de Ribeirão Preto, SP**. 2007. 66 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Jaboticabal.

SILVA, C. S.; et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 237-242, 2010.

SILVA, E. F.; et al. Serum antileptospiral agglutinins in freshwater turtles from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 227-230, 2009.

SILVA, F. J.; et al. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. **ARS Veterinaria**, v. 26, n. 1, p. 17-25, 2010.

SNELLING, T.; et al. Leptospirosis in the Top End of the Northern Territory: na investigation into the occupational risk to crocodile handlers. **The Northern Territory Disease Control Bulletin**, v. 11, n. 3, p. 1-6, 2004.

SOSA, G.; et al. Investigación sorológica y bacteriológica de leptospirosis realizada en fauna exótica. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, v. 19, n.3, p.219-26, 1988.

SULZER, C. R.; JONES, W. L. **Leptospirosis: method in laboratory diagnosis**. Center for Diseases Control, U.S., Atlanta: Dept. Health Education and Welfare press, 1980. 40p.

SZYFRES, B. Leptospirosis as an animal and public health problem in Latin America and the Caribbean Area. **Pan American Health Organization Bulletin**, Washington, v.10, p. 110-25, 1976.

THIERMANN, A. B. Leptospirosis: current developments and trends. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 184, n. 6, p. 722-725, 1984.

VASCONCELLOS, S. A. **O papel dos reservatórios na manutenção das leptospiras na natureza**. Em pauta-Comunidade Científica. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, v.11, n.1, p.17-24, 1987.

VILLELA, P. M. S. **Caracterização genética de crocodilianos brasileiros e desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Paleosuchus trigonatus***. 2008. 130 f. Tese (Doutorado em Ecologia aplicada) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

WEBB, G.J.W.; MANOLIS, S.C.; BUCKWORTH, R. *Crocodylus johnstoni* in the McKinlay River Area, N.T.I. Variation in diet, and a new method of assessing the relative importance of prey. **Australian Journal Zoology**, Melbourne, v. 30, p. 877-899, 1982.

ZUG, G. R.; VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. **Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles**. 2. ed. New York: Academic Press, 2001. 603p.

ANEXO 1



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail: ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 182/13 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 112/13

Projeto Pesquisa: “Leptospira spp. em jacaré tinga de vida livre do Vale do
Araguaia – GO”.

Pesquisador Responsável: André Luiz Quagliatto Santos

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com
animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da
pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO
DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE
ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 13 de setembro de 2013

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU

ANEXO 2



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 24684-1	Data da Emissão: 15/07/2010 11:58
Dados do titular	
Nome: André Luiz Quagliatto Santos	CPF: 028.478.228-95
Título do Projeto: ESTUDOS HEMATOBIQUÍMICOS EM MELANOSUCHUS NIGER SPIX - 1825 E CAIMAN CROCODYLUS LINNAEUS - 1758 (CROCODYLIA, ALLIGATORIDAE) NA REGIÃO DE BTRITÂNIA - GOIÁS	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Uberlândia	CNPJ: 25.648.387/0001-18

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de amostras de sangue	07/2010	12/2011
2	Levantamento bibliográfico	07/2010	07/2012
3	Análises laboratoriais	08/2010	02/2012
4	Análise dos resultados	02/2012	04/2012
5	Redação do trabalho	05/2012	06/2012

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.bama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Mariana Batista Andrade	Coleta de amostras e realização de análises laboratoriais	077.664.056-95	-	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	BRITANIA	GO	Fazenda Fátima	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Caiman, Melanosuchus
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Caiman, Melanosuchus

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 42776475



Página 1/3